

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Ремоделирование хроматина в олигодендрогенезе

Е.В. Антонцева , Н.П. Бондарь


Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
 antontseva@bionet.nsc.ru; nbondar@bionet.nsc.ru

Аннотация. Олигодендроциты – это один из типов глиальных клеток, ответственных за миелинизацию и обеспечивающих трофическую поддержку аксонов в центральной нервной системе позвоночных. Благодаря миелину скорость проведения электрического сигнала увеличивается в сотни раз, так как он служит своего рода электроизолятором нервных волокон и позволяет осуществлять скачкообразную передачу потенциала действия через лишённые миелина перехваты Ранвье. Поскольку разные части ЦНС миелинизируются на различных стадиях развития и большинство регионов содержит как миелинизированные, так и немиелинизированные аксоны, очевидно, что должны существовать очень точные механизмы для контроля миелинизации отдельных аксонов. При прохождении через стадии спецификации и дифференцировки – от мультипотентных нейрональных клеток вентрикулярной зоны нервной трубки до зрелых миелинизирующих олигодендроцитов, а также во время миграции вдоль кровеносных сосудов к пункту назначения, клетки претерпевают кардинальные изменения в паттерне экспрессии генов. Эти изменения требуют тщательно скоординированного в пространстве и времени взаимодействия различных транскрипционных факторов (ТФ) и эпигенетических событий, определяющих регуляторный ландшафт хроматина. Ремоделирование хроматина существенно влияет на транскрипционную активность генов. Основной компонент хроматина – это нуклеосома, которая, помимо структурной, выполняет регуляторную функцию и служит общим репрессором генов. Для изменения типа, положения и локальной плотности нуклеосом необходимо действие специализированных АТФ-зависимых комплексов ремоделирования хроматина, которые используют для своей работы энергию гидролиза АТФ. Мутации в генах, кодирующих белки комплексов ремоделирования, часто сопровождаются серьёзными нарушениями на ранних стадиях эмбриогенеза и с высокой частотой идентифицируются при различных раковых заболеваниях. Большинство идентифицированных АТФ-зависимых комплексов ремоделирования хроматина классифицируется на четыре подсемейства: SWI/SNF, CHD, INO80/SWR и ISWI, согласно доменной организации их АТФ-гидролизующей субъединицы. В настоящем обзоре мы подробно остановимся на роли этих субъединиц разных подсемейств на различных этапах олигодендрогенеза. Ключевые слова: олигодендроцит; миелинизация; эпигенетическая регуляция; экспрессия генов.

Для цитирования: Антонцева Е.В., Бондарь Н.П. Ремоделирование хроматина в олигодендрогенезе. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(5):573-579. DOI 10.18699/VJ21.064

Chromatin remodeling in oligodendrogenesis

E.V. Antontseva , N.P. Bondar

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
 antontseva@bionet.nsc.ru; nbondar@bionet.nsc.ru

Abstract. Oligodendrocytes are one type of glial cells responsible for myelination and providing trophic support for axons in the central nervous system of vertebrates. Thanks to myelin, the speed of electrical-signal conduction increases several hundred-fold because myelin serves as a kind of electrical insulator of nerve fibers and allows for quick saltatory conduction of action potentials through Ranvier nodes, which are devoid of myelin. Given that different parts of the central nervous system are myelinated at different stages of development and most regions contain both myelinated and unmyelinated axons, it is obvious that very precise mechanisms must exist to control the myelination of individual axons. As they go through the stages of specification and differentiation – from multipotent neuronal cells in the ventricular zone of the neural tube to mature myelinating oligodendrocytes as well as during migration along blood vessels to their destination – cells undergo dramatic changes in the pattern of gene expression. These changes require precisely spatially and temporally coordinated interactions of various transcription factors and epigenetic events that determine the regulatory landscape of chromatin. Chromatin remodeling substantially affects transcriptional activity of genes. The main component of chromatin is the nucleosome, which, in addition to the structural function, performs a regulatory one and serves as a general repressor of genes. Changes in the type, position, and local density of nucleosomes require the action of specialized ATP-dependent chromatin-remodeling complexes, which use the energy of ATP hydrolysis for their activity. Mutations in the genes encoding proteins of the remodeling complexes are often accompanied by serious disorders at early stages of embryogenesis and are frequently identified in various cancers. According to the domain arrangement of the ATP-hydrolyzing sub-

unit, most of the identified ATP-dependent chromatin-remodeling complexes are classified into four subfamilies: SWI/SNF, CHD, INO80/SWR, and ISWI. In this review, we discuss the roles of these subunits of the different subfamilies at different stages of oligodendrogenesis.

Key words: oligodendrocyte; myelination; epigenetic regulation; gene expression.

For citation: Antontseva E.V., Bondar N.P. Chromatin remodeling in oligodendrogenesis. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(5):573-579. DOI 10.18699/VJ21.064

Введение

До недавних пор при исследовании работы мозга центральная роль в функционировании ЦНС отводилась нервным клеткам и различные патологические состояния считались результатом нарушения работы нейронов. Глиальным клеткам назначалась функция заполнения пространства между нейронами, что отразилось в самом термине: глия переводится как «клей». Однако в настоящее время не осталось никаких сомнений в их необходимости для поддержания функций аксонов, а также в обеспечении синаптической пластичности и при создании нейронных сетей.

