

DOI: 10.26693/jmbs05.06.329

УДК 576+616-092.18

Ануфрієва Ю. С., Гасюк О. М., Бесчасний С. П.

## РОЛЬ TNF-РЕЦЕПТОР-АСОЦІЙОВАНОГО ФАКТОРУ (TRAF3) У КЛІТИНАХ ІМУННОЇ СИСТЕМИ (ОГЛЯД)

Херсонський державний університет, Україна

anufriievayuliia@gmail.com

TNF-рецептор-асоційований фактор 3 або TRAF3 являє собою адаптерний білок, який слугує потужним негативним регулятором у багатьох аспектах біології В-клітин. Дослідження на трансформованих клітинних лініях показали, що TRAF3 може інгібувати передачу сигналів за допомогою ідентифікованого рецептора CD40. У зв'язку з тим, що канонічний сайт TRAF3 на багатьох рецепторах також опосередковує зв'язування інших TRAF, а дефіцит TRAF3 у лабораторних мишей спричиняє загибель новонароджених мишей, чітке розуміння специфічних функцій TRAF3 тривалий час було невідомим.

Після отримання частково TRAF3-дефіцитних мишей продовжився пошук функцій цього білку. Дослідження TRAF3-дефіцитних В-клітин мишей та злоякісних В-клітин показали, що TRAF3 виконує важливі регуляторні функції, властиві лише цьому білку. До них належать пригнічення передачі сигналів рецепторами плазматичної мембрани, негативна регуляція внутрішньоклітинних рецепторів та обмеження цитоплазматичних шляхів NF- $\kappa$ B.

Як відомо, TRAF3 потрібен для регулювання передачі сигналів від Toll-подібних рецепторів В-клітин, впливаючи на ряд послідовних подій, вмикаючи продукцію цитокінів. Однак, участь цитокінів TRAF3 в регуляції сигналів, які індуковані рецепторами таких цитокінів, менш вивчена, особливо для В-клітин.

Достеменно відомо, що TRAF3 діє як резидентний ядерний білок та впливає на метаболізм В-клітин. За допомогою цих та додаткових механізмів TRAF3 здатен впливати на тривалість життя та силу активації В-клітин. У зв'язку із зазначеним, не дивно, що TRAF3 виявився пухлинним супресором у В-клітинах. У В-клітинах TRAF3, скоріш за все, виконує стримуючу функцію, тим самим впливаючи на метаболізм глюкози. TRAF3-дефіцитні В-клітини експресують підвищені рівні переносника глюкози Glut1 та гліколітичного ферменту гексокінази 2. Це пов'язано з частою втратою функції TRAF3 у випадку перетворення В-клітин у зло-

якісні, що можна у подальшому (після додаткового вивчення) використовувати як маркер злоякісного процесу.

**Ключові слова:** TRAF3, В-клітини, CD40, метаболізм глюкози.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота є фрагментом науково-дослідної теми «Вплив деяких вазоактивних речовин на центральні та периферійні лімфоїдні органи білих мишей», № держ. реєстрації 0117U001764.

**Вступ.** Toll-подібні рецептори (toll-like receptors, TLR), функція яких полягає у розпізнаванні патоген-асоційованих молекулярних патернів PAMP (pathogen-associated molecular pattern), є першою лінією захисту організму, що призводить до видалення патогену за рахунок посиленої прозапальної відповіді. Зв'язування відповідного ліганду з TLR призводить до активації цитозольного адаптерного білку MyD88 (myeloid differentiation primary response gene), який у свою чергу стимулює інтерлейкін-1 рецептор-асоційовану кіназу 4 (IRAK4). Як результат – відбувається активація транскрипційних факторів (таких як NF $\kappa$ B, AP1). Універсальний транскрипційний фактор NF $\kappa$ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), який відповідає за контроль експресії генів імунної відповіді, апоптозу та клітинного циклу, посилює експресію прозапальних цитокінів TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor), IL-1, IL-6 та хемокінів (MCP-1, MCP-3, GM-CSF) [1].

TNF являє собою найважливіший цитокін імунної системи. За нормальних умов TNF відповідає за регуляцію таких біологічних процесів як: поділ, диференціація та загибель клітин, запальні реакції, реалізація вродженої та набутої ланки імунітету, формування вторинних лімфоїдних органів [2, 3]. Разом з тим, надмірна продукція TNF спричиняє розвиток септичного шоку або хронічних запальних процесів. Відомо, що продукція TNF забезпечується антиген-презентуючими клітинами, Т- та В-клітинами, мастоцитами, клітинами шкіри, ендотелію у відповідь на різноманітні стимули [1, 4].

TRAF (tumor necrosis factor-receptor-associated factor) – протеїн (фактор), який асоційований із рецепторами TNF та опосередковує передачу сигналу від них. TRAF утворюють сімейство із шести типових (TRAF1-6) та одного нетипового (TRAF7) членів. Типові представники TRAF мають подібну вторинну структуру (С-кінцевий домен або домен TRAF), проте різну кількість молекул цинку в своєму складі. Крім цього, усі члени TRAF, за винятком TRAF1, містять RING-домен, розташований у N-кінцевій ділянці. Домен RING найбільш відомий своєю функцією опосередковувати убіквітинуювання білку у великій родині убіквітинлігази E3 [5, 6].

