

УДК 577.218

НЕРВНЫЙ ГРЕБЕНЬ – СВОЕОБРАЗНАЯ ПОПУЛЯЦИЯ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК

© 2019 г. Е. С. Пшенникова^а, *, А. С. Воронина^а

^аИнститут биохимии им. А.Н. Баха Федерального исследовательского центра
“Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071 Россия

*e-mail: pshennikova57@mail.ru

Поступила в редакцию 11.10.2018 г.

После доработки 20.11.2018 г.

Принята к публикации 20.11.2018 г.

Нервный гребень (НГ) зародышей позвоночных – популяция клеток, которая формируется на границе нервной пластинки, сохраняет плюрипотентность, экспрессирует набор маркеров НГ и, становясь мультипотентной, мигрирует от нервной трубки, чтобы дать начало многочисленным производным. Гены, специфичные для НГ позвоночных, возникли в эволюции раньше самих позвоночных. Нарушения развития клеток НГ у человека служат причиной многочисленных патологий.

Ключевые слова: нервный гребень, генные регуляторные сети, плюрипотентность, стволовые клетки

DOI: 10.1134/S0026898419020137

НЕРВНЫЙ ГРЕБЕНЬ – ЧЕТВЕРТЫЙ ЗАРОДЫШЕВЫЙ ЛИСТОК

У зародышей позвоночных во время смыкания нервных валиков и образования нервной трубки от ее дорзального хребта, или гребня, отделяется популяция клеток, мигрирующих затем в стороны от нее. В этом году исполняется 150 лет с момента первого упоминания этой структуры Вильгельмом Гисом [1]. Удаление нервных складок или нервной трубки и последующий анализ утраченных в результате этого органов у зародышей позволили выяснить, что клетки нервного гребня (НГ) необходимы для развития большей части периферической нервной системы и части лицевого скелета [2]. Двадцатью годами позже работ Гиса появилось предположение [3], что НГ вносит вклад в развитие мезодермы. Такая интерпретация подвергалась бурным нападкам защитников теории развития организмов из трех зародышевых листков. Эта теория о том, что в организме все ткани и органы образуются только из трех первичных слоев, имела огромное влияние на развитие эмбриологии. Немногим позже открытия клеток НГ в куриных эмбрионах было обнаружено, что в районе головы зародышей акул в области, где должны находиться клетки НГ, располагается зона утолщения эктодермы, названная плакоидами [4], и это привело к еще большей путанице. Зародыши амфибий стали материалом для удачных хирургических экспериментов с

окрашиванием эксплантатов прижизненным красителем. Тогда было доказано, что НГ, имеющий, как думали в то время, эктодермальное происхождение из нервной трубки, порождает и такие структуры, как хрящ и рыхлая соединительная ткань, которые, по старым представлениям, должны были быть производными только мезодермы. В этих же опытах выяснилось, что плакоиды, или утолщения эктодермы, ответственны за формирование только головных нервных ганглиев [5, 6]. Дальнейшие исследования показали, что развитие НГ и плакоидов непосредственно связано с индукцией нервной пластинки. На ранних стадиях нейтральной индукции граница между будущей головной частью нервной пластинки и эпидермисом содержит клетки, способные сформировать нервную ткань, производные НГ и плакоидов и эпидермис [7]. В результате индуктивных взаимодействий между клетками этой границы и нервной пластинкой, эпидермисом и подстилающей мезодермой область границы постепенно разделяется на два четких домена – будущего НГ, тесно примыкающего к нервной пластинке, и преплакоидного, расположенного чуть более латерально. В настоящее время нет сомнений, что у НГ и плакоидов много общих внешних черт – обе эти структуры формируются на границе нервной пластинки, могут образовывать многие типы клеток, включая чувствительные нейроны и секреторные клетки, и могут образовать мигрирующие клетки.

Сокращения: НГ – нервный гребень; ПГД – полногеномная дупликация; ЭМП – эпидермально-мезенхимный переход.

Клетки плакоидов образуют головные чувствительные ганглии и парные органы чувств, хрусталики глаз, нос и уши [8]. Если многие из головных чувствительных ганглиев содержат нейроны, полностью происходящие из плакоидов, то другие – тройничный, вестибулярный и слуховой ганглии – содержат нейроны, происходящие и из клеток НГ, и из плакоидов. Однако все вспомогательные клетки в этих ганглиях образованы только клетками НГ. Предполагается, что возникновение НГ играет ключевую роль в эволюции древних позвоночных в результате преобразования головы хордовых в так называемую “новую голову” с подвижными челюстями и специальными органами чувств, позволившую им шагнуть от фильтрующего пассивного питания их ланцетникоподобного предка к активной охоте [9]. Согласно другой, более поздней версии, обе эти структуры – независимые новации, которые сыграли ведущую роль в формировании головы позвоночных [10]. НГ снабдил ее лицевым скелетом и большинством костей черепа [11], а органы чувств, тесно связанные с мозгом, произошли от плакоидов [12]. Кроме того, клетки НГ стали неотъемлемой частью структуры мозга позвоночных, возможно, способствующей его усиленному росту [13]. Позже была обнаружена еще одна популяция клеток, производных НГ, – это столбовые клетки, поддерживающие эпителий жабр у зародышей рыбок *Danio*. Эта структура – ключевая в конструкции жабр у всех позвоночных [14].

В настоящее время известно, что клетки НГ участвуют в формировании всех тканей по всему организму, среди них нейроны, глия, шванновские клетки, хрящ, кости, гладкая мускулатура, пигментные клетки, клетки жировой ткани, эндокринной системы, ткани зубов и другие (подробнее в обзоре [15]). Поскольку клетки НГ, не смотря на свое кажущееся эктодермальное происхождение, формируют многочисленные типы клеток, считающиеся мезодермальными, включая кости и хрящи, НГ уподобили четвертому зародышевому листку, который наделил позвоночных потенциалом формировать многообразие новых типов клеток [16, 17].

ФОРМИРОВАНИЕ НЕРВНОГО ГРЕБНЯ – ИНДУКЦИЯ СО СТОРОНЫ НЕРВНОЙ ПЛАСТИНКИ ИЛИ НАПРЯМУЮ ИЗ КЛЕТОК БЛАСТУЛЫ?

Формирование НГ принято описывать в терминах и представлениях классической эмбриональной индукции. В онтогенезе формирование НГ может быть подразделено на несколько этапов, когда на клетки зародыша последовательно действуют определенные модули регуляторных факторов. Этот многоуровневый процесс запускается несколькими внеклеточными сигналами,

оказывающими действие на клетки границы нервной пластинки. Сигналы первого уровня, действующие на стадии гаструлы, обеспечиваются молекулами Wnt, BMP и FGF, которые на втором уровне активируют программу транскрипции генов, делающую границу нервной пластинки компетентной сформировать НГ и нервную трубку. У позвоночных высокий уровень BMP-сигнала активирует развитие эпидермиса путем активации генов транскрипционных факторов *Msx*, *Dlx* и *AP2*, и, напротив, ингибирование BMP-сигнала его антагонистом *Chordin* разрешает экспрессию генов нейральных маркеров *Sox2* (*SoxB*) и *Zic* в нервной пластинке [18]. В результате совместного действия индуктивных сигналов происходит усиление экспрессии модуля генов транскрипционных факторов второго уровня *Dlx*, *Msx*, *Zic* и *Pax3/7* – “спецификаторов границы нервной пластинки”. Экспрессия этих факторов происходит не только на границе нервной пластинки, но и в соседних областях. Они влияют не только на клетки будущего НГ, но и на другие популяции клеток “границы” – головные эктодермальные плакоиды, клетки Rohon-Beard (нейроны со свойствами механорецепторов, появляющиеся в раннем развитии рыб и амфибий и затем исчезающие). Сигнальная роль BMP в нейральной индукции и медиолатеральном распространении нейроэктодермы не только у позвоночных, но и у мух и кольчатых червей [19] свидетельствует о том, что два верхних уровня развития генной регуляторной сети НГ представляют собой древнюю, свойственную абсолютно всем двустороннесимметричным организмам, часть схемы установления границы между нейроэктодермой и эпидермисом.