Олигодендроциты (ОЛ) – это тип глиальных клеток, ответственных за миелинизацию аксонов в центральной нервной системе позвоночных. В результате чрезвычайно специализированного процесса межклеточного взаимодействия ОЛ образует несколько выростов, каждый из которых многократно оборачивает часть какого-либо аксона, подобно изоляционной ленте. Один олигодендроцит одновременно может миелинизировать до 50 сегментов аксонов (Nave, Werner, 2014). Цитоплазма в выросте практически отсутствует, в результате чего миелиновая оболочка представляет собой, по сути, множество слоев клеточной мембраны с диэлектрическими свойствами, что препятствует рассеиванию электрического сигнала, идущего по аксону. К тому же между наслоениями миелина существуют промежутки шириной около 1 мкм, называемые перехватами Ранвье, позволяющие осуществлять скачкообразную передачу нервного импульса.

Таким образом, благодаря миелиновой оболочке многократно увеличивается скорость проведения электрического сигнала по аксону. Показано, что наиболее активные аксоны получают и более мощную миелиновую изоляцию в мозге, что позволяет им в свою очередь работать еще эффективнее. Следует отметить, что миелинизация ЦНС происходит в течение длительного периода времени и является завершающим этапом развития нервной системы. Согласно данным МРТ, у человека основная доля миелинизации большинства структур мозга осуществляется в подростковом периоде и достигает 90 % к 20–25 годам, при этом поздно созревающая префронтальная кора миелинизируется последней (Lebel et al., 2008). У мышей основная доля миелинизации происходит в первые 4–7 нед после рождения. Нужно добавить, что формирование миелина продолжается всю жизнь как при ремиелинизации поврежденных, так и при миелинизации ранее не миелинизированных нервных волокон (Zhu et al., 2011; Bartzokis et al., 2012; Young et al., 2013).

Поскольку разные части ЦНС миелинизируются на разных стадиях развития и большинство регионов содержит как миелинизированные, так и немиелинизированные аксоны, должны существовать очень точные механизмы

для контроля миелинизации отдельных аксонов. Кроме того, становится все более очевидным, что в процессе миелинизации существует некий уровень пластичности (ремоделирования), основанный на жизненном опыте (Mitew et al., 2014).

Спецификация, миграция и дифференцировка олигодендроцитов

Олигодендроциты образуются в результате поэтапной дифференцировки из клеток-предшественников олигодендроцитов (ПОЛ), возникших в ходе спецификации из мультипотентных нейрональных клеток-предшественников, расположенных в вентральной зоне нервной трубки. Один из ключевых факторов спецификации ПОЛ, определяющий такую локализацию, – белок sonic hedgehog (SHH), секретируемый клетками хорды и базальной пластинки. Дорзо-вентральный градиент концентрации SHH способствует формированию ПОЛ преимущественно из вентрального нейроэпителия, индуцируя для этого экспрессию ряда факторов транскрипции (NKX2.2, PAX6, SOX10, OLIG1 и OLIG2). Зрелые ПОЛ характеризуются экспрессией протеогликана NG2 и альфа-рецептора фактора роста тромбоцитов (PDGFR α). При отсутствии в перенем или спинном мозге Shh ПОЛ вентрального происхождения не формируются (Orentas, Miller, 1996; Pringle et al., 1996; Tekki-Kessaris et al., 2001). После созревания ПОЛ пролиферируют и мигрируют вдоль кровеносных сосудов, обеспечивая равномерное распределение белого вещества в центральной нервной системе (Dejana, Vetscholtz, 2016; Tsai et al., 2016). Некоторые ПОЛ после перемещения остаются в состоянии предшественника, другие через стадию премиелинизирующего олигодендроцита дифференцируются в течение как минимум двух-трех дней в зрелую миелинизирующую клетку, которая взаимодействует с аксонами и генерирует миелиновые междоузлия (Zhu et al., 2011; Mitew et al., 2014).

Чтобы избежать недостатка в количестве ОЛ при миелинизации аксонов, образуется избыток клеток, излишки которых впоследствии удаляются путем апоптоза. Одним из механизмов, определяющих конечное количество олигодендроцитов, является конкуренция за ограниченное количество целевых факторов роста и выживания, таких как тромбоцитарный фактор роста (PDGF)-А, фактор роста фибробластов (FGF)-2, инсулиноподобный фактор роста (IGF)-1, нейротрофин (NT)-3 и цилиарный нейротрофический фактор (CNTF) (Barres, Raff, 1994; Miller, 2002).

Ожидается, что дифференцировка олигодендроцитов должна соответствовать программе развития нейронов и что существование нейрональные сигналы, контролирующие превращение ПОЛ в образующие миелин олигодендроциты. Так, в периферической нервной системе на аксональной мембране присутствует белок нейрегулин-1,

который контролирует миелинизацию клетками Шванна, однако подобного белка-регулятора, запускающего миелинизацию олигодендроцитами в ЦНС, до сих пор не идентифицировано. Более того, есть факты, что существуют ингибирующие нейрональные сигналы, которые держат ПОЛ в «подавленном» состоянии (Emery, 2010). Эти ингибирующие сигналы (например, Jagged, PSANCAM и LINGO-1), идущие от аксонов, в свою очередь активируют различные регуляторы транскрипции, такие как Sox5/6, Hes5 и Id2/4, которые активно препятствуют переходу ПОЛ в стадию терминальной дифференцировки (Piaton et al., 2010; Taveggia et al., 2010).

