
A expressão da IL-17A por melanócitos neoplásicos e seu possível envolvimento no escape da resposta imune antitumoral

The IL-17A expression in the molecular mechanisms os tumor escape from immune response by neoplastic melanocytes

Larissa Mesquita Nunes¹, Hermínio Maurício da Rocha Sobrinho¹, Camilla de Magalhães Nardelli Silva¹,
Déborah Capel Modesto¹, Larissa Cardoso Marinho¹, Isabela Jubé Wastowski²

1 Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas. Avenida Universitária, 1440 – Setor Universitário. CEP 74605-010. Goiânia –GO.

2 Universidade Estadual de Goiás. Departamento de Ciências Biológicas. UEG/UnU-Morrinhos. Rua 14, 625, Jardim América – CEP 75650-00. Morrinhos – GO.

Resumo: A expressão da citocina pró-inflamatória interleucina 17 (IL-17), produzida especialmente por células Th17 por melanócitos neoplásicos pode contribuir para o crescimento das células tumorais e a angiogênese, colaborando para o escape da resposta imune tumoral. Objetivo: avaliar a expressão da citocina IL-17 em amostras histológicas de 47 pacientes com diagnóstico de melanoma atendidos em um Hospital de Oncologia de Goiânia-GO. Método: as amostras histológicas dos pacientes diagnosticados com melanoma foram avaliadas pelo método de imunohistoquímica. Resultados: dos 47 pacientes avaliados, 14 eram do sexo masculino, idade 76 ± 12 anos e 33 eram do sexo feminino, com idade média de 63 ± 19 anos. Houve uma correlação positiva entre a expressão tecidual de IL-17 e a presença de metástases ($p < 0,01$). Das amostras com marcação positiva para IL-17, 85% foram correlacionadas com a presença de metástases em linfonodos, pele ou vísceras. Conclusão: a expressão da IL-17 foi significativamente maior em amostras tissulares de pacientes com metástase indicando que essa expressão pode ter valor prognóstico em melanoma.

Palavras-chave: Melanoma. Interleucina 17. Angiogênese. Metástase. Resposta Imune.

Abstract: The proinflammatory cytokine IL-17, produced especially by Th17 cells has been associated with inflammatory responses in immunity to tumors. Its expression by neoplastic melanocytes may contribute to tumor cell growth and angiogenesis, contributing to tumor escape from the immune response. Objective: This study proposes to evaluate the expression of IL-17 in histological samples from 47 patients diagnosed with melanoma treated an Oncology Hospital of Goiania-GO. Method: Were evaluated by immunohistochemistry in samples from 47 patients diagnosed with melanoma and confirmed histologically. Results: Of the 47 patients evaluated, 14 were male, mean age 76 ± 12 years and 33 were female, mean age 63 ± 19 years. There was a correlation between the presence of IL-17 molecule and the presence of metastases ($p < 0.01$). Samples with positive staining for IL -17, 85 % were correlated with the presence of metastases in lymph nodes, skin or viscera. Conclusion: The expression of IL -17 was significantly higher in patients with metastasis. Thus, that expression has prognostic value in melanoma.

Keywords: Melanoma. Interleukin 17. Angiogenesis. Metastasis. Immune response.

INTRODUÇÃO

A incidência de melanoma tem aumentado de forma significativa nas últimas décadas, principalmente em populações caucasianas¹. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que anualmente ocorram cerca de 130 mil casos novos desse câncer no mundo. Segundo estatísticas da Skin Cancer Foundation (US), um a cada três novos casos de câncer é diagnosticado como câncer de pele. Neste estudo foram avaliados 47 pacientes com diagnóstico de melanoma, sendo 34 metastáticos e 13 não metastáticos.

Características genéticas e tempo de exposição do paciente à luz ultravioleta (UV) são apontados por diversos estudos como sendo os principais fatores correlacionados com o desenvolvimento de melanoma maligno. Infelizmente, o prognóstico para casos avançados da doença ainda é pobre. Poucas terapias são aprovadas pela FDA (*Food and Drug Administration*) para o tratamento de melanomas metastáticos e nenhuma delas demonstrou alteração significativa na média geral de sobrevida.

