

Received: 21.05.2019  
Accepted: 18.12.2019  
Published: 31.12.2019

## Perspektywy zastosowania interleukiny 15 w terapii przeciwnowotworowej

### Perspectives for the application of interleukin 15 in anti-cancer therapy

Katarzyna Węgierek, Elżbieta Pajtasz-Piasecka

Laboratorium Doświadczalnej Terapii Przeciwnowotworowej, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej  
Akademii Nauk im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

#### Streszczenie

Interleukina 15 (IL-15) odgrywa znaczącą rolę w zachowaniu homeostazy komórek limfoidalnych, obejmującej utrzymanie szerokiego repertuaru komórek naiwnych T, B i NK, eliminacji komórek efektorowych i długotrwałego przeżycia komórek pamięci. Jest niezbędnym czynnikiem sprawczym w generowaniu komórek pamięci T CD8<sup>+</sup>. Ponadto wybiórczo sprzyja nie tylko przetrwaniu i proliferacji, lecz także funkcji efektorowej swoistych antygenowo cytotoksycznych limfocytów T, nawet w obecności regulatorowych komórek T. Interleukina 15 może zatem modulować zarówno supresję immunologiczną, jak i promować aktywację immunologiczną.

Wszystkie uzyskane dane na temat biologii i funkcji IL-15 dostarczają informacji niezbędnych do zaprojektowania sposobów jej zastosowania w walce z nowotworami litymi i rozrostowymi krwi oraz czynią ją obiecującą opcją terapeutyczną pod warunkiem świadomego wykorzystania jej potencjału.

W artykule dokonano przeglądu danych dotyczących zależności między biologicznymi właściwościami IL-15 i jej kompleksu IL-15/IL-15R $\alpha$  a ich potencjałem przeciwnowotworowym oraz oceniono możliwości zastosowania tych cząsteczek w terapii przeciwnowotworowej w świetle ostatnich doniesień.

#### Słowa kluczowe:

interleukina 15 (IL-15) • kompleks IL-15/IL-15R $\alpha$  • terapia przeciwnowotworowa

#### Summary

Interleukin (IL-) 15 plays a crucial role in the preservation of lymphoid cell homeostasis including maintaining a broad repertoire of naïve T, B and NK cells, eliminating effector cells and long-term survival of memory cells. It is an essential causative factor in generating CD8<sup>+</sup> T cells of memory. In addition, it selectively promotes not only survival and proliferation, but also the effector function of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes, even in the presence of regulatory T cells. Interleukin 15 can thus modulate immune suppression as well as promote an immune activation.

All obtained data on the biology and function of IL-15 provide information essential to design the manners of its application in the fight against the solid cancers and myeloproliferative neoplasms and make it a promising therapeutic option provided that its potential is consciously used.

\*Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego nr 2017/27/B/NZ6/02702 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

<b>Keywords:</b>	In this paper we reviewed on the relationship between the biological properties of IL-15 and its IL-15/IL-15R $\alpha$ complex and their antitumor potential in the light of recent reports about the possibilities of using these molecules in cancer therapy have been assessed. <b>Interleukin 15 (IL-15) • IL-15/IL-15R<math>\alpha</math> complex • cancer therapy</b>
<b>GICID</b>	01.3001.0013.7194
<b>DOI:</b>	10.5604/01.3001.0013.7194
<b>Word count:</b>	7656
<b>Tables:</b>	2
<b>Figures:</b>	3
<b>References:</b>	84

**Adres autorki:** dr hab. Elżbieta Pajtasz-Piasecka, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: elzbieta.pajtasz-piasecka@hirszfeld.pl

**Wykaz skrótów:** **ADCC** – cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał (antibody-dependent cell cytotoxicity); **ALL** – ostra białaczka limfoblastyczna (acute lymphoblastic leukemia); **AML** – ostra białaczka szpikowa (acute myeloid leukemia); **APC** – komórka prezentująca antygen (antigen presenting cell); **ATL** – białaczka dorosłych komórek T (adult T-cell leukemia/lymphoma); **B-CLL** – przewlekła białaczka limfocytowa B-komórkowa (chronic lymphocytic leukemia); **CML** – przewlekła białaczka szpikowa (chronic myeloid leukemia); **CRS** – zespół uwalniania cytokin (cytokine release syndrome); **CTCL** – chłoniak skórny T-komórkowy (cutaneous T-cell lymphoma); **DC** – komórka dendrytyczna (dendritic cell); **EATL** – chłoniak z limfocytów T związany z enteropatią (enteropathy associated T-cell lymphoma); **ERK** – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo (extracellular signal-regulated kinase); **FL** – chłoniak grudkowy (follicular lymphoma); **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor); **GRB2** – białko wiążące receptor czynnika wzrostu 2 (growth factor receptor-bound protein 2); **GSK-3** – kinaza syntazy glikogenowej 3 (glycogen synthase kinase 3); **HL** – chłoniak Hodgkina (Hodgkin's lymphoma); **HTLV-1** – wirus ludzkiej białaczki z komórek T typu 1 (human T-cell leukemia virus type 1); **IFN- $\gamma$**  – interferon gamma (interferon gamma); **IL** – interleukina (interleukin); **IL-15R** – receptor IL-15 (IL-15-receptor); **Jak** – kinazy Janusa (Janus kinases); **LGL** – białaczki dużych ziarnistych limfocytów (large granular lymphocyte leukemia); **LMCV** – wirus limfocytowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych (lymphocytic choriomeningitis virus); **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolysaccharide); **MCP1** – białko chemotaktyczne monocytów (monocyte chemoattractant protein-1); **MDS** – zespoły mielodysplastyczne (myelodysplastic syndrome); **MEK** – aktywator kinazy ERK (ERK activator kinase); **MM** – szpiczak mnogi (myeloma multiplex); **mTOR** – kinaza serynowo-treoninowa ssaków, której aktywność jest hamowana przez rapamycynę (mammalian target of rapamycin); **NK** – naturalna komórka cytotoksyczna (natural killer); **PD-1** – receptor programowanej śmierci 1 (programmed death receptor 1); **PK-1** – kinaza 1 zależna od fosfatydyloinozytolu (phosphoinositide-dependent kinase-1); **PD-L1** – ligand PD-1 (programmed death-ligand 1); **PI3-K** – kinaza 3-fosfatydyloinozytolu (phosphatidylinositol 3-kinase); **PIP2** – 4,5-bisfosforan fosfatydyloinozytolu (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate); **PIP3** – 3,4,5-trifosforan fosfatydyloinozytolu (phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate); **SH2** – domena wiążąca reszty fosfotyrozyny (Src homology 2); **STAT** – białko pełniące rolę transduktora sygnału i aktywatora transkrypcji (signal transducer and activator of transcription); **TCR** – receptor limfocyta T (T-cell receptor); **TGF- $\beta$**  – transformujący czynnik wzrostu  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ); **Th** – limfocyt T pomocniczy (T helper cell); **TLR** – receptor Toll-podobny (Toll-like receptor); **TME** – mikrośrodowisko nowotworu (tumor microenvironment); **TNF- $\alpha$**  – czynnik martwicy nowotworu- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ); **Treg** – regulatorowy limfocyt T (regulatory T cell); **VSV** – wirus pęcherzykowatego zapalenia jamy ustnej (vesicular stomatitis virus).

## MIKROŚRODOWISKO NOWOTWORU A IL-15

Nowotworzenie to wieloetapowy i wieloczynnikowy proces transformacji komórek prawidłowych w komórki nowotworowe, inicjowany przez mutacje genów lub rearanżacje materiału genetycznego [28, 62]. W nowo-

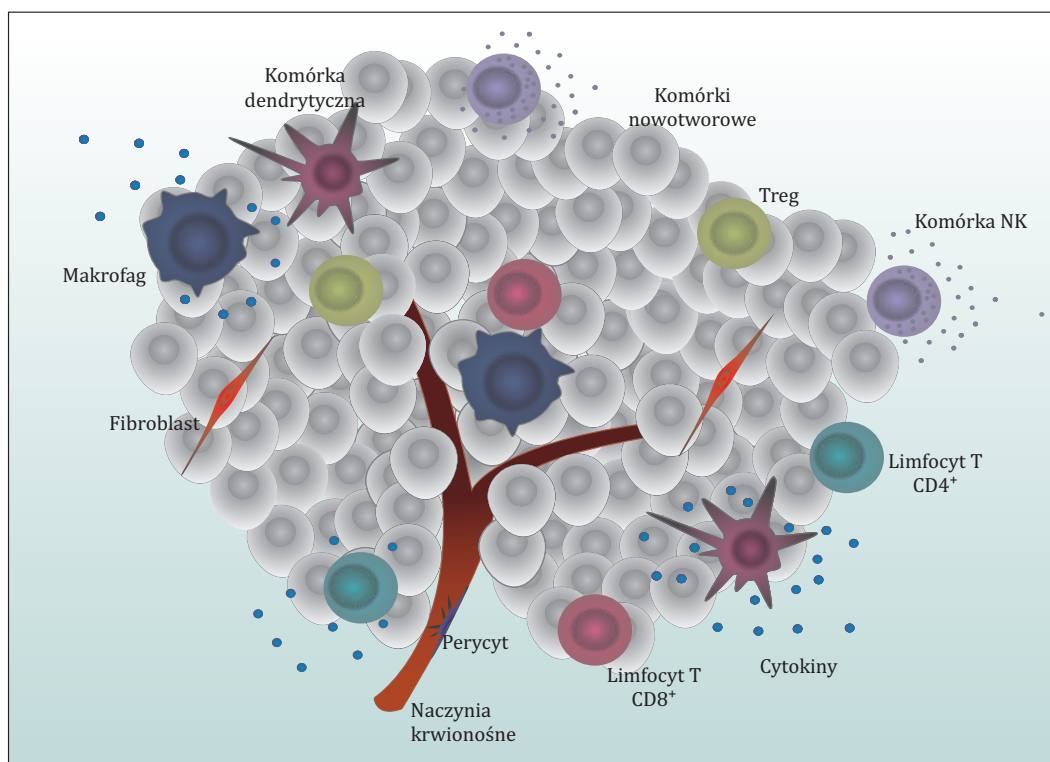
tworach litych powstająca masa guza składa się nie tylko z heterogennej populacji komórek nowotworowych, ale także z wielu rezydujących i naciekających komórek gospodarza, czynników wydzielanych i białek macierzy pozakomórkowej, określanych mianem mikrośrodowiska nowotworu (TME) [7, 58, 76].

Oprócz komórek tworzących zrąb nowotworu, takich jak fibroblasty, komórki śródbłonka i perycyty pojawiają się w nim komórki limfoidalne infiltrujące guzy (ryc. 1). Wśród nich wyodrębnić można subpopulacje limfocytów T: cytotoksycznych komórek T CD8<sup>+</sup> zdolnych do eliminowania komórek nowotworowych, limfocytów pomocniczych CD4<sup>+</sup> typu 1 (Th1), wytwarzających szeroki panel cytokin, w tym IL-2 i IFN-γ [7]. Obecność obu tych populacji w mikrośrodkowisku większości ludzkich nowotworów jest wiązana z dobrym rokowaniem. Obok komórek Th1 w tkance nowotworowej mogą występować inne populacje komórek CD4<sup>+</sup> – m.in. komórki Th2 i Th17. Te pierwsze wytwarzają m.in. IL-4, IL-5 i IL-13, natomiast komórki Th17 wytwarzają cytokiny, takie jak IL-17A, -17F, -21 i -22 [33]. W TME występują również immunosupresyjne komórki T regulatorowe (Treg) najczęściej opisywane jako promujące nowotwór [7]. Hamują one rozpoznawanie i usuwanie komórek nowotworowych, oddziałując na efektorowe limfocyty T bezpośrednio – poprzez receptor CTLA-4 lub pośrednio wytwarzając immunosupresyjne cytokiny, takie jak IL-10 i transformujący czynnik wzrostu beta 1 (TGF-β1) [7, 36]. W wielu nowotworach obecne są również komórki ILC (limfatyczne komórki wrodzone), w skład których wchodzi m.in. komórki NK [50, 71]. Tak więc wszystkie naciekające komórki są zarówno producentami, jak i adresatami cytokin, pełniącymi (w warunkach prawidłowych) niezastąpioną rolę w komunikacji międzykomórkowej i polaryzacji odpowiedzi odporno-

ściowej [1, 19], a ich udział w generowaniu stanu zapalnego jest niezwykle znaczący w progresji nowotworu. Jednak poziom wytwarzania cytokin i ich receptorów może się różnić w zależności od stadium i agresywności nowotworu. Zjawisko to jest szczególnie związane z wytwarzaniem cytokin o pleiotropowym działaniu, takich jak interleukina 15 (IL-15).