Все больше данных говорят о том, что различным регионам ЦНС соответствуют разные популяции ПОЛ, которые контролируются некими локальными механизмами передачи сигналов. Таким образом, в разных областях головного и спинного мозга клетки-предшественники ОЛ подвергаются воздействию различных сигнальных молекул. В частности, различия во временной экспрессии этих факторов и сигналов в развивающейся ЦНС приводят к тому, что миелинизация в спинном мозге начинается раньше, а в корковых областях – позже.

При прохождении через стадии спецификации, миграции, пролиферации и дифференцировки олигодендроциты претерпевают кардинальные изменения в паттерне экспрессии генов, для чего требуется тщательно скоординированное в пространстве и времени взаимодействие различных ТФ и эпигенетических событий, определяющих регуляторный ландшафт хроматина (Corray et al., 2009). Ремоделирование хроматина существенно влияет на транскрипционную активность генов и происходит главным образом благодаря репозиционированию нуклеосом (АТФ-зависимые ремоделеры хроматина), химическим модификациям гистонов, метилированию ДНК и взаимодействию с некодирующими РНК (Gregath, Lu, 2018; Koreman et al., 2018).

В нашем обзоре мы подробно остановимся на роли АТФ-зависимых комплексов ремоделирования хроматина на различных этапах олигодендрогенеза.

АТФ-зависимые комплексы ремоделирования хроматина

Регуляция экспрессии генов по большей части возможна благодаря динамике структуры хроматина – его ремоделированию. Основной компонент хроматина – это нуклеосома, состоящая из восьми гистоновых белков, вокруг которых обернуты 146 п. н. нити ДНК. Однако, помимо структурной функции (все больше данных, что она вторична), нуклеосома выполняет регуляторную функцию и служит общим репрессором генов. Она препятствует практически всем транзакциям ДНК, включая транскрипцию, репликацию и репарацию ДНК (Kornberg, Lorch, 2020). Для изменения типа, положения и локальной плотности нуклеосом необходимо действие специализированных АТФ-зависимых комплексов ремоделирования хроматина (так называемых ремоделеров), которые используют для своей работы энергию гидролиза АТФ.

Все АТФ-зависимые комплексы ремоделирования хроматина содержат в своем составе АТФ-гидролизующую субъединицу, принадлежащую семейству ДНК-геликаз/

транслоказ SNF2, и одну или несколько связанных с ней субъединиц (Hota, Bruneau, 2016). Следует отметить, что данные АТФазы лишены геликазной активности, необходимой для разделения цепей, поэтому они действуют только как ДНК-транслоказы (Dürt et al., 2005), которые перемещают ДНК по поверхности нуклеосомы и нарушают взаимодействие ДНК с гистонами. АТФазы всех ремоделеров хроматина содержат весьма консервативный коровый АТФазный домен, которого достаточно для осуществления каталитической активности комплекса, однако регуляция активности АТФазы совершается доменами, фланкирующими АТФазный домен и/или связанными с ней белками (Clapier et al., 2017). Нужно отметить, что тканеспецифичность субъединиц, ассоциированных в комплексы ремоделирования хроматина, придает комплексам уникальные свойства, которые и определяют их посадку в тканеспецифические регуляторные локусы генома (Hota, Bruneau, 2016).

Большинство идентифицированных АТФ-зависимых комплексов ремоделирования хроматина классифицируется по гомологии последовательности центральной АТФ-гидролизующей субъединицы на четыре подсемейства: SWI/SNF (switch/sucrose non-fermentable), CHD (chromodomain helicase DNA-binding), INO80/SWR (Inositol requiring 80/SWi2/snf2-related 1) и подсемейство ISWI (imitation switch). Помимо различия в количестве субъединиц в комплексе, эти подсемейства отличаются эксклюзивными доменами, прилегающими к коровому АТФазному домену. Так, для SWI/SNF характерно наличие бромодомена, для CHD – tandemных хромодоменов, ремоделеры ISWI содержат геликазные домены HSS, а члены INO80 обладают доменом HSA (геликаза SANT) (Bartholomew, 2014; Clapier et al., 2017).

Структурные различия подсемейств определяют их функциональные возможности. Так, за удаление и репозиционирование нуклеосом главным образом отвечают представители SWI/SNF подсемейства, обеспечивающие доступ к ДНК факторов транскрипции для регуляции уровня экспрессии генов, а также факторов репарации и рекомбинации ДНК. Сборка и размещение нуклеосом осуществляются ремоделерами подсемейств ISWI и CHD. Редактирование нуклеосом, а именно замена канонических форм гистонов на специализированные варианты и наоборот, выполняется в основном членами подсемейства INO80. Изменение состава нуклеосом позволяет создавать специализированные участки хроматина независимым от репликации образом (Venkatesh, Workman, 2015; Clapier et al., 2017). Так, например, гистон H2A.Z входит в состав нуклеосом, располагающихся в промоторных областях большинства генов, близость такой нуклеосомы к сайту начала транскрипции напрямую коррелирует с уровнем экспрессии данного гена (Bargaje et al., 2012), H2A.X необходим для репарации двуцепочечных разрывов (Elsesser et al., 2019).

Мутации в генах, кодирующих субъединицы АТФ-зависимых комплексов ремоделирования хроматина, часто сопровождаются серьезными нарушениями на ранних стадиях эмбриогенеза и с высокой частотой идентифицируются при различных раковых заболеваниях (Ho, Crabtree, 2010; Wilson, Roberts, 2011).

