

A Debreceni Orvostudományi Egyetem Bőr és Nemikórtani Klinika (igazgató: Hunyadi János dr., egyetemi tanár¹, a Biokémiai Intézet (igazgató: Fésüs László dr.², egyetemi tanár) és a Department of Pharmacology University of Texas, Medical School, Houston Texas közleménye³

Apoptózis és psoriasis Apoptosis and psoriasis

REMENYIK ÉVA DR.¹, THOMÁZY VILMOS DR.³, WIKONKÁL NORBERT DR.¹,
FÉSÜS LÁSZLÓ DR.², HORKAY IRÉN DR.¹

ÖSSZEFOGLALÁS

Az apoptózis a programozott sejthalál (PCD) morfológiai megnyilvánulása, melyet a sejtmag DNS-ének szabályos feldarabolódása jellemez. A folyamat egyik gyakori effektor fehérjéje a szöveti transzglutamináz (SZTG). A keratinocita differenciáció a PCD speciális formája, amely során a sejtek elvesztik magjukat, lipidekkel, keratinnal kitöltött burokká zárva a bőr külső kompakt rétegét alkotják. Psoriasisban differenciálódási zavar következtében a sejtmagvukat megtartó, könnyen lehámló pikkelyeket formáló korneociták jellemzőek. Szerzők psoriasisos és egészséges egyén bőrbioptíziás anyagait vizsgálták DNS végjelölés és immunoperoxidáz módszerrel SZTG elleni antitestet használva, azzal a céllal, hogy megállapítsák, vajon az apoptózis folyamata károsodott-e. A vizsgálatokat kiegészítették psoriasisos pikkelyből fenolklorofom módszerrel kivont DNS 1% agaróz gél elektroforézisével is. Psoriasisban a parakeratotikus és a szuprabazális réteg hozzá közel eső részében a sejtek DNS fragmentációt mutattak, míg a normál epidermiszben csak a granuláris rétegben volt néhány sejt pozitív. A psoriasisos hám minden élő rétege pozitívan festődött SZTG antitesttel, de a normál epidermiszben nem, vagy csak a bazális réteg halvány festődése volt kimutatható. Voltak sejtek, melyek SZTG expressziót mutattak, de DNS fragmentációt nem. Az eredmények arra utalnak, hogy psoriasisban az epidermális apoptosis károsodott.

Kulcsszavak:

**Immunoperoxidáz - TUNEL - psoriasis
- szöveti transzglutamináz - apoptózis**

SUMMARY

Apoptosis is the morphological manifestation of programmed cell death (PCD). Apoptosis is biochemically characterized by nucleosome-sized DNA fragmentation. One of the effector proteins of apoptosis is tissue transglutaminase (TTG). Keratinocyte differentiation is a special form of PCD, during which the cells lose their nuclei, form cornified envelopes filled with crosslinked proteins to constitute the outer compact layer of the epidermis. Impaired epidermal differentiation with nucleated scaling corneocytes is characteristic for psoriasis. In order to determine whether apoptosis is altered in psoriasis or not, we studied skin biopsies taken from psoriatic patients and healthy controls applying the DNA nick end labelling technique to detect chromatin fragmentation and immunoperoxidase labelling to characterize the expression of TTG. Chromatin fragmentations are confirmed by agarose gel electrophoresis of DNA extracted from psoriatic scales. Staining of cells undergoing nuclear fragmentation was detected in a wide zone of the abnormal parakeratotic and the adjacent suprabasal layer in psoriatic samples, whereas only in a few cells in the stratum granulosum of normal skin. The whole living layer of the psoriatic epidermis gave positive staining with TTG antibody but in normal epidermis there was only minimal basal staining or no staining at all. There were cells with TTG expression without DNA fragmentation. We conclude that impaired epidermal apoptosis may be involved in the pathogenesis of psoriasis.

