

dc_1040_15

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Tight junction alkotórészek és mikroRNS expresszió vizsgálata humán daganatokban, különös tekintettel a májdaganatokra



Dr. Kiss András

Semmelweis Egyetem Budapest,

II. sz. Pathológiai Intézet

Budapest

2015

dc_1040_15

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Tight junction alkotórészek és mikroRNS expresszió vizsgálata humán daganatokban, különös tekintettel a májdaganatokra



Dr. Kiss András

Semmelweis Egyetem Budapest,

II. sz. Pathológiai Intézet

Budapest

2015

rövidítések jegyzéke

ALT	Alanin amino-transzferáz
CC	Cholangiocarcinoma
cDNS	Complementary DNA
CHC	Krónikus C hepatitis
CIN	Cervicalis intraepithelialis neoplasia
CIS	in situ carcinoma
CRLM	Colorectalis carcinoma májáltét
EFS	Eseménymentes túlélés /event free survival
EZH2	Enhancer of zeste homolog 2
FFPE	Formalin fixált, paraffinba ágyazott
FLC	Fibrolamelláris HCC
FNAB	Fine Needle Aspiration Biopsy / vékonytű aspirációs citológiai vizsgálat
GGT	Gamma-glutamil-transzferáz
HCC	Hepatocelluláris carcinoma
HCV	Hepatitis C vírus
HG-UCC	High grade urothelialis carcinoma
HPV	Humán papillomavírus
iCCC	Intrahepatikus cholangiocarcinoma
IFN	Interferon
IHC	Immunhisztokémia
IUP	Invertált urothelialis papilloma
LG -UCC	Low grade urothelialis carcinoma
miR	mikroRNS
mRNS	Hírvivő RNS
NR	Non-responder
OS	Teljes túlélésben /overall survival
PFS	Progresszió mentes túlélés
PLM	Pancreas ductalis carcinoma májáltét
PUNLMP	Papillary Urinary Neoplasia of Low Malignant Potential/ alacsony malignus potenciálú papilláris urotheliális neoplasia
RBV	Ribavirin
RT PCR	Real Time Polimeraz Chain Reaction
RTqPCR	Real Time quantitative Polimeraz Chain Reaction
SVR	sustained viral response/tartós vírus válasz
Ta-T1	Tumor stádium Ta-T1
TJ	Tight junction
TMA	Tissue microarray
TUR	Trans-urethralis resectio
UP	Urothelialis papilloma
ZO -1	zonula occludens-1 protein

1. Bevezetés

A humán daganatok kialakulása igen változatos genetikai eltéréseken alapszik, valamint fontos szerepet játszik a folyamatban az összejt populáció, valamint a daganatok és környezetük viszonya. Ezen faktorok különbözősége még az azonos szövettani osztályozási csoportba sorolt daganatokra is igaz. A kialakuló daganatok nagymértékű genetikai és genom szintű szabályozási heterogenitása nemcsak a különböző egyének tumoraiban, hanem adott esetben egy tumoron belül is megmutatkozik. Ennek megértésében nyújt segítséget a komplex expressziós mintázatok egyre mélyebb megismerése. A daganatok szöveti hisztogenezisének feltárása és pontosabb megértése nemcsak a diagnosztikában jelenthet segítséget, hanem terápiás döntések meghozatalához is segítséget adhat. A hisztopathologiai diagnózis és a daganat differenciáltsági fokának („grade”) és stádiumának („stage”) megállapítása ma is alapvető, úgynevezett „gold standard”, mely lehetővé teszi a homogénnek tartott betegcsoportok azonosítását és ezáltal diagnosztikus és terápiás protokollok kialakítását. A klasszikus pathologiai diagnosztika módszereinek tárháza folyamatosan bővült és jelenleg is bővül a molekuláris biológiai technikák egyre kiterjedtebb alkalmazásával. A génexpresszió mRNS és fehérje szintű szabályozásában a komplexitás megértése nagy kihívás és az orvosi biológiai kutatási eredmények várhatóan növelni fogják a daganatok diagnosztikai hatékonyságát és segítenek a személyre szabott terápiás módszerek kiválasztásában.

Jelen disszertáció alapvetően két kutatási terület eredményeit szeretné bemutatni. Az egyik terület a sejtkapcsoló struktúrák alkotórészeinek, ezen belül is a tight junction alkotórészek - így például claudinok expressziós mintázatának vizsgálata, a másik pedig a fehérje termelődés poszt-transzkripciós szabályozásának tanulmányozása a mikroRNS-ek expressziós profiljának segítségével. Mindkét mintázat vizsgálatát alapvetően a hepato-pancreato-biliáris és az urogenitális rendszer normál szöveteiben és gyakori daganattípusaiban kívántuk feltárni és összehasonlító analízist végezni a klinikai paraméterek figyelembe vételével. Ezáltal a daganatok szöveti hisztogenezisének pontosabb feltérképezését, valamint a vizsgált mintázatok új differenciál diagnosztikai értékét kívántuk megismerni. Továbbmenve, az expressziós profilok klinikopathologiai jelentőségét, prognosztikai, prediktív értékét is értékelni kívántuk.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A jelen értekezésben tárgyalt vizsgálatok a tight junction (TJ) sejtkapcsoló struktúra alkotórészek közül a claudinok, az occludin és a tricellulin megváltozott expressziós mintázatának felderítését és ennek jelentőségének megértését tűzték ki célul a humán daganatok hisztogenezisének jobb megértéséhez, továbbá vizsgálni kívántuk a megváltozott expressziós mintázat jelentőségét a carcinogenesisben, a tumorok differenciációjában és progressziójában. Hasonlóképpen, a mikroRNS-ek megváltozott expresszióját vizsgáltuk ebben a kontextusban, illetve a megváltozott expressziós mintázatok differenciál diagnosztikai és prediktív jelentőségét a klinikai kezelésre adott válaszban. A humán daganatok közül kiemelten foglalkoztunk a máj és a hasnyálmirigy daganatokkal, valamint a méh és a húgyhólyag daganataival.

A primer és áttéti májdaganatok elkülönítését sok esetben már rutin szövettani vizsgálattal el lehet végezni, de szükség lehet speciális, elsősorban immunhisztokémiai vizsgálatokra. A dedifferenciált daganatok esetében azonban gyakran a citológiai, szövettani morfológia nem elégséges a végső diagnózis felállításához és a génexpressziós mintázat elemzésére van szükség. A jelenleg használt immunhisztokémiai markerek egyike sem bír 100 %-os specificitással és szenzitivitással, ezért egyes sejtkapcsoló struktúrák alkotórészei expressziós mintázatának felhasználása is felmerül diagnosztikus, prognosztikus vagy prediktív célra. Ennek vizsgálatához a következő kérdésekre kerestünk választ:

Primer és áttéti hepato-pancreato-biliáris daganatok TJ mintázata

1. Milyen a jellegzetes TJ expressziós mintázat – beleértve a claudinok és tricellulin expresszióját – a normál májban, krónikus hepatitisben, cirrhosisban és hepatocelluláris carcinomában (HCC)?
2. Milyen különbségek jellemzik a HCC egyes altípusainak TJ mintázatát?
3. Elkülöníthető-e a HCC a cholangiocarcinomától (CC) a TJ mintázat alapján és vannak-e különbségek a humán epeúrendszer különböző szakaszaiból származó cholangiocarcinomái között?
4. Kimutatható-e összefüggés a claudin mintázat változása és a hepatitis C vírus (HCV) fertőzés között?
5. Jellemzi-e a TJ mintázat – beleértve a claudinok és tricellulin expresszióját – a hepatoblastomák különböző altípusait és mutatkozik-e összefüggés a hepatoblastoma

altípusaiban az epigenetikus szabályozó molekula, az enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) fehérje az expressziója és a klinikopathológiai paraméterek között?