TRAF3 здатен напряму зв'язуватися з усіма рецепторами суперродини TNFR: CD40, BAFF-R, TACI, BCMA, LT- $\beta$ R, CD27, CD30, RANK, HVEM, EDAR, XEDAR, 4-1BB (CD137), OX-40 (CD134) та GITR (TNFRSF18) [17]. TRAF3 також опосередковано залучається до сигнальних комплексів рецепторів розпізнавання патернів вродженої імунної системи через взаємодію з додатковими адапторними білками. Таким чином, спільне використання TRAF3 множиною імунних рецепторів вказує на його багатогранну роль в імунній системі.

Підтвердженням важливого значення цього протеїну в роботі імунної системи є те, що лабораторні миші із “виключеним” геном TRAF3, гинуть від генералізованої інфекції протягом 10 днів після народження [7]. Almin I. Lalani et al. [8] для того, щоб обійти експериментальні обмеження (обумовлені ранньою загибеллю TRAF3-дефіцитних мишей), застосували метод умовного таргетингу генів. Вони змогли видалити ген *Traf3* у певних типах клітин або тканин. Модель частково TRAF3-дефіцитних мишей дозволила встановити, що цей пептид відіграє критичну роль у регуляції декількох шляхів передачі сигналів рецептора у різних типах клітин імунної системи. Ці дослідники також встановили, що специфічне видалення TRAF3 у В-клітинах призводить до гіперплазії периферійних В-клітин шляхом подовження їхнього життя. Це призводить до розвитку лімфом маргінальної зони селезінки. Зазначене явище свідчить про те, що основна функція TRAF3 у В-клітинах полягає у стимулюванні спонтанного апоптозу. Аналогічні результати були отримані Gardam S. et al [9]. Проте, специфічна делеція TRAF3 клону Т-клітин спричиняє дефектну IgG1 відповідь на Т-клітинні антигени та відповідний розлад Т-клітинного імунітету при бактеріальній інфекції через порушення передачі сигналів TCR / CD28 у CD4 та CD8 Т-клітинах [10]. Chang J. H., et al виявили, що TRAF3 регулює ефекторні властивості Трег клітин та натуральних кілерів [7, 10].

Важливість TRAF3 для вродженої ланки імунітету підтверджується тим, що чисельна кількість

вірусних та бактеріальних білків спрямована на інактивацію TRAF3. Прикладом таких пептидів є Lb (pro) вірусу ящуру, білок X (HBx) вірусу гепатиту В, UL36 вірусу простого герпесу (HSV-1), YopJ грам-бактерії *Yersinia pestis*, білок Tat ВІЛ, білок Gp хантавірусу NY - 1 та М-білок коронавірусного ускладненого гострого респіраторного синдрому [12].

Гранулоцити, моноцити, макрофаги та дендритні клітини є ключовими клітинами т.зв. вродженого імунітету та запалення, відіграють ключову роль у презентації антигену, без них неможлива ефекторна фаза адаптивного імунітету. Ці клітини постійно або після індукції експресують на своїй поверхні ряд рецепторів родини TNFR, TLR, NLR та RLR, сигнали яких регулюються TRAF3.

*In vitro* методами було встановлено, що TRAF3 є необхідним для TLR-індукованої продукції IFN типу I. У макрофагах TRAF3 приймає участь у CD40-індукованій продукції IL-12 у макрофагах. Активація TRAF3 здатна відбуватися різними шляхами і за допомогою різноманітних рецепторів та лігандів [13, 14].

**CD40** є незвичайним членом суперродини TNFRSF (TNFR superfamily), оскільки здатен активувати як “канонічний” (NF- $\kappa$ B1), так і “неканонічний” (NF- $\kappa$ B2) шляхи.

Як вже було зазначено, білки TRAF відіграють важливу роль у регуляції сигнальних шляхів, які активуються через CD40 [15]. Після взаємодії з CD40 за допомогою CD154 (CD40L) або антитіла, цитоплазматичний домен CD40 зв'язує TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF5 та TRAF6 [1]. TRAF3 негативно впливає на передачу сигналів CD40 у В-клітинах. Дослідження мутацій CD40 та TRAF у лініях В-клітин показують, що TRAF3 також відіграє негативну роль у регулюванні синергізму між CD40 і BCR під час активації секреції антитіл та цитокінів [3, 16]. Трансформовані лінії В-клітин, які є дефіцитними за TRAF3, демонструють помітно посилену CD40-опосередковану активацію кінази c-Jun (JNK) та секрецію антитіл [17], хоча CD40-опосередковані сигнали (зокрема, активація JNK, p38, ERK, NF- $\kappa$ B1 та NF- $\kappa$ B2), у TRAF3-дефіцитних первинних В-клітинах проявляються лише помірно [7, 9].