Key words:

**immunoperoxidase - TUNEL - psoriasis
- tissue transglutaminase - apoptosis**

Bevezetés

Az apoptózis (18), a programozott sejthalál (angolul: programmed cell death) (PCD) morfológiai megnyilvánulásának leírására használt fogalom, bár sokszor a két elnevezést szinonimaként is alkalmazzák. A zsugorodással járó sejthalál aktív, energiát és többnyire fehérjeszintézist igénylő folyamat, amely meghatározott program szerint zajlik le (9). Ehhez szükséges információt a sejtek genetikai anyagukban tartalmazzák (2). A PCD-nek sejtípustól,

az egyedfejlődés idejétől függően három alapvető formája különíthető el. Egyik a morfogenezis alatt észlelt sejthalál, a másik a klasszikus értelemben vett apoptózis, a harmadik a PCD specializált formája. A klasszikus apoptózis a proliferációval ellentétes irányú folyamat és így azzal egyensúlyt tartva biztosítja a szövetek állandó, a szervezet igényeinek megfelelő tömegét (5). A specializált forma megjelölést arra az esetre alkalmazzák, amikor bizonyos szövetek sejtjei differenciálódásuk során elvesztik sejtmagvukat, azok meghatározott program szerint fel-

szívódnak (vvt, hámsejtek), így ezek a szövetek felhasználták az apoptózis programját az evolúció során a mind tökéletesebb funkció ellátása érdekében (11).

Az utóbbi időkben egyre intenzívebb kutatás folyik a programozott sejthalál folyamatának megismerése céljából. Számos olyan fehérjét és az azokat kódoló gént ismertek fel, melyeknek szerepe van a folyamatban (transzglutamináz (10), onkogének, tumorszupresszor gének és intracelluláris proteázok (20)). Úgy tűnik, hogy bár a különböző formákban vannak eltérések, az egyik legjellemzőbb jelenség az igen korán jelentkező DNS feldarabolódás, amely csaknem minden esetben megfigyelhető. A DNS a nukleosómák közötti ún. linker szakaszon törik, így meghatározott nagyságú fragmentumok képződnek, melyek agaróz gél-elektroforézis során jellegzetes, a létra fokainak megfelelő csíkokat adnak (ladder pattern [7]). A DNS ilyen jellegű feldarabolódásának kimutatása a PCD jelenlétére utal. Normál szövetekben, ahol a sejtek csak kis hányadát érinti az apoptózis, a DNS extrakció és a gél elektroforézis nem alkalmazható a folyamat vizsgálatára. Vannak olyan *in situ* módszerek, melyek segítségével hisztológiai metszeteken láthatóvá tehetők az apoptotikus sejtek. Ezek lényege, hogy DNS polimerázok segítségével az apoptózis során szabaddá váló DNS-szálakhoz jelzett nukleotidokat lehet beépíteni és ezek jelzőanyagától függően a reakció autoradiográfiával, immunfluoreszcens vagy immunperoxidáz módszerrel kimutatható (13).

A psoriasis fokozott epidermális proliferációval és kóros differenciálódással járó kórkép, amelyben megnő az epidermisz tömege. Tanulmányunk célja az volt, hogy megállapítsuk a sejtelhalás mértékét a psoriasisos lézió hámjában, összehasonlítva a normál hámval a DNS fragmentáció és SZTG, mint apoptózis markerek vizsgálatával. A DNS feldarabolódás jelenlétét egyrészt *in situ* a szabad DNS-végeket jelző módszer a TUNEL (terminal transferase nick end labelling) segítségével, valamint pikelyből kivont DNS gél-elektroforézisével vizsgáltuk. A SZTG expresszióját immunperoxidáz módszerrel mutattuk ki. A psoriasisos hámban a sejtek jelentős része pozitív volt a vizsgált paraméterekre.

Anyag és módszer

Immunhisztokémia:

6 psoriasis vulgaris plakos formájában szenvedő beteg előzetes bejegyzése után a lézióból és 4 plasztikai műtéten átesett egészséges egyén ép bőréből származó biopsziás mintákat (1. táblázat) a szokásos módon formalinban fixáltunk, majd paraffinba ágyasztunk és poly-L lizinnel bevont tárgylemezre 4–6 µ-os metszeteket készítettünk.

