

УДК 571.27

## РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ ЛОКУСА *TNF/LT* В КЛЕТКАХ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

© 2011 г. Ю. В. Шебзухов<sup>1</sup>, Д. В. Купраш<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Deutsches Rheuma-Forschungszentrum Berlin (DRFZ), a Leibniz Institute, 10117 Berlin, Germany

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991

<sup>3</sup>Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991

Поступила в редакцию и принята к печати 12.09.2010 г.

Фактор некроза опухолей (TNF), один из важнейших провоспалительных цитокинов, характеризуется сложным профилем тканеспецифической экспрессии, а в макрофагах выступает в роли продукта первичного транскрипционного ответа. Эти обстоятельства сделали регуляцию гена *TNF*, а также тесно сцепленных с ним родственных генов лимфотоксинов  $\alpha$  (*LT $\alpha$* ) и  $\beta$  (*LT $\beta$* ) объектом тщательного изучения на протяжении более чем двух десятилетий. До настоящего момента по ряду вопросов, касающихся регуляции генов локуса *TNF/LT*, продолжается полемика — в частности, о роли дистального промотора и семейства факторов NF- $\kappa$ B в транскрипции гена *TNF* в макрофагах. Кроме того, несколько работ, в которых детализируются молекулярные механизмы, определяющие общие закономерности активации генов первичного ответа и имеющие самое непосредственное отношение к регуляции гена *TNF*, еще не отражены в обзорных публикациях. В представленной работе мы кратко рассматриваем современные представления о регуляции транскрипции генов локуса *TNF/LT* в иммунных клетках с акцентом на новых данных и нерешенных вопросах.

**Ключевые слова:** воспаление, инициация транскрипции, промотор, энхансер, хроматин.

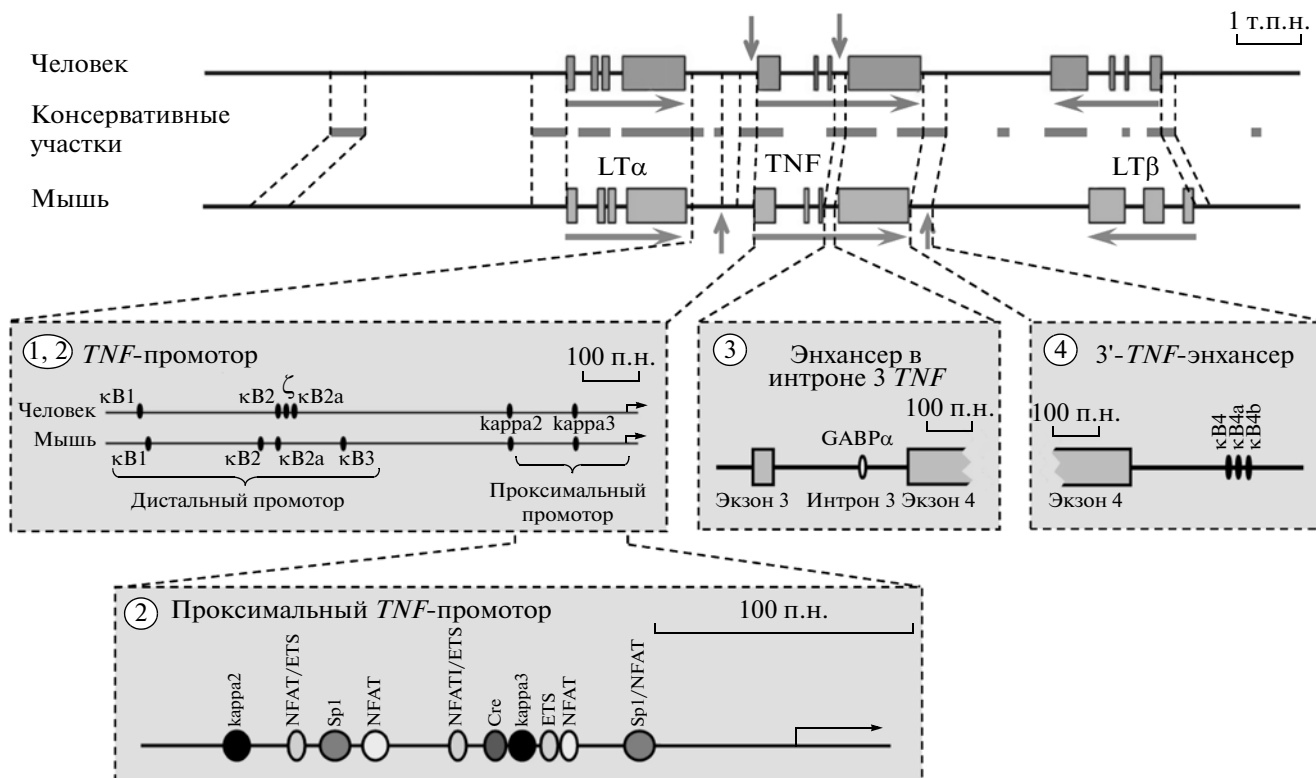
TRANSCRIPTIONAL REGULATION OF *TNF/LT* LOCUS IN IMMUNE CELLS, by Yu. V. Shebzukhov<sup>1</sup>, D. V. Kuprash<sup>2,3\*</sup> (<sup>1</sup>Deutsches Rheuma-Forschungszentrum Berlin (DRFZ), a Leibniz Institute), 10117 Berlin, Germany; <sup>2</sup>Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia; <sup>3</sup>Department of Biology, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia; \*e-mail: kuprash@eimb.ru). Tumor necrosis factor (TNF) is one of the most important proinflammatory cytokines. It demonstrates a complex pattern of tissue-specific expression and behaves as a product of immediate early transcriptional response in macrophages. These properties have made the regulation of *TNF* gene, as well as regulation of tightly linked related lymphotoxin  $\alpha$  (*LT $\alpha$* ) and  $\beta$  (*LT $\beta$* ) genes the object of thorough investigation for more than two decades. Some aspects of *TNF/LT* locus regulation, such as the role of distal *TNF*-promoter and of NF- $\kappa$ B factors in *TNF* gene transcription, still remain the object of discussion. Moreover, several recent studies uncovering the molecular mechanisms of immediate early gene activation and directly related to *TNF* gene regulation have not been reflected in published reviews yet. Here we briefly overview the modern concepts of transcriptional regulation of the *TNF/LT* locus, with an accent on new data and unanswered questions.

**Keywords:** inflammation, initiation of transcription, promoter, enhancer, chromatin.

Фактор некроза опухолей (TNF) — родоначальник большого семейства цитокинов, участвующих в передаче разнообразных межклеточных сигналов в организме млекопитающих [1]. Продукция TNF активируется в ответ на стимуляцию систем врожденного иммунитета как патогенами при бактериальных и вирусных инфекциях, так и эндогенными лигандами в результате разнообразных стрессовых воздействий. Способностью к продукции TNF обладают макрофаги, лимфоциты, дендритные и туч-

ные клетки, а также ряд других типов клеток. У млекопитающих два рецептора TNF экспрессируются на большинстве клеток, что приводит к необычному разнообразию биологических эффектов этого цитокина [2, 3]. Локальная продукция TNF при хроническом воспалении считается важным фактором патогенеза многих аутоиммунных заболеваний [4] и некоторых злокачественных опухолей [5]. Высокая клиническая эффективность подавления TNF при ревматоидном артрите и ряде других аутоиммунных заболеваний стала одним из наиболее заметных успехов современной фарминдустрии [6]. Два наи-

