

Received: 2015.07.29
Accepted: 2016.09.11
Published: 2017.01.10
DOI: 10.5604/17322693.1228266

Rola interleukiny 15 w nowotworzeniu

The role of interleukin 15 in neoplasia

Małgorzata Chłopek¹, Artur Kowalik¹, Stanisław Góźdz^{2,3}, Katarzyna Koziak⁴

¹ Zakład Diagnostyki Molekularnej, Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach

² Klinika Onkologii, Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach

³ Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

⁴ Zakład Immunologii, Biochemii i Żywności, Centrum Badań Przedklinicznych i Technologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Interleukina 15 jest cytokiną o pleiotropowym działaniu, należącą do rodziny cytokin zbudowanych z czterech α -helis. Wykorzystując receptor składający się z kompleksu trzech białek: specyficznej dla IL15 podjednostki α (IL-15R α); podjednostki β , którą współdzieli z IL-2 (IL-2/IL-15R β) oraz podjednostki γ_c , biorącej udział w wiązaniu większej grupy cytokin, IL-15 aktywuje szlaki sygnałowe prowadzące do aktywacji i proliferacji limfocytów T i B, jak również komórek NK. Chroni też komórki efektorowe przed działaniem limfocytów T regulatorowych oraz nie wywołuje tolerancji immunologicznej. Ważny regulatorowy wpływ IL-15 na swoistą i nieswoistą odpowiedź immunologiczną daje wiele możliwości wykorzystania jej w terapiach przeciwnowotworowych.

W licznych doświadczeniach wykorzystujących różne modele chorób nowotworowych do oceny skuteczności potencjalnych nowych metod leczenia wykazano, że IL-15 wzmacnia efekt przeciwnowotworowy. W celu poprawy efektywności działania IL-15 stosowanych jest kilka strategii postępowania, między innymi łączenie z innymi terapiami przeciwnowotworowymi takimi jak chemioterapia, dodatkowym wykorzystaniem przeciwciał (anty-PD-L1, anty-CTLA-4, anty-CD40), albo innych cytokin. Zwiększenie aktywności antynowotworowej uzyskiwane jest również poprzez tworzenie agonistów IL-15.

Jednocześnie jednak, IL-15 działając jako czynnik wzrostu nie tylko na komórki układu immunologicznego, ale także na komórki nowotworowe, może wykazywać właściwości pronowotworowe. Ze względu na udział IL-15 w proliferacji i różnicowaniu komórek NK, limfocytów T i B może odgrywać rolę w patogenezie niektórych nowotworów hematologicznych. Obecnie w modelach doświadczalnych stosowanych jest kilka metod blokowania aktywności biologicznej IL-15. Związki hamujące aktywność IL-15 to nie tylko przeciwciała monoklonalne oddziałujące bezpośrednio z tą cytokiną lub skierowane przeciwko podjednostkom IL-15R, ale także niektóre zmutowane formy IL-15, czy konstrukty białkowe mające charakter antagonistów IL-15.

Artykuł stanowi przegląd dotychczasowych badań nad rolą IL-15 w rozwoju i progresji nowotworów hematologicznych i nowotworów litych, a także strategii postępowania mających na celu wykorzystanie IL-15 i jej inhibitorów w terapiach przeciwnowotworowych.

Słowa kluczowe:

interleukina 15 • cytokiny • terapia nowotworowa • nowotwory hematologiczne • nowotwory lite

Summary

Interleukin 15 is a pleiotropic cytokine of the four α helix bundle family. Binding to a heterotrimeric receptor complex, which consists of a unique, high affinity IL-15R α -chain and IL-2/IL-15R β and IL-2R γ_c chains, IL-15 activates signaling pathways leading to activation and proliferation of T and B cells, as well as natural killer cells. At the same time, IL-15 protects

effector cells from T regulatory cells and does not induce immune tolerance. The significant regulatory action of IL-15 on the immune system provides new opportunities for development of anti-cancer therapies.

As documented in many experiments using different tumor models, IL-15 enhances antitumor effects. To improve the efficiency of IL-15, several strategies, including combination with other anti-cancer therapies such as chemotherapy, additional use of antibodies (anti-PD-L1, anti-CTLA-4, anti-CD40), or other cytokines, have been evaluated. Increased anti-tumor activity can also be obtained by using IL-15 agonists.

However, acting as a growth factor for immune cells but also for tumor cells, IL-15 may promote their proliferation, survival and dissemination. Of significance seems the role of IL-15 in the pathogenesis of hematological malignancies, which is due to the involvement in the proliferation and differentiation of NK, T and B cells.

Currently, several experimental strategies are available to block biological activity of IL-15. Among compounds inhibiting the activity of IL-15 are not only monoclonal antibodies interacting directly with the cytokine or with IL-15R subunits, but also mutant forms of IL-15 and protein constructs.

Keywords: interleukin 15 • cytokines • tumor therapy • hematological malignancies • solid tumors

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1228266>

DOI: 10.5604/01.3001.0010.3785

Word count: 8552

Tables: –

Figures: 2

References: 67

Adres autorki: mgr Małgorzata Chłopek, Zakład Diagnostyki Molekularnej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach, ul. Artwińskiego 3; 25-734 Kielce; e-mail: malgo.chlopek@gmail.com

Wykaz skrótów: **ADCC** – cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał (antibody-dependent cell cytotoxicity); **AICD** – śmierć komórkowa indukowana aktywacją (activation induced cell death); **ALDH** – dehydrogenaza aldehydowa (aldehyde dehydrogenases); **ALL** – ostra białaczka limfoblastyczna (acute lymphoblastic leukemia); **APCs** – komórki prezentujące antygen; **ATL** – białaczka T-komórkowa dorosłych (adult T-cell leukemia); **BCG** – niechorobotwórczy szczep prątków gruźlicy (Bacillus Calmette-Guérin); **CHO** – linia komórek jajnika chomika chińskiego (chinese hamster ovary); **CIK** – podtyp limfocytów T (cytokine-induced killer cells); **CIN** – niestabilności chromosomowe (chromosomal instability); **CLL** – przewlekła białaczka limfocytowa (chronic lymphocytic leukemia); **CpG** – niemetalowane sekwencje CpG (unmethylated CpG oligonucleotides); **CSCs** – nowotworowe komórki macierzyste (cancer stem cells); **DNMT3B** – metylotransferaza DNA (DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3 beta); **EMT** – nabłonkowo-mezenchymalna transycja EMT (epithelial-mesenchymal transition); **FDA** – Agencja Żywności i Leków (Food and Drug Administration); **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony stimulating factor); **HMBG1** – białko amfoteryna (high mobility group box protein 1); **HTLV-1** – wirus ludzkiej białaczki z komórek T (human T-cell lymphotropic virus type 1 receptor); **IFN-γ** – interferon γ; **IKDC** – grupa komórek wytwarzająca interferon (IFN-producing killer dendritic cell); **IL-15** – interleukina 15; **IL-15R** – receptor interleukiny 15; **LAK** – podtyp komórek NK (lymphokine-activated killer cells); **LGL** – białaczka limfocytowa z dużych ziarnistych limfocytów (large granular lymphocytes leukemia); **LSP 48-AA** – długa postać peptydu sygnałowego (long signal peptide); **mb-IL-15** – postać związana z błoną (membrane bound); **MSCs** – mezenchymalne komórki macierzyste (mesenchymal stem cells); **NMIBC** – rak nienaciekający błonę mięśniową pęcherza (non-muscle invasive bladder cancer); **OUN** – ośrodkowy układ nerwowy; **PBMC** – jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (peripheral blood mononuclear cell); **PD-L1** – ligand receptora programowanej śmierci PD-1 (programmed death-ligand 1); **pre-B ALL** – białaczka z limfocytów prekursorowych B; **rAAV2** – wektor adenowirusowy (adenovirus-associated vector serotype 2); **RCC** – nowotwór nerki (renal cancer cells); **rhIL-15** – rekombinowana

ludzka interleukina 15 (recombinant human IL-15); **SCID** – ciężki złożony niedobór odporności (severe combined immunodeficiency); **sIL-15R α** – rozpuszczalna podjednostka α receptora IL-15R (soluble IL-15R α); **SSP 21-AA** – krótka postać peptydu sygnałowego (short signal peptide); **TAA**s – antygeny związane z nowotworem (tumor-associated antigens); **TAM**s – makrofagi swoiste dla nowotworów (tumor associated macrophages); **TGF- α** – transformujący czynnik wzrostu α (transforming growth factor α); **TGF- β** – transformujący czynnik wzrostu β (transforming growth factor β); **Th2** – limfocyty T pomocnicze typu 2 CD4⁺; **TLRs** – Toll-like receptory; **TNF- α** – czynnik martwicy nowotworów α (tumor necrosis factor α); **TRAMP-C2** – model nowotworu prostaty; **transportery ABC** – (ATP-Binding Cassette Transporters); **Treg** – limfocyty T regulatorowe; **WT LGL** – prawidłowe duże ziarniste limfocyty (wild type large granular lymphocytes).

WSTĘP

Interleukinę 15 (IL-15) po raz pierwszy opisano w 1994 r. określając ją wtedy jako czynnik wzrostu limfocytów T. Zaliczana jest do rodziny cytokin zbudowanych z czterech α -helis tak jak IL-2, -4, -7, -9, -21. Jej pleiotropowe działanie odgrywa znaczącą rolę w chorobach zapalnych, immunizacyjnych, zakaźnych i nowotworowych [27].

IL-15

Budowa i właściwości

Interleukina 15 to glikoproteina o masie cząsteczkowej 14-15 kDa, zbudowana z 114 aminokwasów. Znajdujący się na chromosomie 4q31 kodujący ją gen składa się z dziewięciu eksonów i ośmiu intronów [21,27]. Może występować w dwóch postaciach splicingowych, które różnią się długością peptydu sygnałowego (liderowego), natomiast kodowane przez nie białko właściwe ma w obu izoformach identyczną sekwencję aminokwasową (ryc. 1). Krótsza postać peptydu sygnałowego SSP 21-AA (short signal peptide) składa się z 21 aminokwasów, a dłuższa LSP 48-AA (long signal peptide) z 48 aminokwasów [52]. W skład dojrzałego transkryptu IL-15 wchodzi eksony 5,6,7 i 8 [43,52]. W pozycjach C42-C88 i C35-C85 cząsteczki można wyróżnić dwa mostki dwusiarczkowe stabilizujące miejsca wiązania z podjednostką receptora IL-15R α [13, 27].

Transkrypcja i translacja białka IL-15

Różnica w budowie peptydu sygnałowego (liderowego) jest ważna dla dojrzałej postaci IL-15. Peptyd liderowy determinuje umiejscowienie wewnątrzkomórkowe oraz sekrecję białka, z którym jest związany, w istotny sposób wpływając na kontrolę transkrypcji genu IL-15. Postać długa IL-15 (LSP-IL-15) jest wydzielana do retikulum endoplazmatycznego. Krótka postać IL-15 (SSP-IL-15) występuje w cytoplazmie i jądrze [13,42]. Po utworzeniu kompleksu z podjednostką IL-15R α obie postaci mogą być wydzielane na zewnątrz komórki. Natomiast w przypadku nieobecności IL-15R α obie izoformy mogą się umiejscawiać wewnątrz komórki [21]. Izoforma umiejscowiona jądrowo w kompleksie z IL-15R α , może wykazywać właściwości autoregulacji przez hamowanie transkrypcji IL-15 [14].