A DNS fragmentáció *in situ* kimutatása: TUNEL (terminal transferase nick end labelling)

A vizsgálathoz Gavrieli (13) 1992-ben közölt módszerét alkalmaztuk kis módosítással. Deparaffinálás után a metszeteket 15 percig szobahőmérsékleten 5 µg/ml proteináz K-val emésztettük. Intenzív mosás után terminal transferase, biotinilált dUTP, puffert, CoCl₂ tartalmazó reakcióeleggyel 20 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk. Többszöri mosás után az endogén peroxidázok gátlására metanolban oldott 0,5% H₂O₂-t alkalmaztunk. További mosásokat követően 5% bovin szérum albuminban (BSA) blokkoltuk a nem specifikus kötődést, majd avidinnal konjugált torma-peroxidázzal inkubáltuk 45 per-

cig. Mosás után amino-etil-karbazolt (AEC) vagy diaminobenzidin tetrahidrokloridot (DAB) használva hívtuk elő a reakciót. Fénymikroszkóppal vizsgáltuk 400x nagyítást alkalmazva fotóztuk.

Immunperoxidáz:

Avidin-biotin-peroxidáz módszert alkalmaztuk Vectastain ABC kit (Vector Labs.) felhasználásával. A formalin fixált paraffinba ágyasztott metszeteket 0,1% tripszinnel 5–10 percig inkubáltuk, majd metanolban oldott 3% hidrogénperoxiddal gátoltuk az endogén peroxidázok aktivitását. A normál szérummal történő inkubálás és mosás után a primer antitesteket 4 °C-on egy éjszakán át inkubáltuk. A peroxidázzal jelzett egér ellenes szérum használata után DAB vagy AEC szubsztrátot, majd hematoxilin háttérfestést alkalmaztunk.

Antitest: szöveti transzglutamináz ellenes monoklonális egér antitest (4).

DNS elektroforézis

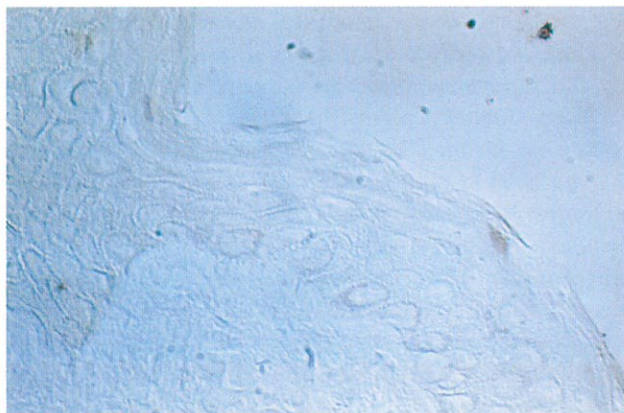
Psoriasisos plakkról szike fokával lekapartuk és összegyűjtöttük a pikelyeket, melyekből fenol/kloroform módszer segítségével DNS-t szeparáltunk, amit 60 V-on 3 órán át 1% agaróz gélen elektroforetizáltunk. Etidium bromiddal UV fényben láthatóvá tettük és fotóztuk.

Eredmények

TUNEL

A normál bőr biopsziás anyagából készült metszeten csak a granuláris rétegben látható elvélve egy-egy pozitív reakciót mutató sejtmag (1. ábra).

A psoriasis lézióból származó metszeten a parakeratotikus sejtek magjai erős pozitív reakciót adnak (2. ábra). A



1. ábra

Normál bőr, TUNEL festés, 400x nagyítás



2. ábra

Psoriasis, TUNEL festés, 400x nagyítás

1. táblázat

beteg sorszáma	nem	kor (év)	psoriasis típusa	tájék	a betegség fennállása ideje
1.	f	22	kis plakkos	felkar	3 hónap
2.	f	35	nagy plakkos	gluteus	4 év
3.	f	41	kis plakkos	gluteus	2 év
4.	n	45	kis plakkos	comb	10 év
5.	n	66	nagy plakkos	gluteus	15 év
6.	f	38	nagy plakkos	mellkas	8 év
kontroll					
1.	f	36		gluteus	
2.	n	25		mell	
3.	n	65		hát	
4.	f	67		comb	

mélyebb rétegben is számos sejt pozitív, de a bazálmembránhoz közeledve, egyre inkább csak a sejtmagok széli része mutat festődést. Kifelé haladva a rétegeken, egyre kompaktabbá és erősebbé válik a színreakció. Az eltérő biopsziás mintákban lényeges minőségi különbség nem volt (2. táblázat). A különbség csak abban volt érzékelhető, hogy a kevésbé vaskos lézió hámlójában néhány réteggel kevesebb volt a pozitív rétegek száma, különösen a kötőszöveti papillák fölötti hámlóterületeken.