As neoplasias malignas de pele mais comuns podem ser categorizadas em dois grupos principais: melanoma e não melanoma. O último grupo consiste basicamente de carcinomas basocelulares e carcinomas de células escamosas, sendo considerados tumores raramente fatais, mas que apresentam crescimento rápido e funcionalmente destrutivo². O melanoma constitui o câncer de pele mais fatal com taxa de mortalidade cerca de três vezes superior ao dos tumores não melanoma, desenvolvendo-se a partir das transformações malignas dos melanócitos^{2,3}.

A progressão do melanoma ocorre a partir de um nevo benigno, geralmente. Os nevos benignos formam-se por uma população de melanócitos que se proliferam de forma desordenada, gerando uma lesão hiperplásica, ocasionada em resposta à radiação ultravioleta (UV) geralmente, que não progride devido à senescência celular^{4,5}. Essa limitação proliferativa pode ser vencida e, dessa forma, o nevo torna-se displásico, podendo se espalhar superficialmente, o que caracteriza a Fase de Crescimento Radial, confinada à epiderme e com baixo potencial invasivo. Essas células podem, ainda, garantir a capacidade de invadir a derme pelo rompimento da membrana basal, caracterizando a Fase de Crescimento Vertical, e formar metástases⁶.

O sistema imune humano apresenta mecanismos de vigilância imunológica capazes de reconhecer e eliminar células tumorais. Entretanto, acredita-se que defeitos associados ao processo de vigilância imune estão relacionados à progressão tumoral⁷. Nas respostas imunes antitumorais, as células T ativadas podem infiltrar e destruir tumores por mecanismos citotóxicos ou também podem estimular uma resposta inflamatória capaz de recrutar outros leucócitos (macrófagos e granulócitos) para colaborarem com a erradicação de tumores⁸. Porém, acredita-se que a participação de macrófagos e granulócitos na resposta antitumoral não apresenta boa eficácia na eliminação tumoral, sendo um fator para o desenvolvimento tumoral, diferentemente da resposta mediada apenas por células T⁹. Vários mediadores inflamatórios e citocinas produzidos por células apresentadoras de antígenos (*Antigen Presenting Cell - APC*) e linfócitos T durante a resposta inflamatória podem colaborar para o crescimento das células tumorais e angiogênese¹⁰. Neste contexto, uma nova subpopulação de células T CD4⁺ denominadas células Th17, produtoras da citocina IL-17 têm sido relacionadas com reações inflamatórias na imunidade a tumores.

A expressão da interleucina-17A (IL-17A) representa um importante alvo no estudo do escape de células tumorais ao sistema imunológico. Uma pesquisa realizada em 2010 aponta a IL-17 como sendo um útil biomarcador diagnóstico precoce de melanoma em mucosas¹¹. A IL-17 é uma citocina incomum porque nem ela nem seu receptor são homólogos a nenhum outro par de receptores de citocina conhecida. A família da IL-17 inclui seis proteínas relacionadas estruturalmente (IL-17A a IL-17F), mas as atividades imunológicas parecem ser mediadas principalmente pela IL-17A, produzida majoritariamente pelas células Th17. Outras fontes de produção de IL-17 incluem células T $\gamma\delta$, células T CD8⁺, células NKT, neutrófilos e eosinófilos¹². -A IL-17 é considerada uma citocina pró-inflamatória por estimular a secreção de outras citocinas com propriedades inflamatórias, tais como: a interleucina-6 (IL-6) (fator preditivo de sobrevida de pacientes com melanoma maligno metastático)², a interleucina-1 beta (IL-1 β) e o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) por APC e células endoteliais¹³. Acredita-se que o processo inflamatório tecidual não regulado possa contribuir para a expansão tumoral e metastização^{14,15,16}.

Portanto, estudar a relação da IL-17 com os mecanismos de escape tumoral de células melanomatosas pode melhorar a compreensão sobre o verdadeiro papel dessa citocina na evasão da resposta imune celular pelo melanoma cutâneo humano.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Delineamento do Estudo

No presente estudo foram avaliados 47 pacientes com diagnóstico de melanoma, sendo 34 metastáticos e 13 não metastáticos, comprovados histopatologicamente e que apresentavam blocos de parafina disponíveis no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge e seguimento clínico por um período mínimo de cinco anos. Os casos de melanoma foram selecionados a partir dos livros de registro do Setor de Anatomia Patológica (SAP) do Hospital Araújo Jorge (HAJ) na cidade de Goiânia-GO. Os blocos contendo os fragmentos de tumores foram levantados a partir dos arquivos do SAP e cortados para comprovação do diagnóstico histopatológico por uma médica patologista e para seleção dos fragmentos a serem usados no teste de imunohistoquímica. Os dados clinico-patológicos foram colhidos dos respectivos prontuários e utilizados para a confecção de um banco de dados. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás, com o número de protocolo 024/2009. Todos os participantes deste estudo assinaram o TCLE após leitura prévia.

