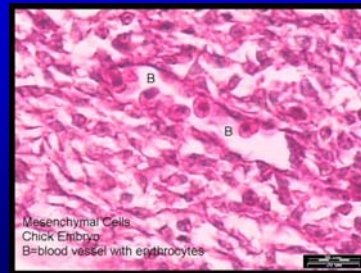
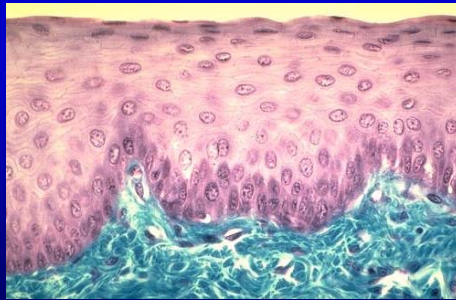


Transizioni Epitelio \leftrightarrow Mesenchimale (EMT & MET)

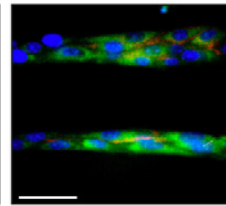
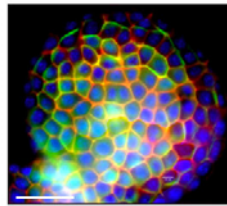
Ruolo nello sviluppo embrionale
e nelle patologie



Epithelial cells in 3D culture

before EMT

after EMT

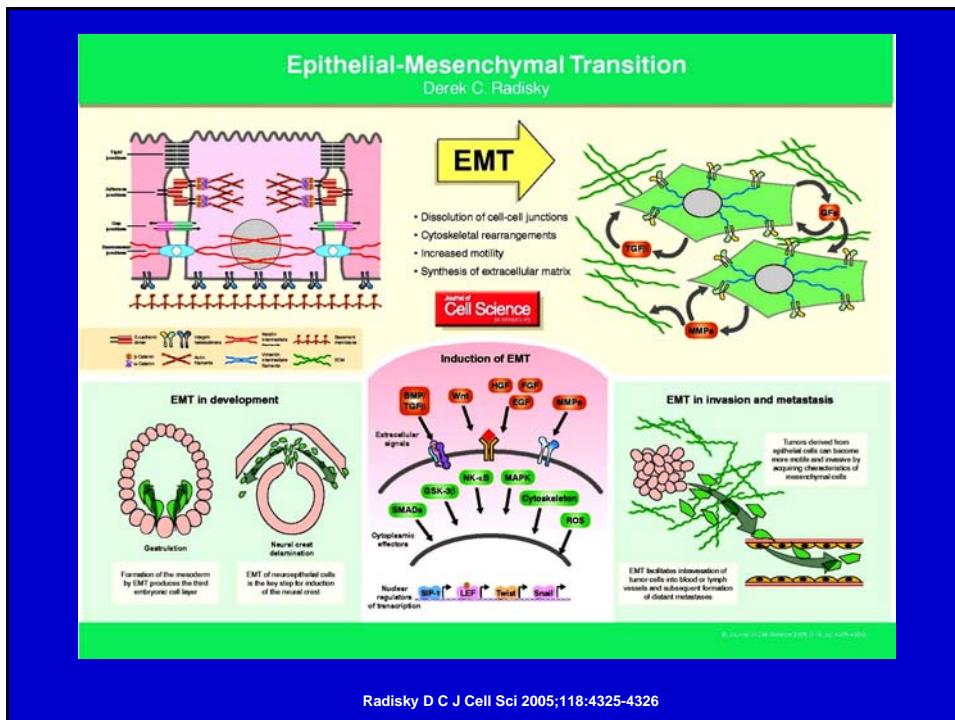
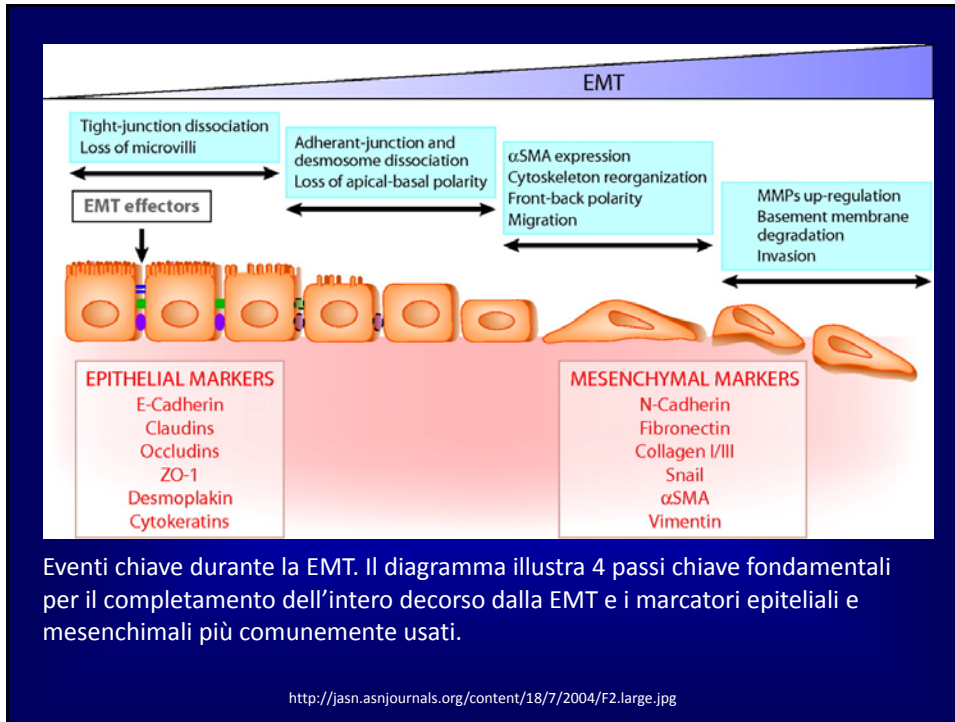


