

REVIEW

PAPEL DO MICROAMBIENTE TUMORAL NO DESENVOLVIMENTO DO MELANOMA

José Renildo de Carvalho¹, Edilaine Sudré Marcelino do Nascimento¹, José Guilherme Xavier¹, Leoni Villano Bonamin¹, Elizabeth Cristina Perez Hurtado^{1*}

RESUMO

Nos últimos dez anos a incidência do câncer tem sido mundialmente alarmante, constituindo um grave problema de saúde pública com expectativas de aumento para as próximas décadas. Estudos epidemiológicos no Brasil demonstraram que o câncer de maior prevalência é o de próstata, entretanto o câncer de pele tem impactado de forma significativa a população em geral. Dentre os principais tipos de câncer de pele, o melanoma é o que mais causa óbitos devido a sua alta capacidade de metástase. Vários fatores estão envolvidos no desenvolvimento do melanoma, entretanto interações entre as células neoplásicas e as células normais presentes no local onde o tumor se desenvolve é o foco de estudo da maioria dos centros de pesquisa em câncer. Assim, nesta revisão são apresentados os principais achados descritos nos últimos dez anos em relação às interações das células neoplásicas com os componentes do microambiente tumoral no modelo de melanoma.

Palavras-chave: Microambiente tumoral, melanoma, macrófagos, linfócitos T, linfócitos B citocinas.

INTRODUÇÃO

O câncer é definido como um conjunto de doenças que têm em comum o crescimento desordenado e maligno de diversas linhagens celulares, com capacidade de invadir e colonizar outros sítios distantes do local de origem formando os tumores secundários ou metástases (INCA, 2014).

Hoje sabe-se que o câncer é a segunda doença que mais causa óbitos no mundo, perdendo apenas para as doenças cardiovasculares. Os cânceres podem ser

causados por diversos fatores como hereditariedade, tabagismo, hábitos alimentares, alcoolismo, medicamentos e fatores ambientais, os quais são responsáveis por 80% a 90% dos casos conhecidos (INCA, 2014).

O melanoma, um tipo de câncer de pele, representa apenas 4% das neoplasias malignas da pele, entretanto é considerado o mais grave devido à sua alta capacidade de metástase, responsável por aproximadamente 90% de todas as mortes relacionadas a este tipo de câncer (INCA, 2014, NGUYEN e MASSAGUÉ, 2007; MESSAOUDENE et al., 2015). O melanoma se origina nos melanócitos (HAASS et al., 2005) e acomete principalmente adultos brancos (Revisado por MAIRE, VERCAMBRE-DARRAS e DESMEDT, 2014). Na progressão do melanoma, estão envolvidos múltiplos fatores como alterações genéticas no hospedeiro e interações com o microambiente onde o tumor se desenvolve (Revisado por BRANDNER e HAASS, 2013; MESSAOUDENE et al., 2015).

A aquisição de fenótipos metastáticos por células de melanoma pode ocorrer também pela mutação de genes específicos, como, por exemplo, a mutação no gene BRAF (*B-Raf proto-oncogene*) que codifica a proteína RAF (*Rapidly Accelerated Fibrosarcoma*), molécula constitutiva da via de sinalização intracelular MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*), também chamada como RAS-RAF-MEK-ERK. A mutação em BRAF ocorre em cerca de 50 a 70% dos pacientes com melanoma e leva à constante ativação da cascata MAPK, que favorece a aquisição de um fenótipo metastático ao induzir proliferação, resistência a apoptose e neoangiogênese (Revisado por BELLO, ARIYAN e CARVAJAL, 2013; OTT e BHARDWAJ, 2013).

*Artigo recebido em: 30/03/2015

Aceito para publicação em: 31/08/2015

¹. Programa de Pós-graduação em Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista, Campus Indianópolis, São Paulo, Brasil.

*Corresponding author: elicristin@hotmail.com. Av. Dr. José Maria Whitaker, 290 - Vila Clementino - São Paulo - SP - CEP 04057-000 - Tel.: (11) 5594-3207 - Fax: (11) 5594-3207.

Outras mutações que aparecem frequentemente em pacientes com melanoma e favorecem o comportamento mais agressivo do tumor são as mutações no gene GNAQ [*guanine nucleotide binding protein (G protein), q polypeptide*], que codifica a proteína de ligação ao nucleotídeo guanina, presente em 50% dos casos de melanoma humano e mutações no gene NRAS [*neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog*], que codifica a proteína RAS (*Rat Sarcoma vírus*), molécula também constitutiva da via de sinalização RAS-RAF-MEK-ERK, presente em 15% dos casos (Revisado por BELLO, ARIYAN e CARVAJAL, 2013; OTT e BHARDWAJ, 2013).

MICROAMBIENTE TUMORAL E MELANOMA

Diversos estudos têm demonstrado que a aquisição do fenótipo mais agressivo das células tumorais é dependente das interações diretas e/ou indiretas com os componentes do local onde o tumor se desenvolve (Revisado

por BRANDNER e HAASS, 2013). Esse comportamento mais agressivo das células tumorais é caracterizado pela proliferação descontrolada dessas células, evasão dos sinais de supressão do crescimento, escape da resposta imune, indução de inflamação, angiogênese, instabilidade genômica, mutações, resistência à morte celular, invasão e metástases (Revisado por HANAHAN e WEINBERG, 2011; BRANDNER e HAASS, 2013).

O microambiente tumoral, definido como o local de desenvolvimento do tumor, é formado não só por células neoplásicas, mas também por células do estroma, do sistema imunológico e vários outros tipos de células não tumorais (Figura 1). Neste microambiente, também são encontrados outros elementos, como citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e nutrientes que podem igualmente favorecer alterações fenotípicas das células tumorais (JOYCE e POLLARD, 2009; ROGERS e HOLEN, 2011; Revisado por QUAIL e JOYCE, 2013; WEINSTEIN E STORKUS, 2015).