Ремоделеры в олигодендрогенезе

Подсемейство SWI/SNF

Белковые комплексы SWI/SNF млекопитающих представляют собой большие комплексы, ~1.5 МДа, и состоят как минимум из 15 различных субъединиц (Hota, Bruneau, 2016). Для них характерно использование в качестве коровых транслоказ ферментов *Brm* (ген *Brahma*, также известный как *Smarca2*) или *Brg1* (*Brahma-Related Gene-1*, он же *Smarca4*). Эти ремоделеры главным образом участвуют в регуляции клеточного цикла и дифференцировки ряда типов клеток (Matsumoto et al., 2016).

Сравнительный анализ полногеномных данных ChIP-seq по локализации РНК-полимеразы RNAPII в геноме олигодендроцитов на разных стадиях дифференцировки (первичная культура ПОЛ крысы, незрелые и зрелые ОЛ), выявил достоверное обогащение генами, кодирующими белки ремоделирующего комплекса SWI/SNF во время перехода от ПОЛ к незрелым олигодендроцитам. В частности, в ответ на сигналы дифференцировки было зафиксировано значительное увеличение RNAPII в экзонах гена *Brg1*, кодирующего коровую АТФазу комплекса SWI/SNF, но не наблюдалось в гене его единственного гомолога, *Brm* (Yu et al., 2013).

Во время раннего эмбрионального развития (E12) транскрипты *Brg1* практически не обнаруживаются в пролиферирующих нейрональных стволовых клетках (НСК) вентрикулярной зоны (ВЗ) переднего мозга мышей, в отличие от уже дифференцированных постмитотических клеток мантийной зоны (Randazzo et al., 1994). Этот паттерн экспрессии *Brg1* изменяется после E13 таким образом, что большинство клеток ВЗ становятся *Brg1*-иммунореактивными (Matsumoto et al., 2006), что хорошо сочетается с данными о начале в этот период первой волны спецификации ПОЛ у мышей на E12.5 (Cai et al., 2005). Использование Cre-нокаутных мышей с направленной потерей *Brg1* под контролем нестина (маркер НСК) приводит к уменьшению в ВЗ (E13.5) количества пролиферирующих НСК, способных в дальнейшем подвергаться глиогенезу. Предполагается, что это может происходить как за счет дифференцировки стволовых в постмитотические клетки (нейроны), так и в результате апоптоза. Авторы полагают, что *Brg1* сдерживает НСК в недифференцированном состоянии до тех пор, пока те не ответят на некие глиогенные сигналы во время развития млекопитающих (Matsumoto et al., 2006).

Увеличение транскрипционной активности *Brg1* было обнаружено именно при переходе от предшественников к незрелым ОЛ и не наблюдалось при дифференцировке других типов клеток, что говорит о нем как об уникальном событии, инициирующем дифференцировку ОЛ. Результаты Вестерн-блота и иммуногистохимии также свидетельствуют о том, что экспрессия *Brg1* в основном ограничивается дифференцирующимися клетками олигодендроцитов (Yu et al., 2013). Однако в работе M. Bischof с коллегами (2015), согласно результатам иммуногистохимии, экспрессия *Brg1* выявлена на всех стадиях развития олигодендроцитов и не было очевидной разницы в интенсивности окрашивания между ПОЛ и созревающими олигодендроцитами.

У мышей с условным нокаутом *Brg1* (Cre- под контролем *Olig1*, экспрессия которого начинается при формировании ПОЛ) развивается фенотип с дефицитом миелинизации, хотя количество ПОЛ и скорость их пролиферации сопоставимы с таковыми у контрольных мышей. Оказывается, у этих мышей повышен уровень экспрессии ингибиторов дифференцировки (*ID2/4*, *Nfia/b*, *Sox5* и β -катенин) и наблюдается снижение уровня экспрессии генов, связанных как с синтезом липидов и белков миелиновой оболочки, так и с регуляцией дифференцировки (*Gm98/MRF* и *Sox10*) (Yu et al., 2013). В работе (Bischof et al., 2015) также было показано, что ранняя делеция *Brg1* (Cre- под контролем *Brn4*, экспрессирующегося в НСК) по всей желудочковой зоне спинного мозга также препятствует экспрессии *Sox10* в ПОЛ вплоть до конца эмбриогенеза.

ChIP-seq с антителами к *Brg1* выявил в незрелых ОЛ на порядок больше пиков по сравнению с ПОЛ, причем практически все пики в ПОЛ перекрывались с пиками незрелых ОЛ, но имели значительно меньшую интенсивность. Анализ генов показал, что гены-мишени *Brg1* в основном связаны с миелинизацией, дифференцировкой олигодендроцитов и остановкой клеточного цикла (например, *Cnp*, *Cldn11*, *Klf9* и *Zfp191*). Авторы предположили, что *Brg1* главным образом нацелен на межгенные энхансерные области, поскольку ~80 % пиков связывания *Brg1* в незрелых ОЛ были локализованы на значительном расстоянии от начала старта транскрипции (Yu et al., 2013).

Важная роль в регуляции функций *Brg1* в олигодендрогенезе отводится фактору транскрипции *Olig2*. Показано, что *Olig2* не только регулирует экспрессию *Brg1*, но и рекрутирует SWI/SNF комплекс с *Brg1*-АТФазой к олигодендроцит-специфическим энхансерам во время критического перехода от ПОЛ к незрелым ОЛ. В результате происходит направленное ремоделирование хроматина, необходимое для активации программы дифференцировки олигодендроцитов (Yu et al., 2013).

