

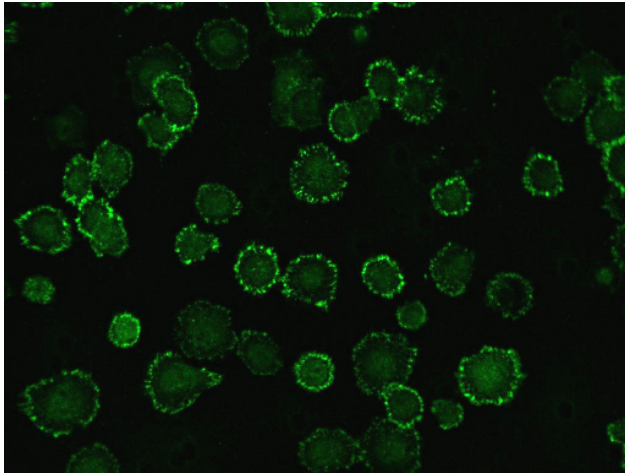
A rosszindulatú daganatok metasztatizálásában kitüntetett szerepe van a sejtek mozgási képességének. A tumorok beereződése után egyes sejtek leválnak a tumorszövetről, és lokális invázió után a keringésbe kerülnek. Innen a célszervben kitapadnak, ahol a másodlagos daganatot formálják. A metasztatikus kaszkád folyamatának sikeres végrehajtásához a tumorok beereződésén felül elengedhetetlen a tumorsejtek letapadási-, mátrixbontó- és migrációs képessége. Korábbi megfigyeléseinkből kiindulva jelen pályázatunk célkitűzései között szerepelt a különböző eredetű tumorsejtek mozgási sajátosságaink morfológiai összehasonlítása két- és háromdimenziós *in vitro* modellrendszerekben, valamint a motilitási szignál egyes elemeinek feltérképezése és lehetséges befolyásolása.

A különböző eredetű humán daganatsejtek mozgásának morfológiai sajátosságainak vizsgálati keretében Boyden-kamrában migrációs és adhéziós kísérletekben meghatároztuk azokat az extracelluláris-mátrix (ECM) fehérjéket (fibronektin, kollagén I, laminin, Matrigel), amelyeket a tumorsejtek preferálnak kitapadási, illetve migrációs felületként. Megállapítottuk, hogy a korábban megismert humán fibrosarcoma sejthez képest (HT1080) humán laphámrák sejtek (A431), valamint humán colon carcinoma sejtek (HT25, HT29) *in vitro* jelentősen lassabban mozognak. Ezek a sejtek még 24 órás tesztekben sem képesek olyan migrációs választ adni Boyden-kamrában, mint a HT1080 sejtek 1 óra alatt. Humán melanoma sejtek (HT168-M1) mozgásának sebessége a fenti sejtekhez képest közepesnek mondható, 6 órás migrációs tesztben mutatnak olyan migrációs választ, mint a fibrosarcoma sejtek. Ezek alapján a laphámrák-colorectális rák<melanóma<fibrosarcoma sorrend valószínűsíthető.

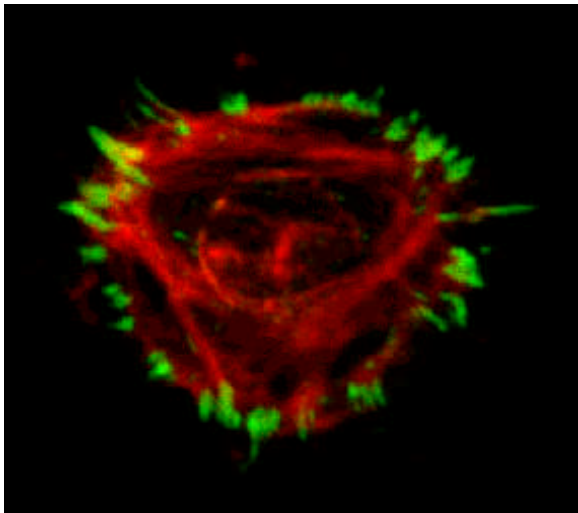
Kimutattuk, hogy a tumorsejtek nem egyformán preferálják az egyes ECM fehérjéket a letapadásuk és migrációjuk során. Humán melanóma, valamint a laphámrák sejtek (ugyan jelentősen kisebb mértékben) a fibrosarcomához hasonlóan tapadnak fibronektinre és kollagéntre, amelyek nagyfokú migrációs választ is kiváltanak. A colon carcinoma sejtek ezzel szemben nem adtak migrációs választ fibronektinre, csak kollagéntre, míg egyes típusaik még bazális membránra (Matrigel) is jól migráltak. A fibrosarcoma vonallal kapott korábbi eredmények és a mostani kísérleteink alapján kezdtük meg a különböző tumorsejtek *in vitro* 2 dimenziós mozgásának feltérképezését ECM proteineken kontroll és GFP-vinkulinnal transzfektált sejtekkel. Ezekben a vizsgálatokban megállapítottuk, hogy a fibrosarcoma sejtek esetében korábban leírt alak a kétdimenziós síkon történő migráció során több más sejtvonal esetében is megfigyelhető. A humán melanóma esetében sikerült videó mikroszkópia segítségével megörökítenünk, amikor a sejtek kollagén felszínen a fent leírt alakot fenntartva vándoroltak. Igaz, ez a mozgás sokkal lassabb, mint a fibrosarcoma esetében, de az alakból arra következtethetünk, hogy az általunk leírt mozgásforma (és mechanizmus) általánosabb érvényű lehet (1).

