

MIKRO-RNS ÉS CLAUDIN EXPRESSZIÓ VIZSGÁLATA HUMÁN HEPATOCELLULÁRIS KARCINÓMÁBAN

Doktori tézisek

Dr. Gyöngyösi Benedek Ond

Semmelweis Egyetem
Patológiai Tudományok Doktori Iskola



Témavezető:

Dr. Kiss András, D.Sc., egyetemi docens

Hivatalos bírálók:

Dr. Szentirmay Zoltán, Ph.D., egyetemi tanár

Dr. Katz Sándor, Ph.D., egyetemi tanársegéd

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Sági Zoltán, D.Sc., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Bodánszky Hedvig, Ph.D., egyetemi magántanár

Dr. Simon Károly, Ph.D., osztályvezető főorvos

Budapest

2016

1 - BEVEZETÉS

A hepatocelluláris karcinóma (HCC) a máj primér, májsejt eredetű, malignus daganata, mely világszerte a hatodik leggyakoribb rosszindulatú daganat, évente mintegy 782 ezer embert érint. Habár az utóbbi időben egyre jobban és jobban megismerjük ezt a daganattípust, a HCC egyike azon daganatoknak az Egyesült Államokban és Kanadában, melynek halálózása továbbra is nő. Mindemellett a HCC a korábbi harmadik helyről a második helyre került a leggyakoribb daganatos halálokok listáján világszerte. Agresszivitását jól mutatja, hogy a betegek diagnózistól számított medián túlélése 6-9 hónap között mozog, az 5 éves túlélés pedig mindössze 20%-os. Mint minden más rosszindulatú daganat esetében, itt is a megelőzés, illetve a korai diagnosztika lenne döntő jelentőségű a kórjóslat szempontjából, azonban a tünetszegény kialakulás miatt a HCC-s betegek többsége csak későn kerül diagnózisra.

A HCC patogenezisében számos megváltozott jelátviteli útvonal közreműködik, melyek terápiás célpontokat is jelentenek. Diagnosztikájában ma már a fejlett, dinamikus képalkotó vizsgálatok jelentik az elsődleges megközelítést, a kérdéses esetekben azonban továbbra is a biopsziás mintavétel és a patológiai diagnosztika jelenti az „arany standardot”. A korai stádiumban felfedezett betegek esetében a potenciálisan kuratív sebészi, illetve ablációs kezelések egyre jobb eredményeket hoznak. Sajnos a HCC-s betegek csak mintegy 15-35%-a kezelhető sebészileg, melynek oka, hogy a korszerű diagnosztika ellenére a HCC-k nagy része továbbra is csak későn, már előrehaladott stádiumban kerül diagnózisra, mely esetben limitált a terápiás eszköztár. A pár éve bevezetett szisztémás, célzott terápia, a sorafenib szignifikáns túlélési előnyt nyújtva segíthet a betegség stabilizálásában, azonban a betegek csak mintegy fele reagál a kezelésre. Ez alapján fontos klinikai igény a sorafenib terápiára reagáló, illetve nem reagáló

betegek azonosítása – sajnos azonban még nem rendelkezünk megfelelő biomarkerrel.

Vizsgálatainkban ezért fordultunk a mikro-RNS-ek (miRNS) felé, melyek a sejtek génkifejeződésének 19-23 nukleotid nagyságú, rövid, egyszálú, poszttranszkripcionális szabályozói. Ezen molekulák géncsendesítő hatásukat a target hírvivő RNS-hez (mRNS) bekötődve a transláció gátlásával, valamint a target mRNS degradációjával érik el. Számos daganat, így HCC is megváltozott miRNS expresszióval bír, ami diagnosztikus, terápiás és prognosztikus potenciált rejt magában. A miRNS-ek nagy előnye, hogy kis méretük miatt izolálásuk, kimutatásuk olyan mintákból is (például vékonytű aspirációs biopsziák) hatékonyan elvégezhető, amikben a nagyobb hírvivő mRNS-ek például már csak fragmentáltan vannak jelen. Kutatásunkban a HCC-ben gyakori megváltozott expressziót mutató, valamint *in vitro* vizsgálatok alapján a sorafenibre érzékenyítő miRNS-eket vizsgáltuk.