Ekspresja IL-15 w mikrośrodkowisku ludzkich nowotworów jest czynnikiem krytycznym w tworzeniu odpowiedzi przeciwnowotworowej. Jej rozpuszczalne kompleksy ze specyficzną podjednostką alfa swojego receptora (sIL-15/sIL-15Rα) ulegają ekspresji w guzach i regulują liczbę limfocytów infiltrujących guz. Zaobserwowano pewną odwrotną zależność między obecnością IL-15 w tkance guza a występowaniem nacieku komórek mieloidalnych, które mogą być liczne w zaawansowanych nowotworach, choć niezdolne do wytwarzania cytokiny. Konsekwencją będzie niski poziom kompleksów sIL-15/sIL-15Rα w tkance tych nowotworów. Jednak odpowiednie dostarczenie sygnału zapalnego może zwiększać ich obecność w obrębie guza i napędzać jego regresję zależną od IL-15 [61].

W artykule przedstawiono dane dotyczące zależności między biologicznymi właściwościami IL-15 i jej kompleksu IL-15/IL-15Rα, a ich potencjałem przeciwnowotworowym, a na podstawie ostatnich doniesień oceniono możliwości zastosowania tych cząsteczek w terapii przeciwnowotworowej.

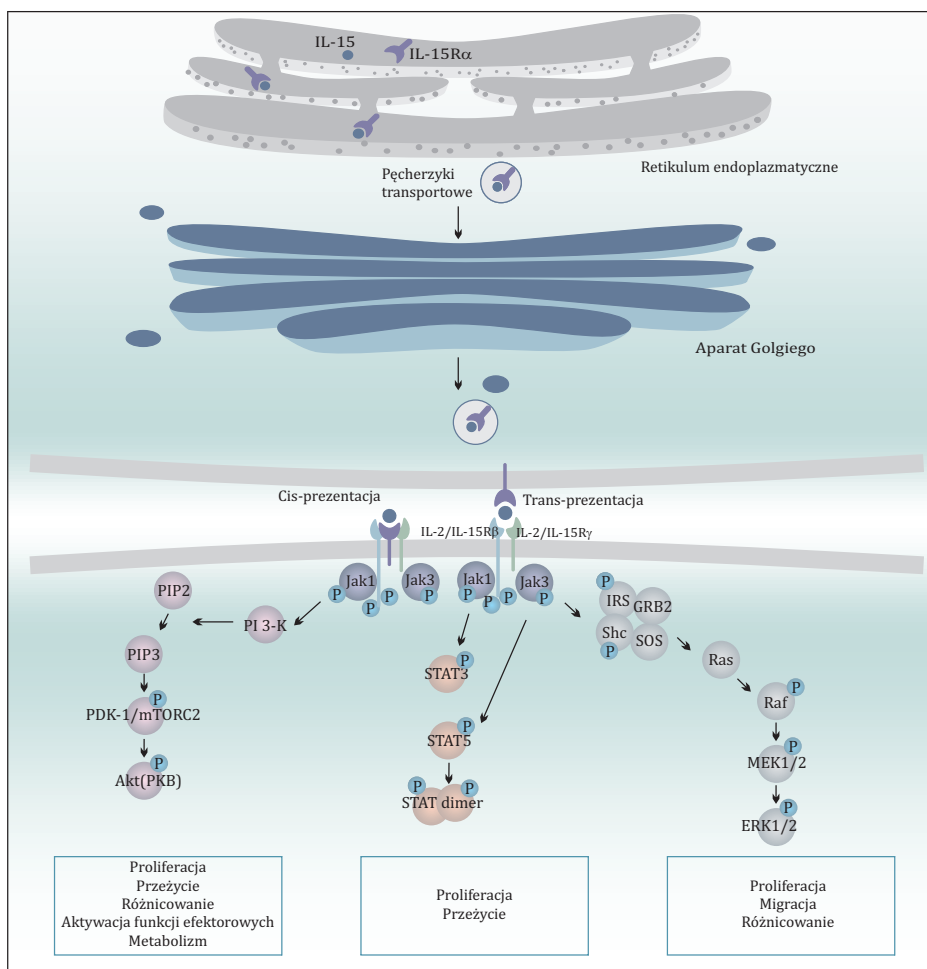


**Ryc. 1.** Mikrośrodkowisko nowotworu (TME) (wg [7] zmodyfikowano). TME jest bardzo złożoną strukturą; składa się nie tylko z komórek nowotworowych, ale też z różnorodnych komórek zrębu oraz komórek układu odpornościowego, które są producentami wielu cytokin

## BIOLOGIA IL-15

Interleukina 15 należąca do rodziny cytokin z czterema alfa helisami i odgrywająca znaczącą rolę w regulowaniu zarówno wrodzonej, jak i adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej, została opisana po raz pierwszy jako czynnik stymulujący proliferację limfocytów T [27, 75].

Konstitutywną ekspresję genu *il15* wykazują monocyty, makrofagi, komórki dendrytyczne (DC), keratynocyty, komórki skóry i nabłonka, podścieliska szpiku kostnego, jak również komórki nerwowe wchodzące w skład takich tkanek i narządów jak: szpik kostny, nerki, łożysko, płuca, serce, mięśnie szkieletowe oraz tkanka mózgu [52]. Na zdolność komórek do ekspre-



**Ryc. 2.** Mechanizm działania IL-15 (wg [31, 45] zmodyfikowano). IL-15 łączy się w retikulum endoplazmatycznym (ER) ze specyficzną podjednostką alfa receptora – IL-15R $\alpha$ , która chroni ją przed wewnątrzkomórkową degradacją. Z ER kompleks IL-15/IL-15R $\alpha$  zostaje przetransportowany do aparatu Golgiego a stamtąd w pęcherzyku wydzielniczym na powierzchni błony komórkowej. Wyróżnia się dwa mechanizmy prezentacji IL-15: pierwszy najczęściej spotykany zwany jest trans-prezentacją. Występuje, kiedy IL-15R $\alpha$  prezentuje IL-15 innej komórce mającej na swojej powierzchni dwulińcuchowy receptor IL-15R $\beta\gamma$ . Drugi mechanizm nazywany jest cis-prezentacją. Podczas cis-prezentacji wszystkie trzy podjednostki receptora IL-15 znajdują się na powierzchni tej samej komórki [10]. IL-15 łącząc się z IL-15R może indukować co najmniej trzy równoległe kaskady sygnałowe: STAT5, PI3-K-Akt-mTOR, Ras-Raf-MEK. W czasie aktywacji pierwszego ze szlaków związanie IL-15 z IL-2/IL-15R $\beta\gamma$  prowadzi do pobudzenia szlaku przekąźnikowego Jak/STAT (kinaza tyrozynowa Janus/przełącznik sygnału i aktywator transkrypcji). Podjednostka beta receptora pozostaje związana z Jak1, co prowadzi do fosforylacji STAT3, natomiast podjednostka gamma receptora jest związana z kinazą Jak3 fosforylującą STAT5. Ufosforylowanie STAT3 oraz STAT5 powoduje utworzenie heterodimeru, który po dotarciu do jądra komórkowego aktywuje transkrypcję antyapoptycznego białka bcl-2 oraz protoonkogenów c-myc, c-fos i c-jun, co zwiększa proliferację oraz przeżycie komórki [45]. Sygnalizacja wywołana przez IL-15 wykorzystuje szlak Jak/STAT do stymulacji szlaku sygnałowego PI3-K/Akt w komórkach odpornościowych [2]. Aktywność PI3-K prowadzi do przekształcenia 4,5-bisfosforanu fosfatydyloinozytolu (PIP2) do 3,4,5-trisfosforanu fosfatydyloinozytolu (PIP3) [68]. Oddziaływanie PIP3 z kinazą Akt wywołuje zmiany konformacyjne w jej strukturze. Umożliwia to białkom PDK-1 i mTORC2 wprowadzenie kluczowych zmian w jej sekwencji aminokwasowej [2]. Następnie kinaza Akt ulega translokacji do jądra komórkowego, gdzie reguluje aktywność m.in. kinazy syntazy glikogenowej 3 (GSK-3) i mTOR, białka BAD oraz czynników transkrypcyjnych z rodziny FOXO [68]. Kinaza 3-fosfatydyloinozytolu kontroluje różnorodne procesy, w tym proliferację komórek, przeżycie, różnicowanie, aktywację funkcji efektorowych oraz metabolizm [2]. W trzecim szlaku białko GRB2 zawierające domenę SH2 wiąże się z ufosforylowanymi białkami IRS lub Shc i rekrutuje SOS do aktywacji Ras, które aktywuje szlak Raf-MEK-ERK [24]. Ufosforylowane białko ERK zostaje przetransportowane do jądra komórkowego, gdzie aktywuje różne czynniki transkrypcyjne w tym Sp1, E2F, Elk-1 i AP-1 [34]. Ścieżka sygnałowa Ras-Raf-MEK reguluje wiele funkcji komórkowych w tym proliferację, migrację i różnicowanie [34, 39]

sji genu *il15* mają wpływ różne czynniki środowiska, w tym: dwuniciowe RNA, lipopolisacharyd (LPS), interferony, GM-CSF, agoniści TLR oraz niemetylowane oligonukleotydy CpG [31]. W wielu komórkach niehematopoetycznych, mimo ekspresji mRNA *il15*, poziom wydzielanego przez nie białka jest często niewykrywalny. Jedynie monocyty, komórki dendrytyczne, nabłonkowe, komórki zrębu szpiku kostnego i fibroblasty są zdolne do wytworzenia cytokiny na mierzalnym poziomie [52]. Brak zależności między ekspresją mRNA kodującego IL-15, a wytwarzaniem tej cytokiny może być związany z jej krótkim czasem półtrwania wynoszącym zaledwie godzinę. Częsteczką chroniącą IL-15 przed wewnątrzkomórkową degradacją jest specyficzna podjednostka alfa receptora IL-15 [72].

Receptor IL-15 jest heterotrimerem (ryc. 2) złożonym ze specyficznej podjednostki  $\alpha$ , podjednostki  $\beta$ , którą IL-15 dzieli z IL-2 [65] oraz podjednostki  $\gamma$  wspólnej dla IL-2, -4, -7, -9, -15 i -21 [54]. Podjednostka IL-15 $\alpha$  jest prezentowana na powierzchni różnych typów komórek m.in. monocytów, dendrytycznych, NK, komórek T i fibroblastów. Podjednostka alfa receptora składa się z domen: zewnątrzkomórkowej, krótkiej cytoplazmatycznej, konserwatywnej zewnątrzkomórkowej sushi oraz bogatej w reszty proliny i treoniny. Domena sushi zawiera cztery cysteiny tworzące mostki disiarczkowe i jest elementem koniecznym do wiązania ligandów [13]. IL-15 $\alpha$  może się łączyć z IL-15 wewnątrz retikulum endoplazmatycznego, skąd kompleks IL-15/IL-15 $\alpha$  jest transportowany do aparatu Golgiego, a następnie na powierzchnię błony komórkowej.

