

## **A kutatás eredményei**

**A vizsgálat célja:** a krónikus májbetegségek progresszióját és súlyosságát befolyásoló tényezők, így a hepatitis C vírus (HCV) receptorok, sejtkapcsoló struktúrák, extracelluláris matrix komponensek vizsgálata és a krónikus májbetegségek lefolyásával, súlyosságával való összefüggés analizálása.

**A vizsgálati anyag:** elsősorban emberi, diagnosztikus, vagy terápiás célból vett szövetek, valamint in vivo és in vitro kísérleti rendszerek képezték.

**A vizsgálat módszerei:** rutin szövettani, immunhisztokémiai, morfometriai, molekuláris biológiai vizsgálatok, szövettenyészet, állatkísérletek.

### **Eredmények:**

1. A hepatitis C vírus (HCV) hepatocytá sejt felszíni receptorait, így a HCV belépésében szerepet játszó claudin1-t, occludint, CD81-t, SRB1-t immunhisztokémiai és molekuláris biológiai módszerekkel vizsgáltuk. Morfometriai analízissel igazoltuk, hogy a claudin1 és occludin expresszió jelentősen fokozódik a krónikus májbetegségekből, így chronicus hepatitisben (CH), cirrhosisban, valamint hepatocellularis (HCC) és cholangiocarcinómában (CC). Ráműtattunk arra, hogy míg a normális májban a claudin1 a hepatocyták és epeúthámsejtek apikális pólusán helyezkedik el membránózus festődés formájában, az immunlokalizáció megváltozik CH-ben, cirrhosisban, mivel az a sejtek körfogatát részben, vagy teljesen elfoglalja. Ezen jelenség a tight junctiont (TJ) alkotó fehérjék dinamikus modelljével magyarázható (Németh és mtsai. *J Histochem Cytochem* 57: 113-121, 2009; Németh és mtsai. *Pathol Oncol Res* 15: 533-539, 2009; Jármay és mtsai. *Magyar Gasztroenterológiai Társaság 52. Nagygyűlése*, Tihany, 2010; Patonai és mtsai. *EASL Special Conference Hepatocellular Carcinoma: from Genomics to Treatment*, Dubrovnik, Croatia, 2010; Patonai és mtsai. *Virch Arch* 458: 679-688, 2011).

2. Ráműtattunk a mikroRNS (miR)-ek jelentőségére a májbetegségekből, kiemelten a hepatokarcinogenezisben és összefoglaltuk az erre vonatkozó ismereteket, valamint több mikroRNS vizsgálatát beállítottuk (Lendvai és mtsai. *Orv Hetil* 153: 978-989, 2012). Transzplantált májakon végzett vizsgálataink során kiemelten azon miR-eket vizsgáltuk, melyek a HCV receptorok (claudin1, occludin, SRB1) feltételezett célpontjai. Huszonnyolc

felelt transzplantált betegből nyert mintákban vizsgáltuk a miR-21, -23a, -34a, -96, -99a, -122, -125b, -181a-2, -194, -195, -217, -221, -224 expresszióját RT-qPCR technikával. Vizsgálataink során a HCV rekurrencia és az antivirális terápiára adott válasz alapján a miR profilok különböztek. Különösen a miR-194 és miR-21 mutatott összefüggést a HCV receptorok expressziójával és az antivirális terápiával. A kóros miR-221 expresszió nagy valószínűséggel a hepatokarcinogenezissel kapcsolatos, melyre vonatkozó vizsgálataink folyamatban vannak (Gelley és mtsai. *J Gastroenterol Hepatol*, közlésre beküldve).

3. Igazoltuk, hogy az epeúrendszer egyes szakaszain eltérő, az egyes szakaszokra jellemző a claudin mintázat. A claudinok, mint a tight junction legfontosabb összetevőinek az expressziója, jellemzi az egyes sejt és szövettípusokat és a sejtek polaritását, paracelluláris diffúzióját, a sejtek növekedését és differenciációját is befolyásolja (Németh és mtsai. *J Histochem Cytochem* 57: 113-121, 2009). Ezen jellegzetes mintázat az epeúrendszer egyes szakaszaiból kiinduló daganatokban is megfigyelhető és eltérő a hepatocytákból kiinduló daganatoktól és egyéb, hámeredetű daganatoktól (Németh és mtsai. *J Histochem Cytochem* 57: 113-121, 2009; Németh és mtsai. *Pathol Oncol Res* 15: 533-539, 2009; Németh és mtsai. *Pathol Oncol Res* 16: 19-27, 2010; Patonai és mtsai. *Virch Arch* 458: 679-688, 2011). Igazoltuk, hogy az epeúrendszer, beleértve az epehólyagot is, daganataiban az egyes claudinok eltérő módon expresszálódnak. Különösen jelentős, hogy egyes claudinok, így a claudin4 és claudin10 expresszió jelentősen megnövekszik egyes epeút eredetű daganatokban, mely ezen tumorok diagnosztikájában és kezelésében is szerepet kaphat (Németh és mtsai. *J Histochem Cytochem* 57: 113-121, 2009). A fenti vizsgálatok többségét tissue microarray mintákon végeztük (Németh és mtsai. *J Histochem Cytochem* 57: 113-121, 2009; Németh és mtsai. *Pathol Oncol Res* 15: 533-539, 2009).