Amellett, hogy nem teljesen ismert egy már kifejlődött HCC pontos biológiai viselkedése, nem pontosan tisztázottak a HCC kialakulásához vezető folyamatok sem. Ismert, hogy a HCC leggyakrabban krónikus májbetegségek talaján kialakult cirrotikusan átalakult májban fejlődik ki. A daganatok kialakulásának egyik alapvető motívuma a sejtkapcsolatok megváltozása. A claudinok a tight junction típusú sejtkapcsoló struktúrák létrehozásában részt vevő transzmembrán fehérjék. Megváltozott expressziójuk a sejtek közötti adhézió módosulásával, a daganatok progressziójával társulhat, továbbá leírták szerepüket egyes vírusok belépési kofaktoraiként. Nem ismert azonban, hogy a munkacsoportunk által korábban kiterjedten vizsgált claudinok kifejeződése hogyan változik a normál – cirrózis – HCC tengelyen, illetve hogyan korrelál a hepatitisz C vírus fertőzöttségi státusszal.

2 - CÉLKITŰZÉSEK

Az előrehaladott stádiumú hepatocelluláris karcinómában szenvedő betegek esetében az első, szignifikáns túlélési előnyt nyújtó, szisztémás, célzott terápiát a sorafenib jelentette. A betegek nagy hányada azonban nem reagál a kezelésre, és nem rendelkezünk olyan validált, prediktív biomarkerrel, mely megbízhatóan előre jelezné a sorafenibre adott válaszkészséget.

Nem tisztázott továbbá, hogy a daganatok patomechanizmusában gyakran szerepet játszó sejtkapcsolatok, azon belül is a claudin fehérjék kifejeződése hogyan változik a krónikus májbetegségek talaján kialakult cirrózisban, valamint HCC-ben, illetve hogyan korrelál a HCV fertőzöttségi státusszal.

Mindezek alapján a következő célkitűzéseket fogalmaztuk meg:

- A HCC-ben gyakran deregulált miRNS-ek kifejeződésének vizsgálata sorafenib kezelés előtti, diagnosztikus vékonytű aspirációs biopsziákon
- Lehetséges összefüggések vizsgálata a kapott miRNS expressziós értékek és a betegek klinikopatológiai jellemzői között
- A sorafenib kezelés előtti miRNS expresszió és a betegek túlélése közötti lehetséges kapcsolatok feltárása, különös tekintettel az irodalomban leírt, *in vitro*, illetve lehetséges targetjeik alapján sorafenibre érzékenyítő miRNS-ekre
- A claudin-1, -2, -3, -4 és -7 fehérje expresszió lokalizációjának és erősségének vizsgálata reszekált HCC-ben és az azt körülvevő cirrotikus vagy nem cirrotikus májszövetben
- A claudinok expressziójának összevetése a tumor differenciáltsági fokkal, a betegek túlélésével, valamint a HCV státusszal mind tumoros, mind tumormentes májszövetben, különös tekintettel a claudin-1 mint HCV belépési kofaktor kifejeződésére.

3 - ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Vizsgálataink anyagát a Semmelweis Egyetem II. Számú Patológiai Intézetének archívumából származó, összesen 50 HCC-s eset adta. A vizsgálatok minden esetben a Semmelweis Egyetem Regionális Etikai Bizottságának engedélyével történtek (#172/2003, #137/2008, #35/2011).

A mikro-RNS expressziós vizsgálatokhoz húsz, sorafenibbel kezelt, előrehaladott stádiumú HCC-s beteg kezelés előtti vékonytű aspirációs citológiai mintáit használtuk föl. Legalább 2000, jól látható és jól megőrzött daganatos sejtet, valamint nekrotikus területeket nem tartalmazó keneteket használtuk. A betegek medián életkora 68 év (52–82 év), míg a férfi:nő arány 16:4 volt. A betegek többsége (16/20) Child-Pugh A májfunkciókkal és általában jó klinikai teljesítmény státusszal (ECOG 0: 13/20) rendelkezett. A HCC háttérben jellemzően krónikus vírushepatitisz állt (11/20), a medián tumorméret pedig 5 cm-nek bizonyult (1,5–20 cm). A legtöbb HCC multinoduláris volt (14/20), 13/20 esetben emelkedett szérum alfa-fötóproteín (AFP) értékkel. A medián utánkövetési idő 33,6 hónap volt.

