

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

RAÍSSA GABRIELI CANDIDO

**Avaliação dos efeitos do meio condicionado de monócitos
sobre a atividade de células tumorais *in vitro***

BAURU
2021

Avaliação dos efeitos do meio condicionado de monócitos sobre a atividade de células tumorais *in vitro*

O carcinoma espinocelular (CEC) é o segundo câncer de pele não melanoma mais comum. Sabe-se que os processos fisiológicos que são necessários para a tumorigênese, como aumento da sobrevivência celular, remodelação tecidual, angiogênese, invasão e supressão da resposta imune adaptativa são reguladas por leucócitos infiltrados no microambiente tumoral e um dos leucócitos importantes desse contexto são os monócitos. Monócitos e células derivadas de monócitos desempenham papel importante na resposta imune e na manutenção da homeostase do tecido. É bem conhecido que muitos tumores recrutam monócitos da circulação e influenciam sua diferenciação. Está provado que os monócitos influenciam vários aspectos da progressão do câncer. Monócitos e células derivadas de monócitos são capazes de modular as características do microambiente tumoral, muitas vezes de uma maneira a promover o crescimento tumoral. Os monócitos estimulam a proliferação de células neoplásicas, ativam células-tronco tumorais e promovem metástase. Os monócitos parecem ter a maquinaria celular para matar diretamente as células malignas por indução da morte celular e fagocitose mediada por citocinas. Monócitos fenotipicamente semelhantes podem até mesmo parecer desempenhar papéis opostos devido a diferenças no tecido de origem do câncer, diferenças sutis no microambiente tumoral, estágio de crescimento do tumor e modelo experimental. Uma vez que existem dados contraditórios sobre a importância dos monócitos/macrófagos para a progressão do carcinoma de células escamosas, usamos em nossos experimentos duas linhagens de células de carcinoma espinocelular representando diferentes estágios de desenvolvimento do tumor (SCC-25 e Detroit 562). Em nosso trabalho, mostramos que meio condicionado (MC) de monócitos influenciou negativamente a motilidade das linhagens de células de carcinoma espinocelular. De modo contrário, o meio condicionado de monócitos induziu aumento da taxa de proliferação das células da linhagem tumoral SCC-25 e Detroit 562. Os resultados também mostraram uma influência significativa de fatores derivados de monócitos na invasão de células da linhagem tumoral SCC-25. Analisamos a expressão de IL-33/ST2 em células tumorais estimuladas com o meio condicionado de monócitos, os resultados evidenciaram diminuição a expressão de IL-33. Em seguida, para melhor entender o *crosstalk* entre as células tumorais e os

monócitos no microambiente tumoral, analisamos a expressão de genes relacionados com o processo de transição epitelial-mesenquimal. Os resultados mostraram que genes importantes para migração, invasão e metástase, como *MYC*, *SOX2*, *EPCAM*, *AURKA* e *SYP* foram mais expressos em células tumorais estimuladas com o meio condicionado de monócitos. Dessa forma, os resultados descritos indicam que fatores derivados de monócitos podem contribuir para processos como invasão, proliferação e metástase das células de linhagem tumoral provenientes de carcinoma espinocelular testadas em nosso estudo.

Palavras-chave: Carcinoma espinocelular. Monócitos. Imunologia tumoral.

ABSTRACT

Evaluation of the effects of monocyte conditioned medium on tumor cell activity *in vitro*

Squamous cell carcinoma (SCC) is the second most common non-melanoma skin cancer. It is known that the physiological processes that are necessary for tumorigenesis, such as increased cell survival, tissue remodeling, angiogenesis, invasion and suppression of the adaptive immune response, are regulated by leukocytes infiltrating the tumor microenvironment and one of the important leukocytes in this context are monocytes. Monocytes and monocyte-derived cells play an important role in the immune response and maintenance of tissue homeostasis. It is well known that many tumors recruit monocytes from the circulation and influence their differentiation. Monocytes have been shown to influence several aspects of cancer progression. Monocytes and monocyte-derived cells are able to modulate the characteristics of the tumor microenvironment, often in a way that promotes tumor growth. Monocytes stimulate the proliferation of neoplastic cells, activate tumor stem cells and promote metastasis. Monocytes appear to have the cellular machinery to directly kill malignant cells by inducing cell death and cytokine-mediated phagocytosis. Phenotypically similar monocytes may even appear to play opposite roles due to differences in the tissue of cancer origin, subtle differences in tumor microenvironment, tumor growth stage, and experimental model. Since there are conflicting data about the importance of monocytes/macrophages for the progression of squamous cell carcinoma, we used in our experiments two squamous cell carcinoma cell lines representing different stages of tumor development (SCC-25 and Detroit 562). In our work, we showed that conditioned medium (CM) from monocytes negatively influenced the motility of squamous cell carcinoma cell lines. Conversely, the monocyte conditioned medium induced an increase in the proliferation rate of cells from the tumor lineage SCC-25 and Detroit 562. The results also showed a significant influence of monocyte-derived factors on the invasion of cells from the tumor lineage SCC-25. We analyzed the expression of *IL-33/ST2* in tumor cells stimulated with the conditioned medium of monocytes, the results showed decreased expression of *IL-33*. Next, to better understand the crosstalk between tumor cells and monocytes in the tumor microenvironment, we analyzed the expression of genes related to the epithelial-mesenchymal transition process. The results showed that genes important for

migration, invasion and metastasis, such as *MYC*, *SOX2*, *EPCAM*, *AURKA* and *SYP* were more expressed in tumor cells stimulated with the monocyte conditioned medium. Thus, the results described indicate that monocyte-derived factors may contribute to processes such as invasion, proliferation and metastasis of tumor cell lineage from squamous cell carcinoma tested in our study.

Keywords: Squamous cell carcinoma. Monocytes. Tumor immunology.