

**EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

---

**A PAJZSMIRIGY SEJTEK APOPTÓZISÁNAK CITOKIN SZABÁLYOZÁSA**

**DR. MEZŐSI EMESE**

TÉMAVEZETŐ: DR. NAGY V. ENDRE

DEBRECENI EGYETEM ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM

I. SZ. BELGYÓGYÁSZATI KLINIKA

DEBRECEN

2002

## BEVEZETÉS

Az apoptózis a sejthalál normális, aktív, genetikailag ellenőrzött formája, amelyben gyulladáshoz vezető folyamatok nem vesznek részt. Az apoptózis alapvető szerepet játszik az egyedfejlődés során szükségtelenné vált vagy nem kívánatos sejtek eltakarításában, a szervek homeosztázisának fenntartásában, az immunrendszer működésének szabályozásában és az immunvédelemben. Kóros apoptózissal számos betegség pathomechanizmusában találkozunk: a fokozott sejthalál a parenchymás sejtek elvesztéséhez vezet, a csökkent sejthalál pedig hozzájárul a hyperplasiák és neoplasiák kifejlődéséhez.

A pajzsmirigy homeosztázisa szempontjából jelentőséggel bír, leggyakrabban vizsgált apoptózis jelátviteli útvonalak a FasL (Fas Ligand) és a TRAIL (Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand) jelátvitel. A FasL és a TRAIL a tumor nekrosis faktor család tagjai, hatásukat death receptornak nevezzük, I. típusú membrán fehérjéken keresztül fejtik ki. A FasL az aktivált T lymphocyták és az immunrendszer elől elzárt szervek sejtjeinek a felszínén található. Fontos tényező a sejt által közvetített citotoxicitás és részt vesz az immunrendszer homeosztázisának fenntartásában. Az immunválasz lecsengésekor az aktivált T sejtek FasL-mediált apoptózis útján pusztulnak el. A FasL-dal ellentétben a TRAIL a normális szövetekben általánosan előfordul. Ez arra utal, hogy a TRAIL jelátvitel szigorúan szabályozott és a normális sejtekben védő mechanizmusok működnek a TRAIL-lel szemben. Amíg a normális sejtek rezisztensek TRAIL-re, a tumorsejtek többsége érzékeny, ezért a TRAIL-t ígéretes tumorelles szernek tekintik. A TRAIL hatását két death receptor, a DR4 és a DR5 közvetíti. Ismert két további receptora is, amelyek azonban nem váltanak ki apoptózist, hanem kompetitív módon gátolják a death receptorok jelátvitelét: a DcR1 és a DcR2 („csali” receptorok).

Az utóbbi időben ismerték fel a proteasome fontos szerepét a programozott sejthalál szabályozásában. A proteasome egy ATP-függő, sok alegységből álló proteolitikus enzimkomplex, amely a sejten belüli fehérjék többségének a lebontásáért felelős. A proteasome inhibitorai apoptózist váltanak ki számos sejt típusban.

Hashimoto thyreoiditisben (HT) a hypothyreosis kialakulásáért a pajzsmirigy sejtek lymphocyták által történő elpusztítása felelős, specifikus citotoxikus reakció útján. Ebben a folyamatban fontos szerepet tulajdonítanak a Fas által közvetített apoptózisnak. Más death receptorok, mint a DR4 és DR5 szintén hozzájárulhatnak a thyreocyták apoptózisához, ezek szerepét azonban még nem vizsgálták, tekintettel a közelmúltban történt felfedezésükre. A pajzsmirigy autoantigének elleni immunválasz során a felszínükön FasL-t vagy TRAIL-t hordozó aktivált T lymphocyták felelősek lehetnek a pajzsmirigy sejtek apoptózisának kiváltásáért.

Az immunválasz korai szakaszában termelődő citokinek bizonyítottan részt vesznek a programozott sejthalál szabályozásában. A citokinek befolyásolják a célsejtekben az apoptózis jelátvitelében és gátlásában szereplő fehérjék, az effektor sejtekben pedig az apoptózist kiváltó ligandok termelődését. Autoimmun thyreoiditisben a pajzsmirigyben számos citokin megtalálható. A normális pajzsmirigysejtek rezisztensek a receptor által közvetített apoptózisra. Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) és tumor nekrosis faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) vagy interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) együttes adása azonban a pajzsmirigy sejteket érzékennyé teszi a Fas által közvetített apoptózisra. A citokinek hatását a pajzsmirigy sejtek TRAIL-re való fogékonyságára még nem vizsgálták. A TRAIL kimutatható citokinekkel előkezelt pajzsmirigy sejteken. A citokinek elősegíthetik a HT progresszióját a receptor által közvetített apoptózis útvonalak szabályozása révén.

H-2K haplotípussal rendelkező egerekben thyreoglobulin (Tg) és adjuváns együttes adásával thyreoiditis váltható ki. Az egerekben kialakuló autoimmun reakciót keringő thyreoglobulin ellenes antitestek megjelenése és a pajzsmirigy lymphocytás infiltrációja jellemzi, amelyben CD4<sup>+</sup> és CD8<sup>+</sup> lymphocyták egyaránt megtalálhatóak. A kísérletes autoimmun thyreoiditis utánozza a HT immunológiai jellemzőit, de azzal ellentétben az immunválasz néhány hét után spontán lecseng, a pajzsmirigyben szöveti károsodás jelei nem észlelhetők és hypothyreosis nem alakul ki. Több közlemény alátámasztja a citokinek döntő jelentőségét a kísérletes autoimmun thyreoiditis pathomechanizmusában, de pontos szerepük még nem tisztázott. Nincs információnk arról sem, hogy milyen hatással van a pajzsmirigyre IFN- $\gamma$  és TNF- $\alpha$  együttes adása.