IMMUNPEROXIDÁZ

A SZTG a psoriasisos plakkot körülvevő normál hámban (3. ábra), és a normál egyénből származó biopszia hámlójában nem, vagy halvány, a bazális rétegre korlátozott festődést mutat. A kiértékelést a bazális keratinociták pigment tartalma megnehezíti.

Az akantotikus, a psoriasis hisztológiai jegyeit mutató hámban SZTG antitesttel a legkülső szaruréteget kivéve minden élő rétegre kiterjedő, halvány diffúz pozitívítás észlelhető. A psoriasisos hámban a granuláris réteg nem különíthető el. Az ennek megfelelő, a már elhalt szaruréteg alatt közvetlenül fekvő külső rétegekben, az ellapult sejtek citoplazmája intenzíven festődik. A kevésbé lapos alattuk elhelyezkedő sejtek jelentős része is erős festődést mutat, de sejtenként különböző mértékben. A mélyebb rétegekben is látható néhány erősebb pozitívítást mutató sejt. Az eltérő eredetű mintákban nem mutatkozott lényeges különbség (2. táblázat). Elszórtan pozitívan festődő izolált sejtek láthatók még a gyulladásos infiltrátum területén is (nincs dokumentálva).

DNS elektroforézis

Létraképződés az 1. számú beteg psoriasisos pikkelyéből származó DNS mintában (5. ábra). 4 vizsgált mintából két esetben észleltünk létraképződést, két beteg vaskos pikkelyéből kivont DNS a nekrozisra jellemző elmosott képet mutatott (2. táblázat).

2. táblázat

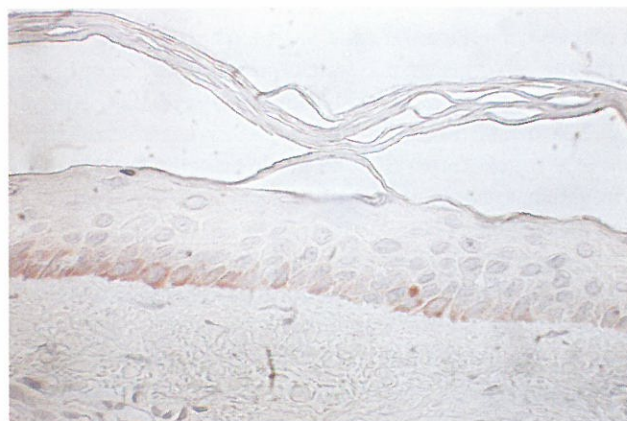
módszer/beteg száma	1.	2.	3.	4.	5.	6.
TUNEL	+	+	+	+	+	+
IP	+	+	+	+	+	+
DNS elfo	létra	NV	létra	NV	elmosott	elmosott

Megbeszélés

Az apoptózis specializált formájának megfelelő epidermális differenciáció lehetővé teszi az epidermális barrier fontos tényezőjének, a str. corneumnak, a kialakulását, védve ezzel a szervezetet a káros külső behatásoktól (23).

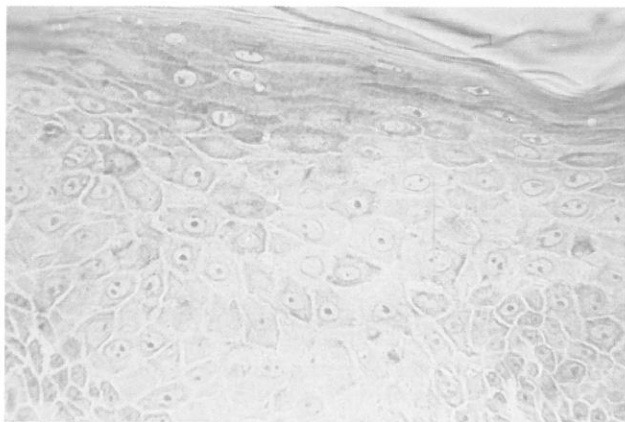
A DNS fragmentáció, mint az apoptózis marker jelenléte a hámban néhány irodalmi adat ismert. MacCall (19) normál hám rétegeit gradiens centrifugálással szeparálva bizonyította, hogy a granuláris réteg sejtjeiből kivont DNS elektroforézise létra formációt mutat. A hisztokémiai DNS fragmentációt kimutató módszereket ismertető közleményekben is található néhány utalás a normál hámban észlelhető festődésre (29). Ezek mindegyike a saját eredményünkhöz hasonlóan a granuláris réteg néhány elszórt sejtjében mutattak pozitívítást.