\* Эл. почта: kuprash@eimb.ru

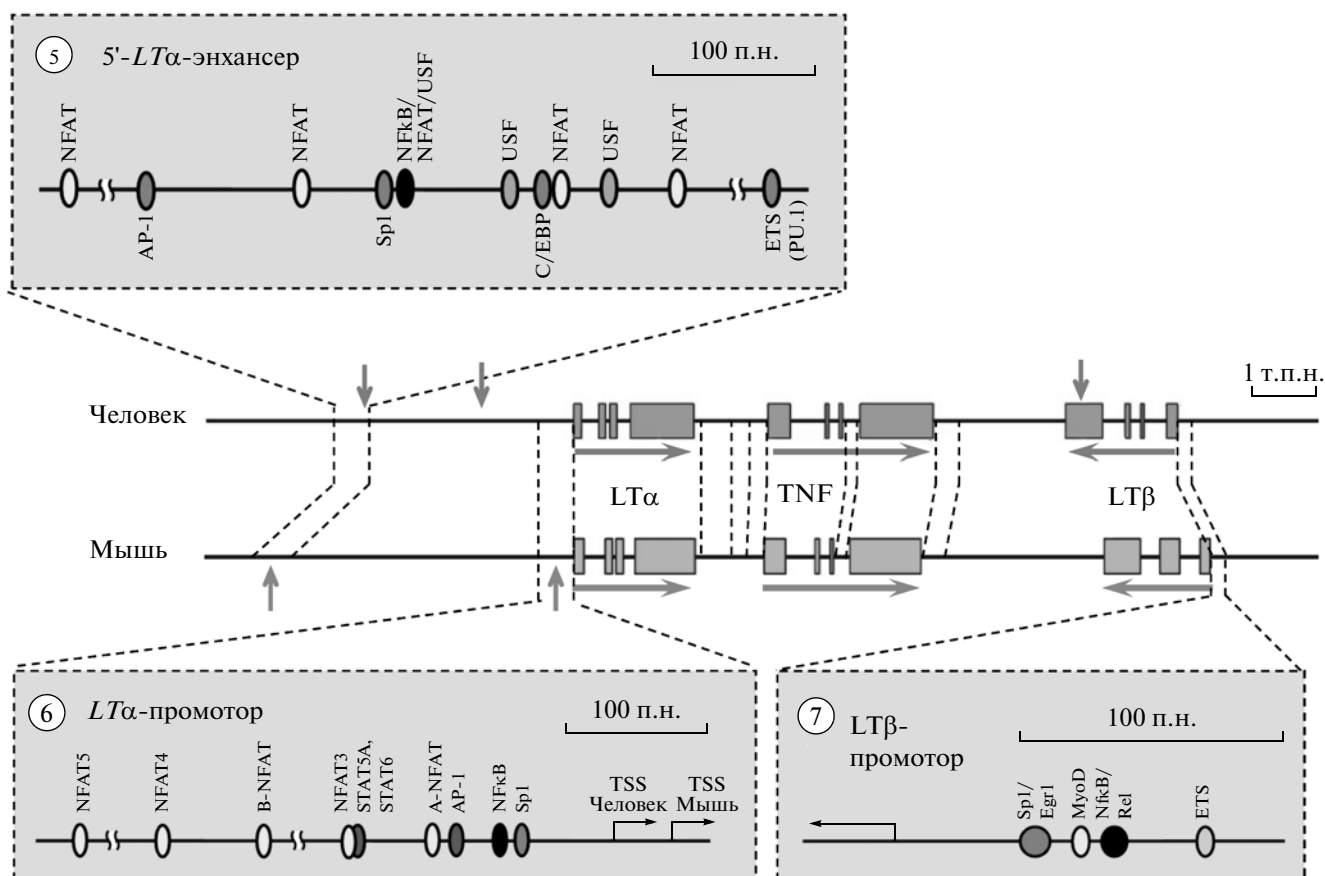


**Рис. 1.** Основные регуляторные элементы гена *TNF*. 1 – дистальный *TNF*-промотор [18, 101]; 2 – проксимальный *TNF*-промотор [12, 101]; 3 – энхансер в интроне 3 *TNF* [102, 103]; 4 – 3'-*TNF*-энхансер [19, 46, 47]. Вертикальными стрелками показаны участки гиперчувствительности к ДНКазе I, совпадающие в локусах мыши [13, 104] и человека [18, 104].

более близких *TNF* члена семейства, лимфотоксин  $\alpha$  (*LT $\alpha$* ) и лимфотоксин  $\beta$  (*LT $\beta$* ), играют ключевую роль в формировании вторичных лимфоидных органов, а также разнообразных лимфоидоподобных структур при хроническом воспалении и некоторых инфекционных заболеваниях. Мембраносвязанный гетеротример *LT $\alpha$*  и *LT $\beta$*  находится на поверхности активированных лимфоцитов и связывается со специализированным рецептором *LT $\beta$*  на клетках негемопоэтического происхождения, обеспечивая таким образом важный сигнальный компонент взаимодействия между лимфоцитами и стромой лимфоидных органов [7]. Гены, кодирующие *TNF*, *LT $\alpha$*  и *LT $\beta$* , расположены в компактном геномном локусе размером менее 15 т.п.н., но при этом регулируются на уровне транскрипции независимо друг от друга [8, 9]. Это обстоятельство делает локус *TNF/LT* крайне интересной моделью для изучения закономерностей регуляции транскрипции у млекопитающих. Как мы увидим далее, потенциал этой модели до сих пор далеко не исчерпан.

## ОСНОВНЫЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ЛОКУСА *TNF/LT*

Топографии локуса *TNF/LT* посвящены многочисленные эксперименты по функциональному картированию в различных клеточных системах [10–12]. В качестве основных регуляторных элементов локуса выделяют проксимальные промоторы соответствующих генов (*TNF*, *LT $\alpha$*  и *LT $\beta$* ), дистальную промоторную область гена *TNF*, 3-й интрон *TNF* и энхансер, находящийся сразу после гена *TNF* (3'-*TNF*-энхансер) (рис. 1). Еще одним регуляторным элементом локуса *TNF/LT*, активным в клетках иммунной системы, может оказаться недавно охарактеризованный энхансер, в геноме мыши расположенный на расстоянии около 4.5 т.п.н., а в геноме человека – около 3 т.п.н. до начала транскрипции гена *LT $\alpha$*  (5'-*LT $\alpha$* -энхансер) [13, 14] (рис. 2). Перечисленные регуляторные элементы проявляют высокую степень эволюционного консерватизма и содержат (в различных сочетаниях) сайты связывания факторов транскрипции, характерных для композитных регуляторных элементов, активных в клет-



**Рис. 2.** Основные регуляторные элементы генов *LTα* и *LTβ*. 5 – 5'-*LTα*-энхансер. Сайт связывания NF-κB расположен на расстоянии 3611 п.н. от старта транскрипции гена *LTα* в геноме человека и на расстоянии 5218 п.н. в геноме мыши. Вверху указаны положения сайтов связывания факторов транскрипции согласно [13, 18], внизу – согласно результатам анализа, выполненного с помощью онлайн-сервиса Patch (<http://www.gene-regulation.com>); 6 – *LTα*-промотор [48, 53, 59]; 7 – *LTβ*-промотор [44].

как иммунной системы: NFAT, NF-κB, Ets, C/EBPα (рис. 1, рис. 2).

Как следует из названий регуляторных элементов локуса *TNF/LT*, каждый из них участвует в регуляции активности того гена, поблизости от которого находится, однако неоднократно высказывались предположения о прямом влиянии регуляторных областей, ассоциированных с одними генами локуса *TNF/LT*, на транскрипцию других. Такие гипотезы основаны как на небольшом физическом размере локуса, так и на анализе фенотипов некоторых линий мышей с нокаутом генов этого локуса [15]. Однозначных экспериментальных доказательств таких связей пока не получено, за исключением надежно документированного снижения уровня TNF у мышей с классическим нокаутом *LTα* [16]. Однако в этом случае речь идет скорее о негативном влиянии добавленного в локус маркера позитивной селек-

ции, чем о нарушении существовавшей положительной связи, так как у мышей с делецией гена *LTα*, полученной по *LoxP/Cre*-технологии, и не несущих маркера позитивной селекции в локусе *TNF/LT*, ген *TNF* экспрессируется на нормальном уровне [17].

В последнее время обсуждается также динамическое образование внутривромосомных контактов, в которых могут принимать участие фрагменты локуса *TNF/LT*. В частности, Tsytsykova и соавт. [18] показали, что при активации Т-клеток в локусе *TNF/LT* могут образовываться две внутривромосомные петли, обеспечивающие физическое взаимодействие энхансеров 3'-TNF и 5'-*LTα* с проксимальным промотором *TNF*, при участии ядерных факторов NFAT. Предложена модель, согласно которой в дендритных клетках комплекс из нескольких факторов транскрипции IRF5 и RelA соединяет дистальный промотор *TNF* с 3'-TNF-энхансером и тем самым

способствует формированию петли, обеспечивающей рециркуляцию РНК-полимеразы II и устойчивую длительную транскрипцию гена *TNF* [19]. В обзорах и материалах конференций встречаются также упоминания о возможных межхромосомных взаимодействиях с участием локуса *TNF/LT*, однако следует иметь в виду, что если функциональные контакты между регуляторными элементами на небольших расстояниях (порядка нескольких т.п.н.) подтверждаются разнообразными экспериментальными данными и, по-видимому, вовлечены в регуляцию многих генов эукариот, то концепция дальних внутрихромосомных и особенно межхромосомных взаимодействий строится на достаточно косвенных сведениях, и в отсутствие прямых доказательств остается по большей части гипотетической [20].