E-cadherin,
β-actin, DNA

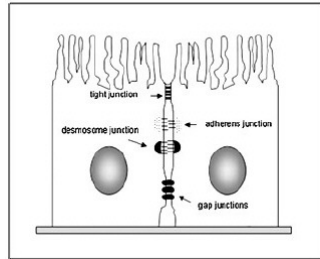
Vimentin,
β-actin, DNA

NMuMG-Ras in collagen gel cultures (3D) form hollow, alveolar structures of polarized epithelial cells (left panels) expressing E-cadherin and a cortical actin ring but no mesenchymal markers (vimentin). Addition of TGF β (6 days) induces these cells to undergo epithelial-mesenchymal transition (EMT), characterized by unorganized structures of fibroblastoid cells expressing no E-cadherin but cytoplasmic actin and vimentin (right panels).

IMP - Research Institute of Molecular Pathology GmbH
Dr. Bohr-Gasse 7, 1030 Vienna, AUSTRIA

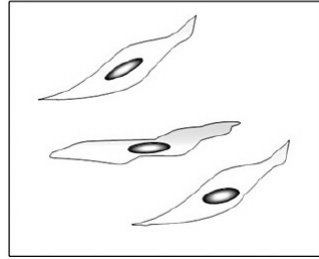


A Epithelial cells



- Presenza di giunzioni cellulari:
 - tight junctions
 - adherens junctions
 - desmosomi
- Polarizzazione apicale-basolaterale
- Capacità migratoria limitata o assente
- Espressione di cheratine specifiche
- E-caderina e actina corticale

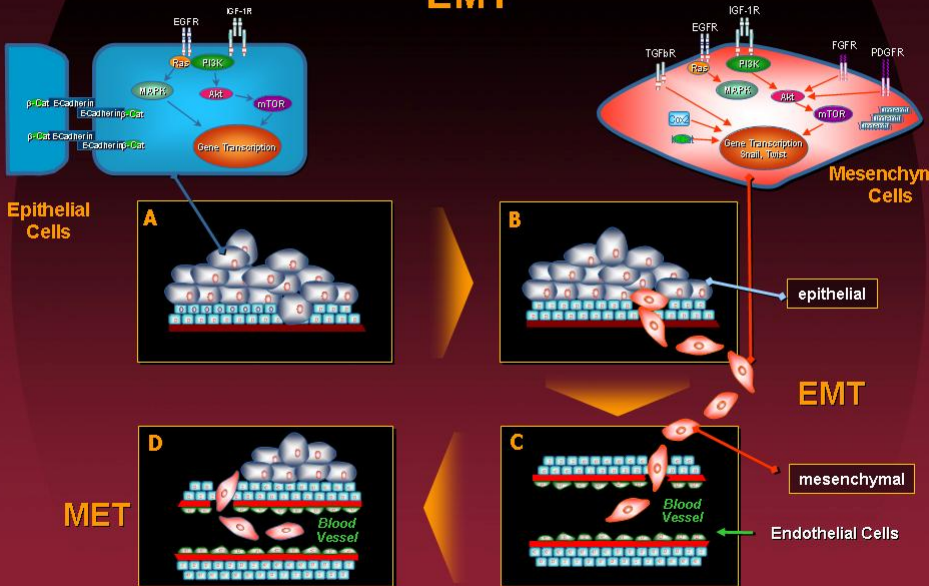
B Mesenchymal cells



- Non si formano giunzioni stabili
- Carenza della tipica polarizzazione apicale-basale
- Aumentata degradazione della matrice
- Espressione di proteine mesenchimali:
 - Vimentina
 - α -smooth muscle actin (α SMA)
 - Fibronectina
 - Fibroblast Specific protein -1 (FSP-1)

Cannito et al. Antioxid Redox Signal. 2010 Feb 17.

Epithelial Mesenchymal Transition EMT

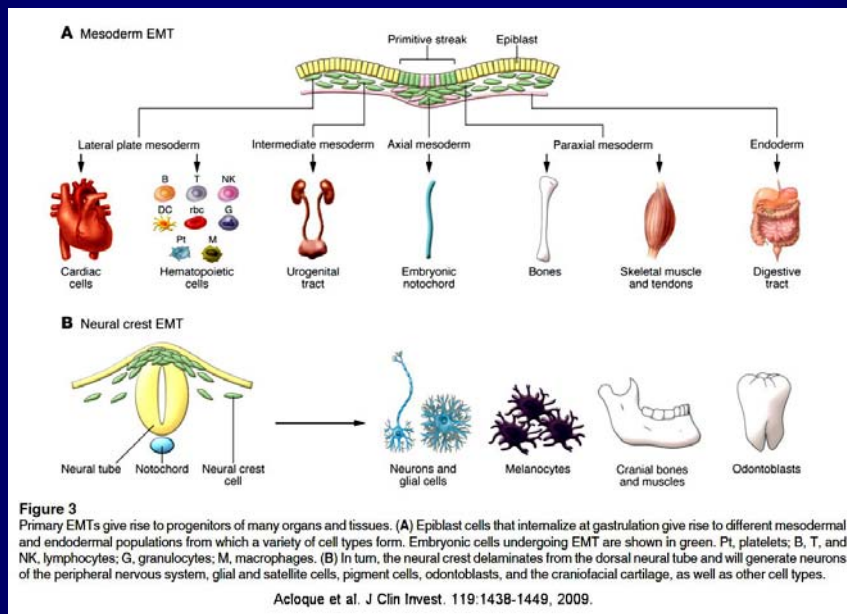
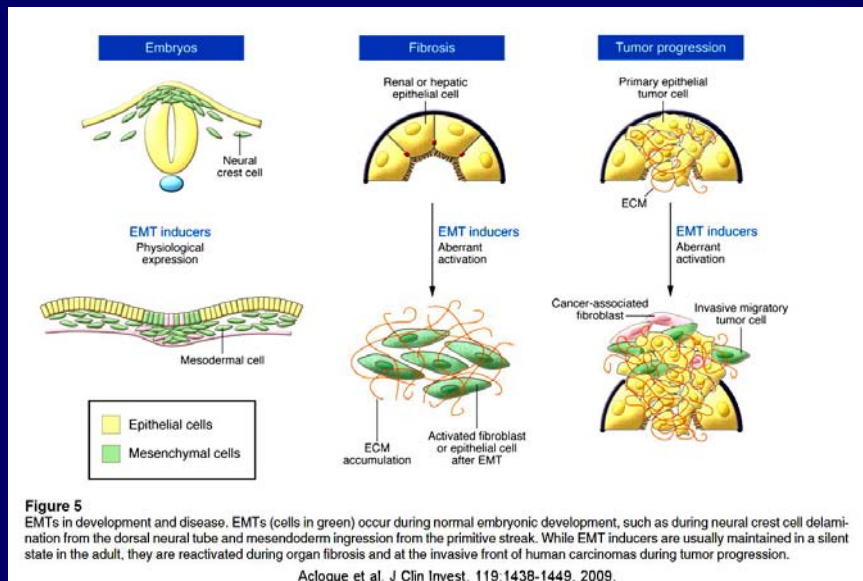