**TNFR2 (CD120b).** TNFR2 сприяє активації секреції антитіл В-клітинами, опосередковуючи аутокринну стимуляцію В-клітин за допомогою CD40-індукованого TNF. TRAF3 зв'язується з цим рецептором, що є однією з його ролей у регуляції передачі сигналів TNFR2 у В-клітинах та завершується активацією JNK. TNFR2 активує як “канонічні”, так і “неканонічні” NF- $\kappa$ B шляхи у лініях В-клітин, хоча активація “канонічного” шляху виявляється слабкою [18, 20]. TRAF2 здійснює внесок у передачу сигналів NF- $\kappa$ B, активуючи

TNFR2. TRAF3 також може здійснювати аналогічний внесок, оскільки В-клітини, які є дефіцитними за TRAF2, демонструють знижену, але не відсутню TNFR2-опосередковану активацію NF- $\kappa$ B2 [21].

**Ліганд 4-1BB (CD137).** У ссавців незначна частина популяції В-клітин експресує 4-1BB. 4-1BB (CD137) являє собою рецептор, пов'язаний з TNFR, який володіє незначною костимулюючою функцією. Рівень цієї експресії збільшується з віком та може відігравати важливу роль у кооперації з Т-клітинами під час пригнічення росту пухлини [15, 17]. За допомогою різноманітних стимулів експресія 4-1BB може бути посилена у В-клітинах. Це посилює проліферацію В-клітин та продукцію TNF [6, 16]. При цьому, цитоплазматичний домен 4-1BB зв'язує TRAF1, TRAF2 та TRAF3 [1, 4, 5]. Проте роль TRAF3 у передачі 4-1BB-сигналів у клітинах залишається незрозумілою.

**CD27.** Цей маркер вказує на популяцію В-клітин. CD27 сприяє диференціації В-клітин у плазматичні клітини, а його лігандом є CD70 [22]. Відомо, що у епітеліальних клітинах CD27 зв'язує TRAF3 [6, 17], де він потенційно може пригнічувати активацію NF- $\kappa$ B, яка опосередкована TRAFs 2 та / або 5 [14, 18]. Як і у випадку з 4-1BB, то, як TRAF3 регулює функцію CD27 у В-клітинах, залишається незрозумілою.

**CD30\*.** Найбільша кількість моноклеарних клітин мигдаликів людини є В-клітинами з маркером CD30\*. Ці клітини, скоріш за все, є субпопуляцією В-клітин, які розвиваються у гермінальних центрах та мають подібні транскрипційні патерни із клітинами лімфоми Ходжкіна [23].

**Рецептори фактору активації В-клітин (BAFF) та ліганд, який індукує проліферацію (APRIL).** TRAF3 відіграє головну роль у передачі сигналів, особливо, через один із рецепторів BAFF та APRIL. Цитоплазматичний домен рецептора BAFF (BAFFR/CD268) взаємодіє з трьома білками TRAF: TRAF2, TRAF3 та TRAF6 [20]. Залучення TRAF2/3 за допомогою BAFFR призводить до протеасомної деградації TRAF3 та активації неканонічного шляху NF- $\kappa$ B2. Спрямоване порушення експресії TRAF3 у В-клітинах імітує вплив на нормальні В-клітини BAFF, що призводить до збільшення виживаємості BAFF-незалежних В-клітин [16]. BAFFR також активує "канонічний" шлях NF- $\kappa$ B1 у В-клітинах, проте ця подія опосередковується не TRAF3, а TRAF6 [22]. Передача сигналів за допомогою BAFFR також активує кінази Syk, фосфатидилінозитол-3-кіназу (PI3K) та ERK у В-клітинах [24]. Активація PI3K, напевно, не залежить від TRAF3 [20, 22].

Рецептори TNFRSF17, трансмембранний CAML-інтерактор (TACI) та антиген дозрівання В-клітин (BCMA), також є сайтами стикування для

BAFF та APRIL (який є іншим членом родини TNF). TACI експресується активованими В-клітинами та плазматичними клітинами і взаємодіє з TRAF3 [23]. Миші з дефіцитом TACI демонструють постійне збільшення загальної кількості В-клітин та підвищену продукцію антитіл, що вказує на важливу роль у гомеостазі В-клітин [1, 9]. Проте, роль TACI складна та не обмежується негативною регуляцією В-клітин. У людини дефекти гену TACI виявляються приблизно у 8% усіх випадків імунodefіциту з загальними варіаціями [25]. TRAF3 інгібує шлях NF- $\kappa$ B2, який активується TACI у лінії епітеліальних клітин нирок людини [24, 25]. Роль TRAF3 у передачі сигналів TACI В-клітин ще не достатньо вивчена. Функція рецептора BCMA відіграє важливе значення для тривалого виживання плазматичних клітин, які секретують антитіла [9]. Тож, роль TRAF3 у передачі сигналів BCMA у В-клітинах ще не достатньо досліджена.

**TRAF3 і В-клітинні цитокинові рецептори.** Як відомо, TRAF3 слугує для регулювання передачі сигналів TLR до В-клітин, впливаючи на ряд послідовних подій, які індукують TLR, вмикаючи продукцію цитокинів. Однак, участь цитокинів TRAF3 в регуляції сигналів, які індуковані рецепторами таких цитокинів, менш вивчена, особливо для В-клітин.

