

АПОЛИПОПРОТЕИН А-I В КЛЕТКАХ МОНОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО РЯДА ЧЕЛОВЕКА: ЭКСПРЕССИЯ И ВОЗМОЖНЫЕ ФУНКЦИИ*ОРЛОВ С. В., МОГИЛЕНКО Д. А., ПЕРЕВОЗЧИКОВ А. П.**Лаборатория регуляции липидного обмена Отдела биохимии,
ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН»,
Санкт-Петербург*

Орлов С. В., Могиленко Д. А., Перевозчиков А. П. Аполиipoprotein A-I в клетках моноцитарно-макрофагального ряда человека: экспрессия и возможные функции // Мед. акад. журн. 2010. Т. 10. № 4. С. 50–62. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

Обзор посвящен современным представлениям о функциях липопротеинов высокой плотности и их основного белкового компонента – аполиipoproteина A-I (ApoA-I) в процессах атерогенеза. Особое внимание уделено обсуждению противовоспалительной активности ApoA-I и регуляции экспрессии кодирующего его гена под действием провоспалительного цитокина TNF α . Приведены оригинальные собственные данные об экспрессии гена apoA-I в клетках моноцитарно-макрофагального ряда человека. В отличие от основных источников ApoA-I плазмы крови: гепатоцитов и энтероцитов тощей кишки, стимуляция моноцитов и макрофагов человека TNF α приводит не к угнетению, а к усилению экспрессии гена apoA-I. В обзоре обсуждаются возможные функции синтезированного ApoA-I в моноцитах и макрофагах, в частности, его участие в стабилизации кассетного транспортера ABCA1, обладающего антиатерогенными свойствами.

Ключевые слова: липопротеиды высокой плотности, аполиipoprotein A-I, транспорт холестерина, воспалительные цитокины, TNF α , моноциты, макрофаги.

Orlov S. V., Mogilenko D. A., Perevozchikov A. P. Apolipoprotein A-I in the human monocyte/macrophage cell lines: the expression and the putative functions // Med. Acad. Journ. 2010. Vol. 10. № 4. P. 50–62. Institute of Experimental Medicine NWB RAMS, St. Petersburg, Russia.

This review outlines the modern concepts concerning functions of high density lipoproteins and their major protein component – apolipoprotein A-I (ApoA-I) in the development of atherosclerotic lesions. The discussion of anti-inflammatory ApoA-I activity as well as the regulation of apoA-I gene expression by proinflammatory cytokine TNF α is underlined. There are original data about the expression of apoA-I gene in human monocyte-macrophage lineages. Stimulation of human monocytes and macrophages by TNF α leads to an activation of apoA-I expression in those cells in contrast to the effect of TNF α on human hepatocytes and enterocytes, where there is a downregulation of apoA-I expression. The putative functions of ApoA-I synthesized by macrophages are discussed, in particular the stabilization effect of ApoA-I on ABCA1 transporter which possesses the antiatherogenic properties.

Key words: high density lipoproteins, apolipoprotein A-I, cholesterol transport, proinflammatory cytokines, TNF α , monocytes, macrophages.

Для корреспонденции: А. П. Перевозчиков и С. В. Орлов, тел. раб. (812) 346-06-44, e: mail: app@iem.sp.ru и serge@iem.sp.ru

Транспорт липидов в кровяном русле и в лимфатической системе человека осуществляется, главным образом, в комплексе с аполиipoproteинами. Нарушение этого процесса ведет к развитию ряда патологий, в том числе атеросклероза. Высокое содержание липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в крови человека ассоциируется с высоким риском развития атеросклероза, и напротив, высокое содержание липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) коррелирует с низким риском развития атеросклероза. Одной из функций ЛПВП является «обратный транспорт» холестерина (ХС) и его окислов из периферийных клеток в гепатоциты, в значительной мере благодаря входящему в состав ЛПВП белку аполиipoproteину А-I (ApoA-I) [3, 31, 49, 66, 72].

Принято считать, что «обратный транспорт» ХС и его окислов осуществляется из стенок сосудов

двойко: прямым переносом липидов с модифицированных ЛПНП на ЛПВП (с последующим удалением нагруженных ЛПВП-частиц из интимы в кровоток) или через посредническую роль пенистых клеток (образующихся путем захвата модифицированных ЛПНП, мигрирующих в интиму сосудов макрофагов и гладкомышечных клеток) на ЛПВП. Упомянутые пенистые клетки накапливают большую часть ХС и его окислов в виде эфиров (ЭХС), заключенных во внутриклеточные везикулы, что и придает им пенистый фенотип. В дальнейшем ХС (в том числе и деэстерифицированный из ЭХС) из пенистых клеток переносится на ЛПВП, которые транспортируются в сосудистое русло и далее, после ряда обменных процессов с другими липопротеинами ХС, доставляются в печень [68]. Возможен также клеточный путь удаления холестерина из сосудистой стенки.

В этом случае нагруженные эфирами ХС макрофаги (МФ) мигрируют из сосудистой стенки в ткани и далее через лимфатическую систему возвращаются в кровотоки, где происходит постепенная разгрузка от избыточного ХС. Как было показано ранее, все варианты «обратного транспорта» ХС (включая его окисленные формы и ЭХС), при излишках в интима артериальных сосудов модифицированных ЛПНП, нарушаются, причем эти нарушения можно рассматривать как проявление разных форм хронического иммунного воспаления [75]. А. Н. Климовым с сотр. было установлено, что модифицированные формы ЛПНП в интима сосудов воспринимаются организмом как аутоантигены, на которые В-лимфоцитами вырабатываются антитела, формирующие с модифицированными ЛПНП-частицами иммунные комплексы, подлежащие удалению [3]. Общепринятая точка зрения заключается в том, что «обратный транспорт» ХС и ЭХС (из входящих в состав атероматозной бляшки макрофагов (МФ) и мигрирующих к ним гладкомышечных клеток) через кровеносные сосуды в печень, осуществляемый в норме липопротеиновыми частицами, является исключительно важным для предотвращения развития атеросклеротических поражений сосудов и даже для регрессии уже существующих в стенках сосудов атерогенных бляшек [76].

По возвращении ХС и ЭХС в составе липопротеинов в гепатоциты печени, благодаря наличию на этих клетках ряда специфических рецепторов (сквенджер-рецептор ScR-B, рЛПНП и ароЕ-рецептор), следуют процессы дальнейшего удаления ХС (совместно с его окисленными формами в виде желчных кислот) в составе желчи из организма либо повторного использования ХС (совместно с новообразованными ХС и фосфолипидами), что предусматривает загрузку фосфолипидами и стеролами секретированных из печени аполипопротеинов, с образованием свежих порций ЛПВП, ЛПОНП и далее ЛПНП [7].

АроА-I является основным структурным и функциональным белковым компонентом липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) человека и составляет примерно 70% всех белков ЛПВП-частиц в циркуляции [46]. В большинстве случаев уровень ЛПВП в плазме крови положительно коррелирует с уровнем экспрессии гена ароА-I и секретированного белка АроА-I в печени, а высокая концентрация этого белка в крови защищает от развития атеросклероза [72, 66]. Исследования показывают, что низкий уровень АроА-I в плазме крови лучше коррелирует с риском развития атеросклероза, чем другие показатели [49], однако точный механизм антиатерогенного действия АроА-I все еще окончательно не выяснен. Основная гипотеза предполагает, что АроА-I играет ключевую роль в обратном транспорте холесте-