Более того, было показано, что на ранних стадиях развития (E14.5) *Brg1* в составе комплекса SWI/SNF взаимодействует с проксимальным промотором гена *Olig2* в кортикальных НСК и подавляет его экспрессию, тогда как в клетках вентрикулярной зоны, где впервые наблюдается дифференцировка олигодендроцитов, супрессорного действия *Brg1* в отношении *Olig2* не выявлено (Matsumoto et al., 2016).

Все эти данные свидетельствуют о том, что *Brg1*, входящий в состав комплекса SWI/SNF, необходим как для спецификации ПОЛ, так и для дифференцировки олигодендроцитов.

Подсемейство CHD

АТФазы этого подсемейства ремоделеров представлены девятью белками CHD 1–9, различающимися между собой доменной организацией. Образованные ими комплексы могут объединять от 1 до 10 субъединиц. Некоторые из них сдвигают или выталкивают нуклеосомы, чтобы способствовать транскрипции, другие, наоборот, играют репрессивную роль (Clapier, Cairns, 2009) и, таким образом, являются важными регуляторами клеточной дифференцировки (Martin, 2010). Показано, что хромодоменные

АТФазы Chd7 и Chd8 важны для инициации процессов миелинизации нервных волокон, а также ремиелинизации при патогенезе (He et al., 2016; Doi et al., 2017; Marie et al., 2018).

Экспрессия Chd7 показана в большинстве олигодендрогенных клеток ряда структур развивающегося головного мозга (ПНД14) и в спинном мозге. Значительная часть этих клеток – дифференцированные ОЛ с высоким уровнем экспрессии Chd7, в то время как в ПОЛ экспрессия Chd7 была отмечена на более низком уровне (He et al., 2016). Условное отключение гена *Chd7* с использованием Cre-конструкции под контролем *Olig1* приводит к снижению количества клеток ОЛ, экспрессирующих MBP, как на эмбриональных, так и на ранних постнатальных стадиях развития, а также снижает уровень экспрессии основных белков миелина *Mbp* и *Plp1* на уровне мРНК. Как следствие, у мутантных животных наблюдаются уменьшение объема белого вещества мозга и нарушение миелинизации нервных волокон (снижение g-отношения) по сравнению с контрольными животными (ПНД14). В коре головного мозга делеция *Chd7* также приводит к уменьшению количества зрелых ОЛ на ранних постнатальных стадиях развития, но не оказывает существенного влияния на количество ПОЛ и их пролиферацию. Однако с возрастом у мутантных мышей наблюдалось постепенное увеличение количества зрелых ОЛ и к ПНД60 степень миелинизации в спинном мозге приближалась к норме. Таким образом, Chd7 необходим для начала дифференцировки ОЛ, а его потеря вызывает заметную задержку в процессе миелинизации нервных волокон. Анализ профилей экспрессии генов в спинном мозге контрольных и условно нокаутных по *Chd7* мышей (ПНД8) подтвердил значимость Chd7 в регуляции генов, ответственных за дифференцировку ОЛ и миелинизацию, причем в большинстве случаев (~84 %) он функционирует как активатор транскрипции (He et al., 2016).

В норме у взрослых мышей экспрессия Chd7 в белом веществе спинного мозга практически не обнаруживается; однако демиелинизация, индуцированная лизолецитином, приводит к локальной повторной экспрессии Chd7 на фоне регенерации миелина, идущей за счет рекрутирования ПОЛ. Поскольку в случае делеции *Chd7* в области поражения было существенно снижено не только количество ОЛ, но и уровень экспрессии *Mbp* и *Plp1* по сравнению с контролем, а также ухудшились морфометрические характеристики миелинизированных волокон, авторы полагают, что Chd7 критически важен в процессе ремиелинизации при повреждении белого вещества (He et al., 2016). Было показано, что Chd7 является ключевым регулятором активации и пролиферации ПОЛ после повреждения спинного мозга (Doi et al., 2017).

В регуляции экспрессии самого гена *Chd7* важную роль играет ремоделер Brg1, условная делеция которого значительно подавляет экспрессию *Chd7* у мутантных мышей. Внутри гена *Chd7* также были выявлены множественные участки кооперативного связывания факторов Brg1 и Olig2, функционально значимые на стадии ПОЛ и незрелых ОЛ (He et al., 2016).

Полногеномный поиск районов связывания Chd7 с помощью ChIP-seq в дифференцирующихся ОЛ показал, что

они преимущественно располагаются в области ± 5 т. п. н. от старта транскрипции генов-мишеней и являются также районами связывания фактора транскрипции Olig2, который, как известно, регулирует функционально значимые для олигодендрогенеза энхансеры, в частности, привлекая к ним Brg1 (Yu et al., 2013; He et al., 2016).

Сравнительный анализ распределения пиков ChIP-seq для ремоделеров Chd7 и Brg1 показал, что в ~76 % случаев они не перекрываются и, следовательно, Chd7 обладает уникальными молекулярными функциями, которые контролируют созревание ОЛ (He et al., 2016).

Мутации в гене *Chd7* приводят к развитию синдрома CHARGE человека, характеризующегося множественными патологиями, включая черепно-лицевые аномалии, неврологическую дисфункцию и задержку роста. Большинство пациентов с CHARGE демонстрируют некоторую степень умственной отсталости, и у многих наблюдаются структурные аномалии мозолистого тела и червя мозжечка (Martin, 2010).