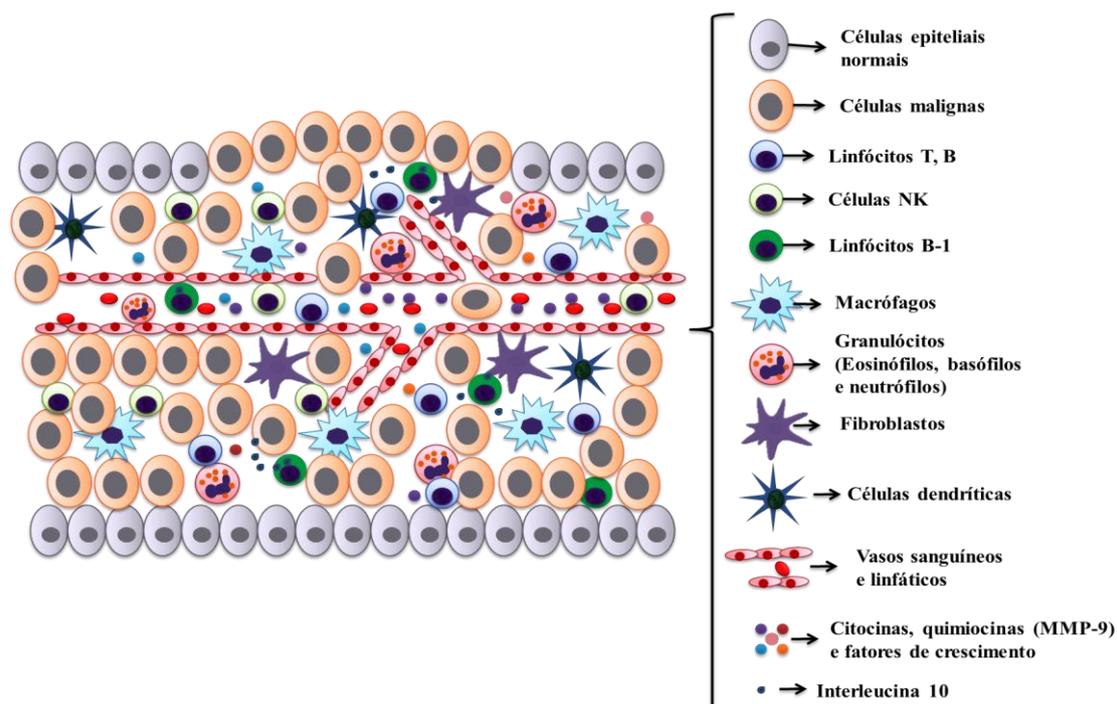


Figura 1: Microambiente tumoral. Modelo representativo dos componentes do microambiente tumoral.

As células do sistema imunológico presentes no microambiente tumoral geralmente são células inflamatórias como macrófagos ou TAMs (Macrófagos Associados ao Tumor), mastócitos, neutrófilos, linfócitos T e B, células *natural killer* (NK) e linfócitos T invariáveis (células NKT) (MURDOCH et al.,

2008; DENARDO, ANDREU e COUSSENS, 2010; EGEHLAD, NAKASONE e WERB, 2010; GAJEWSKI, SCHREIBER e FU, 2013).

MACRÓFAGOS ASSOCIADOS AO TUMOR (TAMs) E MELANOMA

Os TAMs, maiores componentes do microambiente tumoral, são considerados importantes reguladores da tumorigênese por desempenhar papéis efetores durante a resposta contra o desenvolvimento dos tumores. Entretanto, por serem células funcionalmente plásticas, os macrófagos podem mudar seu estado de polarização de M-1 para M-2, os quais são geralmente associados à indução da progressão tumoral (ROGERS e HOLEN, 2011; QUAIL e JOYCE, 2013; KHAN et al., 2015).

Os TAMs, quando ativados pela via clássica (IFN- γ , Interferon gama), se diferenciam em macrófagos M-1. Estes são encontrados normalmente no microambiente tumoral em lesões iniciais (inflamação aguda) e tem a capacidade de eliminar células tumorais por produzir espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS). Os M-1 também secretam grandes quantidades de IL-12, que atua nas células NK, e linfócitos T CD8⁺, aumentando o potencial citotóxico destas células, favorecendo assim respostas do tipo Th1 que são associadas a uma resposta antitumoral eficiente (Figura 2). Entretanto, na

tentativa do sistema imunológico de manter a homeostasia do corpo ou por mecanismos de evasão das células tumorais, os macrófagos passam a ser ativados pela via alternativa (IL-4 e IL-13) e se diferenciam em M-2 (Figura 3). Os macrófagos M-2 secretam grandes quantidades de IL-10, que regulam negativamente a resposta imunológica aos tumores por interferir na ativação de células citotóxicas e, por favorecer um ambiente imunossupressor que promove a progressão tumoral (Revisado por ALLAVENA e MANTOVANI, 2012; SPANO e ZOLLO, 2012; QUAIL e JOYCE, 2013). Os M-2 também produzem fatores de crescimento como o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), que contribui com a manutenção do tumor e facilita a formação de metástases por ser uma proteína que auxilia na formação de novos vasos sanguíneos e/ou linfáticos e na liberação de metaloproteínas como MMP-9, que degradam a matriz extracelular favorecendo o avanço das células tumorais a outros órgão ou tecidos para formar tumores secundários ou metástases (Revisado por ALLAVENA e MANTOVANI, 2012).