A göbös golyva az egyik leggyakoribb endokrin betegség. A göbképződés pathomechanizmusa intenzíven kutatott terület, az utóbbi időben derült fény a TSH receptor és a G $\alpha$  gének konstitutív aktiválódást eredményező mutációira toxikus adenomákban. A normo- vagy hypofunkciós göbök többségében azonban nem találtak protoonkogén mutációkat, így a göbképződés közvetlen oka jelenleg is tisztázatlan. Feltételezik, hogy a göbképződés hátterében a pajzsmirigy sejtek növekedési képességének és működésének heterogenitása áll. Egyre több bizonyíték szól amellett, hogy a pajzsmirigyben lokálisan növekedési faktorok termelődnek és ezek felelősek lehetnek a TSH-tól független göbnövekedésért. A növekedést gátló lokális faktorok hiánya szintén részese lehet annak a szöveti egyensúlyzavarnak, amely göbképződést eredményez. A normális pajzsmirigyben az apoptózis nagyon ritka jelenség, az alacsony bazális sejt turnoverk megfelelően. Multinoduláris golyvában az immunhisztokémiai vizsgálatok hasonlóan alacsony apoptózis rátát mutattak. A receptor által közvetített apoptózis szabályozását göbös golyvában még nem vizsgálták.

Az állatmodellek korlátai a kísérletes daganatkutatásban jól ismertek. A vírusok vagy kémiai karcinogének által indukált, erős immunválaszt kiváltó állati daganatok nem analógok a spontán kifejlődő, többnyire nem immunogén emberi tumorokkal. A tumoros sejtvonalak hasznos információt szolgáltatnak a tumorsejtek biológiai jellemzőiről, de nem alkalmasak az emberi daganatok komplexitásának, az áttétképződésnek és a tumorelles immunitásnak a vizsgálatára. Az immundeficiens egérmodellek egyedülálló lehetőséget nyújtanak az egerekbe transzplantált emberi daganatok *in vivo* tanulmányozására. A súlyos kombinált immundeficienciában (SCID) szenvedő egerekben az antigén receptor gének rekombinációjáért felelős enzimrendszer öröklött defektusa mutatható ki. A SCID egerek ezért elfogadnak mind emberi szolid szöveteket, mind lymphocytákat. Az emberi daganatok széles skáláját (lymphoma, leukemia, tüdő-, emlő-, ovarium- és colontumor, retinoblastoma, osteosarcoma, melanoma) sikeresen transzplantálták SCID egerekbe. Az emberi immunsejtek egerekbe történő átvitelét követően a csontvelőben és a nyirokszervekben a humán lymphocyták kimutathatóak. Az emberi immunrendszer egyes elemeinek jelenlétét az egerekben immun rekonstitúciónak nevezzük.

*In situ* differenciált pajzsmirigy-rák kórboncolások során 10%-ban található, ami arra utal, hogy a betegség preklinikai formája nagyon gyakori. A tumorok körül gyakran észlelhető lymphocytás infiltráció. Azokban a differenciált pajzsmirigy-rákos betegekben, akikben thyreoiditis is előfordult, jobb prognózist írtak le. A tumorsejtek apoptózisának befolyásolása a daganatellenes kezelés ígéretes, új útja. Nincs arról adat, hogy differenciált pajzsmirigy-rákokban a tumort infiltráló lymphocyták felszínén megtalálhatóak-e apoptózist kiváltó ligandok, és a receptor által közvetített apoptózis hozzájárul-e a tumorsejtek elpusztításához. A TRAIL differenciált pajzsmirigy-rákokból származó tumoros sejtvonalakban képes apoptózist indukálni. Megfelelő állatmodell hiányában azonban nem vizsgálták a primer pajzsmirigy tumorok érzékenységét apoptózist kiváltó ligandokra illetve az immunterápia egyéb formáira.

## CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálatainkban a következő kérdésekre kerestünk választ:

1. Befolyásolják-e a citokinek *in vitro* rendszerben a normális emberi pajzsmirigysejtek TRAIL-re való fogékonyságát?
2. Hogyan érzékenyíti az IL-1 $\beta$ /TNF- $\alpha$  előkezelés a pajzsmirigysejteket a TRAIL által kiváltott apoptózisra?
3. Kimutathatóak-e a TRAIL és a TRAIL receptorai *in vivo* normális pajzsmirigyszövetben és Hashimoto thyreoiditisben?
4. Hogyan befolyásolja az IFN- $\gamma$ /TNF- $\alpha$  kezelés a Fas által közvetített apoptózist és a pajzsmirigyszövet destrukcióját kísérletes autoimmun thyreoiditisben?
5. Érzékenyek-e a strumagöbökéből származó pajzsmirigysejtek TRAIL-re vagy Fas által közvetített apoptózisra?
6. Befolyásolják-e a citokinek a golyvasejtek apoptózisát?
7. Hogyan szabályozódik a TRAIL jelátvittele golyvasejtekben?
8. Van-e különbség a normális szövetből, strumagöbőből és papilláris karcinómából származó pajzsmirigysejtek proteasome aktivitásában?
9. Használható-e a hu-PBL-SCID egérmodell az emberi pajzsmirigy-tumorerő biológiai tulajdonságainak valamint az immunrendszer és a tumor közötti kölcsönhatásnak a vizsgálatára?

## ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Sejttenyésztés: A műtétek során nyert, normális pajzsmirigyszövetből, multinoduláris golyvából és papilláris pajzsmirigyrákból származó sejteket 20% Nuserummal és 10 mIU/ml marha TSH-val szupplementált CellGro Complete tápfolyadékban tenyésztettük.

Citokinek, TRAIL, agonista antitestek, szolubilis receptorok és proteasome inhibitorok: Négy napos citokin (100 U/ml IFN- $\gamma$ , 50 ng/ml TNF- $\alpha$  vagy 50 U/ml IL-1 $\beta$ ) előkezelést követően a sejteket 20 órán keresztül inkubáltuk 800 ng/ml TRAIL-lel, 0,1-0,5  $\mu$ g/ml agonista DR5 elleni vagy 1  $\mu$ g/ml agonista Fas elleni antitesttel. A szolubilis humán DR5/Fc és TNF-R1/Fc kimérákat 0,2  $\mu$ g/ml koncentrációban használtuk. A proteasome inhibitor lactacystin-t 1  $\mu$ M, a MG132-t 10  $\mu$ M koncentrációban adtuk a tápfolyadékhoz.

Az apoptózist fluoreszcein diacetát/propidium jodid festéssel, a cytokeratin 18 caspase specifikus hasításának (M30 CytoDEATH monoklonális antitest) vizsgálatával illetve az Annexin V kötődésének (Annexin V-FLUOS kit) a mérésével értékeltük, flow cytometria során.

RNase protection assay-t végeztünk a TRAIL receptorok és az apoptózis inhibitor proteinek (IAPs) mRNS-ének kimutatására és mennyiségi értékelésére.

A DR5, DR4, DcR2, DcR2 cFLIP és bcl-2 fehérjék koncentrációját immunoblot analízissel vizsgáltuk.

A pajzsmirigyből származó sejtenyészetek tisztaságát cytokeratin 18 elleni antitesttel (az epithelialis sejtek markere) ellenőriztük és csak azokat a sejt kultúrákat használtuk a további kísérletekhez, amelyek több mint 90%-ban cytokeratin pozitívak voltak.

A TRAIL receptorok sejt felszíni megjelenését flow cytometriával értékeltük, a megfelelő receptor extracelluláris doménje ellen termelt antitest segítségével.

A TRAIL és a TRAIL receptorok *in vivo* expresszióját normális pajzsmirigyszövetben és Hashimoto thyreoiditisben immunhisztokémiai módszerekkel vizsgáltuk. Immuncytológiai festéseket végeztünk tenyésztett pajzsmirigysejteken a DR5 és DcR1 kimutatása céljából, amelyet fénymikroszkóppal és konfokális mikroszkóppal értékeltünk.

A proteasome aktivitást a pajzsmirigy sejtek lysatumában fluorogén peptid szubsztrát assay-vel határoztuk meg és standardizáltuk a Suc-LLVY-AMC 5 µg rekombináns proteasome általi hydrolysisére, amelyet pozitív kontrollnak tekintettünk (100%).

Kísérletes autoimmun thyreoiditis: Nyolc hetes nőstény CBA/J egerek, amelyekben a kísérletes autoimmun thyreoiditis indukálható, s.c. 100 µg sertés Tg-t kaptak komplett Freund adjuvánsban. Két hét múlva ugyanebben a dózisban alkalmaztuk a Tg-t, inkomplett Freund adjuvánsban. Egy héttel később az állatok 5 µg rekombináns egér IFN-γ-t, 0,5 µg TNF-α-t vagy ezek kombinációját kapták intraperitoneálisan, PBS-ben oldva, három egymást követő napon keresztül.

Az egerekben a Tg ellenes antitesteket ELISA módszerrel határoztuk meg.

A pajzsmirigy hisztológiai vizsgálata kísérletes autoimmun thyreoiditisben: A pajzsmirigy lymphocytás infiltrációját H&E festett metszeteken, öt fokozatú skálán, szemikvantitatív módon értékeltük. Az apoptózist a fragmentált DNS TUNEL festésével vizsgáltuk. A lymphocytás infiltráció összetételét CD45, CD4 és CD8 elleni antitestekkel analizáltuk.

A Fas által közvetített apoptózist *in vivo* citokinnel előkezelt egerekben vizsgáltuk, egy agonista Fas elleni antitest direkt intrathyreoideális injekciójával. Nyolc órával később az egereket túlaltattuk és a pajzsmirigyben mértük az apoptózis gyakoriságát, TUNEL festés segítségével.

Emberi pajzsmirigy tumorok SCID egérbe történő beültetése: A műtétek során 8x4x3 mm-es szövetdarabot nyertünk tíz, pajzsmirigy malignoma gyanújával műtetre kerülő betegből. A tumorszövetet két egyenlő részre vágtuk és beültettük két C.B-17-SCID/SCID egérbe. 16 hét múlva az egereket túlaltattuk és a szervek vizsgálatával értékeltük a lokális és távoli metastasisok előfordulását. Az eltávolított tumorimplantátum méretét és súlyát rögzítettük.

A humán immunrendszer rekonstitúciója: Valamennyi tumorminta esetében az egyik egér intraperitoneálisan kapott  $2 \times 10^7$  mononuclearis sejtet, amelyet a betegek véréből az első posztoperatív napon Ficoll-Hypaque grádiens centrifugálással szeparáltunk.