Epithelial Cells (A) → **Mesenchymal Cells** (B) → **EMT** → **Mesenchymal Cells** (C) → **MET** → **Epithelial Cells** (D)

Key components and pathways shown:

- Receptors:** EGFR, IGF-1R, TGF β R, FGF, PDGFR
- Signaling Molecules:** FAK, PI3K, Akt, mTOR, MMPs
- Transcription Factors:** Snail, Twist, SOX
- Cellular Markers:** E-cadherin, p-Cat, E-cadherin-p-Cat

Adapted from Brabletz et al. (2005), Christofori (2006), Lee et al. (2006), Thiery & Sleeman (2006)



The basics of epithelial-mesenchymal transition

Raghu Kalluri^{1,2} and Robert A. Weinberg³

¹Division of Matrix Biology, Beth Israel Deaconess Medical Center, and Department of Biological Chemistry and Molecular Pharmacology, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA. ²Harvard-MIT Division of Health Sciences and Technology, Boston, Massachusetts, USA.

³Whitehead Institute for Biomedical Research, Ludwig Center for Molecular Oncology, and Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, USA.

The origins of the mesenchymal cells participating in tissue repair and pathological processes, notably tissue fibrosis, tumor invasiveness, and metastasis, are poorly understood. However, emerging evidence suggests that epithelial-mesenchymal transitions (EMTs) represent one important source of these cells. As we discuss here, processes similar to the EMTs associated with embryo implantation, embryogenesis, and organ development are appropriated and subverted by chronically inflamed tissues and neoplasias. The identification of the signaling pathways that lead to activation of EMT programs during these disease processes is providing new insights into the plasticity of cellular phenotypes and possible therapeutic interventions.

The Journal of Clinical Investigation <http://www.jci.org> Volume 119 Number 6 June 2009

Transizione epitelio mesenchimale

- Una transizione epitelio-mesenchimale (EMT) è un processo biologico che permette ad una cellula epiteliale morfologicamente polarizzata, che di solito interagisce con la lamina basale tramite la sua superficie basale, di subire diverse alterazioni biochimiche che le permettono di assumere un fenotipo mesenchimale:
 - Aumentata capacità migratoria
 - Invasività
 - Elevata resistenza all'apoptosi
 - Produzione molto aumentata di component della matrice extracellulare (ECM).
- Il completamento della EMT è segnalato dalla degradazione della sottostante lamina basale e dalla formazione di una cellula mesenchimale in grado di allontanarsi dallo strato epiteliale da cui è derivata.

Processi molecolari necessari per iniziare una EMT e permetterle di giungere a compimento

- 🏠 Attivazione di fattori di trascrizione
- 🏠 Espressione di proteine della superficie cellulare specifiche
- 🏠 Riorganizzazione ed espressione di proteine del citoscheletro
- 🏠 Produzione di enzimi che degradano la Matrice Extracellulare
- 🏠 Alterazioni dell'espressione di specifici microRNAs.
- 🏠 In molti casi, i fattori coinvolti sono anche usati come biomarcatori per dimostrare il passaggio di una cellula attraverso una EMT.

Kalluri & Weinberg, J Clin Invest. 119: 1420-1428, 2009

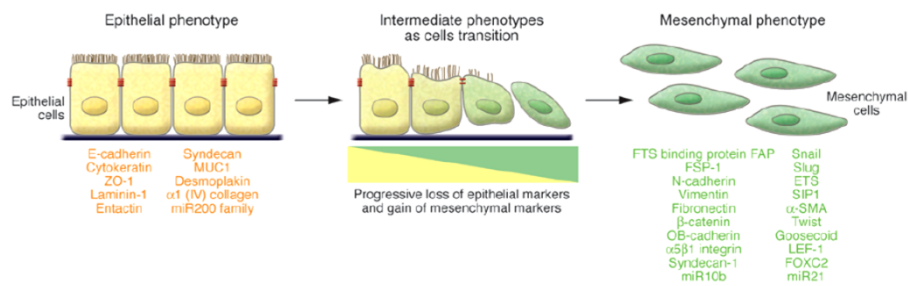


Figure 1

EMT. An EMT involves a functional transition of polarized epithelial cells into mobile and ECM component–secreting mesenchymal cells. The epithelial and mesenchymal cell markers commonly used by EMT researchers are listed. Colocalization of these two sets of distinct markers defines an intermediate phenotype of EMT, indicating cells that have passed only partly through an EMT. Detection of cells expressing both sets of markers makes it impossible to identify all mesenchymal cells that originate from the epithelia via EMT, as many mesenchymal cells likely shed all epithelial markers once a transition is completed. For this reason, most studies in mice use irreversible epithelial cell–lineage tagging to address the full range of EMT-induced changes. ZO-1, zona occludens 1; MUC1, mucin 1, cell surface associated; miR200, microRNA 200; SIP1, survival of motor neuron protein interacting protein 1; FOXC2, forkhead box C2.