Першими відомими членами суперродини TNFR є рецептори самих цитокинів TNF - TNFR1/CD120a та TNFR2/CD120b. У той час як CD120a може експресуватися з різною активністю на В-клітинах, CD120b має стійку потужну експресію [26]. Роль TRAF2 у передачі сигналі за допомогою CD120b до різноманітних клітин остаточно доведена [8], включаючи й сигнали для В-клітин, у яких TNFR2 відіграє важливу роль у продукції Ig [3, 5]. Оскільки TRAF2 зв'язує CD120b, та часто утворює гетеродимери з TRAF3, було передбачено, що TRAF3 також є асоційованим з CD120b білком [27]. Це було згодом підтверджено для епітеліальних клітин HEK293, які були трансфіковані плазмідами, що кодують CD120b та TRAF3. У цій системі TRAF3 інгібує активацію NF- $\kappa$ B та JNK, індуковану екзогенною надекспресією як CD120b, так і TRAF2 [18]. У В-клітинах ендогенно експресований CD120b також зв'язує TRAF3 та рекрутує цей адаптер до мембранних ліпідних рафтів [20, 27]. Подібно до передачі сигналів CD40 до В-клітин, включення CD120b спричиняє деградацію як TRAF2, так і TRAF3 [14]. Проте, на сьогодні те, як TRAF3-В-клітини регулюють передачу сигналів CD120b у лімфоцитах залишається невідомим.

Дослідження, проведені на лінії клітин HeLa, показали, що TRAF3 конкурує за зв'язування рецептора IL-17 з ядерною прозапальною кіназою Dbf2 [8, 11]. У TRAF3-дефіцитних мишей, які були отримані за допомогою *Cre-Lox* рекомбінаційної

технології, було виявлено збільшення у 2-3 рази кількості регуляторних Т-клітин. Це пов'язано із посиленням сигналізації рецептора IL-2 (IL-2R) на пре-Treg [12, 28]. У Т-клітинах TRAF3 опосередковують залучення фосфатази Т-клітинного білку тирозинфосфатази (TCPTP, відомий також як PTPN2) до IL-2R. TCPTP дефосфорилує IL-2R-асоційовану кіназу Janus (Jak) 2, трансдуктор сигналу фактору транскрипції та активатор транскрипції (Stat) 5. Таким чином, у TRAF3-дефіцитних Т-клітинах відбувається посилення фосфорилування Jak2 та Stat5 та підсилення передачі сигналів через IL-2R [18, 28]. Поки що невідомо, чи змінюється передача сигналів IL-2R за допомогою TRAF3 у В-клітинах, враховуючи виражену специфічність TRAF3-опосередкованої регуляції клітинного типу [29].

**IL-6R** – цитокіновий рецептор, стосовно якого встановлена достеменно регулююча роль TRAF3 у В-клітинах. Дослідження цього зв'язку почалося з того, що у В-Traf3 -/- дефіцитних мишей спостерігалось виживання усіх В-клітин [14] та збільшення у 2-3 рази кількості плазматичних клітин CD138+. При цьому, у гібридів В-Traf3 -/- та IL-6 -/- дефіцитних мишей зазначене явище не спостерігалось. Це підвищення зникає у гібридів між В-Traf3 -/- та IL-6 -/- дефіцитними мишами, хоча у В-Traf3 – дефіцитних тварин не спостерігалось збільшення рівня IL-6R, сироваткового IL-6 [7].

На сьогодні з'ясовано, що В-клітини, які були позбавлені TRAF3 аналогічно ситуації з IL-2R у TRAF3-дефіцитних Т-клітин, демонструють підвищене індукування IL-6, фосфорилування Jak1 та Stat3 (пари сигнальних молекул, еквівалентних Jak2 та Stat5 для IL-2P). У обох випадках, нормальні Т- та В-клітини периферійної крові людини, яким було трансдуковано siRNA, націлені на людський TRAF3, також демонструють підвищене лімфокін-опосередковане фосфорилування Stat [7, 22].

**TRAF3 та метаболізм В-клітин.** Метаболізм В-клітин є малодослідженою темою. Маніпуляції з кількістю TRAF3 у різних типах клітин виявило TRAF3-опосередковану регуляцію ряду метаболічних подій. У декількох моделях ожиріння у мишей, делеція Traf3 у макрофагах та нейтрофілах пом'якшує ряд ознак запалення, які супроводжують ожиріння. До них належать інсулінорезистентність, гіперглікемія, непереносимість глюкози та стеатоз печінки, а також продукція запальних цитокінів печінкою та жировою тканиною. Навпаки – кількість цих цитокінів збільшується у печінці та жировій тканині худих мишей [11]. Подібна картина спостерігається для TRAF3 гепатоцитів, рівень якого є низьким у голодних мишей, але підвищується, коли рівні глюкози підвищуються за допомогою різноманітних метаболічних маніпуляцій. У той