2. Imunohistoquímica (IHQ)

Inicialmente, os cortes sobre as lâminas foram desparafinizados em xilol e hidratados em banhos crescentes de álcool etílico. Em seguida, as lâminas foram incubadas em ácido etilendiaminotetracético (*ethylene diamine tetra acetic acid* - EDTA) (pH= 9.0), aquecido a uma temperatura de 95°C, com auxílio de Banho Maria, por 25 minutos, para exposição antigênica. Após lavagem com tampão salina fosfato (PBS), as lâminas foram mergulhadas em peróxido de hidrogênio a 3%, por aproximadamente 45 minutos. Posteriormente, as lâminas foram lavadas com PBS e, em seguida, incuba-

das com solução para bloqueio das proteínas endógenas (BIOCARE's Background Sniper) por 15 minutos.

Depois, as lâminas ficaram incubadas com o anticorpo primário monoclonal específico anti-IL-17 (*Santa Cruz Biotechnology*, Santa Cruz, Califórnia, EUA) a uma diluição de 1:100, durante 18 horas a 40°C. Um anticorpo idêntico isótipo IgG1 antidesmina utilizado simultaneamente com cada amostra serviu de controle negativo. Passado o tempo, lavagens consecutivas foram realizadas e, posteriormente, as lâminas ficaram incubadas com o Sistema Trek Universal Link por 20 minutos. Novamente, as lâminas foram lavadas com PBS e incubadas com o Sistema TrekAvidin-HRP (Label) por 20 minutos. Em seguida, procedeu-se à revelação da reação utilizando o 3.3'-Diaminobenzidina (DAB) em uma solução cromogênea, por 1 minuto à temperatura ambiente. A reação foi interrompida com água destilada e as lâminas contra-coradas com hematoxilina, por 30 segundos, à temperatura ambiente. Após serem lavadas com água corrente por 10 minutos, as lâminas foram desidratadas com álcoois, passadas em xilol e montadas com solução de resina não aquosa (Entellan-Mikroskopie-Merck).

3. Avaliação das Seções Coradas

A análise imunohistoquímica foi executada em tecido melanomatoso de tronco, cabeça, membros superiores e inferiores, mãos e pés. A imunorreatividade foi classificada por método semiquantitativo por meio da avaliação do percentual de células positivas. Os pontos de corte para a determinação da positividade da IL-17A detectada por imunohistoquímica foram obtidos pela análise das Curvas de Características de Operação do Receptor (ROC). A análise das curvas ROC foi executada para expressão de IL-17A. Todas as seções foram analisadas por microscopia óptica com campos de alta potência (x400) por examinadores cegados para as amostras.

4. Análise Estatística

A expressão da IL-17 em células melanomatosas foi avaliada pela técnica de IHQ. Através da curva de características de operação do receptor (ROC - *Receiver Operating Characteristic*) foi estabelecido um

ponto de corte para as amostras com expressão significativa. As pontuações de positividade foram comparadas com o teste de Mann-Whitney. Valores de *p* inferior a 0,01 foram considerados significativos. Análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 5.0 e MedCalc 13.2.2.0.

RESULTADOS

1. Achados Clínicos e Epidemiológicos

Dos 47 pacientes avaliados, 14 eram do gênero masculino, com idade média de 76 ± 12 anos e 33 eram do sexo feminino, com idade média de 63 ± 19 anos. Observou-se que a incidência de metástases é alta (72%), sendo que os casos metastáticos têm predomínio similar em ambos os sexos, 78% em homens e 70% em mulheres. Dentre 33 pacientes com expressão positiva para IL-17, 28 apresentavam metástases. Não foi encontrada nenhuma relação entre os cinco pacientes com expressão positiva para IL-17 que não desenvolveram metástase.

Dois índices foram analisados na população em estudo, sendo eles o índice de invasão de Clark (figura 1), estratificado para classificar o câncer conforme a sua profundidade, e o índice de espessura de Breslow (figura 2). Além disso, foi analisado o tipo histológico do tumor (figura 3)¹⁷. Evidenciamos, na população analisada, um predomínio de invasão tumoral de derme reticular (51%) e do tecido celular subcutâneo (18%) e tipo histológico extensivo superficial. Não foi notada uma tendência significativa em relação à espessura dos tumores, porém a espessura média calculada foi de 3,5 mm.