Применительно к локусу *TNF/LT* обсуждается также красивая концепция энхансомы – гипотетической трехмерной структуры, которая формируется на промоторе гена *TNF* и предполагает интенсивные контакты факторов транскрипции не только с ДНК, но также друг с другом и с другими кофакторами, такими как гистондеацетилаза СВР/р300 [21]. Следует, однако, отметить, что в отличие от классической энхансомы, которая изучена до уровня построения атомарной модели [22], энхансома на промоторе гена *TNF* пока гораздо более умозрительная структура [12].

### ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ РЕГУЛЯЦИИ ЛОКУСА *TNF/LT*: МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК, МОДИФИКАЦИИ ГИСТОНОВ И КОНФОРМАЦИЯ ХРОМАТИНА

В геноме млекопитающих в промоторах примерно 70% генов имеются области с высоким содержанием CpG-динуклеотидов (CpG-островки), степень метилирования остатков цитидина в которых обычно обратно коррелирует с такими признаками открытой конформации хроматина, как высокая чувствительность к ДНКазе I и “активные” модификации гистонов [23, 24]. Выраженные CpG-островки есть в проксимальных промоторах генов *TNF* и *LT $\alpha$* , небольшой CpG-островок находится также в дистальной части промоторной области гена *TNF* (рис. 1). Обратная связь между CpG-метилированием промоторных областей и экспрессией генов *TNF* (в гранулоцитах, Т- и В-лимфоцитах, НК-клетках, моноцитах и макрофагах) и *LT $\alpha$*  (в Т- и В-лимфоцитах) установлена еще в начале 90-х годов прошлого столетия [25, 26]. В промоторе гена *LT $\beta$*  нет выраженного CpG-островка; однако последний экзон *LT $\beta$*  (4-й в гене человека и 3-й у мыши) содержит большое количество CpG-динуклеотидов и имеет открытую конформа-

цию хроматина [13], однако связь между статусом метилирования данной области и уровнем экспрессии *LT $\beta$*  пока не установлена.

Представление о том, что метилирование ДНК и ковалентные модификации гистонов представляют собой тесно связанные компоненты единой сигнальной системы, часто называемой “эпигенетическим кодом”, активно развивается в течение последнего десятилетия [27, 28]. Совсем недавно появились работы, связывающие эпигенетические события, происходящие в регуляторных областях гена *TNF* при активации воспалительного ответа, с конкретными компонентами внутриклеточных сигнальных путей. В работе Hargeaves и соавт. из лаборатории Р. Меджитова [29] показано, что в проксимальном промоторе *TNF* в костномозговых макрофагах мыши уровень пермиссивной модификации H3K4me3 гистона H3 [30] высок уже в покоящихся клетках и при стимуляции липополисахаридом (ЛПС) меняется незначительно. Одновременно Ramirez-Carozzi и соавт. [31] показали, что проксимальный промотор *TNF* относится к классу CpG-содержащих промоторов, взаимодействие которых с нуклеосомами нестабильно, если CpG-динуклеотиды не метилированы. В таких случаях активация транскрипции может происходить без участия белкового комплекса SWI/SNF, ответственного за remodelирование нуклеосом [31].

Согласно предлагаемой модели, в первичных макрофагах ген *TNF* действует как яркий представитель генов первичного ответа первого типа (с CpG-островком в промоторе) за счет того, что в покоящемся состоянии на промоторе *TNF* находится частично собранный транскрипционный комплекс с РНК-полимеразой II [29, 32]. Пока нет единого мнения о функциональной активности РНК-полимеразы II в покоящихся макрофагах. Согласно [29], этот комплекс синтезирует заметное количество полной незрелой РНК *TNF* и других генов первичного ответа. Однако показано также, что в покоящихся макрофагах РНК-полимераза II остается на старте транскрипции таких генов [32, 34].

После стимуляции (например, ЛПС) к промоторной области последовательно привлекаются фактор NF- $\kappa$ B и ацетилтрансфераза GCN5, модифицирующая остатки лизина в положениях 5, 8 и 12 гистона H4 (H4K5/8/12-ацетилирование). Ацетилированный таким образом гистон H4 узнается белком Brd4, который привлекает фактор элонгации P-TEFb, содержащий циклин-зависимую киназу CDK9. В свою очередь, CDK9 фосфорилирует остатки во втором положении сериновых повторов, находящихся в С-концевом домене РНК-полимеразы II [29]. Параллельно проксимальный промотор

освобождается от негативного фактора элонгации (NELF) [33], после чего транскрипционный комплекс приобретает способность к полноценному синтезу сплайсированной мРНК.

Эпигенетический статус локуса *TNF/LT* существенно меняется при индукции толерантности к ЛПС [35] и в зависимости от стадии дифференцировки клеток [36]. Следует отметить, что уже в ранних работах обнаружили существенные различия в профилях метилирования локуса *TNF/LT* в культивируемых клеточных линиях, и в первичных клетках иммунной системы и в гематологических новообразованиях. Например, в популярной Т-клеточной линии Jurkat метилированы CpG-островки промоторных областей генов *TNF* и *LTα* [25, 26, 36]. В культивируемых клеточных линиях может иметь место и значительная гетерогенность в степени метилирования промотора *TNF* [37]. Эти обстоятельства следует учитывать при использовании клеточных линий для анализа эпигенетической регуляции локуса *TNF/LT* в клетках иммунной системы. Так, применение первичных макрофагов для изучения транскрипции гена *TNF* позволило установить описанные выше особенности “преактивированного” эпигенетического статуса этого гена.

Механизмы тканеспецифической регуляции генов *TNF*, *LTα* и *LTβ* в различных типах клеток более подробно рассмотрены далее.

### ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЛОКУСА *TNF/LT* В Т- И В-ЛИМФОЦИТАХ

Уже в ранних работах показали, что лимфоциты способны экспрессировать все три гена локуса *TNF/LT* [38]. Изучение фенотипа мышей с отдельной тканеспецифической инактивацией генов локуса показывает, что экспрессия каждого из трех генов как в Т-, так и в В-лимфоцитах необходима для поддержания микроархитектуры вторичных лимфоидных органов и/или для эффективного ответа на некоторые инфекционные агенты ([39–41] и неопубликованные данные). *LTβ* представляет собой конститутивно работающий ген, во всяком случае, в первичных клетках [42, 43]. В уже упомянутой культивируемой линии Jurkat активация транскрипции *LTβ* нуждается в дополнительной обработке митогенами (PMA) или в стимуляции Т-клеточного рецептора и критически зависит от связывания факторов семейств NF-κB и Ets с компактным проксимальным промотором [44].

В Т-лимфоцитах основные регуляторные молекулы, вовлеченные в активацию транскрипции генов *TNF* и *LTα* в ответ на антигенную стимуляцию, — представители семейств ядерных факторов NFAT и

NF-κB, причем главный из представителей семейства NFAT — NFATp/NFATc2 [45]. Факторы семейства NFAT имеют несколько сайтов связывания в промоторе *LTα*, проксимальном промоторе *TNF*, энхансерах 3'-TNF и 5'-LTα (рис. 1, рис. 2), причем некоторые сайты в энхансерах 3'-TNF и 5'-LTα могут связываться как NFAT, так и NF-κB [18, 46, 47]. Промоторная область гена *LTα* содержит пять сайтов связывания NFAT и один сайт NF-κB, но если роль NFAT в регуляции экспрессии *LTα* сомнений не вызывает, то роль NF-κB остается не вполне ясной [48–52]. Опубликованы данные о том, что взаимодействие NF-κB с промотором *LTα* необходимо для активации транскрипции *LTα* в В-лимфоцитах человека в ответ на активацию CD40, в то время как активация в ответ на интерлейкин-4 (IL-4) не зависит от NF-κB, но нуждается в представителе семейства переносчиков сигналов и активаторов транскрипции — STAT6 [53].