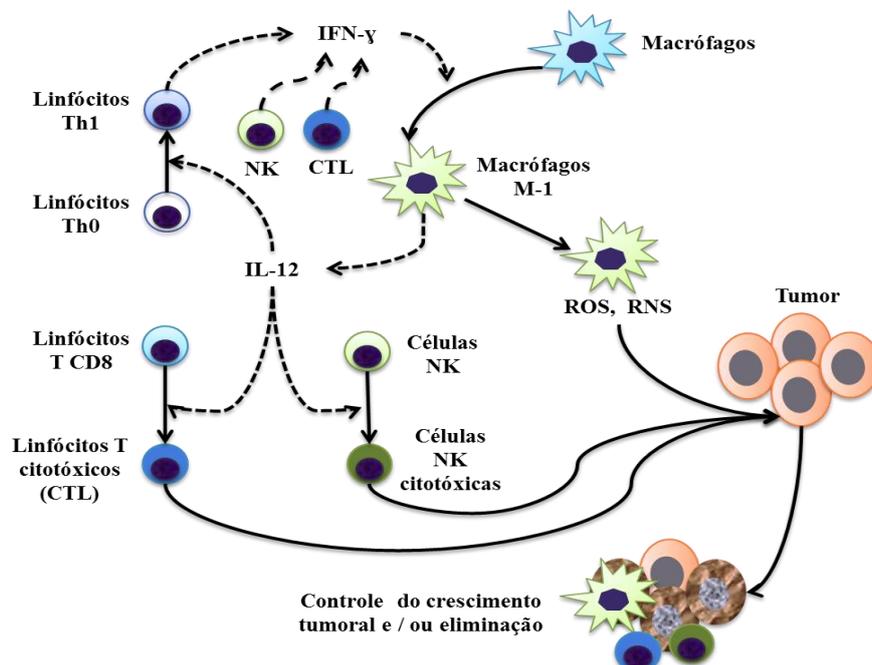


Figura 2: Ativação clássica dos macrófagos. Os macrófagos após entrarem em contato com IFN- γ no microambiente tumoral polarizam para o perfil M-1. Os M-1 passam a secretar grandes quantidades de IL-12 que auxilia na diferenciação de linfócitos Th0 em Th1. Os linfócitos Th1 produzem IFN- γ que mantém o ciclo de ativação clássica dos macrófagos. A IL-12 também age em células T CD8⁺ e NK aumentando o potencial citotóxico destas células e conseqüentemente, auxiliando no controle e na eliminação de células tumorais. Os macrófagos ativados pela via clássica produzem espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS), que também auxiliam na eliminação das células tumorais. IL = interleucina.

No microambiente do melanoma assim como na maioria dos tumores sólidos, existe predomínio de macrófagos do fenótipo M-2 (SCHÖNHAAR et al., 2014; THAM et al., 2014). Recentes relatos da literatura têm mostrado que a polarização dos macrófagos

para o perfil M-2 pode ser influenciada por linfócitos B-1, entretanto a presença destas células no microambiente tumoral (Figura 1) ainda não foi completamente demonstrada (Revisado por LOPES e MARIANO, 2009; WONG et al., 2010).

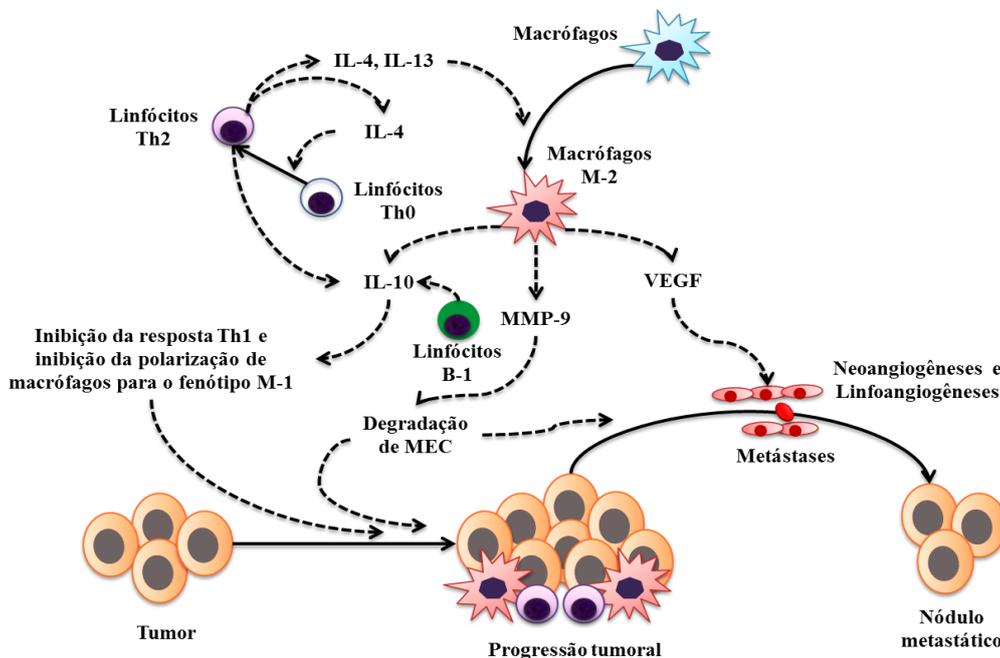


Figura 3: Ativação alternativa dos macrófagos. Os macrófagos presentes no microambiente tumoral são polarizados para o perfil M-2 por influência de IL-4 e IL-13 produzidas por linfócitos Th2 presentes em abundância no local. Os macrófagos M-2 passam a secretar grandes quantidades de IL-10 que inibem a ação da IL-12 e conseqüentemente o desenvolvimento da resposta do tipo Th1, por diminuir a produção de IFN- γ . Neste cenário, a resposta Th-2 prevalece e auxilia na progressão tumoral. Os macrófagos M-2 produzem metaloproteínas como MMP-9 que degradam matriz extracelular (MEC) e também produzem fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que auxilia na formação de novos vasos no microambiente do tumor favorecendo a progressão tumoral e metástases. Os linfócitos B-1 também secretam IL-10 e influenciam a polarização de macrófagos para o perfil M-2. IL = Interleucina.