Подсемейство INO80/SWR

Комплексы ремоделирования, принадлежащие этому семейству, могут содержать более 10 субъединиц и выполняют разнообразные функции, в том числе способствуют активации транскрипции и репарации ДНК (Clapier, Cairns, 2009). В работе (Elsesser et al., 2019) показано, что представитель этого семейства – комплекс ремоделирования хроматина TIP60/EP400 – важный компонент программы дифференцировки олигодендрогенных клеток. Оказалось, что Cre-опосредованное удаление Ep400 (коровая АТФаза) на различных стадиях олигодендрогенеза у трансгенных мышей не приводит к изменению в количестве ПОЛ, но является причиной резкого снижения количества ОЛ, которые начали терминальную дифференцировку и инициировали экспрессию гена миелина.

Анализ экспрессии генов в ОЛ мышей с делецией *Ep400* подтвердил снижение уровня экспрессии не только генов терминальной дифференцировки и миелинизации, таких как *Plp1*, *Mbp*, *Mog* и *Nfasc*, но также ключевых компонентов транскрипционной сети – *Sox10*, *Nkx2.2*, *Olig2*, *Olig1*, *Mylf* и *Fyn*, регулирующих процессы дифференцировки ОЛ и миелинизации. В частности, в незрелых ОЛ Ep400 специфически связывается с промотором и энхансером ECR9 в первом интроне гена *Mylf* и, во-первых, катализирует замещение гистона H2A на специализированную H2A.Z форму в ряде нуклеосом, а во-вторых, рекрутирует фактор транскрипции Sox10, с которым физически взаимодействует для активации экспрессии *Mylf* во время дифференцировки ОЛ. После дифференцировки Ep400 вызывает изменения в паттерне локализации H2A.Z на промоторе.

На первичной культуре олигодендрогенных клеток также было показано, что отсутствие Ep400 приводит к нарушению процессов репарации, на что указывает увеличение количества гистона γ H2A.X, который служит маркером двуцепочечного разрыва ДНК и возникает в результате фосфорилирования специализированной H2A.X формы гистона. Поскольку такие разрывы являются сигналом к апоптозу, это позволяет определить Ep400 как фактор, который способствует выживанию ОЛ и защищает ДНК от

повреждений или помогает в ее восстановлении (Elsesser et al., 2019). Так как при завершении дифференцировки олигодендроцитов и на начальных этапах миелинизации происходит усиление гетерохроматинизации и ядерной конденсации (Mori, Leblond, 1970), можно предположить, что такие критические изменения в структуре хроматина делают его особенно уязвимым в этот период олигодендрогенеза и требуют большего внимания со стороны системы «надзора» (Elsesser et al., 2019).

Таким образом, Er400 не требуется для спецификации ПОЛ или раннего развития клонов в эмбриогенезе, но необходим во время терминальной дифференцировки ОЛ и активной фазы процесса миелинизации.

Заключение

Каждый этап олигодендрогенеза сопровождается изменением уровня экспрессии большого числа генов. Активация одних генов и репрессия других осуществляются в результате точно скоординированного в пространстве и времени взаимодействия различных ТФ с ДНК промоторов и энхансеров этих генов. Такая тонкая регулировка становится возможной благодаря слаженной работе ТФ- и АТФ-зависимых комплексов ремоделирования хроматина, определяющих регуляторный ландшафт хроматина и способствующих его эпигенетическим модификациям (Coprav et al., 2009). Помимо того, что все ремоделеры хроматина имеют много общих свойств, у них есть характерные особенности, которые объясняют их функциональную специализацию в клетке (Hota, Bruneau, 2016), в частности, на разных этапах дифференцировки олигодендрогенеза. Показано, что для спецификации ПОЛ нужны комплексы SWI/SNF, сдерживающие НСК в недифференцированном состоянии до тех пор, пока те не ответят на некие глиогенные сигналы. Представители этого подсемейства также являются кураторами транскрипционной активности генов на всех этапах дифференцировки олигодендроцитов, тогда как Chd7 необходим для пролиферации ПОЛ, начала дифференцировки ОЛ и активации генов, ответственных за процессы миелинизации и ремиелинизации, а Er400 требуется только для терминальной дифференцировки ОЛ и активной фазы процесса миелинизации (Matsumoto et al., 2006, 2016; Yu et al., 2013; He et al., 2016; Doi et al., 2017; Elsesser et al., 2019).

Роль членов подсемейства ISWI в олигодендрогенезе еще не изучена, однако, учитывая их функциональную особенность – сборку и размещение нуклеосом (Hota, Bruneau, 2016; Clapier et al., 2017), можно предположить, что они важны в процессах гетерохроматинизации, усиливающейся по мере поэтапного перехода от ПОЛ к зрелым миелинизирующим ОЛ и ядерной конденсации (Mori, Leblond, 1970).

Список литературы / References

Bargaje R., Alam M.P., Patowary A., Sarkar M., Ali T., Gupta S., Garg M., Singh M., Purkanti R., Scaria V., Sivasubbu S., Brahmachari V., Pillai B. Proximity of H2A.Z containing nucleosome to the transcription start site influences gene expression levels in the mammalian liver and brain. *Nucleic Acids Res.* 2012;40:8965-8978. DOI 10.1093/nar/gks665.

Barres B.A., Raff M.C. Control of oligodendrocyte number in the developing rat optic nerve. *Neuron.* 1994;12:935-942. DOI 10.1016/0896-6273(94)90305-0.