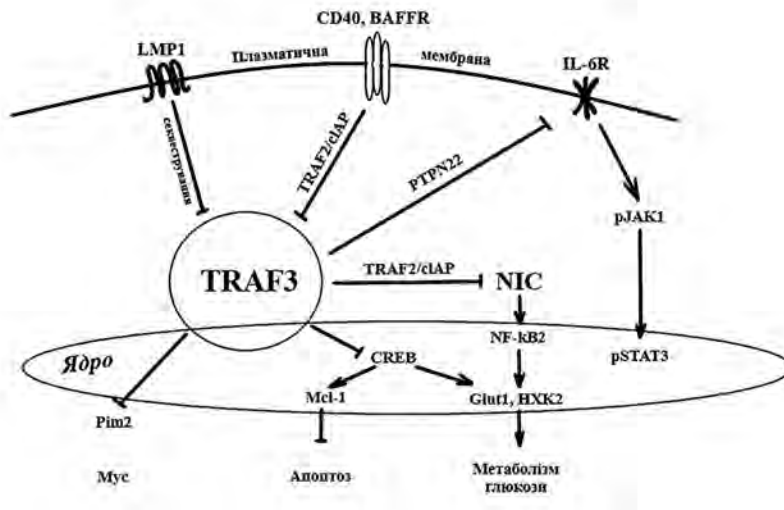
час як делеція TRAF3 гепатоцитів знижує кількість метаболічних порушень, на моделях мишей з ожирінням надекспресія TRAF3 у печінці спричиняє метаболічні порушення та пригнічення передачі сигналів інсуліну [5, 31].

У В-клітинах функція TRAF3, скоріш за все, виконує стримуючу функцію, тим самим впливаючи на метаболізм глюкози. TRAF3-дефіцитні В-клітини експресують підвищені рівні переносника глюкози Glut1 та гліколітичного ферменту гексокінази 2 (HK2) [11]. Це пов'язано з частою втратою функції TRAF3 у випадку утворення злоякісних В-клітин.

Glut1 та HK2, TRAF3 дефіцитні В-клітини демонструють підвищене поглинання глюкози як *in vitro*, так і *in vivo* [9, 11], а також посилення анаеробного гліколізу та окисного фосфорилування без зміни рівня активних форм кисню або кількості мітохондрій [11, 21]. Цікавим є те, що підвищена життєздатність TRAF3 -/- В-клітин не відмінюється дефіцитом TRAF3-регульованої кінази NIK, TRAF3-контрольовані рівні Glut1 та поглинання глюкози повертаються до норми, якщо TRAF3-дефіцитні В-клітини також виявляються NIK-дефіцитними [11].

Проте, підвищене використання глюкози TRAF3-/- В-клітинами дійсно сприяє їхньому виживанню та робить їх більш чутливими (ніж TRAF3+/+ В-клітини) до дефіциту глюкози, що призводить до їхньої загибелі [7, 30]. Клітинні лінії В-клітинної лімфоми людини (BCL) також демонструють зворотну кореляцію між експресією Glut1 та TRAF3, а клітинні лінії з відносно більш низьким рівнем експресії TRAF3 демонструють підвищену чутливість до депривації глюкози [11, 32]. Як було зазначено, TRAF3 у В-клітин є постійним ядерним білком, який індукує деградацію CREB, тим самим інгібуючи транскрипцію CREB-промотованих білків виживання, таких як Mcl-1 [32]. За відсутності глюкози, ця підвищуюча регуляція Mcl-1, яка була викликана дефіцитом TRAF3, відмінюється [11]. Таким чином, В-клітинний TRAF3, як метаболічний білок репрограмування, має особливе значення для злоякісного переродження В-клітин (**рисунк 1**).

**Заключення.** Адаптерний білок TNF-рецептор-асоційований фактор 3 (TRAF3) є потужним негативним регулятором у багатьох аспектах біології В-клітин. Спочатку, дослідження *in vitro* на трансформованих клітинних лініях показали, що TRAF3 може інгібувати передачу сигналів за допомогою його вперше ідентифікованого рецептора CD40. У зв'язку з тим, що канонічний сайт TRAF3 на багатьох рецепторах також опосередковує зв'язування інших TRAF, а дефіцит TRAF3 у лабораторних мишей спричиняє загибель новонароджених мишей, чітке розуміння специфічних функцій TRAF3 досить тривалий час було невідомим.



**Рисунок 1.** Участь TRAF3 у регуляторних шляхах у В-клітинах. Рівень білку TRAF3 та/або його активність у В-клітинах регулюється рецепторами, які експресуються на клітинній поверхні (наприклад, CD40, BAFFR та вірусний білок LMP1). TRAF3, у свою чергу, відповідає за регуляцію активності додаткових сигнальних білків у цитоплазмі та ядрі (NIK, Pim2 та CREB). Стрілками показано негативні механізми регулювання, за Bishop, et al [6]

Після отримання частково TRAF3-дефіцитних мишей пошук функцій цього білку триває. Дослідження TRAF3-дефіцитних В-клітин мишей та злоякісних В-клітин показали, що TRAF3 виконує важливі регуляторні функції, властиві лише цьому білку. До них належать пригнічення передачі сиг-

налів рецепторами плазматичної мембрани, негативна регуляція внутрішньоклітинних рецепторів та обмеження цитоплазматичних шляхів NF-κB.