LINFÓCITOS B E MELANOMA

As células B-2 ou linfócitos B convencionais são conhecidos por serem mediadores da imunidade tumoral. Entretanto, os mecanismos utilizados para exercer esta função são controversos ou não estão completamente elucidados. Alguns autores postulam que no modelo de melanoma murino os linfócitos B aumentam a infiltração de linfócitos T citotóxicos no microambiente tumoral, favorecendo as respostas antitumorais (KOBAYASHI et al., 2014). No entanto, outros autores demonstram que os linfócitos B-2 no microambiente tumoral em modelos de melanoma secretam grandes quantidades de IL-10 que regulam negativamente a resposta imunológica ao tumor ao promover a polarização de macrófagos para um perfil

imunossupressor ou M-2 (INOUE et al., 2006; DILILLO, MATSUSHITA e TEDDER, 2010).

Outro tipo de linfócitos B, também estudado no modelo de melanoma murino são os linfócitos B-1. Estas células são encontradas predominantemente nas cavidades pleural e peritoneal de camundongos adultos, possuem funções efetoras diversificadas participando tanto da imunidade inata quanto da adaptativa, uma vez que podem secretar imunoglobulinas (HAYAKAWA, HARDY e HERZENBERG, 1986), apresentar antígenos (VIGNA et al., 2002), oferecer memória imunológica (DE LORENZO et al., 2007) e secretar citocinas pró e anti-inflamatórias, como TNF- α (fator de necrose tumoral alfa) e IL-10 (O'GARRA et al., 1992). Entre outras funções, os linfócitos B-1 também participam do processo de cicatrização tecidual (OLIVEIRA et al., 2010)

e atuam em diferentes respostas imunológicas mediadas por células T (NOGUEIRA-MARTINS & MARIANO, 2010). Popi e colaboradores (2004) demonstraram em modelos *in vitro* que linfócitos B-1 em cocultivo com macrófagos, regulam negativamente a atividade fagocítica destas células, demonstrando um papel imunossupressor dos linfócitos B-1 pela alta secreção da citocina IL-10 (Figura 3). Assim como demonstrado por Popi (2004), outros autores sugerem que células B-1 podem favorecer a polarização de macrófagos para um perfil M-2, o qual pode promover respostas pró-tumoral (Revisado por LOPES e MARIANO, 2009; WONG et al., 2010). Além disso, estudos *in vitro* mostraram que interações físicas entre linfócitos B-1 e células de melanoma murino B16F10 promovem aumento do potencial metastático dessas células tumorais (PÉREZ et al., 2008; STAQUICINI et al., 2008; XANDER et al., 2013). Embora tenha sido descrito que células B-1 podem migrar para focos de inflamação (ALMEIDA et al., 2001), até o momento a presença de linfócitos B-1 no microambiente tumoral não tem sido completamente esclarecida.

LINFÓCITOS T E MELANOMA

Estudos *in vivo* têm demonstrado que células de melanoma produzem quimiocinas que favorecem o recrutamento tanto de linfócitos T CD8⁺ específicos como de células NK para o sítio onde o tumor se desenvolve (UGUREL et al., 2008; ZHANG et al., 2009). Uma vez que, a principal função destas células ativadas é eliminar células alteradas, seja por vírus ou por outros fatores, a presença destas células citotóxicas no microambiente do tumor pode estar associada a uma resposta anti-tumoral eficiente (WETZEL et al., 2007; PESKE et al., 2015). Os linfócitos T CD8⁺ e células NK, quando ativadas, produzem altas quantidades de citocinas como IFN- γ e outras moléculas efetoras como perforina e granzima, que favorecem as funções citotóxicas destas células (Revisado por LAKSHMI NARENDRA et al., 2013).

Já as células T CD4⁺ desempenham papéis múltiplos na resposta ao tumor, por serem células auxiliaadoras que participam tanto da ativação como da polarização de outras células. Recentemente Haabeth et al. (2014) revisaram que as células T CD4⁺ podem também realizar funções citotóxicas

eliminando as células tumorais após o reconhecimento, via MHC de classe II, de antígenos tumorais expressos nessas células. Entretanto, ainda há várias questões em relação às funções citotóxicas das células T CD4⁺ que devem ser esclarecidas.

As células T CD4 *naive* (Th0) quando ativadas podem ser polarizadas para diferentes perfis efetores: Th1, Th2, Th17 ou Treg na dependência dos diferentes tipos de citocinas presentes no microambiente onde a resposta imune se desenvolve (Revisado por LAKSHMI NARENDRA et al., 2013).

As células Th0 quando entram em contato com a IL-12, citocina produzida pelos macrófagos M-1 ou células dendríticas no momento de sua ativação, polarizam para o perfil Th1 que auxilia na ativação clássica de macrófagos favorecendo uma resposta anti-tumoral, conforme ilustrado na Figura 2. A resposta anti-tumoral mediada por células T CD4⁺ do perfil Th1 está associada com a presença de grandes quantidades de IFN- γ que auxilia na polarização de macrófagos para o perfil M-1. Estes macrófagos tem capacidade fagocítica e microbicida aumentada devido a sua alta produção de espécies reativas de oxigênio e hidrogênio, e por bloquear a polarização de linfócitos Th0 para o perfil Th2 e consequentemente a geração de macrófagos do perfil M-2 (ALLAVENA e MANTOVANI, 2012; QUAIL e JOYCE, 2013).

Por outro lado, os linfócitos Th0 quando entram em contato com a IL-4 polarizam para o perfil Th2. Este perfil Th2 tem sido associado como um perfil imunossupressor e pró-tumoral, por auxiliar na ativação alternativa dos macrófagos para o perfil M-2 e bloquear a resposta do tipo Th1 ou anti-tumoral (Figura 3). Este perfil Th2 é caracterizado pela alta secreção de IL-4, IL-10 e IL-13 (ALLAVENA e MANTOVANI, 2012; QUAIL e JOYCE, 2013).