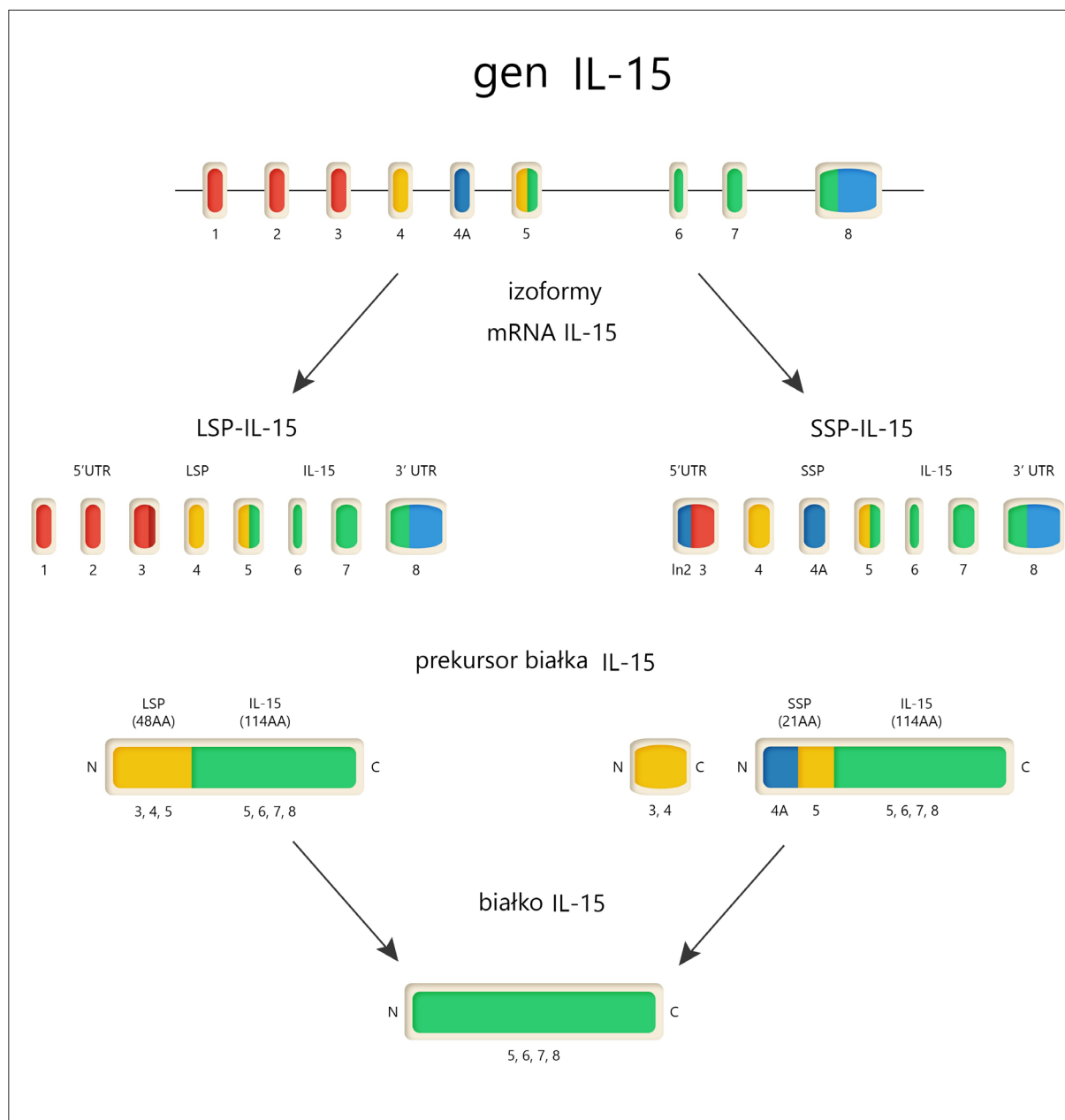
W warunkach fizjologicznych mRNA IL-15 występuje powszechnie w wielu typach tkanek (łożysko, mięśnie szkieletowe, nerki, płuca, serce) i w wielu typach komórek [13,16]. Przykładem takich komórek, w których ulega translacji białko IL-15 są monocyty/makrofagi biorące udział w odpowiedzi immunologicznej [16]. Innym typem komórek syntetyzującym zarówno mRNA, jak i białko IL-15, są komórki prezentujące antygen (APCs), komórki dendrytyczne, które odgrywają rolę w regulacji aktywności (stymulacji) limfocytów T [21,32].

Regulacja transkrypcji i translacji

Mimo powszechnego występowania mRNA IL-15, cytokina nie należy do białek powszechnie syntetyzowanych. Jest to kontrolowane przez liczne mechanizmy, które regulują powstawanie IL-15 na poziomie transkrypcji, translacji i sekrecji [13]. Do czynników regulujących transkrypcję zaliczane są: α -IFN-2, NF-IL-6, γ -IRE, myb, GCF i NF- κ B, które mają kilka miejsc wiązania w regionie promotora IL-15 [3,42].

Kontrola procesu translacji IL-15 opiera się na trzech głównych mechanizmach. Pierwszy to sekwencja AUG, która poza właściwym miejscem rozpoczęcia translacji występuje w kilku powtórzeniach (u człowieka jest ich 12) na końcu 5' UTR, w skuteczny sposób blokując ten proces. Inny sposób odpowiedzialny za negatywną regulację znajduje się na końcu 3' sekwencji kodującej białko. Wskazują na to rezultaty badań, w których metodami inżynierii genetycznej do sekwencji kodującej IL-15 dołączono w końcu 3' fragment cDNA kodujący sztuczny epitop (FLAG). Kodowane przez taki konstrukt chimeryczne białko ulegało 5-10-krotnie wyższej ekspresji w porównaniu z kontrolną. Przypuszczalny mechanizm regulacji ekspresji białka IL-15 za pomocą jego końca C nie jest jeszcze poznany. Jako trzeci sposób regulacji można wymienić długi peptyd sygnałowy, który również negatywnie wpływa na translację [6,7].

Ekspresja IL-15 może być stymulowana przez cytokiny, takie jak: GM-CSF (granulocyte- macrophage colony stimulating factor), interferony oraz agonistów receptorów TLRs (Toll-like receptors) włączając LPS, niemetylowane wyspy CpG (unmethylated CpG oligonucleotides) [29].



Ryc. 1. Gen, mRNA i białko IL-15 (wg [21] zmodyfikowano)

RECEPTOR IL-15

Budowa i właściwości

Receptor IL-15 (IL-15R) składa się z trzech podjednostek – swoistej dla IL-15 podjednostki IL-15R α , wspólnej dla IL-15 i IL-2 podjednostki IL-2/IL-15R β oraz podjednostki γ – biorącej udział w wiązaniu sześciu cytokin (IL-2, -4, -7, -9, -15 i -21).

Gen kodujący IL-15R α jest umiejscowiony na chromosomie 10 na prążkach p14-p15 [1].

Znanych jest osiem wariantów splicingowych; wśród nich można wyróżnić dwie grupy: zawierające ekson 2 i bez eksonu 2. Wszystkie izoformy, które nie mają eksonu 2 wykryto w błonach komórkowych (z wyjątkiem błony jądra komórkowego), retikulum endoplazmatycznym i aparacie Golgiego. Natomiast w błonie jądrowej wykazano tylko te podjednostki IL-15R α , które zawierają ekson 2 [18].

Transkrypt dla IL-15R α , podobnie jak mRNA IL-15, występuje bardzo powszechnie w wielu typach komórek [18,21,24,53,57] oraz w różnych tkankach (mózg,

jelito, wątroba, mięśnie szkieletowe, serce, płuca), jednak na różnym poziomie w zależności od izoformy [1,18].

IL-15R α to białko transbłonowe o masie cząsteczkowej 58–60 kDa. Jest zbudowane z 263 aminokwasów (32-aminokwasowej podjednostki sygnałowej, 173-aminokwasowej domeny zewnątrzkomórkowej, 21-aminokwasowej domeny transbłonowej i 37-aminokwasowej domeny cytoplazmatycznej) [1,18].

Fragment pozakomórkowy ma tzw. domenę sushi niezbędną do wiązania i aktywności funkcjonalnej IL-15. Składa się z 66 aminokwasów, zawiera dwa mostki dwusiarczkowe C4-C46 i C30-C64 służące do utworzenia struktury trzeciorzędowej białka i ma postać β -karkti. Zawiera także region bogaty w reszty treoniny i proliny (region PT) oraz linker łączący go z domeną sushi [57].

IL-15R α występuje zarówno w postaci związanej z błoną, jak i rozpuszczalnej sIL-15R α (soluble IL-15R α) (o wielkości 42 kDa), która powstaje z receptora transbłonowego w wyniku trawienia proteolitycznego [41]. W warunkach fizjologicznych i patologicznych może wpływać na właściwości sygnalizacyjne IL-15, ponieważ pełni funkcje kompetycyjnego podstawnika zmniejszając ilość IL-15 związanej z receptorem błonowym [41]. sIL-15R α wpływa również na wydłużenie czasu półtrwania IL-15 [44].

IL-15R α wykazuje duże powinowactwo wiązania do IL-15. Aktywacja ścieżek sygnałowych następuje po połączeniu IL-15 z IL-15R α , a następnie z kompleksem IL-2/15R β i γ c. Kompleks IL-2/15R β - γ c charakteryzuje się średnim powinowactwem do wiązania IL-15 [23].

IL-15 może być prezentowana bezpośrednio na powierzchni błony komórkowej i wiązana przez heterodimer IL-2R/IL-15R β - γ c, albo w postaci kompleksu, który tworzy z IL-15R α . Kompleks taki powstaje w wyniku wewnątrzkomórkowego łączenia się IL-15R α z IL-15 wytwarzanych w tej samej komórce. IL-15 związana z podjednostką IL-15R α może tworzyć kompleks z heterodimerem β - γ c obecnym na tej samej (kompleks *cis*) bądź na innej komórce (kompleks *trans*) [19,29,47].

ROLA IL-15 W WARUNKACH FIZJOLOGICZNYCH

Ze względu na wykorzystywanie tych samych podjednostek receptora β i γ IL-2 i IL-15 pełnią kilka podobnych funkcji. Dotyczy to aktywacji kinazy tyrozynowej JAK i aktywacji białek STAT [64]. Kompleks receptorów IL-15R β - γ c przekazuje sygnał za pomocą ścieżek sygnałowych, takich jak: JAK1/JAK3 i STAT5/STAT3 [51] (ryc. 2). Przyłączenie IL-15 do receptora IL-2/15R β - γ c indukuje aktywację JAK1, która następnie doprowadza do fosforylacji STAT3 za pośrednictwem łańcucha β oraz aktywację JAK3/STAT5 z udziałem łańcucha γ [37].