A korábbi kétdimenziós migrációs modellvizsgálatainkat kiterjesztettük háromdimenziós rendszerre. Az aktin-filamentum rendszer és a letapadási pontok elrendeződését, valamint az intermedier filamentum (vimentin) és a mikrotubulus rendszer (tubulin) migráció alatti elhelyezkedését háromdimenziós rendszerben konfokális és elektronmikroszkópos technikákkal vizsgáltuk HT1080 humán fibrosarcoma, HT168-M1 humán melanóma és A431 humán laphámrák sejtekkel. A kétdimenziós rendszerekhez hasonlóan, a Boyden-kamra pórusán (8 μm) áthaladó fibrosarcoma sejtek esetén is, kizárólag a vezető élen, a pórus átmérőjének mentén figyeltünk meg letapadási pontokat (1. ábra). A vinkulint tartalmazó adhéziónok egy sorban jelentek meg, gyűrűként rajzolódtak ki. A póruson történő átjutást követően egy letapadási folyamat indult meg, amelyet az adhéziónok gyűrűjének kiterjedése jelzett. Az aktinszálak a letapadási pontokhoz kapcsolódtak maradtak, a pórus belsejében csak a plazmamembrán alatt voltak megtalálhatóak, a migráció ideje, és a kiterjedés folyamata alatt is (2. ábra). A membrán túloldalán jelentkező letapadási folyamat kiterjedésével az aktinívok hossza, és a letapadási pontokból álló gyűrű mérete is fokozatosan nőtt.

1. ábra. Adhéziók megjelenése 3D migrációs modellben. Zöld: vinkulin az adhéziókban.