Os linfócitos Th0 podem também polarizar para o fenótipo Th17 quando expostos à TGF- β e IL-6. As células Th17 desempenham um importante papel na defesa contra microrganismos extracelulares, além de estarem envolvidas na patogenia de diversas doenças autoimunes (Revisado por LAKSHMI NARENDRA et al., 2013). Os linfócitos Th17 exercem um papel duplo em diferentes tipos de cânceres. Os linfócitos Th17 podem exercer atividade anti-tumoral pela habilidade de transdiferenciação para o perfil Th1, liberando IFN- γ e favorecendo o recrutamento de linfócitos T citotóxicos (CD8⁺), células

dendríticas e células NK para o microambiente tumoral. Por outro lado, células Th17 podem também favorecer o crescimento tumoral pela promoção de angiogênese, transdiferenciação em linfócitos T regulatórios ou Treg que suprimem a resposta imune aos tumores (Revisado por LAKSHMI NARENDRA et al., 2013).

As células Treg são outro tipo de polarização dos linfócitos Th0. Estas células são subdivididas em linfócitos Treg naturais (nTreg), as quais são geradas no timo pelo reconhecimento de antígenos próprios, e linfócitos Treg adaptativos ou induzíveis (iTreg), gerados nos órgãos imunes periféricos pelo reconhecimento de antígenos próprios ou não. Os principais mecanismos de imunossupressão destas células ocorre pelo aumento da secreção de TGF- β e/ou IL-10, expressão de CTLA-4 que impede a ativação da célula apresentadora de antígeno ou pelo consumo da IL-2 que propicia a morte da célula T efetora (Revisado por LAKSHMI NARENDRA et al., 2013). Geralmente as células Treg estão associadas à inibição da resposta anti-tumoral ao favorecer o desenvolvimento dos tumores em varios tipos de canceres humanos por promover tolerância imune ao tumor (Revisado por LAKSHMI NARENDRA et al., 2013).

INTERLEUCINAS, QUIMIOCINAS E MELANOMA

As células do melanoma secretam vários tipos de citocinas e quimiocinas entre outros fatores solúveis, que podem agir em outras células para apoiar seu comportamento maligno favorecendo sua progressão e disseminação (RICHMOND, YANG e SU, 2009).

Durante a progressão do melanoma a produção de quimiocinas aumenta progressivamente no microambiente tumoral (RICHMOND, 2002). As principais quimiocinas produzidas pelas células do melanoma são as CXCL1, 2, 3, 5, 6, 7 e 8, que se ligam aos receptores CXCR2 expressos em células endoteliais promovendo assim, o recrutamento dessas células para a formação de novos vasos no microambiente tumoral (VARNEY et al., 2003, VARNEY, JOHANSSON e SINGH, 2006). A expressão da quimiocina CXCL8 em adição à outras proteínas, possibilita às células do melanoma formar estruturas que anastomosam com vasos já formados garantindo o aporte de nutrientes e

oxigênio no interior do tumor, fenômeno conhecido como mimetismo vasculogênico (MANIOTIS et al., 1999; MOURAD-ZEIDAN et al., 2008). Além das quimiocinas angiogênicas, as células de melanoma também podem produzir quimiocinas angiostáticas como a CXCL9, 10 e 11 que quando ligadas ao receptor de quimiocina CXCR3 inibem a angiogênese (MEHRAD, KEANE e STRIETER, 2007; KEELEY, MEHRAD e STRIETER, 2008).

Em relação à presença de citocinas, Mantovani (2009) revisou o papel das citocinas inflamatórias no microambiente tumoral mostrando que algumas destas citocinas podem favorecer a formação de metástases. Entre essas citocinas, a interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e a interleucina 10 (IL-10) podem ser produzidas tanto por células normais (células do sistema imunológico) como por células tumorais (células de melanoma). Dependendo das células alvo, estas citocinas podem induzir a expressão de quimiocinas e seus receptores para aumentar o processo inflamatório e o recrutamento de macrófagos e polarização para um perfil imunossupressor favorecendo o desenvolvimento do tumor e formação de metástases (revisado por WANG et al. 2014). Por outro lado, Moretti e colaboradores (1999) demonstraram que no microambiente de tumores primários de melanoma são encontradas altas concentrações de IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β e GM-CSF (fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos). A produção de citocinas e quimiocinas podem ativar diversas vias pró-metastáticas nas células tumorais, seja por mecanismos autócrinos ou por interação indireta com outras células que sustentam o comportamento maligno das células neoplásicas (revisado por WANG et al. 2014).

CONCLUSÕES

Os dados apresentados nesta revisão nos levam a concluir que células de melanoma estabelecem constante comunicação com células não tumorais presentes no microambiente tumoral. Esta interação pode tanto contribuir ao comportamento maligno das células tumorais ou favorecer a eliminação das mesmas. A presença de macrófagos M-1, linfócitos T CD4 tipo Th1, linfócitos T CD8 e células NK no microambiente tumoral está relacionada com uma melhor resposta anti-tumoral. Já a presença de macrófagos tipo M-

2, linfócitos T CD4 do perfil Th2 e/ou Treg e os linfócitos B-1 e B-2 associam-se com respostas pró-tumorais.

Além das interações das células tumorais com seu microambiente, a existência de mutações tanto nas células tumorais como nas não tumorais pode também favorecer o crescimento e a metástase do melanoma assim como de outros tipos de tumores. Portanto, novos estudos devem ser realizados para identificar e caracterizar melhor os mecanismos envolvidos no desenvolvimento e na metastatização de tumores a fim de tornar mais claro e compreensível a patogênese do câncer.