Kompleks IL-15/IL-15 $\alpha$  może stymulować sąsiednie komórki zawierające na swojej powierzchni heterodimeryczny receptor IL-15 $\beta\gamma$  (trans-prezentacja) lub tę

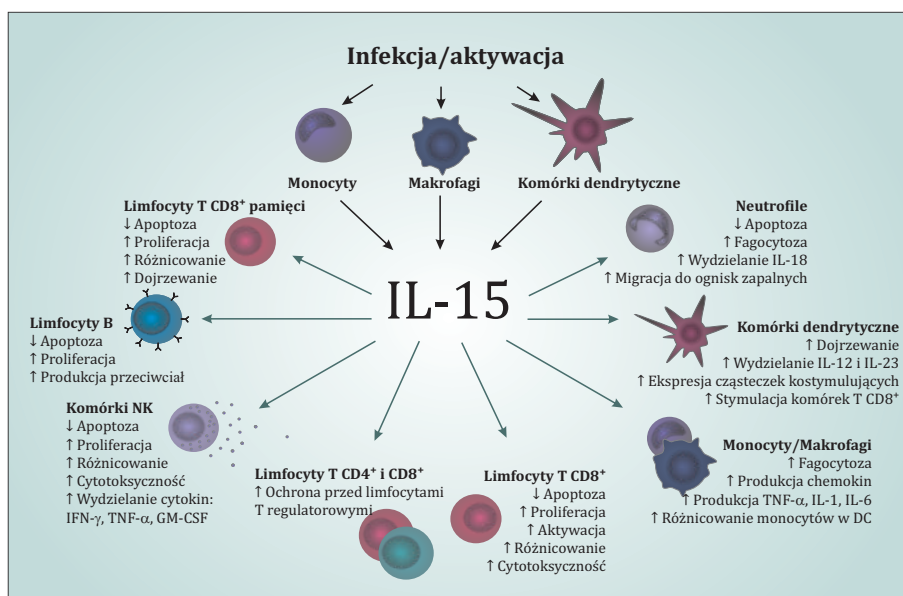
samą komórkę (cis-prezentacja), jeśli na jej powierzchni znajdują się wszystkie trzy podjednostki receptora (ryc. 2). Trans-prezentacja IL-15 jest głównym mechanizmem pośredniczącym w reakcjach, do których należą: rozwój i homeostaza komórek T pamięci CD8<sup>+</sup>, NK, NKT oraz limfocytów śród nabłonkowych (IEL) [14, 30].

Interleukina 15, łącząc się z IL-15R, powoduje autofosforylację i aktywację kinaz janusowych Jak1 i Jak3, a to indukuje co najmniej trzy równoległe kaskady sygnałowe: STAT5, PI3-K-Akt-mTOR, Ras-Raf-MEK [48].

Zrozumienie, w jaki sposób IL-15 oddziałuje na wiele typów komórek może dostarczyć informacji istotnych dla projektowania jej potencjalnych zastosowań terapeutycznych. Cytokina służy np. jako środek anaboliczny dla mięśni szkieletowych wspomagający różnicowanie ich komórek. Wpływa na proliferację komórek nabłonkowych jelita zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. Indukuje angiogenezę przez pobudzenie ekspresji mRNA IL-15 $\alpha\beta\gamma$  w komórkach śród błonka [22]. Jednak plejotropowe działanie IL-15, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, jest szczególnie widoczne w przypadku komórek układu odpornościowego – NK, NKT, monocytów/makrofagów (M $\phi$ /Mo), komórek dendrytycznych, granulocytów, komórek tucznych, limfocytów T i aktywowanych komórek B.

### WPLYW IL-15 NA KOMÓRKI ODPORNOŚCIOWE

Interleukina 15, ze względu na jej plejotropowe działanie na komórki układu odpornościowego, jest jedną z najbardziej obiecujących cząsteczek badanych pod kątem zastosowania w immunoterapii nowotworów [57]. IL-15 wydaje się niezbędnym czynnikiem sprawczym w powstawaniu, funkcjonowaniu i śmierci komórek układu odpornościowego (ryc. 3).



Ryc. 3. Wpływ IL-15 na komórki układu odpornościowego (szczegółowy opis w tekście)

Komórki NK są jednym z elementów wrodzonego układu odpornościowego i stanowią pierwszą linię obrony przed komórkami zakażonymi wirusami oraz nowotworowymi. Zwykle występują w postaci spoczynkowej, jednak w obecności IL-2, -12, -15, -18 i -21 ulegają aktywacji do komórek cytotoksycznych [41, 80]. Komórki NK wykazują konstytutywną ekspresję heterodimeru IL-2R $\beta\gamma$ , a preaktywowane mieszaniną IL-12, -15 i -18, ekspresyjnie funkcjonalny heterotrimeryczny receptor IL-2R $\alpha\beta\gamma$  charakteryzujący się wysokim powinowactwem do IL-2 i zdolnością do przekazania sygnału do wnętrza komórki już przy pikomolowych stężeniach IL-2. To właśnie jego obecność zwiększa proliferację i cytotoksyczność komórek NK, a w środowisku zawierającym IL-15, -18, -12 i pikomolowe stężenie IL-2 – wytwarzanie IFN- $\gamma$  [40]. Interleukina 15 wpływa ponadto na wydzielanie TNF- $\alpha$  oraz GM-CSF i reguluje interakcję komórek NK z komórkami dendrytycznymi oraz makrofagami, zapewniając skoordynowany mechanizm biorący udział w regulacji odporności wrodzonej i promowaniu odpowiedzi adaptacyjnej [18].

Oddziaływanie IL-15 na komórki NK różni się w zależności od środowiska, w którym się te komórki znajdują. Na przykład w macicy, połączone działanie IL-15 i TGF- $\beta$  indukuje powstanie regulatorowych komórek NK. Jest to szczególnie ważne dla prawidłowego rozwoju ciąży [80].

Monocyty i makrofagi (M $\phi$ ) pełnią funkcje efektorowe i regulatorowe we wrodzonej odpowiedzi odpornościowej, m.in. za pośrednictwem uwalnianych do środowiska cytokin zarówno pro-, jak i przeciwzapalnych. Obecność receptorów rozpoznających molekularne wzorce (np. Toll-podobne, zmiatacze) na powierzchni tych komórek umożliwia skuteczne pochłanianie i niszczenie patogenów w procesie fagocytozy [25]. IL-15 ma wpływ na zwiększenie aktywności fagocytarnej zarówno monocytów, jak i makrofagów [18]. W przypadku M $\phi$ , cytokina działa również jako silny autokryny regulator wytwarzania prozapalnych cytokin. Alleva i wsp. wykazali zależny od dawki wpływ IL-15 na makrofagi aktywowane za pomocą LPS. Przy czym, w wysokich stężeniach wspierała wytwarzanie TNF- $\alpha$ , IL-1 i IL-6, podczas gdy w bardzo niskich stężeniach sprzyjała wytwarzaniu IL-10 [3]. Pod wpływem IL-15 ludzkie monocyty są zdolne do sekrecji chemokin typu C-C (białko chemotaktyczne monocytów MCP-1) oraz CXC (IL-8). W regulowaniu ich wytwarzania uczestniczą IFN- $\gamma$  i IL-4. IFN- $\gamma$  wykazuje w tym procesie dychotomię działania: hamuje zależne od IL-15 wydzielanie IL-8, natomiast w obecności IL-15, synergistycznie wzmacnia wytwarzanie MCP-1 [6]. Osobnym zagadnieniem jest udział IL-15 w różnicowaniu się monocytów do komórek dendrytycznych [56, 60].

Komórki dendrytyczne (DC) są profesjonalnymi komórkami prezentującymi antygen (APC) odpowiedzialnymi za aktywację limfocytów T i jednocześnie za regulację odpowiedzi odpornościowej [44, 67]. Komórki dendrytyczne są zdolne do wytwarzania IL-15, jak i IL-15R $\alpha$ , jednak ilość wytwarzanego mRNA kodującego cytokinę i jej

receptor może się zwiększyć w wyniku stymulacji DC za pomocą IFN typu I lub dwuniciowego RNA. Mattei i wsp. wykazali, że DC stymulowane za pomocą IL-15 mają cechy komórek bardziej dojrzałych, wzrasta również ich zdolność do pobudzenia proliferacji limfocytów T CD8 $^+$ . Badacze zaobserwowali również, że IL-15 po podaniu myszom wpływa na śledzionowe DC, które zwiększają wydzielanie IFN- $\gamma$ . Taki wynik sugeruje, że IL-15 może modulować zdolność komórek dendrytycznych do polaryzacji limfocytów T *in vivo* [42].

U myszy z niedoborem podjednostek  $\gamma$  lub  $\beta$  w receptorze R $\beta\gamma$ , wchodzącym w skład receptorów IL-2 i IL-15, DC oraz makrofagi charakteryzują się obniżonym wytwarzaniem IL-12, IFN- $\gamma$  i NO. Podobne zmiany obserwowano u myszy z niedoborem IL-15, ale nie IL-2, co wskazuje, że interakcja IL-15 z jej receptorem jest krytyczna we wczesnej aktywacji APC [49]. Badania na myszach z niedoborem IL-15 (jak i ludzkich DC), które eksponowano na antygeny pochodzenia bakteryjnego wykazały, że wytwarzanie IL-2 przez DC jest ściśle powiązane z ekspresją IL-15 [21].

Neutrofile, będące komórkami zdolnymi do szybkiej migracji w miejsce rozwijającego się stanu zapalnego oraz fagocytozy, mającej na celu eliminowanie patogenów, takich jak bakterie i grzyby pod wpływem IL-15 są również zdolne do syntezy znacznej liczby białek obronnych gospodarza, w tym cytokin i chemokin [43, 70]. Neutrofile ekspresyjnie receptor IL-15 o wysokim powinowactwie (R $\alpha\beta\gamma$ ), którego obecność jest potrzebna do aktywacji wewnątrzkomórkowego sygnału zależnego od kinazy Syk, odpowiedzialnego za zwiększenie właściwości fagocytarnych tych komórek [55]. Jednak IL-15 opóźnia apoptozę neutrofilii aktywując szlaki sygnałowe antyapoptotyczne oraz poprzez zapobieganie utracie ekspresji antyapoptotycznego białka Mcl-1 [51]. W przeciwieństwie do GM-CSF, IL-15 nie aktywuje szlaku Jak2/STAT5 ważnego dla funkcjonowania neutrofilii. Ponadto cytokina ta indukuje aktywację NF- $\kappa$ B [43], co prowadzi do ważnych zmian kształtu komórek typowych dla aktywowanych neutrofilii [26].

Limfocyty B, na poziomie spoczynkowym wydają się niewrażliwe na IL-15. Jednak, aktywowane (jeśli aktywatorem jest rozpuszczalny, rekombinowany CD40L) odpowiadają na IL-15 przez wydzielanie przeciwciał poliklonalnych IgM, IgG1 oraz IgA. W wyniku aktywacji przeciwciałami anty-IgM lub estrem forbolu, cytokina staje się kostymulatorem proliferacji komórek B [5, 31]. Udowodniono, że w warunkach *in vivo* IL-15 może hamować apoptozę indukowaną w mysich limfocytach B przez przeciwciała anty-Fas, anty-IgM i deksametazon. Podobny skutek zaobserwowano w badaniach *in vitro* w ludzkich limfocytach B [13].

Limfocyty T zarówno CD8 $^+$ , jak i CD4 $^+$  odpowiadają w zróżnicowany sposób na obecność IL-15 w środowisku odpowiednio do ich poziomu rozwoju i aktywacji [31, 52].