4. A hepatocytá és epeúti tumorokon nyert megfigyeléseink összehasonlításaként, egyéb daganatokon is vizsgáltuk a claudinok expresszióját. Kimutattuk, hogy a fentiekhez hasonló módon egyéb szervek, így a pajzsmirigy daganataiban valamint a hógyhólyag tumoraiban is jellegzetes a claudin mintázat és ennek prognosztikai és diagnosztikus jelentősége is van, az epeúti tumorokhoz hasonlóan (Németh és mtsai. *Pathol Oncol Res* 16: 19-27, 2010, Törzsök és mtsai. *J Histochem Cytochem* 59: 1022-1030, 2011; Székely és mtsai. *J Histochem Cytochem* 59: 932-941, 2011).

5. A tight junction-t alkotó proteinek újonnan felismert tagját, a tricellulint is vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy ezen fehérje a normális májban is expresszálódik, elsősorban ahol három sejt találkozik. Morfometriai analízissel a tricellulin fehérje, valamint az mRNS csökkent expresszióját detektáltuk. Nukleáris lokalizációt is észleltünk, melynek magyarázata jelenleg nem világos (Patonai és mtsai. *Virch Arch* 458: 679-688, 2011). A HCC speciális típusának, a fibrolamellaris hepatocellularis carcinomának a molekuláris jellegzetességeit vizsgálva kimutattuk, hogy az epidermalis növekedési faktor receptor (EGFR) fokozottan expresszálódik ezen tumorban, a konvencionális HCC-hez viszonyítva (Patonai és mtsai. *Pathol Oncol Res* 19: 63-70, 2013). A tricellulin expressziót a normális és neoplasztikus pancreasban is tanulmányoztuk, elsősorban az epeúti tumorokkal való hasonló fejlődési sajátosságok miatt. A világon elsőként mutattuk ki, hogy a tricellulin expresszió a pancreas ductalis carcinomáiban szignifikáns negatív korrelációt mutat a differenciáció fokával és összefügg a túléléssel. A pancreas endokrin tumoraiban viszont nem expresszálódik a tricellulin (Korompay és mtsai. *Histopathology* 60: E76-E86, 2012).

6. A claudin1 expresszió változását vizsgáltuk fehérje és mRNS szinten transzplantált betegektől nyert májbiopsziákban. Igazoltuk, hogy az expresszió összefügg az antivirális terápiára adott válasszal és korrelál a fibrózis mértékével (Zadori és mtsai. *Transplant Proc* 43: 1267-1271, 2011).

7. A hepatikus őssejtek szerepét kollaborációban vizsgáltuk. Humán embrionális őssejteket differenciáltatva kimutattuk az egyes claudinok mRNS szinten történő változását. Igazoltuk, hogy a 15. napon, már hepatocyta jellegzetességeket mutató sejtek egyrésről albumint, glikogént és alfa fetoproteint termelnek és citokeratin 8-t expresszálnak, másrésről claudin 4-t (és citokeratin 7-t és 19-t) is expresszálnak, ami a cholangiocyta irányú differenciáció jellegzetessége. Feltételeztük, hogy ezen sejtek bipotenciális (hepatocyta és cholangiocyta) jellegzetességgel bíró sejtformák. Párhuzamot feltételezünk ezen kettős differenciáltság és egyes emberi májeredetű primer daganatokban észlelt kettős differenciáltság között (Erdélyi-Belle és mtsai., előkészületben).

8. A máj fibrogenézisével kapcsolatban több komponens, kiemelten az agrin és a decorin szerepét vizsgáltuk. Az agrin, mint az erek és az epeutak bazális membránjában jelenlévő proteoglikán fokozott expresszióját észleltük HCC-ban, a nem daganatos májhoz viszonyítva. A vizsgálatokat az agrin és CD34 együttes immunhisztokémiai detektálásával és kvantitatív

értékelésével végeztük. Igazoltuk, hogy az agrin szelektíven a daganatos erekben expresszálódik, amely megfigyelés a diagnosztikában is felhasználható (Tátrai és mtsai. *Am J Surg Pathol* 33: 874-885, 2009). Ugyancsak rámutattunk arra, hogy az agrin immunhisztokémiai detektálása a primer és szekunder májdaganatok elkülönítését is segíti (Somorácz és mtsai. *Hum Pathol* 41: 1310-1319, 2010).

9. A heparán szulfátok kvalitatív és kvantitatív eltéréseit vizsgáltuk a fibrózissal járó májbetegségekben és HCC-ban emberi anyagban és *in vivo* kísérleti rendszerekben. Kimutattuk, hogy a 3-O-szulfatált epitóp jelentősen nő a fibrózis és a hepatokarcinogenezis előrehaladtával (Tátrai és mtsai. *J Histochem Cytochem* 58: 429-441, 2010)

10. A cirrhosis pathogenezisének és ezen belül a fibrózis folyamatának elemzése során a decorin, ezen kis proteoglikán szerepét vizsgáltuk *in vivo* és *in vitro* körülmények között. A vizsgálatok igazolták, hogy a decorin hiány (kiütött egereken, *Dcn*<sup>-/-</sup>) elősegíti a májfibrózis kialakulását és csökkenti a sebgyógyulást, részben a transzformáló növekedési faktor  $\beta$  bioaktivitásának megváltoztatásával (Baghy és mtsai. *Lab Invest* 91: 439-451, 2011).