IL-15 aktywuje komórki, chroni przed apoptozą oraz wzmacnia proliferację komórek, które wykazują ekspresję receptora IL-15R. IL-15 pełni rolę mediatora w międzyko-

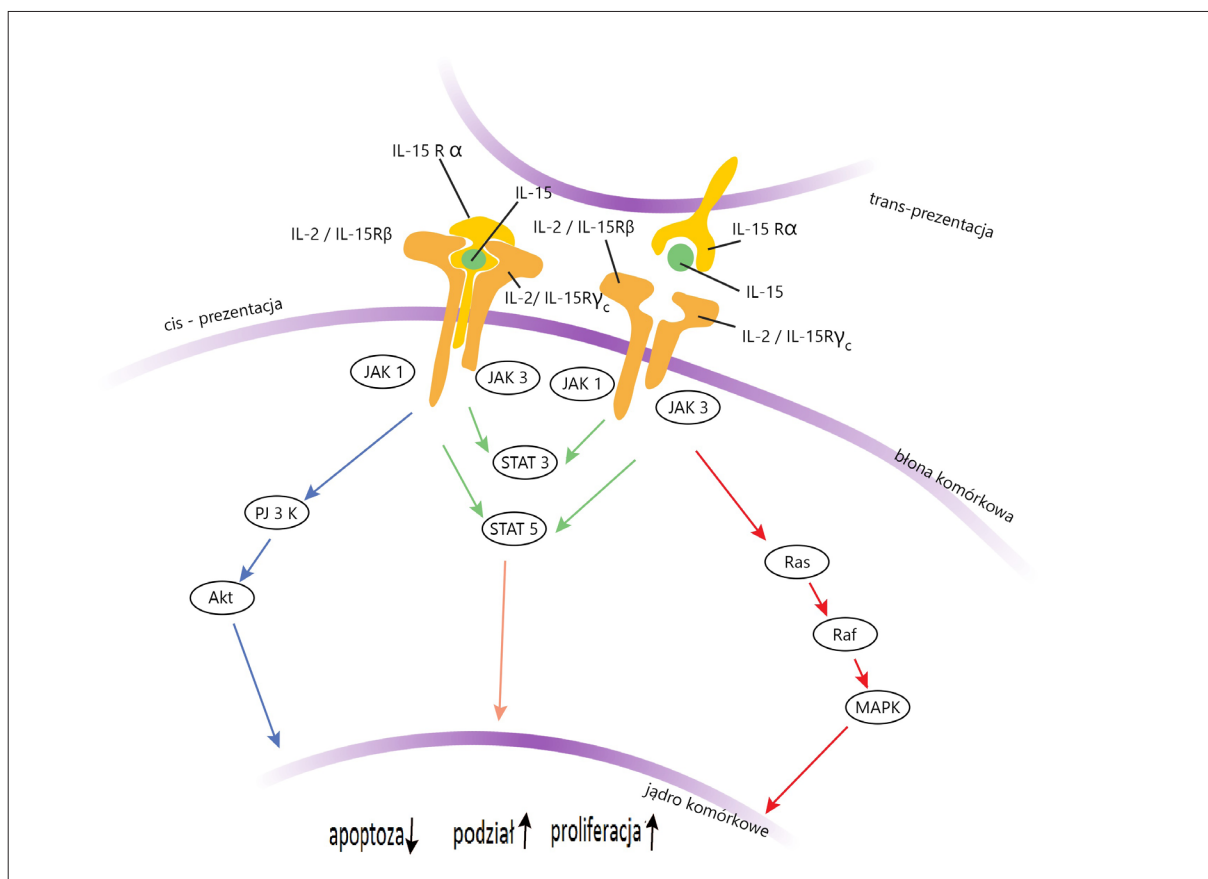
mórkowych ścieżkach sygnałowych – fosforylacja białek STAT3 i STAT5 uaktywnia białka antyapoptyczne BCL-2 i BCL-XL. Ścieżki sygnałowe aktywowane przez kompleks IL-2/15R dotyczą aktywacji kinazy tyrozynowej z rodziny SRC, indukcji szlaków Ras/Raf/MAPK, a także PI3K/AKT prowadząc do aktywacji czynników transkrypcyjnych FAS, JUN, MYC i NF- κ B [29,37,64] (ryc. 2).

Obie cytokiny, zarówno IL-2, jak i IL-15, odgrywają znaczącą rolę w nabytej i wrodzonej odporności. Stymulują proliferację limfocytów T, biorą udział w indukcji proliferacji limfocytów B oraz syntezie immunoglobulin przez te komórki. Stymulują generowanie i proliferację komórek NK [13,14]. Jednak pełnią także różne, często konkurencyjne funkcje.

IL-2 w drugoplanowej roli ma udział w kontrolowaniu aktywności układu odpornościowego przez indukcję apoptozy limfocytów cytotoksycznych za pośrednictwem mechanizmu AICD (activation induced cell death) oraz aktywację i proliferację limfocytów Treg (regulatorowych), dzięki czemu pośrednio uczestniczy w eliminacji autoreaktywnych limfocytów T, ważnych w patogenezie chorób autoimmunologicznych. Rola IL-15 natomiast jest istotna w utrzymaniu długotrwałej odpowiedzi, która jest zachowana przez hamowanie AICD. IL-15 zwiększa aktywność cytolityczną limfocytów T CD8+ i indukuje długotrwałą prezentację antygenów limfocytom T pamięci CD8+, zapewniając limfocytom T ochronę przed działaniem limfocytów Treg [13,29].

ZNACZNIE IL-15 W KARCINOGENEZIE

Rola układu immunologicznego w kontrolowaniu wzrostu nowotworu jest bardzo złożona: odpowiedź immunologiczna może doprowadzić do niszczenia komórek nowotworowych, a także może stwarzać środowisko, które sprzyja wzrostowi nowotworu. W eliminacji guza biorą udział składniki wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej, w tym głównie limfocyty T i komórki NK [45]. Pozytywne wyniki badań dotyczące zastosowania immunoterapii w leczeniu, m.in. takich nowotworów jak czerniak, rak stercza, jelita grubego, czy nowotwory hematologiczne, to przykłady skutecznego wykorzystania układu odpornościowego w terapiach u chorych na nowotwory. Jednak układ odpornościowy może odgrywać także rolę w rozwoju nowotworu i tworzeniu przerzutów. Do komórek układu immunologicznego, które uczestniczą w tym procesie możemy zaliczyć limfocyty T-regulatorowe (Treg), związane z nowotworem makrofagi TAMs (tumor associated macrophages) i pomocnicze limfocyty T CD4+ (Th2). Mogą się gromadzić w obrębie guza tworząc immunosupresyjne środowisko, co negatywnie wpływa na odpowiedź przeciwnowotworową limfocytów T [45,46]. Komórki nowotworowe uruchamiają mechanizmy utrudniające odpowiedź immunologiczną, przez co immunoterapia antynowotworowa nie jest wystarczająco efektywna. Komórki nowotworowe wpływają negatywnie na działanie efektorowych limfocytów T. Zmniejszają ekspresję antygenów na powierzchni,



Ryc. 2. Ścieżki sygnałowe aktywowane przez IL-15 (wg [37,64])

elementów podstawowych w aktywacji limfocytów T, co się wyraża brakiem odpowiedzi limfocytów na antygeny związane z nowotworem TAA (tumor-associated antigens). Prowadzi to do rozwoju tolerancji immunologicznej w stosunku do TAA [59]. Zwiększają natomiast ekspresję czynników, które w negatywny sposób wpływają na aktywację limfocytów T, m.in. takich jak PD-L1 (programmed death-ligand 1). Komórki nowotworowe mogą także hamować funkcjonowanie układu odpornościowego przez wydzielanie czynników, takich jak TGF-β (transforming growth factor-β), IL-10, IL-13, które zmniejszają aktywację, proliferację i różnicowanie komórek odpornościowych. Mechanizmy hamujące odpowiedź immunologiczną dotyczą także indukcji limfocytów T-regulatorowych oraz obecności czynników immunosupresyjnych blokujących odpowiedź immunologiczną przeciwko TAA [9,46].

Jednym z celów terapii przeciwnowotworowych jest zwiększenie aktywności limfocytów T i zmniejszenie immunosupresji. Do tego celu mogą być wykorzystane cytokiny np. IL-2 i IL-15. IL-2 jest jedyną cytokiną zaakceptowaną przez FDA (Food and Drug Administration) do leczenia chorych z nowotworami nerki i czerniaka [46,49]. Początkowy entuzjazm wywołany dopuszczeniem IL-2 do zastosowań klinicznych

opadł, gdy okazało się, że pełną, choć okupioną dużą toksycznością, skutecznością terapeutyczną obserwuje się u pacjentów otrzymujących najwyższe dawki [29,49]. Ponadto wykazano, że IL-2 może wywoływać tolerancję immunologiczną przez indukcję apoptozy limfocytów cytotoksycznych. Mechanizm procesu jest znany jako AICD. Innym niesprzyjającym terapii IL-2 zjawiskiem jest hamowanie wywołanej przez nią odpowiedzi immunologicznej przez aktywację i proliferację zależnych od IL-2 limfocytów Treg [29,44].

W przeciwieństwie do IL-2, IL-15 hamuje AICD, wywołuje w komórkach efektorowych T odporność na immunosupresyjne działanie Treg, przez co może być skuteczniejsza [10,29]. Najważniejszymi komórkami zaangażowanymi w przeciwnowotworową aktywność IL-15 są limfocyty T, a zwłaszcza komórki cytotoksyczne T CD8+ i komórki NK. Oba typy komórek mogą doprowadzić do apoptozy komórek nowotworowych albo wydzielając granzymy i perforyny albo za pośrednictwem ścieżki sygnałowej Fas [8]. W czasie odpowiedzi immunologicznej limfocyty T CD8+ aktywowane przez IL-15 przechodzą przez kilka etapów rozwojowych, począwszy od aktywowania dziewiczych limfocytów, proliferację i różnicowanie w komórki efektorowe bądź komórki pamięci. Aby skutecznie uczestniczyć w odpowiedzi

immunologicznej muszą zabezpieczyć się przed apoptozą. IL-15 indukuje ekspresję antyapoptycznych genów, takich jak Bcl-xL i Bcl-2, które pomagają efektorowym limfocytom w ucieczce przed AICD [29,46]. IL-15 jest także głównym regulatorem rozwoju, aktywacji, proliferacji i przeżycia komórek NK. Może również sprzyjać wytwarzaniu przeciwnowotworowych przeciwciał przez limfocyty B [16,50]. Prezentacja *trans* IL-15 odgrywa główną rolę w regulacji wytwarzania IFN- γ (interferon γ) przez komórki IKDC (IFN-producing killer dendritic cell, określane tak ze względu na cechy komórek NK i dendrytycznych). IL-15 stymulując proliferację komórek IKDC zwiększa ich aktywność cytotoksyczną względem komórek nowotworowych oraz indukuje w stosunku do nich odpowiedź antynowotworową *in vivo*. Na przeciwnowotworowy potencjał IL-15 składa się także jej zdolność do indukowania w komórkach wytwarzania cytokin, np. TNF- α i IL-12 [2,29].

GUZY LITE

IL-15 – działanie przeciwnowotworowe

Rola IL-15 w regulacji procesów dojrzewania, a także funkcji komórek, które mogą uczestniczyć w immunologicznej odpowiedzi przeciwnowotworowej, w tym limfocytów CD8⁺, NK i NK-T oraz różnorodność innych funkcji, jakie pełni IL-15 sprawia, że zastosowanie jej samej, albo w połączeniu z innymi terapiami stwarza wiele możliwości terapeutycznych w nowotworach [29].