В Т-лимфоцитах человека транскрипция всех трех генов локуса *TNF/LT* возрастает в ответ на интерлейкин-2 (IL-2) — один из ключевых цитокинов иммунной системы, активирующий практически все клеточные компоненты иммунитета [54]. В ответ на IL-2 TNF продуцируется также В-лимфоцитами, НК-клетками, моноцитами, макрофагами и нейтрофилами [55–58]. Показано, что ключевую роль в экспрессии *TNF* и *LTα* в Т-клетках мыши при стимуляции IL-2 играют два члена семейства STAT, STAT5A и STAT5B [54]. В транскрипции гена *LTα* в ответ на IL-2 участвует сигнальный каскад p38 MAPK, активирующий связывание факторов транскрипции семейства Ets с промотором гена *LTα* мыши [59, 60]. Следует отметить, что механизм активации TNF в ответ на пролиферативный сигнал специфичен для лимфоцитов, так как в нейтрофилах мышей с инактивированными генами *STAT5A* и *STAT5B* продукция TNF в ответ на PMA оставалась на том же уровне, как у мышей дикого типа [61].

Для ответа на вопрос о функциональной значимости продукции *TNF* и *LT* в тех или других типах иммунных клеток создана и всесторонне изучена панель линий мышей с тканеспецифическим нокаутом генов локуса [39, 40]. Оказалось, что инактивация генов *TNF* либо *LTβ* как в Т-, так и в В-лимфоцитах приводит к появлению уникальных дефектов в строении лимфоидных органов, в измененном ответе на некоторые патогены и в патологии воспалительных процессов [41, 62–64].

**РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ГЕНА *TNF*  
В МОНОЦИТАХ И МАКРОФАГАХ**

Из трех генов локуса *TNF/LT* в моноцитах и макрофагах экспрессируется в основном *TNF*, в то время как *LT $\alpha$*  и *LT $\beta$*  практически не детектируются уже на уровне мРНК. Ключевую роль в регуляции транскрипции *TNF* в макрофагах играют, несомненно, факторы семейства NF- $\kappa$ B [29, 65, 66]. NF- $\kappa$ B-сайты в промоторе гена *TNF* впервые охарактеризовали два десятилетия назад [67], однако до сих пор по этому поводу существует ряд противоречий.

Как сказано выше, присутствие на промоторе гена *TNF* в покоящихся клетках частично активного транскрипционного комплекса необходимо для поддержания хроматина в открытом состоянии. Для этого промотор должен содержать сайты связывания фактора транскрипции Sp1 [29]. Переход в активированное состояние осуществляется с участием факторов семейства NF- $\kappa$ B. О взаимодействии факторов этого семейства с проксимальным промотором гена *TNF* как человека, так и мыши опубликовано впечатляющее количество данных [19, 68–72]. Однако здесь возникает определенное затруднение, поскольку в самом проксимальном промоторе *TNF* нет участков, соответствующих консенсусной последовательности сайта связывания NF- $\kappa$ B [29] или обладающих заметным сродством к NF- $\kappa$ B в опытах *in vitro* [73].

Объяснить это противоречие можно, предположив возможность формирования петлеобразных структур ДНК, позволяющих пространственно сблизить проксимальный промотор *TNF* с ближайшими регуляторными элементами локуса, содержащими функциональные NF- $\kappa$ B-сайты. В качестве наиболее естественного претендента на роль такой области изначально рассматривалась дистальная часть промотора *TNF*, которая содержит несколько NF- $\kappa$ B-сайтов ( $\kappa$ B1,  $\kappa$ B2,  $\kappa$ B2a и  $\kappa$ B3 у мыши,  $\kappa$ B1,  $\kappa$ B2,  $\xi$  и  $\kappa$ B2a у человека) [73, 74]. Считается, что роль наиболее удаленного сайта  $\kappa$ B1 в регуляции транскрипции гена *TNF* незначительна, тогда как с сайтом  $\kappa$ B3 мыши предпочтительно связывается гомодимер NF- $\kappa$ B1 (p50:p50), неспособный активировать транскрипцию [75]. Данные о высококонсервативном кластере сайтов  $\kappa$ B2/ $\kappa$ B2a, полученные путем делеционного и мутационного анализа репортерных конструкций, противоречивы и зависят от модельной клеточной системы. С использованием первичных культур костномозговых макрофагов мыши отчетливо выявлена функциональная важность дистальной промоторной области [67, 74]. Систематическое сравнение промоторов *TNF* мыши и человека, проведенное в линии ANA-1 макрофагов мыши, также

показало, что мутации в сайтах  $\kappa$ B2 и  $\kappa$ B2a снижают люциферазную активность репортерной конструкции [73, 76]. Роль сайтов  $\kappa$ B2,  $\xi$  и  $\kappa$ B2a в дистальной области промотора *TNF* человека также подтверждена на макрофагальной линии MonoMac6 [77].

Менее удачными в качестве моделей оказались популярные линии клеток макрофагального происхождения – RAW264.7, P388D1 (мышь) и THP-1 (человек). Полученные на этих клетках данные о роли дистального промотора *TNF* оказались достаточно вариабельными и противоречивыми [78–83]. Необходимо также отметить, что CpG-островок, расположенный в дистальной части промотора *TNF*, в макрофагах метилирован [37], и пока неизвестно, происходит ли динамическое деметилирование этого CpG-островка при активации.

Существенным шагом к разрешению описанных противоречий могут быть результаты Rao и соавт. [84]. Они обнаружили, что для полноценной активации транскрипции гена *TNF* в макрофагах в ответ на ЛПС требуется связывание комплекса, состоящего из c-Rel, RelA и гипофосфорилированного I $\kappa$ B $\beta$ , с сайтом  $\kappa$ B2. Это наблюдение может объяснять и высокую эволюционную консервативность участка промотора, содержащего сайт  $\kappa$ B2, и отсутствие существенных изменений картины экспрессии *TNF* у мышей с одиночными нокаутами c-Rel и RelA [12], и данные о ненужности NF- $\kappa$ B на самой ранней стадии активации гена *TNF* [85]. Свет на механизм действия IL-10, одного из ключевых противовоспалительных цитокинов, на транскрипцию гена *TNF* проливают результаты, полученные недавно [32]. Оказалось, что IL-10 ингибирует привлечение NF- $\kappa$ B белка RelA к  $\kappa$ B-сайтам в локусе *TNF* и в генах других провоспалительных белков, контролируемых NF- $\kappa$ B. Это нарушает описанный выше механизм ацетилирования гистона H4 и привлечения киназы CDK9, которая, в свою очередь, не фосфорилирует ДНК-полимеразу II по остаткам S2 в C-концевых сериновых повторах. В результате этого становится невозможной продуктивная транскрипция с промотора *TNF*. Для ингибирующего действия IL-10 необходим 3'-TNF-энхансер, открытый 15 лет назад по нуклеотидной гомологии, связыванию NF- $\kappa$ B и функциональной активности в макрофагах [46] и астроцитах [47]. Не находивший рационального объяснения вывод о посттранскрипционном механизме действия IL-10 на экспрессию *TNF* [86] оказался связан с неточным картированием 3'-конца репортерной конструкции [32]. Интересно, что при иммунопреципитации хроматина антителами к RelA с примерно одинаковой эффективностью осаждается 3'-TNF-энхансер и кластер сайтов  $\kappa$ B2/ $\kappa$ B2a [32], однако эти регуляторные участки связывают NF- $\kappa$ B-комплексы разного

субъединичного состава и по-разному участвуют в регуляции транскрипции гена *TNF*, во всяком случае, с разной кинетикой [84].

Роль других факторов, вовлеченных в регуляцию транскрипции гена *TNF* в макрофагах, подробно рассмотрена в недавнем обзоре [12]. Мы хотели бы особо отметить представителей семейств NFAT и интерферон-регулирующих факторов (IRF). Роль NFAT доказана с помощью специфического пептидного ингибитора VIVIT, блокирующего взаимодействие факторов NFAT с кальциейрином [87]. Участие факторов IRF1 и IRF8 в индукции транскрипции *TNF* в ответ на интерферон  $\gamma$  показано на линии RAW264.7 макрофагов мыши [88], причем функциональные сайты связывания IRF1 обнаружены как в проксимальной, так и в дистальной частях промотора *TNF*, тогда как IRF8-сайты — только в проксимальной части [88]. Другие представители семейства IRF тоже вовлечены в регуляцию *TNF*. Фактор IRF3, например, в ответ на стимуляцию взаимодействует с проксимальным промотором *TNF* человека [89]. В макрофагах селезенки и в дендритных клетках мышцей с инактивированным фактором IRF5 подавлена экспрессия *TNF* в ответ на ряд TLR-лигандов, но регуляторные элементы гена *TNF*, ответственные за связывание с IRF5, пока не установлены [90]. В отличие от макрофагов селезенки мышцей, в макрофагах, полученных из моноцитов периферической крови человека, IRF5 не продуцируется и не принимает участия в регуляции транскрипции гена *TNF*, однако он важен для транскрипции гена *TNF* в дендритных клетках человека [19] (см. ниже).