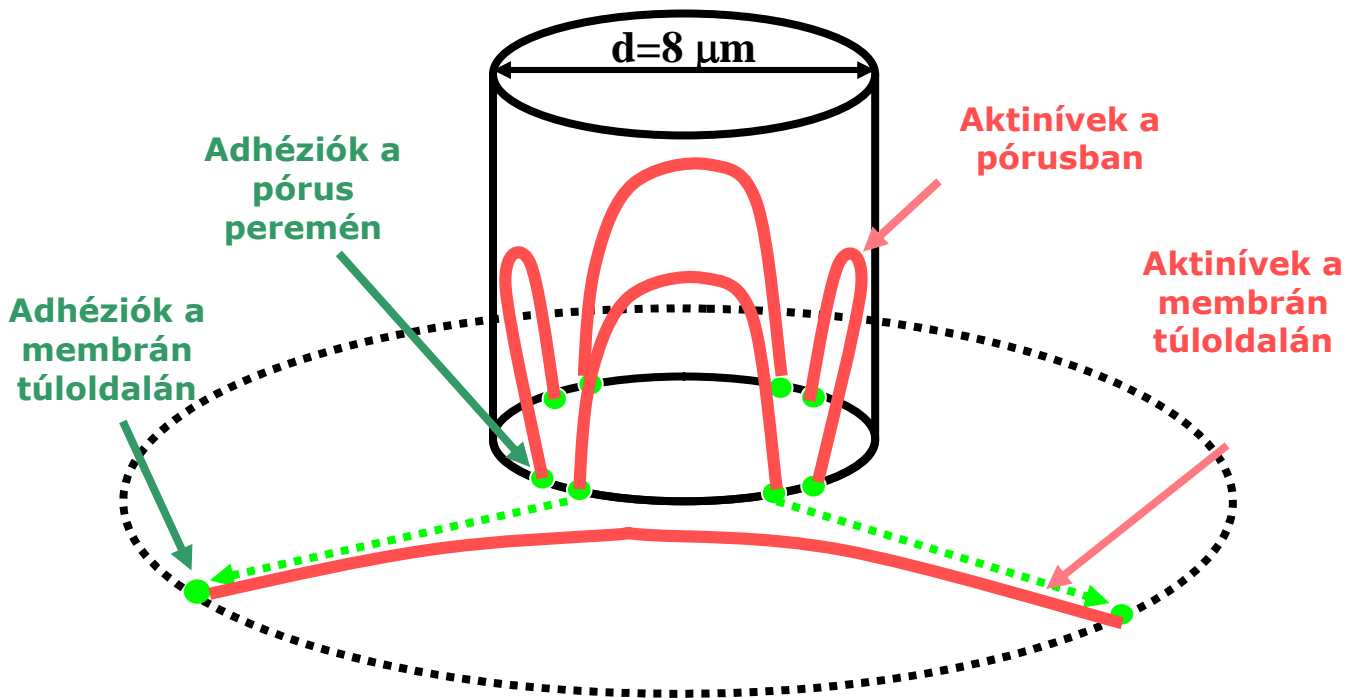


2. ábra Boyden kamra membránján átjutó HT1080 fibrosarcoma sejt immunfluoreszcens képe. Piros: aktin-filamentumok, zöld: vinkulin molekulák az adhéziókban.



Az egyéb morfológiai vizsgálatok eredményeinek összegzésével megállapítottuk, hogy a kétdimenziós modellnek megfelelően mozognak az adhéziós pontok és a mikrofilamentum rendszer elemei. Háromdimenzióban az aktin szálak a letapadási pontokhoz kapcsolódtak maradtak, a pórus belsejében csak a plazmamembrán alatt voltak megtalálhatók, a migráció ideje, és a kiterülés folyamata alatt is (3. ábra). A póruson keresztüli migráció után a sejtek újból kiterültek, a folyamat a már korábban jól jellemzett 2D rendszernek megfelelően zajlik.

3. ábra: HT1080 tumorsejtek mozgásának 3D modellje.

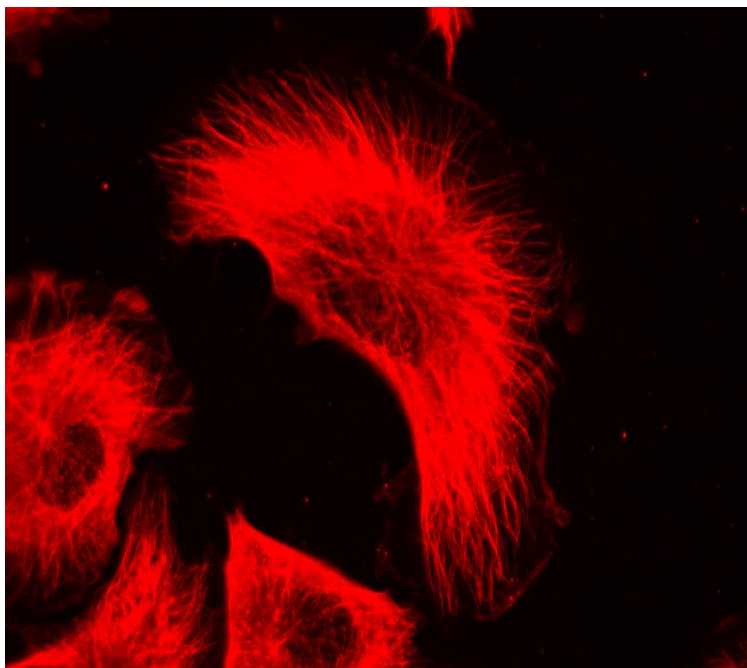


A sejtek alakjának kialakításában és a mozgási folyamataiban a mikrofilamentum-rendszeren kívül a mikrotubulus- és az intermedier filamentum-rendszer is aktívan részt vesznek. Ezért további morfológiai munkáinkban kettős immuofluoreszcens jelölési technikákkal megvizsgáltuk az aktin-kötegek és egyéb citoszkeleton elemek együttes elhelyezkedését is a tumorsejtek 3D migrációja alatt.