“Уточнение границы” на третьем уровне обеспечивается взаимодействием внеклеточного сигнального модуля и модуля спецификаторов границы нервной пластинки, приводящим к активации “спецификаторов клеток НГ”. В него входят факторы транскрипции *Snail1/2*, *AP-2*, *FoxD3*, *Twist*, *Id*, *cMyc* и *Sox9/10* (*SoxE*), которые экспрессируются до и во время миграции клеток НГ. Эти факторы подавляют экспрессию маркера нервной трубки *Sox2* и ответственны за возможность совершить эпидермально-мезенхимный переход (ЭМП), позволяющий клеткам НГ покинуть нервную трубку, мигрировать и дифференцироваться в различные производные [18]. Спецификаторы клеток НГ контролируют экспрессию многочисленных эффекторных генов, регулирующих клеточную адгезию и мобильность, таких как гены кадгеринов [20–23] и GTPазы *Rho* [24]. В головной области НГ процесс ЭМП охватывает как минимум две фазы, первая – отслоение и отделение клеток от нейроэпителия (например, путем деэпителизации и снижения клеточной адгезии) и вторая – рассредоточение клеток (например, путем приобретения клетками свойств

мезенхимы и морфологических изменений, которые в итоге позволят клеткам начать миграцию [25]. Классическая модель ЭМП клеток НГ часто объясняется переключением экспрессии генов кадгеринов типа 1 – “эпителиальных” (*E-Cadherin*, *N-Cadherin*) – на экспрессию “мезенхимальных” кадгеринов типа 2 (*Cadherin-6*, *Cadherin-7*, *Cadherin-11*). Однако для инициации миграции клеток НГ древних позвоночных (миноги) несущественны изменения в экспрессии классических кадгеринов [26]. Согласно гипотезе авторов, клетки НГ эволюционировали при сохранении ими регуляторных программ, объединяющих определенные свойства мезенхимы и мультипотентности, и эмигрировали с нервной трубки без влияния изменений в экспрессии кадгеринов типа 1 и 2. Подробно о кадгеринах в клетках разных отделов НГ с момента его спецификации до появления мигрирующих клеток после ЭМП, о нюансах регуляции их экспрессии и функционирования у разных видов животных рассказано в недавнем вышедшем обзоре [27].

Использование техники липофильной окраски и покадровой съемки позволило проследить судьбу предшественников клеток НГ куриных эмбрионов во времени – от момента индукции до их обособления на нервной трубке [28]. Установлено, что во время гастрюляции в момент появления индуцирующего сигнала они разбросаны по бластодерме в обширной области, соответствующей зоне, продуцирующей BMP-4, вперемежку с другими нейродермальными предшественниками. Во время нейруляции граница нервной пластинки претерпевает видимые морфологические преобразования, и предшественники клеток эктодермы, плакоидов, НГ и нервной пластинки, исходно рассеянные по бластодерме, начинают пространственно обособляться и собираются в высокоорганизованные компактные структуры вдоль рострокаудальной и дорзовентральной осей. Обнаружено, что динамические смещения границы нервной пластинки и упорядочение различных клеточных объединений совпадают по времени со складыванием, скручиванием и сгибанием нервной пластинки в нервную трубку [28]. Эти наблюдения неожиданно продемонстрировали важность клеточных перемещений в процессе определения территории для клеток НГ (и, кстати, для других групп клеток – производных нейроэктодермы) во время нейруляции и их привязки к дорзальной стороне нервной трубки до начала отслоения. Различные скорости перемещения клеток и появление вследствие этого микродеформаций были также обнаружены на зародышах *Xenopus* на стадиях от бластулы до начала стадии хвостовой почки [29, 30]. Очевидно, что механические напряжения могут служить факторами, действующими на больших площадях, в отличие от градиентов морфогенов, действующих обычно более локаль-

но, и могут играть решающую роль в эмбриогенезе, обеспечивая сочетание морфогенеза с клеточной дифференцировкой [31].

Однако движения к сближению как таковые не могут объяснить, почему предшественники клеток НГ обособливаются от других клеток, с которыми они перемешаны, и собираются вместе. Существенно, как происходит отбор и дальнейшее слипание этих клеток. Изучение на рынках *Danio* спецификации предшественников вентральной части нервной трубки индуктивными сигналами Sonic hedgehog (Shh) [32] дало ключ к пониманию последовательности событий, возможно, ответственных за объединение клеток НГ после индукции. Так, у рыбок *Danio* и клетки, продуцирующие Shh в осевой мезодерме, и клетки, реагирующие на Shh в нервной трубке, подвижны и способны обмениваться соседями. Вместо того, чтобы быть неподвижными в неизменном эпителии, как часто предлагается в классических моделях. В результате в ткани появляются шумовые потоки морфогенов. Нейральные предшественники находятся все время в поле действия различных доз Shh, и перегруппировка различных нейральных производных нервной трубки в четко очерченные домены происходит благодаря механизму отбора клеток, действующему в постепенно “успокаивающейся” популяции. Спецификация и расстановка клеток разделены во времени, и отбор клеток служит для оптимизации их пространственного распределения с помощью индуктивных сигналов, в том числе BMP-4 и FGF, которые распространяются в широких областях бластодермы [28, 33].

Известно, что широкий потенциал развития клеток НГ сохраняется и после того, как другие клетки эктодермального происхождения окончательно дифференцируются. Однако остается неясным, как достигается этот явный выигрыш в потенциале развития. Много попыток предпринималось для выявления причин, по которым классическая эмбриональная индукция приводит к формированию клеток НГ, очевидно, имеющих больший потенциал развития, нежели те, из которых они произошли эмбриологически или эволюционно. Недавно выяснены общие молекулярные основы потенциальности клеток НГ и бластулы *Xenopus* [34]. Согласно современной модели, эти клетки игнорируют принцип нарастающих ограничений потенциала, но до сих пор не найден механизм, объясняющий очевидное обретение потенциала. Альтернативная, более экономичная модель причину образования клеток НГ связывает с тем, что они сохраняют схему регуляции, обеспечивающую плюрипотентность их предшественников на стадии бластулы, т.е. избирательное сохранение более ранних черт. Эта модель подтверждается общей потребностью в белке Мус и его транскрипционной мишени Id3 как в разви-