на и его эфиров в составе ЛПВП, запуская загрузку холестерина в из периферических тканей в печень [31, 7]. Другие данные свидетельствуют в пользу того, что АроА-I в составе ЛПВП может защищать стенку артерий от развития атеросклероза через проявление противовоспалительных [17, 21, 40, 8], антиоксидантных [6, 71, 5] и антитромботических [25] свойств. Известно, что моноциты, проникшие в атеросклеротические бляшки, дифференцируются в макрофаги, что включает положительную регуляцию так называемых «scavenger» («мусорщик») рецепторов, которые в норме участвуют в распознавании и захвате патогенов и апоптотических клеток [32]. Оказывается, что сквенджер-рецепторы распознают также и измененные молекулярные паттерны модифицированных форм ЛПНП, в том числе таких, как окисленные ЛПНП, и опосредуют значительное накопление холестерина, характерное для пенных клеток (Linton, Fazio, 2001). Окисленные ЛПНП вызывают увеличение продукции моноцитарного колонии-стимулирующего фактора (M-CSF) и ряда хемоаттрактирующих факторов, таких, например, как MCP-1 (секретируемый клетками эндотелия), что приводит к усилению миграции моноцитов в интиму артериальных сосудов и их последующей дифференцировке в макрофаги (Steinberg, 1997). В свою очередь, ЛПВП и входящий в их состав АроА-I, по всей вероятности, препятствуют окислению ЛПНП [5], увеличивают «обратный транспорт» холестерина из макрофагов в печень [79], а также уменьшают продукцию MCP-1 [35], что связывают с антиатерогенной ролью ЛПВП в каждом из указанных случаев. Одна из функций АроА-I в ЛПВП – служить кофактором фермента ЛХАТ, конвертирующего ХС в эфиры холестерина (ЭХС), локализующиеся в центральной (коровой) части этих частиц [3]. Синтез АроА-I у взрослых людей происходит, главным образом, в печени (гепатоцитах) и тощей кишке (энтероцитах), после чего АроА-I секретируется в кровяное русло, где входит в состав уже упомянутых ЛПВП, а также хиломикрон и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) [24]. Также показано, что, помимо участия в «обратном транспорте» холестерина и его эфиров, ЛПВП осуществляет доставку ХС и ЭХС в стероидогенные клетки организма [18]. В нескольких работах было показано, что сверхэкспрессия гена ароА-I в печени значительно увеличивает концентрацию ЛПВП и приводит к регрессии атеросклеротических повреждений аорты у мышей [64, 58, 74]. Поскольку основная масса ЛПВП в кровотоке образуется за счет синтеза АроА-I в гепатоцитах [3], уместно остановиться несколько подробнее на процессах формирования ЛПВП вблизи гепатоцитов. Транспорт фосфолипидов и ХС из гепатоцитов в кровотоки осуществляется через специфические мемб-

ранние белки, называемые АТФ-зависимыми кассетными транспортерами (ABCA1, ABCG1 и ABCG4), причем мембранный белок ABCA1 (раннее звено транспорта ХС) переносит липиды (фосфолипиды и холестерин) исключительно на внеклеточный, свободный от липидов АроА-I или на ранние формы ЛПВП (так называемые пре-β-ЛПВП, содержащие, помимо АроА-I, фосфолипиды), а мембранные белки ABCG1 и ABCG4 (в виде гетеродимеров) доставляют стеролы на уже сформировавшиеся ЛПВП (главным образом, на ЛПВП₃) [48]. Механизм переноса внутриклеточных липидов на свободный АроА-I или ЛПВП с помощью транспортеров до конца не ясен, полагают что все транспортеры используют механизм так называемого флип-флоп экспорта, т. е. энергозатратно (в один-два приема) транслоцируют фосфолипиды и ХС изнутри наружу, и поэтому их относят к классу белков, называемых флиппазами [67]. Кроме того, в гепатоцитах при секреции ХС на ЛПВП далеко не последнюю роль играет и ScR-B, поскольку этот белок способен работать в двух направлениях транспорта липидов (в клетки и из клеток) [62]. Таким образом, мутации в гене ABCA1 могут быть лимитирующими для образования зрелых ЛПВП, хотя контролируют всего лишь первый этап загрузки липидов из клеток на свободный от липидов белок АроА-I. Поскольку основная масса ЛПВП образуется в организме взрослого человека вблизи печени, то дефекты в гене ABCA1 при экспрессии его в гепатоцитах ведут к блоку образования классических форм (содержащих АроА-I) ЛПВП, из-за того, что не образуется ранний предшественник ЛПВП – пре-β-ЛПВП. Возникающая при этом патология у человека называется Танжерской болезнью, связана не только со снижением в кровотоке нормальных частиц ЛПВП, но и с отсутствием в кровотоке белка АроА-I, катаболизм которого в крови при Танжерской болезни резко возрастает [54]. Так как перенос клеточных липидов на аполипопротеины частично связан с определенным числом обходных путей (в обход ABCA1) на АроЕ, АроА-IV и некоторые другие белки, эти пути активируются в гепатоцитах с мутациями по генам ABCA1 или ароА-I, обеспечивая, так или иначе, экспорт упомянутых липидов в кровоток. Кроме того, нельзя забывать, что в этом экспорте липидов по-прежнему остаются активными транспортеры ABCG1 и ABCG4, а также белок ScR-B, способный работать в обоих направлениях липидного транспорта [62]. Признаки заболевания Танжерской болезнью у человека развиваются постепенно в виде прогрессирующих нарушений липидного обмена и морфологии структур (гипертриглицеридемия, ксантомы на коже), приводящих, в конце концов, к атеросклерозу у еще не старого человека [57].

Не так давно было установлено, что транспортеры, подобные описанным выше у человека, встречаются и у весьма примитивных животных (включая одноклеточные формы), у грибов, и их функции в указанных организмах достаточно разнообразны. У нематоды *Caenorhabditis elegans*, например, ортолог гена транспортера млекопитающих ABC1 – CED7 кодирует белок, использующийся в сигнальной цепочке запрограммированной смерти клеток, в частности в самом последнем ее этапе, когда везикулярные остатки погибших клеток убираются перевариванием их (фагоцитированием) соседними клетками [19]. Показано, что белки, кодируемые у млекопитающих и нематод ортологичными генами (ABC-транспортер и CED-7), транслоцируют на поверхность плазматических мембран клеток и мембран везикул внутриклеточный липид – фосфатидилсерин, являющийся для фагоцитирующих клеток сигналом «ешь меня» [34]. Здесь же следует отметить, что у нематод в клетках практически нет ХС (и мало других стеролов), а обменивающиеся между внеклеточными липид-белковыми комплексами малые аполипопротеины и вовсе отсутствуют (как и у всех других беспозвоночных), поэтому весьма вероятно, что функциональная связь транспортера ABCA1 с аполипопротеином АроА-I появляется только у позвоночных животных, и эту их ассоциацию можно рассматривать как эволюционное приобретение [4].

Существуют представления, что «обратный транспорт» холестерина из макрофагов в печень, осуществляемый с участием АроА-I, является процессом, важным для предотвращения развития атеросклеротических поражений сосудов. В экспериментах на мышцах, нокаутных по гену ароА-I, было показано, что доставка в мышечные макрофаги активного гена ароА-I человека уменьшает развитие жировых полосок на стенках аорты и увеличивает «обратный транспорт» холестерина из макрофагов в печень [50]. С другой стороны, доставка чужеродного гена ABCA1 в МФ мышей (с разрушенным собственным геном ABCA1) способствует торможению у них образования и роста атеросклеротических бляшек и даже ведет к их регрессии [41, 73]. Пересадка костного мозга от нормальных мышей (моноциты с нормальным геном ABCA1) мышам-нокаутам по собственному гену ABCA1 также ведет к регрессии экспериментально вызванного у них атеросклероза [78]. Вместе с тем имеются данные, свидетельствующие о том, что высокое содержание в крови ЛПВП и соответственно АроА-I у мышей не оказывает значительного терапевтического влияния на число и характер атеросклеротических повреждений стенок артериальных сосудов у этих животных. Было показано, что степень таких поражений зависит от результатов взаимодействия в интима макрофагаль-

ного ABCA1 со «свободным» белком ApoA-I, оказавшимся по тем или иным причинам в интиму [41]. В связи с этим, внимание исследователей было сфокусировано на изменениях свойств и судьбы макрофагов, мигрирующих в интиму артериальных сосудов, и на ассоциации этих процессов с образованием и ростом атероматозных бляшек. Оказалось, что для инициации и роста атеросклеротических поражений сосудов весьма важную роль играют локальные взаимодействия между белками ABCA1 и ApoA-I в самой стенке сосудов. При этом следует учитывать как антиоксидантные, так и противовоспалительные свойства ABCA1 и ApoA-I. Противовоспалительные характеристики ApoA-I занимают центральное место в «окислительной гипотезе атеросклероза»: ApoA-I запускает утилизацию окисленных липидов, усиливает «обратный транспорт» холестерина из макрофагов в печень и осуществляет другие антиоксидантные эффекты [55]. В пользу этой гипотезы свидетельствует тот факт, что у мышей, являющихся тройными нокаутами по генам apoA1-/-/рЛПНП-/-/аробес-/- или дважды нокаутированных по генам apoA-I и рЛПНП, помимо пониженной способности к обратному транспорту ХС, был значительно снижен уровень активности плазматической параксоназы-1 (PON-1) и увеличен базальный уровень хемоаттрактирующего белка моноцитов 1 (monocyte chemoattractant protein-1 MCP-1) (в сравнении с мышами, дважды нокаутированными по рЛПНП-/-/аробес-/-, но с нормальным геном apoA-I). Было высказано предположение, что у таких мышей ApoA-I реализует антиатерогенные свойства как за счет увеличения обратного транспорта холестерина из макрофагов, так и за счет противовоспалительной активности, независимо от уровня ЛПВП в плазме крови [48]. Предполагается также, что противовоспалительные эффекты ApoA-I в составе ЛПВП могут осуществляться через специфические клеточные сигнальные процессы [69]. Показано, что ApoA-I активирует сигнальный путь cdc42 через взаимодействие с ABCA1 и ингибирует адгезию моноцитов через активацию cdc42, а также активирует протеинкиназу C γ , что приводит к активации и стабилизации ABCA1-транспортера [21]. Также было продемонстрировано, что при действии ApoA-I через ABCA1-транспортер на клетки, помимо активации cdc42/Rac1 сигнальных путей, происходит также активация и последующих по цепочке событий с участием N-терминальной Jun-киназы (JNK) и активируемой митогеном протеинкиназы p38. В ряде работ показана способность ЛПВП ингибировать продукцию провоспалительных цитокинов (TNF α и IL-1 β) моноцитами/макрофагами после их контактного взаимодействия с активированными Т-лимфоцитами. Главную роль в такого рода противовоспалительных свойствах ЛПВП играет входящий