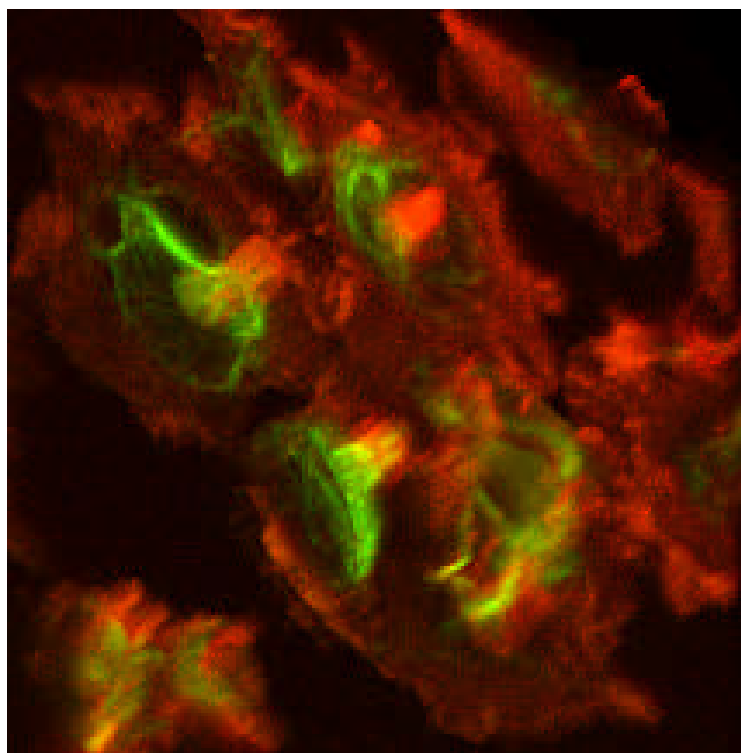
Megállapítottuk, hogy az aktin-filamentumok és a mikrotubulusok szorosan együtt haladtak a sejtmozgás alatt. A mikrofilamentum- és a mikrotubulus-rendszer szoros kapcsoltságára számos magyarázat látott napvilágot. Mindkét citoszkeletonális elem intenzív dinamikával rendelkezik. A sejt polaritásának kialakításában, a sejt alakjának módosításában feltehetően kooperatívan vesznek részt. A mikrotubulusok növekvő (+) végükkel a centroszómából a plazmamembrán felé nyúlnak. Általánosan elfogadott nézet szerint, a mikrotubulusok a sejt peremén található fokális adhéziókba futnak. 2D migráció során tubulin jelöléssel azt találtuk, hogy a mikrotubulusok a mozgó tumorsejtekben valóban a félkör alakú vezető él felé irányultak. A sejt széléig kizárólag a sejt hátsó részének két oldalán futottak ki (4. ábra). Szerepük valószínűleg a már szükségtelen adhéziók végső felszedésében, megszüntetésében áll.

Az intermedier filamentumok képviselőjeként a vimentin szerepét vizsgáltuk a rendszer háromdimenziós elrendeződésében. A mikrotubulussal ellentétben a vimentin valószínűleg az aktinhoz kötött, viszont a vezető él és a mikrofilamentumok frontja mögött, jól elkülöníthetően haladt a migráció során a sejtmaggal. A felvétel konfokális mikroszkóppal HT1080 sejtekről készült, a felszeletelt síkokat egymásra vetítettük, és 45° dőlésszögben vizsgáltuk. A póruson áthaladó sejtek vezető élén aktint találtuk, melyet tőle kissé elkülönülten a pórusba nyúló vimentin-szálak követtek, körbefonva a sejtmagot, feltehetően annak áthúzásában segédkezve (5. ábra).

4. ábra. Mikrotubulus-rendszer migráló fibrosarcoma tumorsejtekben.



5. ábra Vimentin (zöld) és aktinszálak (piros) helyzete 3D migráció során.



A morfológiai vizsgálataink eredményeiről készített publikációnk bírálókat alatt van.

A pályázat további terveinek megfelelően megvizsgáltuk bizonyos jelátviteli útvonalak és a sejtvázrendszer organizációjában fontos jelpályák lehetséges szerepét a daganatsejtek (elsősorban melanóma) migrációjának befolyásolásában.

Megállapítottuk, hogy a mikrotubulus-rendszer működésének egyik gátlószere, a metoxiösztradiol nem befolyásolja jelentősen a HT168-M1 humán melanómasejtek in vitro migrációs képességét (2), miközben nagyfokú apoptosist indukált. Ez az eredmény magyarázható a melanoma sejtek mikrotubulus-rendszerének kisfokú kifejeződésével, amely talán az in vitro lassabb mozgási képességük egyik lehetséges magyarázatát is adja.

A tirozinkináz-aktivitással rendelkező növekedési faktor-receptorok alapvető szerepet játszanak a sejtfunkciók szabályozásában, köztük a motilitás befolyásolásában. Ezen jelpályák genetikai és/vagy funkcionális abnormalitása kóros működést eredményez. Az elsőként felfedezett tirozinkináz-receptor az epidermális növekedési faktor receptora (EGFR, erb-B1, HER-1), mely több ismert tumor esetében mutat kóros aktivációt (glioblastoma, nem-kis-sejtes tüdőrák, fej-nyak régió laphámrákjai). Emiatt az EGF-receptor a daganatellenes terápia új célpontja lett.