Az egér IgM és a humán IgG szinteket ELISA-val mértük.

Hisztológia a SCID egérmodellben: Az eredeti emberi tumorokból (a transzplantáció előtt), az egerekből eltávolított tumorokból és az egerek szerveiből hisztológiai vizsgálat készült. A differenciált pajzsmirigyrákokról származó mintákat részletes immunhisztokémiai vizsgálatnak vetettük alá CD3, CD8, CD20, CD45RO, CD68, HLA-DR és Tg elleni monoklonális antitestek felhasználásával.

Statisztikai értékelés: A flow cytometriával nyert adatokat WinMDI 2.8. software felhasználásával értékeltük. Az autoradiogramok denzitometriai analizését Quantity One programmal végeztük. A statisztikai analízis során  $\chi^2$ -tesztet, Student t-próbát és Wilcoxon tesztet használtunk.

## EREDMÉNYEK

1. A normális emberi pajzsmirigysejtek *in vitro* rezisztensek TRAIL-re, de érzékennyé tehetőek IL-1 $\beta$  és TNF- $\alpha$  kombinációjával. Kisebb mértékű, de szignifikáns sejthalál mutatható ki TRAIL hatására az IL-1 $\beta$ -val előkezelt sejtenyészetekben. TNF- $\alpha$  előkezelés hatására apoptózis nem jön létre TRAIL adását követően. Ha a sejtekhez az előbbieket mellett IFN- $\gamma$ -t is adunk, a TRAIL-re való fogékonyság kialakulása meggátolható. A TRAIL-re való fogékonyság létrejöttéhez legalább három napos citokin előkezelés szükséges, a maximális hatás négy napos kezelést követően észlelhető. TRAIL adására közel maximális sejthalál lép fel 4 órán belül és a TRAIL 50 ng/ml koncentrációban is hatékony. A szolubilis DR5 képes a TRAIL hatását megakadályozni, míg a szolubilis TNF-R1 nem, ami alátámasztja, hogy az elsődleges apoptózis szignál a TRAIL-től származik.
2. A TRAIL receptorainak expresszióját sejtenyészetek lizátumában vizsgálva megállapítottuk, hogy a citokinek posztranszkripciós úton szabályozzák a DR5 szintet. A DR5 intracelluláris és sejtfelszíni expresszióját az IL-1 $\beta$  és az IL-1 $\beta$  /TNF- $\alpha$  előkezelés egyaránt növelte, összhangban a TRAIL-re való érzékenyítéssel. A DcR1 mRNS szintje és a protein sejtfelszíni expressziója csökkent IL-1 $\beta$ /TNF- $\alpha$  hatására, annak megfelelően, hogy a DcR1 szerepe a TRAIL által közvetített apoptózis gátlása. A DR4 és DcR2 mRNS-ének és protein koncentrációjának változása citokinek hatására nem mutatott összefüggést a TRAIL-re való fogékonysággal. A pajzsmirigysejtek agonista DR5 elleni antitesttel történő kezelése alátámasztotta, hogy az apoptózis szignált a DR5 közvetíti.
3. A TRAIL és valamennyi receptora kimutatható a pajzsmirigysejteken *in vivo*, normális pajzsmirigyszövetben és Hashimoto thyreoiditisben egyaránt. A TRAIL-t Hashimoto thyreoiditisben a thyreocyták fokozott mértékben expresszálják, míg az infiltráló lymphocytákon nem található meg. A lymphoid sejtek jelentős része azonban erősen pozitív DR5-ra és DcR1-re.
4. Az egerekben kiváltott kísérletes autoimmun thyreoiditis spontán lecseng és nem kíséri a folliculáris szerkezet destrukciója valamint hypothyreosis kialakulása, ennek megfelelően nem tökéletes analógja a humán autoimmun thyreoiditisnek. A modell javítása céljából azt vizsgáltuk, hogy a citokinek hogyan befolyásolják a pTg-vel immunizált egerekben a thyreoiditis lefolyását. A Tg-vel immunizált egerek IFN- $\gamma$ /TNF- $\alpha$  kezelése szignifikánsan növelte a pajzsmirigy lymphocytás infiltrációjának időtartamát és destruktív thyreoiditist



eredményezett, a humorális immunválasz módosítása nélkül. Az apoptózis ráta növekedése szintén kimutatható volt. A Fas által közvetített apoptózis lehetséges szerepét ebben a folyamatban agonista Fas elleni antitest direkt intrathyreoidealis injekciójával vizsgáltuk. Az apoptotikus pajzsmirigy sejtek száma szignifikánsan nagyobb volt IFN- $\gamma$ /TNF- $\alpha$  kezelést követően, mint azokban az egerekben, amelyek csak agonista Fas elleni antitestet kaptak.