Wykorzystując myszy z niedoborem IL-15 i IL-15R $\alpha$ , stwierdzono, że IL-15 wpływa na przeżycie limfocytów T CD8 $^+$ : naiwnych komórek CD44 $^{low}$ CD8 $^+$  (przez pobudzenie ekspresji cząsteczki antyapoptotycznej Bcl-2) oraz limfocytów T pamięci CD44 $^{high}$ CD8 $^+$  (przez zwiększenie ekspresji Bcl-2 i Bcl-xL) [79]. Aktywacja obu subpopulacji limfocytów T zależy nie tylko od obecności cytokiny, lecz również od rodzaju stymulatora [35]. Wyniki uzyskane w innych badaniach na myszach z niedoborem IL-15 i IL-15R $\alpha$  wskazały na odmienną rolę IL-15 w pobudzeniu i generowaniu limfocytów T CD8 $^+$  zależnie od rodzaju infekcji wirusowej. Wirus limfocytowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych (LMCV) indukował pierwotną odpowiedź limfocytów T CD8 $^+$  oraz powstawanie limfocytów T pamięci na poziomie podobnym do myszy typu dzikiego, co wskazywało, że IL-15 nie jest konieczna do aktywowania tych komórek [8]. W przypadku wirusa pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (VSV) cytokina ta okazała się niezbędna w prawidłowym przebiegu procesu różnicowania komórek [63]. Wspomniano już wyżej, że IL-15 działa głównie przez prezentację trans-kompleksu IL-15/IL-15R $\alpha$  związanego z błoną komórkową. Jednak uzyskanie znacznego przyrostu liczby komórek pamięci T w dużej mierze zależy od wysokiego poziomu ekspresji łańcucha IL-15R $\beta$  [82]. IL-15 wydaje się, zatem niezbędnym czynnikiem sprawnym w generowaniu komórek T CD8 $^+$  pamięci. Ponadto, wybiórczo sprzyja nie tylko przetrwaniu, proliferacji, lecz także funkcji efektorowej swoistych antygenowo cytotoksycznych limfocytów T, nawet w obecności regulatorowych komórek T [53].

Limfocyty T CD4 $^+$  wymagają do proliferacji dwóch cytokin: IL-7 i IL-15. Silnie pobudzone, za pośrednictwem TCR, limfocyty T pamięci mogą się rozwijać z komórek efektorowych (np. Th1 i Th2) i w procesie bezantygenuowej (non-cognate) aktywacji mogą być utrzymywane przez te cytokiny. Jednak, ze względu na znacznie niższą ekspresję łańcucha IL-15R $\beta$  niż na limfocytach T pamięci CD8 $^+$ , zdolność do przeżycia limfocytów T CD4 $^+$  jest mniej zależna od IL-15 [74]. Skov i wsp. w badaniach nad stymulacją *in vitro* komórek T CD4 $^+$  za pośrednictwem TCR, uzyskali okresową ekspresję CD154 (cząsteczki kostymulującej będącej ligandem np. CD40). Wcześniej aktywowane komórki T CD4 $^+$  reagowały na IL-15 (jak i IL-2) bez konieczności powtórnej aktywacji antygenowej. Stymulacja limfocytów z krwi obwodowej przeciwciałami anti-CD3 i anti-CD28 doprowadziła w tych badaniach do przedłużonej ekspresji CD154, a IL-15 wytwarzana przez aktywowane APC zwiększała ekspresję CD154, sprzyjając powstawaniu sprzężenia zwrotnego i uwzględniając współzależność ścieżek sygnałowych CD28 i CD40 podczas interakcji komórki T-APC [66].

Czynniki kontrolujące homeostazę komórek T pamięci CD4 $^+$  mogą się znacznie różnić w zależności od poziomu dojrzałości lub ich aktywacji, ponieważ IL-15 selektywnie promuje proliferację efektorowych komórek T pamięci CD4 $^+$ , ale nie „centralnych” komórek T pamięci [12]. Nie wyjaśniono jednak, w jaki sposób przyczynia się do utrzymania długotrwałej pamięci odpornościowej.

W badaniach Ahmeda i wsp. IL-15 wpływała na powstawanie komórek T regulatorowych w obecności TGF- $\beta$ , gdy komórki te wcześniej aktywowano przeciwciałami anti-CD3 i -CD28. Jednak przez pobudzenie szlaku sygnałowego PI3-K, IL-15 chroniła ludzkie limfocyty T przed supresyjnym działaniem Treg CD4 $^+$ CD25 $^+$ FoxP3 $^+$ . Jest to pewien rodzaj dualizmu kontroli działania komórek Treg, pomocny w tworzeniu krótkotrwałej prozapalnej odpowiedzi odpornościowej przeciwko patogenom (np. z udziałem IFN- $\gamma$ ), ale potencjalnie szkodliwej, gdy nadekspresja IL-15 jest przedłużona [9]. Istotnym skutkiem regulatorowego działania IL-15 jest możliwość zahamowania śmierci efektorowych limfocytów indukowanej przez IL-2. Przedłużenie wytwarzania IL-15 może zatem odgrywać kluczową rolę w rozwoju wielu autoimmunologicznych lub przewlekłych zaburzeń zapalnych.

Innym zagadnieniem jest wpływ IL-15 na proliferację ludzkich komórek T pamięci CD4 $^+$ CD28 $^-$  oraz zwiększenie się ich właściwości cytotoksycznych przez wzrost mRNA i gromadzenie granzymu B i perforyny. Może to odgrywać rolę wzmacniającą ich funkcję efektorową na swoiste przewlekle występujące antygeny [4].

#### WŁAŚCIWOŚCI PRONOWOTWOROWE IL-15

Zachowanie homeostazy komórek limfoidalnych obejmuje utrzymanie szerokiego repertuaru komórek naiwnych T, B i NK, eliminację komórek efektorowych i długotrwałe przeżycie komórek pamięci. Interleukina 15 ma znaczący wpływ na wszystkie te etapy życia i działania komórek odpornościowych, jednak wykazuje podobny wpływ na odpowiedniki nowotworowe tych komórek, inicjując i promując powstawanie, proliferację i przeżycie komórek nowotworów rozrostowych, takich jak szpiczak mnogi (MM), chłoniaki: skórny z komórek T (CTCL), grudkowy (FL), Hodgkina (HL), z limfocytów T związany z enteropatią (EATL), białaczki dużych ziarnistych limfocytów (LGL), B-przewlekła białaczka limfocytowa (B-CLL) i białaczki dorosłych komórek T (ATL). Przykładowo, szpiczak mnogi charakteryzuje się nagromadzeniem w szpiku kostnym nowotworowych komórek plazmatycznych o dużej wrażliwości na IL-15. Zarówno komórki linii MM, jak i komórki pobrane od pacjentów ekspresują heterotrimeryczny receptor IL-15. Umożliwia to stałą reakcję na autokrynnie wytwarzaną cytokinę, w przeciwnieństwie do zdrowych komórek B, które w odpowiedzi na IL-15 obniżają ekspresję IL-15R $\alpha$ . Jak wykazano w badaniach *in vitro*, IL-15 chroni komórki nowotworowe przed spontaniczną apoptozą lub indukowaną śmiercią i może utrzymywać je przy życiu niezależnie od wpływu mikrośrodowiska. Skórny chłoniak T-komórkowy (CTCL) jest spowodowany niekontrolowanym rozrostem komórek T w skórze. Komórki T skórne i z krwi obwodowej pacjentów z CTCL wykazują nadekspresję mRNA *il15* i jej białka. Przeżycie nowotworowych komórek T CD4 $^+$  jedynie w późnym etapie wzrostu nowotworu zależy od autokrynnego wytwarzania IL-15. We wczesnych stadiach CTCL,

IL-15 jest dostarczana przez komórki mikrośrodowiska. Istnieją przesłanki, że, działając jako silny chemoatraktant komórek T, parakryny i autokryny czynnik żywotności i populacji komórkowej, a także inhibitor indukowanej śmierci komórki, IL-15 odgrywa istotną rolę w patogenezie CTCL. Białaczka T-komórkowa (białaczka dorosłych komórek T, ATL) jest związana z transaktywacją genu ludzkiego wirusa HTLV-1, odpowiedzialnego za wytwarzanie wirusowego białka TAX prowadzącego do transformacji nowotworowej komórek ekspresujących zarówno IL-15, jak i IL-15R $\alpha$ . Autokryny pętla IL-15 wspiera proliferację tych komórek odgrywając rolę w rozwoju i postępie choroby. W białaczkach dużych ziarnistych limfocytów blasty białaczkowe wykazują konstytutywną ekspresję IL-15R $\alpha$  i IL-15R $\beta\gamma$  oraz IL-15 związanej z błoną komórkową. Długotrwała aktywacja tych komórek za pośrednictwem IL-15 powoduje wzrost zaburzenia limfoproliferacyjnego i może indukować rozrost białaczkowy, w przeciwieństwie do krótkotrwałej ekspozycji na IL-15 powodującej w prawidłowych LGL nie tylko zwiększoną proliferację, ale wytwarzanie cytokin i cytotoksyczność. Szlaki sygnałowe aktywowane przez IL-15 są kluczowe w powstawaniu białaczki LGL. Mutacje somatyczne w domenie SH2 STAT3 odkryto u 40% pacjentów z białaczką T-LGL i 30% u pacjentów z białaczką NK-LGL. Rozwój spontanicznych białaczek T- i NK-LGL mających znamiona ludzkiej choroby wykazano u transgenicznych myszy z nadekspresją IL-15, a chroniczna ekspozycja myszy typu dzikiego LGL na IL-15 okazała się wystarczająca do zainicjowania złośliwej transformacji tych komórek [19, 45].

Podsumowując, dualizm działania IL-15 zawiera się w jej plejotropowości i jest szczególnie widoczny w kolejnych etapach życia i działania komórek układu odpornościowego. W działaniu pronowotworowym cytokina uruchamia te same mechanizmy, co przy aktywacji prawidłowych komórek odpornościowych. Końcowy wynik zależy natomiast od wielkości i długości wydzielania wolnej IL-15 lub przedłużonej ekspresji receptorów o wysokim powinowactwie odpowiadających na autokrynie wytwarzaną IL-15. Wszystkie uzyskane dane o biologii i funkcji IL-15 dostarczają informacji istotnych dla projektowania jej zastosowania terapeutycznego w zwalczaniu nowotworów litych.

## ZASTOSOWANIE IL-15 W EKSPERYMENTALNEJ TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

### Rekombinowana IL-15

Pierwsze próby wykorzystania IL-15 w zwalczaniu nowotworów były prowadzone na mysich oraz ludzkich modelach z użyciem rekombinowanej cytokiny (tabela 1). Podstawą tej monoterapii było założenie, że mimo pewnych ograniczeń w uzyskaniu dużej skuteczności terapeutycznej, IL-15 podana zarówno miejscowo, jak i ogólnoustrojowo charakteryzuje się mniejszą toksycznością i powinna mieć lepsze działanie terapeu-

tyczne niż IL-2 [19, 47]. Jednym z takich ograniczeń okazało się, stwierdzone w badaniach *in vitro*, podobieństwo oddziaływania IL-2 i IL-15 na komórki układu odpornościowego poprzez wspólny dla całej rodziny cytokin receptor R $\beta\gamma$ . Zastosowanie zarówno IL-2, jak i IL-15 wpływa analogicznie na odpowiedź komórek T pamięci i wzbudzenie tolerancji komórek T. Jednak, w przeciwieństwie do IL-2, IL-15 nie wchodzi w interakcje z komórkami Treg ani nie indukuje aktywowanej śmierci komórkowej. Natomiast zróżnicowany efekt biologiczny *in vivo* tych cytokin uwarunkowany jest ich wiązaniem się ze swoistymi łańcuchami  $\alpha$  (IL-2R $\alpha$  lub IL-15R $\alpha$ ), co indukuje odmienne populacje komórek układu odpornościowego [22].