A mikro-RNS-ek izolálását RNeasy FFPE kit-tel, miRNS-re optimalizált protokoll szerint végeztük. Az expressziót reverz transzkripciót követő, TaqMan MicroRNA Assay alapú, valós idejű kvantitatív PCR reakcióval határoztuk meg. A kapott értékeket a klinikopatológiai jellemzőkkel, valamint a túlélési adatokkal vetettük össze, Fisher-féle egzakt tesztet, valamint Kaplan-Meier módszert és log-rank tesztet használva.

A claudin expressziós vizsgálatokhoz harminc, reszekált HCC eset formalin-fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) mintáit használtuk föl, vizsgálva a tumort és tumor környéki májszövetet, továbbá kontrollként hat normál májmintát használtunk. A betegek medián életkora 63 év, a férfi:nő arány 20:10 volt, 24 eset mutatott szoliter megjelenést, az

átlagos tumorméret 7,1 cm volt (2 – 22 cm). A tumorok közül 7 grade 1, 10 grade 2, 13 grade 3 differenciáltsági fokot mutatott. Tizenhét (17/30) HCC beteg mutatott HCV szerológiai pozitivitást. A fibrózis-cirrózis megítélése a módosított Ishak fibrózis skála szerint történt: 11/30 esetben volt jelen cirrózis a HCC körüli májban (score 5-6), míg 11/30 esetben volt jelen krónikus hepatitisz fibrózissal, de cirrózis nélkül (score 3-4). A 17 HCV pozitív esetből 6 esetben volt jelen cirrózis, míg 11 esetben krónikus hepatitisz és fibrózis. A 13 HCV negatív eset között 5 alkoholos eredetű cirrózis szerepelt, míg a többi eset nem mutatta krónikus hepatitisz vagy fibrózis jeleit.

Vizsgálatainkban a normál – cirrózis – HCC tengelyt kívántuk vizsgálni a normál májat (normal liver, NL), a nem-cirrotikus tumor környéki májszövetet (non cirrhotic surrounding liver, ncSL), a cirrotikus környező májszövetet (cirrhotic surrounding liver, cSL), a nem cirrotikus talajon kifejlődő HCC-t (non cirrhotic HCC, ncHCC) és a cirrotikus talajon kifejlődő HCC-t (cirrhotic HCC, cHCC) hasonlítva össze.

A claudinok immunhisztokémiai detektálása FFPE blokkokból készült, 3-5 μm vastagságú metszeteken történt, anti-claudin-1, -2, -3, -4, és -7 elsődleges antitestek (Zymed), valamint Ventana ES automata immunfestő készülék segítségével. A reakciók kvantitatív értékelését (morfometria) Leica Qwin V3 morfometriai szoftverrel végeztük (Leica Microsystems Imaging Solutions Ltd.). A claudin immunreakciók specificitásának ellenőrzésére Western blot vizsgálatokat végeztünk 5 reprezentatív tumoron és környező májmintáikon, fehérjeizolálást követően. Az immunhisztokémia reakciók eredményeit a tumor differenciáltsággal, túléléssel és a HCV státusszal is összevetettük. A kapott eredmények statisztikai analízise Mann-Whitney U teszttel, Kruskal-Wallis és post hoc analízissel, valamint Kaplan-Meier módszerrel és log-rank teszttel történt.