6. Milyen jellegzetes TJ expressziós mintázat – beleértve a claudinok és tricellulin expresszióját – mutatható ki normál májban, krónikus hepatitisben, cirrhosisban és HCC-ben és van-e ezen kóros mintázatoknak prognosztikus vagy prediktív szerepe?

Urogenitális daganatok TJ expressziós profilja

7. Milyen a claudin, az occludin és a feltételezett HPV receptor proteoglikán, a syndecan-1 expressziós mintázata a normál cervix hámban és milyen változások jönnek létre a mintázatban a praemalignus-malignus progresszió során in situ carcinomában (CIS), CIN I-III léziókban, illetve invazív méhnyakrákban?

8. Milyen fehérje és mRNS szintű claudin expressziós változások jellemzik a normál és hyperplasiás endometrium hámot és az endometrium carcinoma endometrioid és seropapilláris típusait az endometrium carcinogenesis során?

9. Van-e különbség a claudin mRNS és fehérje expresszió komplex megjelenésében, valamint a proliferációs aktivitásban a normál húgyúti hám és az alacsony és magas differenciáltságú ("low grade és high grade") húgyhólyagrakok között, valamint urotheliális papillomában (UP), invertált urotheliális papillomában (IUP), alacsony malignus potenciálú papilláris urotheliális neoplasiában (PUNLMP) és low grade urotheliális carcinomában (LG-UCC)? A kimutatott eltéréseknek van-e differenciál diagnosztikai jelentősége, illetve mutatnak-e összefüggést a betegek kiújulás mentes és a teljes túlélésével?

A hepatitis C, steatosis és HCC asszociált mikroRNS mintázat

10. Vannak-e jellegzetes különbségek a target predikció szerint, a potenciálisan a hepatitis C vírus (HCV) receptorokra ható mikroRNS-ek expressziójában a HCV kiújulás idején és az antivirális kezelés hatására a HCV cirrhosis miatt végzett ortotopikus májátültetések utánkötése során? Találunk-e különbséget a mikroRNS mintázatban az antivirális kezelésre reagáló betegcsoportban a non-responderokhoz képest és a vírus kiújulásakor a mikroRNS-k expressziós mintázata előre tudja-e jelezni az antivirális kezelés hatásosságát?

11. Van-e különbség a mikroRNS mintázatban a különböző eredetű steatosisekban, így a HCV pozitív vagy negatív krónikus hepatitis asszociált steatosisekban, valamint a metabolikus eredetű steatosisekban?

12. Mutatkozik-e különbség a mikroRNS expressziós mintázatban az inoperábilis, illetve recidív HCC-ben szenvedő betegek sorafenib (Nexavar) célzott terápiás kezelése során a kezelésre jól reagáló, hosszabb túlélést mutató betegek és a kezelésre rosszul reagáló, rövidebb túlélést mutató betegek között a kezelés előtti vékony tű aspirációs citológiai minták között?
13. Van-e különbség az epitheliális típusú hepatoblastoma fetális és embryonális típusának mikroRNS expressziós profilja között és mutat-e a mintázat összefüggést a β -catenin magi felhalmozódásával és betegek túlélési adataival?

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatok és az alkalmazott módszerek sokfélesége miatt ezek ismertetése kivonatos formában történik.

A vizsgálatokban felhasznált módszerek

- Immunhisztokémiai és immunfluoreszcens vizsgálatok
- Szöveti multiblokk (tissue microarray/TMA) készítése
- Fehérje expresszió vizsgálata Western blot analízissel
- Trizollal történt RNS izolálás fagyasztott mintákból
- RNS izolálás formalin fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) szöveti mintákból és citológiai kenetektől
- cDNS készítés
- mRNS expresszió mérése kvantitatív real-time RT PCR módszerrel
- A miR expresszió RTqPCR vizsgálata

Vizsgált betegcsoportok:

A vizsgált szövetmintákat a Semmelweis Egyetem klinikáinak, így az I. sz. Sebészeti Klinika, a II. sz. Nőgyógyászati Klinika, az Urológia Klinika, az I. sz. Gyermekgyógyászati Klinika betegeinek diagnosztikus célra eltávolított és a II. sz. Pathologiai Intézetbe beküldött, feldolgozott mintáiból nyertük. A Semmelweis Egyetem Transzplantációs Klinika és a Gyermekonkológiai Klinikával való együttműködés során a Semmelweis Egyetem I. sz. Pathologiai és Kísérleti Rákkutató Intézetében feldolgozott eseteket is vizsgáltunk. Döntően formalin fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) mintákat tanulmányoztunk, de egyes szelektív mintacsoportok esetén -80 C-on fagyasztott szövetminták vizsgálatára is sor került. A sorafenib kezelt HCC betegek miR expressziós vizsgálatait FNAB citológiai mintákból végeztük. A vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem Regionális Etikai Bizottságának engedélyével végeztük (REGEB: 172/2003, 2/2004, 1/2005, 82/2005, 160/2006, 15/2008, 68/2008, 137/2008. 158/2008, 630/PI/2008.84-245/2008-1018 EKV, 83/2010, 35/2011). A vizsgált betegcsoportok a következők voltak:

- *Claudin expresszió hepatocelluláris carcinomában, fibrolamelláris carcinomában, cholangiocarcinomában és májmetasztázisokban:* A vizsgálatokat 53 biliáris traktusból származó cholangiocarcinomán, 50 hepatocelluláris carcinomán, 10 normál májmintán és 10

normál extrahepatikus epeúti mintán végeztük. Az occludin és a ZO-1 expressziót 20 HCC-ben és 20 colorectalis adenocarcinómában tanulmányoztuk és 7 normál májmintát vontunk be a vizsgálatba kontrollként.

- *Az epeút rendszer claudin expressziós mintázatát* 62 beteg sebészi rezekátumainak formalin fixált, paraffinba beágyazott anyagain vizsgáltuk.

- *A hepatoblastomák claudin expressziójának* tanulmányozásakor 14 esetet vizsgáltunk, míg a tricellulin esetében 21 eset FFPE blokkjainak retrospektív vizsgálatát végeztük.

- *A tricellulin expresszió hepatocelluláris carcinómában, fibrolamelláris carcinómában és pancreas ductalis carcinómában* történő vizsgálata során 128 tumormintát, benne 76 hasnyálmirigydaganatot és 42 primer májdaganatot, illetve 12 cirrhosisból származó mintát vizsgáltunk.

- *A low grade és high grade húgyhólyagrákok* vizsgálatok a *claudin expressziós mintázathoz* összesen 103 szövetmintát (86 LG és HG húgyhólyagrák, 17 nem tumoros urothel mintát), míg *a nem invazív húgyhólyag tumorok* tanulmányozásakor 80 TUR során eltávolított szövetmintát tanulmányoztuk (5 független /nem tumoros/ normál minta, 15 IUP, 20 UP, 20 PUNLMP és 20 LG-UCC).