На сьогодні відомо, що TRAF3 діє як резидентний ядерний білок та впливає на метаболізм В-клітин. За допомогою цих та додаткових механізмів. TRAF3 обумовлює значне обмеження життя та сили активації В-клітин. Таким чином, виявилось, що TRAF3 є значним пухлинним супресором у В-клітинах.

**Перспективи подальших досліджень.** Серед різноманітних аспектів дослідження TRAF3 важливої уваги заслуговують взаємозв'язки між TRAF3 та різними ферментами-фосфатаза ми В- і Т-лімфоцитів. Важливе значення мають внутрішньоклітинні сигнали у лімфоцитах, їх механізми та біологічні наслідки у випадку взаємодії як із цитокіновими рецепторами, так і TCR. Подальші дослідження будуть спрямовані на виявлення додаткових регуляторних шляхів TRAF3 як промотора убіквітинування, участі у цьому процесі цитокінових рецепторів та сигналізації TCR, про які йдеться в цьому огляді.

## References

1. Bishop GA, Stunz LL, Hostager BS. TRAF3 as a multifaceted regulator of B lymphocyte survival and activation. *Front Immunol.* 2018 Sep 24; 9: 2161. PMID: 30319624. PMCID: PMC6165887. doi: 10.3389/fimmu.2018.02161
2. Aggarwal BB. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol.* 2003; 3(9): 745-756. doi: <https://doi.org/10.1038/nri1184>
3. Vajjhala PR, Ve T, Bentham A, Stacey KJ, Kobe B. The molecular mechanisms of signaling by cooperative assembly formation in innate immunity pathways. *Mol Immunol.* 2017 Jun; 86: 23-37. doi: 10.1016/j.molimm.2017.02.012
4. Bishop GA. TRAF3 as a powerful and multitasking regulator of lymphocyte functions. *J Leukoc Biol.* 2016 Nov; 100(5): 919-926. PMID: 27154354. PMCID: PMC6608063. doi: 10.1189/jlb.2MR0216-063R
5. Guven-Maiorov E, Keskin O, Gursoy A, VanWaes C, Chen Z, Tsai CJ, et al. TRAF3 signaling: competitive binding and evolvability of adaptive viral molecular mimicry. *Biochim Biophys Acta.* 2016; 1860: 2646-2655.
6. Yi Z, Lin WW, Stunz LL, Bishop GA. Roles for TNF-receptor associated factor 3 (TRAF3) in lymphocyte functions. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014; 25(2): 147-156. doi: 10.1016/j.cytogfr.2013.12.002
7. Lin WW, Yi Z, Stunz LL, Maine CJ, Sherman LA, Bishop GA. The adaptor protein TRAF3 inhibits interleukin-6 receptor signaling in B cells to limit plasma cell development. *Sci Signal.* 2015 Sep 1; 8(392): ra88. doi: 10.1126/scisignal.aaa5157
8. Lalani AI, Moore CR, Luo C, Kreider BZ, Liu Y, Morse HC, et al. Myeloid cell TRAF3 regulates immune responses and inhibits inflammation and tumor development in mice. *J Immunol.* 2015; 194(1): 334-348. doi: 10.4049/jimmunol.1401548
9. Mambetsariev N, Lin WW, Wallis AM, Stunz LL, Bishop GA. TRAF3 deficiency promotes metabolic reprogramming in B cells. *Nature Sci Reports.* 2016; 6(1): 1-9. doi: 10.1038/srep35349
10. Yi Z, Wallis AM, Bishop GA. Roles of TRAF3 in T cells: many surprises. *Cell Cycle.* 2015; 14(8): 1156-63. PMID: 25723057. PMCID: PMC4613145. doi: 10.1080/15384101.2015.1021524