тии клеток НГ, так и в поддержании плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток [35]. Авторы [34] исследовали, какие факторы регуляции НГ, кроме *Myc*, *Id3* и *Sox5*, экспрессировались вместе с основным набором поддержания плюрипотентности в клетках бластулы *Xenopus*, и обнаружили, что это *Id3*, *TF-AP2*, *Ets1*, *FoxD3* и *Snail1*. Гены *FoxD3* и *Snail1*, как известно, также экспрессируются в мышечных эмбриональных стволовых клетках [36, 37], что убедительно доказывает связь на молекулярном уровне между факторами НГ и плюрипотентностью. Если указанные факторы широко экспрессируются на стадиях бластулы, то их экспрессия постепенно, по мере дифференцировки, ограничивается генами *Oct60*, *Sox3*, *Vent2*, *Ets1*, *Zic1*, *Pax3* и *Snail1*, экспрессия которых нарастает на границе нервной пластинки на стадиях поздней гаструлы. Показано также [34], что *Vent2* коэкспрессируется со *Snail2* на стадии поздней гаструлы/нейрулы, когда клетки НГ демонстрируют свой полный потенциал, но экспрессия *Vent2* снижается по мере того, как эти клетки начинают мигрировать. Блокирование функции *Snail1* в клетках анимального конца зародышей на стадии бластулы приводило к потере экспрессии факторов-спецификаторов клеток НГ, таких как *TF-AP2* и *Id3*, исчезала также экспрессия звена *Oct/Sox/Vent* регуляторной сети НГ. Такие же результаты получены и при блокировании *Sox5*. Следовательно, факторы регуляции НГ не только экспрессируются в плюрипотентных клетках бластулы, но и служат для поддержания экспрессии базовых факторов плюрипотентности. В изящных экспериментах эти авторы убедительно доказали, что эндогенные факторы *Snail* необходимы для индукции формирования мезодермы и эндодермы не только из плюрипотентных клеток бластулы, но и клеток границы нервной пластинки и НГ. В результате индукции эти клетки экспрессировали мезодермальные маркеры *Brachyury* и *MyoD* или маркеры эндодермы *Endodermis* и *Sox17*. В заключение вместо существующей модели образования НГ, согласно которой индукционные взаимодействия наделяют клетки НГ большим потенциалом развития, чем клетки, из которых они произошли в процессе развития или эволюции, авторы предлагают свою модель. Согласно предложенной модели, определенные клетки со свойством плюрипотентности стадии бластулы сохраняются до стадий нейрулы, когда они могут быть индуцированы к формированию всего разнообразия тканей, которые образуются из клеток НГ. Таким образом, клетки НГ появились вследствие сохранения ими генной регуляторной сети (всей или части), контролирующей плюрипотентность клеток бластулы, от которых они произошли. И их ранее не распознанная способность образовывать клетки эндодермы не только важна теоретически, но

и существенна для будущего регенеративной медицины.

Новая модель, предложенная авторами, указывает направление будущих исследований ранних хордовых для определения происхождения этих клеток. Так, у асцидий найдены клетки – производные клеток границы нервной пластинки, экспрессирующие *Snail*, *Id*, *FoxD* и *Ap2*, которые характерны и для плюрипотентных клеток бластулы, и для клеток НГ [38–40]. Авторы полагают, что клетки головной части НГ появились в результате привлечения одного или нескольких генов – спецификаторов мезенхимы (*Twist*, например) в регулярную сеть клеток зачаточного НГ. И, следовательно, эта загадочная популяция клеток, по мнению авторов, не должна считаться новацией позвоночных, а является результатом развития генной сети прародителя хордовых.

Необходимо учесть, что во многих работах авторы следили только за экспрессией мРНК. В наших работах показано, что пространственное и временное распределение мРНК не всегда совпадает с распределением соответствующего белка [41]. Объясняется это присутствием в клетках не транслируемых маскированных мРНК. Белок появляется только в результате активации трансляции на этих матрицах. Так, в хвостах зародышей амфибий *Xenopus* и рыб *Danio* мРНК *Vent2/Vox* является в мультипотентных клетках, находящихся в самом кончике хвоста. Белок же *Xvent2/Vox* с помощью иммуноокрашивания выявляется вдоль всего хвоста, в зоне мигрирующих клеток НГ [42]. Таким образом, при изучении генных регуляторных сетей необходимо учитывать все возможные уровни регуляции экспрессии генов (транскрипция, процессинг, транспорт и локализация мРНК, трансляция, активация функции белка).

На основании всех приведенных данных можно сделать вывод, что клетки НГ – это популяция клеток, которая (1) формируется на границе нервной пластинки, (2) сохраняет плюрипотентность, (3) экспрессирует набор маркеров НГ и (4), становясь мультипотентной, мигрирует от нервной трубки, чтобы дать начало многочисленным производным.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕННЫХ СЕТЕЙ НЕРВНОГО ГРЕБНЯ

Строго говоря, НГ считается особенностью позвоночных, однако сравнительные эмбриологические и молекулярно-биологические исследования родственных позвоночных хордовых животных, а именно ланцетников и оболочников, внесли важный вклад в понимание происхождения НГ в эволюции [43]. Если у ланцетника не обнаружено мигрирующих клеток НГ [44], то у раз-

ных видов асцидий найдены некие клетки со свойствами клеток НГ — способностью мигрировать и формировать меланоциты [45]. Эти открытия позволили предположить, что эволюционно НГ позвоночных возник ранее, и ланцетник стал считаться самым первым хордовым, а не таксоном, родственным позвоночным [46].

Секвенирование генома ланцетника *Branchiostoma floridae* [47] позволило сравнить сигнальные и генные регуляторные взаимодействия, происходящие на границе нервной пластинки у ланцетников и позвоночных [48]. Несмотря на отсутствие дифференцированного НГ у ланцетников, их геном содержит большинство гомологов регуляторных генов НГ позвоночных. Авторы идентифицировали гены, кодирующие молекулы индукторов, участвующих в каскадах *BMP*, *Wnt*, *FGF* и *Notch*. Идентифицированы также все факторы транскрипции, задействованные в регуляции НГ позвоночных, включая так называемые “спецификаторы”, т.е. гены, характерные только для границы нервной пластинки и НГ. Идентифицированы гомологи генов-медиаторов последующего развития клеток НГ позвоночных — миграции и дифференцировки — таких как *Rho*, *cRet*, *ErbB3*, *Mitf*, тирозиназы и тирозиназасвязывающих белков. Напротив, не нашли в ланцетнике гомолога гена *c-Kit*, ответственного за миграцию, выживание и дифференцировку меланоцитов, а также белка миелина *P0*, что согласуется с представлением о том, что миелиновые оболочки — это новшество позвоночных. Наличие всех мажорных сигнальных молекул и факторов транскрипции в регуляторной сети НГ позвоночных у ланцетника дает основание полагать, что эволюция НГ, вероятно, шла благодаря изменениям в архитектуре этой сети, т.е. новому сочетанию уже существующих генов на границе нервной пластинки. Исследование зародышей на точно установленных стадиях развития позволило получить динамичную картину изменений в экспрессии генов в раннем развитии ланцетника [48]. Показано, что до нейруляции гены, ответственные за индуктивные сигналы, экспрессируются подобно их гомологам у позвоночных, и можно полагать, что их роль в структурировании нейральной эктодермы консервативна. Однако у ланцетника все гомологи генов, образующих регуляторную сеть НГ, экспрессируются на различных территориях, но отсутствуют на границе нервной пластинки. Только *AmphiSnail* обнаруживался в домене предполагаемого НГ на стадии ранней нейрулы [48, 49]. Можно считать, что на этом, третьем, уровне у позвоночных к новой для них функции в НГ привлекаются различные уже существующие регуляторные гены. Интересно также, что многие из этих генов-маркеров НГ позвоночных в ланцетнике присутствуют в единственной копии, а у по-

звоночных есть множество паралога этих генов, вероятно, из-за геномных дупликаций.