COMPONENTS OF THE TUMOR MICROENVIRONMENT IN MELANOMA MODEL

ABSTRACT

The last ten years, the incidence of cancer has been globally alarming constituting a serious public health problem with increasing expectations for the coming decades. Epidemiological studies in Brazil showed that, the most prevalent of all cancers is prostate cancer, however skin cancer has impacted significantly the general population. Among the main types of skin cancer, melanoma causes more deaths due to its high ability to metastasize. Several factors are involved in the development of melanoma, however interactions between the neoplastic cells and the normal cells at the site where the tumor develops is the aim of many research centers in cancer. Thus, this review presents the main findings described in the last ten years in relation to the interactions between cancer cells and the components of the tumor microenvironment in melanoma model.

Keywords: Tumoral microenvironment, Melanoma, Macrophages, T and B lymphocytes, Cytokines,

REFERÊNCIAS

ALLAVENA, P.; MANTOVANI, A. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: tumour-associated macrophages: undisputed stars of the inflammatory tumour microenvironment. **Clinical and experimental immunology**, Oxford, v. 167, n. 2, p. 195-205, feb. 2012.

ALMEIDA, S. R.; AROEIRA, L. S.; FRYMULLER, E.; DIAS, M. A.; BOGSAN, C. S.; LOPES, J. D.; MARIANO, M. Mouse B-1 cell-derived mononuclear phagocyte, a novel cellular component of acute non-specific inflammatory exudate. **International immunology**, Oxford, v. 13, n. 9, p. 1193-201, sep. 2001.

BELLO, D. M.; ARIYAN, C. E.; CARVAJAL, R. D. Melanoma mutagenesis and aberrant cell signaling. **Cancer control : journal of the Moffitt Cancer Center**, Tampa, v. 20, n. 4, p. 261-281, oct. 2013.

BRANDNER, J. M.; HAASS, N. K. Melanoma's connections to the tumour microenvironment. **Pathology**, London, v. 45, n. 5, p. 443-52, aug. 2013.

DE LORENZO, B. H.; BRITO, R. R.; GODOY, L. C.; LOPES, J. D.; MARIANO, M. Tolerogenic property of B-1b cells in a model of allergic reaction. **Immunology letters**, Amsterdam, v. 114, n. 2, p. 110-8, dec. 2007.

DENARDO, D. G.; ANDREU, P.; COUSSENS, L. M. Interactions between lymphocytes and myeloid cells regulate pro-versus anti-tumor immunity. **Cancer and metastasis reviews**, Boston, v. 29, n. 2, p. 309-16, jun. 2010.

DILILLO, D. J.; MATSUSHITA, T.; TEDDER, T. F. B10 cells and regulatory B cells balance immune responses during inflammation, autoimmunity, and cancer. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1183, p. 38-57, jan. 2010.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05137.x>

EGEBLAD, M.; NAKASONE, E. S.; WERB, Z. Tumors as organs: complex tissues that interface with the entire organism. **Developmental cell**, Cambridge, v. 18, n. 6, p. 884-901, jun. 2010.

GAJEWSKI, T. F.; SCHREIBER, H.; FU, Y. X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. **Nature immunology**, New York, v. 14, n. 10, p. 1014-22, oct. 2013.

HAABETH, O. A.; TVEITA, A. A.; FAUSKANGER, M.; SCHJESVOLD, F.;

LORVIK, K. B.; HOFGAARD, P. O.; OMHALT, H.; MUNTHE, L. A.; DEMBIC, Z.; CORTHAY, A.; BOGEN, B. How Do CD4(+) T Cells Detect and Eliminate Tumor Cells That Either Lack or Express MHC Class II Molecules? **Frontiers in immunology**, Lausanne, v. 5, p. 174, 2014.

HAASS, N. K.; SMALLEY, K. S.; LI, L.; HERLYN, M. Adhesion, migration and communication in melanocytes and melanoma. **Pigment cell research / sponsored by the European Society for Pigment Cell Research and the International Pigment Cell Society**, New York, v. 18, n. 3, p. 150-9, jun. 2005.

HANAHAH, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, Cambridge, v. 144, n. 5, p. 646-74, mar. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

HAYAKAWA, K.; HARDY, R. R.; HERZENBERG, L. A. Peritoneal Ly-1 B cells: genetic control, autoantibody production, increased lambda light chain expression. **European journal of immunology**, Weinheim, v. 16, n. 4, p. 450-6, apr. 1986.

HAYAKAWA, K.; HARDY, R. R.; HONDA, M.; HERZENBERG, L. A.; STEINBERG, A. D. Ly-1 B cells: functionally distinct lymphocytes that secrete IgM autoantibodies. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 81, n. 8, p. 2494-8, apr. 1984. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.81.8.2494>

INOUE, S.; LEITNER, W. W.; GOLDING, B.; SCOTT, D. Inhibitory effects of B cells on antitumor immunity. **Cancer research**, Chicago, v. 66, n. 15, p. 7741-7, aug. 2006.

Instituto Nacional de Câncer (Brasil). **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. Instituto Nacional de Câncer – Rio de Janeiro: Inca, 2011. 128 p. il. Disponível em:

<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/abc_do_cancer_2ed.pdf>. Acesso em: 24 dez. 2014.

JOYCE, J. A.; POLLARD, J. W. Microenvironmental regulation of metastasis. **Nature reviews. Cancer**, London, v. 9, n. 4, p. 239-52, apr. 2009.

KEELEY, E. C.; MEHRAD, B.; STRIETER, R. M. Chemokines as mediators of neovascularization. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, Dallas, v. 28, n. 11, p. 1928-36, nov. 2008.

KHAN, M. A.; ASSIRI, A. M.; BROERING, D. C. Complement and macrophage crosstalk during process of angiogenesis in tumor progression. **Journal of biomedical science**, New York, v. 22, n. 1, p. 58, jul. 2015.

KOBAYASHI, T.; HAMAGUCHI, Y.; HASEGAWA, M.; FUJIMOTO, M.; TAKEHARA, K.; MATSUSHITA, T. B cells promote tumor immunity against B16F10 melanoma. **The American journal of pathology**, Philadelphia, v. 184, n. 11, p. 3120-9, nov. 2014.

