

Análise Comparativa de Aspectos Celulares e Moleculares Associados à Evasão Tumoral em Câncer de Mama Triplo-Negativo

Maysa Coelho Vieira da Costa

Leandro Teodoro Júnior

Mari Cleide Sogayar

Instituto de Química da Universidade de São Paulo

maysacoelho08@gmail.com

Objetivos

Este estudo tem como objetivo investigar o papel do LINC01133 nos mecanismos de evasão imune tumoral na linhagem celular humana Hs578T de TNBC, com foco nos eixos PD-1/PD-L1 e CTLA-4.

Métodos e Procedimentos

Para o presente projeto foram utilizadas três linhagens humanas de tumor de mama triplo-negativo (Hs578T), sendo duas das linhagens, geneticamente modificadas (uma linhagem denominada controle, com inserção de vetor plasmidial fechado e vazio e uma linhagem nocauteada, via CRISPR/Cas9, para o gene *LINC01133*) e uma linhagem parental (*wild-type*). Foram realizados ensaios fenotípicos e moleculares, de modo a avaliar crescimento e tempo de dobramento, área e diâmetros relativos, complexidade intracelular, expressão transcricional, via qRT-PCR, de genes relacionados à progressão tumoral e à evasão tumoral via eixos PD-1/PDL-1 e CTLA-4, e expressão proteica vinculada ao eixo PD-1/PDL-1 via imunofluorescência indireta.

Resultados

As análises fenotípicas evidenciaram redução da área e do diâmetro celulares na linhagem nocauteada para LINC01133 (Figura 1), enquanto as curvas de crescimento (com e sem privação de nutrientes) não mostraram impacto relevante de processos proliferativos vinculados ao nocaute, apesar do tempo de dobramento da linhagem nocauteada ser menor (Figura 2). O painel de expressão transcricional via qRT-PCR revelou maior expressão de genes pró-evasão (CTLA-4, IL-10 e CD40) na linhagem nocauteada (Figura 3), enquanto não foram observadas diferenças significativas na expressão transcricional ou proteica de PDL-1 (Figura 4).

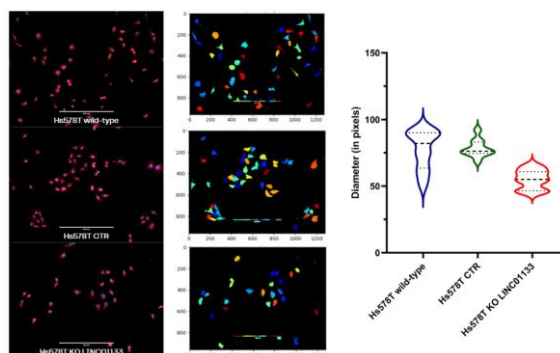


Figura 1. Comparação do diâmetro celular em linhagens Hs578T. Células coradas com DAPI e Cell-Trace foram segmentadas pelo CellProfiler,

permitindo análise individual do tamanho celular (esquerda). O gráfico à direita mostra a análise estatística do diâmetro relativo, realizada no GraphPad Prism 10.1.

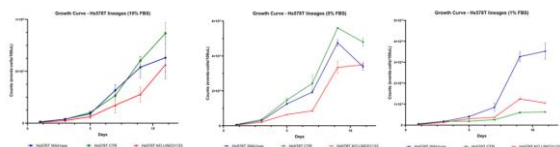


Figura 2. Curvas de crescimento de Hs578T (wild-type, CTR e KO LINC01133) em diferentes concentrações de FBS (10%, 5% e 1%). Análise por regressão não-linear pelo modelo malthusiano no GraphPad Prism 8.4.

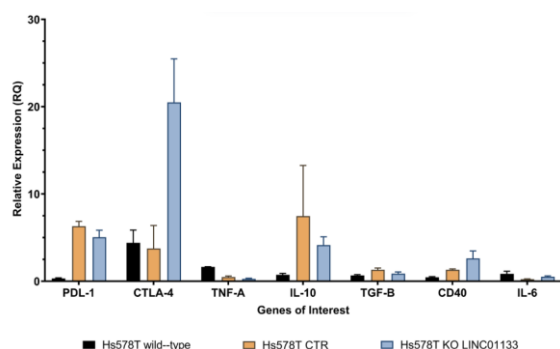


Figura 3. Expressão relativa de genes associados à evasão imune por qRT-PCR. Análise realizada via Software GraphPad Prism 10.1.

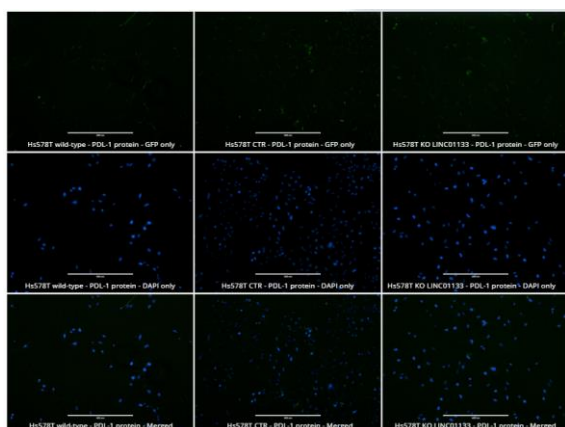


Figura 4. Expressão de PDL-1 analisada por imunofluorescência indireta. Imagens adquiridas em microscópio invertido EVOS FL (cubos DAPI e GFP).

Conclusões

Esses resultados sugerem que o LINC01133 modula vias específicas de evasão imune no câncer de mama triplo-negativo, destacando seu papel como um regulador potencialmente crucial da progressão do tumor mamário. MCVC conduziu todos os ensaios experimentais, coletou e analisou os dados, e redigiu o presente resumo. LTJ colaborou no planejamento do projeto, participou ativamente dos ensaios, auxiliou na análise dos dados e na revisão do resumo. MCS contribuiu para a concepção e planejamento do projeto e revisou criticamente o resumo.

Referências

EPTAMINITAKI, Giasemi C.; WOLFF, Nora; STELLAS, Dimitris; SIFAKIS, Konstantinos; BARITAKI, Stavroula. Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) in Response and Resistance to Cancer Immunosurveillance and Immunotherapy. *Cells*, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 3313, 26 nov. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cells10123313>.

TU, Zhenbo; SCHMÖLLERL, Johannes; CUIFFO, Benjamin G.; KARNOUB, Antoine E.. Microenvironmental Regulation of Long Noncoding RNA LINC01133 Promotes Cancer Stem Cell-Like Phenotypic Traits in Triple-Negative Breast Cancers. *Stem Cells*, [S.L.], v. 37, n. 10, p. 1281-1292, 26 ago. <http://dx.doi.org/10.1002/stem.3055>.

YIN, Li; DUAN, Jiang-Jie; BIAN, Xiu-Wu; YU, Shi-Cang. Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress. *Breast Cancer Research*, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 13, 9 jun. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13058-020-01296-5>.