В процессе эволюции позвоночных имели место два события полногеномной дупликации (ПГД), которые не были отмечены у родственных хордовых [50]. Эти две ПГД, очевидно, совпадают во времени с возникновением клеток НГ. Предполагается, что именно ПГД могли способствовать вычленению клеток НГ из клеток зачаточного образования, подобного НГ, найденного у беспозвоночных хордовых [51]. Работы на миногах показали, что генная регуляторная сеть НГ в базовом состоянии уже функционировала у бесчелюстных позвоночных [52], и, возможно, она возникла в эволюции при переходе от полухордовых к позвоночным. Анализ генома морской миноги *Petromyzon marinus* дал основание полагать, что предки миног и миксин дивергировали от позвоночных после второго раунда дупликации [53]. Однако существует и альтернативная модель, предполагающая только один раунд дупликации генома позвоночных с последующими частичными родоспецифичными дупликациями в геномах челюстных и круглоротых [54]. Так или иначе, появление клеток НГ могло быть результатом происходящих при этом процессов, таких как изменения паттернов экспрессии генов, появление новых генов после перетасовки и удвоения доменов, появление новых последовательностей в факторах транскрипции или привлечение новых генов и их продуктов (т.е. их использование не по прямому назначению), приводящее к образованию новых типов клеток. Предполагается, что гену для экспрессии в новом домене зародыша необходимы новые энхансеры *cis*-регуляции. Это предположение подтверждено при изучении паралога репрессора транскрипции *FoxD3* [55]. При изучении экспрессии *FoxD3*, гомолога *FoxD* позвоночных, выяснилось, что регуляция его работы у ланцетника в сомитах, нотохорде и передней части нервной трубки консервативна, а экспрессия его в НГ у позвоночных — нововведение. Более того, авторы показали, что именно N-концевой домен *FoxD3* длиной 39 аминокислот критичен для обеспечения способности индуцировать появление клеток НГ, и в этой новой для себя области он поддерживал плюрипотентность клеток НГ и препятствовал их дифференцировке в меланоциты. Это согласуется с предположением, что именно дупликация генов упростила процесс вовлечения имеющихся генов в регуляторную генную сеть НГ [48]. Подобным образом могли быть привлечены в генную сеть НГ и другие гены, например кодирующие факторы транскрипции *SoxE*. В зависимости от вида *Sox8*, *Sox9* или *Sox10* выполняли функции, иногда перекрывающиеся, в ранней спецификации клеток НГ, тогда как различные их паралоги были задействованы на других стадиях развития. Так, показано,

что один *Sox10* способен репрограммировать фибробласты в клетки НГ [56]. Позже белок *Sox10* будет контролировать дифференцировку меланоцитов, а *Sox9*, в свою очередь, дифференцировку клеток хряща [57, 58].

Среди известных гомологов эффекторных генов НГ обнаружена группа генов, вовлеченных в развитие пигментных клеток [48]. В нее входят гены транскрипционного фактора *Mitf*, меланин-синтезирующего фермента тирозиназы и тирозиназасвязывающих белков, т.е. консервативный набор генов дифференцировки для развития меланоцитов [59]. Интересно, что экспрессия этих же генов наблюдается и в пигментном пятне на нервной трубке ланцетника, которое станет первой пигментной клеткой светочувствительного органа. Однако, в отличие от клеток НГ, эти клетки никогда не покинут нервную трубку. Был сделан вывод, что мигрирующие пигментные клетки возникли после отделения ланцетников от оболочников и позвоночных, и этот тип клеток может представлять собой первые производные НГ в истории эволюции.

В связи с этим безусловный интерес представляет недавняя работа по изучению потенциала развития эмбриональных клеток морской анемоны *Nematostella* [60]. Авторы наблюдали поведение агрегатов клеток диссоциированных целых зародышей на стадии средней гастролы и процессы реформирования осей тела и зародышевых листков животного. Полноту диссоциирования и ход процесса самосборки контролировали методом *in situ* гибридизации с маркерами оральной конца *Wnt1*, *Wnt3*, *Wnt4*, *Bra* и *FoxA*, маркером туловища *Wnt2*, маркером подошвы *FGFa1*, маркером энтодермы *SnailA* и маркерами определения оси тела *BMP2/4* и *Chordin*. Выявлено, что агрегаты диссоциированных эмбриональных клеток *Nematostella* способны восстановить зародышевые листки и правильное расположение оси тела. Такие же результаты получены и при диссоциации-ассоциации клеток оральной половины зародыша, но не его подошвенной половины. Энтодермальные клетки в агрегатах сохраняли свою идентичность энтодермальным клеткам и не могли превратиться в клетки эктодермы, и их ранее определенная судьба была необратима. Полип не образовывался, но часть клеток со временем становилась мезенхимными. Однако клетки эктодермы, напротив, были способны превратиться в энтодерму и сформировать нормальный полип. Так происходило, только если среди эктодермальных клеток попадались клетки дорзальной губы бластопора, продуцирующие сигналы *Bmp* и далее *Wnt*, необходимые для формирования осей зародыша и дальнейшего нормального развития.

Ранее Martindale и соавт. [61] исследовали динамику экспрессии генов актинии *Nematostella*,

гомологи которых у двустороннесимметричных животных ассоциированы с формированием мезодермы или дифференцировкой ее производных (*NvsnailA*, *Nv-snailB*, *Nv-twist*, *Nv-GATA*, *Nv-mef2*, *Nv-forkhead* and *Nv-muscle LIM*). Обсуждалась гипотеза о том, что двуслойные кишечнополостные могли вторично потерять третий слой, иначе как можно объяснить наличие в их геноме большинства, если не всех, генов, ответственных у билатеральных за развитие мезодермы *brachyury*, *snail*, *twist*, *mef2* и *MyoD*-подобного фактора. Наличие этих “мезодермальных” генов и у книдарий, и у билатералий предполагает три сценария эволюции. Первый – они появились задолго до появления мезодермы и не играли роли в спецификации зародышевых слоев. И, следовательно, были в дальнейшем задействованы в генной сети формирования мезодермы у билатералий. Второй – они появились задолго до появления мезодермы и играли роль в спецификации зародышевых листков (энтодерма или эктодерма) у общего предка. Приведенные авторами результаты позволили им предложить и третий сценарий – когда появление трехслойности предшествовало отделению билатералий от книдарий. Стрекающие гидромедузы трехслойны, так как у них есть тканевой слой, не относящийся ни к энтодерме, ни к эктодерме, – энтокодон. Этот слой происходит из эктодермы полипа, а не из энтодермы, и является гомологом мезодермы. Однако ни один из исследованных генов не экспрессировался преимущественно в мезодерме – они обнаружены в различных группах клеток вокруг рта или глотки, у основания щупалец, в эктодерме. Результаты, представленные в двух этих работах, позволяют предположить, что гены *snail*, *twist*, *fox* (свойственны стволовым клеткам [36, 37] и клеткам НГ [34, 48]) экспрессировались в находящихся в этом районе предшественниках мультипотентных клеток (или клеток зачаточного НГ), которые, получив первичный сигнал (*Bmp* и *Wnt*), вступают на путь последовательного развития.

Недавно показано [62], что эктодерма глотки *Nematostella*, а не гастродермальная энтодерма, состоит из типов клеток и содержит факторы транскрипции, свойственные энтодерме билатералий. Полученные результаты плохо согласуются с общепринятой гипотезой гомологии зародышевых слоев. Авторы пришли к заключению, что у коралловых полипов эктодерма глотки схожа одновременно и с эктодермальной, и с энтодермальной составляющей кишки билатералий, следовательно, мезодерма не является специфическим признаком билатералий, а эмбриональные ткани, соответствующие энтодерме и мезодерме билатералий, существовали и разделились до появления общего предка полипов и двустороннесимметричных животных. Немного ранее при анализе экспрессии генов *forkhead* и *snail* у зароды-

дышей и личинок *Nematostella vectensis* [63] обнаружено, что *forkhead* экспрессировался на краю бластопора, т.е. на границе между эктодермой и энтодермой, и отмечал место будущей глотки полипа. Напротив, *snail* локализуется в комплементарной зоне и метит все новые клетки энтодермы. Детальный анализ экспрессии этих генов дал основание полагать, что формирование энтодермы у этого древнего полипа сопровождается довольно сложными изменениями клеток, включая ЭМП и морфогенетические сдвиги. Авторы предполагают, что ген *forkhead* служит геном-прародителем бластопора и одного его производного, эктодермальной глотки. Историческая консервация генов группы *brachyury*, *forkhead* и других предполагает появление и совместную эволюцию соответствующих древних факторов транскрипции в области бластопора в эволюции ранних многоклеточных. А поскольку *forkhead* также играет важную роль в формировании дорзо-вентральной оси тела позвоночных, авторы предполагают, что бластопор — организатор формирования осей тела и формирования мезодермы в процессе эволюции многоклеточных.