5. A strumagöbökből származó pajzsmirigysejtek rezisztensnek bizonyultak a TRAIL és Fas által közvetített apoptózisra.
6. A normál sejtekkel ellentétben a golyvasejt tenyészetek többsége rezisztens maradt TRAIL-re és/vagy agonista Fas elleni antitestre citokin előkezelést követően is. A citokin kezelést követően észlelt TRAIL érzékenység fordított arányban állott a golyva méretével.
7. A golyvasejtek TRAIL rezisztenciáját nem receptor szintű szabályozás magyarázta és nem volt összefüggésben az apoptózis ismert intracelluláris inhibitorainak koncentrációváltozásával sem.
8. A normális pajzsmirigysejteket alacsony proteasome aktivitás jellemezte. Azokban a golyvasejtekben, amelyek mindkét apoptózist indukáló ligandra rezisztensek voltak, szignifikánsan emelkedett proteasome aktivitást találtunk. A rezisztens golyvasejtek proteasome aktivitása hasonló volt a papillaris karcinomákban mért értékhez. Azok a golyvasejtek, amelyek legalább az egyik apoptózist indukáló ligandra érzékenyek voltak, alacsony proteasome aktivitást mutattak. A proteasome inhibitorok érzékenyítették a rezisztens golyvasejteket a TRAIL által indukált apoptózisra.
9. Meghonosítottuk a hu-PBL-SCID egérmódellet a humán pajzsmirigy tumorok *in vivo* vizsgálatára. Megállapítottuk, hogy papillaris, follicularis, anaplasticus és medullaris karcinomák eredményesen növeszthetők SCID egerekben. A növekedési ütem, a várakozásnak megfelelően, gyorsabb az alacsonyan differenciált tumorok esetében. A modell alkalmasnak látszik a humán pajzsmirigy tumorok biológiai jellemzőinek a vizsgálatára. Az emberi immunrendszer rekonstitúciója azonban egyrészt nem volt teljes azokban az egerekben, amelyek mononuclearis perifériás vérsejteket kaptak, másrészt viszont a tumort infiltráló lymphocyták akaratlanul létrehozták a humán immunrendszer egyes elemeit.

## KÖVETKEZTETÉSEK ÉS ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. A citokinek képesek a TRAIL által közvetített apoptózis szabályozására normális emberi pajzsmirigysejtekben. Az IL-1 $\beta$  egyedül vagy TNF- $\alpha$ -val kombinálva érzékenyíti a pajzsmirigysejteket TRAIL-re, míg az IFN- $\gamma$  hozzáadása rezisztenciát kölcsönöz a TRAIL-rel szemben. Az irodalomban elsőként igazoltuk az IL-1 $\beta$  indukáló, az IFN- $\gamma$  gátló hatását a TRAIL-re való fogékonyság vonatkozásában.
2. A TRAIL-re való érzékenység korrelált a TRAIL receptorok sejtfelszíni expressziójával. Az IL-1 $\beta$ /TNF- $\alpha$  által indukált fokozott sejtfelszíni DR5 expresszió a TRAIL-re való érzékenyítés valószínű mechanizmusa. Az IFN- $\gamma$  ez ellen hat a DR5 sejtfelszíni expressziójának csökkentésével, gátolva az apoptózis jelátvitelét. Agonista DR5 elleni antitest segítségével igazoltuk, hogy az apoptózis szignált a DR5 közvetíti. Ezek az adatok elsőként bizonyítják, hogy az IL-1 $\beta$  önmagában és TNF- $\alpha$ -val együtt indukálja a DR5 sejtfelszíni expresszióját. Elsőként közöltük a DcR1 sejtfelszíni expressziójának szabályozását is.
3. Elsőként írtuk le a TRAIL és a TRAIL receptorok *in vivo* expresszióját normális pajzsmirigyben és Hashimoto thyreoiditisben. Ezen fehérjék együttes jelenléte a pajzsmirigyben arra utal, hogy a TRAIL jelátvitel szigorúan kontrollált és normálisan gátolt. A TRAIL jelátvitelének szabályozása citokinek, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  és IFN- $\gamma$  által, amelyek bizonyítottan jelen vannak Hashimoto thyreoiditisben, felveti a TRAIL szerepét a thyreoiditis pathomechanizmusában.
4. Elsőként vizsgáltuk IFN- $\gamma$ /TNF- $\alpha$  kezelés hatását kísérletes autoimmun thyreoiditisben és megállapítottuk, hogy a citokinek ezen kombinációja a lymphocytás infiltráció időtartamát megnyújtja és elősegíti a pajzsmirigy sejtek destrukcióját, valószínűleg Fas által közvetített apoptózis útján. Ez magyarázatul szolgálhat a kísérletes thyreoiditis és a Hashimoto thyreoiditis közötti különbségre, hiszen a betegek pajzsmirigyében Th1 típusú citokinek, mint TNF- $\alpha$  és IFN- $\gamma$  tartósan jelen vannak. Más Th1 immunválasszal járó betegségekben is felmerül a Fas által közvetített apoptózis szerepe a citokin mikrokörnyezet következtében. Autoimmun betegségekre hajlamosíthatnak genetikai különbségek azon fehérjékben, amelyek részt vesznek az apoptózis útvonalak citokin szabályozásában.

5. Eredeti megfigyelés, hogy a strumagöbök többségéből származó pajzsmirigysejtek *in vitro* rezisztensek a TRAIL és/vagy Fas által közvetített apoptózisra és nem érzékenyíthetőek citokinek által. Ez a növekedés kóros szabályozásának új aspektusát jelenti strumagöbökben. A struma méret és a TRAIL-re való fogékonyság fordított aránya arra utal, hogy a TRAIL rezisztencia szerepet játszhat a struma pathogenesisében.
6. A rezisztens golyvasejtek fokozott proteasome aktivitása és a proteasome inhibitorokkal a TRAIL-re való érzékenység visszaállítása felhívja a figyelmet a proteasome szabályozó szerepére a golyvasejtek apoptózisában. Elsőként vizsgáltuk normális és strumagöből származó pajzsmirigysejtek proteasome aktivitását és igazoltunk pozitív korrelációt a proteasome aktivitás és a receptor által közvetített apoptózisra való rezisztencia között.
7. A differenciált pajzsmirigyrákok *in vivo* apoptózis regulációjának és a tumorelles immunitásnak a tanulmányozása céljából meghonosítottuk a hu PBL-SCID egérmodellt. Ez a modell alkalmas a pajzsmirigyrákok biológiai jellemzőinek a vizsgálatára, de továbbfejlesztést igényel, ha célunk az immunrendszer és a tumorsejtek közötti interakció tanulmányozása.