Kalluri & Weinberg, J Clin Invest. 119: 1420-1428, 2009

Perchè ha luogo una EMT?

- Tutte le cellule del corpo derivano da altre cellule e in definitiva tutte sono derivate da una cellula singola, l'uovo fecondato (zigote).
- Un ulteriore livello di complessità venne dalla consapevolezza che le cellule possono assumere diversi stati fenotipici durante lo sviluppo embrionale, ossia, che esse possano subire il processo di **differenziamento**.
- Durante gli stadi specifici dell'embriogenesi e organogenesi le cellule sembrano essere plastiche e quindi in grado di spostarsi avanti e indietro da stadi epiteliali e mesenchimali mediante i processi di **transizione epitelio-mesenchimale (EMT) e mesenchima-epiteliale (MET)**.

Kalluri & Weinberg, J Clin Invest. 119: 1420-1428, 2009

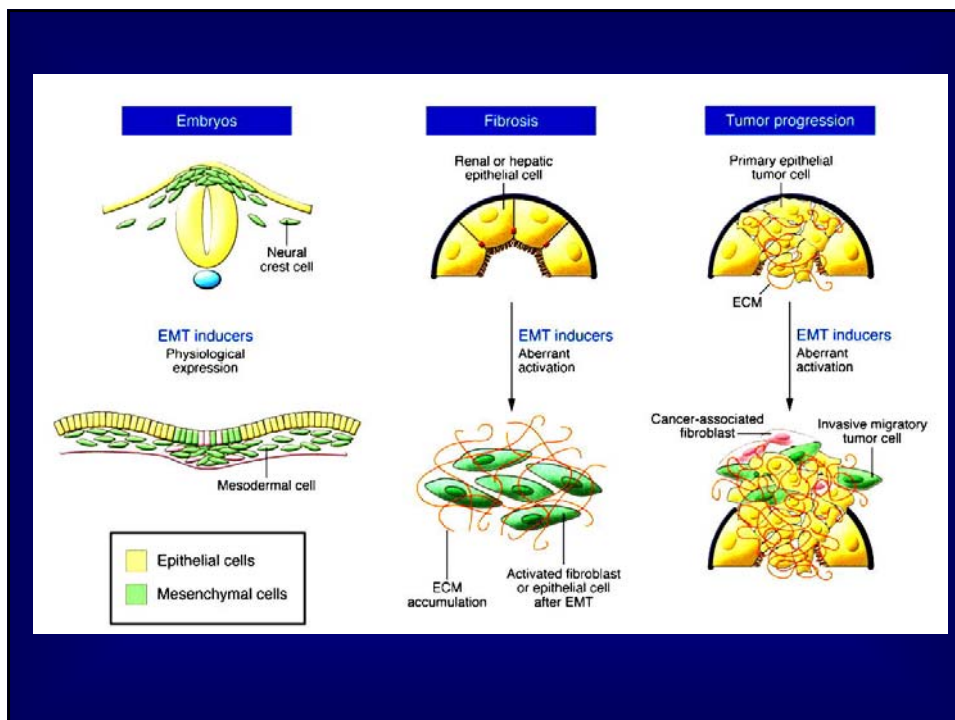
- Quando viene completato lo sviluppo dei tessuti epiteliali, le **cellule epiteliali** tipicamente esercitano **funzioni specifiche di quel tessuto**, mentre le **cellule mesenchimali** in tale tessuto giocano un ruolo di **sostegno**.
- Questa nozione implica che lo stato di differenziamento terminale è necessario per svolgere tali funzioni specializzate e che le cellule sono mantenute in uno stato di differenziamento permanente una volta che il differenziamento è completato.
- Tale concetto è stato messo in dubbio da numerose osservazioni secondo le quali **le cellule all'interno di un tessuto differenziato terminalmente possono in realtà cambiare il loro fenotipo mediante l'attivazione di un programma di EMT** che permette il transdifferenziamento, e provoca la conversione delle cellule epiteliali in cellule mesenchimali durante lo sviluppo e l'età adulta.

Kalluri & Weinberg, J Clin Invest. 119: 1420-1428, 2009

🏠 Questi programmi possono essere attivati in associazione con fenomeni di **riparo dei tessuti** e **stress patologici**, quali quelli che creano vari tipi di **infiammazione** e **carcinomi altamente maligni**.

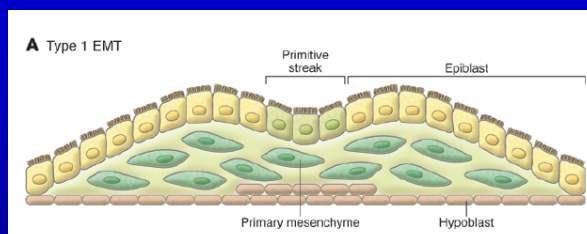
🏠 Di conseguenza, le EMTs costituiscono attualmente meccanismi riconosciuti per disperdere le cellule negli embrioni, per formare cellule mesenchimali nei tessuti danneggiati, e per iniziare il comportamento invasivo e metastatico dei tumori di origine epiteliale.