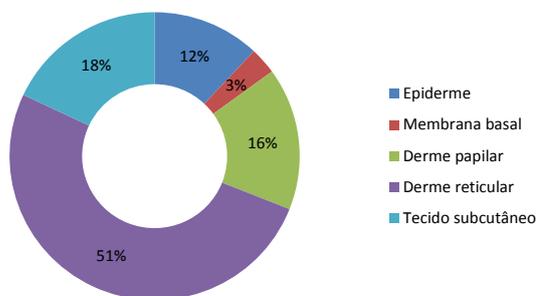


Figura 1. Índice de Invasão de Clark - Porcentagem segundo grupos na população de estudo, 47 pacientes com melanoma

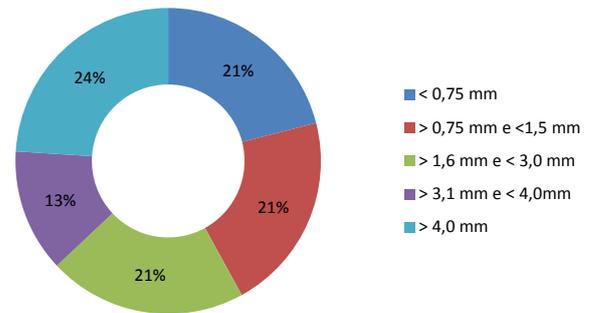


Figura 2. Índice de espessura de Breslow - Porcentagem segundo grupos na população de estudo (n = 47)

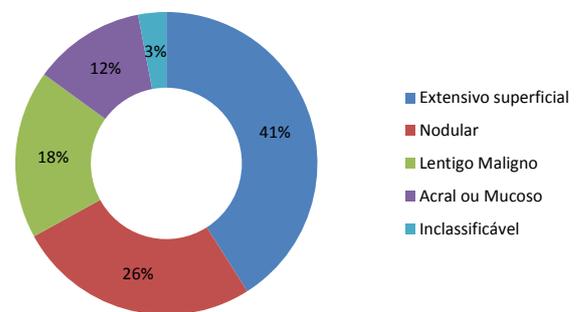


Figura 3. Análise do tipo histológico - Porcentagem segundo grupos na população de estudo (n = 47)

Outras análises clínicas e epidemiológicas foram realizadas nos pacientes com expressão positiva para IL-17 (dados não publicados).

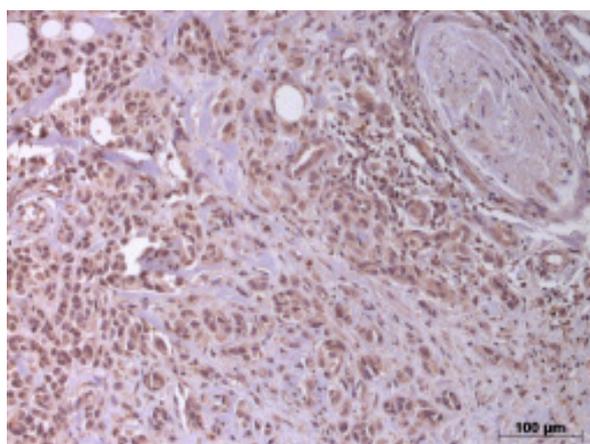
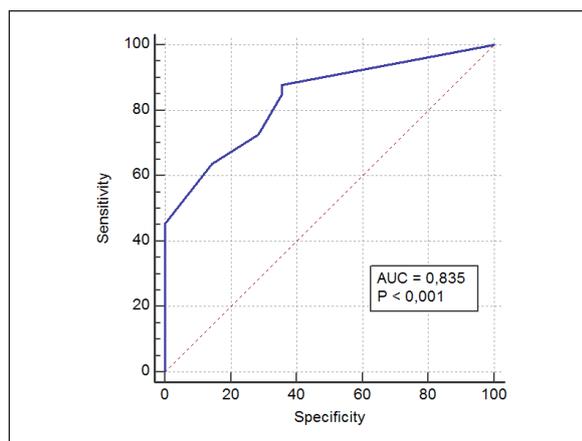
2. Expressão de Interleucina-17 (IL-17)

A expressão de IL-17A foi evidenciada em células melanomatosas (figura 4). Os resultados foram estatisticamente significativos. Há uma correlação entre a presença da molécula IL-17 e a existência de metástases ($p < 0,01$). Das amostras com marcação positiva para IL-17, 85% estavam correlacionadas com presença de metástases em linfonodos, pele ou vísceras. Na análise da curva ROC (figura 5), o ponto de corte para resultados positivos foi de 5%. Dos pacientes que evoluíram para óbito, 69% apresentavam metástases linfonodais ou viscerais; 87,5% possuíam infiltração linfocitária peritumoral.