### **AZ EREDMÉNYEK JÖVŐBENI HASZNOSÍTÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI**

Az apoptózis jelátviteli útvonalak szabályozásának tisztázása lehetőséget teremt arra, hogy befolyásoljuk a Hashimoto thyreoiditis progresszióját. Az a tény, hogy a TRAIL- és Fas által közvetített apoptózisra a citokinek specifikus és egymást kizáró kombinációja érzékenyít, felhívja a figyelmet az apoptózis útvonalak egymást kiegészítő funkciójára és arra, hogy a pajzsmirigy folliculusban kialakuló citokin milieu képes meghatározni az apoptózis útvonalak aktivitását. A golyvagöbökéből származó pajzsmirigysejtek kóros apoptózis szabályozása új szempont a golyva pathogenesisében és további vizsgálatokat igényel. A rezisztens golyvasejtek és a papillaris karcinómák magas proteasome aktivitása felveti, hogy a proteasome inhibitorok (amelyekkel jelenleg klinikai tanulmányok folynak) jótékony hatásúak lehetnek ezekben a kórképekben. A humán pajzsmirigy tumorok sikeres transzplantációja SCID egerekbe lehetővé teszi a primer tumorok *in vivo* TRAIL érzékenységének meghatározását. A TRAIL klinikai vizsgálatok előtt álló, ígéretes tumorelles szer.

## AZ ÉRTEKEZÉSHEZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

1. Bretz JD, Mezosi E\*, Giordano TJ, Gauger PG, Thompson NW, Baker JR, Jr. 2002. Inflammatory cytokine regulation of TRAIL-mediated apoptosis in thyroid epithelial cells. *Cell Death Differ.* 9:274-286. (IF: 7.785)  
\*Társ első szerző
2. Wang SH, Bretz JD, Phelps E, Mezosi E, Arscott PL, Utsugi S, Baker JR, Jr. 2002. A unique combination of inflammatory cytokines enhances apoptosis of thyroid follicular cells and transforms nondestructive to destructive thyroiditis in experimental autoimmune thyroiditis. *J. Immunol.* 168:2470-2474. (IF: 6.834)
3. Mezosi E, Yamazaki H, Bretz JD, Wang SH, Arscott PL, Utsugi S, Gauger PG, Thompson NW, Baker JR, Jr. 2002. Aberrant apoptosis in thyroid epithelial cells from goiter nodules. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (közlésre elfogadva) (IF: 5.447)
4. Mezosi E, Gyory F, Szakall S, Bajnok L, Juhasz I, Szabo J, Leovey A, Kakuk G, Lukacs G, Nagy EV. Establishment of the hu-PBL-SCID mouse model for the investigation of thyroid cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* (közlésre beküldve)

## EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

1. Szabó J, Fórizs E, Bakó G, Mezősi E, Leövey A. 1987. Detectability of antibodies directed against different thyroid structures by indirect immunofluorescence with Graves' patients' sera. A prospective study. *Radiobiol. Radiother.* 28:600-607.
2. Szabó J, Márián T, Balkay L, Mezősi E, Trón L. 1994. Short term effect of TSH on the intracellular pH of porcine thyroid cells in suspension. *Exp. Clin. Endocrinol. (Life Sci. Adv.)* 13:19-23. (IF: 0.644)
3. Szabó J, Fóris G, Paragh G, Sztojka I, Mezősi E, Leövey A. 1996. Parameters of respiratory burst and arachidonic acid metabolism in polymorphonuclear granulocytes from patients with various thyroid diseases. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 104:172-176. (IF: 0.961)
4. Nagy E, Mezősi E, Jenei Z, Leövey A. 1996. A pajzsmirigy betegségeinek molekuláris biológiája. *Orv. Hetil.* 137: 563-568
5. Berczi Cs, Mezősi E, Lukács G, Balázs Gy. 1997. A preoperatív lokalizációs eljárások jelentősége a primer hyperparathyreosis miatt végzett parathyreoidectomiákban. *Magyar Sebészet* 50:195-198.
6. Boda J, Paragh G, Szabó J, Mezősi E, Nagy E. 1997. Lipoprotein (a) vizsgálatok pajzsmirigy betegségekben. *Orv. Hetil.* 138(36 Suppl 2):2307-2309.
7. Szabo J, Foris G, Keresztes T, Csabina S, Varga Zs, Bako Gy, Mezosi E, Nagy E, Paragh G, Leovey A. 1998. Heterogenous signal pathways through TSH receptors in porcine thyroid cells following stimulation with Graves' immunoglobulin G. *Eur. J. Endocrinol.* 139:355-358. (IF: 2.101)