A receptorokon történő daganatellenes terápiák két fő csoportra oszthatók: a receptor vagy liganduma ellenes antitestek, illetve a jelátviteli folyamat gátlószerei. Az utóbbiak legelterjedtebb képviselői a tirozin-kináz gátlók, amelyek a jelpálya szubsztrátszintű gátlása során kompetitív módon akadályozza az ATP-t a receptor ATP-kötő zsebéhez való kapcsolódásban, melynek eredményeképp elmarad a keresztfoszforiláció, ezen túlmenően pedig az aktivációs szignál.

Korábbi sporadikus eredmények alapján többször felmerült a lehetősége annak, hogy a melanómák EGFR-t expresszálnának, azonban a kellően mély molekuláris vizsgálatok ezt nem tudták meggyőzően igazolni. Munkánk során humán melanóma sejtvonalakon vizsgáltuk az EGF-receptor expresszióját, valamint felderítettük a szignál transzdukció gátlásának lehetséges biológiai hatásait a tumorprogresszió szempontjából.

PCR vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a vad típusú pozitív kontrollhoz (A431, EGFR amplifikált sejtvonala) hasonló mRNS expressziós mintázatot a 9 vizsgált melanóma vonal közül csak az M24met és a WM983A mutat, míg 2 sejtvonala negatívnak bizonyult. Ugyanakkor 5 humán melanóma vonalban az EGFR domének ún. alternatív bendekezt tartalmazznak. Ha a HT199 EGF-receptor expresszióját vesszük egységnyinek, akkor a vad típusú EGFR-t kifejező M24 négy nagyságrenddel többet expresszál, mint a HT199, de erős expresszió jellemzi a WM983 vonalakat és az M35-öt, ennél gyengébb az A2058 család (3).

Flow cytométeres vizsgálatainkban az EGF receptor intra- ill. extracelluláris doménjét felismerő antitesteket használtunk. Az M24met sejtvonala 95%-ban expresszálta EGF extracelluláris domént, míg a többi sejtünk gyakorlatilag negatívnak bizonyult. Az EGF receptor intracelluláris doménjét azonban minden sejt típus expresszálta, bár az expresszió mértéke az egyes melanóma típusokban széles határok között mozgott (10-80%; Ref: 3).

Immunfluoreszcencia vizsgálattal megerősítettük az áramlási cytométeres eredményeinket, mely szerint minden sejt vonalunk pozitívnak bizonyult az EGF-receptor intracelluláris doménjére adherens állapotban is. Foszfospecifikus antitestekkel (EGFR-pY1068 és EGFR-pY1086) végzett vizsgálataink szerint az emberi melanóma tenyészetekben a receptorok konstitutívan aktíváltak. (3).

Proliferációs kísérleteink eredményei alapján megállapítható, hogy a ZD1839 (gefitinib, EGFR TK inhibitor) valamennyi emberi melanóma sejt vonalunkon minden dózisban hatásosabbnak bizonyult ($IC_{50} \approx 5-10 \mu M$), mint egy kísérleti gátlószert, a PD153035 ($IC_{50} \approx 8-15 \mu M$). Ezzel szemben egy másik EGFR TK gátlószert, az OSI-774 (erlotinib) kezeléssel szemben sejtjeink nagyfokú rezisztenciát mutattak ($IC_{50} > 100 \mu M$).

Az áramlásos cytométerrel végzett apoptózis vizsgálat szerint 5%-ot meghaladó apoptózis a legalacsonyabb ZD1839 kezeléssel 5 μM -os dózisban 2 sejt vonalban volt tapasztalható (HT168 és WM983A), míg magasabb koncentrációnál 10% feletti apoptózis ráta a HT168 családban (A2058, HT168 és M1) valamint a WM családban volt észlelhető, mely utóbbi bizonyult a legérzékenyebbnek ebből a szempontból. A PD153035 kezelés jóval kisebb

mértékben indukált apoptózist: 5 μ M-os dózisban 5% alatt, míg magasabb dózisokban 10% körüli volt ez az érték. Megjegyzendő, hogy a vad típusú EGFR-t expresszáló M24met melanóma vonal bizonyult a legrezisztensebbnek a TK gátló hatásra.