W licznych eksperymentach przeprowadzanych na zwierzętach i modelach *ex vivo* dowiedziono skuteczności IL-15 w terapiach przeciwnowotworowych. Jednak z powodu występowania negatywnej regulacji ścieżek sygnałowych, które osłabiają odpowiedź immunologiczną (o czym wspomniano wcześniej), efektywność IL-15 może być ograniczona. Jednym z doświadczalnych sposobów ograniczenia tego negatywnego zjawiska było zastosowanie IL-15 w połączeniu z przeciwciałem monoklonalnym rozpoznającym PD-L1 (programmed death-1 ligand) i CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4). Na mysim modelu nowotworu jelita CT26 wykazano, że u zwierząt, którym podawano IL-15 dochodziło do wzrostu ekspresji PD-1 na limfocytach T CD8⁺ oraz do zwiększonego wytwarzania IL-10. Natomiast jednocześnie zastosowanie IL-15 oraz przeciwciał skierowanych przeciwko PD-L1 i CTLA-4 obniżało ekspresję PD-1 na powierzchni limfocytów T CD8⁺, zmniejszało wydzielanie IL-10 i zwiększało sekrecję IFN- γ . Zastosowanie takiej strategii terapeutycznej znacząco wydłużyło czas przeżycia myszy. Myszy kontrolne, którym podawano placebo (zbuforowany roztwór soli fizjologicznej) miały średni czas przeżycia 21 dni, mediana przeżycia u myszy leczonych samą IL-15 wynosiła 45 dni, natomiast myszy, którym podawano IL-15 oraz przeciwciała skierowane przeciwko PD-L1 i CTLA-4 przeżywały średnio 74 dni [46,62]. Połączenie zdolności IL-15 do stymulowania układu odpornościowego z jednoczesnym zablokowaniem krytycznych punktów kontrolnych hamujących

układ odpornościowy doprowadziło do wzmocnienia przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej [62].

Inną metodą zwiększenia przeciwnowotworowej aktywności IL-15 było wywołanie nasilonej ekspresji IL-15 α , co osiągnięto dzięki zastosowaniu przeciwciała rozpoznającego CD40 [50,66]. Ograniczenie skuteczności terapii opierającej się jedynie na IL-15 może wynikać z ograniczonej ekspresji receptora IL-15 α , głównie na komórkach dendrytycznych. Wyniki badań przeprowadzonych na zwierzęcym modelu nowotworu prostaty TRAMP-C2 potwierdziły, że przeciwciała skierowane przeciwko CD40 zwiększa ekspresję receptora IL-15 α na komórkach dendrytycznych, za pomocą którego IL-15 jest *trans*-prezentowana komórkom CD8⁺ i NK doprowadzając w ten sposób do ich aktywacji. Zastosowanie takiego schematu postępowania prowadziło do remisji guza TRAMP-C2 u myszy [65]. Pozytywne skutki działania IL-15 zaobserwowano także po zastosowaniu jej razem z chemioterapią. U szczurów z nowotworem jelita wrażliwym na terapię fluorouracylem i folinianem wapnia dodatkowo zastosowano IL-15. Taki sposób działania w znacznym stopniu zmniejszył toksyczność chemioterapii, która objawiała się dolegliwościami ze strony układu pokarmowego, głównie biegunkę, zwiększając natomiast jej skuteczność przeciwnowotworową. Należy nadmienić, że mechanizm zmniejszenia toksyczności chemioterapii przez działanie IL-15 nie jest obecnie znany [15].

Interleukinę 15 w połączeniu z IL-2 wykorzystano także do zwiększenia cytotoksyczności komórek CIK (cytokine-induced killer cells). Jest to podtyp limfocytów T skuteczny w eliminacji różnych typów nowotworów. W testach *in vitro* wykazano jednak, że w nowotworze płuca skuteczność komórek CIK w zabijaniu komórek nowotworowych jest mniejsza niż w innych typach nowotworów. W celu poprawy ich skuteczności w stosunku do komórek nowotworowych płuca stymulowano je odpowiednio IL-2 albo IL-2 wraz z IL-15, a następnie hodowano z komórkami nowotworowymi linii SPC-A-1 (lung adenocarcinoma cell line). Większe zdolności cytotoksyczne w warunkach *in vitro* wykazywały komórki CIK stymulowane IL-2 i IL15 jednocześnie. Cytotoksyczność komórek CIK sprawdzano także w warunkach *in vivo*. Komórki CIK wstrzyknięto dootrzewnowo myszom z nowotworem płuca. Sprawdzano wielkość, masę guza, stężenie cytokiny D1, a także TNF- α i IFN- γ w surowicy. Komórki CIK stymulowane zarówno IL-2, jak i IL-15 proliferowały lepiej niż komórki stymulowane wyłącznie IL-2. IL-15 wywoływała ekspansję komórek CD3⁺, CD56⁺ (CIK) i znacznie zwiększała ich cytotoksyczność w stosunku do komórek nowotworowych. Po podaniu CIK stymulowanych IL-2 i IL-15 u myszy stwierdzano regresję nowotworu i zmniejszenie ekspresji cytokiny D1 w komórkach nowotworowych, natomiast stężenie TNF- α i IFN- γ w surowicy było większe w porównaniu do myszy, którym podano komórki CIK stymulowane wyłącznie IL-2 [56].

Korzystne działanie terapeutyczne po zastosowaniu ludzkiej IL-15 uzyskano także w mysim modelu nowotworu piersi [63]. Syntezę ludzkiej IL-15 u zwierząt wywołano po domięśniowym wprowadzeniu wektora adenowirusowego rAAV2 (adenowirus-associated vector serotype 2) z genem kodującym IL-15 (rAAV2-hIL-15). Po wszczepieniu myszom komórek nowotworowych wykazano, że wzrost nowotworu był opóźniony, wielkość guza zmniejszona, a czas przeżycia myszy był wydłużony. W badaniach potwierdzono, że po zastosowaniu rAAV2-hIL-15 u zwierząt wzrastało stężenie białka IL-15, które aktywowało cytotoksyczność komórek LAK (lymphokine-activated killer cells) oraz indukowało apoptozę w komórkach nowotworowych i hamowało wzrost guza [63].

Ze względu na rolę IL-15 w utrzymaniu prawidłowego funkcjonowania nerek przez blokowanie apoptozy oraz indukcję ekspresji E kadheryny badano, czy IL-15 indukuje różnicowanie CSCs (cancer stem cells) CD105+ (marker komórek macierzystych nowotworu nerki) z nowotworu nerek u ludzi. Problemem w leczeniu chorych z nowotworem nerki są nawroty choroby, ze względu na utrzymywanie się komórek macierzystych CSCs. Celowym jest więc opracowanie skutecznego sposobu eliminowania CSCs. W jednym z badań eksperymentalnych komórki CSCs CD105+ hodowano w obecności rhIL-15 (recombinant human IL-15). Następnie sprawdzano ich zdolność do różnicowania, wrażliwości na chemioterapię oraz do transformacji nowotworowej w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Wyniki badań wykazały, że komórki CSCs w obecności rhIL-15 różnicowały w komórki wykazujące ekspresję markerów nablónkowych generując zróżnicowaną, nienowotworową populację komórek, która jest bardziej wrażliwa na leki cytotoksyczne w porównaniu z niezróżnicowanymi CSCs. Blokowane było odnawianie się komórek CSCs (zdolności do formowania sferoidu) i ich potencjału do transformacji nowotworowej u myszy z niedoborem odporności w warunkach *in vivo*. Ujawniono także, że w komórkach CSCs CD105+ stymulowanych IL-15 cytostatyki, winblastyna i paklitaksel, nasilały apoptozę znacznie bardziej niż w komórkach, które nie były hodowane w obecności IL-15. Większa wrażliwość na chemioterapeutyki była związana z utratą mechanizmów detoksyfikacyjnych działających z udziałem ALDH (aldehyde dehydrogenases) i transporterów ABC (ATP-Binding Cassette Transporters) [4].

Agoniści IL-15 – zastosowanie przeciwnowotworowe

IL-15 to jedna z najbardziej obiecujących cytokin stosowanych w próbach terapii antynowotworowej. Obecnie trwają badania kliniczne z zastosowaniem samej IL-15 do leczenia lub jako adiuwantowej terapii. Tworzenie agonistów IL-15 składających się z IL-15 i z części albo z całości sIL-15R α ma na celu zwiększenie aktywności IL-15 *in vivo*. Rekombinowana ludzka IL-15 (rhIL-15) jest na etapie I/II prób klinicznych w leczeniu czerniaka i nowotworu nerek (NCT01021059, NCT01369888) [46,50].

Podawanie białka IL-15 miejscowo bądź ogólnoustrojowo wykazuje obiecujące działanie przeciwnowotworowe. Jednak w uzyskaniu pełnej skuteczności terapeutycznej występują pewne ograniczenia. Jednym z nich jest krótki czas półtrwania IL-15 w surowicy. Z tego względu konieczne są wysokie dawki i powtarzanie iniekcji, co może prowadzić do działań niepożądanych. W celu zmniejszenia tych ograniczeń wprowadzono kilka modyfikacji, m.in. w sposobie dostarczania (IL-15 dostarczana jest w postaci różnych kompleksów, a nie jako monomer), mające na celu wydłużenie okresu półtrwania, lepszą *trans*-prezentację, a przez to zmniejszenie toksyczności [31,50].

W jednej z prób wykorzystano ludzkie komórki macierzyste MSCs (mesenchymal stem cells) z krwi pępowinowej. Komórki te transdukowano z użyciem wektora lentiwirusowego, który zawierał gen mysiej IL-15 (MSC-IL-15). U izogenicznych myszy z nowotworem trzustki, którym podawano ogólnoustrojowo MSC-IL-15 obserwowano znaczne zmniejszenie wielkości guza i przedłużenie przeżycia. Procesowi temu towarzyszyła apoptoza komórek nowotworowych i gromadzenie się wewnątrz guza komórek NK oraz limfocytów T. Komórki MCS-IL-15 mogły docierać do tkanki nowotworowej i efektywnie wytwarzać wewnątrz guza IL-15. W badaniach potwierdzono pozytywną zależność między komórkami NK i limfocytami T a MSC-IL-15 i wpływem na komórki nowotworowe oraz uzyskanym wynikiem. Myszy leczone MSC-IL-15 były odporne na powtórna inokulację komórkami nowotworu trzustki, co wskazuje, że MSC-IL-15 indukuje powstanie komórek pamięci immunologicznej [31].

