

AZ AGRIN SZELEKTÍV MEGJELENÉSE A HEPATOCELLULARIS CARCINOMA EREZETÉBEN: KÓRKELETKEZÉSI ÉS ELKÜLÖNÍTŐ DIAGNOSZTIKAI VONATKOZÁSOK

Tátrai Péter

Semmelweis Egyetem, Patológiai Tudományok Doktori Iskola, Budapest

A primer májrakok 90%-át kitevő hepatocellularis carcinoma (HCC) az ötödik leggyakoribb rosszindulatú daganat világszerte, amely jellemzően májcirrhosis talaján alakul ki. Előzetes eredményeink arra utaltak, hogy egy korábban a májban nem azonosított heparánszulfát-proteoglikán (HSPG), az agrin felhalmozódik a cirrhoticus máj és a HCC bazális membránjaiban (BM-jeiben). Ennek nyomán kezdtük vizsgálni az agrin szerepét a hepatocellularis carcinoma kórkeletkezésében és elkülönítő diagnosztikájában. Első lépésként tömegspektrometriás meghatározással igazoltuk, hogy az előzetes munka során használt, korábban tisztázatlan specificitású monoklonális ellenanyag célfehérjéje valóban az agrin. A továbbiakban 131 májbeteg és 18 egészséges személy májából, 4 indukált májcirrhosis/HCC-ben szenvedő és egy egészséges patkány májából, valamint szövettényezetekből származó mintákon végeztük kísérleteinket. Immunhisztokémia (IHC), fehérjeblot és kvantitatív RT-PCR segítségével igazoltuk, hogy az agrin expressziója jelentősen nő cirrhosisban és HCC-ben az ép májhoz képest úgy emberben, mint patkányban. Sorozatmetszeteken és kettős fluoreszcens jelölésekkel kimutattuk, hogy az agrin a májban az erek falának simaizomrétegében, az epeutak és a duktuláris reakció hámjának BM-jében, a HCC mikrovaszkulaturájában, valamint olykor a daganatsejtek BM-jében található meg. Az agrin forrásaként a (ko)lokalizációs, génextpressziós és mRNS in situ hibridizációs vizsgálatok a vaszkuláris simaizomsejteket, a cholangiocytákat és a duktuláris reakció hámját, a tumorok strómájának aktivált mesenchymalis sejtjeit, ritkán a májtumorsejteket valószínűsítik. Az epeutak és az endothelsejtek BM-jében található agrin szerepet játszhat a duktuláris reakció kialakulásában és a HCC éréképződésében. Mivel az agrin az ép és a cirrhoticus máj szinuszoidjaiban nem, a HCC erezetében viszont mindig megjelent, megvizsgáltuk az agrin IHC alkalmazhatóságát a HCC és benignus májléziók elkülönítésében. Hatvannyolc benignus elváltozás (8 nagy regeneratív nodulus, 23 low-grade és 7 high-grade dysplastikus nodulus és 30 májadenoma) és 29 malignus lézió (8 „small” HCC és 21 kiterjedt HCC) agrin és CD34 immunreakcióinak szemikvantitatív értékelése után kidolgoztunk egy döntési algoritmust, amely az agrin/CD34 immunreakciók mintázata alapján 93,1% szenzitivitással és 92,6% specificitással elkülöníti a malignus és benignus elváltozásokat. Ennek nyomán javasoljuk az agrin IHC bevonását a májpatológiai diagnosztikus munkába. Hungarian Oncology 52: 379–383, 2008

Kulcsszavak: agrin, hepatocellularis carcinoma, bazális membrán, tumor-angiogenezis, differenciáldiagnosztika