Módosított Boyden-kamrás technikával kimutattuk, hogy a humán melanóma sejteken (HT168M1, WM983B) a ZD1839-előkezelés gátolja a sejt migrációt. A szimultán kezelésnél inkább a sejtpusztító hatás kerül előtérbe, így valódi migrációgátlásról nem beszélhetünk.

SCID egér xenograft lép-máj modellben az intraperitoneálisan 3 héten keresztül naponta adott ZD1839 már 0,2 mg/kg gátolta a humán melanóma áttétképzését, a primer tumorra nem hatott, erősítve azon elképzelésünket, hogy a melanóma EGFR a progreszióban játszik fontos szerepet (3-4).

Munkacsoportunk korábbi eredményei alapján felmerült a lehetősége annak, hogy melanómás megbetegedések során egy másik tirozin-kináz aktivitású receptor, a hepatocita növekedési faktor (HGF) receptora, a c-Met is biológiai jelentőséggel bír. RT-PCR segítségével meghatároztuk a c-Met molekula intra- és extracelluláris doménjének jelenlétét humán melanóma sejtvonalainkon. Funkcionális in vitro vizsgálataink során több c-Met gátlószer (EKB-569, SU11272) hatását vizsgáltuk a sejtek túlélésére és migrációs képességére. Áramlásos cytométeres módszerrel és western-blot analízissel megvizsgáltuk a kezelések hatását a c-Met foszforilációra és megállapítottuk, hogy a szerek (különösen a specifikusabb SU11272) csökkentik a c-Met-molekulán a tirozin-foszforiláció mértékét. Ezután a tirozin-foszforiláció gátlásának biológiai hatását (proliferáció, apoptózis, migráció) 4 féle humán melanóma (HT168-M1, M24met, HT199, WM983B) és az A431 laphámcarcinóma sejtvonalon vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy az EKB-569, összehasonlítva más TK-gátlókkal (amelyek legnagyobb mértékben az EGFR-t gátolják, mint pl. Tarceva, Iressa, SU5416) igen hatásosan gátolta a sejtek proliferációját, és fokozta azok apoptózisát. Ezen felül a c-Met TK aktivitásának gátlása jelentősen csökkentette a sejtek migrációs képességet is. Azonban az SU11272, amely specifikus c-met gátló, még az előzőeknél is hatásosabbak bizonyult mind az apoptózis fokozásában, mind a migráció gátlásban. Az in vitro vizsgálatokat in vivo lép-máj modellel egészítettük ki. Ebben a rendszerben a tumorsejteket az állatok épbe juttatjuk, és megfelelő idő után a kialakult májkolóniák számát határozzuk meg. Megállapítottuk, hogy c-Met gátlása csökkenti a humán melanóma sejtek májba való kolonizációs készségét. Mindezen eredményeink alapján felmerül, hogy az emberi melanómában a c-Met terápiás célpontként szolgálhat (5), akár önállóan, akár az EGFR-el kombinálva. Az ilyen duális vagy akár még több tirozin-kinázra ható gátlószer fejlesztése a mai kutatások egyik kifejezett célpontja. A melanómasejtek migrációjának befolyásolhatósága a tirozin-kináz gátlókkal témakörben kapott eredményeinkről egy publikáció bírálat alatt, egy pedig előkészítés alatt áll.

A tumorsejtek motilitásában elengedhetetlen szerepe van a sejt felszíni adhéziós molekuláknak, amelyek a sejtek és az extracelluláris-mátrix közti kapcsolat megteremtésén felül az azokról induló intracelluláris szignálokkal egyéb sejt funkciók szabályozásában is részt vesznek. Korábbi eredményeinkből kiindulva vizsgáltuk a β 3-integrin szerepét melanómák áttétképzésében. Megállapítottuk, hogy a B16a egér melanóma sejtek által ektopiásan expresszált α IIb β 3-integrin ellenes antitest (PAC-1) csökkenti a sejtek in vitro proliferációját, migrációját, valamint az in vivo tüdő-kolonizációs képességét. (6). Ez a preklinikai megfigyelés megerősíti azt a feltételezést, hogy az ektopiásan expresszálandó integrinek hatásos terápiás célpontok lehetnek új típusú daganatellenes szerek fejlesztésekor.