A SZTG a többi transzglutaminázhoz (keratinocita-, epidermális-, plazma-, prosztata-TG) hasonlóan epszilon-(gamma-glutamil) lizin kötést hoz létre különböző fehérjék között. Ez a kötés in vivo proteolízisnek ellenálló struktúrát alakít ki. A SZTG a szervezet számos szövetében megtalálható (30). Funkciói részben ismertek. Az apoptózisban a sejtthártya alatt létrejövő oldhatatlan burkot képezi, de ezen kívül más területeken is jelentősége van (pl.: extracelluláris matrix, a bazál membrán stabilizálása [1, 16], melyeket még pontosan nem ismerünk. A normál bőrben csak az erek endotéljében mutatták ki (3) az általunk alkalmazottól eltérő antitesttel. Vizsgálataink során egy normál biopsziás mintában bazálisan halvány festődést észleltünk és hámlógelékben is láttunk pozitív reakciót. A SZTG bőrben történő expresszióját később részletesebben vizsgálni kívánjuk.



3. ábra

Normál hám, immunperoxidáz festés, SZTG antitest, 400x nagyítás



4. ábra

Psoriasis lézió, immunperoxidáz festés, SZTG antitest, 400x nagyítás

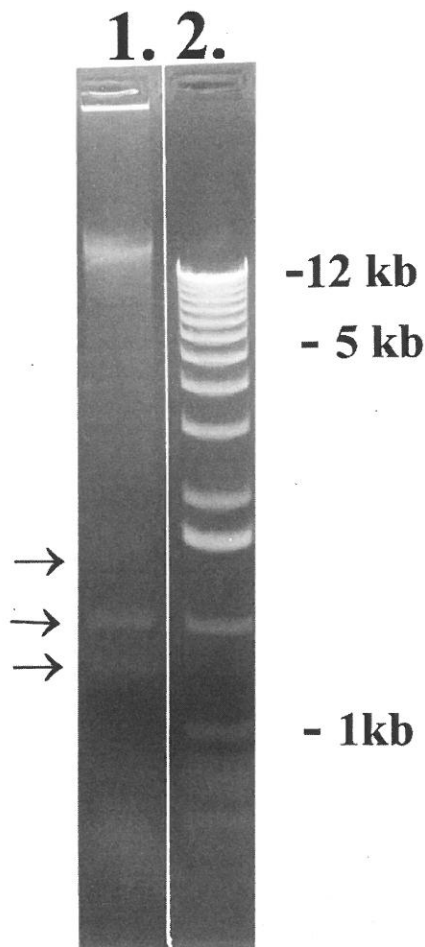
A keratinociták kóros apoptózisának számos betegségben pathogenetikai szerepet tulajdonítanak (6, 17, 26), többek között a psoriasisban is (15, 22). A psoriasisos keratinociták kóros differenciálódásának egyik jele a KTG korai expressziója (8), mint azt saját előző vizsgálataink (24) is mutatják. A betegség etiológiája nem ismert, Th1 mediált immunmechanizmus, genetikai tényezők szerepét feltételezik. A keratinociták fokozott proliferációja régóta bizonyított, azonban ennek oka még tisztázatlan. Bár az apoptózis folyamatának megváltozása a kóros tényezők között többen hangsúlyozzák, az apoptózis markerek expressziójának vizsgálatával azonban eddig csak egy közlemény foglalkozott részletesen (3). A munkacsoport vizsgálta a SZTG és TUNEL reakciót psoriasisban és lichen planusban. Eredményeik részben hasonlóak a mieinkhez, mert nagy mennyiségű apoptotikus magot és SZTG expressziót észleltek. Ők azonban egyértelmű párhuzamot vontak a SZTG expressziója és az apoptotikus magok expressziója között. Mi nem figyeltük meg ezt a szoros korrelációt, mert metszeteinkben ott is észleltünk SZTG festődést, ahol nem tapasztaltunk DNS fragmentációt. A DNS nukleoszóma nagyságú fragmentációját biokémiai módszerekkel is sikerült igazolnunk, bár nem minden esetben. Ha vaskos plakkok legkülsőbb rétegéből nyertük a pikkelyt, a gél a nekrosisra jellemző elmosott mintázatot mutatott. Psoriasisban a sejtek valószínűleg nem tudják befejezni tökéletesen az elindított aktív sejthalált, ami végül nekrosisba torkollik. Ennek bizonyítására szükséges lenne a sejtek szeparálása és gradiens centrifugálás utáni vizsgálata, hasonlóan McCall normál epidermiszben végzett kísérletéhez (19).