8. Bajnok L, Varga J, Mezősi E, Nagy E, Szabó J, Sztojka I, Galuska L, Leövey A. 1998. A hyperthyreosis radiojód terápiájának szempontjai. *Orvosképzés* 77:91-98.
9. Mezosi E, Bajnok L, Gyory F, Varga J, Sztojka I, Szabo J, Galuska L, Leovey A, Kakuk Gy, Nagy E. 1999. The role of technetium-99m methoxyisobutylisonitrile scintigraphy in the differential diagnosis of cold thyroid nodules. *Eur. J. Nucl. Med.* 26:798-803. (IF: 3.239)
10. Bajnok L, Mezosi E, Nagy E, Szabo J, Sztojka I, Varga J, Galuska L, Leovey A. 1999. Calculation of the radioiodine dose for the treatment of Graves' hyperthyroidism: Is more than seven-thousand rad target dose necessary? *Thyroid* 9:865-869. (IF: 1.899)
11. Nagy EV, Mezősi E, Burch HB, Koncz Á, Zilahi Zs, Bundik Zs. and Leövey A. 1999. Az endocrin ophthalmopathia pathogenesis: új orbita-autoantigén azonosítása nyúlban termelt TSH-receptor elleni antitestekkel. *Magy. Belorv. Arch.* 52:281-284.
12. Gyory F, Lukacs G, Juhasz F, Mezosi E, Szakall S, Vegh T, Math J, Balazs G. 1999. Surgically treated Hashimoto's thyroiditis. *Acta Chir. Hung.* 38(3-4):243-247.
13. Mezosi E, Molnar I, Jakab A, Balogh E, Karanyi Z, Pakozdy Z, Nagy P, Gyory F, Szabo J, Bajnok L, Leovey A, Kakuk G, Nagy EV. 2000. Prevalence of iodine deficiency and goitre during pregnancy in east Hungary. *Eur. J. Endocrinol.* 143(4):479-83. (IF: 2.315)
14. Nagy EV, Toth J, Kaldi I, Damjanovich J, Mezosi E, Lenkey A, Toth L, Szabo J, Karanyi Z, Leovey A. 2000. Graves' ophthalmopathy: eye muscle involvement in patients with diplopia. *Eur. J. Endocrinol.* 142(6):591-7. (IF: 2.315)
15. Györy F, Lukács G, Nagy EV, Juhász F, Mezősi E, Szakáll S, Máth J, Balázs G. 2001. Differenciált pajzsmirigyrák: prognosztikai faktorok vizsgálata. *Magyar Sebészet* 54(2):69-74.
16. Berezi C, Mezosi E, Galuska L, Varga J, Bajnok L, Lukacs G, Balazs G. 2002. Technetium-99m-sestamibi/pertechnetate subtraction scintigraphy vs ultrasonography for preoperative localization in primary hyperparathyroidism. *Eur. Radiol.* 12(3):605-609. (IF: 1.119)

**Impakt faktor: 34.659**

### **KÖNYVRÉSZLETEK**

1. Mezősi E, Szücs S, Sárközi S, Fórizs E, Szabó J, Leövey A. 1992. The effect of anti-microsomal antibodies on thyroid peroxidase activity. In: "New Aspects in Thyroid Disease" Medullary Thyroid Carcinoma - Thyroiditis - Peripheral Thyroid Hormone Metabolism. Deckart HF, Strehlau E. Eds. Walter de Gruyter, Berlin-New York, pp. 15-24.
2. Fórizs E, Penyige A, Jenei A, Fülöp T, Szabó J, Mezősi E, Seres I, Leövey A. 1992. Guanyl nucleotide regulatory proteins and GTP-ase activity in normal and hyperthyroid human thyroid tissue and polymorphonuclear granulocytes. In: "New Aspects in Thyroid Disease" Medullary Thyroid Carcinoma - Thyroiditis - Peripheral Thyroid Hormone Metabolism. Deckart HF, Strehlau E. Eds. Walter de Gruyter, Berlin-New York, pp. 53-60.

3. Bakó G, Nagy E, Fórizs E, Szabó J, Karányi Zs, Mezősi E, Leövey A. 1994. Changes of level of thyroid autoantibodies (TBII, Tsab, anti-HTG, anti-TPO) during metimazole treatment of patients with Basedow's disease In: Schilddrüse 1993. Therapie der Hyperthyreose. Eds: Reinwein D. Weinheimer B, W. de Gruyter, Berlin-New-York. pp. 85-90.
4. Mezősi E. 2001. Terhesség és endocrin kórképek. In: A klinikai endokrinológia és anyagcsere-betegségek kézikönyve, Szerk.: Prof. Leövey András. Medicina Könyvkiadó Rt. Budapest, 530-535.
5. Mezősi E. Daganatos betegségek és a vese. In: Klinikai nephrológia, Szerk.: Prof. Kakuk György. (szerkesztés alatt).

### ABSZTRAKTOK

1. Fórizs E, Szücs S, Szabó J, Mezősi E, Leövey A. Detectability of autoantibodies to thyroid peroxidase in patients with autoimmune thyroid disease using highly purified porcine thyroid peroxidase. (Abstr.) Exp. Clin. Endocrinol. 97:365, 1991.
2. Szabó J, Fórizs E, Szücs S, Mezősi E, Hampel R, Leövey A. The effect of TSH, TSI, TGI on cultured porcine thyroid cells. The suitability of this system. (Abstr.) Exp. Clin. Endocrinol. 97:395, 1991.
3. Bajnok L, Mezosi E, Nagy E, Szabo J, Sztojka I, Varga J, Galuska L, Leovey A. Is the optimum dose for the elimination of Graves' hyperthyroidism linear to the gland mass? (Abstr.) Thyroid 7(Suppl.1.):S-28, 1997.
4. Mezosi E, Bajnok L, Gyory F, Varga J, Szabo J, Leovey A, Nagy E. The role of technetium-99m-methoxyisobutylisonitrile (MIBI) scintigraphy in the differential diagnosis of cold thyroid nodules. (Abstr.) Thyroid 7(Suppl.1.):S-81, 1997.