4 - EREDMÉNYEK

4.1 - Sorafenibbel kezelt HCC esetek mikro-RNS vizsgálata

4.1.1 - miRNS izolálás lehetőségének vizsgálata HCC FNAB mintákból

A citológiai mintákból nyert totál RNS mennyisége és minősége megfelelőnek bizonyult további vizsgálatok végzéséhez. A kenetekből nyert átlagos RNS hozam $10,8 \pm 9,3 \mu\text{g}$ (átlag \pm szórás) ($0,2\text{--}32,2 \mu\text{g}$ min-max) volt. Az RNS tisztaságát a NanoDrop készülékkel 260/280 nm-en mért optikai denzitás arány $2,0 \pm 0,1$ (átlag \pm szórás) jelezte.

4.1.2 - A sorafenib kezelés előtti mikro-RNS expresszió és a klinikopatológiai jellemzők összefüggései

A miRNS expresszió és a betegek klinikopatológiai jellemzőinek összevetésekor az esetleges korrelációt 2x2 kontingencia táblázatokkal vizsgáltuk. Ehhez a vizsgált paramétereket (életkor, nem, etiológia, tumor szám, tumor méret, ECOG státusz, AFP szint) dichotomizáltuk. A betegeket továbbá a miRNS expresszió alapján az adott miRNS-t „magasan expresszáló (high)” illetve „alacsonyán expresszáló (low)” csoportokba osztottuk, az adott miRNS relatív expressziós értékeinek mediánját véve viszonyítási pontnak. Ezek alapján szignifikáns korrelációt két miRNS esetében találtunk.

A magas miR-214 expresszió gyakrabban társult kisebb tumormérettel (≤ 5 cm) (80% vs 20%, $p=0,019$, Fisher egzakt teszt). A magas miR-17-5p expresszió pedig a jobb ECOG teljesítőképességi státusszal rendelkező betegek esetében volt gyakoribb (77% vs 0%, $p=0,003$, Fisher egzakt teszt). A többi vizsgált miRNS nem mutatott összefüggést a klinikopatológiai paraméterekkel.

4.1.3 - A sorafenibbel kezelt betegek utánkövetése

A húsz, sorafenibbel kezelt HCC-s betegből a vizsgálatunk lezárásának időpontjáig 15 halálozott el (75%) a betegség progressziójának köszönhetően. A teljes betegcsoportban a medián teljes túlélés (overall survival, OS) 6,2 hónap (95% konfidencia intervallum (CI): 2,7 – 9,3 hónap) volt, míg a progressziómentes túlélés (progression-free survival, PFS) 5 hónapnak (95% CI: 3,5 – 6,5 hónap) bizonyult.

A vizsgált miRNS-ek közül a miR-224 esetében találtunk szignifikáns összefüggést a túléléssel. A kezelés előtt magas, illetve alacsony miR-224 szinteket mutató csoportok között a mediánok expressziós különbsége több mint 20-szorosnak mutatkozott (21,7x), jelezve a miR-224 jelentős felülregulálódását ezen tumorokban. Azon betegek, akik tumorában magas, azaz a medián fölötti kezelés előtti miR-224 expressziót találtunk, szignifikánsan hosszabb teljes túléléssel rendelkeztek a miR-224-et alacsonyan, azaz a medián alatt expresszáló esetekhez viszonyítva ($p=0,012$ log-rank teszt). A medián OS a „magas miR-224” csoportban 39,7 hónapnak, míg az „alacsony miR-224” csoportban 5,7 hónapnak adódott. A kockázati arány (hazard ratio, HR) 0,24 [95% CI: 0,07 – 0,79] volt. Progressziómentes túlélés szempontjából hasonló eredményt kaptunk: a miR-224-et magasan expresszáló csoportban szignifikánsan hosszabb volt a progresszióig eltelt idő ($p=0,029$ log-rank teszt). A medián PFS „magas miR-224” csoportban 13 hónapnak, míg az „alacsony miR-224” csoportban 4,5 hónapnak adódott, a HR 0,28-nak bizonyult [95% CI: 0,09 – 0,92].