Hepatocellular carcinoma (HCC) accounts for 90% of primary liver cancers and is the fifth most common malignancy worldwide. HCC typically develops in the cirrhotic liver. Our preliminary results indicated that agrin, a heparan sulfate proteoglycan (HSPG) detected by us for the first time in the liver, accumulates in the basement membranes (BMs) of the cirrhotic liver and HCC. This novel finding prompted us to investigate the role of agrin in the pathogenesis and differential diagnosis of HCC. First, the previously unspecified monoclonal antibody anti-HSPG clone 7E12 was verified as anti-agrin, using mass spectrometry. Our subsequent experiments were carried out on specimens from 131 patients with chronic liver disease and 18 individuals with healthy liver, from 4 rats subjected to cirrhosis/HCC induction and 1 untreated control rat, as well as from cultured cells. In both human and rats, significantly increased expression of agrin in cirrhosis and HCC was demonstrated by immunohistochemistry (IHC), Western blot, and quantitative RT-PCR. By double immunofluorescence studies, agrin was localized to the muscular layer of blood vessel walls, the BM of bile ducts and ductular reaction, the microvessel walls of HCC, and occasionally the BM of hepatocellular tumor cells. Colocalization, gene expression, and mRNA in situ hybridization experiments suggested that the sources of agrin include vascular smooth muscle cells, epithelial cells of bile ducts and ductules, activated mesenchymal cells in the stroma of hepatocellular tumors, and occasionally tumor hepatocytes. Agrin in the BMs of bile ducts and blood vessels is thought to play an important role in the survival of bile duct epithelium and vascular endothelium, respectively.

Levelezési cím:

Dr. Tátrai Péter
Semmelweis Egyetem
II. sz. Patológiai Intézet
1091 Budapest
Üllői út 93.
Telefon:
(06-1) 459-1500/53489
Fax: (06-1) 215-6921
E-mail:
tatpeter@korbl.sote.hu

Témavezető:

Dr. Kovalszky Ilona

Thus, agrin may contribute to the formation of ductular reaction and HCC neovessels. As opposed to HCC neovessels that were consistently found agrin-positive, normal and cirrhotic sinusoids were always devoid of agrin, raising the possibility that agrin IHC might be useful in the differential diagnosis of benign versus malignant hepatocellular lesions. Agrin IHC was performed on 68 benign lesions (8 large regenerative nodules, 23 low-grade and 7 high-grade dysplastic nodules, 30 liver adenomas) and 29 malignant lesions (8 small HCC, 21 HCC), and was evaluated semi-quantitatively. Based on the results of IHC for agrin as well as CD34, a decision algorithm was devised that differentiated benign and malignant parenchymal lesions with a sensitivity of 93.1% and a specificity of 92.6%. Hence, we propose that agrin IHC might help distinguish between malignant hepatocellular lesions and their benign mimickers. Tátrai P. Selective deposition of agrin in the microvasculature of hepatocellular carcinoma: aspects in pathogenesis and differential diagnosis. *Hungarian Oncology* 52: 379–383, 2008

Keywords: agrin, hepatocellular carcinoma, basement membrane, tumor angiogenesis, differential diagnosis

BEVEZETÉS

A doktori dolgozat az agrin szerepét tárgyalja a hepatocellularis carcinoma kórkeletkezésében és elkülönítő diagnosztikájában. Az agrin a heparánszulfát-proteoglikán (HSPG) fehérjecsaldába tartozik. A HSPG-k vázfehérjéből és ahhoz kovalensen kapcsolódó savas cukrokból, heparánszulfát (HS) glükózaminoglikánból állnak. Leginkább a sejtek felszínén, illetve az extracelluláris mátrixban (ECM-ben) találjuk meg őket. A HS-láncok legfontosabb feladata a növekedési faktorok, citokinek megkötése és receptorukhoz való kapcsolódásuk elősegítése, de magas negatív töltésük folytán a biológiai barrierekben, mint pl. a veseglomerulusok bazális membránjában vagy a vér-agy-gátban is nélkülözhetetlenek. A HSPG-k vázfehérjei számos fehérjével létesítenek kapcsolatot a sejtek felszínén és az ECM-ben. Az ép májszövet HSPG-kben viszonylag szegény, azonban krónikus májbetegségekben és a máj primer daganataiban – egyéb mátrixkomponensek mellett – a HSPG-k mennyisége is nagy mértékben megnő.