При исследовании нервной системы *Nematostella* выяснилось, что ее развитие находится на сравнительно низком уровне сложности, и это позволяет предположить консервативность главных программ нейрогенеза у *Nematostella* и билатералей. Однако данные паттернов экспрессии свидетельствуют о некоторых особенностях появления и развития нервных клеток [64]. Так, у двустороннесимметричных животных сигнальный путь Notch регулирует нейрогенез: влияет на принятие стволовой клеткой во время несимметричных делений решения, остаться самообновляющейся стволовой клеткой или покинуть клеточный цикл и дифференцироваться в какой-нибудь подтип нервных клеток. У *Nematostella* ген *NvFox-Q2d* служит маркером клеток-предшественников в развивающейся нервной системе, а перекрытие сигнального пути Notch не приводит к одностороннему росту числа нейронов, и, следовательно, у клеток *Nematostella*, очевидно, сохраняется некий древний Notch-независимый механизм выбора путей пролиферации или дифференцировки.

ПРОИЗВОДНЫЕ НЕРВНОГО ГРЕБНЯ

Клетки НГ разных уровней относительно оси зародыша могут формировать разные, иногда сходные, типы клеток. На зародышах амфибий впервые было установлено, что клетки НГ мультипотентны и регионализированны относительно оси [2, 65]. На зародышах кур показано, что в зависимости от исходного расположения относительно оси зародыша и от того, частью каких тканей они в итоге станут, клетки НГ условно под-

деляют на головные, кардиальные, вагусные, туловищные и крестцовые [66, 67]. Головной участок НГ охватывает области переднего, среднего и переднюю часть ромбовидного мозга. Вагусный отдел включает заднюю часть ромбовидного мозга на уровне 1–7 сомитов. Туловищный отдел включает шейный и грудной на уровне 8–28 сомитов. И пояснично-крестцовый отдел НГ соответствует области за 28 сомитом. В изящных опытах по пересадке нервной трубки зародышей куропаток на место нервной трубки в куриных эмбрионах определено, какие производные образуются из клеток НГ разных уровней относительно оси. Так, показано, что клетки НГ головы дают начало большей части костей и хрящей лицевого скелета, чувствительным нервам, глии и шванновским клеткам головных ганглиев, а также гладкой мускулатуре и пигментным клеткам, эндотелию и строме роговицы. Субпопуляция клеток головного НГ, называемая кардиальным НГ, расположенная в районе 3 сомита, дает начало клеткам, мигрирующим и образующим глоточные дуги 3, 4 и 6, и вносит вклад в развитие клапанов, перегородок сердца и ткани выстилки эндокардия, которые затем формируют выносящую систему сердца.

Клетки НГ вагусного отдела образуют нервную систему желудочно-кишечного тракта, сначала в роstralной области, а затем далее, в хвостовой части. Однако при изучении развития нервной системы внутренних органов морской миноги не обнаружено свидетельств существования кишечной популяции клеток — производных вагусного отдела НГ. Использование метода липофильного окрашивания показало, что поздние мигрирующие клетки, происходящие из клеток туловищного отдела нервной трубки и связанные с нервными волокнами, дифференцируются в нейроны в стенке кишки и тифлозоля (этот орган представляет собой свешивающуюся со спинной стороны в кишечник продольную складку его стенки) [68].

Клетки НГ туловища дифференцируются в меланоциты, секреторные клетки, в нейроны и глию периферической нервной системы, образуя задние корешки спинного мозга и симпатические ганглии.

Клетки НГ крестцового отдела, как и туловища, также станут клетками нервной системы внутренних органов, но в меньшей степени, чем клетки НГ вагусного отдела.

Меланоциты, например, образуются из клеток всех отделов НГ, а лицевые кости и хрящи только из клеток головного отдела. Следовательно, в зависимости от расположения вдоль оси существуют различия в потенциале клеток НГ образовывать различные производные. Однако при определенных условиях культивирования клетки

туловищного отдела НГ могут сформировать нечто похожее на хрящ. В экспериментах по клонообразованию отдельных клеток НГ птиц в наиболее оптимальных средах показано, что мультипотентные предшественники в головном участке НГ сосуществуют вместе с клетками с ограниченным потенциалом. В большинстве своем (более 86%) мигрирующие клетки раннего головного НГ наделены обоими потенциалами развития – нейрально/меланоцитным и мезенхимным. Культивируемые клетки туловищного отдела НГ содержат маркеры как остеобластов, так и адипоцитов, однако в среде без добавок они могли образовать только хондроциты и клетки кости, а для формирования жировой ткани им были необходимы определенные дополнительные питательные вещества. На основании полученных данных авторы делают выводы, что клетки туловищного отдела НГ, приобретшие фенотип нервной ткани или меланоцитов, *in vivo*, скорее всего, произошли от предшественника, имеющего также и спящий потенциал образовывать соединительную ткань, кости или адипоциты, который не проявляется при нормальном развитии [69]. Такой эффект эмбрионального окружения клеток туловищного НГ можно объяснить либо присутствием ингибиторных сигналов, либо отсутствием стимулирующих. На принятие решений клетками могут влиять изменения активности регуляторных генов, таких как *Sox10*, *Sox9*, *Twist1*, *Ets1* и *FoxD3*, определяющих спецификацию мультипотентности клеток раннего НГ [21, 22]. Данные, полученные на мышцах и рыбах *Danio*, показывают, что снижение активности *Sox10* и *FoxD3* приводит к появлению предшественников мезенхимы в головном отделе НГ. Сообщалось также о возможности превращения *in vitro* клеток туловищного отдела НГ с нейрональной ориентацией на ранних стадиях развития мышечной клетки с мезенхимной ориентацией [70]. Данные о том, что клетки туловищного отдела НГ сохранили некоторую остаточную способность формировать эктомезенхиму, согласуются с гипотезой, что когда-то из этих клеток образовывался экзоскелет древних челюстноротых. В ходе эволюции позвоночных эта способность постепенно утратилась [71]. Экзоскелет был замещен внутренним скелетом мезодермального происхождения. У костных рыб, таких как *Danio*, дистальные косточки плавников, вероятно, представляют собой остатки древнего скелета – производного туловищного отдела НГ. Интересно, что, будучи выделенными в начале миграции и культивируемыми *in vitro* или гетеротипически трансплантированными *in vivo*, клетки НГ каждой популяции, независимо от своей принадлежности к определенному типу, обладают возможностью дифференцироваться в производные клеток из другой территориальной популяции [69, 72].

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ У ВЗРОСЛЫХ ЖИВОТНЫХ – ПРОИЗВОДНЫЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ШВАННОВСКИХ КЛЕТОК НЕРВНОГО ГРЕБНЯ

Изучение многих ископаемых останков показывает, что размеры тела первых позвоночных, как и ныне живущих беспозвоночных, весьма малы [21]. Только позже позвоночные обрели большие размеры, вероятно, в результате процесса увеличения продолжительности постэмбрионального роста. Продолжающийся рост требовал скоординированного развития многих типов клеток, возможно, включая появление ниш стволовых клеток, обуславливающих рост и регенерацию новых тканей. До недавнего времени было неясно, как сохраняются и поддерживаются популяции клеток НГ у взрослых. Известно, что у амниот популяции стволовых клеток НГ поддерживают состояние мультипотентности и могут обеспечить непрерывное восполнение тканей – производных клеток НГ [73, 74], таким образом облегчая их постэмбриональный рост без нарушения других тканей. Эти клетки, названные предшественниками шванновских клеток, остаются на периферических нервах и могут образовывать многочисленные производные, включая пигментные клетки и парасимпатические ганглии [75–80]. Остается открытым вопрос, совпадает ли генная регуляторная сеть, отвечающая за дифференцировку этих стволовых клеток НГ, с таковой эмбриональных клеток-предшественников. До сих пор такие клетки были идентифицированы только у амниот (млекопитающих и птиц), однако необходимость в них очевидна и у других позвоночных, и, вероятно, такие клетки все же появились у первых позвоночных. Предполагается, что влияние НГ в формировании плана тела позвоночных может распространяться и на период постэмбрионального развития, что выражается во влиянии на увеличение размеров тела у некоторых видов. Поскольку позвоночные продолжают расти и постэмбрионально, им должны быть необходимы отложенные про запас популяции стволовых клеток НГ в форме предшественников шванновских клеток [78, 79]. Доля тканей, происходящих из этих стволовых клеток НГ во взрослом организме, до сих пор не известна. Однако становится ясным, что им принадлежат производные, ранее считавшиеся производными эмбрионального НГ.