### РЕГУЛЯЦИЯ ГЕНА *TNF* В ДРУГИХ ЭФФЕКТОРНЫХ КЛЕТКАХ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

Помимо макрофагов, важными источниками TNF при немедленном ответе на патогены являются нейтрофилы и тучные клетки. В тучных клетках в регуляции экспрессии *TNF* принимают участие факторы транскрипции, характерные для клеток как лимфоидного, так и миелоидного происхождения. Так, представитель семейства Ets, фактор PU.1, связывается с проксимальным промотором *TNF* [91]. Эктопическая сверхэкспрессия PU.1 в тучных клетках приводит к более интенсивной выработке TNF в ответ как на ЛПС, так и на иммунные комплексы иммуноглобулина E с антиидиотипическими антителами [91, 92]. Ядерные факторы активированных T-клеток NFAT2/NFATc1 и NFATp/NFATc2 необходимы для экспрессии *TNF* в тучных клетках в ответ на иономицин и иммуноглобулин E, тогда как роль факторов NFATc3/NFAT4 не существенна [93].

Основную роль в регуляции экспрессии гена *TNF* в нейтрофилах играют представители семейства NF- $\kappa$ B, а роль факторов транскрипции семейств AP-1 и C/EBP незначительна [94–96]. Совместно с макрофагами нейтрофилы полностью обеспечивают системную продукцию в ответ на ЛПС. Тканеспецифической инактивации гена *TNF* при помощи трансгена *Cre* под управлением промотора гена макрофагального лизоцима-1, активного в макрофагах и нейтрофилах, достаточно, чтобы сделать мышцей практически нечувствительными к острому септическому шоку [40].

### ЭКСПРЕССИЯ ЛОКУСА *TNF/LT* В ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТКАХ

В связи с возросшим в последние годы интересом к дендритным клеткам появились работы, посвященные экспрессии в этих клетках генов локуса *TNF/LT*. В дендритных клетках позитивными регуляторами гена *TNF* служат факторы транскрипции семейств Ets (PU.1, [91]) и AP-1 (JunB, [72]), которые взаимодействуют со своими сайтами связывания в проксимальном промоторе TNF.

Как сказано выше, фактор транскрипции IRF5 принимает участие в регуляции *TNF* в дендритных клетках мышцей и человека [19, 90]. Недавно показали, что в дендритных клетках, полученных из моноцитов периферической крови человека, IRF5 взаимодействует с сайтами связывания в дистальной части промоторной области *TNF* и в 3'-TNF-энхансере [19], причем для связывания с 3'-TNF-энхансером требуется взаимодействие IRF5 с RelA. Кроме того, обнаружено связывание RelA с проксимальным промотором *TNF*, на этот раз в роли транскрипционного партнера и индуктора фактора JunB [72]. С другой стороны, еще в 2007 году на панели костномозговых дендритных клеток мышцей с нокаутом генов *NF- $\kappa$ B1*, *c-Rel* и *NF- $\kappa$ B1 + c-Rel* показано, что отсутствие этих генов не влияет на уровень TNF в дендритных клетках, а отсутствие RelA влияет незначительно [66]. Таким образом, вопрос о функциональной значимости белков NF- $\kappa$ B для активации гена *TNF* в дендритных клетках пока остается открытым.

Интересно, что в дендритных клетках как мышцей, так и человека фактор транскрипции T-bet, играющий ключевую роль в дифференцировке T-лимфоцитов Th1, регулирует транскрипцию гена *TNF*, взаимодействуя с дистальной областью промотора [97].

Дендритные клетки продуцируют также лимфотоксины [98–100], но механизмы, регулирующие этот процесс, в настоящий момент еще не изучены.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом, можно сказать, что из трех родственных генов, находящихся в локусе *TNF/LT*, закономерности регуляции *TNF* — наиболее разнообразные, а *LTα* — наименее понятные. В последние два года резко вырос интерес к регуляции транскрипции гена *TNF* в активированных ЛПС макрофагах. На этой модели открыты новые принципы регуляции транскрипции и новые элементы эпигенетического кода, идентифицированы сигнальные и адапторные белки, осуществляющие передачу сигнала от регуляторных последовательностей к РНК-полимеразе. Нет сомнения, что в ближайшем будущем это направление будет активно развиваться, как в плане поиска новых молекулярных деталей передачи активирующего сигнала, так и проверки выявленных закономерностей на новых клеточных системах и в животных моделях.

Мы благодарим С.А. Недоспасова за всестороннюю помощь, поддержку, ценные обсуждения и внимательное чтение текста рукописи.

Работа поддержана грантом SFB Transregio 52, грантом по программе “Молекулярная и клеточная биология” Президиума Российской академии наук и госконтрактом № 16.740.11.0006 с Минобрнауки Российской Федерации по программе “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” на 2009–2013 годы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Locksley R.M., Killeen N., Lenardo M.J. 2001. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*. **104**, 487–501.
- Tracey K.J., Cerami A. 1994. Tumor necrosis factor: a pleiotropic cytokine and therapeutic target. *Annu. Rev. Med.* **45**, 491–503.
- Grivennikov S.I., Kuprash D.V., Liu Z.G., Nedospasov S.A. 2006. Intracellular signals and events activated by cytokines of the tumor necrosis factor superfamily: From simple paradigms to complex mechanisms. *Int. Rev. Cytol.* **252**, 129–161.
- Feldmann M., Maini R.N. 2003. Lasker clinical medical research award. TNF defined as a therapeutic target for rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Nat. Med.* **9**, 1245–1250.
- Coussens L.M., Werb Z. 2002. Inflammation and cancer. *Nature*. **420**, 860–867.
- Feldmann M., Maini R.N. 2001. Anti-TNF alpha therapy of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Annu. Rev. Immunol.* **19**, 163–196.
- Fu Y.X., Chaplin D.D. 1999. Development and maturation of secondary lymphoid tissues. *Annu. Rev. Immunol.* **17**, 399–433.
- Jongeneel C.V., Shakhov A.N., Nedospasov S.A., Cerottini J.C. 1989. Molecular control of tissue-specific expression at the mouse TNF locus. *Eur. J. Immunol.* **19**, 549–552.
- Купраш Д.В., Алимжанов М.Б., Похолок Д.К., Козлов С.В., Новобранцева Т.И., Турецкая Р.Л., Недоспасов С.А. 1994. Характеристика локуса хромосомы 17 мыши, содержащего три гена семейства фактора некроза опухолей, включая ген трансмембранной субъединицы лимфотоксина (LT-бета). *Докл. РАН*. **337**, 683–686.
- Jongeneel C.V. 1995. Transcriptional regulation of the tumor necrosis factor alpha gene. *Immunobiology*. **193**, 210–216.
- Недоспасов С.А. 2003. Фактор некроза опухолей и лимфотоксин: молекулярная генетика, регуляция и физиологическая роль. *Генетика*. **39**, 207–214.
- Falvo J.V., Tsytsykova A.V., Goldfeld A.E. 2010. Transcriptional control of the *TNF* gene. *Curr. Dir. Autoimmun.* **11**, 27–60.
- Taylor J.M., Wicks K., Vandiedonck C., Knight J.C. 2008. Chromatin profiling across the human tumour necrosis factor gene locus reveals a complex, cell type-specific landscape with novel regulatory elements. *Nucl. Acids Res.* **36**, 4845–4862.
- Ghisletti S., Barozzi I., Mietton F., Polletti S., De Santa F., Venturini E., Gregory L., Lonie L., Chew A., Wei C.L., Ragoussis J., Natoli G. 2010. Identification and characterization of enhancers controlling the inflammatory gene expression program in macrophages. *Immunity*. **32**, 317–328.
- Kuprash D.V., Tumanov A.V., Liepinsh D.J., Koroleva E.P., Drutskaya M.S., Kruglov A.A., Shakhov A.N., Southon E., Murphy W.J., Tessarollo L., Grivennikov S.I., Nedospasov S.A. 2005. Novel tumor necrosis factor-knockout mice that lack Peyer’s patches. *Eur. J. Immunol.* **35**, 1592–1600.
- De Togni P., Goellner J., Ruddle N.H., Streeter P.R., Fick A., Mariathasan S., Smith S.C., Carlson R., Shornick L.P., Strauss-Schoenberger J. 1994. Abnormal development of peripheral lymphoid organs in mice deficient in lymphotoxin. *Science*. **264**, 703–707.
- Liepinsh D.J., Grivennikov S.I., Klarmann K.D., Lagarkova M.A., Drutskaya M.S., Lockett S.J., Tessarollo L., McAuliffe M., Keller J.R., Kuprash D.V., Nedospasov S.A. 2006. Novel lymphotoxin alpha (LTalpha) knockout mice with unperturbed tumor necrosis factor expression: reassessing LTalpha biological functions. *Mol. Cell Biol.* **26**, 4214–4225.
- Tsytsykova A.V., Rajsbaum R., Falvo J.V., Ligeiro F., Neely S.R., Goldfeld A.E. 2007. Activation-dependent intrachromosomal interactions formed by the TNF gene promoter and two distal enhancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **104**, 16850–16855.
- Krausgruber T., Saliba D., Ryzhakov G., Lanfrancotti A., Blazek K., Udalova I.A. 2010. IRF5 is required for late-phase TNF secretion by human dendritic cells. *Blood*. **115**, 4421–4430.
- Williams A., Spilianakis C.G., Flavell R.A. 2010. Interchromosomal association and gene regulation in trans. *Trends Genet.* **26**, 188–197.
- Tsytsykova A.V., Goldfeld A.E. 2002. Inducer-specific enhanceosome formation controls tumor necrosis fac-