- *A claudin expressziót a cervixben* összesen 105 biopszia és sebészi exstirpáció során eltávolított rezekátum mintáin vizsgáltunk, míg az *endometrium daganatok* claudin expressziójának tanulmányozását 15 non-endometrioid, serosus carcinómán, 17 endometrioid carcinómán és 24 normál endometrium mintán végeztük (12 proliferatív és 12 secretoros fázisban).

- *A sorafenib kezelt HCC betegek mikroRNS expressziós profiljának* vizsgálatok a végső kiértékelésbe a szigorú beteg bevonási kritériumok miatt 20 beteg kerülhetett be, ezen betegeket 4 éven át követtük (2008-2012).

- *A HCV asszociált májtranszplantációban a mikroRNS expresszió* vizsgálatok 28 beteget és biopsziás mintáikat vontuk be vizsgálatunkba. A *steatosisban* a mikroRNS expressziós profil tanulmányozása során összesen 64 beteget vontunk be a vizsgálatba, akik közül 46-an HCV fertőzött, 1/b genotípusú krónikus hepatitis C betegek (CHC) voltak és a Szegei Egyetem 1 sz. Belgyógyászati Klinikáján végezték májbiopsziájukat. Ezen betegeket a májbiopsziák patológiai vizsgálata alapján steatosis nélküli (CHC, 18 beteg), illetve steatosisal társult hepatitis (CHC-Steatosis, 28 beteg) csoportokba osztottuk. További 18 beteg májbiopsziás mintáit a II. sz. Patológiai Intézet archívumából választottunk ki. Ezen

dc_1040_15

betegek különféle metabolikus eredetű steatosisban szenvedtek, de esetükben HCV fertőzés nem volt kimutatható, valamint 12 normál májmintát vizsgáltunk kontrollként.

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Hepato-pancreato-biliaris daganatok TJ komponenseinek expressziós mintázata

A normál és cirrhotikus máj hepatocytáiban a claudin-1, -2, és -7 expresszálódott, azonban a claudin-3 és -4 nem termelődött, szemben a cholangiocytákkal, melyek az összes felsorolt claudint expresszálták. A cirrhotikus máj hepatocytái szignifikánsan erősebb claudin-1 és -7 immunhisztokémiai reakciót mutattak, mint a normál májban lévők. A cirrhotikus májban kialakult HCC-ben a claudin-1 festődés még a cirrhosisban tapasztaltnál képest is szignifikánsan emelkedett, azonban a tumorsejtek claudin-7 expressziója a cirrhotikus nodulusok hepatocytáinál kisebb mértékűnek bizonyult. *Eredményeink alapján tehát cirrhosisban mind a májszövetben, mind a talaján kialakuló HCC-kben a claudin-1 és -7 expresszió emelkedett volt a normál májhoz viszonyítva.*

A HCV fertőzés a nem fertőzött esetekhez képest emelkedett, de nem szignifikánsan különböző claudin-1 és -7 termelődést eredményezett a HCV pozitív cirrhosisban, tehát *a HCV fertőzés nem mutatott összefüggést az emelkedett claudin expresszióval.* Ez arra utal, hogy a HCV fertőzés önmagában kisebb szerepet játszik a cirrhosisban észlelt emelkedett claudin-1 expresszióban, inkább a krónikus hepatitis okozta szerkezeti átalakulás, a fibrosis állhat a jelenség mögött. Mindazonáltal a cirrhosisban észlelt emelkedett claudin-1 expresszió, mint a HCV egyik belépési receptora, segítheti a HCV hepatocytákba való belépését, ezáltal támogatva a HCV fertőzés fennmaradását, krónikussá válását. Ezen túlmenően a jelenség a hepatocarcinogenesisben is szerepet játszhat és a claudin-1 elleni antitest terápia várható hatásmechanizmusához további adatokat szolgáltat. A claudin-1 elleni monoklonális antitest terápia hepatocytá sejt kultúrákban kapott eredményei alapján képes lehet megakadályozni a HCV fertőzést, adott esetben májtranszplantáció után, illetve gátolhatja a vírus terjedését a krónikusan fertőzött egyéneknél.

A claudin-1 fehérje erős immunhisztokémiai pozitívítást adott a *colorectalis carcinoma májmetasztázisaiban (CRLM)*, míg a *pancreas ductalis carcinoma májmetasztázisaiban (PLM)* és a HCC alacsonyabb expressziót mutatott. A CRLM és PLM csoportok egyaránt erős claudin-4 pozitívítást mutattak, szemben a negatív HCC-vel. A claudin-2 immunhisztokémiai reakció erősen pozitív volt a tumormentes májszövetben, míg a tumorok ehhez képest szignifikánsan gyengébb termelődést mutattak. Az mRNS expresszióban talált különbségek nagyrészt megegyeztek az immunhisztokémiai kiértékelés során kapott eredményekkel. A CRLM

mintákban erős claudin-3 és -7 immunohisztokémiai pozitivitást észleltünk, mely a HCC és PLM csoportokhoz képest szignifikánsan magasabbnak bizonyult. A normál májhoz képest mind a HCC-t, mind pedig a CRLM-t csökkent occludin és ZO-1 mRNS expresszió jellemzi. Amíg azonban a HCC tumorsejtjei nem mutattak immunpozitív reakciót a ZO-1-re és az occludinra, addig a colorectalis carcinoma májmetasztázisaiban e két fehérje erős festődési reakciója volt detektálható. A fenti eredmények tehát az egyes vizsgált tumorok közötti eltérő claudin mintázatot igazolják, mely tükrözi a kiindulási szövet TJ mintázatát is és utal a daganat hisztogenezisére.

A claudin-1, -3, -7, -8 és -10 közül egyes claudinok immunohisztokémiai reakciójának pozitivitása, mind a reakciók intenzitásában, mind a pozitív sejtek arányában a legtöbb *cholangiocarcinomában* csökkent a normál hámhhoz képest. Ezzel szemben a *claudin-4 pozitívitas szignifikánsan növekedett CC-ban*, mely lényeges eltérés a HCC-hez képest. A cholangiocarcinomák mindegyike pozitív immunohisztokémiai reakciót adott a claudin-4 elleni antitesttel, a tumorsejtek 75-100 %-a membrán pozitivitást mutatott. A biliáris epithel különböző lokalizációjú tumorainak komplex claudin expressziós mintázatát egymással összevetve megállapítható volt, hogy az egyes szakaszokat eltérő, jellegzetes expressziós profil jellemezte. A claudin-4 reakció intenzitása az extrahepatikus cholangiocarcinomában volt a legerősebb. A differenciáció mértéke nem befolyásolta szignifikánsan a claudin-4 immunohisztokémiai reakciót, mind a rosszul, mind pedig a jól differenciált carcinomák kifejezett festődést adtak. Ezzel ellentétben a HCC minták egyike sem mutatott claudin-4 festődést. A cholangiocarcinomák claudin-4 expressziója segítséget jelenthet az anaplasztikus HCC-től való elkülönítésben, de a metasztatikus adenocarcinomák esetében önmagában nem jelent segítséget a differenciációban. Vizsgálataink alapján a claudin expressziós mintázat, de különösen a claudin-4 expresszió, jobban vagy legalább olyan jól elkülöníti az epeúti tumorokat a hepatocelluláris daganatoktól mint a citokeratinok.