Az agrin a HSPG-család egyik legösszetettebb tagja, amelynek alternatív splicing folytán sejt felszíni és szekretált formája is létezik. Elsőként a neuromuscularis junctióban azonosították, ahol az acetilkolin-receptorokat és kolinészteráz-molekulákat tereli össze a poszt-szinaptikus membránban. Később felismerték, hogy az agrin a központi idegrendszer fejlődésében is részt vesz az axonnövekedés és a szinaptogenezis irányítása révén. Ugyanitt, ám egy eltérő szerepkörben, a vér-agy-gát alkotójaként is megtaláljuk. Az idegrendszeren kívül az agrint főleg a vese glomeruláris bazális membránjában lelhetjük fel, ahol az ultrafiltrációban való közreműködésen túl a podociták lehorgonyzásában játszik szerepet. Munkánkat megelőzően az agrin jelenlétét a májban nem írták le. Általánosságban elmondható az agrin ECM-beli formájáról, hogy egyfelől kiterjedt mátrix-kapcsolatai, másfelől a citoskeletonnal összefüggő sejt felszíni receptorai – integrinek, dystroglycan – révén mintegy hidat képez a bazális membránok és a rajtuk fekvő epithelsejtek sejt váza között. Ezen a mechanikai funkció mellett azonban receptorain keresztül jelátviteli folyamatokat is elindíthat.

A hepatocellularis carcinoma (HCC) a leggyakoribb primer májdaganat, és ma világszerte az ötödik leggyakoribb rosszindulatú daganatként, illetve a harmadik legjelentősebb daganatos halállokként tartják számon. Bár a HCC kifejlődhet szerkezetileg ép májban is, jellemzően a krónikus májkárosodás végállapotát jelentő cirrhosis talaján alakul ki, melynek okai között Magyarországon legtöbbször az alkoholizmus, a krónikus C-vírus-hepatitis, vagy veleszületett anyagcsere-rendellenesség szerepel. A HCC patológiai differenciáldiagnosztikájának két kiemelten problematikus területe a HCC elkülönítése a cirrhoticus májban kifejlődő ún. dysplasticus nodulusoktól, valamint a jóindulatú májsejtdaganat, a hepatocellularis adenoma atípusos alakjaitól. A dysplasticus nodulusok a cirrhoticus göböktől méretükben és állományukban már makroszkóposan is elkülönülő, premalignusnak tartott elváltozások. Enyhébb szövettani atípiával jellemezhető, ún. *low-grade* formájuk malignus elfajulásra nem hajlamos, ellenben a *high-grade* dysplasticus nodulusok a szövettani atípia jegyeit változatos mértékben mutató, közvetlenül praecancerosusnak tekintett léziók, melyek elkülönítése a kis méretű, ún. *small* hepatocellularis carcinomától a szövettani kép alapján olykor erősen szubjektív. Hasonlóképpen, a leginkább fiatal nőket érintő, ritka benignus májdaganat, a hepatocellularis adenoma típusos formáinak szövettani jegyei nem keltik a malignitás gyanúját, azonban az inkább férfiakban, vagy idősebb korban jelentkező atípusos formák szövettani megjelenése átmenetet képezhet a HCC felé.

Korábbi munkánk során egy tisztázatlan specificitású ellenanyaggal (7E12 klón) erős immunhisztokémiai reakciót tapasztaltunk a kóros májban, amely cirrhosisban az erekkel és a duktuláris reakcióval, HCC-ben pedig a daganat strómájával volt kapcsolatos. A reakció a cirrhoticus nodulusok szinuszoidjait nem jelölte, míg a HCC erei erősen ábrázolódtak. Az ellenanyaggal kapcsolatban beszerezhető információ és a vonatkozó irodalmi adatok mind abba az irányba mutattak, hogy a 7E12, bár ezt sem az azt előállító kutatók, sem a forgalmazó cég nem igazolta, az agrin vázfehérjéjével reagál.

Az előzetes eredmények nyomán két sejtésünk fogalmazódott meg. Az első sejtés: a 7E12 ellenanyag

immunreakciója a májban valójában az agrint tünteti fel; egy olyan HSPG-t, amelyet a májban korábban nem mutattak ki. A második sejtés: a látott immunreakció szelektív lehet a hepatocellularis carcinoma erezetére a szinuszoidokkal szemben, ami felveti a reakció diagnosztikai alkalmazásának lehetőségét. Doktori munkám során ezeknek a sejteknek eredtem a nyomába. E feltételezések helyességének ellenőrzésén túlmenően célt volt az is, hogy vizsgáljam: milyen forrásból és milyen hatásra termelődik a fokozott mennyiségű agrin a kóros májban, és vajon milyen szerepet tölthet be a hepatocellularis carcinoma keletkezésében és progressziójában.