### ELŐADÁSOK ÉS POSZTEREK

1. Mezosi E, Seres I, Nagy E, Sztojka I, Kalapos I, Szabo J. The effect of thyroid dysfunction on the cytosolic free calcium concentration of polymorphonuclear granulocytes Arbeitstagung Experimentelle Schilddrüsenforschung, München, 1994.
2. Mezősi E, Bajnok L, Nagy E, Szabó J, Bakó Gy, Sztojka I, Leövey A. A hyperthyreosis kezelése módosított radiojód dózisszámolás alapján. Magyar Belgyógyász Társaság Északkelet-magyarországi Szakcsoportja Tudományos Ülése, Eger, 1995.
3. Mezősi E, Mátyus J, Berczi Cs, Bajnok L, Nagy E, Szabó J, Leövey A, Kakuk Gy. Tapasztalataink a hyperparathyreosis diagnosztikájában és terápiájában. Magyar Belgyógyász Társaság Északkelet-magyarországi Szakcsoportja Tudományos Ülése, Miskolc, 1996.
4. Mezősi E, Győry F, Bajnok L, Nagy P, Varga J, Szabó J, Leövey A, Kakuk Gy. A primer hyperparathyreosis diagnosztikai problémái egy eset tükrében. Magyar Belgyógyász Társaság XXXVI Naggyűlése, Budapest, 1996.

5. Mezősi E, Bajnok L, Nagy E, Gyóry F, Varga J, Szabó J, Sztojka I, Galuska L, Leövey A, Kakuk Gy. A Tc-99m MIBI scintigraphia szerepe a pajzsmirigy göbök differenciáldiagnosztikájában. Magyar Belgyógyász Társaság XXXVI Naggyűlése, Budapest, 1996.
6. Mezősi E, Bajnok L, Gyóry F, Varga J, Szabó J, Leövey A, Nagy E. The role of technetium-99m-methoxyisobutylisonitrile (MIBI) scintigraphy in the differential diagnosis of cold thyroid nodules. 70<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Thyroid Association, Colorado Springs, 1997.
7. Mezősi E, Molnár I, Jakab A, Balogh E, Pákozdy Zs, Nagy P, Pintye I, Nagy E, Szabó J, Leövey A, Kakuk Gy. Terhesek jódeleitartásának vizsgálata Debrecenben. MEAT XVII. Kongresszusa, Pécs, 1998.
8. Mezősi E, Molnár I, Jakab A, Balogh E, Pákozdy Zs, Nagy P, Pintye I, Nagy E, Szabó J, Leövey A, Kakuk Gy. Terhesek jódeleitartásának vizsgálata Debrecenben. Magyar Belgyógyász Társaság XXXVII Naggyűlése, Budapest, 1998.
9. Mezősi E. Terhesség és endokrin betegségek. Határterületi kérdések az endokrinológiában 2, Debrecen, 1998.
10. Mezosi E, Gyory F, Szakáll S, Juhasz I, Balazs G, Nagy E. The interaction of lymphocytes and thyroid cancer implants in the hu-PBL-SCID mouse. Arbeitstagung, Experimentelle Schilddrüsenforschung, Lübeck-Ratzeburg, Németország, 1998.
11. Mezosi E, Gyory F, Szakall S, Juhasz I, Bajnok L, Balazs G, Nagy EV. The interaction of lymphocytes and thyroid cancer implants in hu-PBL-SCID mice. 72<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Thyroid Association, West Palm Beach, 1999.
12. Mezősi E, Király T, Urbancsek H, Bajnok L, Boda J, Szabó J, Nagy E, Kakuk Gy. Pajzsmirigy betegségek emlőrák sugárkezelését követően. Magyar Belgyógyász Társaság Északkelet-magyarországi Szakcsoport Tudományos Ülése, Miskolc-Lillafüred, 1999.
13. Mezősi E. Idiopathiás hypercalciuria. Nephrológiai Napok, Debrecen, 1999.
14. Mezosi E, Bretz JD, Giordano TJ, Thompson NW, Baker JR, Jr. Cytokine regulation of TRAIL-mediated apoptosis in thyrocytes. 83<sup>rd</sup> Annual Meeting of Endocrine Society's, Denver, 2001.
15. Mezosi E, Bretz JD, Yamazaki H, Wang SH, Gauger PG, Thompson NW. Baker JR, Jr. Aberrant apoptosis in thyroid cells from nodular goiters. 73<sup>rd</sup> Annual Meeting of the American Thyroid Association, Washington DC, 2001.
16. Mezősi E, Jakab A, Balogh E, Molnár I, Nagy EV. Terhesek jódeleitartásának vizsgálata Debrecenben. Magyar Szülészeti és Nőgyógyászati Endokrinológiai Társaság II. Kongresszusa, Kecskemét, 2002.
17. Mezősi E, Bajnok L, Bretz JD, Baker JR. A pajzsmirigy sejtek apoptózisának citokin regulációja. Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság XIX. Kongresszusa, Gyula, 2002.