Dos sujeitos sem metástase, cinco apresentaram positividade para IL-17, porém nenhum padrão foi detectado entre eles (quadro 1).

Quadro 1. Sujeitos sem metástase com expressão de IL-17 positiva

Amostra	Idade do paciente (anos)	Sexo	Localização do tumor	Tipo histológico	Breslow (mm)	Clark	IL-17+ (%)
1	49	Feminino	Tronco	Extensivo superficial	4	IV	20
2	64	Masculino	Mãos/Pés	Lentigo maligno	0,7	IV	30
3	80	Masculino	Mãos/Pés	Acral/Mucosa	1,1	II	30
4	63	Feminino	Tronco	Extensivo superficial	4	III	50
5	86	Feminino	Membros	Nodular	17	V	50

**Figura 4.** Fotomicrografia – Melanoma humano – Melanócitos bem evidenciados pela imunohistoquímica para IL-17A (estrepto-avidina-biotina-peroxidase, 400x)**Figura 5.** Curva de ROC – Ponto de corte de 5% para determinação da positividade para IL-17A. Sensibilidade de 85% e especificidade de 64%

DISCUSSÃO

O melanoma maligno é o tipo de câncer de pele com pior prognóstico, possuindo elevada probabilidade de disseminar metástases para outros órgãos, quando em estágio avançado. Esse dado foi confirmado neste estudo, em que, das 33 amostras com marcação positiva para IL-17, 85% (28) estavam correlacionadas com presença de metástases em linfonodos, pele ou vísceras. Dados divulgados pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2012) mostram que, atualmente, o melanoma é o câncer de pele mais frequente no Brasil e corresponde a 25% de todos os tumores malignos registrados no país. Estima-se que em 2012 tenham ocorrido 6.230 casos novos, sendo 3.170 em homens e 3.060 em mulheres. Além disso, outra estimativa feita foi do número total de mortes, 1.507 casos, sendo 842 mortes no sexo masculino e 665 no sexo feminino durante aquele ano.

A inflamação crônica é frequentemente associada ao processo de metastização. Não se sabe ao certo o que desencadeia esse processo, mas acredita-se que a hipóxia seja um dos principais fatores, se não o principal¹⁸. Células tumorais crescem em massas, o que faz com que o interior sofra hipóxia, desencadeando assim uma série de processos angiogênicos¹⁹. Nem todas as células tumorais possuem receptores para IL-17 ou respondem a essa interleucina, porém o principal envolvimento dessa citocina em processos oncogênicos é devido ao seu papel proangiogênico sobre células endoteliais e fibroblastos presentes no microambiente tumoral²⁰.

Tang e colaboradores, em um estudo realizado em 2013, revelaram o papel crucial do eixo Hmgb1-IL-23-IL-17-IL-6-Stat3 no desenvolvimento do melanoma. Hmgb1 (*High-mobility group box 1*) é uma proteína não-histona reguladora da transcrição

gênica, associada ao dano celular, capaz de induzir respostas inflamatórias crônicas e levar células tumorais à expansão e metastização. Sabe-se que sua ativação leva à expressão de IL-17 no microambiente tumoral. Alguns trabalhos têm demonstrado que a IL-17 pode estimular o crescimento tumoral e a angiogênese em modelos animais de câncer, embora o seu papel na imunidade a tumores seja ainda controverso^{15,21,22}. Um recente estudo propõe que essa contradição do efeito de IL-17 no crescimento tumoral é devida à sua função ser diferente localmente de sistemicamente¹⁶.