CÉLKITŰZÉSEK

1. A 7E12 klónjelű, előzetes feltételezésünk szerint agrinnal reagáló ellenanyag specificitásának igazolása.
2. Az agrin expressziójának vizsgálata fehérje- és mRNS-szinten az ép májban, cirrhosisban és HCC-ben.
3. A májban található agrin sejtes eredetére és funkcionálisan fontos molekuláris kapcsolataira vonatkozó adatok gyűjtése.
4. Az agrin immunhisztokémiai kimutatása benignus és malignus hepatocellularis léziókban. Az agrin és a CD34 immunhisztokémiai reakciók alkalmazhatóságának vizsgálata a dignitás eldöntésében.
5. Az agrin megjelenése, illetve a hepatocarcinogenesis folyamata közti kapcsolat vizsgálata. Elsődlegesen: annak tisztázása, hogy miként viszonyul az agrin feltűnése a HCC-re jellemző vaszkuláris profil kialakulásához.
6. Az agrinra vonatkozó vizsgálatok kiterjesztése kísérletes állatmodellre annak felderítése céljából, hogy a későbbiekben lehetséges lesz-e *in vivo* modellben vizsgálni az agrin szerepét.

Az eredmények a célkitűzések fenti sorrendjében kerülnek ismertetésre.

MÓDSZEREK

- Immunprecipitáció és tömegspektrometria marha vesekéregből izolált HSPG-n
- Western blot humán ép és cirrhoticus májszövetből, illetve HCC-ből származó mintákból
- Valós idejű RT-PCR humán, ill. ép és cirrhosis/HCC-indukción átesett patkány fagyasztott májmintákból
- Immunfluoreszcens, ill. kettős immunfluoreszcens kolokalizációs vizsgálatok humán, ill. ép és cirrhosis/HCC-indukción átesett patkány fagyasztott májmintákon, valamint tenyésztett sejteken
- Immunhisztokémia patológiai és igazságügyi májmintákon
- Az agrin és CD34 immunhisztokémiai reakciók szemikvantitatív értékelése, az eredmények összevetése a

hisztopatológiai diagnózissal, és immunhisztokémián alapuló diagnosztikus protokoll kidolgozása

- Agrin *in situ* hibridizáció digoxigenin-jelölt RNS-próbával humán cirrhosison és HCC-n

EREDMÉNYEK

A 7E12 klónjelzésű ellenanyag specificitásának igazolása

Kettős immunfluoreszcens jelölésekkel kimutattuk a 7E12, valamint az anti-laminin és egy kereskedelmi forgalomban kapható poliklonális anti-agrin antitest immunreakcióinak kolokalizációját. Ezt követően a 7E12 ellenanyag előállításakor immunogénnek használt marha vesekéreg proteoglikán-frakcióból a 7E12 ellenanyag és mágneses gyöngyök segítségével immunprecipitációt végeztünk, és az így izolált proteoglikán komponens tömegspektrometriás elemzésnek vetettük alá. Az elemzés három olyan triptikus fragmentet talált (FGALCEAETGR, CEPGFWNFR, IFFVNPAPPYLWPAHK), amelyek megfeleltethetőek a szarvasmarha *Similar to agrin* nevű, az emberi agrinnal homológ fehérjéjének.

Az agrin mRNS- és fehérje-szintű expressziójának vizsgálata ép humán májban, cirrhosisban és HCC-ben

Fagyasztott emberi ép májszövet (14), cirrhosis (13) és HCC (16) mintákban valós idejű RT-PCR segítségével mértük az agrin mRNS expresszióját. Az agrin mRNS mennyisége mind a HCC-ben, mind a cirrhoticus májszövetben szignifikánsan, mintegy 5-ször magasabb volt, mint az ép májszövetben ($p < 0,0001$, ill. $p = 0,0006$); ennek megfelelően ugyanakkor a HCC és a cirrhosis között nem adódott különbség. Az agrin fehérje-szintű expresszióját az ép májban, valamint cirrhoticus májszövetben és HCC-ben Western bloton vizsgáltuk, mindegyik szövettípusból egy-egy reprezentatív mintán. Az ép máj proteoglikán frakciójában az agrin mennyiségét a kimutathatósági szint alattinak találtuk, ellenben a cirrhosisból és a HCC-ből származó mintákban a glikozilált agrin magas molekulatömegének megfelelő (400 kDa fölötti) intenzív „smear” ábrázolóddott.