в эти частицы аполипопротеин ApoA-I [40]. ЛПВП и ApoA-I ингибируют экспрессию интегрина CD11b (известного также как Mac-1), присутствующего на поверхности моноцитов, что уменьшает способность этих клеток взаимодействовать с эндотелиальными клетками кровеносных сосудов [54]. Интересно, что блокирование ABCA1 при помощи антител отменяет влияние свободного ApoA-I на экспрессию в макрофагах гена CD11b, но не влияние ЛПВП, в то время как блокирование SR-BI, напротив, отменяет действие ЛПВП, но не ApoA-I на экспрессию CD11b, что позволяет предположить участие обоих рецепторов ABCA1, SR-BI в реализации противовоспалительных свойств ApoA-I и ЛПВП [54, Rye, Barter, 2008]. Показано также, что ApoA-I проявляет противовоспалительную активность, накапливаясь в очагах хронического воспаления при ревматоидном артрите и красной системной волчанке [22]. Было установлено, что накопление ApoA-I в синовиальной жидкости у пациентов с ревматоидным артритом блокирует контактные взаимодействия активированных Т-клеток с макрофагами, уменьшая локальную продукцию провоспалительных цитокинов TNF α и IL-1 β . Интересно, что у пациентов с ревматоидным артритом на стадии ремиссии ApoA-I в синовиальной жидкости не обнаруживается, что может свидетельствовать о физиологической роли ApoA-I как противовоспалительного агента [12]. Хорошо известно, что увеличение атеросклеротических повреждений вовлекает в атероматоз Т-лимфоциты, которые продуцируют определенные цитокины, влияющие локально на эндотелиальные клетки, макрофаги и гладкомышечные клетки [36, 47]. Можно предположить, что противовоспалительные свойства ApoA-I осуществляются в атеросклеротических бляшках путем блокирования действия указанных цитокинов. К другим противовоспалительным функциям ApoA-I относится его способность индуцировать продукцию IL-10 и PGE2 моноцитами человека, а также ингибировать дифференцировку и созревание дендритных клеток [45] и уменьшать активацию нейтрофилов *in vitro* [27]. Получены данные о том, что ApoA-I может играть роль конститутивного противовоспалительного фактора, уменьшение уровня которого в плазме крови в ходе острого воспаления может быть причиной развития хронического воспалительного процесса [13].

Суммируя вышесказанное, белок ApoA-I можно рассматривать как антиатерогенный фактор, способный к модулированию развития воспалительных реакций. С другой стороны, хорошо известно, что содержание ApoA-I в плазме крови человека падает при системном воспалении. Уменьшение содержания ApoA-I в составе ЛПВП плазмы крови при воспалении, по-видимому, связано как с подавлением синтеза ApoA-I в печени, так и с вытеснением и замещением

АроА-I из ЛПВП сывороточным амилоидом А (SAA) в крови [43, 26]. Возрастающий уровень SAA в составе ЛПВП сопровождается увеличением в плазме крови уровня несвязанного с липидами АроА-I, возможно, вследствие диссоциации АроА-I из ЛПВП [14]. Было показано, что провоспалительные цитокины IL-1 β и TNF α угнетают экспрессию гена ароА-I в печени и снижают последующую секрецию АроА-I гепатоцитами человека [70]. В экспериментах на свиньях и на свиных клетках *in vitro* показано, что IL-6 и TNF α угнетают экспрессию гена ароА-I в гепатоцитах и снижают уровень белка АроА-I в крови при остром воспалении [56]. Другие авторы продемонстрировали угнетающее действие TNF α на гепацитарный энхансер гена ароА-I крысы, однако конкретные мишени действия этого цитокина на уровне транскрипционных факторов, взаимодействующих с промотором гена ароА-I, остались невыясненными [33]. Таким образом, существует представление об АроА-I ряда млекопитающих, включая человека, как о негативном показателе острофазного воспалительного ответа, осуществляющего модуляторные функции в процессе развития воспаления.

К настоящему времени хорошо изучены механизмы регуляции экспрессии гена ароА-I человека в культивируемых *in vitro* клетках гепацитарного ряда (гепатомы НерG2) и в собственно гепацитах, где минимальный промотор гена ароА-I (-41 ... +1 н. п.) и гепацитарный энхансер (-222 ... -110 н. п.) (н. п. – координаты регуляторных ДНК-последовательностей в нуклеотидных парах относительно точки инициации транскрипции) обеспечивают эффективную транскрипцию этого гена в клетках гепацитарного ряда (рис. 1) [38, 65, 52]. Гепацитарный энхансер гена ароА-I содержит сайты для таких повсеместно распространенных факторов

транскрипции, как Sp1 и Egr1 [42, 44, 80], а также сайты связывания ряда ядерных рецепторов. К числу важных позитивных регуляторов транскрипции гена ароА-I в гепацитах, взаимодействующих с HRE (hormone responsive elements) в гепацитарном энхансере, относятся ядерные рецепторы: HNF4 α [28, 15], PPAR α [51], LRH-1 [20] и RXR α [63, 77]. Вместе с тем ядерные рецепторы других типов: LXR [39, 52], FXR [16] и ARP-1 [28], взаимодействующие с теми же сайтами HRE гепацитарного энхансера, действуют как негативные регуляторы (репрессоры) транскрипции гена ароА-I. В целом « гепацитарный » энхансер гена ароА-I человека состоит из трех частей: А, В и С и организован так, что районы А и С, содержащие сайты HRE, взаимодействуют с указанными ядерными рецепторами, а район В, содержащий участки связывания с факторами транскрипции семейства FOX, взаимодействует с представителем этого семейства – HNF3 [37].

Помимо активности гена ароА-I в гепацитах и энтероцитах тощей кишки у млекопитающих (включая человека), имеются данные об умеренной (меньше, чем в печени и энтероцитах) экспрессии гена ароА-I в плаценте [61], сердце [9] и хрящевой ткани [29] взрослого человека, а также в отдельных участках нервной системы зародышей млекопитающих (человек и мышь) [2, 1]. Практически ничего неизвестно о факторах транскрипции и соответствующих цис-элементах в регуляторных областях гена ароА-I, контролирующих его экспрессию в указанных тканях.

В наших недавних исследованиях мы обнаружили умеренную экспрессию гена ароА-I и соответствующий ей синтез белка АроА-I в клетках моноцитарно-макрофагального ряда – моноцитах и макрофагах периферической крови человека и клеточной линии ТНР-1 (моноцитарная лейкемия человека) [53]. С использованием метода RT-PCR в реальном времени нами показано, что экспрессия гена ароА-I (на уровне РНК) возрастает в ходе дифференцировки моноцитов в макрофаги, причем этот эффект наблюдался как для моноцитов периферической крови человека, так и для клеточной линии ТНР1 (рис. 2а). Интересно, что, в отличие от гепацитов, где стимуляция клеток провоспалительным цитокином TNF α приводит к подавлению экспрессии гена ароА-I (на уровне РНК и синтеза соответствующего белка) [52], добавление в ростовую среду для клеток ТНР1 или для моноцитов периферической крови человека TNF α приводит к дозо- и время-зависимому увеличению экспрессии гена ароА-I (на уровне РНК). В случае моноцитов наблюдается индукция экспрессии в 5–7 раз, а в макрофагах степень активации ниже – 1,5–2 раза (рис. 2б, в, г). Методом

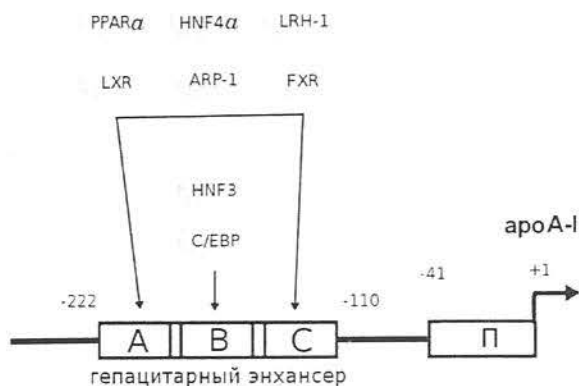


Рис. 1. Схема 5'-регуляторной области гена ароА-I: цифры означают координаты относительно точки инициации транскрипции: П – промотор ароА-I, А, В и С – сайты для связывания транскрипционных факторов в составе гепацитарного энхансера. Вверху на сером фоне приводятся обозначения действующих на энхансер ядерных рецепторов