Tang i wsp. zbadali wpływ rhIL-15 na rozwój gruczolakoraka płuc LA795, uzyskując opóźnienie powstawania i wzrostu guza. Zastosowanie IL-15 spowodowało ponadto odrzucenie przeszczepu sprawdzającego, wskazując tym samym na rozwinięcie się pamięci immunologicznej przeciwko rosnącemu nowotworowi. Obserwowano znaczące zwiększenie aktywności śledzionowych komórek NK i CTL uzyskanych od myszy traktowanych rhIL-15, sugerujące, że działanie przeciwnowotworowe rhIL-15 *in vivo* zostało osiągnięte przez zwiększenie aktywności tych komórek [69].

Niezależnie zbadano skuteczność terapeutyczną rekombinowanej mysiej IL-15 (rmIL-15) w mysim modelu przerzutów raka żołądka do wątroby (LMGC), w których komórki MKN45-GFP (komórki MKN45 wykazujące ekspresję zielonego białka fluorescencyjnego GFP) wstrzyknięto myszom do mięszu śledziony. Porównano efekty podania różnych dawek rmIL-15 (2,5-0,2  $\mu$ g cytokiny) i wykazano, że niezależnie od dawki, rmIL-15 zmniejszała przerzutowanie do wątroby. Zastosowanie wysokiej dawki rmIL-15 zapewniło przedłużone przeżycie myszy oraz silniejszą aktywność cytotoksyczną komórek NK izolowanych z wątroby w porównaniu do pozostałych grup [77].

### Agoniści IL-15

Ze względu na krótki czas półtrwania IL-15 w surowicy do uzyskania efektu terapeutycznego konieczne jest podawanie wysokich dawek cytokiny i zastosowanie powtarzających się iniekcji, które zwykle wywołują działania niepożądane. Wprowadzono więc kilka modyfikacji w sposobie dostarczania IL-15, mających na celu np. wydłużenie okresu półtrwania w organizmie [57] lub wykorzystanie dominującego sposobu jej prezentacji (trans), w której kompleks IL-15/IL-15R $\alpha$  ekspresjonowany przez komórki prezentujące antygen wiąże się z heterodimerem IL-15R $\beta\gamma$  na naiwnych komórkach T lub komórkach NK. Może być wykorzystywana przez komórki już zaktywowane lub w procesie aktywacji autokryny.

W celu poprawy aktywności biologicznej kompleksu i możliwości jego wiązania się z komórkami docelowymi zapoczątkowano poszukiwania analogów IL-15R $\alpha$  [29]. Zaprojektowano wiele nowych cząsteczek.



**Tabela 1.** Przykłady zastosowania IL-15 w terapii przeciwnowotworowej

Forma IL-15	Dodatkowy element terapii	Typ nowotworu	Efekt	Literatura
<b>Rekombinowana IL-15</b>				
rhIL-15	-	mysi gruczolakorak płuc LA795	↓tworzenie i wzrost guza; ↑długotrwała przeciwnowotworowa odporność ogólnoustrojowa; ↑aktywność komórek CTL i NK	[69]
rmIL-15	-	model przerzutów raka żołądka do wątroby (LMGC) – komórki ludzkiego raka żołądka MKN45	↓przerzuty; ↑przeżycie; ↑aktywność cytotoksyczna komórek NK	[77]
<b>Agoniści IL-15</b>				
RLI	-	mysie komórki czerniaka B16F10; ludzkie komórki raka jelita grubego HCT-116;	↓przerzuty do płuc i wątroby; ↑przeżycie  ↓wzrost nowotworu	[11, 46]
ALT-803	-	mysi rak pęcherza moczowego;	↓masa guza; ↑aktywacja komórek CD8 <sup>+</sup> , NK i NKT	[23]
ALT-803	przeciwciało anty-PD-L1	mysi rak jelita grubego MC38-CEA; mysi rak piersi 4T1 TN;	↓przerzuty do płuc (4T1); ↓obciążenie guzem; ↑przeżycie; ↑liczba CD8 <sup>+</sup> i NK ↑granzym B i IFN-γ	[37]
ALT-803	NEO-201	ludzkie nowotwory: trzustki: ASPC-1 i CFPAC-1; piersi: ZR-75-1; płuc: H520 i HCC827;	↑ADCC; ↑cytotoksyczność i żywotność NK	[20]
N-809	-	ludzkie nowotwory: płuc H441; szyjki macicy CaSki; piersi MDA-MB-231;	↑proliferaacja komórek T CD4 <sup>+</sup> i CD8 <sup>+</sup> ↑cytotoksyczność komórek T CD8 <sup>+</sup> i NK	[32]
15-sIL-15Rα/Fc	przeciwciało anty-PD-1	ludzki rak jelita grubego HT-29;	↓wzrost guza	[83]
<b>Terapie genowe</b>				
rAAV-IL-15/IL-15Rα	-	Lewis lung carcinoma; czerniak B16F10;	↓wzrost guza ↑przeżycie	[81]
vvDDIL15-Rα	przeciwciało anty-PD-1	mysi rak jelita grubego MC38; mysi rak jajnika ID8;	↑przeżycie ↓wzrost guza	[38]
<b>Szczepionki komórkowe</b>				
IL-15/IL-15Rα EP DC	-	ostra białaczka szpikowa (AML);	↑IFN-γ, granzym B, perforyny ↑cytotoksyczność	[73]
32Dp210-IL-15 / IL-15Rα / CD80	-	ostra białaczka szpikowa (AML);	↑aktywacja limfocytów cytotoksycznych ↑aktywność cytotoxiczna	[64]

Jedną z pierwszych cząsteczek stał się receptor-linker-IL-15 (RLI, 211 aminokwasów), cząsteczka będąca białkiem fuzyjnym składającym się z N-końcowej domeny sushi<sup>+</sup> ludzkiej IL-15Rα (77 aminokwasów) kowalencyjnie sprzężonej przez nieimmunogeny łącznik reszt glicyny-seryny do dojrzałej sekwencji IL-15 [46].

RLI omijający potrzebę obecności endogennego IL-15Rα, działa jako selektywny i silny agonista szlaku IL-15 poprzez IL-15Rβγ. Besard i wsp. wykazali, że RLI zmniejsza przerzuty w płucach i wątrobie oraz zwiększa przeżycie myszy w mysim modelu czerniaka B16F10 w stosunku do terapii samą IL-15 lub IL-2. Uzyskany

rezultat okazał się związany z działaniem komórek NK. W modelu ortotopowym ludzkiego raka jelita grubego, podanie RLI spowodowało redukcję o 50% wzrostu guza oraz przerzutów u myszy szczepu Nude [11]. Jednak RLI ograniczał wzrost guza w tym modelu tylko wtedy, gdy podany w charakterze monoterapii został zastosowany we wczesnym okresie rozwoju guza. W późniejszym okresie wzrostu guza RLI był nieskuteczny. W modelach raka okrężnicy CT26 i MC38 zastosowanie RLI w połączeniu z terapią anti-PD-1 znacznie opóźniło wzrost guza i przedłużało przeżycie myszy obciążonych guzem oraz indukowało większą akumulację komórek T pamięci CD8<sup>+</sup> i silniejszą funkcję efektorową w porównaniu z IL-15. Zwiększenie efektu terapeutycznego RLI stwierdzono również w badaniach *ex vivo* materiału pobranego od pacjentów z rakiem nerki [17].

Innym sposobem modyfikacji interleukiny 15 jest stworzenie jej superagonisty – cząsteczki ALT-803 [15]. ALT-803 zawiera zmutowaną postać IL-15 (IL-15N72D), która wykazuje 4–5-krotny wzrost aktywności biologicznej w porównaniu z IL-15 typu natywnego ze względu na lepsze powinowactwo do łańcucha  $\beta$  receptora IL-2. W ALT-803, IL-15N72D jest związana z dimeryczną podjednostką alfa receptora IL-15 połączoną z fragmentem Fc immunoglobuliny IgG. Taki kompleks wykazuje większą aktywność *in vivo* oraz charakteryzuje się znacznie dłuższym okresem półtrwania w surowicy niż IL-15 [78, 84]. W ortotopowym mysim modelu raka pęcherza, kompleks ALT-803 spowodował znaczące zmniejszenie guza oraz aktywację komórek T CD8<sup>+</sup>, NK i NKT, po podskórnym podaniu preparatu [23].

ALT-803 stosowany jest nie tylko w postaci monoterapii, ale również w połączeniu m.in. z przeciwciałami anti-PD-L1 lub NEO-201. Knudson i wsp. zbadali wpływ związku N-803, uprzednio ALT-803, na rozwój nowotworów 4T1 i MC38-CEA. Podanie tego związku z przeciwciałami anti-PD-L1 zmniejszało przerzuty nowotworu 4T1 do płuc oraz obciążenie nowotworem MC38-CEA wydłużało również przeżycie leczonych myszy w porównaniu do skutków podania samej cząsteczki lub przeciwciała anti-PD-L1. Skuteczność terapii skojarzonej była związana ze zwiększoną liczbą aktywowanych komórek T CD8<sup>+</sup> jak i NK w płucach i śledzionie. Większość zmian w fenotypie i liczbie komórek NK i T CD8<sup>+</sup> była spowodowana przez ALT-803. Jednak jego skojarzenie z przeciwciałami anti-PD-L1 poprawiło funkcję efektorową komórek CD8<sup>+</sup> (zwiększone wytwarzanie granzymu B i IFN- $\gamma$  w miejscu przerzutów) w porównaniu do zastosowanych monoterapii [37]. Fantini i wsp. zbadali zdolność ALT-803 do modulowania cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciała (ADCC) wywołanej przez humanizowane przeciwciała monoklonalne IgG1 NEO-201 skierowane przeciwko ludzkim komórkom raka. Wykazano, że ALT-803 znacząco wzmacnia ADCC, w którym pośredniczy NEO-201. Ponadto pod wpływem działania ALT-803 dochodzi do nadekspresji receptorów aktywujących komórki NK, czynników antyapoptotycznych i czynników zaangażowanych w cytotoksyczność komórek NK [20].

Opisywano ponadto wykorzystanie agonistów IL-15 z przeciwciałem anti-PD-1. Kompleks składający się z IL-15 i zewnątrzkomórkowego regionu IL-15R $\alpha$  połączony z fragmentem Fc IgG1 (IL-15-sIL-15R $\alpha$ /Fc) powodował zahamowanie wzrostu guza u myszy obciążonych nowotworem HT-29. Terapia łączona z przeciwciałem dodatkowo wzmacniała to działanie [83].

Nowym sposobem modyfikacji IL-15 w celu zwiększenia jej aktywności i czasu półtrwania stało się bifunkcyjne białko fuzyjne N-809, które jest połączeniem superagonisty ALT-803 z dwiema jednołańcuchowymi domenami przeciwciała anti-PD-L1 o takiej samej zdolności wiązania PD-L1 co monoklonalne przeciwciała anti-PD-L1. Cząsteczka N-809 zdolna była do indukowania zmiany poziomu ekspresji genów w ludzkich komórkach T CD8<sup>+</sup> i CD4<sup>+</sup> oraz komórkach NK. Ekspozycja na N-809 zwiększała proliferację limfocytów oraz zdolność lityczną zarówno komórek T CD8<sup>+</sup>, jak i komórek NK wobec komórek nowotworowych [32].