A májban található agrin sejtes eredetére és funkcionálisan fontos molekuláris kapcsolataira vonatkozó vizsgálatok

Az ember és a patkány májában az agrin a simaizom alfa-aktinnal (SMA-val) kolokalizált az erek simaizomrétegében, és részlegesen a HCC mikrovaszkulaturájában is. Ép patkány májából izolált, SMA-pozitív, a tenyésztés hatására aktiválódott miofibroblasztok mind mRNS-, mind fehérje-szinten kifejezték az agrint. Az emberi és patkány cirrhosisban ugyanakkor markáns agrin immunreakciót láttunk a

duktuláris reakció hámjának bazális membránjában, amelyhez nem asszociálódtak SMA-pozitív sejtek. Halvány agrin immunreakció rajzolódott ki a cirrhoticus regeneratív nodulusok széli, duktuláris reakcióval szomszédos területein, ahol citokeratin-7-et változó mértékben kifejező, hepatocita-irányba differenciálódó, ún. átmeneti fenotípusú sejtek találhatóak. Az említett helyzetekben in situ hibridizációval is kimutattuk az agrin mRNS-ét, bár ez a reakció még technikailag tökéletesítésre szorul. Végül olykor agrin-tartalmú bazális membránt láttunk jól differenciált hepatocellularis tumorok (adenoma, magasan differenciált HCC) pseudoacinaris-trabecularis struktúrái körül is, és ez a jelölődés sem az epeúti-, sem az ér-markerekkel nem mutatott együttlállást.

Az agrin a HCC strómájában kolokalizált a proangiogén hatású bázikus fibroblaszt növekedési faktoral. Ezen kívül több, agrin-pozitív bazális membránon nyugvó epithelialis sejtípus – endothelsejtek, a duktuláris reakció hámjá – α_v -integrin immunreakciót is mutatott. Az α_v -integrin receptorcsalád egyes tagjai egyebek mellett az agrin receptoraként is ismertek.

Agrin immunhisztokémia benignus és malignus parenchymalis léziókon.

Az agrin immunreakció differenciáldiagnosztikai alkalmazhatósága

Szemikvantitatív vizsgálat céljára összesen 132 mintát dolgoztunk fel: 25 cirrhosis, 10 focalis nodularis hyperplasia (FNH), 8 nagy regeneratív nodulus (LRN), 23 low-grade dysplastikus nodulus (LGDN), 7 high-grade dysplastikus nodulus (HGDN), 30 májadenoma (HA), 8 small HCC (sHCC) és 21 HCC. Az ezeken végzett agrin és CD34 immunreakciókat egy 5 fokozatú skálán (0–4+) értékeltük. Erős, 3–4+-es immunreakciók túlnyomórészt az sHCC-k és HCC-k körében fordultak elő; ezekben a mintacsoportokban gyengébb jelölődéssel csak elvétve találkoztunk. Kisebb arányban, de előfordult még erős jelölődés az adenomákban és a HGDN-ekben. A többi mintacsoportban kizárólag 2+-es vagy annál gyengébb reakciókat észleltünk.