Kalluri & Weinberg. J Clin Invest. 119: 1420-1428, 2009



Kalluri: Classificazione della EMT in tre sottotipi differenti

Type 1 EMT: EMT during implantation, embryogenesis, and organ development



📌 L'EMT di tipo 1 è associata all'impianto e alla gastrulazione dell'embrione e dà origine al mesoderma, all'ectoderma e alle cellule mobili delle creste neurali.

📌 L'epitelio primitivo, specialmente l'epiblasto, dà origine al mesenchima primario tramite EMT. Questo mesenchima primario può essere re-indotto a formare un epitelio secondario tramite MET.

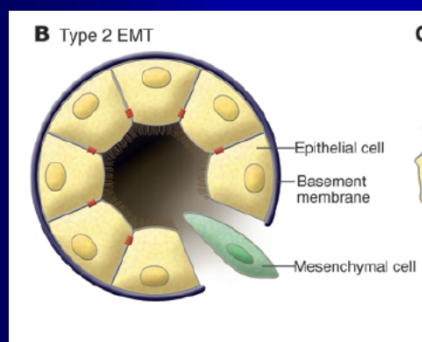
📌 Si presume che un tale epitelio secondario possa differenziarsi ulteriormente per dare origine ad altre forme di epiteli che subiranno una successiva EMT per generare cellule del tessuto connettivo, incluso astrociti, adipociti, condrociti, osteoblasti e cellule muscolari.

EMT di tipo 1

- 📌 Associata con lo sviluppo embrionale originale, si svolge anche durante la crescita post-natale.
- 📌 Passi specifici e ben definiti: le cellule epiteliali hanno forma da cuboidale a cilindrica e sono in contatto una con l'altra mediante giunzioni aderenti e giunzioni strette ("tight").
- 📌 Le cellule mesenchimali primarie migratorie generate in questo modo hanno la potenzialità di intraprendere il percorso opposto diventando di nuovo epiteli: transizione mesenchima-epiteliale (MET) che genera epiteli secondari nell'embrione in sviluppo.
- 📌 Le cellule differenziate in quasi tutti gli organi dell'adulto si sviluppano come risultato della EMT-MET.

Samatov TR, Tonevitsky AG, Schumacher U. Epithelial-mesenchymal transition: focus on metastatic cascade, alternative splicing, non-coding RNAs and modulating compounds. Mol Cancer. 2013 Sep 23;12(1):107.

Kalluri: Classificazione della EMT in tre sottotipi differenti



(B)

Le EMTs compaiono di nuovo nel contesto dell'**infiammazione** and **fibrosi** e rappresentano le **EMTs di tipo 2**.

Al contrario della EMT di tipo 1, la EMT di tipo 2 è espressa per periodi di tempo molto prolungati e può alla fine distruggere un organo coinvolto se il danno infiammatorio primario non è rimosso o attenuato.

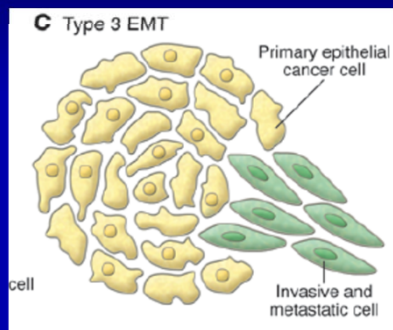
Kalluri & Weinberg. J Clin Invest. 119: 1420-1428, 2009

EMT di tipo 2

- È la conseguenza di un processo di danno e ha come risultato la generazione di fibroblasti che devono ripristinare i tessuti danneggiati.
- Durante l'infiammazione i fibroblasti e le cellule del sistema immunitario rilasciano citochine e fattori pro-infiammatori nonché proteine della matrice extracellulare che stimolano le cellule a subire EMT.
- Se l'infiammazione persiste in modo patologico, la continua EMT di cellule epiteliali normali può provocare fibrosi e danno agli organi.

Samatov TR, Tonevitsky AG, Schumacher U. Epithelial-mesenchymal transition: focus on metastatic cascade, alternative splicing, non-coding RNAs and modulating compounds. Mol Cancer. 2013 Sep 23;12(1):107.

Kalluri: Classificazione della EMT in tre sottotipi differenti



(C) Infine, l'epitelio secondario associato a molti organi può trasformarsi in cellule tumorali che più tardi subiscono le EMTs che permettono loro di invadere e disseminarsi metastaticamente: **tipo 3 della EMT.**

Kalluri & Weinberg. J Clin Invest. 119: 1420-1428, 2009

EMT di tipo 3 (oncogenica)

- 📌 Permette alle cellule epiteliali di acquisire caratteristiche di un fenotipo mesenchimale che sono fondamentali per la disseminazione metastatica.
- 📌 Nella EMT oncogenica si ripresentano le tipiche fasi della EMT dello sviluppo embrionale, tuttavia esse sono meno ordinate e meno coordinate.
- 📌 Come conseguenza di tale EMT disordinata si possono spesso osservare fenotipi ibridi con proprietà sia dei tipi cellulari epiteliali che mesenchimali.

Samatov TR, Tonevitsky AG, Schumacher U. Epithelial-mesenchymal transition: focus on metastatic cascade, alternative splicing, non-coding RNAs and modulating compounds. Mol Cancer. 2013 Sep 23;12(1):107.