- tor alpha gene expression in T lymphocytes. *Mol. Cell Biol.* **22**, 2620–2631.
22. Panne D., Maniatis T., Harrison S.C. 2007. An atomic model of the interferon-beta enhanceosome. *Cell.* **129**, 1111–1123.
  23. Chodavarapu R.K., Feng S., Bernatavichute Y.V., Chen P.-Y., Stroud H., Yu Y., Hetzel J.A., Kuo F., Kim J., Cokus S.J., Casero D., Bernal M., Huijser P., Clark A.T., Kramer U., Merchant S.S., Zhang X., Jacobsen S.E., Pellegrini M. 2010. Relationship between nucleosome positioning and DNA methylation. *Nature.* **466**, 388–392.
  24. Choi J.K. 2010. Contrasting chromatin organization of CpG islands and exons in the human genome. *Genome Biol.* **11**, R70.
  25. Kochanek S., Radbruch A., Tesch H., Renz D., Doerfler W. 1991. DNA methylation profiles in the human genes for tumor necrosis factors alpha and beta in subpopulations of leukocytes and in leukemias. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **88**, 5759–5763.
  26. Kochanek S., Toth M., Dehmel A., Renz D., Doerfler W. 1990. Interindividual concordance of methylation profiles in human genes for tumor necrosis factors alpha and beta. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **87**, 8830–8834.
  27. Jenuwein T., Allis C.D. 2001. Translating the histone code. *Science.* **293**, 1074–1080.
  28. Bird A. 2002. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.* **16**, 6–21.
  29. Hargreaves D.C., Horng T., Medzhitov R. 2009. Control of inducible gene expression by signal-dependent transcriptional elongation. *Cell.* **138**, 129–145.
  30. Berger S.L. 2007. The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature.* **447**, 407–412.
  31. Ramirez-Carrozzi V.R., Braas D., Bhatt D.M., Cheng C.S., Hong C., Doty K.R., Black J.C., Hoffmann A., Carey M., Smale S.T. 2009. A unifying model for the selective regulation of inducible transcription by CpG islands and nucleosome remodeling. *Cell.* **138**, 114–128.
  32. Smallie T., Ricchetti G., Horwood N.J., Feldmann M., Clark A.R., Williams L.M. 2010. IL-10 inhibits transcription elongation of the human *TNF* gene in primary macrophages. *J. Exp. Med.*
  33. Adelman K., Kennedy M.A., Nechaev S., Gilchrist D.A., Muse G.W., Chinenov Y., Rogatsky I. 2009. Immediate mediators of the inflammatory response are poised for gene activation through RNA polymerase II stalling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **106**, 18207–18212.
  34. Biragyn A., Nedospasov S.A. 1995. Lipopolysaccharide-induced expression of TNF-alpha gene in the macrophage cell line ANA-1 is regulated at the level of transcription processivity. *J. Immunol.* **155**, 674–683.
  35. El Gazzar M., Yoza B.K., Chen X., Hu J., Hawkins G.A., McCall C.E. 2008. G9a and HP1 couple histone and DNA methylation to *TNF* transcription silencing during endotoxin tolerance. *J. Biol. Chem.* **283**, 32198–32208.
  36. Takei S., Fernandez D., Redford A., Toyoda H. 1996. Methylation status of 5'-regulatory region of tumor necrosis factor alpha gene correlates with differentiation stages of monocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **220**, 606–612.
  37. Sullivan K.E., Reddy A.B., Dietzmann K., Suriano A.R., Kocieda V.P., Stewart M., Bhatia M. 2007. Epigenetic regulation of tumor necrosis factor alpha. *Mol. Cell Biol.* **27**, 5147–5160.
  38. Millet I., Ruddle N.H. 1994. Differential regulation of lymphotoxin (LT), lymphotoxin-beta (LT-beta), and TNF-alpha in murine T cell clones activated through the TCR. *J. Immunol.* **152**, 4336–4346.
  39. Tumanov A., Kuprash D., Lagarkova M., Grivennikov S., Abe K., Shakhov A., Drutskaya L., Stewart C., Chervonsky A., Nedospasov S. 2002. Distinct role of surface lymphotoxin expressed by B cells in the organization of secondary lymphoid tissues. *Immunity.* **17**, 239–250.
  40. Grivennikov S.I., Tumanov A.V., Liepinsh D.J., Kruglov A.A., Marakusha B.I., Shakhov A.N., Murakami T., Drutskaya L.N., Forster I., Clausen B.E., Tessarollo L., Ryffel B., Kuprash D.V., Nedospasov S.A. 2005. Distinct and nonredundant *in vivo* functions of TNF produced by T cells and macrophages/neutrophils: protective and deleterious effects. *Immunity.* **22**, 93–104.
  41. Tumanov A.V., Grivennikov S.I., Kruglov A.A., Shebzukhov Y.V., Koroleva E.P., Piao Y., Cui C.Y., Kuprash D.V., Nedospasov S.A. 2010. Cellular source and molecular form of TNF specify its distinct functions in organization of secondary lymphoid organs. *Blood.* **116**, 00–00.
  42. Pokholok D.K., Maroulakou I.G., Kuprash D.V., Alimzhanov M.B., Kozlov S.V., Novobrantsseva T.I., Turetskaya R.L., Green J.E., Nedospasov S.A. 1995. Cloning and expression analysis of the murine lymphotoxin beta gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **92**, 674–678.
  43. Бойченко В.Е., Алимжанов М.Б., Турецкая Р.Л., Рюльман А., Нордхайм А., Купраш Д.В., Недоспасов С.А. 2001. Сравнительная характеристика транскрипции генов субъединиц альфа и бета лимфотоксина в линиях Т- и В-лимфоцитов, в периферических лимфоцитах и в нормальных тканях человека. *Молекуляр. биология.* **35**, 128–135.
  44. Kuprash D.V., Osipovich O.A., Pokholok D.K., Alimzhanov M.B., Biragyn A., Turetskaya R.L., Nedospasov S.A. 1996. Functional analysis of the lymphotoxin-beta promoter. Sequence requirements for PMA activation. *J. Immunol.* **156**, 2465–2472.
  45. Kaminuma O., Kitamura F., Kitamura N., Hiroi T., Miyoshi H., Miyawaki A., Miyatake S. 2008. Differential contribution of NFATc2 and NFATc1 to TNF- $\alpha$  gene expression in T cells. *J. Immunol.* **180**, 319–326.
  46. Kuprash D.V., Udalova I.A., Turetskaya R.L., Rice N.R., Nedospasov S.A. 1995. Conserved kappa B element located downstream of the tumor necrosis factor alpha gene: distinct NF-kappa B binding pattern and enhancer activity in LPS activated murine macrophages. *Oncogene.* **11**, 97–106.
  47. Kwon J., Lee S.J., Benveniste E.N. 1996. A 3' cis-acting element is involved in tumor necrosis factor-alpha gene expression in astrocytes. *J. Biol. Chem.* **271**, 22383–22390.
  48. Kuprash D.V., Boitchenko V.E., Yarovinsky F.O., Rice N.R., Nordheim A., Ruhlmann A., Nedospasov S.A.