НЕЙРОКРИСТОПАТИИ

Известно, что нарушения в развитии клеток НГ приводят к врожденным порокам, включая черепно-лицевые и сердечные аномалии, нарушения развития внутренних органов, потерю пигментации. Неограниченное же их размножение может привести к развитию различных агрес-

сивных типов опухолей [81, 82]. Изучение механизмов, контролирующих зарождение, миграцию и конечную специализацию клеток НГ, помогает понять процесс эволюции позвоночных и разработать методы терапии нарушений развития клеток НГ, известных под общим названием “нейрокринопатии”, предложенным в 1974 году [83]. С тех пор стало очевидно, что нарушения в экспрессии генов на любой стадии развития клеток НГ (индукции, спецификации, отслоения, миграции, пролиферации, межклеточных взаимодействий или дифференцировки) или любых производных клеток НГ (периферических нейронов, глии, соединительной ткани, костей, секреторных клеток, проводящей системы сердца и др.) могут стать причиной болезни [84].

Недавно впервые показано, что фактор транскрипции MitF помимо функции в спецификации и выживании предшественников меланоцитов – меланобластов – во время ранней миграции клеток НГ играет существенную роль в подавлении в меланоцитах экспрессии генов системы врожденного иммунитета [85]. Эта супрессорная роль продемонстрирована на мышах, предрасположенных к седине. При искусственном вызове иммунного ответа у таких животных снижалось количество меланоцитов, появлялась седая шерсть и повышался уровень интерферона 1 в меланоцитах и во всей коже. Ранее было известно, что при стрессе (необходимости синтезировать избыток меланина или воздействии химических агентов) меланоциты выделяют индукторы воспаления, активирующие систему врожденного иммунитета, что может стать пусковым событием в развитии болезни витилиго [86].

При некоторых нейрокринопатиях происходят изменения в регуляции экспрессии кадгеринов [82]. Например, причиной болезни Гиршпрунга (аганглиоз кишечника) с синдромом Мовата-Вильсона служит нарушение экспрессии Sip1 (белка, связанного с белком выживания моторных нейронов 1, влияющего на содержание E-кадгерина). Более того, мутации в гене *Snail2*, регуляторе экспрессии многих видов кадгеринов, обнаружены у больных с синдромом Ваарденбурга типа 2D (имеющих “греческий профиль”). И, наконец, синдром CHAGE (сокращение от названий симптомов на английском языке – колобома, патология сердца, атрезия хоан, задержка роста и развития, патология гениталий и патология уха) можно воспроизвести у зародышей *Xenopus* при ослаблении экспрессии эффекторных генов ЭМП *Snail2* и *Twist*. Кроме того, в нейробластомах и меланомах – опухолях из производных клеток НГ, понижен уровень N-кадгерина, что облегчает их инвазию. Также наблюдается рост и инвазивность меланом, содержащих матриксные металлопротеиназы MMP-1, -2 и -9 [82].

Работа выполнена в рамках программы ФАНО РФ (проект № 0104-2018-0022).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. His W. (1868) *Untersuchungen uber die erste Anlage des Wirbeltierleibes: die erste Entwicklung des Huhnehens im Ei*. Leipzig: Vogel FCW.
2. Horstadius S. (1950) *The neural crest: its properties and derivatives in the light of experimental research*. London: Oxford University Press.
3. Katschenko N. (1888) Zur entwicklungsgeschichte der selachierembryos. *Anatomischer Anzeiger*. **3**, 445–467.
4. Muñoz W.A., Trainor P.A. (2015) Neural crest cell evolution: how and when did a neural crest cell become a neural crest cell. *Curr. Top. Dev. Biol.* **111**, 3–26.
5. Stone L.S. (1928) Problems concerning the origin and development of the neural crest and cranial ganglia in the vertebrates. *Yale J. Biol. Med.* **1**, 7–14.
6. Stone L.S. (1929) Experiments showing the role of migrating neural crest (mesectoderm) in the formation of head skeleton and loose connective tissue in *Rana palustris*. *Wilhelm Roux Arch. Entwickl Mech Org.* **118**, 40–77.
7. Saint-Jeannet J.P., Moody S.A. (2014) Establishing the pre-placodal region and breaking it into placodes with distinct identities. *Dev. Biol.* **389**, 13–27.
8. Graham A., Shimeld S.M. (2013) The origin and evolution of the ectodermal placodes. *J. Anat.* **222**, 32–40.
9. Northcutt R.G., Gans C. (1983) The genesis of neural crest and epidermal placodes: a reinterpretation of vertebrate origins. *Q. Rev. Biol.* **58**, 1–28.
10. Abitua P.B., Gainous T.B., Kaczmarczyk A.N., Winchell C.J., Hudson C., Kamata K., Nakagawa M., Tsuda M., Kusakabe T.G., Levine M. (2015) The pre-vertebrate origins of neurogenic placodes. *Nature*. **524**, 462–465.
11. Couly G.F., Coltey P.M., Le Douarin N.M. (1993) The triple origin of skull in higher vertebrates: a study in quail-chick chimeras. *Development*. **117**, 409–429.
12. Le Douarin N.M., Dupin E. (2012) The neural crest in vertebrate evolution. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **22**, 381–389.
13. Le Douarin N.M., Couly G., Creuzet S.E. (2012) The neural crest is a powerful regulator of pre-otic brain development. *Dev. Biol.* **366**, 74–82.
14. Mongera A., Singh A.P., Levesque M.P., Chen Y.Y., Konstantinidis P., Nüsslein-Volhard C. (2013) Genetic lineage labeling in zebrafish uncovers novel neural crest contributions to the head, including gill pillar cells. *Development*. **140**, 916–925.
15. Hall B.K. (1997) Germ layers and the germ-layer theory revisited: primary and secondary germ layers, neural crest as a fourth germ layer, homology, demise of the germ-layer theory. *Evol. Biol.* **30**, 121–186.
16. Hall B.K. (2000) The neural crest as a fourth germ layer and vertebrates as quadroblastic not triploblastic. *Evol. Dev.* **2**, 3–5.