### Terapia genowa

Inną strategią wykorzystywaną w terapii przeciwnowotworowej jest modyfikacja komórek tak, aby ekspresywały interesujące nas geny. Xiao i wsp. wykorzystali rekombinowany wektor wirusowy (rAAV) o wysokim powinowactwie do adipocytów, aby doprowadzić do nadekspresji IL-15/IL-15R $\alpha$  w tkance tłuszczowej. Dootrzewnowe wstrzyknięcie kompleksu rAAV-IL-15/IL-15R $\alpha$  znacząco zahamowało wzrost raka płuc Lewisa wszczepionego podskórnym i wydłużyło przeżycie myszy z czerniakiem B16F10. Działanie przeciwnowotworowe było związane z ekspansją komórek NK we krwi, śledzionie, tłuszczu brzuszny i guzie, a także ze zwiększeniem dojrzałości komórek NK [81].

Kowalski i wsp. zastosowali w terapii raka jelita grubego MC38 oraz raka jajnika ID8 onkolityczny wirus krowianki (VV) do wprowadzenia białka fuzyjnego złożonego z IL-15 i IL-15R $\alpha$ . Powstały wirus o nazwie vvDD-IL15-R $\alpha$  i o podobnej wydajności replikacji co wirus rodzicielski vvDD, powodował znaczącą regresję choroby i przedłużenie życia myszy obciążonych rosnącymi nowotworami. Połączenie immunoterapii onkolitycznej z podaniem przeciwciała anti-PD-1 zauważalnie poprawiło wynik terapeutyczny w porównaniu z samymi anti-PD-1 lub samym vvDD-IL15-R $\alpha$ . Można zatem stwierdzić, że wirusy onkolityczne ekspresjonujące białko fuzyjne IL-15/IL-15R $\alpha$  wywołują silną odpowiedź przeciwnowotworową, a ich racjonalne połączenie z blokadą PD-1 prowadzi do ostrej regresji guza i przedłuża przeżycie myszy z rakiem okrężnicy lub jajnika [38].

### Szczepionki komórkowe

Skutkiem zastosowania konwencjonalnych terapii przeciwnowotworowych są znaczne uszkodzenia tkanki nowotworowej i uwalnianie antygenów, zapewniające podobne do szczepienia warunki aktywacji odpowiedzi

odpornościowej. Alternatywą dla endogennego uwalniania antygenów nowotworowych stają się szczepionki przeciwnowotworowe na bazie komórkowej, które ze względu na ich immunogeny charakter coraz chętniej są akceptowane w immunoterapii jako nowatorskie podejście terapeutyczne [16].

Shi i wsp. opracowali szczepionkę na bazie autologicznych komórek ostrej białaczki szpikowej (AML) zdolnych do ekspresji cząsteczek IL-15/IL-15R $\alpha$  oraz CD80. W testach *ex vivo* traktowanie szczepionką 32Dp210-IL-15/IL-15R $\alpha$ /CD80 stymulowało najwyższy poziom aktywności cytolitycznej w porównaniu z efektem szczepienia 32Dp210-IL-15/IL-15R $\alpha$ , 32Dp210-CD80 lub niezmodyfikowanym komórkami 32Dp210. Widoczne było synergistyczne działanie CD80 i IL-15/IL-15R $\alpha$  w celu indukcji limfocytów cytotoksycznych zdolnych do wytwarzania IFN- $\gamma$  [64].

Inna grupa badaczy opracowała szczepionki na bazie komórek dendrytycznych pochodzących z monocytów, modyfikowanych do wytwarzania IL-15. Za pomocą elektroporacji wprowadzili do wnętrza tych komórek mRNA IL-15 i/lub IL-15R $\alpha$ . Zastosowanie kompleksu IL-15/IL-15R $\alpha$  umożliwiło wykorzystanie transprezentacji IL-15 do zwiększenia wydzielania IFN- $\gamma$ , granzymu B i perforyn przez komórki NK w porównaniu z działaniem samej IL-15. Komórki NK, pobrane od zdrowych dawców i pacjentów z ostrą białaczką szpikową w remisji, hodowane z komórkami dendrytycznymi transprezentującymi IL-15, wykazywały wyraźnie zwiększoną aktywność cytotoksyczną wobec komórek nowotworowych [73].

### Badania kliniczne

Obiecujące wyniki eksperymentalnych terapii przeciwnowotworowych z udziałem IL-15 doprowadziły do

**Tabela 2.** Pierwsze próby zastosowania IL-15 w badaniach klinicznych

Forma IL-15	Status rekrutacji	Faza	Typ nowotworu	Interwencja / leczenie	Numer identyfikacyjny
rhIL-15	rekrutowanie	I	nowotwory odporne na leczenie; przerzutujące nowotwory lite;	ipilimumab nivolumab	NCT03388632
rhIL15	zakończony	I	guzy lite; nowotwór mózgu; mięsak; nowotwory dziecięce; neuroblastoma;	infuzja komórek NK	NCT01875601
rhIL15	zakończony	I	chłoniak; rak;		NCT01572493
ALT-803	zakończony	I	zaawansowane guzy lite;		NCT01946789
rhIL15	rekrutowanie	I	chłoniak anaplastyczny z dużych komórek; chłoniak z obwodowych komórek T, bliżej nieokreślony; zespół Sezary'ego;	avelumab	NCT03905135
ALT-803	aktywny, nierekrutujący	I II	ostra białaczka szpikowa (AML); ostra białaczka limfoblastyczna (ALL); zespoły mielodysplastyczne (MDS); chłoniak; szpiczak; przewlekła białaczka limfocytowa (CLL); przewlekła białaczka szpikowa (CML);		NCT01885897
iC9/CAR.19/IL15- Transdukowane CB-NK	rekrutowanie	I II	nowotwory B-limfoidalne; ostra białaczka limfocytowa; przewlekła białaczka limfocytowa; chłoniak nieziarnicy;	fludarabina cyklofosfamid mesna AP1903	NCT03056339
Komórki NK dawcy aktywowane IL-15	zakończony	II	ostra białaczka szpikowa;	fludarabina cyklofosfamid	NCT02395822
ALT-803	aktywny, nierekrutujący	I	zaawansowany rak trzustki;	gemcytabina nab-paklitaksel	NCT02559674
ALT-803	rekrutowanie	I II	rak pęcherza moczowego;	BCG	NCT02138734
IL15-DC	zakończony	I II	czerniak złośliwy stadium III i IV;		NCT01189383

rozpoczęcia wielu badań klinicznych (tabela 2). Zarejestrowane są badania opierające się na monoterapii ludzką rekombinowaną IL-15 (rhIL-15) (NCT01572493), jednak dominujące są terapie skojarzone. Przykładem mogą być badania łączące ludzką rekombinowaną IL-15 (rhIL-15) z przeciwciałami monoklonalnymi o nazwach handlowych Ipilimumab, Nivolumab (NCT03388632) czy Avelumab (NCT03905135), które są obecnie na etapie rekrutacji w I fazie badań klinicznych. Innym przykładem jest terapia łącząca rhIL-15 z infuzją komórek NK (NCT01875601).

Zwiększa się liczba prób klinicznych z zastosowaniem ALT-803. Zakończyła się pierwsza faza badań klinicznych, mająca na celu zbadanie bezpieczeństwa i immunogenności, właściwości immunomodulujących oraz korzyści klinicznych wynikających z leczenia polegającego na cotygodniowym wstrzyknięciu dożylnym preparatu ALT-803 u pacjentów z zaawansowanymi guzami litymi (NCT01946789). Właściwości ALT-803 badane są również u pacjentów z: ostrą białaczką szpikową, ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL), zespołem mielodysplastycznym (MDS), chłoniakiem, szpiczakiem, przewlekłą białaczką limfocytową (CLL) oraz przewlekłą białaczką szpikową (CML) (NCT01885897). ALT-803 podawano 33 pacjentom dożylnie (IV) lub podskórnie (SQ) jeden raz w tygodniu w czterech różnych dawkach (1, 3, 6 i 10 mg/kg masy ciała). ALT-803 był dobrze tolerowany i nie zaobserwowano toksyczności ograniczającej dawkę. Działania niepożądane po podaniu dożylnym obejmowały objawy konstytucyjne czasowo związane ze zwiększonym stężeniem IL-6 i IFN- $\gamma$  w surowicy. Dostarczenie SQ spowodowało samoograniczające się wysypki w miejscu wstrzyknięcia infiltrowane limfocytami bez ostrych objawów konstytucyjnych. ALT-803 stymulował aktywację, proliferację i ekspansję komórek NK i komórek T CD8<sup>+</sup> bez zwiększania liczby regulatorowych komórek T. Odpowiedzi zaobserwowano u 19% ocenianych pacjentów. Zatem ALT-803 jest bezpiecznym, dobrze tolerowanym środkiem, który znacznie zwiększył liczbę i funkcję komórek T NK i CD8<sup>+</sup> [59]. Zarejestrowane są również terapie łączące ALT-803 m.in. z gemcytabiną i nab-paklitaksem (NCT02559674) oraz z BCG (Bacillus Calmette-Guérin) (NCT02138734). Zakończono II fazę badań klinicznych łączącą chemioterapię, podawanie aktywowanych interleukiną 15 komórek NK oraz podskórne podawanie tej cytokiny u dorosłych z nawrotową lub oporną na leczenie ostrą białaczką szpikową (NCT02395822). Szesnastu pacjentów otrzymało podskórnie (SC) ustaloną podczas fazy I dawkę rhIL-15 (2,0 mg/kg). Iniekcje były wykonywane jeden raz dziennie przez 5 dni, następnie po dwóch dniach przerwy jeden raz dziennie przez kolejnych 5 dni. Ekspansję komórek NK w 14 dniu obserwowano u 27% pacjentów, a 40% osiągnęło remisję. Zaobserwowano jednak zespół uwalniania cytokin (CRS) u 56% pacjentów (ze współistniejącą toksycznością neurologiczną u 5 z 9 pacjentów) [15]. W I/II fazie są badania łączące fludarabinę, cyklofosfamid i modyfikowane komórki CAR-NK [NCT03056339]. Terapia polega na podawaniu fludarabiny i cyklofosfamidu

oraz mesny przez 3 kolejne dni, a następnie podaniu komórek CB-NK transdukowanych iC9/CAR.19/IL15. Jeśli uczestnik cierpi na chorobę przeszczep przeciw gospodarzowi (GvHD) lub zespół uwalniania cytokin po wlewie komórek NK, otrzymuje AP1903 oraz steroidy. Trwają również próby kliniczne wykorzystujące szczepionki na bazie komórek dendrytycznych stymulowanych interleukiną 15 w zwalczaniu czerniaka [NCT01189383].

## **PERSPEKTYWY IL-15 W TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ**

Mimo wielu dziesięcioleci prób opracowania skutecznej strategii przeciwnowotworowej i ogromnego postępu, jaki dokonał się w poznaniu biologii nowotworów oraz interakcji między nimi a układem odpornościowym, brakuje wciąż pełnego zrozumienia istotnych aspektów umożliwiających racjonalne manewrowanie odpornością, zwłaszcza w terapiach spersonalizowanych. Immunoterapia stosowana w charakterze monoterapii daje zwykle krótkotrwałe wyniki. Rosnąca skuteczność kombinowanej terapii opiera się na połączeniu konwencjonalnych metod leczenia oraz immunologicznego wspomaganie odnowy i polaryzacji odpowiedzi odpornościowej. Co więcej, poznanie sposobu działania wielu składowych układu odpornościowego zdolnych do pobudzenia i ukierunkowania odpowiedzi stwarza możliwości ich wykorzystania do wydłużenia pozytywnych efektów leczenia jak i lepszego określenia grupy docelowej dla danej terapii. Najbardziej rozpowszechnioną postacią immunoterapeutyków są przeciwciała skierowane przeciwko białkom powierzchniowym zarówno komórek nowotworowych, jak i aktywowanych komórek odpornościowych. Innym rodzajem preparatów już wprowadzonym do praktyki klinicznej są cytokiny i/lub ich kompleksy z receptorami. Jedną z bardziej obiecujących jest IL-15 skomplexowana ze swoistym łańcuchem receptora, a w celu przedłużenia jej działania, z wielkośćcząsteczkowymi konstruktami zawierającymi np. łańcuchy przeciwciał przeciwko biologicznie ważnym białkom powierzchniowym. Plejotropowy zakres działalności IL-15 umożliwiający modulowanie supresji jak i promowanie aktywacji mechanizmów odpornościowych zmusza do świadomego korzystania z potencjału tej cytokiny. Temu celowi mają służyć jej modyfikacje, np. projektowanie wieloelementowych cząsteczek, zawierających IL-15 i/lub jej receptor. Dowodem zainteresowania takimi konstruktami jest ich wykorzystanie w rosnącej liczbie badań klinicznych.