LAKSHMI NARENDRA, B.; ESHVENDAR REDDY, K.; SHANTIKUMAR, S.; RAMAKRISHNA, S. Immune system: a double-edged sword in cancer. **Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society ... [et al.]**, Switzerland, v. 62, n. 9, p. 823-34, sep. 2013.

LOPES, J. D.; MARIANO, M. B-1 cell: the precursor of a novel mononuclear phagocyte with immuno-regulatory properties. In: ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS, v. 81, n. 3, 2009, Rio De Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: p. 489-96, 2009.

MAIRE, C.; VERCAMBRE-DARRAS, S.; DESMEDT, E. [Diagnosis of melanoma]. **La Revue du praticien**, Paris, v. 64, n. 1, p. 61-8, jan. 2014.

MANIOTIS, A. J.; FOLBERG, R.; HESS, A.; SEFTOR, E. A.; GARDNER, L. M.; PE'ER, J.; TRENT, J. M.; MELTZER, P. S.; HENDRIX, M. J. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry. **The American journal of pathology**, Philadelphia, v. 155, n. 3, p. 739-52, sep. 1999.

MANTOVANI, A. Cancer: Inflaming metastasis. **Nature**, London, v. 457, n. 7225, p. 36-7, jan. 2009. <http://dx.doi.org/10.1038/457036b>

MEHRAD, B.; KEANE, M. P.; STRIETER, R. M. Chemokines as mediators of angiogenesis.

Thrombosis and haemostasis, Stuttgart, v. 97, n. 5, p. 755-62, mai. 2007.

MESSAOUDENE, M.; PÉRIER, A.; FREGNI, G.; NEVES, E.; ZITVOGEL, L.; CREMER, I.; CHANAL, J.; SASTRE-GARAU, X.; DESCHAMPS, L.; MARINHO, E.; LAROUSSERIE, F.; MAUBEC, E.; AVRIL, MF.; CAIGNARD, A. Characterization of the Microenvironment in Positive and Negative Sentinel Lymph Nodes from Melanoma Patients. **PLoS One**, San Francisco, v. 10, n. 7, jul. 2015.

MORETTI, S.; PINZI, C.; SPALLANZANI, A.; BERTI, E.; CHIARUGI, A.; MAZZOLI, S.; FABIANI, M.; VALLECCHI, C.; HERLYN, M. Immunohistochemical evidence of cytokine networks during progression of human melanocytic lesions. **International journal of cancer. Journal international du cancer**, New York, v. 84, n. 2, p. 160-8, apr. 1999.

MOURAD-ZEIDAN, A. A.; MELNIKOVA, V. O.; WANG, H.; RAZ, A.; BAR-ELI, M. Expression profiling of Galectin-3-depleted melanoma cells reveals its major role in melanoma cell plasticity and vasculogenic mimicry. **The American journal of pathology**, Philadelphia, v. 173, n. 6, p. 1839-52, dec. 2008.

MURDOCH, C.; MUTHANA, M.; COFFELT, S. B.; LEWIS, C. E. The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. **Nature reviews. Cancer**, London, v. 8, n. 8, p. 618-31, aug. 2008.

NGUYEN, D. X.; MASSAGUÉ, J. Genetic determinants of cancer metastasis. **Nature reviews. Cancer**, London, v. 8, n. 5, p. 341-52, mai. 2007.

NOGUEIRA-MARTINS, M. F.; MARIANO, M. B-1 cell participation in T-cell-mediated alloimmune response. **Immunobiology**, Stuttgart, v. 215, n. 4, p. 264-74, apr. 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imbio.2009.05.007>

O'GARRA, A.; CHANG, R.; GO, N.; HASTINGS, R.; HAUGHTON, G.; HOWARD, M. Ly-1 B (B-1) cells are the main source of B cell-derived interleukin 10. **European journal of immunology**, Weinheim, v. 22, n. 3, p. 711-7, mar. 1992.

OLIVEIRA, H. C.; POPI, A. F.; BACHI, A. L.; NONOGAKI, S.; LOPES, J. D.; MARIANO, M. B-1 cells modulate the kinetics of wound-healing process in mice. **Immunobiology**, Stuttgart, v. 215, n. 3, p. 215-22, mar. 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imbio.2009.03.009>

OTT, P. A.; BHARDWAJ, N. Impact of MAPK Pathway Activation in BRAF(V600) Melanoma on T Cell and Dendritic Cell Function. **Frontiers in immunology**, Lausanne, v. 4, p. 346, 2013.

PÉREZ, E. C.; MACHADO, J. JR.; ALIPERTI, F.; FREYMÜLLER, E.; MARIANO, M.; LOPES, J. D. B-1 lymphocytes increase metastatic behavior of melanoma cells through the extracellular signal-regulated kinase pathway. **Cancer science**, Tokyo, v. 99, n. 5, p. 920-8, mai. 2008.

PESKE, J. D.; WOODS, A. B.; ENGELHARD, V. H. Control of CD8 T-Cell Infiltration into Tumors by Vasculature and Microenvironment. **Advances in cancer research**, New York, v. 128, p. 263-307, 2015.

POPI, A. F.; LOPES, J. D.; MARIANO, M. Interleukin-10 secreted by B-1 cells modulates the phagocytic activity of murine macrophages in vitro. **Immunology**, Oxford, v. 113, n. 3, p. 348-54, nov. 2004. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2004.01969.x>

QUAIL, D. F.; JOYCE, J. A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. **Nature medicine**, New York, v. 19, n. 11, p. 1423-37, nov. 2013.

RICHMOND, A. Nf-kappa B, chemokine gene transcription and tumour growth. **Nature reviews. Immunology**, London, v. 2, n. 9, p. 664-74, sep. 2002.

RICHMOND, A.; YANG, J.; SU, Y. The good and the bad of chemokines/chemokine receptors in melanoma. **Pigment cell & melanoma research**, Oxford, v. 22, n. 2, p. 175-86, apr. 2009.