Miután a sejtmozgás mindig matrix-felületen történik, a kooperáló adhéziós molekuláknak döntő szerepe van a folyamat szabályozásában. Azonban újabb kutatási eredmények azt mutatják, hogy az adhézióért felelős legjelentősebb molekulacsalád, az

integrinek gátlása nem elégséges a tumorsejtek migrációjának blokkolásához. Ugyanakkor tudjuk, hogy a daganatsejtek számos más, heparánszulfát-láncot tartalmazó adhéziós molekulát is expresszálnak. Vizsgálatainkban kimutattuk, hogy HT168-M1 humán melanómákban a CD44 v3 exont tartalmazó splice variánsai (egy sejtfelszíni heparánszulfát-prpteoglikán) elleni aktiváló antitest fokozza a melanóma motilitását, ugyanakkor a heparinnak, illetve alacsony molekulásúlyú változatának (LMWH) migráció- és inváziógátló hatásuk van a melanóma sejteken, s ennek megfelelően csökkentik a tumorsejtek in vivo metasztatizáló képességét is (7-9). Kooperációs partnerünk segítségével jelenleg még kisebb oligoszacharidok hatását teszteljük. Megállapítottuk, hogy az oligoszacharidoknak a disszacharid egységek számának csökkenésével gyakorlatilag megszűnik a koagulációra gyakorolt hatása, azonban az in vitro proliferációs és módosított Boyden-kamrás migrációs kísérletek során különböző hatást tapasztaltunk az egyes esetekben. A legtöbb oligoszacharid (dp 4, 6, 10, 12, 14, 16, 20) gátolta a migrációt, ugyanakkor nem befolyásolta a proliferációt. Volt olyan oligoszacharid (dp18), amely mind a migrációra, mind a proliferációra gátló hatást fejtett ki, ugyanakkor a dp22, egyikre sem gyakorolt hatást. Ezután kiválasztottunk a csoportokból 1-1 oligoszacharidot, amelyeket leteszteltünk tüdő kolonizációs modellben. In vivo nőstény SCID egereket intraperitoneálisan kezeltük a kiválasztott oligoszacharidokkal (dp4, dp18, dp22) az LMWH klinikai alkalmazásának megfelelő dózissal (dp4: 640 µg/kg, dp18, dp22: 1,4 mg/kg). Kezelés összesen három alkalommal történt, az oltás előtti napon, aznap és az azt követő napon. Eredményeink azt mutatják, hogy mind a két, in vitro migrációgátlónak bizonyult oligoszacharid (dp4 és dp18) szignifikánsan lecsökkentette a tüdőkolóniák számát a kontrollhoz képest, míg az in vitro hatástalan dp22 in vivo sem gátolta a melanóma sejtek kolonizációs képességét. Következtetésként megállapíthatjuk, hogy a migrációt gátló oligoszacharidok in vivo kolonizáció gátló hatással is rendelkeznek, mégpedig abban a dózistartományban, ahol az antikoaguláns hatásuk még nem jelentkezik (10). A lehetséges hatásmechanizmus feltérképezéséhez kollaborációs partnereink segítségével izolált enzim kivonaton, és sejtes rendszerekben vizsgáljuk két, a motilitás szabályozásában kulcsfontosságú molekula, a miozin-foszfátáz, és a LIM-kináz szerepét, esetleges befolyásolhatóságát az oligoszacharidokkal. Munkánk ezen részéről a kéziratot most készítjük.

A mozgási folyamatok szabályozásában, különösen a citoskeletális komponensek térbeli organizációjában igen fontos szerepe van a kalcium-ionnak. Több jelátviteli molekula (pl. PKC) és motorfunkcióval bíró fehérje (miozin) működéséhez is szükséges a Ca^{2+} megfelelő mennyisége, és a sejten belüli eloszlása fontos jel a polaritás kialakulásában. Melanómákban több irodalmi adat említi a Ca^{2+} -csatornák szerepét a tumoros transzformációban, azonban ezek az eredmények gyakran ellentmondásosak. Genomikai vizsgálatainkban kimutattuk, hogy humán melanóma sejtekben és melanóma szöveti a ryanodin-receptor 2 (RyR2) overexpresszált és P2X7 csatorna is kifejeződik a melanómákban. Azonban míg a P2X7 valódi Ca^{2+} -csatornaként funkcionál, addig a RyR2 ezt a funkcióját nem tölti be a melanómákban, hanem inkább a P2X7 működésének szabályozásában vesz részt. Ez a furcsa kooperáció magyarázhatja, hogy a sejtmozgásra a Ca^{2+} -csatorna-blokkolók csak igen nagy koncentrációban hatottak, ugyanakkor befolyásolták a sejtek proliferációs képességét, valamint a RyR2 blokkolása az apoptosis-rezisztens melanóma sejtekben fokozta a programozott sejthalált (11).