W wysiłkach stworzenia bardzo celowanego terapeutyku zawierającego IL-15 uczestniczy również biologia molekularna, czego dowodem jest konstruowanie skutecznych nośników genów, kompleksu IL-15 z receptorem zarówno w oparciu o nośniki wirusowe, jak i zmodyfikowane komórki odpornościowe. Wśród badań już wdrażanych zastosowano komórki NK. Komórki dendrytyczne są kolejnymi komórkami wymagającymi szczegółowego rozważenia, ze względu na znaczącą rolę w wytwarzaniu i wykorzystaniu IL-15 do tworzenia ścisłych interakcji z komórkami odpornościowymi, zwłaszcza z komórkami NK.

Wykorzystanie komórek dendrytycznych modyfikowanych do wytwarzania IL-15 wydaje się prostą drogą do przyspieszenia badań klinicznych nad wykorzystaniem

tej cytokiny jako narzędzia w skutecznej walce z chorobami nowotworowymi.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Akdis M., Aab A., Altunbulakli C., Azkur K., Costa R.A., Cramer R., Duan S., Eiwegger T., Eljaszewicz A., Ferstl R., Frei R., Garbani M., Globinska A., Hess L., Huitema C. i wsp.: Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor  $\beta$ , and TNF- $\alpha$ : Receptors, functions, and roles in diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2016; 138: 984–1010
- [2] Ali A.K., Nandagopal N., Lee S.H.: IL-15-PI3K-AKT-mTOR: A critical pathway in the life journey of natural killer cells. *Front. Immunol.*, 2015; 6: 355
- [3] Alleve D.G., Kaser S.B., Monroy M.A., Fenton M.J., Beller D.I.: IL-15 functions as a potent autocrine regulator of macrophage proinflammatory cytokine production: evidence for differential receptor subunit utilization associated with stimulation or inhibition. *J. Immunol.*, 1997; 159: 2941–2951
- [4] Alonso-Arias R., Moro-García M.A., Vidal-Castiñeira J.R., Solano-Jaurrieta J.J., Suárez-García F.M., Coto E., López-Larrea C.: IL-15 preferentially enhances functional properties and antigen-specific responses of CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> compared to CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> T cells. *Aging Cell*, 2011; 10: 844–852
- [5] Armitage R.J., Macduff B.M., Eisenman J., Paxton R., Grabstein K.H.: IL-15 has stimulatory activity for the induction of B cell proliferation and differentiation. *J. Immunol.*, 1995; 154: 483–490
- [6] Badolato R., Ponzi A.N., Millesimo M., Notarangelo L.D., Musso T.: Interleukin-15 (IL-15) induces IL-8 and monocyte chemotactic protein 1 production in human monocytes. *Blood*, 1997; 90: 2804–2809
- [7] Balkwill F.R., Capasso M., Hagemann T.: The tumor microenvironment at a glance. *J. Cell. Sci.*, 2012; 125: 5591–5596
- [8] Becker T.C., Wherry E.J., Boone D., Murali-Krishna K., Antia R., Ma A., Ahmed R.: Interleukin 15 is required for proliferative renewal of virus-specific memory CD8 T cells. *J. Exp. Med.*, 2002; 195: 1541–1548
- [9] Ben Ahmed M., Belhadj Hmidia 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
- [10] Bergamaschi C., Bear J., Rosati M., Beach R.K., Alicea C., Sowder R., Chertova E., Rosenberg S.A., Felber B.K., Pavlakis G.N.: Circulating IL-15 exists as heterodimeric complex with soluble IL-15R $\alpha$  in human and mouse serum. *Blood*, 2012; 120: e1–e8
- [11] Bessard A., Solé V., Bouchaud G., Quémener A., Jacques Y.: High antitumor activity of RLI, an interleukin-15 (IL-15)-IL-15 receptor  $\alpha$  fusion protein, in metastatic melanoma and colorectal cancer. *Mol. Cancer Ther.*, 2009; 8: 2736–2745
- [12] Boyman O., Létourneau S., Krieg C., Sprent J.: Homeostatic proliferation and survival of naïve and memory T cells. *Eur. J. Immunol.*, 2009; 39: 2088–2094
- [13] Budagian V., Bulanova 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] Castillo E.F., Schlus K.S.: Regulating the immune system via IL-15 transpresentation. *Cytokine*, 2012; 59: 479–490
- [15] Cooley S., He F., Bachanova V., Vercellotti G.M., DeFor T.E., Curt-singer J.M., Robertson P., Grzywacz B., Conlon K.C., Waldmann T.A., McKenna D.H., Blazar B.R., Weisdorf D.J., Miller J.S.: First-in-human trial of rhIL-15 and haploidentical natural killer cell therapy for advanced acute myeloid leukemia. *Blood Adv.*, 2019; 3: 1970–1980
- [16] Coventry B.J.: Therapeutic vaccination immunomodulation: forming the basis of all cancer immunotherapy. *Ther. Adv. Vaccines Immunother.*, 2019; 7: 2515135519862234
- [17] Desbois M., Le Vu P., Coutzac C., Marcheteau E., Béal C., Terme M., Gey A., Morisseau S., Teppaz G., Boselli L., Jacques Y., Bécharde D., Tartour E., Cassard L., Chaput N.: IL-15 *trans*-signaling with the superagonist RLI promotes effector/memory CD8<sup>+</sup> T cell responses and enhances antitumor activity of PD-1 antagonists. *J. Immunol.*, 2016; 197: 168–178
- [18] Di Sabatino A., Calarota S.A., Vidali F., Macdonald T.T., Corazza G.R.: Role of IL-15 in immune-mediated and infectious diseases. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2011; 22: 19–33
- [19] Fabbi M., Ferrini S.: Dual roles of IL-15 in cancer biology. *J. Cytokine Biol.*, 2016; 1: 103
- [20] Fantini M., David J.M., Wong H.C., Annunziata C.M., Arlen P.M., Tsang K.Y.: An IL-15 superagonist, ALT-803, enhances antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity elicited by the monoclonal antibody NEO-201 against human carcinoma cells. *Cancer Biother. Radiopharm.*, 2019; 34: 147–159
- [21] Feau S., Facchinetti V., Granucci F., Citterio S., Jarrossay D., Sere-sini S., Protti M.P., Lanzavecchia A., Ricciardi-Castagnoli P.: Dendritic cell-derived IL-2 production is regulated by IL-15 in humans and in mice. *Blood*, 2005; 105: 697–702
- [22] Fehniger T.A., Caligiuri M.A.: Interleukin 15: biology and relevance to human disease. *Blood*, 2001; 97: 14–32
- [23] Furuya H., Chan O.T.M., Pagano I., Zhu C., Kim N., Peres R., Hokutan K., Alter S., Rhode P., Rosser C.J.: Effectiveness of two different dose administration regimens of an IL-15 superagonist complex (ALT-803) in an orthotopic bladder cancer mouse model. *J. Transl. Med.*, 2019; 17: 29
- [24] Gehart H., Kumpf S., Ittner A., Ricci R.: MAPK signalling in cellular metabolism: stress or wellness? *EMBO Rep.*, 2010; 11: 834–840
- [25] Geissmann F., Manz M.G., Jung S., Sieweke M.H., Merad M., Ley K.: Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science*, 2010; 327: 656–661
- [26] Girard D., Paquet M.E., Paquin R., Beaulieu A.D.: Differential effects of interleukin-15 (IL-15) and IL-2 on human neutrophils: modulation of phagocytosis, cytoskeleton rearrangement, gene expression, and apoptosis by IL-15. *Blood*, 1996; 88: 3176–3184
- [27] Grabstein K.H., Eisenman J., Shanebeck K., Rauch C., Srinivasan S., Fung V., Beers C., Richardson J., Schoenborn M.A., Ahdieh M.: Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor. *Science*, 1994; 264: 965–968
- [28] Hlatky L., Hahnfeldt P.: Beyond the cancer cell: progression-level determinants highlight the multiscale nature of carcinogenesis risk. *Cancer Res.*, 2014; 74: 659–664
- [29] Hu Q., Ye X., Qu X., Cui D., Zhang L., Xu Z., Wan H., Zhang L., Tao W.: Discovery of a novel IL-15 based protein with improved developability and efficacy for cancer immunotherapy. *Sci. Rep.*, 2018; 8: 7675
- [30] Jabri B., Abadie V.: IL-15 functions as a danger signal to regulate tissue-resident T cells and tissue destruction. *Nat. Rev. Immunol.*, 2015; 15: 771–783
- [31] Jakobisiak M., Golab J., Lasek W.: Interleukin 15 as a promising candidate for tumor immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2011; 22: 99–108

