



Expressão de HLA de classe I e MIC A/B em células tumorais primárias e linhagens de câncer de ovário humano.

UNICAMP

Carolina Patiño Aráoz, Joice Maria Leite, Paulo César Martins Alves, Fernando Guimarães.
LCE - CAISM – UNICAMP, Caixa Postal 6081, CEP 13083-970. fernando.guimaraes@caism.unicamp.br

Objetivos

O presente estudo tem como objetivo determinar a expressão de HLA de classe I e MIC A/B em células tumorais primárias e linhagens tumorais do câncer de ovário humano.

Resultados

Fenotipagem de células tumorais humanas primárias e linhagens

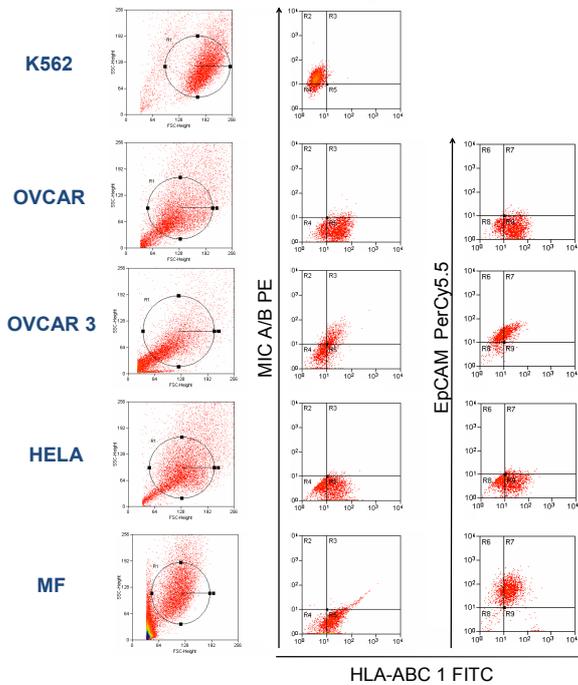
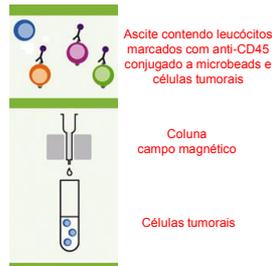


Figura 1. Determinação por citometria de fluxo da expressão das moléculas do HLA de classe I, MIC-A/B e EpCAM em células de linhagens tumorais humanas (K562, leucemia eritromielóide; OVCAR3 e OVCAR, carcinoma de ovário; HELA, carcinoma do colo de útero) e células tumorais primárias do câncer de ovário humano (MF, células de carcinoma de ovário isoladas da ascite).

Isolamento de células do carcinoma de ovário humano

Figura 3. Esquema do processo de separação de células tumorais a partir da ascite associada ao câncer de ovário utilizando o sistema de separação magnética MidiMacs da Miltenyi e colunas LD. Os leucócitos presentes na ascite foram marcados com anti-CD45 conjugado a microbeads. Com isso, os leucócitos ficam retidos ao serem eluídos através de uma coluna sob efeito do campo magnético. As células não marcadas, predominantemente tumorais, passam livremente pela coluna e são colhidas para posterior fenotipagem.



Discussão

A redução ou ausência da expressão do HLA de classe I associado a expressão do MIC A/B são apontadas como mecanismos que favorecem a sobrevivência de células tumorais à ação citotóxica do sistema imune, efeito observado com as células K562. Acredita-se que o conhecimento da expressão destas moléculas sobre células tumorais do carcinoma de ovário humano também possibilite estabelecer a sensibilidade destas células tumorais à ação imune.

Citotoxicidade celular mediada por linfócitos

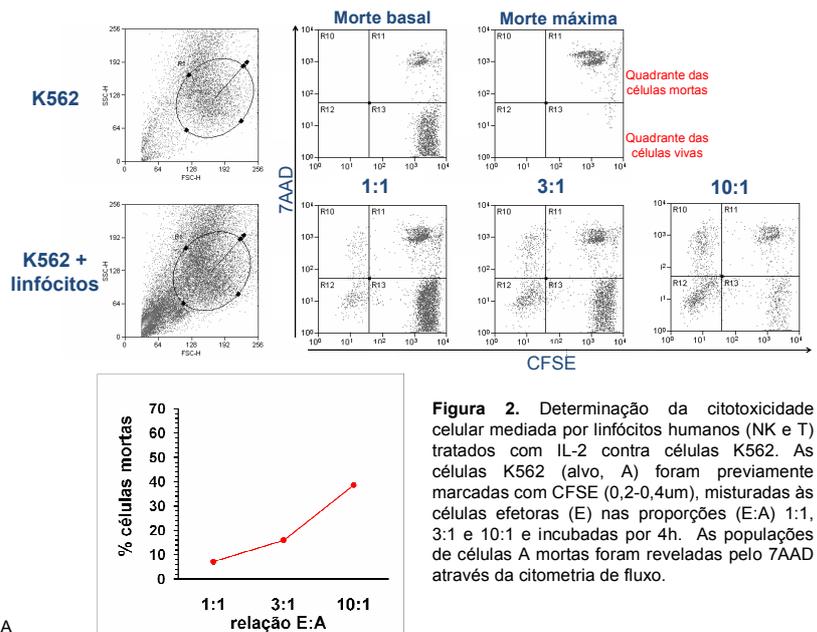


Figura 2. Determinação da citotoxicidade celular mediada por linfócitos humanos (NK e T) tratados com IL-2 contra células K562. As células K562 (alvo, A) foram previamente marcadas com CFSE (0,2-0,4um), misturadas às células efetoras (E) nas proporções (E:A) 1:1, 3:1 e 10:1 e incubadas por 4h. As populações de células A mortas foram reveladas pelo 7AAD através da citometria de fluxo.

RESUMO

A molécula do HLA de classe I desempenha um papel fundamental na habilidade do sistema imune diferenciar células somáticas normais de células alteradas. Alterações na expressão do HLA de classe I sobre células tumorais e, ainda, de moléculas associadas ao estresse celular, como o MIC A/B, são frequentemente apontadas como mecanismos que interferem na imunogenicidade das células tumorais e que, portanto, afetam a sensibilidade destas células à ação citotóxica do sistema imune. O objetivo deste estudo é determinar a expressão das moléculas do HLA de classe I e MIC A/B em células tumorais primárias e linhagens de câncer de ovário humano. Para isso, as células tumorais primárias são obtidas a partir de tumores ou a partir de ascites associadas ao câncer de ovário (CEP 489/2005). Após marcação com anticorpos monoclonais específicos conjugados com fluorocromos (anti-HLA de classe I-ABC e anti-MIC-A/B), as células são analisadas através da citometria de fluxo. Células tumorais primárias mantidas in vitro possibilitam determinar a expressão das moléculas do HLA de classe I e MIC A/B ao longo do processo de cultura celular e, dessa forma, compará-las a expressão destas moléculas por linhagens celulares estabelecidas.