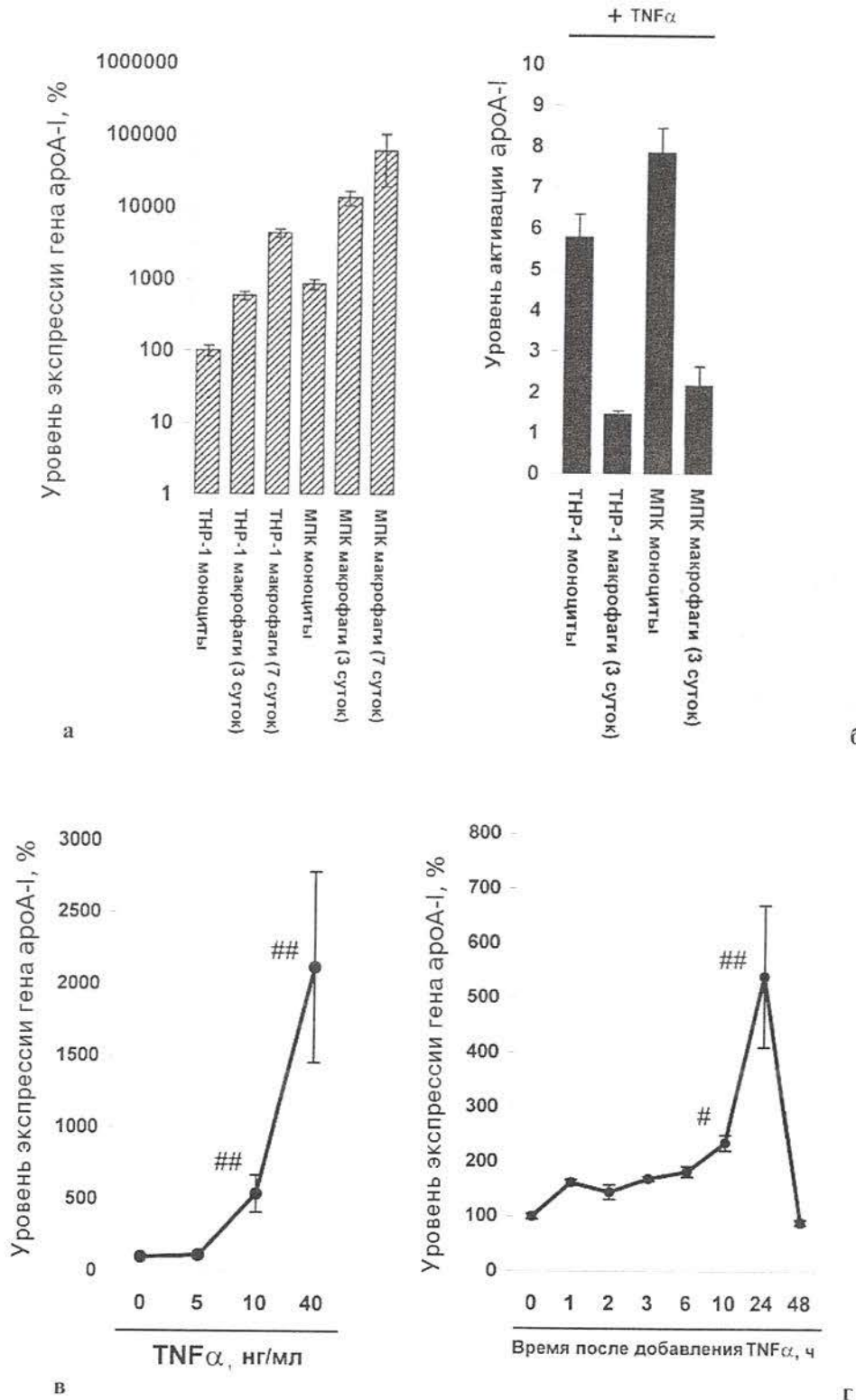


Рис. 2. Экспрессия эндогенного гена arA-I в моноцитах и макрофагах человека: а – экспрессия гена arA-I в клетках THP-1 и моноцитах периферической крови человека, RT-PCR в режиме реального времени: значения по оси Y указывают относительный уровень мРНК arA-I (100% в моноцитах THP-1); 3 сут и 7 сут – макрофаги THP-1 через 3 и 7 сут после добавления форболового эфира (индукция дифференцировки) соответственно; МПК моноциты и макрофаги – моноциты и макрофаги, полученные из мононуклеаров периферической крови человека; б – уровень активации экспрессии гена arA-I при действии TNFα (10 нг/мл), где 1 соответствует уровню экспрессии гена arA-I без добавления TNFα; в – влияние различных концентраций TNFα на уровень экспрессии гена arA-I в моноцитах THP-1 через 24 ч после добавления TNFα; г – динамика экспрессии arA-I после стимуляции моноцитов THP-1 TNFα (10 нг/мл), после чего клетки инкубировали указанное время, выделяли тотальную РНК и измеряли мРНК arA-I. Значения по оси Y указывают относительный уровень мРНК arA-I (100% в клетках без добавления TNFα)