A claudin-1 és a claudin-2, valamint a tricellulin fehérje expresszió intenzitása és festődő sejtek aránya is szignifikánsan magasabb volt a *hepatoblastoma* mintákban a tumor körüli, tumormentes májszövethez viszonyítva. A fetális szubtypusban a tricellulin immunreakció szemikvantitatív kiértékelése szignifikánsan magasabb értéket mutatott mind a környező májhoz, mind pedig az embryonális altípushoz képest. A hepatoblastomák jobban differenciált *fetális komponensében a claudin-1, claudin-2 fehérje és mRNS expresszió, valamint a tricellulin termelődése is szignifikánsan magasabb, mint a rosszabbul differenciált embryonális komponensben*. A rosszabbul differenciált embryonális komponens csökkent

claudin-1, -2 és tricellulin expressziója magasabb osztódási aktivitással társul. Ez a jelenség a β -catenin magi transzlokációjával nem mutatott korrelációt. A claudin-1, -2 és tricellulin expresszió tehát a hepatoblastoma sejtek differenciációs markerének tekinthető. A tricellulint alacsonyán expresszáló esetek szignifikánsan rövidebb teljes túlélést mutattak a Kaplan-Meier kiértékelésben a tricellulint magasán, a medián fölött expresszáló esetekhez viszonyítva, mely fontos prognosztikus jelnek tekinthető.

A normál *pancreasban* a három eltérő hisztogenezisű struktúra jellegzetes claudin expressziós mintázattal rendelkezik: a ductus hámszövetek claudin-1, -2, -3, -4 és -7 expressziót, az acinus sejtek claudin-1, -3, -4 és -7 termelődést mutattak, míg az endocrín szigetek sejtjeiben csak claudin-3 és -7 fehérje expresszió volt észlelhető. A pancreas tumorokban észlelt claudin expressziós mintázatot elemezve megállapítottuk, hogy az lényegileg megegyezik a kiindulási szövetek, sejtek expressziós mintázatával. A claudin-1, -2 és -4 fehérje azonban szignifikánsan magasabb expressziót mutat a ductalis adenocarcinomákban az endocrín tumorokhoz képest. Az exocrín ductalis pancreas carcinomák erőteljes claudin-1 és claudin-4 immunhisztokémiai pozitivitást mutatnak és negatívak claudin-3-ra, míg az endocrín daganatok claudin-3 fehérje expressziója erőteljes, de nem detektálható bennük claudin-1 és claudin-4. Az endocrín tumorok a claudin-7 fehérjét jelentősen erősebb mértékben termelik az exocrín tumorokhoz képest. Az exocrín és endocrín tumorok expressziós profiljában a legjellemzőbb eltérések tehát a claudin-1, -3 és -4 fehérjék esetében voltak megfigyelhetőek, melyek differenciál diagnosztikai értékkel bírhatnak. A claudin-3 expresszió megtartottsága a normál endocrín sejtekben és a daganatsejtek endocrín irányú differenciálódásában is fontos és jellemző, tehát a claudin-3 fehérje expresszió hiánya a tumorsejtek ductalis eredete mellett szól, melyet a claudin-4 expresszió pozitivitása viszont támogat.

A *tricellulin*-pozitivitás detektálható a hepato- és cholangiocytákban. A *fibrosis* súlyossága nem mutatott összefüggést a tricellulin festődés mértékével. A makro- és mikronoduláris *cirrhotikus májszövet* tricellulin-expressziós mintázata hasonlónak bizonyult a normál májszövethez. A tricellulin immunhisztokémiai reakciója a vizsgált *HCC-ben* igen heterogén volt és nem mutatott összefüggést a tumorok differenciáltságával. A *intrahepatikus cholangiocarcinomákban (iCCC)*, a pancreas ductalis carcinomákhoz hasonlóan, a daganatok szövettani fokozatának növekedésével, a dedifferenciálódással párhuzamosan a tricellulin fehérje expressziójának szignifikáns csökkenését észleltük. A rosszul differenciált (grade 3-as) tumorok tricellulin fehérje expressziója kifejezetten csökkent a jól differenciált tumorokhoz képest. A *fibrolamelláris HCC-ben (FLC)* a klasszikus HCC-csoporthoz

hasonlóan az acináris struktúrákban döntően a tumorsejtek apikális pólusán volt látható lineáris membránpozitivitás.

A cholangiocarcinoma esetében a tricellulin fehérjét magasan expresszáló 'tricellulin high'-csoportjának túlélését szignifikánsan hosszabbnak találtuk az alacsonyan expresszáló 'tricellulin low' csoporthoz képest. A tricellulin fehérjét magasan expresszáló HCC-k esetében azonban a betegek teljes túlélési ideje szignifikánsan rövidebb volt.

A *normál exocrin pancreasban* mind az acinussejtek, mind pedig a ductulusok és ductusok expresszálták a tricellulin fehérjét. A *pancreas ductalis adenocarcinomában*, a normál hasnyálmirigy ductus hámsajtjeihez hasonlóan a tricellulin immunhisztokémiai reakció a daganatsejtek luminális pólusán mutatott pontszerű pozitívítást. A tricellulin termelődése a pancreas ductalis carcinomák dedifferenciálódásával összhangban csökkent. A Kaplan-Meier analízis szignifikáns összefüggést mutatott ki a ductalis adenocarcinomák differenciáltsága és a betegek túlélése között. Másfelől a tricellulin expresszió és a tumor differenciáltsága között tapasztalt szignifikáns összefüggések alapján a vizsgált fehérje expressziója és a túlélés mértéke között indirekt pozitív korreláció volt kimutatható. A claudin expresszió mértéke azonban, a tricellulin expresszióval ellentétben nem mutatott szignifikáns különbséget a különböző fokozatú pancreas ductalis adenocarcinomák csoportjai között és nem találtunk lényeges eltérést a benignus, bizonytalan természetű és malignus endocrin tumorok között sem.

Urogenitális daganatok TJ alkotórészeinek expressziós profilja

A *normál urothelben* a claudin-1 fehérje expresszió alapvetően főként az urothel basalis rétegeiben mutatkozott, míg a claudin-2 reakció a basalis/peribasalis rétegekben. A claudin-3 és -5 immunreakció gyakorlatilag negatív volt és a claudin-10 sem volt detektálható. A claudin-4 és -7 immunhisztokémiai pozitívítást viszont az urothel felső rétegeit jellemezte. A húgyhólyagrakok csökkent claudin-1 és emelkedett claudin-2, -4 és -7, valamint Ki-67 fehérje expressziót mutattak, míg a claudin-1, -2, -4 és -7 mRNS expresszió emelkedett volt a nem-gyulladásos kontrollhoz viszonyítva.

Az *invertált papillomák* mintegy háromnegyedében a claudin-1 a daganat teljes terjedelmében pozitívítást mutatott, összességében az invertált papillomákban szignifikánsan emelkedett claudin-1 expresszió mutatkozott a papillomákkal, valamint a PUNLMP-kkel és a LG-UCC-kkel való összehasonlításban, akár morfológiai, akár szemi-kvantitatív kiértékelést alkalmaztunk. A claudin-1-et alacsonyan, azaz a medián alatt expresszáló PUNLMP-k

szignifikánsan rövidebb szövődmény mentes túlélést mutattak a claudin-1-et magasan, a medián fölött expresszáló PUNLMP-khez képest. A claudin-4-et magasan, a medián fölött termelő LG-UCC-k szignifikánsan rövidebb szövődmény mentes túléléssel rendelkeztek a claudin-4-et alacsonyán, a medián alatt expresszáló LG-UCC-khez képest, azonban érdekes módon a Ki-67 expresszió nem mutatott összefüggést a túléléssel.