Az említett munkacsoport és az általunk végzett vizsgálatok is bizonyítják, hogy a psoriasisos hámban lényegesen nagyobb számú fragmentálódott DNS-t tartalmazó sejtmag található, mint a normál egészséges hámban. A psoriasisos parakeratotikus sejtmagok feldarabolódott DNS-t tartalmaznak. Ennek elméletileg két lehetséges magyarázata van. Az egyik: a fokozott proliferációt, mint az egyéb szövetekben is megfigyelhető, fokozott sejthalás próbálja kiegyensúlyozni. Elképzelhető, hogy az apop-

tózis folyamata a fokozott sejtsztódás következményeként fokozódott. A másik magyarázat az, hogy a psoriasisos keratinocitákban az apoptotikus program az annak lezajlásában bekövetkező károsodás miatt nem megfelelő módon megy végbe és a sejtek megrekednek, felhalmozódnak a folyamat egy szintjén.

A SZTG expresszió nem feltétlenül jelzi az apoptózist, bár kétségtelen, hogy a sejtelhalás különböző formáiban a SZTG szerepe bizonyított. Ismert azonban olyan apoptotikus folyamat is, mely során nem indukálódik az enzim (25). Ugyancsak ismertek olyan folyamatok, melyekben kimutatható a SZTG, de bizonyítottan nincs sejtelhalás (1, 16).

A psoriasisra nemcsak a hámlás jelek, hanem az irhában lezajló gyulladásos folyamatok is jellemzőek, azaz a psoriasis citokinek által mediált gyulladásos kórkép. Már számos citokininről ismert, hogy SZTG-t indukál (14), apoptózissal (transformáló növekedési faktor béta-1 [12], epidermális növekedési faktor (EGF) [21]), vagy anélkül (interleukin 6 (IL-6) [28]). A citokinek egy része a psoriasisban is pathogenetikai jelentőséggel bír (IL-6, EGF), így a SZTG megjelenése a hámban a citokinin indukáló hatásának közvetlen következménye is lehet.



5. ábra

Psoriasis pikkelyből származó DNS elektroforézise 1% agaróz gélen (1. oszlop) DNA marker (2. oszlop)

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a psoriasis epidermiszben fokozott DNS fragmentáció és SZTG expresszió mutatható ki. Ezek pathogenetikai szerepének tisztázására azonban további vizsgálatok szükségesek.