Bartholomew B. Regulating the chromatin landscape: structural and mechanistic perspectives. *Annu. Rev. Biochem.* 2014;83:671-696. DOI 10.1146/annurev-biochem-051810-093157.

Bartzokis G., Lu P.H., Heydari P., Couvrette A., Lee G.J., Kalashyan G., Freeman F., Grinstead J.W., Villablanca P., Finn J.P., Mintz J., Alger J.R., Altshuler L.L. Multimodal magnetic resonance imaging assessment of white matter aging trajectories over the lifespan of healthy individuals. *Biol. Psychiatry.* 2012;72:1026-1034. DOI 10.1016/j.biopsych.2012.07.010.

Bischof M., Weider M., Kuspert M., Nave K.-A., Wegner M. Brg1-dependent chromatin remodelling is not essentially required during oligodendroglial differentiation. *J. Neurosci.* 2015;35:21-35. DOI 10.1523/JNEUROSCI.1468-14.2015.

Cai J., Qi Y., Hu X., Tan M., Liu Z., Zhang J., Li Q., Sander M., Qiu M. Generation of oligodendrocyte precursor cells from mouse dorsal spinal cord independent of Nkx6 regulation and Shh signaling. *Neuron.* 2005;45:41-53. DOI 10.1016/j.neuron.2004.12.028.

Clapier C.R., Cairns B.R. The biology of chromatin remodeling complexes. *Annu. Rev. Biochem.* 2009;78:273-304. DOI 10.1146/annurev.biochem.77.062706.153223.

Clapier C.R., Iwasa J., Cairns B.R., Peterson C.L. Mechanisms of action and regulation of ATP-dependent chromatin-remodelling complexes. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2017;18:407-422. DOI 10.1038/nrm.2017.26.

Coprav S., Huynh J.L., Sher F., Casaccia-Bonnel P., Boddeke E. Epigenetic mechanisms facilitating oligodendrocyte development, maturation, and aging. *Glia.* 2009;57:1579-1587. DOI 10.1002/glia.20881.

Dejana E., Betsholtz C. Oligodendrocytes follow blood vessel trails in the brain. *Science.* 2016;351:341-342. DOI 10.1126/science.aaf1139.

Doi T., Ogata T., Yamauchi J., Sawada Y., Tanaka S., Nagao M. Chd7 collaborates with Sox2 to regulate activation of oligodendrocyte precursor cells after spinal cord injury. *J. Neurosci.* 2017;37:10290-10309. DOI 10.1523/JNEUROSCI.1109-17.2017.

Dürr H., Körner C., Müller M., Hickmann V., Hopfner K.-P. X-ray structures of the *Sulfolobus solfataricus* SWI2/SNF2 ATPase core and its complex with DNA. *Cell.* 2005;121:363-373. DOI 10.1016/j.cell.2005.03.026.

Elsesser O., Fröb F., Kuspert M., Tamm E.R., Fujii T., Fukunaga R., Wegner M. Chromatin remodeler Ep400 ensures oligodendrocyte survival and is required for myelination in the vertebrate central nervous system. *Nucleic Acids Res.* 2019;47:6208-6224. DOI 10.1093/nar/gkz376.

Emery B. Regulation of oligodendrocyte differentiation and myelination. *Science.* 2010;330:779-782. DOI 10.1126/science.1190927.

Gregath A., Lu Q.R. Epigenetic modifications – insight into oligodendrocyte lineage progression, regeneration, and disease. *FEBS Lett.* 2018;592:1063-1078. DOI 10.1002/1873-3468.12999.

He D., Marie C., Zhao C., Kim B., Wang J., Deng Y., Clavairoly A., Frah M., Wang H., He X., Hmidan H., Jones B.V., Witte D., Zalc B., Zhou X., Choo D.I., Martin D.M., Parras C., Lu Q.R. Chd7 cooperates with Sox10 and regulates the onset of CNS myelination and remyelination. *Nat. Neurosci.* 2016;19:678-689. DOI 10.1038/nn.4258.

Ho L., Crabtree G.R. Chromatin remodelling during development. *Nature.* 2010;463:474-484. DOI 10.1038/nature08911.

Hota S.K., Bruneau B.G. ATP-dependent chromatin remodeling during mammalian development. *Development.* 2016;143:2882-2897. DOI 10.1242/dev.128892.

Koreman E., Sun X., Lu Q.R. Chromatin remodeling and epigenetic regulation of oligodendrocyte myelination and myelin repair. *Mol. Cell Neurosci.* 2018;87:18-26. DOI 10.1016/j.mcn.2017.11.010.

Kornberg R.D., Lorch Y. Primary role of the nucleosome. *Mol. Cell.* 2020;79:371-375. DOI 10.1016/j.molcel.2020.07.020.