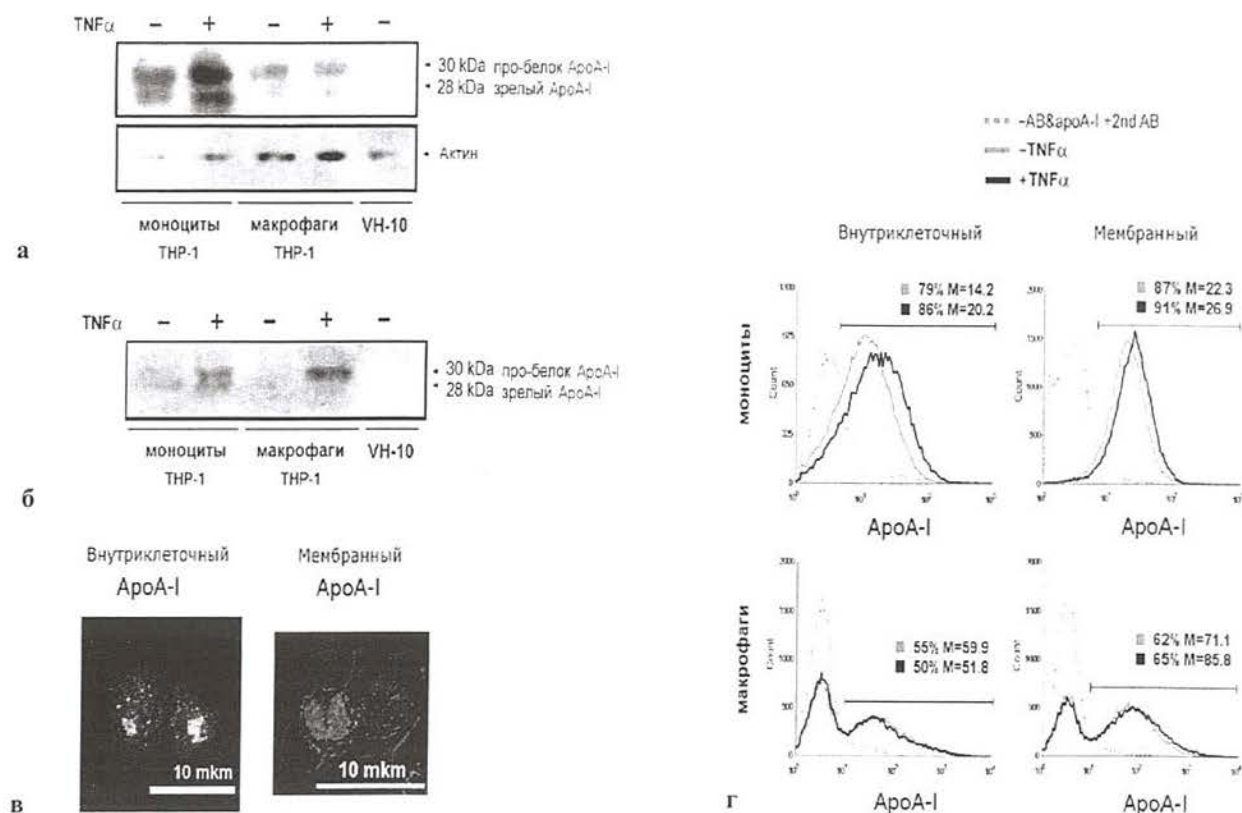


Рис. 3. Продукция, секреция и локализация новообразованного белка ApoA-I в моноцитах и макрофагах THP1: а – анализ содержания белка ApoA-I в клетках THP1; моноциты и макрофаги THP1, культивированные в присутствии или в отсутствие TNF α (10 нг/мл, 24 ч), и фибробласты VH-10 (отрицательный контроль) лизировали с помощью буфера RIPA, ApoA-I определяли методом Вестерн-блот-анализа с использованием мышиных моноклональных антител против ApoA-I человека; б – анализ секреции белка ApoA-I в культуральную среду (эквивалент 250 мкл среды) клетками THP1 за 24 ч в присутствии и в отсутствие TNF α ; секретированные белки концентрировали и ApoA-I определяли методом Вестерн-блот-анализа; в – определение локализации ApoA-I в макрофагах THP1 методом лазерной сканирующей конфокальной микроскопии (LSCM) с помощью непрямой иммуноцитохимии с использованием мышиных моноклональных антител против ApoA-I человека и кроличьих антител против IgG мыши, конъюгированных с FITC, клеточные ядра окрашены DAPI; для выявления внутриклеточного ApoA-I перед добавлением антител клетки пермеабилizировали добавлением 0.1% TritonX-100, 1% BSA на PBS в течение 20 мин при +22 °C; в случае определения ApoA-I, связанного с наружной поверхностью клеточной мембраны, пермеабилizацию не проводили; г – оценка распределения внутриклеточного и связанного с мембраной ApoA-I в моноцитах и макрофагах THP1 методом проточной цитофлуориметрии: моноциты и макрофаги THP1 фиксировали в 4% параформальдегиде на PBS в течение 20 мин при +4 °C; иммуноцитохимическую окраску на мембранный и внутриклеточный ApoA-I проводили как описано выше; анализ клеток осуществляли с помощью проточного цитофлуориметра «Eric Altra» (Becton Coulter, USA); в экспериментах с TNF α проводили инкубацию клеток в течение 24 ч в присутствии TNF α (10 нг/мл)

Western-блот-анализа установлено, что индукция экспрессии apoA-I под действием TNF α сопровождается накоплением новосинтезированного белка ApoA-I в моноцитах THP1 и усилением его секреции в ростовую среду. В случае с макрофагами THP1, действие TNF α не приводит к увеличению содержания новосинтезированного белка ApoA-I, но существенно увеличивает уровень секреции ApoA-I в ростовую среду (рис. 3а, б). Методом сканирующей лазерной конфокальной микроскопии показано, что новосинтезированный ApoA-I в клетках THP1 локализуется в виде внутриклеточных включений, а также на наружной поверхности плазматической мембраны этих клеток (рис. 3в). Изучение распределения уровня внутрик-

леточного белка ApoA-I в моноцитах и макрофагах THP1 методом проточной цитофлуориметрии выявило любопытные закономерности. Установлено, что все моноциты содержат как внутриклеточный, так и мембранно-связанный ApoA-I. Действие TNF α приводит к увеличению содержания внутриклеточного белка, но не влияет на уровень мембранно-связанного ApoA-I. В ходе дифференцировки моноцитов THP1 в макрофаги, индуцированной форболовыми эфирами, происходит разделение клеток на две популяции: клетки, содержащие значительные количества как внутриклеточного, так и мембранно-связанного ApoA-I, и клетки, в которых уровень новосинтезированного ApoA-I существенно ниже (рис. 3г).

Действие TNF α на макрофаги THP1, по-видимому, не влияет на уровень внутриклеточного и мембранно-связанного AroA-I, но приводит к увеличению его секреции, что согласуется с приведенными выше данными Western-блот-анализа.

Мы также изучили роль основных сигнальных каскадов, инициируемых TNF α , в активации экспрессии гена аroA-I в моноцитах и макрофагах. В THP1-моноцитах TNF α -опосредованная активация экспрессии гена аroA-I зависит от сигнальных путей JNK и MEK1/2. В THP1-макрофагах ингибирование любого из сигнальных путей JNK, MEK1/2, p38, а также транскрипционного фактора NF κ B ведет к отмене TNF α -опосредованной активации экспрессии гена аroA-I (рис. 4). При этом оказывается, что ядерный рецептор PPAR α является негативным регулятором транскрипции экспрессии гена аroA-I в THP1-клетках, тогда как ядерные рецепторы LXR – позитивными. Добавление к этим клеткам синтетического агониста LXR также приводит к увеличению синтеза белка AroA-I. Таким образом, лиганд-зависимая регуляция активности ядерных рецепторов PPAR α и

LXR модифицирует экспрессию гена аroA-I в клетках THP1 и интерферирует с TNF α -опосредованной активацией экспрессии этого гена.

Как уже упоминалось, основное место экспрессии гена аroA-I взрослого человека – это печень, точнее, гепатоциты. Наше исследование по регуляции экспрессии гена аroA-I под действием TNF α в клетках моноцитарно-макрофагального ряда было бы неполным, если бы мы не сравнили этот феномен с аналогичной регуляцией экспрессии человеческого гена аroA-I в клетках гепатитарного ряда. Как уже упоминалось выше, экспрессия гена аroA-I в гепатоцитах угнетается провоспалительным цитокином TNF α [70, 33, 56, 10, 52]. Мы получили эти результаты, используя в качестве объекта исследования клетки высокодифференцированной гепатомы человека HepG2 [52]. В частности, мы показали подавление экспрессии эндогенного гена аroA-I человека под действием TNF α , которое отменяется при добавлении химических ингибиторов протеинкиназ JNK, p38 и фактора транскрипции NF κ B, но не протеинкиназы MEK1/2. Эксперименты с использованием гене-

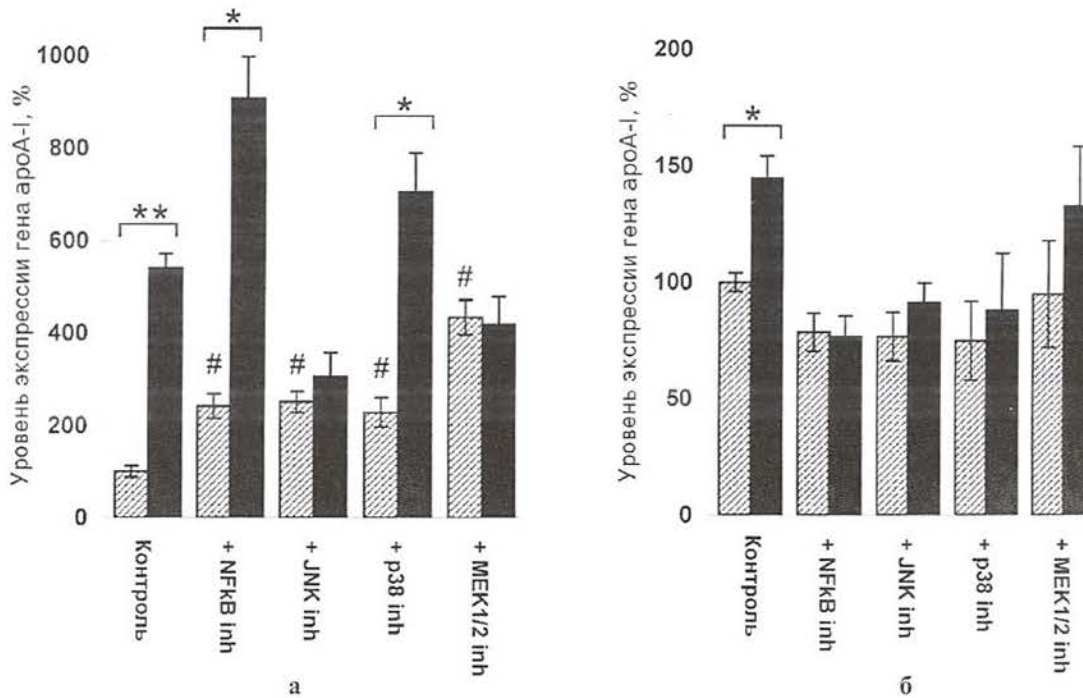


Рис. 4. Регуляция экспрессии гена аroA-I в моноцитах (а) и макрофагах через 3 сут с начала дифференцировки (б) THP1 при действии TNF α : роль MAP-киназных каскадов и фактора транскрипции NF κ B, RT-PCR в режиме реального времени: контроль – клетки THP1 без добавления ингибиторов; NF κ B inh – ингибитор активации фактора транскрипции NF κ B QNZ в концентрации 10 нМ; JNK inh – ингибитор киназ JNK1/2/3 SP600125 в концентрации 10 мкМ; p38 inh – ингибитор киназ p38 SB203580 в концентрации 25 мкМ; MEK1/2 inh – ингибитор киназ MEK1/2 U0126 в концентрации 10 мкМ; ингибиторы в ростовую среду добавляли за 1 ч до внесения TNF α (10 нг/мл), выделение РНК и оценку уровня экспрессии гена аroA-I проводили через 24 ч инкубации с TNF α ; заштрихованные столбики соответствуют клеткам, к которым не добавляли TNF α , черные столбики – клеткам, стимулированным TNF α ; значения представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего для 6 независимых экспериментов; статистический анализ различий между группами сравнения (с или без TNF α) проводили с использованием непарного t-критерия Стьюдента (* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001); статистический анализ различий между уровнями экспрессии гена аroA-I в контрольных клетках и клетках, к которым добавляли ингибиторы или синтетические лиганды, проводили с использованием критерия Даннета (# p < 0.05, ## p < 0.01)