- [32] Jochems C., Tritsch S.R., Knudson K.M., Gameiro S.R., Rumfield C.S., Pellom S.T., Morillon Y.M., Newman R., Marcus W., Szeto C., Rabi-zadeh S., Wong H.C., Soon-Shiong P., Schlom J.: The multi-functionality of N-809, a novel fusion protein encompassing anti-PD-L1 and the IL-15 superagonist fusion complex. *Oncoimmunology*, 2018; 8: e1532764
- [33] Johansson M., Denardo D.G., Coussens L.M.: Polarized immune responses differentially regulate cancer development. *Immunol. Rev.*, 2008; 222: 145–154
- [34] Katz M., Amit I., Yarden Y.: Regulation of MAPKs by growth factors and receptor tyrosine kinases. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007; 1773: 1161–1176
- [35] Kennedy M.K., Glaccum M., Brown S.N., Butz E.A., Viney J.L., Embers M., Matsuki N., Charrier K., Sedger L., Willis C.R., Brasel K., Morrissey P.J., Stocking K., Schuh J.C., Joyce S. i wsp.: Reversible defects in natural killer and memory CD8 T cell lineages in interleukin 15-deficient mice. *J. Exp. Med.*, 2000; 191: 771–780
- [36] Kicielińska J., Pajtasz-Piasecka E.: Rola IL-10 w modulowaniu odpowiedzi odpornościowej w warunkach prawidłowych oraz w środowisku nowotworu. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 879–892
- [37] Knudson K.M., Hicks K.C., Alter S., Schlom J., Gameiro S.R.: Mechanisms involved in IL-15 superagonist enhancement of anti-PD-L1 therapy. *J. Immunother. Cancer*, 2019; 7: 82
- [38] Kowalsky S.J., Liu Z., Feist M., Berkey S.E., Ma C., Ravindranathan R., Dai E., Roy E.J., Guo Z.S., Bartlett D.L.: Superagonist IL-15-armed oncolytic virus elicits potent antitumor immunity and therapy that are enhanced with PD-1 blockade. *Mol. Ther.*, 2018; 26: 2476–2486
- [39] Lake D., Corrêa S.A., Müller J.: Negative feedback regulation of the ERK1/2 MAPK pathway. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2016; 73: 4397–4413
- [40] Leong J.W., Chase J.M., Romee R., Schneider S.E., Sullivan R.P., Cooper M.A., Fehniger T.A.: Preactivation with IL-12, IL-15, and IL-18 induces CD25 and a functional high-affinity IL-2 receptor on human cytokine-induced memory-like natural killer cells. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2014; 20: 463–473
- [41] Mandal A., Viswanathan C.: Natural killer cells: In health and disease. *Hematol. Oncol. Stem Cell Ther.*, 2015; 8: 47–55
- [42] Mattei F., Schiavoni G., Belardelli F., Tough D.F.: IL-15 is expressed by dendritic cells in response to type I IFN, double-stranded RNA, or lipopolysaccharide and promotes dendritic cell activation. *J. Immunol.*, 2001; 167: 1179–1187
- [43] McDonald P.P., Russo M.P., Ferrini S., Cassatella M.A.: Interleukin-15 (IL-15) induces NF- $\kappa$ B activation and IL-8 production in human neutrophils. *Blood*, 1998; 92: 4828–4835
- [44] Mellman I.: Dendritic cells: master regulators of the immune response. *Cancer Immunol. Res.*, 2013; 1: 145–149
- [45] Mishra A., Sullivan L., Caligiuri M.A.: Molecular pathways: interleukin-15 signaling in health and in cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2014; 20: 2044–2050
- [46] Mortier E., Quémener A., Vusio P., Lorenzen I., Boublik Y., Gröttinger J., Plet A., Jacques Y.: Soluble interleukin-15 receptor  $\alpha$  (IL-15R $\alpha$ )-sushi as a selective and potent agonist of IL-15 action through IL-15R $\beta$ / $\gamma$ . Hyperagonist IL-15 IL-15R $\alpha$  fusion proteins. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 1612–1619
- [47] Munger W., DeJoy S.Q., Jeyaseelan R.Sr., Torley L.W., Grabstein K.H., Eisenmann J., Paxton R., Cox T., Wick M.M., Kerwar S.S.: Studies evaluating the antitumor activity and toxicity of interleukin-15, a new T cell growth factor: comparison with interleukin-2. *Cell. Immunol.*, 1995; 165: 289–293
- [48] Nandagopal N., Ali A.K., Komal A.K., Lee S.H.: The critical role of IL-15-PI3K-mTOR pathway in natural killer cell effector functions. *Front. Immunol.*, 2014; 5: 187
- [49] Ohteki T., Suzue K., Maki C., Ota T., Koyasu S.: Critical role of IL-15-IL-15R for antigen-presenting cell functions in the innate immune response. *Nat. Immunol.*, 2001; 2: 1138–1143
- [50] Pahl J., Cerwenka A.: Tricking the balance: NK cells in anti-cancer immunity. *Immunobiology*, 2017; 222: 11–20
- [51] Pelletier M., Ratthé C., Girard D.: Mechanisms involved in interleukin-15-induced suppression of human neutrophil apoptosis: role of the anti-apoptotic Mcl-1 protein and several kinases including Janus kinase-2, p38 mitogen-activated protein kinase and extracellular signal-regulated kinases-1/2. *FEBS Lett.*, 2002; 532: 164–170
- [52] Perera P.Y., Lichy J.H., Waldmann T.A., Perera L.P.: The role of interleukin-15 in inflammation and immune responses to infection: implications for its therapeutic use. *Microbes Infect.*, 2012; 14: 247–261
- [53] Perna S.K., De Angelis B., Pagliara D., Hasan S.T., Zhang L., Mahendravada A., Heslop H.E., Brenner M.K., Rooney C.M., Dotti G., Savoldo B.: Interleukin 15 provides relief to CTLs from regulatory T cell-mediated inhibition: implications for adoptive T cell-based therapies for lymphoma. *Clin. Cancer Res.*, 2013; 19: 106–117
- [54] Pulliam S.R., Uzhachenko R.V., Adunyah S.E., Shanker A.: Common gamma chain cytokines in combinatorial immune strategies against cancer. *Immunol. Lett.*, 2016; 169: 61–72
- [55] Ratthé C., Girard D.: Interleukin-15 enhances human neutrophil phagocytosis by a Syk-dependent mechanism: importance of the IL-15R $\alpha$  chain. *J. Leukoc. Biol.*, 2004; 76: 162–168
- [56] Regamey N., Obregon C., Ferrari-Lacraz S., van Leer C., Chanson M., Nicod L.P., Geiser T.: Airway epithelial IL-15 transforms monocytes into dendritic cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2007; 37: 75–84
- [57] Robinson T.O., Schluns K.S.: The potential and promise of IL-15 in immuno-oncogenic therapies. *Immunol. Lett.*, 2017; 190: 159–168
- [58] Roma-Rodrigues C., Mendes R., Baptista P.V., Fernandes A.R.: Targeting tumor microenvironment for cancer therapy. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019; 20: E840
- [59] Romee R., Cooley S., Berrien-Elliott M.M., Westervelt P., Verneis M.R., Wagner J.E., Weisdorf D.J., Blazar B.R., Ustun C., DeFor T.E., Vivek S., Peck L., DiPersio J.F., Cashen A.F., Kyllro R. i wsp.: First-in-human phase 1 clinical study of the IL-15 superagonist complex ALT-803 to treat relapse after transplantation. *Blood*, 2018; 131: 2515–2527
- [60] Saikh K.U., Kissner T.L., Nystrom S., Ruthel G., Ulrich R.G.: Interleukin-15 increases vaccine efficacy through a mechanism linked to dendritic cell maturation and enhanced antibody titers. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2008; 15: 131–137
- [61] Santana Carrero R.M., Beceren-Braun F., Rivas S.C., Hegde S.M., Gangadharan A., Plote D., Pham G., Anthony S.M., Schluns K.S.: IL-15 is a component of the inflammatory milieu in the tumor microenvironment promoting antitumor responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2019; 116: 599–608
- [62] Saw C.L., Wu Q., Kong A.N.: Anti-cancer and potential chemopreventive actions of ginseng by activating Nrf2 (NFE2L2) anti-oxidative stress/anti-inflammatory pathways. *Chin. Med.*, 2010; 5: 37
- [63] Schluns K.S., Williams K., Ma A., Zheng X.X., Lefrançois L.: Cutting edge: requirement for IL-15 in the generation of primary and memory antigen-specific CD8 T cells. *J. Immunol.*, 2002; 168: 4827–4831
- [64] Shi Y., Dincheva-Vogel L., Ayemoba C.E., Fung J.P., Bergamaschi C., Pavlakis G.N., Farzaneh F., Gaensler K.M.: IL-15/IL-15R $\alpha$ /CD80-expressing AML cell vaccines eradicate minimal residual disease in leukemic mice. *Blood Adv.*, 2018; 2: 3177–3192
- [65] Sim G.C., Radvanyi L.: The IL-2 cytokine family in cancer immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2014; 25: 377–390
- [66] Skov S., Bonyhadi M., Odum N., Ledbetter J.A.: IL-2 and IL-15 regulate CD154 expression on activated CD4 T cells. *J. Immunol.*, 2000; 164: 3500–3505
- [67] Szczygieł A., Pajtasz-Piasecka E.: Między biologią a medycyną: perspektywy wykorzystania komórek dendrytycznych w terapii przeciwnowotworowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2017; 71: 921–941

- [68] Szydłowski M., Jabłońska E., Juszczyński P.: Rola ścieżki sygnałowej PI3K-AKT w ontogenezie limfocytów B i patogenezie nowotworów B-komórkowych. Część I. *Hematologia*, 2013; 4: 103–113
- [69] Tang F., Zhao L.T., Jiang Y., Ba de N., Cui L.X., He W.: Activity of recombinant human interleukin-15 against tumor recurrence and metastasis in mice. *Cell. Mol. Immunol.*, 2008; 5: 189–196
- [70] Treffers L.W., Hiemstra I.H., Kuijpers T.W., van den Berg T.K., Matlung H.L.: Neutrophils in cancer. *Immunol. Rev.*, 2016; 273: 312–328
- [71] Van Beek J.J., Martens A.W., Bakdash G., de Vries I.J.: Innate lymphoid cells in tumor immunity. *Biomedicines*, 2016; 4: E7
- [72] Van den Bergh J.M., Smits E.L., Versteven M., De Reu H., Berneman Z.N., Van Tendeloo V.F., Lion E.: Characterization of interleukin-15-transpresenting dendritic cells for clinical use. *J. Immunol. Res.*, 2017; 2017: 1975902
- [73] Van den Bergh J., Willems Y., Lion E., Van Acker H., De Reu H., Anguille S., Goossens H., Berneman Z., Van Tendeloo V., Smits E.: Transpresentation of interleukin-15 by IL-15/IL-15R $\alpha$  mRNA-engineered human dendritic cells boosts antitumoral natural killer cell activity. *Oncotarget*, 2015; 6: 44123–44133
- [74] van Leeuwen E.M., Sprent J., Surh C.D.: Generation and maintenance of memory CD4<sup>+</sup> T Cells. *Curr. Opin. Immunol.*, 2009; 21: 167–172
- [75] Waldmann T.A., Tagaya Y.: The multifaceted regulation of interleukin-15 expression and the role of this cytokine in NK cell differentiation and host response to intracellular pathogens. *Annu. Rev. Immunol.*, 1999; 17: 19–49
- [76] Wang M., Zhao J., Zhang L., Wei F., Lian Y., Wu Y., Gong Z., Zhang S., Zhou J., Cao K., Li X., Xiong W., Li G., Zeng Z., Guo C.: Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. *J. Cancer*, 2017; 8: 761–773
- [77] Wang W., Jin J., Dai F., Long Z., Liu X., Cai H., Zhou Y., Chen Z., Huang H.: Interleukin-15 suppresses gastric cancer liver metastases by enhancing natural killer cell activity in a murine model. *Oncol. Lett.*, 2018; 16: 4839–4846
- [78] Wong H.C., Jeng E.K., Rhode P.R.: The IL-15-based superagonist ALT-803 promotes the antigen-independent conversion of memory CD8<sup>+</sup> T cells into innate-like effector cells with antitumor activity. *Oncoimmunology*, 2013; 2: e26442
- [79] Wu T.S., Lee J.M., Lai Y.G., Hsu J.C., Tsai C.Y., Lee Y.H., Liao N.S.: Reduced expression of Bcl-2 in CD8<sup>+</sup> T cells deficient in the IL-15 receptor  $\alpha$ -chain. *J. Immunol.*, 2002; 168: 705–712
- [80] Wu Y., Tian Z., Wei H.: Developmental and functional control of natural killer cells by cytokines. *Front. Immunol.*, 2017; 8: 930
- [81] Xiao R., Mansour A.G., Huang W., Chrislip L.A., Wilkins R.K., Queen N.J., Youssef Y., Mao H.C., Caligiuri M.A., Cao L.: Adipocytes: A novel target for IL-15/IL-15R $\alpha$  cancer gene therapy. *Mol. Ther.*, 2019; 27: 922–932
- [82] Zhang X., Sun S., Hwang I., Tough D.F., Sprent J.: Potent and selective stimulation of memory-phenotype CD8<sup>+</sup> T cells in vivo by IL-15. *Immunity*, 1998; 8: 591–599
- [83] Zhao M., Luo M., Xie Y., Jiang H., Cagliero C., Li N., Ye H., Wu M., Hao S., Sun T., Yang H., Zhang M., Lin T., Lu H., Zhu J.: Development of a recombinant human IL-15-sIL-15R $\alpha$ /Fc superagonist with improved half-life and its antitumor activity alone or in combination with PD-1 blockade in mouse model. *Biomed. Pharmacother.*, 2019; 112: 108677
- [84] Zhu X., Marcus W.D., Xu W., Lee H.I., Han K., Egan J.O., Yovandich J.L., Rhode P.R., Wong H.C.: Novel human interleukin-15 agonists. *J. Immunol.*, 2009; 183: 3598–3607

---

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.