Inną modyfikacją jest połączenie IL-15 z białkiem, które składa się z zewnątrzkomórkowej domeny mysiego receptora IL-15R α i białka Fc ludzkiej IgG1 w celu utworzenia kompleksu IL15:IL15R α -IgG1-Fc. W testach *in vitro* taki kompleks znacznie nasilał proliferację mysich komórek NK i T CD8⁺/CD44^{high}. Również po podaniu IL15:IL15R α -IgG1-Fc myszom liczba komórek NK i T CD8⁺/CD44^{high} rosła. Taka postać agonisty IL-15 znacząco zwiększa aktywność antynowotworową IL-15 u myszy z czerniakiem zwiększając proliferację i aktywność komórek NK i komórek pamięci T CD8⁺. Zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* związanie IL-15 z kompleksem IL-15R α -IgG1-Fc zwiększa jej aktywność, co może poprawić skuteczność w leczeniu chorych na nowotwory [20]. Przykładem modyfikacji jest też białko fuzyjne IL-15-sIL-15R α -sushi, składające się z IL-15 i rekombinowanej rozpuszczalnej domeny sushi IL-15R α (opisana wyżej). Białko IL-15-sIL-15R α -sushi charakteryzuje się lepszą skutecznością niż sama IL-15. W testach *in vivo* na dwóch modelach mysich: czerniaka oraz nowotworu jelita grubego, taki kompleks wykazuje silniejsze działanie przeciwnowotworowe, co wiązało się m.in. ze zwiększeniem przeżywalności myszy oraz zmniejszeniem częstości przerzutów czerniaka. Natomiast w przypadku nowotworu jelita fuzyjne białko (IL-15-sIL-15R α -sushi) powodowało spowolnienie wzrostu guza oraz progresji

przerzutów [12]. Następnym przykładem modyfikacji jest stworzenie cząsteczki składającej się ze zmutowanej ludzkiej IL-15 (IL-15N72D) i IL-15R α sushi-Fc. Ekspresję takiego kompleksu uzyskano w komórkach linii CHO (chinese hamster ovary), które poddano transfekcji wektorami wirusowymi pMSGV-1 niosącymi odpowiednio geny kodujące IL-15N72D i IL-15R α sushi-Fc [28]. Taki kompleks *in vivo* zwiększa aktywność biologiczną komórek NK i T, a także zdolność wiązania IL-15/IL-15R α do IL-15R β y. Wiadomo, że do zwiększenia aktywności biologicznej IL-15 przyczyniają się także inne mutacje w genie kodującym tę cytokinę: IL-15 (p.L45D, p.L45E, p.S51D p.I52D) [11]. W badaniach na myszach wykazano, że już pojedyncze podanie kompleksu zawierającego zmutowaną cząsteczkę IL-15 i IL-15R α sushi-Fc znacznie zmniejsza liczbę komórek nowotworowych w szpiku u myszy. Obecnie trwają próby kliniczne I/II fazy, których celem jest ocena skuteczności tego kompleksu białkowego w leczeniu zaawansowanego czerniaka (NCT01946789) [61]. Terapeutyczną skuteczność agonistów IL-15 sprawdzano również u szczurów z nowotworem pęcherza moczowego. W tego typu nowotworze najczęściej stosowanym lekiem jest podawana dopęcherzowo szczepionka zawierająca atenuowane prątki gruźlicy BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*). Dochodzi do indukcji odpowiedzi immunologicznej, aktywacji różnego rodzaju komórek układu immunologicznego i wytwarzania prozapalnych cytokin. W celu poprawienia skutków terapii, w badaniach dodatkowo zastosowano zmutowaną postać IL-15N72D połączoną z IL-15R α -Fc. Kompleks IL-15N72D/IL-15R α -Fc (ALT-803) wykazuje zwiększoną aktywność wynikającą z lepszego powinowactwa wiązania postaci zmutowanej IL-15N72D do receptora IL-15R β y oraz skuteczniejszej *trans*-prezentacji dzięki połączeniu z IL-15R α , a także wydłużenie czasu półtrwania w warunkach *in vivo*. W eksperymencie potwierdzono, że ALT-803 stymuluje proliferację limfocytów T CD8+, a także aktywację i proliferację komórek NK. Wykorzystując szczury z rakiem nienaciekającym błony mięśniowej pęcherza NMIBC (non-muscle invasive bladder cancer) podano im dopęcherzowo ALT-803 i BCG, razem lub osobno. Zastosowanie ALT-803 i BCG wywoływało odpowiedź immunologiczną, która zmniejszała guz. Taka kombinacja leczenia była związana ze znaczącą, prawie 80% redukcją angiogenezy. Prolifercja komórek nowotworowych była mniejsza i częściej ulegały apoptozie. W monoterapii z zastosowaniem wyłącznie ALT-803 albo BCG uzyskany wynik był słabszy [26].

IL-15 – działanie pronowotworowe

Uzyskanie działania przeciwnowotworowego po zastosowaniu IL-15 wynika z jej zdolności do indukowania nadzoru immunologicznego nad nowotworem. Jednak działając jako czynnik wzrostu nie tylko na komórki układu immunologicznego, ale także na komórki nowotworowe, może wykazywać właściwości pronowotworowe [5]. Wskazuje to na niejednoznaczną rolę IL-15 względem komórek nowotworowych i wymaga dalszych

prac badawczych przed wprowadzeniem IL-15 do klinicznych zastosowań przeciwnowotworowych.

Sposób w jaki IL-15 i IL-15R prowadzą do przeżycia nowotworu, czy też ucieczki przed odpowiedzią immunologiczną gospodarza (organizmu) zależy od typu nowotworu i środowiska komórkowego, w którym nowotwór się rozwija [35]. W komórkach nowotworowych jelita wykazano, że wytwarzana przez nie IL-15 może indukować rozrost błony śluzowej wokół nowotworu oraz zwiększać wytwarzanie czynników proangiogennych, co przyczynia się do angiogenezy i progresji choroby [35]. IL-15 pobudza proliferację, ruchliwość i inwazyjność komórek nowotworowych jelita oraz zwiększa ich odporność na apoptozę. W rezultacie prowadzi to do progresji i tworzenia przerzutów nowotworowych [35]. W eksperymencie, w którym komórki ludzkiego raka jelita grubego o niskim i wysokim potencjale przerzutowym wszczepiono myszom, wykazano, że hiperplazja błony śluzowej i zdolność do przerzutów korelowały z ekspresją IL-15 oraz - w mniejszym stopniu - z TGF- α (transforming growth factor- α). Komórki o niskim (KM12C) oraz o wysokim (KM12SM) stopniu przerzutowania wykazywały taki sam poziom ekspresji TGF- α , natomiast ekspresja mRNA IL-15 i samego białka IL-15 była wykrywana tylko w komórkach KM12SM. Wiadomo, że IL-15 aktywuje komórki NK, które przeciwdziałają progresji nowotworowej. W tym eksperymencie liczba komórek NK wewnątrz guza nie była związana z wytwarzaniem IL-15. Nie zaobserwowano znaczących różnic w liczbie komórek NK naciekających nowotwór między komórkami nowotworowymi wytwarzającymi IL-15 bądź nie. IL-15 wpływała natomiast na stymulowanie komórek nabłonka jelitowego do proliferacji i wytwarzania czynników proangiogennych. Angiogeneza natomiast wspiera indukcję i podtrzymywanie hiperplazji, co przyczynia się do wzrostu i progresji nowotworu [35].

W innym modelu doświadczalnym stwierdzono również korelację między obecnością IL-15 i TGF- α , wzrostem sekrecji amfoteryny HMBG1 (high mobility group box protein 1), a zmniejszeniem nacieku makrofagów związanych z nowotworami (TAMs) w ludzkim nowotworze jelita grubego [48]. W tym przypadku IL-15 i TGF- α wpływały na układ immunologiczny przez zwiększenie wydzielania amfoteryny, co powodowało progresję nowotworu [48].

Negatywny wynik działania IL-15 zaobserwowano u pacjentów z nowotworami głowy i szyi, gdzie niewielka odpowiedź na leczenie korelowała z dużym stężeniem tej cytokiny wewnątrz nowotworu [5]. Wzrost ekspresji sIL-15R α , który *in vitro* nie zachowywał się jak antagonist IL-15, ale raczej wzmacniał jej działanie w indukowaniu prozapalnych cytokin oraz pobudzał rozwój nowotworu [5].

W celu identyfikacji roli, jaką IL-15 odgrywa w progresji nowotworu nerki u człowieka, zbadano ekspre-

sję i funkcje IL-15/IL-15R α w komórkach RCC (renal cancer cells). Ujawniono, że w komórkach RCC ekspresji ulega mb-IL-15 (membrane bound), która jest wrażliwa na trawienie przez metaloproteazy. To właśnie mb-IL-15 uczestniczy w przekazywaniu sygnałów indukujących właściwości pronowotworowe. W odpowiedzi na sIL-15R α , IL-15 aktywuje w komórkach nowotworowych sygnał zwrotny (reverse signal), który indukuje przejście nabłonkowo-mezenchymalne (EMT, epithelial-mesenchymal transition). EMT nadaje komórkom właściwości, które sprzyjają inwazyjności nowotworu [33].

Znane są już pewne dane dotyczące roli IL-15 w prawidłowych i nowotworowych komórkach nabłonkowych nerek u człowieka. W przeprowadzonych badaniach wykryto, że prawidłowe komórki wykazują ekspresję kompleksu IL-15R $\alpha\beta\gamma$, który w wyniku stymulacji rhIL-15 utrzymywał ekspresję genu kodującego E-kadherinę, hamując EMT. IL-15 i IL-15R α odgrywają ważną rolę w zachowaniu homeostazy w komórkach nerek. IL-15 funkcjonuje jako autokryny antyapoptotyczny czynnik komórek nabłonkowych kanalików nerkowych. Rola pozostałych podjednostek receptora jest nie mniej ważna; w prawidłowych komórkach epitelialnych IL-15R γ c indukuje ścieżki sygnałowe warunkujące zachowanie ekspresji genu supresorowego E-kadheryny, który hamuje EMT. Natomiast w komórkach nowotworowych, zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* badania wykazały zaburzenie ekspresji receptora γ c i ścieżki sygnałowej JAK3. Co wpływa na zaburzenie homeostazy w nerkach [25].

NOWOTWORY HEMATOLOGICZNE

IL-15 – działanie przeciwnowotworowe

Pełne zrozumienie roli, jaką IL-15 pełni w etiopatogenezie chorób nowotworowych i ocena jej przydatności w terapii przeciwnowotworowej nadal wymagają bardzo szczegółowych badań. Nie ulega jednak wątpliwości, że podobnie jak w nowotworach litych, tak i w nowotworach hematologicznych IL-15 może działać przeciwnowotworowo. Taki rezultat obserwowano w komórkach białaczki B limfocytowej CLL (chronic lymphocytic leukemia) pobranych od pacjentów wykorzystując w warunkach *in vitro* rytuksymab (przeciwciało monoklonalne rozpoznające antygen CD20 obecny na limfocytach B) oraz IL-15 zaobserwowano wzmocnienie cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC, antibody-dependent cell cytotoxicity) przeciwko komórkom B. Należy nadmienić, że zwiększenie efektywności rytuksymabu za pośrednictwem IL-15 było także obserwowane w obecności TGF- β , który może hamować aktywność komórek NK. Badanie przeprowadzono pobierając od zdrowych dawców komórki NK i PBMC (peripheral blood mononuclear cell), które następnie aktywowano wykorzystując IL-15 i hodowano z komórkami CLL w obecności rytuksymabu. Później oceniano ADCC komórek CLL w warunkach *in vitro*, która była zna-

cząco większa po zastosowaniu takiego schematu stymulacji. Uzyskano to głównie za pośrednictwem aktywacji komórek NK [39].

ADCC w przypadku CLL jest ograniczony ze względu na niski stosunek komórek NK do limfocytów B. Analizowano udział monocytów i komórek dendrytycznych w procesie *trans*-prezentacji IL-15 w przypadku CLL i wykazano, że ich brak nie wpływał na aktywowanie komórek NK do proliferacji zależnej od IL-15. Sugeruje to interakcję między komórkami B i NK w procesie *trans*-prezentacji. Zablockowanie wiązania IL-15 do białaczkowych limfocytów B całkowicie blokowało proliferację komórek NK indukowaną rhIL-15 [36]. Natomiast w obecności przeciwciał monoklonalnych, a zwłaszcza obinutuzumabu (GA101) (wiążącego się z antygenem CD20 na limfocytach B) proces eliminacji komórek nowotworowych jest znacznie wzmacniany i skutecznie niszczy białaczkowe limfocyty B [36].

W nowotworach hematologicznych korzystne działanie wykazał wspomniany wyżej kompleks IL-15N72D/IL-15R α -Fc, który jest na etapie I/II prób klinicznych w leczeniu nawrotu hematologicznych nowotworów po allogenicznym przeszczepie komórek (NCT01885897) [11].