Kooperációs kutatásaink során az érdeklődésünk terébe került a carbohidrát-kötő Gal-1 galektin, amelynek ellentmondásos szerepe van a tumorbiológiában. Tudjuk, hogy egyik regulátora az immunrendszernek a T-sejt homeosztázison keresztül, ugyanakkor megjelenése vagy túltermelődése a daganatokban vagy azok környékén negatív prognosztikus jel a

disszeminációban. Vizsgálatainkban megállapítottuk, hogy a csontvelői eredetű sejtek endothelsejteken történő in vitro migrációját szignifikánsan gátolja a Gal-1, míg a sejtek alapmigrációs képességére nem volt hatással (12). A jövőben tervezzük megvizsgálni, hogy tumorsejtek migrációjában milyen szerepet játszhat a Gal-1.

A lezárult ifjúsági kutatási pályázatunk eredményeiből megállapítható, hogy a daganatsejtek mozgásának megismerése fontos a metasztázisképzés sajátosságainak feltérképezésében. A mozgó sejtek adhézióinak és a citoszkeleton egyes elemei dinamikájának, valamint a mozgási válasz létrejöttének szabályozásában résztvevő molekuláknak és kapcsolataiknak feltérképezése újfajta terápiás célpontok azonosítására is alkalmas lehet.

1. **J. Tóvári**, S. Paku, E. Rásó, F. Tímár, L. Puskás, J. Timár: Mechanism of cell movement in metastatic human tumor cells. *Anticancer Res* 24 (5D): 3656, 2004. IF.: 1,347.

2. **Dobos J**, Tímár J, Bocsi J, Burián Z, Nagy K, Barna G, Peták I, Ladányi A. In vitro and in vivo antitumor effect of 2-methoxyestradiol on human melanoma. *Int J Cancer*. 112: 771-776. 2004. IF.: 4,42.

3. **István Kenessey, József Tóvári**, József Timár: Blocking of EGF receptor tyrosine kinase by ZD1839 (gefitinib) causes inhibition of cell proliferation and migration in human melanoma cell lines. 18th Meeting of the European Association For Cancer Research (EACR18), Innsbruck, Austria 2004.

4. **István Kenessey, József Tóvári**, Erzsébet Rásó, Zsófia Kramer and József Tímár: Blocking of EGF receptor tyrosine kinase causes inhibition of cell proliferation and migration in human melanoma cell lines. *Molecular Mechanisms in Signal Transduction and Cancer*, Island of Spetses, Greece, August 15 - 26, 2005

5. **Kenessey I, Tóvári J**, Rásó E, Ádám A, Kramer Zs, Timár J: Targeting EGFR and Met in human melanoma. 9th Meeting of the European Association For Cancer Research (EACR19), Budapest, July 1-4, 2006.

6. Raso E., **Tovari J**, Ladanyi A., **Varga N**, Timar J. Ligand-mimetic anti-alphaIIb beta3 antibody PAC-1 inhibits tyrosine signaling, proliferation and lung colonization of melanoma cells. *Pathol Oncol Res*. 11: 218-23. 2005. IF.: 1,241.

7. **Tóvári József**, Bereczky Báborka, Gilly Réka, Skopál Judit, Vágó Ágnes, Tímár József: Heparinkezelés hatása a melanóma áttétképzésére preklinikai modellben. *Magyar Onkológia* 48: 235-241. 2004.

8. Báborka Bereczky, Réka Gilly, Erzsébet Rásó, Ágnes Vágó, József Tímár and **József Tóvári**: Selective antimetastatic effect of heparins in preclinical human melanoma models is based on inhibition of migration and microvascular arrest. *Clin Exp Metast* 22: 69-76, 2005. IF.: 3,048

9. Tímár J, **Tóvári J**, Rásó E, Mészáros L, Bereczky B, Lapis K. Platelet-mimicry of cancer cells: epiphenomenon with clinical significance. *Oncology* 69: 185-201. 2005. IF.: 2,114.

10. Simon Erika, **Kenessey István**, Rásó Erzsébet, **Tóvári József**: Oligoszacharidok hatása humán melanoma progressziójára preklinikai modellben, 36. Membrán-Transzport konferencia, május 23-26. Sümeg, 2006

11. Deli T, **Varga N**, Adám A, Kenessey I, Rásó E, Puskás LG, **Tóvári J**, Fodor J, Fehér M, Szigeti GP, Csernoch L, Tímár J. Functional genomics of calcium channels in human melanoma cells. *Int J Cancer*. 121(1): 55-65. 2007. IF.: 4,693 .

12. Kiss J, Kunstar A, Fajka-Boja R, Dudics V, **Tovari J**, Legradi A, Monostori E, Uher F.: A novel anti-inflammatory function of human galectin-1: inhibition of hematopoietic progenitor cell mobilization. *Exp Hematol*. 35:305-13. 2007. IF.: 4,019.