2002. Cyclosporin A blocks the expression of lymphotoxin alpha, but not lymphotoxin beta, in human peripheral blood mononuclear cells. *Blood*. **100**, 1721–1727.
49. Messer G., Weiss E.H., Baeuerle P.A. 1990. Tumor necrosis factor beta (TNF-beta) induces binding of the NF-kappa B transcription factor to a high-affinity kappa B element in the TNF-beta promoter. *Cytokine*. **2**, 389–397.
50. Paul N.L., Lenardo M.J., Novak K.D., Sarr T., Tang W.L., Ruddle N.H. 1990. Lymphotoxin activation by human T-cell leukemia virus type I-infected cell lines: role for NF-kappa B. *J. Virol.* **64**, 5412–5419.
51. Paul N.L., Millet I., Ruddle N.H. 1993. The lymphotoxin promoter is stimulated by HTLV-I tax activation of NF-kappa B in human T-cell lines. *Cytokine*. **5**, 372–378.
52. Tschachler E., Bohnlein E., Felzmann S., Reitz M.S., Jr. 1993. Human T-lymphotropic virus type I tax regulates the expression of the human lymphotoxin gene. *Blood*. **81**, 95–100.
53. Worm M.M., Tsytsykova A., Geha R.S. 1998. CD40 ligation and IL-4 use different mechanisms of transcriptional activation of the human lymphotoxin alpha promoter in B cells. *Eur. J. Immunol.* **28**, 901–906.
54. Kovanen P.E., Young L., Al-Shami A., Rovella V., Pise-Masison C.A., Radonovich M.F., Powell J., Fu J., Brady J.N., Munson P.J., Leonard W.J. 2005. Global analysis of IL-2 target genes: identification of chromosomal clusters of expressed genes. *Int. Immunol.* **17**, 1009–1021.
55. McBride W.H., Economou J.S., Nayersina R., Comora S., Essner R. 1990. Influences of Interleukins 2 and 4 on tumor necrosis factor production by murine mononuclear phagocytes. *Cancer Res.* **50**, 2949–2952.
56. Remick D.G., Nguyen D.T., Eskandari M.K., Kunkel S.L. 1991. Interleukin 2 induces tumor necrosis factor gene expression *in vivo*. *Immunol. Invest.* **20**, 395–405.
57. Strieter R.M., Remick D.G., Lynch J.P., 3rd, Spengler R.N., Kunkel S.L. 1989. Interleukin-2-induced tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) gene expression in human alveolar macrophages and blood monocytes. *Am. Rev. Respir. Dis.* **139**, 335–342.
58. Wei S., Blanchard D., Liu J., Leonard W., Djeu J. 1993. Activation of tumor necrosis factor-alpha production from human neutrophils by IL-2 via IL-2-R beta. *J. Immunol.* **150**, 1979–1987.
59. Lu L., Zhu J., Zheng Z., Yan M., Xu W., Sun L., Theze J., Liu X. 1998. Jak-STAT pathway is involved in the induction of TNF-beta gene during stimulation by IL-2. *Eur. J. Immunol.* **28**, 805–810.
60. Xu W., Yan M., Lu L., Sun L., Theze J., Zheng Z., Liu X. 2001. The p38 MAPK pathway is involved in the IL-2 induction of TNF-[beta] gene via the EBS element. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **289**, 979–986.
61. Fiévez L., Desmet C., Henry E., Pajak B., Hegenbarth S., Garzé V., Bex F., Jaspar F., Boutet P., Gillet L., Vanderplasschen A., Knolle P.A., Leo O., Moser M., Lekeux P., Bureau F. 2007. STAT5 is an ambivalent regulator of neutrophil homeostasis. *PLoS ONE*. **2**, e727.
62. Tumanov A.V., Grivennikov S.I., Shakhov A.N., Rytsov S.A., Koroleva E.P., Takeda J., Nedospasov S.A., Kuprash D.V. 2003. Dissecting the role of lymphotoxin in lymphoid organs by conditional targeting. *Immunol. Rev.* **195**, 106–116.
63. Junt T., Tumanov A.V., Harris N., Heikenwalder M., Zeller N., Kuprash D.V., Aguzzi A., Ludewig B., Nedospasov S.A., Zinkernagel R.M. 2006. Expression of lymphotoxin beta governs immunity at two distinct levels. *Eur. J. Immunol.* **36**, 2061–2075.
64. Jungbeck M., Stopfer P., Bataille F., Nedospasov S.A., Mannel D.N., Hehlhans T. 2008. Blocking lymphotoxin beta receptor signalling exacerbates acute DSS-induced intestinal inflammation—opposite functions for surface lymphotoxin expressed by T and B lymphocytes. *Mol. Immunol.* **45**, 34–41.
65. Foxwell B., Browne K., Bondeson J., Clarke C., de Martin R., Brennan F., Feldmann M. 1998. Efficient adenoviral infection with IkappaB alpha reveals that macrophage tumor necrosis factor alpha production in rheumatoid arthritis is NF-kappaB dependent. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **95**, 8211–8215.
66. Wang J., Wang X., Hussain S., Zheng Y., Sanjabi S., Ouaz F., Beg A.A. 2007. Distinct Roles of different NF- $\kappa$ B subunits in regulating inflammatory and T cell stimulatory gene expression in dendritic cells. *J. Immunol.* **178**, 6777–6788.
67. Shakhov A.N., Collart M.A., Vassalli P., Nedospasov S.A., Jongeneel C.V. 1990. Kappa B-type enhancers are involved in lipopolysaccharide-mediated transcriptional activation of the tumor necrosis factor alpha gene in primary macrophages. *J. Exp. Med.* **171**, 35–47.
68. El Gazzar M., Liu T., Yoza B.K., McCall C.E. 2010. Dynamic and selective nucleosome repositioning during endotoxin tolerance. *J. Biol. Chem.* **285**, 1259–1271.
69. El Gazzar M., Yoza B.K., Chen X., Garcia B.A., Young N.L., McCall C.E. 2009. Chromatin-specific remodeling by HMGB1 and linker histone H1 silences proinflammatory genes during endotoxin tolerance. *Mol. Cell Biol.* **29**, 1959–1971.
70. El Gazzar M., Yoza B.K., Hu J.Y.-Q., Cousart S.L., McCall C.E. 2007. Epigenetic silencing of tumor necrosis factor  $\alpha$  during endotoxin tolerance. *J. Biol. Chem.* **282**, 26857–26864.
71. Ghosh C.C., Ramaswami S., Juvekar A., Vu H.-Y., Galdieri L., Davidson D., Vancurova I. 2010. Gene-specific repression of proinflammatory cytokines in stimulated human macrophages by nuclear I $\kappa$ B $\alpha$ . *J. Immunol.* **185**, 3685–3693.
72. Gomard T., Michaud H.-A., Tempé D., Thiolon K., Pelegrin M., Piechaczyk M. 2010. An NF- $\kappa$ B-dependent role for JunB in the induction of proinflammatory cytokines in LPS-activated bone marrow-derived dendritic cells. *PLoS ONE*. **5**, e9585.
73. Kuprash D.V., Udalova I.A., Turetskaya R.L., Kwiatkowski D., Rice N.R., Nedospasov S.A. 1999. Similarities and differences between human and murine TNF promoters in their response to lipopolysaccharide. *J. Immunol.* **162**, 4045–4052.
74. Drouet C., Shakhov A.N., Jongeneel C.V. 1991. Enhancers and transcription factors controlling the induc-