Antagoniści IL-15 – zastosowanie przeciwnowotworowe

Obecnie w modelach doświadczalnych stosowanych jest kilka strategii mających na celu blokowanie IL-15. Po udanych próbach *in vitro* z użyciem zarówno mysiego, jak i ludzkiego przeciwciała MiK-(β)1 przeprowadzono I fazę prób klinicznych u pacjentów z białaczką limfocytową z dużych ziarnistych limfocytów LGL (large granular lymphocytes leukemia) wywodzącą się z komórek T. Zastosowane w badaniu ludzkie przeciwciało monoklonalne Hu-MiK-(β)1 hamuje aktywność IL-15 przez blokowanie jednej z podjednostek receptora IL-15, IL-2/15R β (CD122). Przeciwciało to blokuje *trans*-prezentację IL-15 zarówno w stosunku do komórek NK, jak i limfocytów T, ale nie blokuje *cis*-prezentacji w przypadku heterotrimerycznego receptora. U żadnego z pacjentów z białaczką T-LGL nie zaobserwowano znaczącej poprawy klinicznej [40,55], co może świadczyć, że IL-15 nie jest niezbędna monoklonalnym komórkom T-LGL do przeżycia. Za brak skuteczności Hu-MiK-(β)1 może odpowiadać kilka czynników. Jednym z nich może być zbyt mała dawka przeciwciała, niewystarczająca do efektywnego zablockowania receptorów. U około 40% pacjentów z białaczką T-LGL stwierdzono mutację w genie STAT3, przez co nie podlega on regulacji przez IL-15R. Takie zjawisko może się przyczyniać do patogenezы T-LGL i tłumaczyć brak aktywności przeciwciał monoklonalnych Hu-MiK-(β)1 u niektórych pacjentów [34,55]. Wszystkie dotychczas wykryte mutacje genu kodującego STAT3 są umiejscowione w domenie SH2 pośredniczącej w aktywacji białka STAT3. Zwiększają odporność komórek na apoptozę oraz wzrost ekspresji genów aktywowanych

przez STAT3. W tym przypadku korzystną rolę w hamowaniu przekazywania sygnałów odgrywają inhibitory STAT3 [30,34].

Potencjalnie lepszym zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych Hu-MiK-(β)1 może być wykorzystanie ich w leczeniu chorób autoimmunologicznych, które wynikają z zaburzenia ekspresji IL-15. Na przykład w patologii reumatoidalnego zapalenia stawów, chorobie zapalnej jelit, łuszczycy, stwardnieniu rozsianym, chorobach związanych z zakażeniem wirusem HTLV-1, które wykazują nasiloną syntezę IL-15 i IL-15R [55].

W nowotworach hematologicznych celowym wydaje się zastosowanie inhibitorów IL-15. Związki hamujące aktywność IL-15 to nie tylko przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko IL-15R, takie jak wymienione wyżej Hu-MiK-(β)1. To także niektóre zmutowane postaci IL-15, np. p.E64K, p.N65K, p.I68D, które z wysokim powinowactwem wiążą się z IL-15R α , ale nie indukują przekazania sygnału. Do inhibicji skutku IL-15 wykorzystuje się również białka fuzyjne, które powstają z połączenia zmodyfikowanej IL-15 z łańcuchem ciężkim przeciwciała IgG. Takie połączenie wydłuża okres półtrwania IL-15, hamuje aktywność IL-15R α , a także zmniejsza ekspresję cytokin prozapalnych [11,22]. W celu hamowania aktywności IL-15 mogą być zastosowane także przeciwciała monoklonalne oddziałujące bezpośrednio z tą cytokiną, które w zależności od miejsca przyłączenia albo blokują wiązanie IL-15 z IL-15R α albo hamują przekazywanie sygnału [11]. Większość z wymienionych sposobów hamowania aktywności IL-15 jest w trakcie badań, ale głównie dotyczą one chorób zapalnych i autoimmunologicznych, natomiast niewiele dotyczy ich zastosowania w przypadku chorób nowotworowych [67].

IL-15 – działanie pronowotworowe

Ze względu na udział IL-15 w proliferacji i różnicowaniu komórek NK, limfocytów T i B oraz w stymulacji rozwoju oligo- i monoklonalnej populacji limfocytów T, może ona odgrywać rolę w patogenezie niektórych nowotworów hematologicznych [50]. Znane są wyniki badań, które sugerują pronowotworowe właściwości IL-15 u pacjentów z ostrą białaczką limfatyczną ALL (acute lymphoblastic leukemia), osób zakażonych wirusem HTLV-1 (human T-cell lymphotropic virus type 1 receptor), który jest związany z występowaniem białaczki (z komórek T), w przypadku której wirusowe białko Tax indukuje za pośrednictwem czynnika transkrypcyjnego NF- κ B nadekspresję IL-15 i IL-15R α . Właściwości pronowotworowe IL-15 wykryto również u pacjentów z zespołem Sezary'ego, ziarniniakiem grzybiastym, a także szpiczakiem mnogim w przypadku którego nadekspresja IL-15 zapobiega apoptozie [50,54].

W doświadczeniu, w którym analizie poddano sześć linii komórkowych oraz komórki nowotworowe od pacjentów ze szpiczakiem mnogim, wykazano ekspresję wszystkich trzech podjednostek receptora IL-15. W sze-

ściu nowotworowych liniach komórkowych zaobserwowano stałą ekspresję mRNA IL-15, a obecność białka IL-15 w czterech z sześciu badanych linii. Brak białka w niektórych liniach komórkowych, w których stwierdzano mRNA IL-15 może wynikać z małej efektywności translacji oraz ścisłej kontroli tego procesu. Wytwarzanie wykrywalnych ilości białka może też być uzależnione od etapu choroby. mRNA i białko IL-15 wykryto także w różnych typach komórek w mikrośrodku komórek plazmatycznych, zrębu szpiku kostnego, śródbłonka i fibroblastach. Wyniki badań potwierdzają autokrynną regulację ekspresji IL-15 i trzech podjednostek receptora w nowotworowych liniach komórkowych oraz parakrynną stymulację komórek nowotworowych przez IL-15 pochodzącą z mikrośrodków. W badaniach *in vitro* w wyniku stymulacji komórek nowotworowych IL-15 zaobserwowano zmniejszenie liczby komórek ulegających spontanicznej apoptozie, jak również śmierci indukowanej z udziałem białka Fas. IL-15 zmniejszała także odpowiedź komórek na cytotoksyczne działanie winkrystyny i dokсорubicyny, ale nie w przypadku stosowania deksametazonu [54].

W białaczkę ATL (adult T-cell leukemia) indukowanej wirusem HTLV-1 we wczesnej fazie choroby proliferacja złośliwych komórek jest związana z ekspresją IL-2 i jej receptora. W późniejszej fazie choroby, jak wykazano na linii komórkowej ATL (HuT-102), komórki HuT-102 wydzielają IL-15 (początkowo opisaną jako IL-T), która stymulowała komórki T do proliferacji i indukowała aktywację dużych ziarnistych limfocytów. Limfocyty T w postaci spoczynkowej i aktywnej nie wykazują ekspresji mRNA IL-15. Natomiast komórki linii komórkowej HuT-102 efektywnie wydzielają IL-15. Wykazano, że synteza IL-15 przez ten typ komórek jest związana z obecnością wirusa HTLV-1, który zmienia liczbę ograniczających translację powtórzeń AUG w sekwencji IL-15. W wyniku fuzji sekwencji wirusa i 5' UTR IL-15 usunięte zostają powtórzenia AUG, co zwiększa ekspresję IL-15 [6].

W celu dokładnego sprawdzenia zależności między IL-15 a ALL od pacjentów przed chemioterapią pobrano krew i szpik i w komórkach białaczkowych oceniano ekspresję IL-15. Ujawnione różnice korelowały z immunofenotypem, stopniem nacieku organów i różnicami w cytogenetyce. W przypadku białaczki ALL z limfocytów T ekspresja mRNA IL-15 była wyższa niż w białaczkę z limfocytów prekursorowych B (pre-B ALL). Natomiast ci pacjenci pre-B ALL, u których stwierdzono obecność genu fuzyjnego BCR-ABL wykazywali niższą ekspresję IL-15 niż ci, u których nie obserwowano obecności tego genu fuzyjnego. Na tej podstawie wysunięto wniosek, że ekspresja IL-15 może być hamowana przez onkoproteinę Bcr-Abl. Wyższa ekspresja IL-15 była także związana z naciekiem do węzłów chłonnych, ale nie z powiększeniem wątroby, czy śledziony. Różnice w ekspresji IL-15 u osób dorosłych chorych na ALL były związane również z czasem przeżycia bez nawrotów, który wynosił do pięciu lat. Wzrost ekspresji IL-15 u pacjentów z ALL

wskazuje na pełnienie przez nią funkcji ochronnych w stosunku do komórek białaczkowych [60].

IL-15 zwiększa migrację leukocytów i promuje proliferację komórek białaczkowych pre-B ALL. Komórki te poddane bezpośredniemu działaniu IL-15 wykazywały nasiloną proliferację. Wszystkie komórki pre-B ALL linii komórkowych i próbek diagnostycznych pobranych od pacjentów wykazywały ekspresję izoformy sekrecyjnej LSP-IL-15. Ekspresję izoformy cytoplazmatycznej SSP-IL-15 wykryto prawie w połowie badanych próbek, a wszystkie wykazywały ekspresję IL-15R α i IL-15R γ . Natomiast receptor IL-15R β był wykrywany w około 80% badanych próbek. Wskazuje to na zdolność do wydzielania i odpowiedzi na działanie IL-15 większości komórek ALL autokrynnie albo parakrynnie. Oceniono także zależność między poziomem ekspresji IL-15 a zdolnością komórek ALL do naciekania ośrodkowego układu nerwowego - OUN. Wykazano, że większa ekspresja była związana z krótszym czasem do wystąpienia nacieku [58].

W celu identyfikacji mechanizmu powodującego zależną od IL-15 transformację nowotworową, prawidłowe komórki LGL (WT LGL wild type large granular lymphocytes – prawidłowe duże ziarniste limfocyty) myszy i człowieka poddano długotrwałemu działaniu IL-15. Okazało się, że *in vitro* IL-15 znacząco nasila proliferację prawidłowych komórek LGL myszy. Natomiast wszczepienie komórek WT LGL wcześniej traktowanych IL-15 myszom z SCID (severe combined immunodeficiency - ciężki złożony niedobór odporności) powodowało znaczący wzrost liczby białych krwinek, powiększenie śledziony i śmierć. Badając splenocyty tych myszy zaobserwowano dużą liczbę kopii chromosomu 15, co odnotowano także w hodowlach *in vitro*. Dowiedziono, że to ekspozycja komórek WT LGL na IL-15 prowadziła do nadmiernego wzrostu i niestabilności chromosomowej CIN (chromosomal instability) oraz indukowała aberracje centrosomów w komórkach LGL. Ponadto wykazano, że w komórkach WT LGL hodowanych w obecności IL-15 ekspresja kinazy aurora A i B była podwyższona w stosunku do WT LGL niepoddanych działaniu IL-15. Świadczy to o potencjale IL-15 do zmian regulacji replikacji centrosomu. Nasilonej ekspresji obu kinaz towarzyszyła także podwyższona ekspresja regulującego je czynnika transkrypcyjnego Myc. Uzyskane wyniki sugerują, że IL-15 może prowadzić do hipermetylacji DNA w LGL przynajmniej częściowo przez indukcję DNMT3B (DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 3 beta). Wyka-

zano, że nieprawidłowo wysoka ekspresja DNMT3B nie inicjuje białaczki, ale przyczynia się do jej rozwoju po przewlekłej ekspozycji na IL-15. DNMT3B jest negatywnie regulowana przez miR-29b, a IL-15 hamuje ekspresję miR-29b przez czynniki transkrypcyjne Myc, Hdac-1 i NF- κ B p65 [38]. Zainicjowanie złośliwej transformacji komórek LGL zachodzi z udziałem dwóch mechanizmów. W pierwszym przypadku IL-15 wpływa na białko Myc, które indukuje ekspresję kinazy aurora A i B. Kinaza reguluje amplifikację centrosomu i może doprowadzić do zaburzenia stabilności chromosomów. W drugim mechanizmie Myc indukuje zmniejszenie ekspresji miR29b, zwiększając ekspresję metylotransferaz, co prowadzi do metylacji DNA oraz zwiększenia niestabilności chromosomowej i wyciszania ekspresji genów supresorowych [38].