- Lebel C., Walker L., Leemans A., Phillips L., Beaulieu C. Microstructural maturation of the human brain from childhood to adulthood. *Neuroimage*. 2008;40:1044-1055. DOI 10.1016/j.neuroimage.2007.12.053.
- Marie C., Clavairoly A., Frah M., Hmidan H., Yan J., Zhao C., Van Steenwinckel J., Daveau R., Zalc B., Hassan B., Thomas J.-L., Gressens P., Ravassard P., Moszer I., Martin D.M., Lu Q.R., Parras C. Oligodendrocyte precursor survival and differentiation requires chromatin remodeling by Chd7 and Chd8. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2018;115:E8246-E8255. DOI 10.1073/pnas.1802620115.
- Martin D.M. Chromatin remodeling in development and disease: focus on CHD7. *PLoS Genet.* 2010;6:e1001010. DOI 10.1371/journal.pgen.1001010.
- Matsumoto S., Banine F., Feistel K., Foster S., Xing R., Struve J., Sherman L.S. Brg1 directly regulates *Olig2* transcription and is required for oligodendrocyte progenitor cell specification. *Dev. Biol.* 2016;413:173-187. DOI 10.1016/j.ydbio.2016.04.003.
- Matsumoto S., Banine F., Struve J., Xing R., Adams C., Liu Y., Metzger D., Chambon P., Rao M.S., Sherman L.S. Brg1 is required for murine neural stem cell maintenance and gliogenesis. *Dev. Biol.* 2006;289:372-383. DOI 10.1016/j.ydbio.2005.10.044.
- Miller R.H. Regulation of oligodendrocyte development in the vertebrate CNS. *Prog. Neurobiol.* 2002;67:451-467. DOI 10.1016/S0301-0082(02)00058-8.
- Mitew S., Hay C.M., Peckham H., Xiao J., Koenning M., Emery B. Mechanisms regulating the development of oligodendrocytes and central nervous system myelin. *Neuroscience*. 2014;276:29-47. DOI 10.1016/j.neuroscience.2013.11.029.
- Mori S., Leblond C.P. Electron microscopic identification of three classes of oligodendrocytes and a preliminary study of their proliferative activity in the corpus callosum of young rats. *J. Comp. Neurol.* 1970;139:1-29. DOI 10.1002/cne.901390102.
- Nave K.-A., Werner H.B. Myelination of the nervous system: mechanisms and functions. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2014;30:503-533. DOI 10.1146/annurev-cellbio-100913-013101.
- Orientas D.M., Miller R.H. The origin of spinal cord oligodendrocytes is dependent on local influences from the notochord. *Dev. Biol.* 1996;177:43-53. DOI 10.1006/dbio.1996.0143.
- Piaton G., Gould R.M., Lubetzki C. Axon-oligodendrocyte interactions during developmental myelination, demyelination and repair. *J. Neurochem.* 2010;114(5):1243-1260. DOI 10.1111/j.1471-4159.2010.06831.x.
- Pringle N.P., Yu W.-P., Guthrie S., Roelink H., Lumsden A., Peterson A.C., Richardson W.D. Determination of neuroepithelial cell fate: induction of the oligodendrocyte lineage by ventral midline cells and sonic hedgehog. *Dev. Biol.* 1996;177:30-42. DOI 10.1006/dbio.1996.0142.
- Randazzo F.M., Khavari P., Crabtree G., Tamkun J., Rossant J. *brg1*: a putative murine homologue of the *Drosophila brahma* gene, a homeotic gene regulator. *Dev. Biol.* 1994;161:229-242. DOI 10.1006/dbio.1994.1023.
- Taveggia C., Feltri M.L., Wrabetz L. Signals to promote myelin formation and repair. *Nat. Rev. Neurol.* 2010;6:276-287. DOI 10.1038/nrneuro.2010.37.
- Tekki-Kessaris N., Woodruff R., Hall A.C., Gaffield W., Kimura S., Stiles C.D., Rowitch D.H., Richardson W.D. Hedgehog-dependent oligodendrocyte lineage specification in the telencephalon. *Development*. 2001;128:2545-2554.
- Tsai H.-H., Niu J., Munji R., Davalos D., Chang J., Zhang H., Tien A.-C., Kuo C.J., Chan J.R., Daneman R., Fancy S.P.J. Oligodendrocyte precursors migrate along vasculature in the developing nervous system. *Science*. 2016;351:379-384. DOI 10.1126/science.aad3839.
- Venkatesh S., Workman J.L. Histone exchange, chromatin structure and the regulation of transcription. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2015;16:178-189. DOI 10.1038/nrm3941.
- Wilson B.G., Roberts C.W.M. SWI/SNF nucleosome remodellers and cancer. *Nat. Rev. Cancer*. 2011;11:481-492. DOI 10.1038/nrc3068.
- Young K.M., Psachoulia K., Tripathi R.B., Dunn S.-J., Cossell L., Attwell D., Tohyama K., Richardson W.D. Oligodendrocyte dynamics in the healthy adult CNS: evidence for myelin remodeling. *Neuron*. 2013;77:873-885. DOI 10.1016/j.neuron.2013.01.006.
- Yu Y., Chen Y., Kim B., Wang H., Zhao C., He X., Liu L., Liu W., Wu L.M.N., Mao M., Chan J.R., Wu J., Lu Q.R. Olig2 targets chromatin remodelers to enhancers to initiate oligodendrocyte differentiation. *Cell*. 2013;152:248-261. DOI 10.1016/j.cell.2012.12.006.
- Zhu X., Hill R.A., Dietrich D., Komitova M., Suzuki R., Nishiyama A. Age-dependent fate and lineage restriction of single NG2 cells. *Development*. 2011;138:745-753. DOI 10.1242/dev.047951.

ORCID ID

E.V. Antontseva orcid.org/0000-0002-4214-7153
N.P. Bondar orcid.org/0000-0002-5602-5149

Благодарности. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 21-15-00142.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах.

Поступила в редакцию 27.10.2020. После доработки 04.05.2021. Принята к публикации 05.05.2021.