4.2 - Reszekált HCC esetek claudin expressziós vizsgálata

4.2.1 - Claudin-1 – Emelkedett expresszió cirrózisban és HCC-ben

Immunhisztokémiával a claudin-1 pozitivitás minden esetben a sejtek membránjában jelent meg. A normál és tumor környéki nem cirrotikus májszövetben az epeutak erős, míg a májsejtek gyenge-közepes, apikális, lineáris pozitivitást mutattak. Ezzel szemben cirrózisban a festődés gyakran a májsejtek teljes kerületén, változó intenzitással jelentkezett. Ez a jelenség különösen a cirrotikus göbök széli részein volt kifejezett. Hét cirrotikus esetben továbbá intenzív membránfestődés volt megfigyelhető diszplasztikus fókuszokban is. A HCC-k a cirrózisban látottakhoz hasonló mintázatot mutattak, közepes-erős immunreakciót adva.

Az immunreakciók kvantitatív, területszázalékos mérése alapján a claudin-1 szignifikánsan magasabb expressziót mutatott cSL-ben az ncSL-hez képest. A HCC-k összességében szintén magasabb kifejeződéssel bírtak normál és nem-cirrotikus májhoz képest, azonban ez csak a cirrotikus HCC-k esetében bizonyult szignifikánsnak. A cHCC ugyanis még a cSL-nél is magasabb claudin-1 expressziót mutatott, szignifikánsan magasabbat, mint az ncHCC. Habár az epeút-proliferáció nagyban hozzájárult a cSL-ben mért magas claudin-1 területszázalékokhoz, a cirrózissal járó claudin-1 felülszabályozódás az epeúti pozitívítás nélkül is szignifikáns maradt, mutatva a májsejtek érintettségét.

4.2.2 - Claudin-7 – Emelkedett expresszió cirrózisban és HCC-ben

A claudin-7 erős, membranózus epeúti és gyenge májsejt immunreakciót adott nem cirrotikus májszövetben. Cirrotikus májparenchymában a májsejtek közepes-erős pozitivitást mutattak, a festődés kifejezettebb volt diszplasztikus fókuszokban. HCC-ben a

tumorsejtek szintén közepes intenzitású festődést mutattak, mely kifejezetten jelentkezett a pseudoacináris struktúrákban.

Morfometriával a májsejtek claudin-7 expressziója szignifikánsan magasabbnak bizonyult cSL-ben, NL-hez és ncSL-hez viszonyítva. A cHCC szintén szignifikánsan emelkedett értékeket mutatott NL és ncSL májsejt-expressziójához képest (tehát epeúti pozitivitás nélkül), viszont az expresszió nem érte el a cSL-ben látottakat.

4.2.3 - Claudin-2 – Csökkent expresszió HCC-ben

A claudin-2 immunhisztokémiailag a szokásos lineáris claudinfestődéssel szemben, granuláris, perimembránózus megjelenést mutatott a sejtekben. Szignifikáns eltérés nem volt kimutatható a nem tumoros szövetek között, míg a claudin-2 szórványos megjelenéssel, szignifikánsan alacsonyabb expressziót mutatott a tumoros mintákban.

4.2.4 - Claudin-3 – Változatlan expresszió cirrózisban és HCC-ben

A claudin-3 nagyon gyenge membránózus immunreakciót adott mind cirrotikus, mind nem cirrotikus májsejteken, míg az epeúti hám erősebben festődött. A HCC sejteken is csak gyenge, lineáris membránpozitivitás mutatkozott. Kvantitatív morfológiai vizsgálattal nem mutatkozott szignifikáns különbség a vizsgált csoportok között.

4.2.5 - Claudin-4 – Expressziója az epeutakra és egy HCC altípusra korlátozódik

Immunhisztokémiai festéssel claudin-4 pozitivitás nem jelentkezett normál vagy cirrotikus májsejteken, erős, membránózus reakció volt viszont megfigyelhető az epeúti hámsejtekben, erősebb festődéssel a lúminális pólusokon. A vizsgált tumoros minták nagy része egyáltalán nem adott pozitív immunreakciót, mindösszesen 4/30 esetben volt némi festődés látható a tumorsejtek alkotta

pszeudoacinusok apikális pólusán, tehát a claudin-4 kifejeződés a HCC pszeudoglanduláris szövettani altípusára korlátozódott.