Uwzględniając znaczenie IL-15R α w szlakach przekazywania sygnału zależnych od IL-15, sprawdzono różnice w stężeniach sIL-15R α w warunkach fizjologicznych i patologicznych. Wykazano, że stężenie sIL-15R α było znacząco wyższe u pacjentów z T-LGL w porównaniu do zdrowych dawców. W PBMC pobranych od pacjentów z białaczką T-LGL wyższa była ekspresja mRNA IL-15R α i IFN- γ , który indukuje ekspresję IL-15R α , nie wykryto natomiast mRNA IL-15. Warto zwrócić uwagę, że wraz ze wzrostem ekspresji IL-15R α na limfocytach T CD8+ i monocytach u pacjentów z białaczką T-LGL, komórki te mogą reagować na niskie stężenia IL-15 [17].

PODSUMOWANIE

Ze względu na liczne funkcje, jakie IL-15 pełni w organizmie, a zwłaszcza jej udział w regulacji funkcji komórek NK oraz limfocytów B i T, uzasadnione są próby wykorzystania jej w immunoterapii chorób autoimmunologicznych i nowotworowych. Nie udało się jednak jednoznacznie określić, kiedy korzystne byłoby zastosowanie IL-15, a kiedy jej inhibitorów. Wynika to nie tylko z szerokiego zakresu funkcji jakie pełni, ale także z różnorodności komórek, tkanek i środowiska, w których występuje oraz z licznych mechanizmów kontrolujących jej ekspresję.

Przedstawiona wyżej analiza wskazuje na potrzebę dalszych badań nad wyjaśnieniem roli jaką, pełni IL-15 i jej receptor oraz środowiska w jakim działa. Poznanie i zrozumienie tych mechanizmów będzie podstawą rozwoju nowych metod terapeutycznych.

PÍSMIENICTWO

[1] Anderson D.M., Kumaki S., Ahdieh M., Bertles J., Tometsko M., Loomis A., Giri J., Copeland N.G., Gilbert D.J., Jenkins N.A., Valentine V., Shapiro D.N., Morris S.W., Park L.S., Cosman D.: Functional characterization of the human interleukin-15 receptor α chain and close linkage of IL15RA and IL2RA genes. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 29862-29869

[2] Avic M.N., Demeure C.E., Delespesse G., Rubio M., Armant M., Sarfati M.: IL-15 promotes IL-12 production by human monocytes via T cell-dependent contact and may contribute to IL-12-mediated IFN- γ secretion by CD4⁺ T cells in the absence of TCR ligation. *J. Immunol.*, 1998; 161: 3408-3415

[3] Azimi N., Brown K., Bamford R.N., Tagaya Y., Siebenlist U.,

- Waldmann T.A.: Human T cell lymphotropic virus type I Tax protein trans-activates interleukin 15 gene transcription through an NF- κ B site. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 2452-2457
- [4] Azzi S., Bruno S., Giron-Michel J., Clay D., Devocelle A., Croce M., Ferrini S., Chouaib S., Vazquez A., Charpentier B.: Differentiation therapy: targeting human renal cancer stem cells with interleukin 15. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2011; 103: 1884-1898
- [5] Badoual C., Bouchaud G., Agueznay Nel H., Mortier E., Hans S., Gey A., Fernani F., Peyrard S., Puig P.L., Bruneval P., Sastre X., Plet A., Garrigue-Antar L., Quintin-Colonna F., Fridman W.H., Brasnu D., Jacques Y., Tartour E.: The soluble α chain of interleukin-15 receptor: a proinflammatory molecule associated with tumor progression in head and neck cancer. *Cancer Res.*, 2008; 68: 3907-3914
- [6] Bamford R.N., Battiat A.P., Burton J.D., Sharma H., Waldmann T.A.: Interleukin (IL) 15/IL-T production by the adult T-cell leukemia cell line HuT-102 is associated with a human T-cell lymphotropic virus type I region/IL-15 fusion message that lacks many upstream AUGs that normally attenuates IL-15 mRNA translation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 2897-2902
- [7] Bamford R.N., DeFilippis A.P., Azimi N., Kurys G., Waldmann T.A.: The 5' untranslated region, signal peptide, and the coding sequence of the carboxyl terminus of IL-15 participate in its multifaceted translational control. *J. Immunol.*, 1998; 160: 4418-4426
- [8] Barry M., Bleackley R.C.: Cytotoxic T lymphocytes: all roads lead to death. *Nat. Rev. Immunol.*, 2002; 2: 401-409
- [9] Becker J.C., Andersen M.H., Schrama D., Thor Straten P.: Immune-suppressive properties of the tumor microenvironment. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2013; 62: 1137-1148
- [10] Ben Ahmed M., Belhadj Hmida N., Moes N., Buyse S., Abdeladhim M., Louzir H., Cerf-Bensussan N.: IL-15 renders conventional lymphocytes resistant to suppressive functions of regulatory T cells through activation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J. Immunol.*, 2009; 182: 6763-6770
- [11] Bernard J., Harb C., Mortier E., Quémener A., Meloen R.H., Vermot-Desroches C., Wijdeness J., van Dijken P., Grötzinger J., Slootstra J.W., Plet A., Jacques Y.: Identification of an interleukin-15 α receptor-binding site on human interleukin-15. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 24313-24322
- [12] Bessard A., Solé V., Bouchaud G., Quémener A., Jacques Y.: High antitumor activity of RLI, an interleukin-15 (IL-15)-IL-15 receptor α fusion protein, in metastatic melanoma and colorectal cancer. *Mol. Cancer Ther.*, 2009; 8: 2736-2745
- [13] Budagian V., Bulanov E., Paus R., Bulfone-Paus S.: IL-15/IL-15 receptor biology: a guided tour through an expanding universe. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2006; 17: 259-280
- [14] Bulfone-Paus S., Bulanov E., Budagian V., Paus R.: The interleukin-15/interleukin-15 receptor system as a model for juxtaposition and reverse signaling. *Bioessays*, 2006; 28: 362-377
- [15] Cao S., Troutt A.B., Rustum Y.M.: Interleukin 15 protects against toxicity and potentiates antitumor activity of 5-fluorouracil alone and in combination with leucovorin in rats bearing colorectal cancer. *Cancer Res.*, 1998; 58: 1695-1699
- [16] Carson W.E., Ross M.E., Baiocchi R.A., Marien M.J., Boiani N., Grabstein K., Caligiuri M.A.: Endogenous production of interleukin 15 by activated human monocytes is critical for optimal production of interferon-gamma by natural killer cells *in vitro*. *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 2578-2582
- [17] Chen J., Petrus M., Bamford R., Shih J.H., Morris J.C., Janik J.E., Waldmann T.A.: Increased serum soluble IL-15R α levels in T-cell large granular lymphocyte leukemia. *Blood*, 2012; 119: 137-143
- [18] Dubois S., Magrangeas F., Lehours P., Raher S., Bernard J., Boisteau O., Leroy S., Minvielle S., Godard A., Jacques Y.: Natural splicing of exon 2 of human interleukin-15 receptor α -chain mRNA results in a shortened form with a distinct pattern of expression. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 26978-26984
- [19] Dubois S., Mariner J., Waldmann T.A., Tagaya Y.: IL-15R α recycles and presents IL-15 *In trans* to neighboring cells. *Immunity*, 2002; 17: 537-547
- [20] Dubois S., Patel H.J., Zhang M., Waldmann T.A., Müller J.R.: Preassociation of IL-15 with IL-15R α -IgG1-Fc enhances its activity on proliferation of NK and CD8⁺/CD44^{high} T cells and its antitumor action. *J. Immunol.*, 2008; 180: 2099-2106
- [21] Fehniger T.A., Caligiuri M.A.: Interleukin 15: biology and relevance to human disease. *Blood*, 2001; 97: 14-32
- [22] Ferrari-Lacraz S., Zanelli E., Neuberger M., Donskoy E., Kim Y.S., Zheng X.X., Hancock W.W., Maslinski W., Li X.C., Strom T.B., Moll T.: Targeting IL-15 receptor-bearing cells with an antagonist mutant IL-15/Fc protein prevents disease development and progression in murine collagen-induced arthritis. *J. Immunol.*, 2004; 173: 5818-5826
- [23] Giri J.G., Ahdieh M., Eisenman J., Shanebeck K., Grabstein K., Kumaki S., Namen A., Park L.S., Cosman D., Anderson D.: Utilization of the beta and gamma chains of the IL-2 receptor by the novel cytokine IL-15. *EMBO J.*, 1994; 13: 2822-2830
- [24] Giri J.G., Kumaki S., Ahdieh M., Friend D.J., Loomis A., Shanebeck K., DuBose R., Cosman D., Park L.S., Anderson D.M.: Identification and cloning of a novel IL-15 binding protein that is structurally related to the alpha chain of the IL-2 receptor. *EMBO J.*, 1995; 14: 3654-3663
- [25] Giron-Michel J., Azzi S., Khawam K., Mortier E., Caignard A., Devocelle A., Ferrini S., Croce M., Francois H., Lecru L., Charpentier B., Chouaib S., Azzarone B., Eid P.: Interleukin-15 plays a central role in human kidney physiology and cancer through the gc signaling pathway. *PLoS One*, 2012; 7: e31624
- [26] Gomes-Giacoa E., Miyake M., Goodison S., Sriharan A., Zhang G., You L., Egan J.O., Rhode P.R., Parker A.S., Chai K.X., Wong H.C., Rosser C.J.: Intravesical ALT-803 and BCG treatment reduces tumor burden in a carcinogen induced bladder cancer rat model; a role for cytokine production and NK cell expansion. *PLoS One*, 2014; 9: e96705
- [27] Grabstein K.H., Eisenman J., Shanebeck K., Rauch C., Srinivasan S., Fung V., Beers C., Richardson J., Schoenborn M.A., Ahdieh M. i wsp.: Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor. *Science*, 1994; 264: 965-968
- [28] Han K.P., Zhu X., Liu B., Jeng E., Kong L., Yovandich J.L., Vyas V.V., Marcus W.D., Chavallaz P.A., Romero C.A., Rhode P.R., Wong H.C.: IL-15: IL-15 receptor alpha superagonist complex: high-level co-expression in recombinant mammalian cells, purification and characterization. *Cytokine*, 2011; 56: 804-810
- [29] Jakobisiak M., Golab J., Lasek W.: Interleukin 15 as a promising candidate for tumor immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2011; 22: 99-108
- [30] Jerez A., Clemente M.J., Makishima H., Koskela H., Leblanc F., Peng Ng K., Olson T., Przychodzen B., Afable M., Gomez-Segui I., Guinta K., Durkin L., Hsi E.D., McGraw K., Zhang D. i wsp. STAT3 mutations unify the pathogenesis of chronic lymphoproliferative disorders of NK cells and T-cell large granular lymphocyte leukemia. *Blood*, 2012; 120: 3048-3057
- [31] Jing W., Chen Y., Lu L., Hu X., Shao C., Zhang Y., Zhou X., Zhou Y., Wu L., Liu R., Fan K., Jin G.: Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells producing IL15 eradicate established pancreatic tumor in syngeneic mice. *Mol. Cancer Ther.*, 2014; 13: 2127-2137
- [32] Jonuleit H., Wiedemann K., Müller G., Degwert J., Hoppe U., Knop J., Enk A.H.: Induction of IL-15 messenger RNA and protein in human blood-derived dendritic cells: a role for IL-15 in attraction of T cells. *J. Immunol.*, 1997; 158: 2610-2615