Morfometriai vizsgálatunk kimutatta, hogy a T2-es stádiumú, izominvazív tumorok figyelembe vételétől függetlenül a *HG-UCC*-k szignifikánsan magasabb claudin-4 és Ki-67, valamint szignifikánsan alacsonyabb claudin-1 fehérje expressziót mutattak a *LG-UCC* tumorokhoz viszonyítva. A HG tumorok szignifikánsan rosszabb teljes túléléssel rendelkeztek a LG tumorokhoz képest. A LG-UCC-k szignifikánsan magasabb, a Ki-67 magi pozitivitás által jelzett proliferációs aktivitással rendelkeztek a normál urothelhez, papillomákhoz és a PUNLMP-khez képest. Azon Ta-T1-es tumorok, melyek magasan, azaz a medián fölött expresszálták a claudin-7 fehérjét szignifikánsan rövidebb szövődmény mentes túléléssel rendelkeztek a claudin-7-et alacsonyán, a medián alatt expresszáló tumorokhoz képest.

A normál cervicalis laphámban az occludin és a claudin-2 fehérje egyaránt a basalis rétegben lokalizálódott, míg a syndecan-1 és a claudin-1, -4 és -7 termelődés a parabasalis és intermedier rétegben volt kimutatható.

A cervicalis intraepithelialis neoplasia (CIN) és invazív carcinoma stádiumaiban a *claudin-1* fehérje expresszió szignifikáns növekedése volt detektálható, mely a progresszió előrehaladásával növekedett. A *claudin-4*, *-7* expresszió a CIN léziókban ugyancsak szignifikánsan magasabb volt a normál hámban képest. A praemalignus elváltozásokban a claudin-1 expressziója mutatta a legerőteljesebb növekedést, mely a CIN diagnosztikus markereként szolgálhat. Míg a claudinok expressziója a CIN/CIS léziókban progresszíven nőtt, addig a *syndecan-1* expresszió csökkent a CIN progressziójával. Ezen adatok összességében azt mutatják, hogy az egyes TJ protein alkotórészek és a syndecan-1 eltérő, azonban jellegzetes expressziós mintázatot, illetve változásokat mutatnak a cervicalis carcinogenesisben.

Szignifikáns különbséget detektáltunk a *seropapilláris* és *endometrioid* típusú *endometrium carcinomák* között a claudin-1 és -2 expresszióban mind immunhisztokémiai, mind mRNS szinten. A claudin-1 szignifikánsan magasabb volt a seropapilláris endometrium adenocarcinomában, mint az endometrioidban. A claudin-2 szintén szignifikáns, de fordított különbségeket mutatott. Ez tükrözheti az eltérő celluláris eredetet és az eltérő jelátviteli

útvonalak érintettségét, mely a sejtadhéziós és inváziós különbségeket is magyarázhatják. Továbbá a claudin expressziós mintázat a hyperplasia-endometrioid carcinoma pathogenezis különbözőségét mutatja a seropapilláris carcinoma eltérő kialakulásától és az endometrium carcinogenesisének duális szemléletét támogatja. Bár a claudin-1 és -2 expressziós különbségének funkcionális jelentősége nem tisztázott, a jellegzetes, homogén immunhisztokémiai mintázat alkalmas az I. és II. típusú endometrium carcinoma kielégítő diagnosztikus hatékonyságú elkülönítésére és a claudin-1-t túltermelő tumorok agresszívabb klinikai viselkedése a terápiás megközelítések változását is maga után vonhatja és prediktív értékű lehet.

MikroRNS expressziós mintázat vizsgálatok

A mikroRNS profil változásakor a májtranszplantáció után bekövetkező HCV kiújulásakor szignifikánsan magasabb miR-99a és miR-224 expressziót, míg csökkent miR-21 és miR-194 termelődést találtunk a normál májszövethez képest. A HCV kiújulást követő egy éven át tartó antivirális terápiát (IFN/RBV) követően a miR expressziós mintázatot összevetve a kezelés előtti, tehát a rekurrenciakor vett biopsziás minták miR profiljával, a kezelés után emelkedett miR-221, miR-224 és miR-217 expressziót találtunk. Amennyiben ezt az összehasonlítást szűkítettük az SVR-t mutató betegekre, akkor az antivirális kezelés előtti profilhoz képest a kezelés után a miR-221 és a miR-122 expresszió szignifikáns növekedést mutatott. A terápiára jól (SVR) és rosszul reagáló, non-responder (NR) betegcsoportok miR expressziós mintázatát összehasonlítva azt találtuk, hogy a kezelés előtti májbiopsziák vizsgált miR-jei közül egyiknek az expressziója sem mutatott szignifikáns összefüggést azzal, hogy a beteg a kezelés után a későbbi SVR vagy NR csoportba fog-e tartozni, tehát a HCV rekurrencia során vizsgált miR-ek közül egyik sem bizonyult prediktív értékűnek az antivirális kezelésre adandó klinikai válasz (SVR versus non-responder) tekintetében. Az antivirális kezelés után azonban számos vizsgált miR expresszióját (miR-96, miR-99a*, miR-122, miR-181a-2*, miR-217 and miR-221) szignifikánsan emelkedettnek találtuk a tartóst választ mutató SVR csoportban a non-responder csoporthoz képest. Összességében véve kimutattuk, hogy a HCV rekurrencia és a vírusellenes terápia jellegzetes változásokat okozott a májbeli miR expressziós mintázatban, belérvé azokat is, melyek a HCV receptorok expressziójának lehetséges szabályozói. Eedményeink szerint a miR-194 és a miR-21 játszhat szerepet a HCV receptorok expressziós szabályozásában a HCV fertőzés és a vírusellenes terápia során.*