- ibility of the tumor necrosis factor- $\alpha$  promoter in primary macrophages. *J. Immunol.* **147**, 1694–1700.
75. Baer M., Dillner A., Schwartz R.C., Sedon C., Nedospasov S., Johnson P.F. 1998. Tumor necrosis factor  $\alpha$  transcription in macrophages is attenuated by an autocrine factor that preferentially induces NF- $\kappa$ B p50. *Mol. Cell Biol.* **18**, 5678–5689.
  76. Удалова И.А., Турецкая Р.Л., Купраш Д.В., Недоспасов С.А. 1995. Две ступени активации транскрипции гена фактора некроза опухолей человека в макрофагах. Роль белков семейства NF- $\kappa$ B/Rel при действии липополисахарида. *Докл. РАН.* **342**, 413–417.
  77. Udalova I.A., Knight J.C., Vidal V., Nedospasov S.A., Kwiatkowski D. 1998. Complex NF- $\kappa$ B interactions at the distal tumor necrosis factor promoter region in human monocytes. *J. Biol. Chem.* **273**, 21178–21186.
  78. O'Donnell P.M., Taffet S.M. 2002. The proximal promoter region is essential for lipopolysaccharide induction and cyclic AMP inhibition of mouse tumor necrosis factor- $\alpha$ . *J. Interferon Cytokine Res.* **22**, 539–548.
  79. Ye J., Wang L., Zhang X., Tantishaiyakul V., Rojana-sakul Y. 2003. Inhibition of TNF- $\alpha$  gene expression and bioactivity by site-specific transcription factor-binding oligonucleotides. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **284**, L386–394.
  80. Means T., Pavlovich R., Roca D., Vermeulen M., Fenton M. 2000. Activation of TNF- $\alpha$  transcription utilizes distinct MAP kinase pathways in different macrophage populations. *J. Leukoc. Biol.* **67**, 885–893.
  81. Trede N.S., Tsytsykova A.V., Chatila T., Goldfeld A.E., Geha R.S. 1995. Transcriptional activation of the human TNF- $\alpha$  promoter by superantigen in human monocytic cells: role of NF- $\kappa$ B. *J. Immunol.* **155**, 902–908.
  82. Yao J., Mackman N., Edgington T.S., Fan S.T. 1997. Lipopolysaccharide induction of the tumor necrosis factor- $\alpha$  promoter in human monocytic cells. Regulation by Egr-1, c-Jun, and NF- $\kappa$ B transcription factors. *J. Biol. Chem.* **272**, 17795–17801.
  83. Goldfeld A.E., Doyle C., Maniatis T. 1990. Human tumor necrosis factor  $\alpha$  gene regulation by virus and lipopolysaccharide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **87**, 9769–9773.
  84. Rao P., Hayden M.S., Long M., Scott M.L., West A.P., Zhang D., Oeckinghaus A., Lynch C., Hoffmann A., Baltimore D., Ghosh S. 2010. I $\kappa$ B acts to inhibit and activate gene expression during the inflammatory response. *Nature.* **466**, 1115–1119.
  85. Tsytsykova A.V., Falvo J.V., Schmidt-Supprian M., Courtois G., Thanos D., Goldfeld A.E. 2007. Post-induction, stimulus-specific regulation of tumor necrosis factor mRNA expression. *J. Biol. Chem.* **282**, 11629–11638.
  86. Denys A., Udalova I.A., Smith C., Williams L.M., Ciesielski C.J., Campbell J., Andrews C., Kwiatkowski D., Foxwell B.M. 2002. Evidence for a dual mechanism for IL-10 suppression of TNF- $\alpha$  production that does not involve inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase or NF- $\kappa$ B in primary human macrophages. *J. Immunol.* **168**, 4837–4845.
  87. Minematsu H., Shin M.J., Celil Aydemir A.B., Seo S.W., Kim D.W., Blaine T.A., MaciÁN F., Yang J., Young-In Lee F. 2007. Orthopedic implant particle-induced tumor necrosis factor- $\alpha$  production in macrophage–monocyte lineage cells is mediated by nuclear factor of activated T cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1117**, 143–150.
  88. Vila-del Sol V., Punzon C., Fresno M. 2008. IFN- $\gamma$ -Induced TNF- $\alpha$  Expression is regulated by interferon regulatory factors 1 and 8 in mouse macrophages. *J. Immunol.* **181**, 4461–4470.
  89. Zhao X.J., Dong Q., Bindas J., Piganelli J.D., Magill A., Reiser J., Kolls J.K. 2008. TRIF and IRF-3 binding to the TNF promoter results in macrophage TNF dysregulation and steatosis induced by chronic ethanol. *J. Immunol.* **181**, 3049–3056.
  90. Takaoka A., Yanai H., Kondo S., Duncan G., Negishi H., Mizutani T., Kano S.-i., Honda K., Ohba Y., Mak T.W., Taniguchi T. 2005. Integral role of IRF-5 in the gene induction programme activated by Toll-like receptors. *Nature.* **434**, 243–249.
  91. Fukai T., Nishiyama C., Kanada S., Nakano N., Hara M., Tokura T., Ikeda S., Ogawa H., Okumura K. 2009. Involvement of PU.1 in the transcriptional regulation of TNF- $\alpha$ . *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **388**, 102–106.
  92. Niwa Y., Nishiyama C., Nakano N., Kamei A., Kato H., Kanada S., Ikeda S., Ogawa H., Okumura K. 2008. Opposite effects of PU.1 on mast cell stimulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **375**, 95–100.
  93. Klein M., Klein-Hessling S., Palmetshofer A., Serfling E., Tertilt C., Bopp T., Heib V., Becker M., Taube C., Schild H., Schmitt E., Stassen M. 2006. Specific and redundant roles for NFAT transcription factors in the expression of mast cell-derived cytokines. *J. Immunol.* **177**, 6667–6674.
  94. Cloutier A., Ear T., Blais-Charron E., Dubois C.M., McDonald P.P. 2007. Differential involvement of NF- $\kappa$ B and MAP kinase pathways in the generation of inflammatory cytokines by human neutrophils. *J. Leukoc. Biol.* **81**, 567–577.
  95. Cloutier A., Ear T., Borissevitch O., Larivee P., McDonald P.P. 2003. Inflammatory cytokine expression is independent of the c-Jun N-terminal kinase/AP-1 signaling cascade in human neutrophils. *J. Immunol.* **171**, 3751–3761.
  96. Cloutier A., Guindi C., Larivee P., Dubois C.M., Amrani A., McDonald P.P. 2009. Inflammatory cytokine production by human neutrophils involves C/EBP transcription factors. *J. Immunol.* **182**, 563–571.
  97. Garrett W.S., Lord G.M., Punit S., Lugo-Villarino G., Mazmanian S.K., Ito S., Glickman J.N., Glimcher L.H. 2007. Communicable ulcerative colitis induced by T-bet deficiency in the innate immune system. *Cell.* **131**, 33–45.
  98. GeurtsvanKessel C.H., Willart M.A.M., Bergen I.M., van Rijt L.S., Muskens F., Elewaut D., Osterhaus A.D.M.E., Hendriks R., Rimmelzwaan G.F., Lambrecht B.N. 2009. Dendritic cells are crucial for maintenance of tertiary lymphoid structures in the lung of influenza virus-infected mice. *J. Exp. Med.* **206**, 2339–2349.

99. Lu G., Janjic B.M., Janjic J., Whiteside T.L., Storkus W.J., Vujanovic N.L. 2002. Innate direct anticancer effector function of human immature dendritic cells. II. Role of TNF, lymphotoxin-alpha(1)beta(2), Fas ligand, and TNF-related apoptosis-inducing ligand. *J. Immunol.* **168**, 1831–1839.
100. Vernal R., Leon R., Herrera D., Garcia-Sanz J.A., Silva, Sanz M. 2008. Variability in the response of human dendritic cells stimulated with *Porphyromonas gingivalis* or *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *J. Periodontal Res.* **43**, 689–697.
101. Kuprash D.V., Alimzhanov M.B., Tumanov A.V., Anderson A.O., Pfeffer K., Nedospasov S.A. 1999. TNF and lymphotoxin beta cooperate in the maintenance of secondary lymphoid tissue microarchitecture but not in the development of lymph nodes. *J. Immunol.* **163**, 6575–6580.
102. Tomaras G.D., Foster D.A., Burrer C.M., Taffet S.M. 1999. ETS transcription factors regulate an enhancer activity in the third intron of TNF-alpha. *J. Leukocyte Biol.* **66**, 183–193.
103. Barthel R., Goldfeld A.E. 2003. T cell-specific expression of the human TNF-alpha gene involves a functional and highly conserved chromatin signature in intron 3. *J. Immunol.* **171**, 3612–3619.
104. Туманов А.В., Недоспасов С.А., Турецкая Р.Л. 1998. Организация хроматина в локусе генов фактора некроза опухолей и лимфотоксина: корреляция с тканеспецифической экспрессией. *Молекуляр. биология.* **32**, 98–102.