A szemikvantitatív eredmények birtokában megvizsgáltuk, használható-e az agrin immunreakció értékelése a léziók dignitásának megítélésére. A cirrhoticus és FNH-mintákat mint a dignitás-probléma szempontjából irrelevánsakat ebből a vizsgálatból kizártuk. A benignus mintacsoportok (LRN, LGDN, HGDN, HA) zömmel 0–2+-es agrin-reakciót adtak, míg a malignus csoportokban (sHCC, HCC) a 3–4+-es reakciók domináltak. Ha az agrin immunreakció alapján 0–2+-es mintákat „immunhisztokémia szerint benignusnak”, vagyis „IHC-benignusnak”, a 3–4+-es mintákat pedig „IHC-malignusnak” osztályoztuk, és az eredményeket a patológus hisztológián alapuló döntésével összevetettük, 93,1%-os szenzitivitást, ám mindössze 88,2%-os specificitást értünk el. A gyenge specificitás oka a pa-

tológus által benignusnak ítélt, de agrinnal viszonylag erős, 3+-es reakciót adó minta bekerülése volt az „IHC-malignus” kategóriába. Javítani tudtuk a specificitást, ha az agrinnal 3+-es reakciót adó minták esetében a CD34 immunreakciót is figyelembe vettük. E második lépés hozzáadásával az alábbi döntési algoritmushoz jutottunk:

- 1) 2+-es vagy annál alacsonyabb agrin-reakció esetén a mintát az „IHC-benignus” kategóriába soroltuk;
- 2) 4+-es agrin-reakció esetén a mintát az „IHC-malignus” kategóriába soroltuk;
- 3) 3+-es agrin-reakció esetén a mintán kiértékeljük a CD34 immunreakciót, amely
 - a) ha 2+ vagy annál alacsonyabb volt, az „IHC-benignus” döntést hoztuk;
 - b) ha 3+, az „IHC-benignus” döntést hoztuk, de a differenciáldiagnosztikai bizonytalanságról feljegyzést tettünk;
 - c) ha 4+, az „IHC-malignus” döntést hoztuk.

Ezzel a kiegészítéssel élve a specificitást 92,6%-ra tudtuk növelni.

Az agrin megjelenésének kapcsolata a hepatokarcinogenezis folyamatával. Az agrintermelést kiváltó lehetséges okok vizsgálata

A cirrhoticus regeneratív nodulusokban az agrin nem feltétlenül jelent meg azokon a területeken, ahol emelkedett volt a PCNA immunreakció alapján becsült mitotikus aktivitás. Az erek fenotípus-változását jellemző SMA, CD34 és claudin-5 közül egyik jelenléte vagy hiánya sem járt együtt következetesen az agrin jelenlétével vagy hiányával. Ezek a megfigyelések arra mutatnak, hogy önmagában sem a fokozott hepatocita-proliferáció, sem a mesenchymalis sejtek aktiválódása, sem az endothelium fenotípusának megváltozása (vagyis a „kapillarizáció”), bár lehetnek annak szükséges feltételei, egyenként nem elégségesek az agrin termelésének beindításához.

Az agrin expressziójának vizsgálata ép, illetve cirrhosis/HCC-indukción átesett patkány májában

Munkánk során négy kezelt patkány máját vetettük össze a kezeletlen kontroll állat májával. A kezelt állatokban cirrhosis és többgócú hepatocellularis carcinoma fejlődött ki. Az agrin immunhisztokémiai és immunfluoreszcens lokalizációja mind az ép, mind a károsodott májban hasonló volt az emberi májban megfigyelthez. Megmértük az agrin mRNS-szintű expresszióját is az állatok májában, a kezelt májak közül kettőből két-két helyről mintát véve, hogy a kifejeződés szerven belüli egyenetlenségéről is képet kapjunk. Erre főleg azért volt szükség, mert a malignus góccok kis mérete miatt nem tudtunk tisztán csak cirrhoticus, vagy tisztán csak tumoros szövetet

nyerni. Bár a mintavétel helyétől függően ingadozott az eredmény, mégis valamennyi kezelt mintában a kontrollhoz képest emelkedett (1,8-szoros – 4-szeres) mRNS-szintet mértünk.