17. Hall B.K. (2018) Germ layers, the neural crest and emergent organization in development and evolution. *Genesis*. e23103. doi 10.1002/dvg.23103
18. Meulemans D., Bronner-Fraser M. (2004) Gene-regulatory interactions in neural crest evolution and development. *Dev. Cell*. **7**, 291–299.
19. DeRobertis E.M., Kuroda H. (2004) Dorsal–ventral patterning and neural induction in *Xenopus* embryos. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **20**, 285–308.
20. Duband J.L., Dady A., Fleury V. (2015) Resolving time and space constraints during neural crest formation and delamination. *Curr. Top. Dev. Biol.* **111**, 27–67.
21. Green S.A., Simoes-Costa M., Bronner M.E. (2015) Evolution of vertebrates as viewed from the crest. *Nature*. **520**, 474–482.
22. Simões-Costa M., Bronner M.E. (2015) Establishing neural crest identity: a gene regulatory recipe. *Development*. **142**, 242–257.
23. Halbleib J.M., Nelson W. J. (2006) Cadherins in development: Cell adhesion, sorting, and tissue morphogenesis. *Gen. Dev.* **20**, 3199–3214.
24. Kalcheim C. (2015) Epithelial-mesenchymal transitions during neural crest and somite development. *J. Clin. Med.* **5**, pii: E1. doi 10.3390/jcm5010001
25. Taneyhill L.A., Schiffmacher A.T. (2013) Cadherin dynamics during neural crest cell ontogeny. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* **116**, 291–315.
26. York J.R., Yuan T., Zehnder K., McCauley D.W. (2017) Lamprey neural crest migration is Snail-dependent and occurs without a differential shift in cadherin expression. *Dev. Biol.* **428**, 176–187.
27. Taneyhill L.A., Schiffmacher A.T. (2017) Should I stay or should I go? Cadherin function and regulation in the neural crest. *Genesis*. **55**, e23028. doi 10.1002/dvg.23028
28. Ezin A.M., Fraser S.E., Bronner-Fraser M. (2009) Fate map and morphogenesis of presumptive neural crest and dorsal neural tube. *Dev. Biol.* **330**, 221–236.
29. Belousov L.V., Luchinskaia N.N., Stein A.A. (2000) Tension-dependent collective cell movements in the early gastrula ectoderm of *Xenopus laevis* embryos. *Dev. Genes Evol.* **210**, 92–104.
30. Евстифеева А.Ю., Белоусов Л.В. (2016) Микродеформации поверхности и регуляция клеточных движений в развитии шпорцевой лягушки. *Онтогенез*. **47**, 3–14.
31. Eroshkin F.M., Zaraisky A.G. (2017) Mechano-sensitive regulation of gene expression during the embryonic development. *Genesis*. **55**, e23026. doi 10.1002/dvg.23026
32. Xiong F., Tentner A.R., Huang P., Gelas A., Mosaliganti K.R., Souhait L., Rannou N., Swinburne I.A., Obholzer N.D., Cowgill P.D., Schier A.F., Megason S.G. (2013) Specified neural progenitors sort to form sharp domains after noisy Shh signaling. *Cell*. **153**, 550–561.
33. Stuhlmiller T.J., Garcia-Castro M.I. (2012) FGF/MAPK signaling is required in the gastrula epiblast for avian neural crest induction. *Development*. **139**, 289–300.
34. Buitrago-Delgado E., Nordin K., Rao A., Geary L., LaBonne C. (2015) Shared regulatory programs suggest retention of blastula-stage potential in neural crest cells. *Science*. **348**, 1332–1335.
35. Light W., Vernon A.E., Lasorella A., Iavarone A., LaBonne C. (2005) *Xenopus* Id3 is required downstream of *Myc* for the formation of multipotent neural crest progenitor cells. *Development*. **132**, 1831–1841.
36. Liu Y., Labosky P.A. (2008) Regulation of embryonic stem cell self-renewal and pluripotency by Foxd3. *Stem Cells*. **26**, 2475–2484.
37. Lin Y., Li X. Y., Willis A.L., Liu C., Chen G., Weiss S.J. (2014) Snail1-dependent control of embryonic stem cell pluripotency and lineage commitment. *Nat. Commun.* **5**, 3070. doi 10.1038/ncomms4070
38. Abitua P.B., Wagner E., Navarrete I.A., Levine M. (2012) Identification of a rudimentary neural crest in a non-vertebrate chordate. *Nature*. **492**, 104–107.
39. Jeffery W.R., Strickler A.G., Yamamoto Y. (2004) Migratory neural crest-like cells form body pigmentation in a urochordate embryo. *Nature*. **431**, 696–699.
40. Jeffery W.R., Chiba T., Krajka F.R., Deyts C., Satoh N., Joly J.S. (2008) Trunk lateral cells are neural crest-like cells in the ascidian *Ciona intestinalis*: insights into the ancestry and evolution of the neural crest. *Dev. Biol.* **324**, 152–160.
41. Pshennikova E., Voronina A. (2012) Expression of the transcription factor *Xvent-2* in *Xenopus laevis* embryogenesis. *Am. J. Mol. Biol.* **2**, 124–131.
42. Pshennikova E.S., Voronina A.S. (2016) The proteins of Vent-family and their mRNAs are located in different areas of the tails of Zebrafish and *Xenopus* embryos. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **79**, 388–392.
43. Gans C., Northcutt R.G. (1983) Neural crest and the origin of vertebrates. A new head. *Science*. **20**, 268–274.
44. Meulemans D., Bronner-Fraser M. (2004) Gene-regulatory interactions in neural crest evolution and development. *Dev. Cell*. **7**, 291–299.
45. Jeffery W.R. (2006) Ascidian neural crest-like cells: Phylogenetic distribution, relationship to larval complexity, and pigment cell fate. *J. Exp. Zool. Part B Mol. Dev.* **306**, 470–480.
46. Boutilier S.J., Juliusdottir T., Lowe C.J., Freeman R., Aronowicz J., Kirschner M., Lander E.S., Thorndyke M., Nakano H., Kohn A.B., Heyland A., Moroz L.L., Copley R.R., Telford M.J. (2006) Deuterostome phylogeny reveals monophyletic chordates and the new phylum Xenoturbellida. *Nature*. **444**, 85–88.
47. Putnam N., Butts T., Ferrier D.E.K., Furlong R.F., Hellsten U., Kawashima T., Robinson-Rechavi M., Shoguchi E., Terry A., Yu J.K., Benito-Gutiérrez E.L., Dubchak I., Garcia-Fernández J., Gibson-Brown J.J., Grigoriev I.V., Horton A.C., de Jong P.J., Jurka J., Kapitonov V.V., Kohara Y., Kuroki Y., Lindquist E., Lucas S., Osoegawa K., Pennacchio L.A., Salamov A.A., Satou Y., Sauka-Spengler T., Schmutz J., Shin-I T., Toyoda A., Bronner-Fraser M., Fujiyama A., Holland L.Z., Holland P.W., Satoh N., Rokhsar D.S. (2008) The amphioxus genome and the evolution of the chordate karyotype. *Nature*. **453**, 1064–1071.
48. Yu J.K., Meulemans D., McKeown S.J., Bronner-Fraser M. (2008) Insights from the amphioxus genome on