- [33] Khawam K., Giron-Michel J., Gu Y., Perier A., Giuliani M., Caignard A., Devocelle A., Ferrini S., Fabbi M., Charpentier B., Ludwig A., Chouaib S., Azzarone B., Eid P.: Human renal cancer cells express a novel membrane-bound interleukin-15 that induces, in response to the soluble interleukin-15 receptor α chain, epithelial-to-mesenchymal transition. *Cancer Res.*, 2009; 69: 1561-1569
- [34] Koskela H.L., Eldfors S., Ellonen P., van Adrichem A.J., Kuusamäki H., Andersson E.I., Lagström S., Clemente M.J., Olson T., Jalkanen S.E., Majumder M.M., Almusa H., Edgren H., Lepistö M., Mattila P. i wsp.: Somatic STAT3 mutations in large granular lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 2012; 366: 1905-1913
- [35] Kuniyasu H., Ohmori H., Sasaki T., Sasahira T., Yoshida K., Kitadai Y., Fidler I.J.: Production of interleukin 15 by human colon cancer cells is associated with induction of mucosal hyperplasia, angiogenesis, and metastasis. *Clin. Cancer Res.*, 2003; 9: 4802-4810
- [36] Laprevotte E., Voisin G., Ysebaert L., Klein C., Daugrois C., Laurent G., Fournie J.J., Quillet-Mary A.: Recombinant human IL-15 trans-presentation by B leukemic cells from chronic lymphocytic leukemia induces autologous NK cell proliferation leading to improved anti-CD20 immunotherapy. *J. Immunol.*, 2013; 191: 3634-3640
- [37] Lin J.X., Migone T.S., Tsang M., Friedmann M., Weatherbee J.A., Zhou L., Yamauchi A., Bloom E.T., Mietz J., John S. i wsp.: The role of shared receptor motifs and common Stat proteins in the generation of cytokine pleiotropy and redundancy by IL-2, IL-4, IL-7, IL-13, and IL-15. *Immunity*, 1995; 2: 331-339
- [38] Mishra A., Liu S., Sams G.H., Curphey D.P., Santhanam R., Rush L.J., Schaefer D., Falkenberg L.G., Sullivan L., Jaromczyk L., Yang X., Fisk H., Wu L.C., Hickey C., Chandler J.C. i wsp.: Aberrant overexpression of IL-15 initiates large granular lymphocyte leukemia through chromosomal instability and DNA hypermethylation. *Cancer Cell*, 2012; 22: 645-655
- [39] Moga E., Canto E., Vidal S., Juarez C., Sierra J., Briones J.: Interleukin-15 enhances rituximab-dependent cytotoxicity against chronic lymphocytic leukemia cells and overcomes transforming growth factor beta-mediated immunosuppression. *Exp. Hematol.*, 2011; 39: 1064-1071
- [40] Morris J.C., Janik J.E., White J.D., Fleisher T.A., Brown M., Tsudo M., Goldman C.K., Bryant B., Petrus M., Top L., Lee C.C., Gao W., Waldmann T.A.: Preclinical and phase I clinical trial of blockade of IL-15 using Mik β 1 monoclonal antibody in T cell large granular lymphocyte leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 401-406
- [41] Mortier E., Bernard J., Plet A., Jacques Y.: Natural, proteolytic release of a soluble form of human IL-15 receptor α -chain that behaves as a specific, high affinity IL-15 antagonist. *J. Immunol.*, 2004; 173: 1681-1688
- [42] Nishimura H., Fujimoto A., Tamura N., Yajima T., Wajjwalku W., Yoshikai Y.: A novel autoregulatory mechanism for transcriptional activation of the IL-15 gene by a nonsecretable isoform of IL-15 generated by alternative splicing. *FASEB J.*, 2005; 19: 19-28
- [43] Nishimura H., Yajima T., Naiki Y., Tsunobuchi H., Umemura M., Itano K., Matsuguchi T., Suzuki M., Ohashi P.S., Yoshikai Y.: Differential roles of interleukin 15 mRNA isoforms generated by alternative splicing in immune responses *in vivo*. *J. Exp. Med.*, 2000; 191: 157-170
- [44] Pagliari D., Cianci R., Frosali S., Landolfi R., Cammarota G., Newton E.E., Pandolfi F.: The role of IL-15 in gastrointestinal diseases: a bridge between innate and adaptive immune response. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2013; 24: 455-466
- [45] Palena C., Schlom J.: Vaccines against human carcinomas: strategies to improve antitumor immune responses. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2010; 2010: 380697
- [46] Pandolfi F., Cianci R., Pagliari D., Casciano F., Bagala C., Astone A., Landolfi R., Barone C.: The immune response to tumors as a tool toward immunotherapy. *Clin. Dev. Immunol.*, 2011; 2011: 894704
- [47] Perdreau H., Mortier E., Bouchaud G., Sole V., Boublik Y., Plet A., Jacques Y.: Different dynamics of IL-15R activation following IL-15 cis- or trans-presentation. *Eur. Cytokine Netw.*, 2010; 21: 297-307
- [48] Sasahira T., Sasaki T., Kuniyasu H.: Interleukin-15 and transforming growth factor alpha are associated with depletion of tumor-associated macrophages in colon cancer. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2005; 24: 69-74
- [49] Schwartz R.N., Stover L., Dutcher J.: Managing toxicities of high-dose interleukin-2. *Oncology*, 2002; 16 (Suppl. 13): 11-20
- [50] Steel J.C., Waldmann T.A., Morris J.C.: Interleukin-15 biology and its therapeutic implications in cancer. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2012; 33: 35-41
- [51] Tagaya Y., Burton J.D., Miyamoto Y., Waldmann T.A.: Identification of a novel receptor/signal transduction pathway for IL-15/T in mast cells. *EMBO J.*, 1996; 15: 4928-4939
- [52] Tagaya Y., Kurys G., Thies T.A., Losi J.M., Azimi N., Hanover J.A., Bamford R.N., Waldmann T.A.: Generation of secretable and nonsecretable interleukin 15 isoforms through alternate usage of signal peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 14444-14449
- [53] Tejman-Yarden N., Zlotnik M., Lewis E., Etzion O., Chaimovitz C., Douvdevani A.: Renal cells express a functional interleukin-15 receptor. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2005; 20: 516-523
- [54] Tinhofer I., Marschitz I., Henn T., Egle A., Greil R.: Expression of functional interleukin-15 receptor and autocrine production of interleukin-15 as mechanisms of tumor propagation in multiple myeloma. *Blood*, 2000; 95: 610-618
- [55] Waldmann T.A., Conlon K.C., Stewart D.M., Worthy T.A., Janik J.E., Fleisher T.A., Albert P.S., Figg W.D., Spencer S.D., Raffeld M., Decker J.R., Goldman C.K., Bryant B.R., Petrus M.N., Creekmore S.P., Morris J.C.: Phase 1 trial of IL-15 trans presentation blockade using humanized Mik β 1 mAb in patients with T-cell large granular lymphocytic leukemia. *Blood*, 2013; 121: 476-484
- [56] Wei C., Wang W., Pang W., Meng M., Jiang L., Xue S., Xie Y., Li R., Hou Z.: The CIK cells stimulated with combination of IL-2 and IL-15 provide an improved cytotoxic capacity against human lung adenocarcinoma. *Tumour Biol.*, 2014; 35: 1997-2007
- [57] Wei X., Orchardson M., Gracie J.A., Leung B.P., Gao B., Guan H., Niedbala W., Paterson G.K., McInnes I.B., Liew F.Y.: The Sushi domain of soluble IL-15 receptor α is essential for binding IL-15 and inhibiting inflammatory and allogenic responses *in vitro* and *in vivo*. *J. Immunol.*, 2001; 167: 277-282
- [58] Williams M.T., Yousafzai Y., Cox C., Blair A., Carmody R., Sai S., Chapman K.E., McAndrew R., Thomas A., Spence A., Gibson B., Graham G.J., Halsey C.: Interleukin-15 enhances cellular proliferation and upregulates CNS homing molecules in pre-B acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 2014; 123: 3116-3127
- [59] Willmsky G., Blankenstein T.: Sporadic immunogenic tumours avoid destruction by inducing T-cell tolerance. *Nature*, 2005; 437: 141-146
- [60] Wu S., Fischer L., Gökbüget N., Schwartz S., Burmeister T., Notter M., Hoelzer D., Fuchs H., Blau I.W., Hofmann W.K., Thiel E.: Expression of interleukin 15 in primary adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*, 2010; 116: 387-392
- [61] Xu W., Jones M., Liu B., Zhu X., Johnson C.B., Edwards A.C., Kong L., Jeng E.K., Han K., Marcus W.D., Rubinstein M.P., Rhode P.R., Wong H.C.: Efficacy and mechanism-of-action of a novel superagonist interleukin-15: interleukin-15 receptor α Su/Fc fusion complex in syngeneic murine models of multiple myeloma. *Cancer Res.*, 2013; 73: 3075-3086
- [62] Yu P., Steel J.C., Zhang M., Morris J.C., Waldmann T.A.: Simultaneous blockade of multiple immune system inhibitory checkpoints enhances antitumor activity mediated by interleukin-15

in a murine metastatic colon carcinoma model. *Clin. Cancer Res.*, 2010; 16: 6019-6028

[63] Yu Y.L., Wei C.W., Chen Y.L., Chen M.H., Yiang G.T.: Immunotherapy of breast cancer by single delivery with rAAV2-mediated interleukin-15 expression. *Int. J. Oncol.*, 2010; 36: 365-370

[64] Zambricki E., Shigeoka A., Kishimoto H., Sprent J., Burakoff S., Carpenter C., Milford E., McKay D.: Signaling T-cell survival and death by IL-2 and IL-15. *Am. J. Transplant.*, 2005; 5: 2623-2631

[65] Zhang M., Ju W., Yao Z., Yu P., Wei B.R., Simpson R.M., Waitz R., Fasso M., Allison J.P., Waldmann T.A.: Augmented IL-15 α expression by CD40 activation is critical in synergistic CD8 T cell-mediated antitumor activity of anti-CD40 antibody with IL-15 in

TRAMP-C2 tumors in mice. *J. Immunol.*, 2012; 188: 6156-6164

[66] Zhang M., Yao Z., Dubois S., Ju W., Müller J.R., Waldmann T.A.: Interleukin-15 combined with an anti-CD40 antibody provides enhanced therapeutic efficacy for murine models of colon cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 7513-7518

[67] Żyzińska-Granica B., Zegrodzka-Stendel O., Niewieczerał S., Trzaskowski B., Filipek S., Krzeczyński P., Winiarska M., Koziak K.: Hamowanie aktywności biologicznej interleukiny 15 - nowe perspektywy. *Post. Pol. Med. Farmacji*, 2013; 3: 45-55

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.