É estimado que no mínimo 20% dos cânceres estejam associados a inflamação¹⁴. Tumores transduzidos com IL-17 têm um aumento significativo na densidade vascular, o que sugere que a inibição dessa citocina possa ter benefícios terapêuticos em pacientes com melanoma²³. Estudo prévio demonstra que a produção da IL-17 por linhagens de melanoma B16 induz a produção de IL-6, o que, por sua vez, ativa o fator de transcrição nuclear STAT3 (signal-transducer-and-activator-of-transcription 3) que, por seu turno, atua ativando a transcrição de diversos genes relacionados com proliferação celular; aumento na angiogênese, através de uma maior expressão de do Fator de Crescimento Vascular Endotelial (VEGF), Metaloproteínase-9 (MMP9), prostaglandinas E1 e E2 (PGE₁ e PGE₂) e um aumento da expressão de genes anti-apoptóticos²⁴.

Sabe-se que o microambiente tumoral direciona o recrutamento e a expansão de células Th17 através da ativação celular via receptores similares a Toll (*Toll-like receptors-TLR*) e via Nod2 (*Nucleotide-binding Oligomerization Domain Protein 2*)²⁵ (SU *et al.*, 2010). O direcionamento para uma resposta Th17 pode ainda ser dependente da ativação da via MAPK (*mitogen-activates protein kinase*), bem como da produção de IL-10. A contínua ativação da via MAPK (via de sinalização que tem um papel fundamental em diversas funções celulares, como a proliferação celular, diferenciação, apoptose e sobrevivência, participando ainda do processo de tumorigênese, quando aberrantemente ativadas), provavelmente está associada a mudanças no padrão da resposta imunológica, o que poderia favorecer o escape tumoral¹⁰. Além disso, as células Th17 são induzidas a se diferenciarem

por vários fatores liberados pelas células tumorais e pelo estroma tumoral ou por moléculas secretadas por células do sistema imune que se infiltram no tumor, tais como: o Fator de Transformação do Crescimento beta (TGF- β), a IL-6, PGE₂, IL-21, IL-23, osteopontina, IL-1 β e o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α). TGF- β e IL-6 favorecem a diferenciação de células T *naive* em células Th17, o que cria um *feedback* positivo na regulação da diferenciação das células Th17²⁰.

A IL-17 é uma citocina pró-inflamatória, desencadeando, assim, um processo inflamatório, o qual é uma necessidade tanto para a eliminação, quanto para a metástase das células tumorais. A IL-17 promove o crescimento tumoral, ao facilitar a angiogênese - principal fator pró-tumoral - e a saída das células tumorais de seu foco primário²⁶. Um estudo com camundongos conduzido por He e colaboradores em 2010 demonstrou que a deficiência de receptores de IL-17 inibe o crescimento tumoral de células melanomatosas B16-F10.

A IL-17 facilita a angiogênese ao agir nas células do estroma e nos fibroblastos, induzindo uma gama de mediadores angiogênicos, incluindo o VEGF (*vascular endothelial growth factor*), que notoriamente promove a inflamação e a angiogênese tumoral²⁷. Outro fator angiogênico, nesse caso estimulado pelo VEGF, é o TGF- β , o qual parece acentuar o crescimento e a metástase tumoral através da estimulação da angiogênese, além de aumentar a resposta das células endoteliais ao VEGF. Outros fatores estimulados pela IL-17 são IL-6, PGE₂, aumento de expressão de ICAM-1 em fibroblastos, IL-8, IL-1 β e TNF- α ¹⁸.

Foi possível observar a expressão da IL-17 em pacientes com melanoma, e ainda, a associação entre a expressão de IL-17 e um pior prognóstico clínico dos mesmos ($p < 0,01$). Dos pacientes que evoluíram para óbito, 45% tinham expressão positiva para IL-17; 69% apresentavam metástases linfonodais ou viscerais; e 87,5% possuíam infiltração linfocitária peritumoral, mostrando claramente que essa citocina tem papel prognóstico nesse tipo de câncer.

O quadro 2 apresenta um resumo das principais funções da IL-17 relacionadas ao escape de células melanomatosas da resposta imune antitumoral.