IRODALOM

1. Aeschlimann D., Paulsson M.: Cross-linking of laminin-nidogen complexes by tissue transglutaminase. A novel mechanism for basement membrane stabilisation. *J. Biol. Chem.* (1991) 266, 15308–15317.
2. Alison M. R., Sarraf C. E.: Apoptosis: a gene-directed programme of cell death. *R. Coll. Phys. London* (1992) 26, 25–35.
3. Bianchi, L. és mtsai.: Abnormal Bel-2 and „tissue” transglutaminase expression in psoriatic skin *J Invest Dermatol* (1994) 103, 829–833.
4. Brickbichler, P. J. és mtsai.: A monoclonal antibody to cellular transglutaminase. *Hybridoma* (1985) 4, 179–186.
5. Budtz P. E., Spies I.: Epidermal tissue homeostasis: apoptosis and cell emigration as mechanism of controlled cell deletion in epidermis of the toad, *Bufo bufo*. *Cell. Tissue. Research.* (1989) 256, 475–486.
6. Casciola-Rosen L. A., Anhalt G., Rosen A.: Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J. Exp. Med.* (1994) 179, 1317–1330.
7. Cohen J. J., Duke R. C.: Glucocorticoid activation of a calcium-dependent endonuclease in thymocyte nuclei leads to cell death. *J. Immunol.* (1984) 132, 38–42.
8. Esgleyes-Ribot T. és mtsai.: Response of psoriasis to a new topical retinoid, AGN 190168. *J. Am Acad Dermatol* (1994) 30, 581–590.
9. Fésüs L.: Biochemical events in naturally occurring forms of cell death. *FEBS Letters* (1983) 328, 1–5.
10. Fésüs L., Thomázy V., Falus A.: Induction and activation of tissue transglutaminase during programmed cell death. *FEBS Letters* (1987) 332, 104–108.
11. Fésüs L., Davies P. J. A. and Piacentini M.: Apoptosis: molecular mechanisms in programmed cell death *European J. Cell. Biology.* (1991) 56, 170–177.
12. Fukuda K., Kojiro M., Chiu J. F.: Induction of apoptosis by transforming growth factor-beta 1 in the rat hepatoma cell line McA-RH7777: a possible association with tissue transglutaminase expression. *Hepatology.* (1993) 18, 945–953.
13. Gavrieli Y., Sherman Y., Ben-Sasson S. A.: In situ visualisation of programmed cell death via specific labelling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell. Biol.* (1992) 119, 493–501.
14. George M. D. és mtsai.: Regulation of transglutaminase type II by transforming growth factor-beta 1 in normal and transformed human epidermal keratinocytes. *J. Biol. Chem.* (1990) 265, 11098–11104.
15. Goldsmith L. A.: Toads and psoriasis. *Arh. Dermatol.* (1986) 122, 939–940.
16. Greenberg C. S., Brickbichler P. J., Rice R. H.: Transglutaminases: multifunctional crosslinking enzymes that stabilize tissues *FASEB* (1991) 5, 3071–3077.
17. Haake A. R., Polakowska R. R.: Cell death by apoptosis in epidermal biology. *J Invest Dermatol* (1993) 101, 107–112.
18. Kerr J. F. R., Wyllie A. H., Currie A. R.: Apoptosis. a basic biological phenomenon with wide-ranging implication in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* (1972) 26, 239–257.
19. McCall C. A., Cohen J. J.: Programmed cell death in terminally differentiating keratinocytes: role of endogenous endonuclease. *J. Invest. Dermatol.* (1991) 97, 111–114.
20. Osborne B. A., Schwartz L. M.: Essential genes that regulate apoptosis. *Trends in Cell Biology* (1994) 4, 394–398.
21. Piacentini M. és mtsai.: „Tissue” transglutaminase is specifically expressed in neonatal rat liver cells undergoing apoptosis upon epidermal growth factor-stimulation. *Cell Tissue Res.* (1991) 263, 227–235.
22. Polakowska, R. R. és mtsai.: Apoptosis in human skin development: morphogenesis, periderm, and stem cells. *Dev. Dyn.* (1994) 199, 176–188.
23. Reicher u., Fésüs L.: Programmed cell death. *Retinoids Today and Tomorrow* (1991) 24, 31–34.
24. Remenyik É., Davies P. J. A., Duvic M.: Bőr-ekvivalens modell. *Bőrgyógy. Vener. Szle.* (1995) 71, 19–24.
25. Sabourin L. A., Hawley R. G.: Suppression of programmed death and G1 arrest in B-cell hybridomas by interleukin-6 is not accompanied by altered expression of immediate early response genes. *J. Cell Physiol.* (1990) 145, 564–574.
26. Sayama, K. és mtsai.: Expression of Fas antigen on keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* (1994) 103, 330–334.
27. Schmid P. és mtsai.: In situ hybridization analysis of cytokine, proto-oncogene and tumour suppressor gene expression in psoriasis. *Arc. Dermatol.* (1993) 285, 334–340.
28. Suto N., Ikura K., Sasaki R.: Expression induced by interleukin-6 of tissue-type transglutaminase in human hepatoblastoma HepG2 cells. *J. Biol. Chem.* (1993) 268, 7469–7473.
29. Tamada Y. és mtsai.: Identification of programmed cell death in normal human skin tissues by using specific labelling of fragmented DNA. *Br. J. Dermatol.* (1994) 131, 521–524.
30. Thomázy V., Fésüs L.: Differential expression of tissue transglutaminase in human cells. An immunohistochemical study. *Cell Tissue. Res.* (1989) 255, 215–224.

Érkezett: 1997. 07. 28.

Közlésre elfogadva: 1998. 01. 12.