4.2.6 - A HCV hatása a vizsgált claudinok expressziójára

A kapott claudin-1 és claudin-7 morfometriai eredményeket HCV státusz szerint is vizsgáltuk mind a nem tumoros, mind a tumoros csoportokban. Érdekes módon a HCV pozitív nem tumoros minták némiképp emelkedett májsejt claudin-1 expressziót mutattak a HCV negatív mintákhoz képest, a különbség azonban nem bizonyult szignifikánsnak. Szignifikáns különbségként a HCV pozitív ncSL minták emelkedett claudin-7 expressziója mutatkozott a HCV negatív ncSL mintákhoz képest. Fontos azonban megjegyezni, hogy míg a HCV pozitív minták mind fibrózissal társultak, addig a HCV negatív mintákban nem volt jelen fibrózis, mely magyarázhatja az észlelt különbséget.

4.2.7- Az immunreakciók specifikitásának ellenőrzése Western blottal

A Western blot technikát a cirrózisban és HCC-ben immunhisztokémiai vizsgálattal igazolt megváltozott claudin festődés specifikitásának ellenőrzésére, az expressziós különbségek megerősítésére használtuk. A mintákban specifikus immunreaktív sávokat találtunk a claudinok mólsúlyának megfelelően, mely claudin-1, -2, -3, 4 és -7 esetében rendre 24, 25, 23, 22 és 24 kDa. A reprezentatív mintákon végzett Western blot vizsgálatok megerősítették a morfometriával kapott eredményeket. A claudin-1 és -7 expresszió fokozottabbnak bizonyult cirrózisban normál májhoz viszonyítva és a claudin-1 HCC-ben szintén kifejezett expressziót mutatott. A claudin-2 expresszió a cHCC-ben volt a legalacsonyabb, a claudin-3 és claudin-4 pedig nem mutatott különbséget a vizsgált csoportok között.

4.2.8 - Claudin expresszió összevetése HCC differenciáltsági fokkal és túlélési adatokkal

A HCC-k claudin kifejeződésének tumor differenciáltsági fok szerinti vizsgálatakor nem találtunk szignifikáns összefüggést a HCC differenciáltságával. Emellett azonban a claudin-1 expresszió szempontjából emelkedő tendencia mutatkozott a rosszabbul differenciált HCC-kben.

A harminc, reszekált HCC-s betegből a vizsgálatunk lezárásának időpontjáig 25 halálozott el a betegség progressiójának köszönhetően (83%). A teljes betegcsoportban a medián teljes túlélés (overall survival, OS) 33 hónap (95% CI: 18 – 48 hónap) volt. A betegeket a HCC-k claudin expresszió mediánja szerint osztottuk „claudin high” illetve „claudin low” csoportokba. Vizsgálatunkban nem találtunk szignifikáns összefüggést a HCC-k claudin expressziója és a betegek túlélése között.

5 - KÖVETKEZTETÉSEK

1. Elsőként igazoltuk sorafenibbel kezelt hepatocelluláris karcinómából vett kezelés előtti, diagnosztikus vékonytü aspirációs minták alkalmazhatóságát mikro-RNS expresszió vizsgálatában.
2. A sorafenib kezelés előtti magas miR-214 expresszió kisebb tumormérettel, míg a kezelés előtti magas miR-17-5p expresszió jobb ECOG klinikai teljesítőképességi státusszal társult.
3. Elsőként azonosítottuk a miR-224-et mint lehetséges prediktív faktort az előrehaladott hepatocelluláris karcinómában szenvedő betegek sorafenibre adott terápiás válaszkészségében: a sorafenib kezelés előtti magas miR-224 szint hosszabb teljes és progressziómentes túléléssel társult.
4. Kimutattuk, hogy a máj cirrotikus átalakulása emelkedett claudin-1 és claudin-7 kifejeződéssel társul a nem cirrotikus májszövettel összehasonlítva, mely fokozott expresszió a cirrotikus talajon kifejlődött hepatocelluláris karcinómákban is megmarad.
5. Hepatocelluláris karcinómában csökkent claudin-2 kifejeződést észleltünk, míg a claudin-4 expresszió az epeúti hámsejtekre, valamint a hepatocelluláris karcinómák pszeudoglanduláris altípusára korlátozódik.
6. Nem találtunk szignifikáns összefüggést a hepatitisz C vírus (HCV) belépési kofaktora, a claudin-1 és a minták HCV fertőzöttségi státusza között, ugyanakkor a cirrózisban észlelt fokozott claudin-1 expresszió elősegítheti a vírus májsejtekbe jutását, fokozhatja a reinfekciót és egyben hozzájárulhat a malignus transzformációhoz.