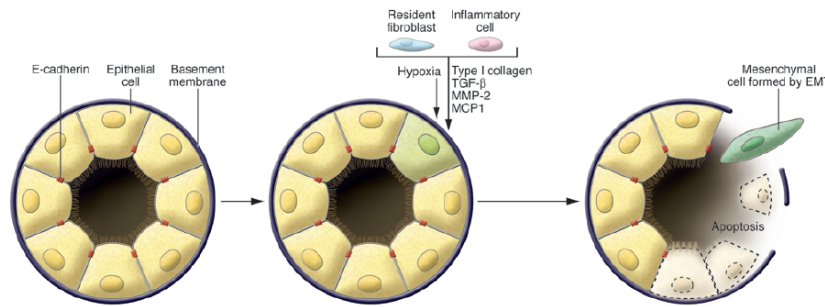


Figure 3
EMT and fibrosis. The EMTs associated with fibrosis are associated with inflammation and the generation of numerous types of molecules by inflammatory cells and resident activated fibroblasts (myofibroblasts). These molecules cause disruption of the epithelial layers via degradation of the basement membrane. The epithelial cells lose polarity and either undergo apoptosis (the majority of cells) or EMT (the minority of cells). MCP1, monocyte chemoattractant protein 1.

Kalluri & Weinberg. J Clin Invest. 119: 1420-1428, 2009

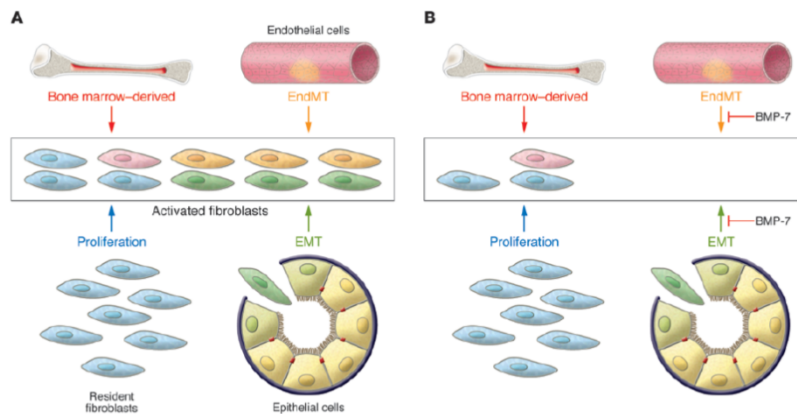
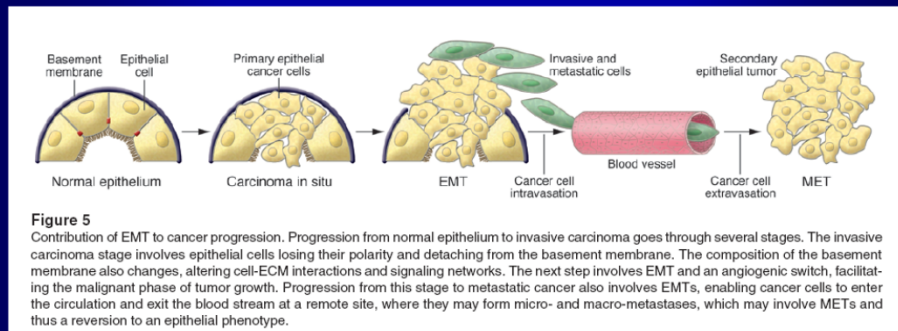


Figure 4
Origin of fibroblasts during fibrosis and its reversal by BMP-7. (A) Different sources of fibroblasts in organ fibrosis. Four possible mechanisms are depicted. One study suggests that about 12% of fibroblasts are from bone marrow, about 30% can arise via local EMT involving tubular epithelial cells under inflammatory stress, and about 35% are from EndMT (1). The remaining percentage likely emerge via proliferation of the resident fibroblasts and other still unidentified sources. (B) Systemic treatment of mice with renal fibrosis with recombinant human BMP-7 reverses renal disease due to severe attenuation of the formation of EMT- and EndMT-derived fibroblasts.



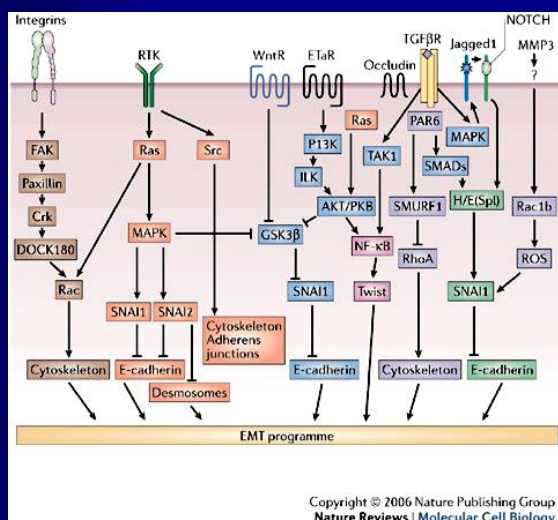
EMT SEMINARIO

Reti complesse orchestrano le transizioni epitelio-mesenchimali

(Thiery JP & Sleeman J P, Nature Rev Mol Cell Biol 7: 131-142, 2006)