тических конструкций, содержащих делеционные варианты 5'-регуляторной области гена *apoA-I* человека, свидетельствуют о том, что угнетающее действие TNF α на экспрессию гена в клетках HepG2 осуществляется через гепатоцитарный экансер. TNF α угнетает также секрецию белка *apoA-I* клетками при участии сигнальных протеинкиназ JNK и p38. Если более детализировать эти процессы, то TNF α приводит к JNK- и NF- κ B-зависимому подавлению экспрессии генов ядерных рецепторов HNF4 α и PPAR α , являющихся положительными регуляторами транскрипции гена *apoA-I* человека, что, по-видимому, вызывает уменьшение экспрессии гена *apoA-I*. Используя синтетические лиганды ядерных рецепторов PPAR α и LXR, мы показали, что антагонист PPAR α (MK886) и агонист LXR (TO901317) отменяют угнетающее действие TNF α на экспрессию гена *apoA-I*. Агонист PPAR α (WY-14643) отменяет действие TNF α только при ингибировании MEK1/2, хотя ни WY-14643, ни ингибитор MEK1/2 по отдельности не приводят к отмене действия TNF α . TNF α -зависимая активация протеинкиназ MEK1/2, по-видимому, может влиять на лиганд-опосредованную регуляцию экспрессии гена *apoA-I* со стороны PPAR α , предположительно путем фосфорилирования этого ядерного рецептора. Добавление к клеткам HepG2 синтетических антагонистов PPAR α и LXR также приводит к отмене угнетения секреции *apoA-I* при действии TNF α . Эксперименты по иммунопреципитации хроматина показали, что TNF α приводит к уменьшению уровня связывания PPAR α с гепатоцитарным экансером гена *apoA-I* в 2 раза, в то время как уровень LXR β , связанного с гепатоцитарным экансером, возрастает в 3 раза при действии TNF α . Полученные результаты говорят о том, что ядерные рецепторы PPAR α и LXR вовлечены в механизмы регуляции экспрессии гена *apoA-I* человека и секреции белка *apoA-I* при действии TNF α в клетках гепатоцитарного ряда (HepG2). Это воздействие TNF α на клетки гепатоцитарного ряда строго противоположно по знаку его воздействию на клетки моноцитарно-макрофагального ряда, что не удивительно, поскольку подобные разнонаправленные эффекты упомянутых ядерных рецепторов на экспрессию генов (*ABCA1* и *apoE*), связанных с экспортом ХС, под воздействием TNF α уже выявлялись другими авторами [23, 30].

Полученные результаты свидетельствуют о тканеспецифическом характере экспрессии гена *apoA-I* в клетках человека и позволяют предположить участие новосинтезированного в моноцитах-макрофагах *apoA-I* в регуляции процессов воспаления, в ходе развития атеросклеротических повреждений стенок артериальных сосудов. Кроме того, на тех же объектах мы показали, что кассетный транспортер *ABCA1* и новосинтезированный *apoA-I* в макрофагах ло-

кализуются в этих клетках и, по всей вероятности, их совместная локализация отражает способность *apoA-I* стабилизировать (продолжить) существование макрофагального *ABCA1*-транспортера. Полученные нами результаты детализируют картину тонких взаимодействий антиатерогенных факторов, нарушение которых может являться одной из ведущих причин атерогенеза [53].

Как уже упоминалось выше, в число клеток, формирующих атероматозную бляшку, входят, прежде всего, макрофаги, которые превращаются в пенные клетки и погибают различными видами программированной клеточной смерти (апоптозом или аутофагией); Т-клетки, привлекаемые провоспалительными цитокинами, секретиремые теми же макрофагами или эндотелиальными клетками артериальных сосудов; мигрирующие в бляшку гладкомышечные клетки сосудистых стенок, способные к пролиферации и образующие плотные крышки бляшек из собственных тел и молекул внеклеточного матрикса, которые они же и продуцируют (занимающих верхнее положение в составе этих крышек) [59]. Более зрелые бляшки способны образовать вокруг себя капиллярную сеть и не перестают продуцировать в окружающее пространство высокие концентрации провоспалительных цитокинов, главным образом TNF α , интерлейкин один-бета (IL-1 β), интерферон-гамма (INF- γ), а также активные формы кислорода и ферменты, разрушающие структуру внеклеточного матрикса [11]. Такие бляшки, характеризуются еще и тем, что прибывающие в них новые порции макрофагов в ходе развития иммунного воспаления, теряют способность фагоцитировать везикулы погибших программированной смертью пенных клеток (осуществлять эффероцитоз) и погибают сами, видимо, уже некрозом, добавляя в центральное некротическое ядро бляшки свежие порции содержимого. Такие бляшки теряют структурную стабильность и переходят в разряд нестабильных, фиброзная крышка у последних истончается (включая участки внеклеточного матрикса), и они могут спонтанно изломаться, нарушая целостность стенок сосудов и изливая в кровоток свое некротическое содержимое. Привлекаемые повреждением стенки сосудов тромбоциты, продуцирующие совместно с эндотелиальными клетками этого участка специфические цитокины и молекулы клеточной адгезии, образуют тромб, блокирующий кровоток, и, таким образом, вызывают либо острую сердечную недостаточность, либо инсульт [4].

Такие печальные для пациентов последствия можно отчасти предотвратить либо задержать, используя фармакологические препараты, уменьшающие количества синтезируемого в клетках ХС, поскольку, в основном, именно увеличение количества ХС и его окисленных форм в составе ЛПНП ведет к

атеросклерозу. Использование статинов в качестве лечебных препаратов (наряду с ограничением в диете ХС и источников триглицеридов) в развитых странах позволило снизить риск сердечно-сосудистых заболеваний примерно на 30%. Статины также могут менять (увеличивать) степень обратного транспорта ХС, воздействуя на его внеклеточные и (возможно) клеточные этапы [48]. Однако, несмотря на принимаемые органами здравоохранения меры по борьбе с атеросклерозом и увеличение продолжительности жизни, распространенность сердечно-сосудистых заболеваний была и остается ведущим фактором смертности населения в Европе и США.

Анализируя причины, обуславливающие развитие атеросклероза, можно отметить, что важным провоцирующим фоном этой цепочки событий (ведущей к образованию нестабильных бляшек) являются различные формы метаболического синдрома (включая гиперлипидемию, гипертонию, диабет, ожирение и др.), вследствие развития которого клетки ряда типов тканей, включая клетки моноцитарно-макрофагального ряда, переходят в состояние оксидативного стресса, что инициирует процессы хронического воспаления, приводящие в том числе к нарушению эффероцитоза (макрофагального переваривания везикул погибших программированной смертью пенных клеток), к образованию некротической сердцевинной бляшки, к преобразованию стабильных фиброзных бляшек в нестабильные (ломкие) формы и т. д. Интересно отметить, что в этих процессах активную роль могут играть не только гены белков клеточного стресса (hsp 60, hsp70), но и гены, белковые продукты которых определяют переход клеток от состояния клеточного стресса к программированной смерти (гены семейства FOXO) [60], что, в связи со сказанным выше о развитии атероматозных бляшек, заставляет исследовать функциональные связи между антиатерогенными формами белковых продуктов и процессами оксидативного стресса, программированной клеточной смерти и некроза, значение которых нарастает к финальным стадиям развития этого заболевания.

Публикация подготовлена авторами, благодаря финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 09-04-01301.

Литература

1. Виленская Е.Г., Лапиков И.А. Изучение экспрессии гена аполипопротеина А-I в эмбрионе мыши // Мол. мед. 2009. № 1. С. 35–39.
2. Воробьев Е.В., Перевозчиков А.П. Исследование экспрессии гена аполипопротеина А-I на ранних стадиях эмбриогенеза человека методом гибридизации *in situ* // Онтогенез. 1992. Т. 23. № 5. С. 469–478.

3. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения: Рук-во для врачей. СПб.: Питер, 1999. 500 с.
4. Перевозчиков А.П. Стероиды и их транспорт в развитии животных // Онтогенез. 2009. Т. 39. № 3. С. 165–189.
5. Ansell B.J., Navab M., Watson K.E. et al. Anti-inflammatory properties of HDL // Rev. Endocr. Metab. Disord. 2004. Vol. 5. № 4. P. 351–358.
6. Banka C.L. High density lipoprotein and lipoprotein oxidation // Curr. Opin. Lipidol. 1996. Vol. 7. № 3. P. 139–142.
7. Barter P.J., Rye K.A. Molecular mechanisms of reverse cholesterol transport // Curr. Opin. Lipidol. 1996. Vol. 7. № 2. P. 82–87.
8. Barter P.J., Nicholls S., Rye K. A. et al. Anti-inflammatory properties of HDL // Circ. Res. 2004. Vol. 95. № 8. P. 764–772.
9. Baroukh N., Lopez C.E., Saleh M.C. et al. Expression and secretion of human apolipoprotein A-I in the heart // FEBS Lett. 2004. Vol. 557. P. 39–44.10.
10. Beers A., Haas M.J., Wong N.C.W., Mooradian A. Inhibition of Apolipoprotein AI Gene Expression by Tumor Necrosis Factor α : Roles for MEK/ERK and JNK Signaling // Biochemistry. 2006. Vol. 45. № 7. P. 2408–2413.
11. Boyle J.J. Macrophage Activation in Atherosclerosis: Pathogenesis and Pharmacology of Plaque Rupture // Curr. Vasc. Pharmacol. 2005. Vol. 3. № 1. P. 63–68.
12. Bresnihan B., Gogarty M., FitzGerald O. et al. Apolipoprotein A-I infiltration in rheumatoid arthritis synovial tissue: a control mechanism of cytokine production? // Arthritis Res. Ther. 2004. Vol. 6. № 6. P. R563–566.
13. Burger D., Dayer J. M. High-density lipoprotein-associated apolipoprotein A-I: the missing link between infection and chronic inflammation? // Autoimmunol. Rev. 2002. Vol. 1. № 1–2. P. 111–117.
14. Cabana V.G., Lukens J.R., Rice K.S. et al. HDL content and composition in acute phase response in three species: triglyceride enrichment of HDL a factor in its decrease // J. Lipid. Res. 1996. Vol. 37. № 12. P. 2662–2674.
15. Chan J., Nakabayashi H., Wong N.C. HNF-4 increases activity of the rat Apo A1 gene // Nucleic Acids. Res. 1993. Vol. 21. P. 1205–1211.
16. Claudel T., Sturm E., Duez H. et al. Bile acid-activated nuclear receptor FXR suppresses apolipoprotein A-I transcription via a negative FXR response element // J. Clin. Invest. 2002. Vol. 109. P. 961–971.
17. Cockerill G.W., Rye K.A., Gamble J.R. et al. High-density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules // Arte-

- rioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1995. Vol. 15. № 11. P. 1987–1994.
18. Connelly M.A., Williams D.L. SR-BI and cholesterol uptake into steroidogenic cells // *Trends Endocrinol. Metab.* 2003. Vol. 14. № 10. P. 467–472.
 19. Dean M., Hamon Y., Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily // *J. Lipid Res.* 2001. Vol. 42. P. 1007–1014.
 20. Delerive P., Galardi C.M., Bisi J.E. et al. Identification of liver receptor homolog-1 as a novel regulator of apolipoprotein AI gene transcription // *Mol. Endocrinol.* 2004. Vol. 18. P. 2378–2387.
 21. Diederich W., Orsó E., Drobnik W., Schmitz G. Apolipoprotein AI and HDL(3) inhibit spreading of primary human monocytes through a mechanism that involves cholesterol depletion and regulation of CDC42 // *Atherosclerosis.* 2001. Vol. 159. № 2. P. 313–324.
 22. Doherty N.S., Littman B.H., Reilly K. et al. Analysis of changes in acute-phase plasma proteins in an acute inflammatory response and in rheumatoid arthritis using two-dimensional gel electrophoresis // *Electrophoresis.* 1998. Vol. 19. № 2. P. 355–363.
 23. Duan H., Li Z., Mazzone T. Tumor necrosis factor- α modulates monocyte/macrophage apolipoprotein E gene expression // *J. Clin. Invest.* 1995. Vol. 96. P. 915–922.
 24. Eggerman T.L., Hoeg J.M., Meng M.S. et al. Differential tissue-specific expression of human apoA-I and apoA-II // *J. Lipid Res.* 1991. Vol. 32. № 5. P. 821–828.
 25. Epand R.M., Stafford A., Leon B. et al. HDL and apolipoprotein A-I protect erythrocytes against the generation of procoagulant activity // *Arterioscler. Thromb.* 1994. Vol. 14. № 11. P. 1775–1783.
 26. Esteve E., Ricart W., Fernández-Real J.M. Dyslipidemia and inflammation: an evolutionary conserved mechanism // *Clin. Nutr.* 2005. Vol. 24. № 1. P. 16–31.
 27. Furlaneto C.J., Ribeiro F.P., Hatanaka E. et al. Apolipoproteins A-I and A-II downregulate neutrophil functions // *Lipids.* 2002. Vol. 37. № 9. P. 925–928.
 28. Ge R., Rhee M., Malik S., Karathanasis S.K. Transcriptional repression of apolipoprotein AI gene expression by orphan receptor ARP-1 // *J. Biol. Chem.* 1994. Vol. 269. P. 13185–13192.
 29. Gentili C., Tutolo G., Pianezzi A. et al. Cholesterol secretion and homeostasis in chondrocytes: a liver X receptor and retinoid X receptor heterodimer mediates apolipoprotein AI expression // *Matrix. Biol.* 2005. Vol. 24. P. 35–44.
 30. Gerbod-Giannone M.C., Li Y., Holleboom A. et al. TNF α induces ABCA1 through NF- κ B in macrophages and in phagocytes ingesting apoptotic cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. Vol. 103. № 9. P. 3112–3117.
 31. Glomset J. A. The plasma lecithins:cholesterol acyltransferase reaction // *J. Lipid Res.* 1968. Vol. 9. № 2. P. 155–167.
 32. Gough P.J., Gordon S. The role of scavenger receptors in the innate immune system // *Microbes Infect.* 2000. Vol. 2. № 3. P. 305–311.
 33. Haas M.J., Horani M., Mreyoud A. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2003. Vol. 1623. № 2–3. P. 120–128.
 34. Hamon Y., Chambenoit O., Chimini G. ABCA1 and the engulfment of apoptotic cells // *Biochim. Biophys. Acta.* 2002. Vol. 1585. P. 64–71.
 35. Han K.H., Han K.O., Green S.R., Quehenberger O. Expression of the monocyte chemoattractant protein-1 receptor CCR2 is increased in hypercholesterolemia. Differential effects of plasma lipoproteins on monocyte function // *J. Lipid Res.* 1999. Vol. 40. № 6. P. 1053–1063.
 36. Hansson G.K. Immune mechanisms in atherosclerosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001. Vol. 21. P. 1876–1890.
 37. Harnish D.C., Malik S., Sotirios K., Karathanasis S.K. Activation of apolipoprotein AI gene transcription by the liver-enriched factor HNF-3 // *J. Biol. Chem.* 1994. Vol. 269. № 45. P. 28220–28226.
 38. Higuchi K., Law S.W., Hoeg J.M. et al. Tissue-specific expression of apolipoprotein A-I (ApoA-I) is regulated by the 5'-flanking region of the human ApoA-I gene // *J. Biol. Chem.* 1988. Vol. 263. № 34. P. 18530–18536.
 39. Huuskonen J., Vishnu M., Chau P. et al. Liver X receptor inhibits the synthesis and secretion of apolipoprotein A1 by human liver-derived cells // *Biochemistry.* 2006. Vol. 45. № 50. P. 15068–15074.
 40. Hyka N., Dayer J.M., Modoux C. et al. Apolipoprotein A-I inhibits the production of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α by blocking contact-mediated activation of monocytes by T lymphocytes // *Blood.* 2001. Vol. 97. № 8. P. 2381–2389.
 41. Ishiguro H., Yoshida H., Major A.S. et al. Retrovirus-mediated expression of apolipoprotein A-I in the macrophage protects against atherosclerosis in vivo // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276. P. 36742–36748.
 42. Ivanov G.S., Kater J.M., Jha S.H. et al. Sp and GATA factors are critical for Apolipoprotein AI downstream enhancer activity in human HepG2 cells // *Gene.* 2003. Vol. 323. P. 31–42.
 43. Khovidhunkit W., Memon R.A., Feingold K.R., Grunfeld C. Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins // *J. Infect. Dis.* 2000. Vol. 181. Suppl. 3. P. S462–472.
 44. Kilbourne E.J., Widom R., Harnish D.C. et al. Involvement of early growth response factor Egr-1

- in apolipoprotein AI gene transcription // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270. P. 7004–7010.
45. Kim K.D., Lim H.Y., Lee H.G. et al. Apolipoprotein A-I induces IL-10 and PGE2 production in human monocytes and inhibits dendritic cell differentiation and maturation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. Vol. 338. № 2. P. 1126–1136.
 46. Lewis G.F., Rader D.J. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport // *Circ. Res.* 2005. Vol. 96. № 12. P. 1221–1232.
 47. Libby P. Inflammation in atherosclerosis // *Nature.* 2002. Vol. 420. P. 868–874.
 48. Linsel-Nitschke P., Tall A.R. HDL as a target in the treatment of atherosclerotic cardiovascular disease // *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2005. Vol. 4. № 3. P. 193–205.
 49. Maciejko J.J., Holmes D.R., Kottke B.A. et al. Apolipoprotein A-I as a marker of angiographically assessed coronary-artery disease // *N. Engl. J. Med.* 1983. Vol. 309. № 7. P. 385–389.
 50. Major A.S., Dove D.E., Ishiguro H. et al. Increased cholesterol efflux in apolipoprotein AI (ApoAI)-producing macrophages as a mechanism for reduced atherosclerosis in ApoAI(-/-) mice // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001. Vol. 21. P. 1790–1795.
 51. Martin G., Schoonjans K., Lefebvre A.M. et al. Coordinateregulation of the expression of the fatty acid transport protein and acyl-CoA synthetase genes by PPARalpha and PPARgamma activators // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 28210–28217.
 52. Mogilenko D.A., Dizhe E.B., Shavva V.S. et al. Role of the nuclear receptors HNF4 alpha, PPAR alpha, and LXRs in the TNF alpha-mediated inhibition of human apolipoprotein A-I gene expression in HepG2 cells // *Biochemistry.* 2009. Vol. 48. № 50. P. 11950–11960.
 53. Mogilenko D.A., Trulioff A.S., Ivanov A.S. et al. TNFalpha activates endogenous expression of human apolipoprotein A-I in monocytes and macrophages: role of NFkappaB, MAP-kinases and nuclear receptors LXRs and PPARalpha // *J. Biol. Chem.* 2010. (submitted for publication)
 54. Murphy A.J., Woollard K.J., Hoang A. et al. High density lipoprotein reduces the human monocyte inflammatory response // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008. Vol. 28. P. 2071–2077.
 55. Navab M., Hama S.Y., Cooke C.J. et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1 // *J. Lipid. Res.* 2000. Vol. 41. P. 1481–1494.
 56. Navarro M.A., Carpintero R., Acin S. et al. Immunoregulation of the apolipoprotein A-I/C-III/A-IV gene cluster in experimental inflammation // *Cytokine.* 2005. Vol. 31. № 1. P. 52–63.
 57. Pisciotta L., Hamilton-Craig I., Tarugi P. et al. Familial HDL deficiency due to ABCA1 gene mutations with or without other genetic lipoprotein disorders // *Atherosclerosis.* 2004. Vol. 172. № 2. P. 309–320.
 58. Plump A., Scott C., Breslow J. Human apolipoprotein A-I gene expression increases high density lipoprotein and suppresses atherosclerosis in the apolipoprotein E-deficient mouse // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. Vol. 91. № 20. P. 9607–9611.
 59. Porto A., Palumbo R., Pieroni M., Bianchi M. E. Smooth muscle cells in human atherosclerotic plaques secrete and proliferate in response to high mobility group box 1 protein // *FASEB J.* 2006. Vol. 20. № 14. P. 2565–2566.
 60. Reddy S. A.G., Huang J.H., Liao W.S.-L. Phosphatidylinositol 3-kinase as a mediator of TNF-Induced NF- κ B activation // *J. Immunol.* 2000. Vol. 164. P. 1355–1363.
 61. Richardson B., Palgunachari M.N., Anantharamaiah G.M. et al. Human placental tissue expresses a novel 22.7 kDa apolipoprotein A-I-like protein // *Biochemistry.* 1996. Vol. 35. P. 7580–7585.
 62. Rothblat G.H., Phillips M.C. High-density lipoprotein heterogeneity and function in reverse cholesterol transport // *Curr. Opin. Lipidol.* 2010. Vol. 21. № 3. P. 229–238.
 63. Rottman J.N., Widom R.L., Nadal-Ginard B. et al. A retinoic acid-responsive element in the apolipoprotein AI gene distinguishes between two different retinoic acid response pathways // *Mol. Cell. Biol.* 1991. Vol. 11. P. 3814–3820.
 64. Rubin E., Krauss R., Spangler E., Verstuyft J., Clift S. Inhibition of early atherogenesis in transgenic mice by human apolipoprotein AI // *Nature.* 1991. Vol. 353. № 6341. P. 265–267.
 65. Sastry K.N., Seedorf U., Karathanasis S.K. Different cis-acting DNA elements control expression of the human apolipoprotein AI gene in different cell types // *Mol. Cell. Biol.* 1988. Vol. 8. № 2. P. 605–614.
 66. Schaefer E.J., Lamon-Fava S., Ordovas J.M. et al. Factors associated with low and elevated plasma high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A-I levels in the Framingham Offspring Study // *J. Lipid. Res.* 1994. Vol. 35. № 5. P. 871–882.
 67. Schmitz G., Buechler C. ABCA1: regulation, trafficking and association with heteromeric proteins // *Ann. Med.* 2002. Vol. 34. № 5. P. 334–347.
 68. Seimon T., Tabas I. Mechanisms and consequences of macrophage apoptosis in atherosclerosis // *J. Lipid. Res.* 2009. Vol. 50. P. S382–S387.
 69. Seetharam D., Mineo C., Gormley A.K. et al. High-density lipoprotein promotes endothelial cell migration and reendothelialization via scavenger receptor-B type I // *Circ. Res.* 2006. Vol. 98. № 1. P. 63–72.

70. Song H., Saito K., Fujigaki S. et al. IL1-beta and TNF-alpha suppress apolipoprotein (apo) E secretion and apo A-I expression in HepG2 cells // *Cytokine*. 1998. Vol. 10. № 4. P. 275–280.
71. Sorenson R.C., Bisgaier C.L., Aviram M., Hsu C. et al. Human serum Paraoxonase/Arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein A-I stabilizes activity // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999. Vol. 19. № 9. P. 2214–2225.
72. Srivastava R.A., Srivastava N. High density lipoprotein, apolipoprotein A-I, and coronary artery disease // *Mol. Cell. Biochem.* 2000. Vol. 209. № 1–2. P. 131–144.
73. Su Y.R., Ishiguro H., Major A.S. et al. Macrophage apolipoprotein A-I expression protects against atherosclerosis in ApoE-deficient mice and up-regulates ABC transporters // *Mol. Ther.* 2003. Vol. 8. P. 576–583.
74. Tangirala R.K., Tsukamoto K., Chun S.H. et al. Regression of atherosclerosis induced by liver-directed gene transfer of apolipoprotein A-I in mice // *Circulation*. 1999. Vol. 100. № 17. P. 1816–1822.
75. Thorp E., Tabas I. Mechanisms and consequences of efferocytosis in advanced atherosclerosis // *J. Leukoc. Biol.* 2009. Vol. 86. № 5. P. 1089–1095.
76. Wang X., Rader D.J. Molecular regulation of macrophage reverse cholesterol transport // *Curr. Opin. Cardiol.* 2007. Vol. 22. № 4. P. 368–372.
77. Widom R.L., Rhee M., Karathanasis S.K. Repression by ARP-1 sensitizes apolipoprotein AI gene responsiveness to RXR alpha and retinoic acid // *Mol. Cell. Biol.* 1992. Vol. 12. P. 3380–3389.
78. Yvan-Charvet L., Pagler T.A., Seimon T.A. et al. ABCA1 and ABCG1 Protect Against Oxidative Stress – Induced Macrophage Apoptosis During Efferocytosis // *Circ. Res.* 2010. Vol. 106. APUB.
79. Zhang Y.Z., Zanotti I., Reilly M.P. et al. Overexpression of apolipoprotein A-I promotes reverse transport of cholesterol from macrophages to feces in vivo // *Circulation*. 2003. Vol. 108. № 6. P. 661–663.
80. Zheng X.L., Matsubara S., Diao C. et al. Activation of apolipoprotein AI gene expression by protein kinase A and kinase C through transcription factor Sp. 1 // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. P. 31747–31754.