Quadro 2. Funções da IL-17 no Escape da Resposta Imune Antitumoral

Funções	Referência bibliográfica
Supressão de células TCD8+	Alshaker & Matalka, 2011 ²⁷
Atividade pró-inflamatória	Sumimoto et al., 2006 ²⁸ ; Gaffen, 2008 ¹²
Angiogênese	Du et al, 2012 ²¹
Ativação de Stat3 em tumores	Tang et al, 2013 ¹⁵
Aumenta a atividade de células supressoras derivadas da linhagem mieloide (MDSC)	He et al, 2010 ²⁹
Indução da expressão de IL-6 no tumor e células de estroma	Wang, 2009 ²²
Aumento da produção de IL-8 pelas células tumorais	Murugaiyan & Saha, 2009 ²⁰
Aumento da expressão de PGE2 e ICAM-1 em fibroblastos	Murugaiyan & Saha, 2009 ²⁰
Indução de CXCL1, CXCL5, CXCL6 e CXCL8 no tumor	Numasaki, 2003 ²³
Aumento de expressão de VEGF e Ang-2 em células tumorais e estroma	Numasaki, 2003 ²³ , Wakita, 2010 ³⁰ e Murugaiyan & Saha, 2009 ²⁰

Este trabalho demonstrou a expressão da IL-17 em fragmentos teciduais provenientes de uma população de pacientes apresentando melanoma em tratamento no Hospital Araújo Jorge em Goiânia-GO. A expressão da IL-17 foi significativamente maior em pacientes com metástase; portanto, essa expressão pode ter valor prognóstico em melanoma. A compreensão de prováveis mecanismos de escape, como a mudança de perfil de resposta imunológica e a expressão de moléculas como a IL-17 fornecem importantes informações sobre a patogênese do tumor, auxiliando dessa maneira

no acompanhamento clínico e no prognóstico de cada caso. Outras investigações poderão fornecer uma melhor visão sobre o papel que a expressão dessa molécula desempenha nos mecanismos de metastização desse tipo de câncer.

Apoio: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Pontifícia Universidade Católica de Goiás; Hospital Araújo Jorge; Universidade Estadual de Goiás (UEG).

REFERÊNCIAS

1. FINN, L., MARKOVIC, S. N. & JOSEPH, R. W. 2012. Therapy for metastatic melanoma: the past, present, and future. *BioMed Central Medicine* 10:23-6.
2. ILKOVITCH, D. & LOPEZ, D. M. 2008. Immune modulation by melanoma-derived factors. *Experimental Dermatology* 17:977-985.
3. RICOTTI, C., BOUZARI, N., AGADI, A. & COCKERELL, C. J. 2009. Malignant skin neoplasms. *Medical Clinics of North America* 93:1241-64.
4. MOOI, W. J. & PEEPER, D. S. 2006. Oncogene-induced cell senescence-halting on the road to cancer. *New England Journal of Medicine* 355:1037-46.
5. GRAY-SCHOPFER, V. C., CHEONG, S. C., CHONG, H., CHOW, J., MOSS, T., ABDEL-MALEK, Z. A., MARAIS, R., WYNFORD-THOMAS, D. & BENNETT, D. C. 2006. Cellular senescence in naevi and immortalisation in melanoma: a role for p16? *British Journal of Cancer* 95(4):496-505.
6. MILLER, A. J. & MIHM, M. C. JR. 2006. MELANOMA. *New England Journal of Medicine* 355(1):51-65.
7. SWANN, J. B. & SMYTH, M. J. 2007. Immune surveillance of tumors. *Journal Clinical Investigation* 117:1137-1146.
8. VESELY, M. D., KERSHAW, M. H., SCHREIBER, R. D. & SMYTH, M. J. 2011. Natural Innate and Adaptive Immunity to Cancer. *Annual Review of Immunology* 29:235-271.
9. POLLARD, J. W. 2004. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. *Nature Reviews Cancer* 4:71-2.