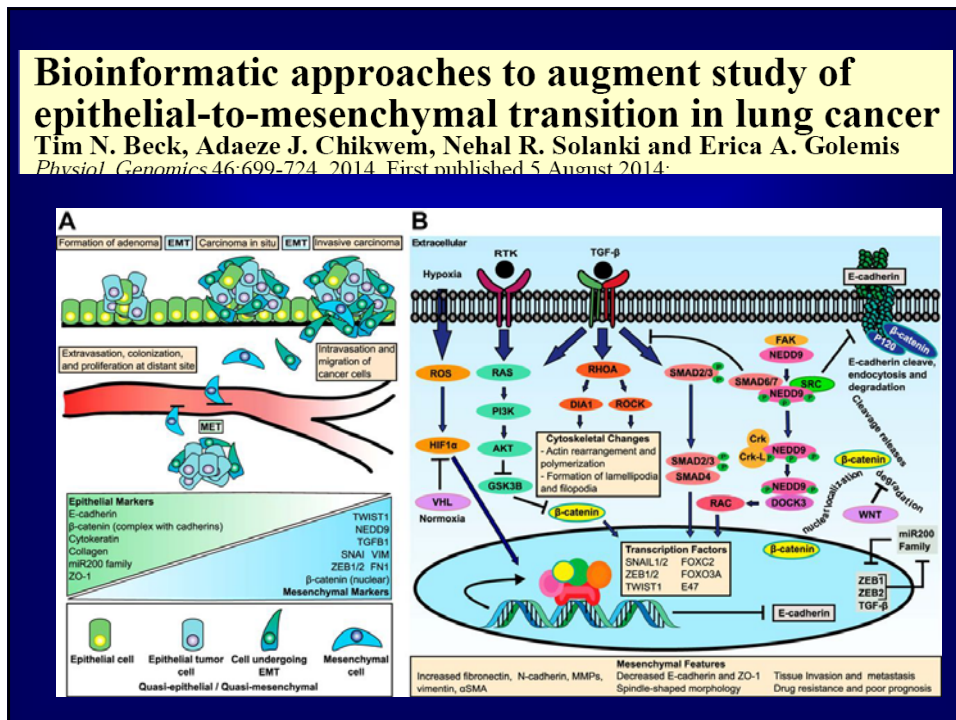
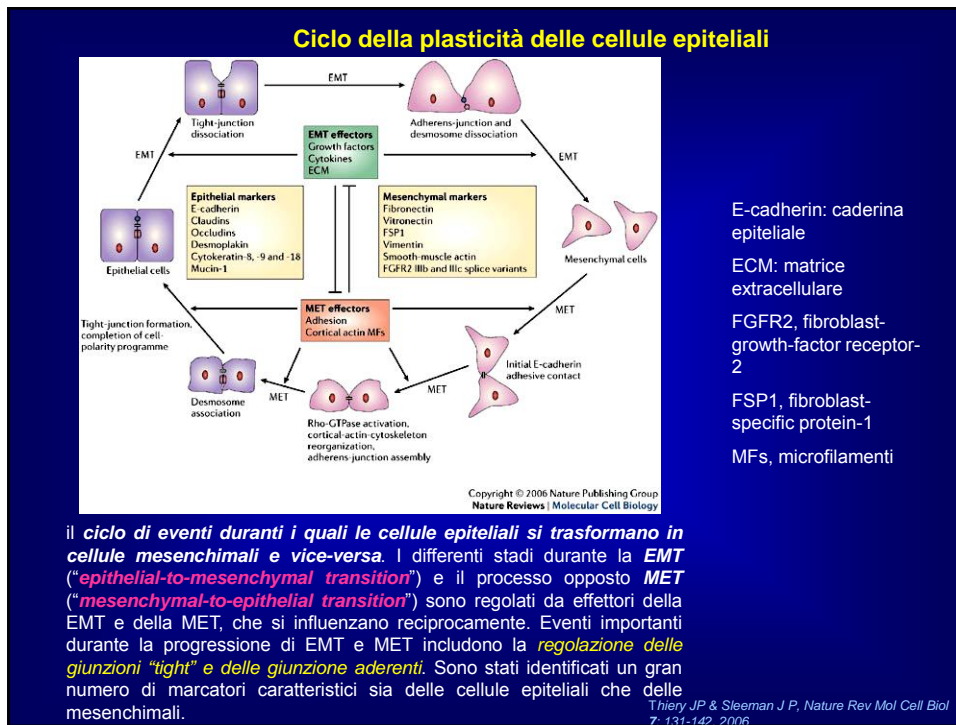
Abstract | La **transizione epitelio-mesenchimale** (EMT) è un **meccanismo indispensabile durante la morfogenesi** in quanto senza le cellule mesenchimali i tessuti e gli organi non si formerebbero mai. Tuttavia, la **plasticità delle cellule epiteliali**, accoppiata alla formazione transitoria o permanente del mesenchima, riguarda molto di più che il problema della segregazione delle varie linee cellulari. Capire come originano le cellule mesenchimali a partire da uno stadio di “default” epiteliale avrà inoltre un forte impatto per svelare i meccanismi che controllano la fibrosi e la progressione tumorale.