A *steatosis* vizsgálata során a miR-221 csökkent szintjét találtuk krónikus hepatitis C-ben (CHC), a HCV pozitív krónikus hepatitis asszociált steatosisban (CHC-Steatosis) és metabolikus eredetű steatosisban (Steatosis). Emellett a miR-122 csökkent termelődése volt kimutatható a normál májhoz képest a CHC-Steatosis mintákban. Ezzel ellentétben a normál májhoz képest a miR-33a és miR-224 emelkedett expressziója volt azonosítható CHC-Steatosis-ban és a Steatosis mintákban. A miR-21 expressziójában nem mutatkozott statisztikailag értékelhető különbség a pathológiás elváltozást mutató májbiopsziák és a normál májak között. Érdekes módon a CHC-mintákhoz viszonyítva emelkedett miR-33a és miR-224 expressziós szinteket mutattunk ki a CHC-Steatosis csoportban. Ezen felül a miR-224 emelkedett expresszióját detektáltuk a Steatosis csoportban a CHC csoporthoz viszonyítva. A miR-21 expresszió pozitívan korrelált a Steatosis csoportban az AST értékekkel, de a CHC-Steatosis csoportban negatív korrelációt mutatott a triglycerid értékekkel. A vizsgált mikroRNS-ek nem mutattak korrelációt az ALT, GGT, koleszterin értékekkel, valamint a fibrosis stádiumával sem. A mikroRNS expresszió és a steatosis foka között sem találtunk összefüggést, sem CHC-Steatosis sem a Steatosis csoportban. Összességében a miR-21 kivételével a vizsgált miR-ek kóros expresszióját észleltük a krónikus HCV hepatitisben és a HCV fertőzéssel vagy metabolikus eltérésekkel asszociált steatosisban. A steatosisban a normál májhoz vagy a krónikus HCV hepatitishez képest emelkedett miR-33a és miR-224 szinteket detektáltunk. A krónikus hepatitis C a steatosis mellett szintén hozzájárulhatott ezen miR-ek emelkedett expressziójához a steatosis mutató betegekben és ebben a betegcsoportban hasonló együttes hatás érvényesülhetett a miR-122 csökkent expressziójában. Ezzel ellentétben a csökkent miR-221 expresszió etiológiától függetlennek bizonyult. A vizsgált miR-ekben a steatotikus minták között azonban nem mutatkozott különbség abban a tekintetben, hogy HCV okozta krónikus hepatitisben vagy metabolikus okok miatt alakult ki a steatosis. Ez arra utal, hogy a steatosis okozta biológiai elváltozások a molekuláris szabályozás, illetve a sejtbiológiai változások terén döntőbbek, mint a krónikus HCV fertőzés maga, de ezen téma feltárása további vizsgálatokat igényel.

A *hepatoblastoma* mintákat szubtypustól függetlenül összehasonlítva a környező májszövetben a miR-17-5p, miR-122, miR-195, miR-210 és miR-214 relatív expressziója szignifikánsan csökkent, míg a miR-221 termelődés növekedett a tumorokban a környező tumormentes májszövethez képest. A fetális (n=15) altípust összevetve a környező májjal (n=15) a fetális komponensben csökkent miR-17-5p, miR-195, miR-210 és miR-214 expressziót, míg emelkedett miR-221 szintet találtunk. A tumormentes májjal összevetve az embryonális szubtypus (n=8) viszont csökkent miR-122 expressziót mutatott. A jobban

differenciált fetális szubtypusban az embryonális mintákhoz viszonyítva szignifikánsan csökkent miR-18a expressziót detektáltunk. A tisztán embryonális (n=5) és a tisztán fetális (n=12) csoportok között nem találtunk szignifikáns különbséget sem az eseménymentes túlélésben (event free survival: EFS), sem pedig a teljes túlélésben (overall survival: OS). Ha a szövettani altípust nem vettük figyelembe, akkor a miR expresszió és a EFS között szintén nem találtunk különbséget. A miR expressziót felosztva a miR-eket magasan (medián felett) és alacsonyan expresszáló (medián alatt) csoportokra, azt mutattuk ki, hogy az alacsony miR222 és miR-224 expresszió hosszabb teljes túléléssel társult a magas expresszióhoz képest. A magas miR21 expresszió pedig szintén hosszabb OS-sel társult az alacsony expressziójú miR21 csoporthoz képest. Halálozás a magas miR222 és -224 és az alacsony miR21 expresszióval rendelkező csoportban történt. A magas miR-21 és alacsony miR- 222 és miR-224 szintek szignifikánsan megnövekedett teljes túléléssel társultak a SIOPEL protokoll szerint kezelt HB betegekben. Mindezek alapján a mikroRNS expresszió profil a hepatoblastomában diagnosztikus és prediktív értékkel bírhat.

A sorafenib *kezelt HCC* betegek kezelés előtti miR expressziós mintázatának vizsgálatakor, (amennyiben a miR expresszió medián értékei mentén osztottuk fel a betegeket egy adott miR-t alacsonyan, illetve magasan expresszáló csoportokra) mind a progresszió mentes túlélés (PFS), mind pedig a teljes túlélés (OS) szignifikánsan hosszabbnak mutatkozott a miR-224-t magasan expresszáló betegek csoportjában, a miR-224-t alacsonyan termelő betegek csoportjához képest. A többi vizsgált mikroRNS HCC-ben mért, sorafenib kezelés előtti szintje nem mutatott szignifikáns összefüggést sem a PFS-el, sem pedig az OS-el. A vizsgálat alapján a miR-224 expresszió tehát független prediktív faktornak bizonyult mind az OS, mind pedig a PFS tekintetében. Vizsgálatunk a világon elsőként mutatta be a mikroRNS profilok detektálását és alkalmazhatóságát a HCC betegek sorafenib kezelés előtt vett vékonytű aspirációs mintáin. A kezelés előtti mikroRNS profil, különösen a miR-224 expressziója, a sorafenib kezelés alatt álló betegekben jó kiegészítő eszköz lehet a túlélés várható hosszának felmérésében.

6. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. A cirrhotikus átalakulás a normál májhoz képest a *claudin-1 és -7 szint emelkedésével* jár mind a tumormentes májban, mind pedig az annak talaján kialakult HCC-ben. Mivel a HCV fertőzöttség és a claudin expressziós szint között nem találtunk összefüggést, ugyanakkor a cirrhosisban tapasztalt emelkedett claudin-1 fehérje, mint a HCV egyik sejtfelszíni receptorának fokozott expressziója elősegítheti a vírus eredményesebb behatolását a májsejtekbe, fokozhatja a reinfekciót és egyben hozzájárulhat a malignus transzformációhoz.
2. Elsőként mutattuk ki, hogy a humán epeúrendszer különböző szakaszaiból származó biliáris epitheliumban és ezen lokalizációjú cholangiocarcinomákban a *claudin-4 erősen expresszálódik*, viszont ezzel ellentétben a hepatocelluláris carcinoma nem mutat claudin-4 expressziót. Ezen eredmények alapján a claudin-4 immunhisztokémiai kimutatása alkalmas új diagnosztikai eszköz lehet a máj primer daganatain belül az epeúti rendszer carcinomáinak és a hepatocelluláris carcinomának az elkülönítésére.
3. A HCC-k a cholangiocarcinomákhoz képest alacsonyabb *tricellulin expressziót* mutatnak. Míg a HCC-k esetében a tumorok differenciáltsága nem mutatott összefüggést a túléléssel, ezen daganatok tricellulint magasan expresszáló alcsoportja szignifikánsan rövidebb túlélést mutatott.
4. A colorectális carcinoma, valamint a pancreas ductalis carcinoma májmetasztázisai és a HCC-k jellegzetes és egymástól *eltérő claudin expressziós mintázatot* mutatnak. A csoportokon belül a talált mintázatok és különbségek fehérje és mRNS expressziója lényegében hasonló. A mintázat differenciál diagnosztikai értékén túl a daganatok hisztogenezisét is tükrözheti. A colorectális carcinoma májmetasztázisai karakterisztikusan eltérő, erős *occludin és ZO-1* fehérje expressziót mutatnak a negatív HCC-hez képest.
5. A *tricellulint a normál exocrin pancreas*, a hepatocyták és az epeúti sejtek termelik, azonban az endocrin pancreas Langerhans szigetének sejtjei nem expresszálják. A pancreas exocrin ductalis adenocarcinomák és a cholangiocarcinomák tricellulin expressziója a daganatok differenciáltságával együtt csökken. A pancreas exocrin ductalis adenocarcinomák

és a cholangiocarcinomák esetében a jól differenciált, kiérett daganatokat jellemző magasabb tricellulin expresszió hosszabb teljes túléléssel társul.