10. MANTOVANI A., ALLAVENA P., SICA, A. & BALKWILL, F. 2008. Cancer-related inflammation. *Nature* 454:436–444.
11. SIRIKANJANAPONG, S., LANSON, B., AMIN, M., MARTINIUK, F., KAMINO, H. & WANG, B. Y. 2010. Collision tumor of primary laryngeal mucosal melanoma and invasive squamous cell carcinoma with IL-17A and CD70 gene over-expression. *Head Neck Pathology* 4(4):295-9.
12. GAFFEN, S. L. 2008. An overview of IL-17 function and signaling. *Cytokine* 43(3):402-7.
13. MIOSSEC, P., KORN, T. & KUCHROO, V. K. 2009. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *New England Journal of Medicine* 361:888–898.
14. KRYCZEK, I., WU, K., ZHAO, E., WEI, S., VATAN, L., SZELIGA, W., HUANG, E., GREENSON, J., CHANG, A., ROLIŃSKI, J., RADWAN, P., FANG□. J., WANG, G. & ZOU W. 2011. IL-17+ regulatory T cells in the microenvironments of chronic inflammation and cancer. *Journal of Immunology* 186(7):4388-95.
15. TANG, Q., LI, J., ZHU, H., LI, P., ZOU, Z. & XIAO, Y. 2013. Hmgb1-IL-23-IL-17-IL-6-Stat3 axis promotes tumor growth in murine models of melanoma. *Mediators of Inflammation* 2013:713859.
16. HAYATA, K., IWAHASHI, M., OJIMA, T., KATSUDA, M., IIDA, T., NAKAMORI, M., UEDA, K., NAKAMURA, M., MIYAZAWA, M., TSUJI, T. & YAMAUE, H. 2013. Inhibition of IL-17A in tumor microenvironment augments cytotoxicity of tumor-infiltrating lymphocytes in tumor-bearing mice. *PLoS One* 8(1):e53131.
17. SAMPAIO, S. A. P. 2010. *Dermatologia*. Artes Médicas-grupo A. 3ª ed. ISBN: 978-85-367-0063-2. 302p.
18. HAITIAN, L.U., WEIMING, O. & CHUANSHU, H. 2006. *Inflammation, a Key Event in Cancer Development*. *Molecular Cancer Research* 4:221-233.
19. TSAI, Y. P. & WU, K. J. 2012. Hypoxia-regulated target genes implicated in tumor metastasis. *Journal of Biomedical Science* 19:102-3.
20. MURUGAIYAN, G. & SAHA, B. 2009. Protumor vs Antitumor Functions of IL-17. *Journal of Immunology* 183:4169-4175.
21. DU, J. W., XU, K. Y., FANG, L. Y. & QI, X. L. 2012. Interleukin-17, produce by lymphocytes, promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of breast cancer. *Molecular Medicine Reports* 6(5):1099-1102.
22. WANG, L., YI, T., KORTYLEWSKI, M., PARDOLL, D. M., ZENG, D. & YU, H. 2009. IL-17 can promote tumor growth through an IL-6-Stat3 signaling pathway. *Journal Experimental Medicine* 206(7):1457-64.
23. NUMASAKI, M, FUKUSHI, J., ONO, M., NARULA, S. K. & ZAVODNY, P.J., 2003. Interleukin-17 promotes angiogenesis and tumor growth. *Blood* 101(7):2620-7.
24. HIRANO, T., ISHIHARA, K. & HIBI, M. 2000. Roles of STAT3 in mediating the cell growth, differentiation and survival signals relayed through the IL-6 family of cytokine receptors. *Oncogene* 19(21):2548-56.
25. SU, X., YE, J., HSUEH, E. C., ZHANG, Y., HOFT, D. F. & PENG, G. 2010. Tumor microenvironments direct the recruitment and expansion of human Th17 cells. *Journal Immunology* 184(3):1630-41.
26. NASSO, M., FEDELE, G., SPENSIERI, F., PALAZZO, R., COSTANTINO, P., RAPPUOLI, R. & AUSIELLO, C. M. 2009. Genetically detoxified pertussis toxin induces Th1/Th17 immune response through MAPKs and IL-10-dependent mechanisms. *Journal Immunology* 183(3):1892-9.
27. ALSHAKER, H. A. & MATALKA, K. Z. 2011. IFN- γ , IL-17 and TGF- β involvement in shaping the tumor microenvironment: The significance of modulating such cytokines in treating malignant solid tumors. *Cancer Cell International* 11:33-35.
28. SUMIMOTO, H., IMABAYASHI, F., IWATA, T. & KAWAKAMI, Y. 2006. The BRAF–MAPK signaling pathway is essential for cancer-immune evasion in human melanoma cells. *Journal Experimental of Medicine* 2:1651–1656.
29. HE, D., LI, H., YUSUF, N., ELMETS, C. A.; LI, J., MOUNTZ, J. D. & XU, H. 2010. IL-17 promotes tumor development through the induction of tumor promoting microenvironments at tumor sites and myeloid-derived suppressor cells. *Journal of Immunology* 184(5):2281-8.
30. WAKITA, D., SUMIDA, K, IWAKURA, Y., NISHIKAWA, H. & OHKURI, T. 2010. Tumor-infiltrating IL-17-producing gammadelta T cells support the progression of tumor by promoting angiogenesis. *European Journal of Immunology* 40 (7):1927-37.