ROGERS, T. L.; HOLEN, I. Tumour macrophages as potential targets of bisphosphonates. **Journal of translational medicine**, London, v. 9, p. 177, 2011.

SCHÖNHAAR, K.; SCHLEDZEWSKI, K.; MICHEL, J.; DOLLT, C.; GKANIATSOU, C.; GÉRAUD, C.; KZHYSKOWSKA, J.; GOERDT, S.; SCHMIEDER, A. Expression of stabilin-1 in M2 macrophages in human granulomatous disease and melanocytic lesions. **International journal of clinical and experimental pathology**, Madison, v. 7, n. 4, p. 1625-34, 2014.

SPANO, D.; ZOLLO, M. Tumor microenvironment: a main actor in the metastasis process. **Clinical & experimental metastasis**, London, v. 29, n. 4, p. 381-95, apr. 2012.

STAQUICINI, F. I.; TANDLE, A.; LIBUTTI, S. K.; SUN, J.; ZIGLER, M.; BAR-ELI, M.; ALIPERTI, F.; PÉREZ, E. C.; GERSHENWALD, J. E.; MARIANO, M.; PASQUALINI, R.; ARAP, W.; LOPES, J. D. A subset of host B lymphocytes controls melanoma metastasis through a melanoma cell adhesion molecule/MUC18-dependent interaction: evidence from mice and humans. **Cancer research**, Chicago, v. 68, n. 20, p. 8419-28, oct. 2008.

THAM, M.; TAN, K. W.; KEEBLE, J.; WANG, X.; HUBERT, S.; BARRON, L.; TAN, N. S.; KATO, M.; PREVOST-BLONDEL, A.; ANGELI, V.; ABASTADO, J. P. Melanoma-initiating cells exploit M2 macrophage TGF β and arginase pathway for survival and proliferation. **Oncotarget**, Albany, v. 5, n. 23, p. 12027-42, dec. 2014.

UGUREL, S.; SCHRAMA, D.; KELLER, G.; SCHADENDORF, D.; BRÖCKER, E. B.; HOUBEN, R.; ZAPATKA, M.; FINK, W.; KAUFMAN, H. L.; BECKER, J. C. Impact of the CCR5 gene polymorphism on the survival of metastatic melanoma patients receiving immunotherapy. **Cancer immunology, immunotherapy : CII**, Berlin, v. 57, n. 5, p. 685-91, mai. 2008.

VARNEY, M. L.; JOHANSSON, S. L.; SINGH, R. K. Distinct expression of CXCL8 and its receptors CXCR1 and CXCR2 and their association with vessel density and aggressiveness in malignant melanoma. **American journal of clinical pathology**, Philadelphia, v. 125, n. 2, p. 209-16, feb. 2006.

VARNEY, M. L.; LI, A.; DAVE, B. J.; BUCANA, C. D.; JOHANSSON, S. L.;

SINGH, R. K. Expression of CXCR1 and CXCR2 receptors in malignant melanoma with different metastatic potential and their role in interleukin-8 (CXCL-8)-mediated modulation of metastatic phenotype. **Clinical & experimental metastasis**, London, v. 20, n. 8, p. 723-31, 2003.

VIGNA, A. F.; GODOY, L. C.; ROGERIO DE ALMEIDA, S.; MARIANO, M.; LOPES, J. D. Characterization of B-1b cells as antigen presenting cells in the immune response to gp43 from *Paracoccidioides brasiliensis* in vitro. **Immunology letters**, Amsterdam, v. 83, n. 1, p. 61-6, aug. 2002.

WANG, J. Q.; JEELALL, Y. S.; FERGUSON, L. L.; HORIKAWA, K. Toll-Like Receptors and Cancer: MYD88 Mutation and Inflammation. **Frontiers in immunology**, Lausanne, v. 5, p. 367, 2014.

WEINSTEIN, A. M.; STORKUS, W. J. Therapeutic Lymphoid Organogenesis in the Tumor Microenvironment. **Advances in cancer research**, New York, v. 128, p. 197-233, 2015.
<http://dx.doi.org/10.1016/bs.acr.2015.04.003>

WETZEL, K.; STRUYF, S.; VAN DAMME, J.; KAYSER, T.; VECCHI, A.; SOZZANI, S.; ROMMELAERE, J.; CORNELIS, J. J.; DINSART, C. MCP-3 (CCL7) delivered by parvovirus MVMP reduces tumorigenicity of mouse melanoma cells through activation of T lymphocytes and NK cells. **Int International journal of cancer. Journal international du cancer**, New York, v. 120, n. 6, p. 1364-71, mar. 2007.

WONG, S. C.; PUAUX, A. L.; CHITTEZHATH, M.; SHALOVA, I.; KAJIJI, T. S.; WANG, X.; ABASTADO, J. P.; LAM, K. P.; BISWAS, S. K. Macrophage polarization to a unique phenotype driven by B cells. **European journal of immunology**, Weinheim, v. 40, n. 8, p. 2296-307, aug 2010.

XANDER, P.; BRITO, R. R.; PÉREZ, E. C.; POZZIBON, J. M.; DE SOUZA, C. F.; PELLEGRINO, R.; BERNARDO, V.; JASIULIONIS, M. G.; MARIANO, M.; LOPES, J. D. Crosstalk between B16 melanoma cells and B-1 lymphocytes induces global changes in tumor cell gene expression. **Immunobiology**, Stuttgart, v. 218, n. 10, p. 1293-303, oct. 2013.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.imbio.2013.04.017>

ZHANG, C.; ZHANG, F.; TSAN, R.; FIDLER, I. J. Transforming growth factor-beta2 is a molecular determinant for site-specific melanoma metastasis in the brain. **Cancer research**, Chicago, v. 69, n. 3, p. 828-35, feb. 2009.