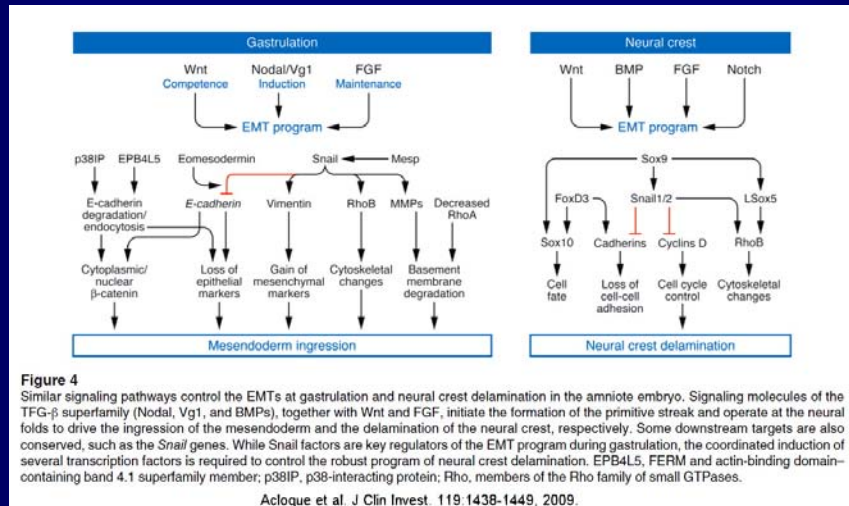
Reti molecolari che regolano la EMT



L'attivazione di recettori ad attività tirosina chinasi (RTKs) induce la EMT in diversi tipi di cellule epiteliali e *in vivo*, ma ora è chiaro che il processo EMT spesso richiede la **co-attivazione di recettori di tipo integrina**. Il ruolo del segnalamento indotto dal “transforming growth factor (TGFβ) nella EMT è stato determinato per un numero limitato di linee cellulari normali e trasformate, mentre *in vivo* ci sono dati che indicano una regolazione reciproca delle vie TGFβ and NOTCH durante la EMT. Esistono attualmente prove sufficienti che altre vie di segnalazione possano avere un ruolo importante nella EMT, incluso i **recettori associati a proteine G**. Anche le **metalloproteasi della matrice (MMPs)** possono indurre la EMT attraverso recettori non ancora specificati.

Thiery JP & Sleeman J P, Nature Rev Mol Cell Biol 7: 131-142, 2006





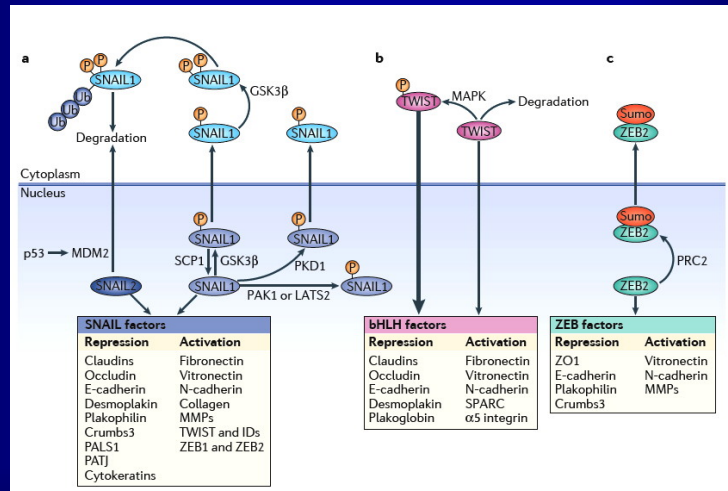
Nat Rev Mol Cell Biol. 2014 Mar;15(3):178-96.

Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition

Samy Lamouille¹, Jian Xu² and Rik Derynck¹

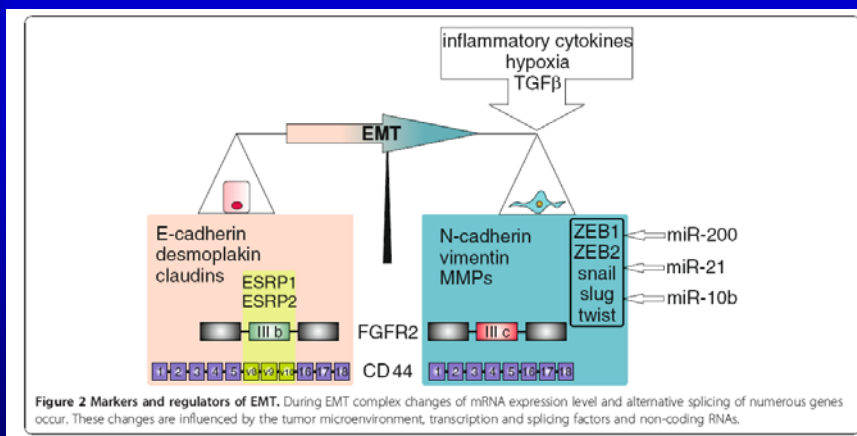
Abstract | The transdifferentiation of epithelial cells into motile mesenchymal cells, a process known as **epithelial–mesenchymal transition (EMT)**, is **integral in development, wound healing and stem cell behaviour**, and contributes pathologically to fibrosis and cancer progression. This switch in cell differentiation and behaviour is mediated by **key transcription factors**, including **SNAIL**, **zinc-finger E-box-binding (ZEB)** and **basic helix–loop–helix transcription factors**, the functions of which are finely regulated at the transcriptional, translational and post-translational levels. **The reprogramming of gene expression during EMT, as well as non-transcriptional changes, are initiated and controlled by signalling pathways that respond to extracellular cues.** Among these, transforming growth factor- β (TGF β) family signalling has a predominant role; however, the convergence of signalling pathways is essential for EMT.

Principali fattori di trascrizione della EMT: ruoli e regolazione



Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. Nat Rev Mol Cell Biol. 2014 Mar;15(3):178-96.

Fattori di trascrizione che regolano la EMT



Samatov TR, Tonevitsky AG, Schumacher U. Epithelial-mesenchymal transition: focus on metastatic cascade, alternative splicing, non-coding RNAs and modulating compounds. Mol Cancer. 2013 Sep 23;12(1):107.

The Journal of Clinical Investigation <http://www.jci.org> Volume 119 Number 6 June 2009

Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease

Hervé Acloque,¹ Meghan S. Adams,² Katherine Fishwick,²
Marianne Bronner-Fraser,² and M. Angela Nieto¹

¹Instituto de Neurociencias (CSIC-UMH), San Juan de Alicante, Spain. ²Division of Biology, California Institute of Technology, Pasadena, California, USA.

The events that convert adherent epithelial cells into individual migratory cells that can invade the extracellular matrix are known collectively as epithelial-mesenchymal transition (EMT). Throughout evolution, the capacity of cells to switch between these two cellular states has been fundamental in the generation of complex body patterns. Here, we review the EMT events that build the embryo and further discuss two prototypical processes governed by EMT in amniotes: gastrulation and neural crest formation. Cells undergo EMT to migrate and colonize distant territories. Not surprisingly, this is also the mechanism used by cancer cells to disperse throughout the body.