- the origin of vertebrate neural crest. *Genome Res.* **18**, 1127–1132.
49. Yu J.-K. (2010) The evolutionary origin of the vertebrate neural crest and its developmental gene regulatory network – insights from amphioxus. *Zoology* (Jena). **113**, 1–9.
 50. Holland P.W., Garcia-Fernandez J., Williams N.A., Sidow A. (1994) Gene duplications and the origins of vertebrate development. *Dev. Suppl.* 125–133.
 51. Abitua P.B., Wagner E., Navarrete I.A., Levine M. (2012) Identification of a rudimentary neural crest in a non-vertebrate chordate. *Nature*. **492**, 104–107.
 52. Sauka-Spengler T., Meulemans D., Jones M., Bronner-Fraser M. (2007) Ancient evolutionary origin of the neural crest gene regulatory network. *Dev. Cell.* **13**, 405–420.
 53. Green S.A., Bronner M.E. (2014) The lamprey: a jawless vertebrate model system for examining origin of the neural crest and other vertebrate traits. *Differentiation*. **87**, 44–51.
 54. Smith J.J. (2015) The sea lamprey meiotic map resolves ancient vertebrate genome duplications. *Genome Res.* **25**, 1081–1090.
 55. Ono H., Kozmik Z., Yu J.-K., Wada H. (2014) A novel N-terminal motif is responsible for the evolution of neural crest-specific gene-regulatory activity in vertebrate FoxD3. *Dev. Biol.* **385**, 396–404.
 56. Kim Y.J., Lim H., Li Z., Oh Y., Kovlyagina I., Choi I.Y., Dong X., Lee G. (2014) Generation of multipotent induced neural crest by direct reprogramming of human postnatal fibroblasts with a single transcription factor. *Cell Stem Cell.* **15**, 497–506.
 57. Bronner M.E., LeDouarin N.M. (2012) Development and evolution of the neural crest: an overview. *Dev. Biol.* **366**, 2–9.
 58. Kim J., Lo L., Dormand E., Anderson D.J. (2003) OX10 maintains multipotency and inhibits neuronal differentiation of neural crest stem cells. *Neuron*. **38**, 17–31.
 59. Simoes-Costa M., Bronner M.E. (2013) Insights into neural crest development and evolution from genomic analysis. *Genome Res.* **23**, 1069–1080.
 60. Kirillova A., Genikhovich G., Pukhlyakova E. (2018) Germ-layer commitment and axis formation in sea anemone embryonic cell aggregates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **115**, 1813–1818.
 61. Martindale M.Q., Pang K., Finnerty J.R. (2004) Investigating the origins of triploblasty: ‘mesodermal’ gene expression in a diploblastic animal, the sea anemone *Nematostella vectensis* (phylum, Cnidaria; class, Anthozoa). *Development*. **131**, 2463–2474.
 62. Steinmetz P.R.H., Aman A., Kraus J.E.M., Technau U. (2017) Gut-like ectodermal tissue in a sea anemone challenges germ layer homology. *Nat. Ecol. Evol.* **1**, 1535–1542.
 63. Fritzenwanker J.H., Saina M., Technau U. (2004) Analysis of forkhead and snail expression reveals epithelial–mesenchymal transitions during embryonic and larval development of *Nematostella vectensis*. *Dev. Biol.* **275**, 389–402.
 64. Busengdal H., Rentsch F. (2017) Unipotent progenitors contribute to the generation of sensory cell types in the nervous system of the cnidarian *Nematostella vectensis*. *Dev. Biol.* **431**, 59–68.
 65. H orstadius S. (1973) *Experimental embryology of echinoderms*. Oxford, England: Clarendon Press.
 66. Le Douarin N.M. (2004) The avian embryo as a model to study the development of the neural crest: a long and still ongoing story. *Mech. Dev.* **121**, 1089–1102.
 67. Le Douarin N.M., Dupin E. (2018) The “beginnings” of the neural crest. *Dev. Biol.* pii: S0012-1606(17)30882-5. doi 10.1016/j.ydbio.2018.07.019
 68. Green S.A., Uy B.R., Bronner M.E. (2017) Ancient evolutionary origin of vertebrate enteric neurons from trunk-derived neural crest. *Nature*. **544**, 88–91.
 69. Coelho-Aguiar J.M., Le Douarin N.M., Dupin E. (2013) Environmental factors unveil dormant developmental capacities in multipotent progenitors of the trunk neural crest. *Dev. Biol.* **384**, 3–25.
 70. John N., Cinelli P., Wegner M., Sommer L. (2011) Transforming growth factor β -mediated Sox10 suppression controls mesenchymal progenitor generation in neural crest stem cells. *Stem Cells*. **29**, 689–699.
 71. Donoghue P.C.J., Graham A., Kelsh R.N. (2008) The origin and evolution of the neural crest. *Bioessays*. **30**, 530–541.
 72. Dupin E., Coelho-Aguiar J.M. (2013) Isolation and differentiation properties of neural crest stem cells. *Cytometry A*. **83**, 38–47.
 73. Jinno H., Morozova O., Jones K.L., Biernaskie J.A., Paris M., Hosokawa R., Rudnicki M.A., Chai Y., Rossi F., Marra M.A., Miller F.D. (2010) Convergent genesis of an adult neural crest-like dermal stem cell from distinct developmental origins. *Stem Cells*. **28**, 2027–2040.
 74. Morrison S.J., White P.M., Zock C., Anderson D.J. (1999) Prospective identification, isolation by flow cytometry, and in vivo self-renewal of multipotent mammalian neural crest stem cells. *Cell*. **96**, 737–749.
 75. Dyachuk V., Furlan A., Shahidi M.K., Giovenco M., Kaukua N., Konstantinidou C., Pachnis V., Memic F., Marklund U., M ller T., Birchmeier C., Fried K., Ernfors P., Adameyko I. (2014) Neurodevelopment. Parasympathetic neurons originate from nerve-associated peripheral glial progenitors. *Science*. **345**, 82–87.
 76. Espinosa-Medina I., Outin E., Picard C.A., Chettouh Z., Dymecki S., Consalez G.G., Coppola E., Brunet J.F. (2014) Neurodevelopment. Parasympathetic ganglia derive from Schwann cell precursors. *Science*. **345**, 87–90.
 77. Espinosa-Medina I., Jevans B., Boismoreau F. (2017) Dual origin of enteric neurons in vagal Schwann cell precursors and the sympathetic neural crest. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **114**, 11980–11985.
 78. Adameyko I., Lallemand F., Aquino J.B., Pereira J.A., Topilko P., M ller T., Fritz N., Beljajeva A., Mochii M., Liste I., Usoskin D., Suter U., Birchmeier C., Ernfors P. (2009) Schwann cell precursors from nerve innervation are a cellular origin of melanocytes in skin. *Cell*. **139**, 366–379.
 79. Adameyko I., Lallemand F., Furlan A.Y. (2012) Sox2 and Mitf cross-regulatory interactions consolidate pro-

- genitor and melanocyte lineages in the cranial neural crest. *Development*. **139**, 397–410.
80. Krause M.P., Dworski S., Feinberg K., Jones K., Johnston A.P., Paul S., Paris M., Peles E., Bagli D., Forrest C.R., Kaplan D.R., Miller F.D. (2014) Direct genesis of functional rodent and human schwann cells from skin mesenchymal precursors. *Stem. Cell Reports*. **3**, 85–100.
81. Butler Tjaden N.E., Trainor P.A. (2013) The developmental etiology and pathogenesis of Hirschsprung disease. *Transl. Res.* **162**, 1–15.
82. Zhang D., Ighaniyan S., Stathopoulos L., Rollo B., Landman K., Hutson J., Newgreen D. (2014) The neural crest: a versatile organ system. *Birth Defects Res. C Embryo Today*. **102**, 275–298.
83. Bolande R.P. (1974) The neurocristopathies: a unifying concept of disease arising in neural crest maldevelopment. *Hum. Pathol.* **5**, 409–429.
84. Hall B.K. (2009) *The neural crest and neural crest cells in vertebrate development and evolution*. 2nd ed. New York: Springer.
85. Harris M.L., Fufa T.D., Palmer J.W., Joshi S.S., Larson D.M., Incao A., Gildea D.E., Trivedi N.S., Lee A.N., Day C.P., Michael H.T., Hornyak T.J., Merlino G.; NISC Comparative Sequencing Program, Pavan W.J. (2018) A direct link between MITF, innate immunity, and hair graying. *PLoS Biol.* **16**, e2003648. doi 10.1371/journal.pbio.2003648
86. Rodrigues M., Ezzedine K., Hamzavi I., Pandya A.G., Harris J.E.; Vitiligo Working Group. (2017) New discoveries in the pathogenesis and classification of vitiligo. *J. Am. Acad. Dermatol.* **77**, 1–13.

NEURAL CREST – A PECULIAR POPULATION OF EMBRYONIC CELLS

E. S. Pshennikova^{1,*}, A. S. Voronina¹

¹*Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia*

**e-mail: pshennikova57@mail.ru*

The neural crest (NC) in embryos of vertebrates represents a cell population formed at the border of the neural plate. These cells retain pluripotency, express a set of specific markers and become multipotent upon their migration away from the neural tube to give rise to numerous derivatives. It is peculiar that the genes specific for vertebrate NC, in fact, arose in evolution long before the vertebrates themselves. Abnormal development of NC cells populations causes numerous pathologies in humans.

Keywords: neural crest, gene regulatory networks, pluripotency, stem cells