7. Nem észleltünk szignifikáns összefüggést a HCC-k claudin expressziója és a tumor differenciáltsági fok, valamint a betegek túlélése között, azonban a claudin-1 kifejeződés emelkedő tendenciát mutatott rosszabbul differenciált HCC-kben.

6 - SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

Gyöngyösi B, Végh É, Járay B, Székely E, Fassan M, Bodoky G, Schaff Z, Kiss A. (2014) Pretreatment microRNA level and outcome of sorafenib-treated hepatocellular carcinoma. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 62:(8) pp. 547-555.

Holczbauer Á*, **Gyöngyösi B***, Lotz G, Törzsök P, Kaposi-Novák P, Szijártó A, Tátrai P, Kupcsulik P, Schaff Z, Kiss A. (2014) Increased expression of claudin-1 and claudin-7 in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Pathology & Oncology Research* 20:(3) pp. 493-502. *megosztott első szerzők

Az értekezés témájától független közlemények:

Bukong TN, Iracheta-Vellve A, Saha B, Ambade A, Satishchandran A, **Gyongyosi B**, Lowe P, Catalano D, Kodys K, Szabo G. (2016) Inhibition of Spleen Tyrosine Kinase activation ameliorates inflammation, cell death, and steatosis in alcoholic liver disease. *Hepatology* 64:(4) pp. 1057-1071.

Bukong TN, Iracheta-Vellve A, **Gyongyosi B**, Ambade A, Catalano D, Kodys K, Szabo G. (2016) Therapeutic benefits of Spleen Tyrosine Kinase inhibitor administration on binge drinking-induced alcoholic liver injury, steatosis, and inflammation in mice. *Alcoholism Clinical and Experimental Research* 40:(7) pp. 1524-1530.

Ambade A, Satishchandran A, **Gyongyosi B**, Lowe P, Szabo G. (2016) Adult mouse model of early hepatocellular carcinoma promoted by alcoholic liver disease. *World Journal of Gastroenterology* 22:(16) pp. 4091-4108.

Iracheta-Vellve A, Petrasek J, Satishchandran A, **Gyongyosi B**, Saha B, Kodys K, Fitzgerald KA, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2015) Inhibition of sterile danger signals, uric acid and ATP, prevents inflammasome activation and protects from alcoholic steatohepatitis in mice. *Journal of Hepatology* 63:(5) pp. 1147-1155.

Schlachter K, Gyugos M, Halász J, Lendvai G, Baghy K, Garami M, **Gyöngyösi B**, Schaff Z, Kiss A. (2014) High tricellulin expression is associated with better survival In human hepatoblastoma. *Histopathology* 65:(5) pp. 631-641.

Zinner B, **Gyöngyösi B**, Babarczy E, Kiss A, Sobel G. (2013) Claudin 1 expression characterizes human uterine cervical reserve cells. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 61:(12) pp. 880-888.

Holczbauer Á*, **Gyöngyösi B***, Lotz G, Szijártó A, Kupcsulik P, Schaff Z, Kiss A. (2013) Distinct claudin expression profiles of hepatocellular carcinoma and metastatic colorectal and pancreatic carcinomas. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 61:(4) pp. 294-305.
*megosztott első szerzők

Straub BK, **Gyoengyoesi B**, Koenig M, Hashani M, Pawella LM, Herpel E, Mueller W, Macher-Goeppinger S, Heid H, Schirmacher P. (2013) Adipophilin/perilipin-2 as a lipid droplet-specific marker for metabolically active cells and diseases associated with metabolic dysregulation. *Histopathology* 62:(4) pp. 617-631.