11. Chen Z, Shen H, Sun C, Yin L, Tang F, Zheng Pan, et al. Myeloid cell TRAF3 promotes metabolic inflammation, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2015; 308(6): E460-E469. doi: 10.1152/ajpendo.00470.2014
12. Luo WW, Li S, Li C, Lian H, Yang Q, Zhong B, et al. iRhom2 is essential for innate immunity to DNA viruses by mediating trafficking and stability of the adaptor STING. *Nat Immunol.* 2016; 17: 1057-1066. doi: 10.1038/ni.3510
13. Shen Y, Liu WW, Zhang X, Shi JG, Jiang S, Zheng L, et al. TRAF3 promotes ROS production and pyroptosis by targeting ULK1 ubiquitination in macrophages. *FASEB J.* 2020 May; 34(5): 7144-7159. PMID: 32275117. doi: 10.1096/fj.201903073R
14. Immanuel CN, Teng B, Dong B, Gordon EM, Kennedy JA, Luellen C, et al. Apoptosis signal-regulating kinase-1 promotes inflammasome priming in macrophages. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2019; 316: L418-L427. doi: 10.1152/ajplung.00199.2018
15. Bishop GA. The many faces of CD40: multiple roles in normal immunity and disease. *Semin Immunol.* 2009 Oct; 21(5): 255-6. PMID: 19713124. doi: 10.1016/j.smim.2009.08.002
16. Yi Z, Lin WW, Stunz LL, Bishop GA. Roles for TNF-receptor associated factor 3 (TRAF3) in lymphocyte functions. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014; 25(2): 147-156. doi: 10.1016/j.cytogfr.2013.12.002
17. Yi Z, Lin WW, Stunz LL, Bishop GA. The adaptor TRAF3 restrains the lineage determination of thymic regulatory T cells by modulating signaling via the receptor for IL-2. *Nat Immunol.* 2014; 15(9): 866-874. doi: 10.1038/ni.2944
18. Shi JH, Sun SC. Tumor necrosis factor receptor-associated factor regulation of nuclear factor kappaB and mitogen-activated protein kinase pathways. *Front Immunol.* 2018; 9: 1849.
19. Guan K, Wei C, Zheng Z, Song T, Wu F, Zhang Y, et al. MAVS promotes inflammasome activation by targeting ASC for K63-linked ubiquitination via the E3 ligase TRAF3. *J Immunol.* 2015; 194: 4880-4890. doi: 10.4049/jimmunol.1402851
20. Bishop GA, Haxhinasto SA, Stunz LL, Hostager BS. Antigen-specific B-lymphocyte activation. *Crit Rev Immunol.* 2003; 23(3): 149-97. PMID: 14584878. doi: 10.1615/critrevimmunol.v23.i3.10
21. Mambetsariev N, Lin WW, Wallis AM, Stunz LL, Bishop GA. TRAF3 deficiency promotes metabolic reprogramming in B cells. *Sci Rep.* 2016 Oct 18; 6: 35349. PMID: 27752131. PMCID: PMC5082756. doi: 10.1038/srep35349
22. Mambetsariev N, Lin WW, Stunz LL, Hanson BM, Hildebrand JM, Bishop GA. Nuclear TRAF3 is a negative regulator of CREB in B cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2016 Jan 26; 113(4): 1032-7. PMID: 26755589. PMCID: PMC4743771. doi: 10.1073/pnas.1514586113
23. Bishop GA, Abdul-Sater AA, Watts TH. Editorial: TRAF Proteins in Health and Disease. *Front Immunol.* 2019 Feb 26; 10: 326. PMID: 30863413. PMCID: PMC6400096. doi: 10.3389/fimmu.2019.00326
24. Parvatiyar K, Pindado J, Dev A, Zaver ShA, Chapon M, Dhingra A, et al. A TRAF3-NIK module differentially regulates DNA vs RNA pathways in innate immune signaling. *Nat Commun.* 2018; 9: 2770. doi: 10.1038/s41467-018-05168-7
25. Wallis AM, Wallace EC, Hostager BS, Yi Z, Houtman JCD, Bishop GA. TRAF3 enhances TCR signaling by regulating the inhibitors Csk and PTPN22. *Sci Rep.* 2017 May 18; 7(1): 2081. PMID: 28522807. PMCID: PMC5437045. doi: 10.1038/s41598-017-02280-4
26. Aggarwal BB. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3(9): 745-756. doi: 10.1038/nri1184
27. Verma ND, Robinson CM, Carter N, Wilcox P, Tran GT, Wang C, et al. Alloactivation of Naïve CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup>T Regulatory Cells: Expression of CD8 $\alpha$  Identifies Potent Suppressor Cells That Can Promote Transplant Tolerance Induction. *Front Immunol.* 2019 Oct 14; 10: 2397. PMID: 31681288. PMCID: PMC6802415. doi: 10.3389/fimmu.2019.02397
28. Arkee T, Bishop GA. TRAF family molecules in T cells: Multiple receptors and functions. *J Leukoc Biol.* 2020 Jun; 107(6): 907-915. PMID: 31749173. PMCID: PMC7239704. doi: 10.1002/JLB.2MR1119-397R
29. Liu B, Zhang M, Chu H, Zhang H, Wu H, Song G, et al. The ubiquitin E3 ligase TRIM31 promotes aggregation and activation of the signaling adaptor MAVS through Lys63-linked polyubiquitination. *Nat Immunol.* 2017; 18: 214-224. doi: 10.1038/ni.3641
30. Wallis AM, Wallace EC, Hostager BS, Yi Z, Houtman JCD, Bishop GA. TRAF3 enhances TCR signaling by regulating the inhibitors Csk and PTPN22. *Sci Rep.* 2017 May 18; 7(1): 2081. PMID: 28522807. PMCID: PMC5437045. doi: 10.1038/s41598-017-02280-4
31. Chen Z, Canet MJ, Sheng L, Jiang L, Xiong Y, Yin L, et al. Hepatocyte TRAF3 promotes insulin resistance and type 2 diabetes in mice with obesity. *Mol metabolism.* 2015; 4(12): 951-960. doi: 10.1016/j.molmet.2015.09.013
32. Zhang M, Zhang MX, Zhang Q, Zhu GF, Yuan L, Zhang DE, et al. USP18 recruits USP20 to promote innate antiviral response through deubiquitinating STING/MITA. *Cell Res.* 2016; 26: 1302-1319. doi: 10.1038/cr.2016.125