6. *A tricellulin eltérő kifejeződését a fetális és embryonális hepatoblastoma altípusban* elsőként mutattuk ki. A hepatoblastomák jobban differenciált fetális komponensében a claudin-1 és a claudin-2 expressziója mind fehérje, mind pedig mRNS szinten szignifikánsan magasabb, mint a rosszabbul differenciált, magasabb osztódási aktivitással rendelkező embryonális komponensben. A fetális komponensben a tricellulin fehérje expressziója is szignifikánsan magasabb, így a claudin-1 és -2, valamint a tricellulin az epitheliális hepatoblastoma differenciációs markereinek tekinthetőek. Elsőként detektáltuk, hogy a tricellulint magas mértékben termelő hepatoblastoma esetek szignifikánsan jobb teljes túlélést mutatnak az alacsony expresszióval rendelkező tumorokhoz képest, mely megállapításnak így prediktív jelentősége lehet.

7. Az epitheliális hepatoblastomában a szubtypustól függetlenül a magas miR-21 vagy az alacsony miR-222 és miR-224 expresszió a betegek szignifikánsan hosszabb teljes túlélésével asszociált. Elsőként tártuk fel, hogy az EZH2 a hepatoblastoma mindkét epitheliális szubtypusában kifejeződik és az embryonális komponens szignifikánsan magasabb EZH-2 és miR-18a expressziót mutat a fetális szubtypushoz képest, melynek differenciál diagnosztikai és klinikai onkológiai jelentősége lehet.

8. Az epitheliális hepatoblastomák szövettani altípusaiban jellegzetes, egymástól és a normál májtól is eltérő miR expressziós mintázatot mutattunk ki. A szövettani szubtypusok nem mutattak összefüggést a túléléssel, azonban elsőként tártuk fel, hogy a magas miR-21 és az alacsony miR-222 és miR-224 expresszió a szignifikánsan jobb teljes túlélés epitheliális altípusától független prediktorai.

9. A HCV cirrhosis miatt végzett orthotopikus májtranszplantációt követően a HCV rekurrencia során, majd az ezt követő antivirális kezelést követően is változik a miR expressziós mintázat, beleértve az egyes HCV receptorokat szabályozó mikroRNS-ek expresszióját is. A miR-194-nek és miR-21-nek szerepe lehet a vírusreceptor claudin-1 és occludin génexpressziójának a szabályozásában a kiújuló HCV fertőzés során. A HCV rekurrencia során vizsgált miR-ek közül egyik sem bizonyult prediktív értékűnek az

antivirális kezelésre adandó klinikai válasz (SVR versus non-responder) tekintetében, azonban a súlyosabb virémia magasabb hepatikus miR-122 expressziós szinttel asszociált.

10. A krónikus hepatitis C, a krónikus HCV-asszociált steatosis, és a metabolikus eredetű steatosis mikroRNS expressziós mintázata jellegzetes különbségeket mutat és eltér a normál májban találtaktól. A miR-33a és a miR-224 expressziója a steatosissal összefüggésben megemelkedett, míg a miR-122-nek csökkent a szintje a normál májhoz és a steatosis mentes krónikus hepatitis C-hez képest. A miR-221, ezen vizsgált kóros állapotokban, etiológiától független csökkenést mutatott a normál májhoz képest. A krónikus hepatitis C talaján és egyéb metabolikus okok miatt kialakuló steatosis nem mutatott lényeges eltérést a mikroRNS expresszióban, ami arra utal, hogy a normál májhoz képest talált miR expressziós változások egy, a steatosis miatt alapvetően megváltozott biológiai helyzetet tükröznek.

11. A sorafenib kezelt HCC-s betegek esetében a kezelés előtt vett tumormintában kimutatott magas miR-224 expresszió szignifikánsan jobb tünetmentes és teljes túléléssel társul, így a kezelés előtt vett tumorminta mikroRNS expressziós profiljának meghatározása a sorafenib kezelt HCC-s betegek predikcióját javíthatja.

12. Elsőként mutattuk ki, hogy az egyes *tight junction alkotórészek a cervicális hám* különböző rétegeiben jellegzetes expressziós mintázattal bírnak, mely a hámiban jelzi a polaritást és az orientációt. A cervix praemalignus elváltozásaiban (CIN I-III) és cervix *in situ* carcinomában (CIS) az egyes claudinok, az occludin és a syndecan-1 expressziója jelentősen növekszik, ezáltal elsőként mutattuk be, hogy a cervicalis laphám praemalignus lézióiban egyes claudin típusok termelődése nem csökken, hanem eltérő mértékben megnövekszik.

13. A seropapilláris endometrium carcinoma magas claudin-1 mRNS és fehérje expressziója alapján jelentősen eltér az alacsony expressziót mutató endometrium hyperplasiától és az endometrioid carcinomától. Ez mutatja a hyperplasia-endometrioid carcinoma pathogenesis különbözőségét a seropapilláris carcinoma eltérő kialakulásától, valamint az endometriális carcinogenesis duális szemléletét támogatja.

14. A claudin-4 és Ki-67 fehérje expresszió szignifikánsan magasabb, míg a claudin-7 expresszió szignifikánsan alacsonyabb a high grade húgyhólyag carcinomákban a low grade

tumorokhoz viszonyítva. A húgyhólyag Ta-T1-es stádiumú urotheliális carcinomái esetében a magas claudin-7 fehérje expresszió rövidebb kiújulás mentes túléléssel társul.

15. A PUNLMP (Papillary Urinary Neoplasia of Low Malignant Potential) húgyhólyag tumorok esetében az alacsony claudin-1 fehérje expresszióval rendelkező daganatokat rövidebb kiújulás mentes túlélés jellemzi a magas claudin-1 expresszióval rendelkezőkhöz viszonyítva, míg a húgyhólyag LG-UCC-ben a magas claudin-4 expresszió rövidebb kiújulás mentes túléléssel társul az alacsony claudin-4 expresszióval rendelkező tumorokhoz képest. Az invertált papillomákat jellemző szignifikánsan nagyobb claudin-1 expresszió segíthet ezen patológiai entitásnak a klasszikus papillomáktól, PUNLMP-ktől és a nem invazív LG-UCC-ktől való elkülönítésében.

7. KÖZLEMÉNYEK

7./1 A dolgozat alapját képező első és utolsó szerzős in extenso eredeti közlemények

1. Gyongyosi B, Vegh E, Jaray B, Szekely E, Fassan M, Bodoky G, Schaff Z, **Kiss A**
Pretreatment Microrna Level and Outcome of sorafenib-Treated Hepatocellular Carcinoma.
JOURNAL OF HISTOCHEMISTRY & CYTOCHEMISTRY 62:(8) pp. 547-555. (2014)
IF: 2.403
2. Gelley F, Zadori G, Nemes B, Fassan M, Lendvai G, Sarvary E, Doros A, Gerlei Z, Nagy P, Schaff Z, **Kiss A**
MicroRNA profile before and after antiviral therapy in liver transplant recipients for Hepatitis C virus cirrhosis
JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY 29:(1) pp. 121-127. (2014)
Független idéző: 11 Összesen: 11, **IF: 3.627**
3. Gyugos M, Lendvai G, Kenessey I, Schlachter K, Halász J, Nagy P, Garami M, Jakab Z, Schaff Z, **Kiss A**
microRNA expression might predict prognosis of epithelial hepatoblastoma
VIRCHOWS ARCHIV-AN INTERNATIONAL JOURNAL OF PATHOLOGY 464:(4) pp. 419-427. (2014)
Független idéző: 3 Összesen: 3, **IF: 2.560**
4. Holczbauer A, Gyongyosi B, Lotz G, Torzsok P, Kaposi-Novak P, Szijarto A, Tatrai P, Kupcsulik P, Schaff Z, **Kiss A**
Increased Expression of Claudin-1 and Claudin-7 in Liver Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma.
PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 20:(3) pp. 493-502. (2014)
Független idéző: 1 Összesen: 1, **IF: 1.806**
5. Schlachter K, Gyugos M, Halasz J, Lendvai G, Baghy K, Garami M, Gyongyosi B, Schaff Z, **Kiss A**
High Tricellulin Expression Is Associated With Better Survival In Human Hepatoblastoma.
HISTOPATHOLOGY 65:(5) pp. 631-641. (2014)
IF: 3.301
6. Lendvai G, Jarmay K, Karacsony G, Halasz T, Kovalszky I, Baghy K, Wittmann T, Schaff Z, **Kiss A**
Elevated miR-33a and miR-224 in steatotic chronic hepatitis C liver biopsies.
WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY 20:(41) pp. 15343-15350. (2014)
IF: 2.433
7. Somoracz A, Korompay A, Torzsok P, Patonai A, Erdelyi-Belle B, Lotz G, Schaff Z, **Kiss A**
Tricellulin Expression and its Prognostic Significance in Primary Liver Carcinomas.
PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 20:(4) pp. 755-764. (2014)
IF: 1.806
8. Holczbauer A, Gyongyosi B, Lotz G, Szijarto A, Kupcsulik P, Schaff Z, **Kiss A**
Distinct claudin expression profiles of hepatocellular carcinoma and metastatic colorectal and pancreatic carcinomas
JOURNAL OF HISTOCHEMISTRY & CYTOCHEMISTRY 61:(4) pp. 294-305. (2013)
Független idéző: 3 Független idéző: 1 Összesen: 4, **IF: 2.403**
9. Korompay A, Borka K, Lotz G, Somoracz Á, Törzsök P, Erdélyi-Belle B, Kenessey I, Baranyai Zs, Zsoldos F, Kupcsulik P, Bodoky Gy, Schaff Zs, **Kiss A**
Tricellulin expression in normal and neoplastic human pancreas
HISTOPATHOLOGY 60:(6B) pp. E76-E86. (2012)
Független idéző: 7 Független idéző: 4 Összesen: 11, **IF: 2.857**
10. Torzsok P, Riesz P, Kenessey I, Szekely E, Somoracz A, Nyirady P, Romics I, Schaff Z, Lotz G, **Kiss A**
Claudins and ki-67: potential markers to differentiate low- and high-grade transitional cell carcinomas of the urinary bladder
JOURNAL OF HISTOCHEMISTRY & CYTOCHEMISTRY 59:(11) pp. 1022-1030. (2011)
Független idéző: 3 Független idéző: 2 Összesen: 5, **IF: 2.725**
11. Székely E, Törzsök P, Riesz P, Korompay A, Fintha A, Székely T, Lotz G, Nyírády P, Romics I, Tímár J, Schaff Zs, **Kiss A**
Expression of claudins and their prognostic significance in non-invasive urothelial neoplasms of the human urinary bladder
JOURNAL OF HISTOCHEMISTRY & CYTOCHEMISTRY 59:(10) pp. 932-941. (2011)
Független idéző: 2 Független idéző: 3 Összesen: 5, **IF: 2.725**

dc_1040_15

12. Orbán E, Szabó E, Lotz G, Kupcsulik P, Páska Cs, Schaff Zs, **Kiss A**
Different expression of occludin and ZO-1 in primary and metastatic liver tumors
***PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH* 14:(3)** pp. 299-306. (2008)
Független idéző: 30 Fügő idéző: 3 Összesen: 33, **IF: 1.260**
13. Borka K, Kaliszky P, Szabó E, Lotz G, Kupcsulik P, Schaff Zs, **Kiss A**
Claudin expression in pancreatic endocrine tumors as compared with ductal adenocarcinomas
***VIRCHOWS ARCHIV-AN INTERNATIONAL JOURNAL OF PATHOLOGY* 450:(5)** pp. 549-557. (2007)
Független idéző: 23 Fügő idéző: 8 Összesen: 31, **IF: 2.029**
14. Halász J, Holczbauer Á, Páska Cs, Kovács M, Benyo G, Verebély T, Schaff Zs, **Kiss A**
Claudin 1 and claudin 2 differentiate fetal and embryonal components in human hepatoblastoma
***HUMAN PATHOLOGY* 37:(5)** pp. 555-561. (2006)
Független idéző: 16 Fügő idéző: 7 Összesen: 23, **IF: 2.810**
15. Lodi C , Szabo E , Holczbauer A , Batmunkh E , Szijarto A , Kupcsulik P , Kovalszky I , Paku S , Illyes G , **Kiss A**,
Schaff Z * **megosztott utolsó szerzős cikk**
Claudin-4 differentiates biliary tract cancers from hepatocellular carcinomas
***MODERN PATHOLOGY* 19:(3)** pp. 460-469. (2006)
Független idéző: 40 Fügő idéző: 15 Összesen: 55, **IF: 3.753**

A fenti *in extenso* eredeti közlemények összesített impakt faktora: **38.498**, független citációja: **139**,
összes citációja: **182**.

7./2. Scientometriai adatok

Kiss András tudományos és oktatási munkásságának összefoglalása
MTA V. Orvostudományi Osztály (2015.05.12.)

Tudományos és oktatási közlemények	Száma		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Részleteseve	Független	Összes
I. Folyóiratcikkek²	96	—	—	—
szakcikk, összefoglaló nemzetközi folyóiratban	—	74	1465	1771
szakcikk, összefoglaló, hazai idegen nyelvű	—	5	13	66
szakcikk, összefoglaló, magyar nyelvű	—	16	29	48
rövid közlemény	—	1	0	0
II. Könyv	0	—	—	—
a) Szakkönyv, kézikönyv	0	—	—	—
idegen nyelvű	—	0	0	0
magyar nyelvű	—	0	0	0
Felsőoktatási tankönyv	—	0	0	0
b) Szakkönyv, tankönyv szerkesztőként	0	—	—	—
idegen nyelvű	—	0	—	—
magyar nyelvű	—	0	—	—
Felsőoktatási tankönyv	—	0	—	—
III. Könyvrészlet	3	—	—	—
idegen nyelvű	—	0	0	0
magyar nyelvű	—	3	0	0
Felsőoktatási tankönyvrészlet	—	0	0	0
IV. Konferenciaközlemény³	0	—	0	0
Oktatási közlemények összesen (II-III)	—	0	0	0
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)⁴	99	—	1507	1885
V. További tudományos művek	1	—	—	—
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkeket is	—	0	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	—	1	2	4
Jelentés, guideline	—	0	0	0
VI. Idézett absztraktok⁵	1	—	1	1
Összesített Impact faktor⁴	192,9	—	—	—
Idézettség száma^{1,4}	—	—	1510	1890
Hirsch index¹	27	—	—	—