KÖVETKEZTETÉSEK

1. Bizonyítottuk, hogy a korábban tisztázatlan specificitású, 7E12 klónjelzetű monoklonális ellenanyag a szarvasmarha *Similar to agrin* jószolt fehérjéjével reagál, ezért anti-agrin ellenanyagként történő használatát megalapozottnak tartjuk. Ennek jelentőségét az adja, hogy pillanatnyilag nincs a kereskedelmi forgalomban humán agrinra specifikus monoklonális ellenanyag.
2. Western bloton, valamint mRNS-szintű géneexpressziós mérésekkel igazoltuk az agrin felhalmozódását a cirrhoticus májban és a HCC-ben.
3. Az agrin és különböző sejttípus-specifikus immunmarkerek egymáshoz viszonyított lokalizációja, valamint szövetekben és sejtenyészetekben mért géneexpressziók alapján úgy véljük, hogy az agrint a májban vaszkuláris simaizomsejtek, aktivált mesenchymalis sejtek, az ép epeutak hámja, a duktuláris reakció epithelialis komponense és az abból hepatocitáirányba differenciálódó átmeneti fenotípusú sejtek, valamint egyes jól differenciált hepatocellularis tumorok daganatsejtjei termelik. A májban az agrin a bázikus fibroblaszt növekedési faktorról és α_v -integrin receptorokkal állhat kölcsönhatásban, ami felveti a duktuláris reakció és az újdonszerű erek keletkezésében betöltött szerepét.
4. Nagy számú benignus és malignus parenchymalis lézió vizsgálatával megállapítottuk, hogy az agrin megjelenése a máj mikrovaszkulaturájában erősen specifikus a hepatocellularis carcinomára, ami az agrin elleni immunhisztokémiát hasznossá teszi a dysplastikus nodulusok grade-jét, valamint a parenchymalis léziók dignitását illető kérdések megválaszolásában.
5. Tisztázatlanok maradtak az agrintermelést kiváltó okok. Az agrin megjelenése sem a proliferációs aktivitással, sem a kapillarizációval nem korrelál egyértelműen.
6. Igazoltuk, hogy az agrin a patkány májcirrhosisában és májrákjában az emberhez hasonló módon jelenik

meg. Ezzel utat nyitottunk az agrin krónikus májbetegségeiben betöltött szerepének rágszó modellre történő *in vivo* vizsgálataira felé.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Kovalszky Ilonának, Prof. Dr. Kopper Lászlónak és Prof. Dr. Nagy Péternek, amiért munkámat nemcsak lehetővé tették, de minden eszközzel segítettek és támogatták. Köszönet illeti továbbá a Semmelweis Egyetem I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetének valamennyi mostani és egykori munkatársát, közülük is kiemelten Csorba Gézáne Maricát, Dr. Dudás Józsefet, Egedi Krisztinát, Dr. Füle Tibort, Kaminszky Zsuzsannát, Klucsik Nicolette-et, Kovács Anitát, Dr. Krenács Tibort, Madarassy Zsuzsannát, Oláhné Nagy Juliannát, Dr. Paku Sándort, Péterfia Bálintot, Dr. Somorác Áront, Tamási Annát, Dr. Timár Ferencet és Dr. Zalatnai Attilát. Végezetül köszönöm Prof. Dr. Schaff Zsuzsánának és Dr. Kiss Andrásnak, hogy doktorandusz éveim befejeztével munkalehetőséget teremtettek számomra a II. Patológiai Intézetben, és előmozdították doktori disszertációm elkészítését.

A DOKTORI DOLGOZAT TÉMÁJÁBA VÁGÓ SAJÁT PUBLIKÁCIÓK

Nemzetközi folyóiratban megjelent közlemények

1. Tatrai P, Dudás J, Batmunkh E, Mathe M, Zalatnai A, Schaff Z, Ramadori G, Kovalszky I. Agrin, a novel basement membrane component in human and rat liver, accumulates in cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Lab Invest* 86:1149–1160, 2006
2. Batmunkh E, Tatrai P, Szabó E, Lodi C, Holczbauer A, Paska C, Kupcsulik P, Kiss A, Schaff Z, Kovalszky I. Comparison of the expression of agrin, a basement membrane heparan sulfate proteoglycan, in cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma. *Hum Pathol* 38:1508–1515, 2007

Magyar nyelvű folyóiratban megjelent közlemények

1. Kovalszky I, Dudás J, Gallai M, Hollósi P, Tatrai P, Tatrai E, Schaff Z. Proteoglikánok a májban. *Magyar Onkológia* 48:207–213, 2004
2. Füle T, Baghy K, Tatrai P, Péterfia B, Kovalszky I. A stroma szerepe a daganatok biológiai viselkedésében. *Orvosképzés* 3:196–199, 2006