УДК 576+616-092.18

**РОЛЬ TNF-РЕЦЕПТОР-АССОЦИИРОВАННОГО ФАКТОРА (TRAF3) В КЛЕТКАХ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ (ОБЗОР)****Ануфриева Ю. С., Гасюк Е. Н., Бесчасный С. П.**

**Резюме.** TNF-рецептор-ассоциированный фактор 3, или TRAF3 представляет собой адаптерный белок, который служит мощным негативным регулятором во многих аспектах функционирования В-клеток. Исследования на трансформированных клеточных линиях показали, что TRAF3 может ингибировать передачу сигналов при помощи идентифицированного рецептора CD40. В связи с тем, что канонический сайт TRAF3 на многих рецепторах также опосредует связывание других TRAF, а дефицит TRAF3 у лабораторных мышей вызывает гибель сразу после рождения, четкое понимание специфических функций TRAF3 достаточно долгое время было неизвестно.

После получения частично TRAF3-дефицитных мышей продолжился поиск функций этого белка. Исследование TRAF3-дефицитных В-клеток мышей и злокачественных В-клеток показали, что TRAF3 выполняет важные регуляторные функции, свойственные только этому белку. К ним относятся подавление передачи сигналов рецепторами плазматической мембраны, негативная регуляция внутриклеточных рецепторов и ограничения цитоплазматических путей NF-κB.

Как известно, TRAF3 выполняет функцию регулирования передачи сигналов от Toll-подобных рецепторов В-клеток, воздействуя на ряд последовательных событий, включая продукцию цитокинов. Однако, участие TRAF3-зависимых цитокинов в регуляции сигналов, индуцированных рецепторами таких цитокинов, менее изучены, особенно для В-клеток.

Достоверно известно, что TRAF3 действует как резидентный ядерный белок и влияет на метаболизм В-клеток. С помощью этих и дополнительных механизмов TRAF3 способен влиять на продолжительность жизни и силу активации В-клеток. В связи с этим неудивительно, что TRAF3 оказался противоопухолевым агентом в В-клетках. TRAF3 в В-клетках скорее всего выполняет сдерживающую функцию, тем самым влияя на метаболизм глюкозы. TRAF3-дефицитные В-клетки экспрессируют повышенные уровни переносчика глюкозы Glut1 и гликолитического фермента гексокиназы 2. Это связано с частой потерей функции TRAF3 в случае преобразования В-клеток в злокачественные. Этот феномен можно в дальнейшем использовать как маркер злокачественного процесса, что требует проведения дальнейших исследований.

**Ключевые слова:** TRAF3, В-клетки, CD40, метаболизм глюкозы.

UDC 576+616-092.18

**Role of TNF-Receptor-Associated Factor (TRAF3) in the Immune System Cells (Review)****Anufriieva Y., Hasiuk O., Beschasyi S.**

**Abstract.** TNF-receptor-associated factor 3, or TRAF3, is an adapter protein that serves as a potent negative regulator in many aspects of B cell function. Studies in transformed cell lines have shown that TRAF3 can inhibit signaling via the identified CD40 receptor. Due to the fact that the canonical site of TRAF3 on many receptors also mediates the binding of other TRAFs, and TRAF3 deficiency in laboratory mice causes death immediately after birth, a clear understanding of the specific functions of TRAF3 was unknown for a long time.

After obtaining partially TRAF3-deficient mice, the search for the functions of this protein continued. The study of TRAF3-deficient B cells in mice and malignant B cells showed that TRAF3 performed important regulatory functions that were unique to this protein. These include suppression of signaling by plasma membrane receptors, downregulation of intracellular receptors, and restriction of the NF-κB cytoplasmic pathways.

It is known that TRAF3 regulates signaling from Toll-like receptors in B cells, acting on a number of sequential events, including the production of cytokines. However, the involvement of TRAF3-dependent cytokines in signal regulation induced by receptors for such cytokines is less studied, especially for B cells.

TRAF3 also acts as a resident nuclear protein and affects the metabolism of B cells. Through these and additional mechanisms, TRAF3 is able to influence lifespan and the strength of B cell activation. Therefore, it is not surprising that TRAF3 was found to be an anticancer agent in B cells. TRAF3 in B cells appears to have an inhibitory function, thereby affecting glucose metabolism. TRAF3-deficient B cells express increased levels of the glucose transporter Glut1 and the glycolytic enzyme hexokinase 2. This is associated with the frequent loss of TRAF3 function when B cells are converted to malignant cells. This phenomenon can be further used as a marker of a malignant process, which requires further research.

**Conclusion.** Among the various aspects of the TRAF3 study, the relationship between TRAF3 and the various phosphatase enzymes of B and T lymphocytes is important. Intracellular signals in lymphocytes, their mechanisms and biological consequences in case of interaction with both cytokine receptors and TCR are significant.

Further research will focus on identifying additional regulatory pathways for TRAF3 as a promoter of ubiquitination, the involvement of cytokine receptors, and TCR signaling, which are discussed in this review.

**Keywords:** TRAF3, B cells, CD40, glucose metabolism.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 03.10.2020 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування