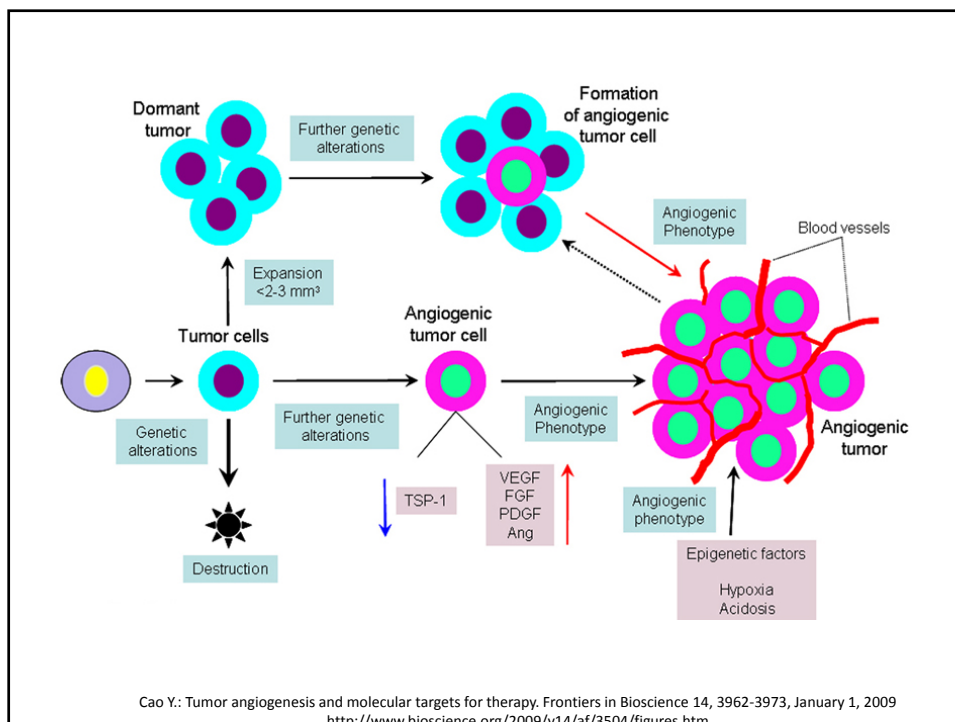


Seminari

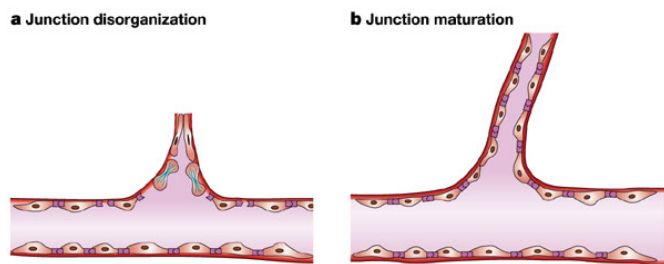
Struttura capillari normali e tumorali Ruolo della VE-caderina



Didascalia Figura Cao

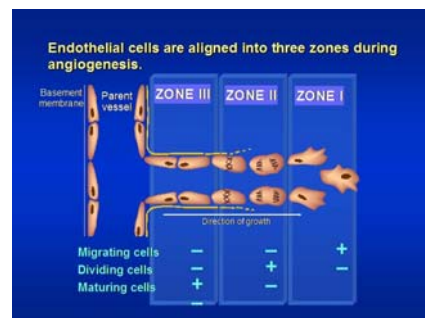
Meccanismi per la promozione di un fenotipo tumorale angiogenico

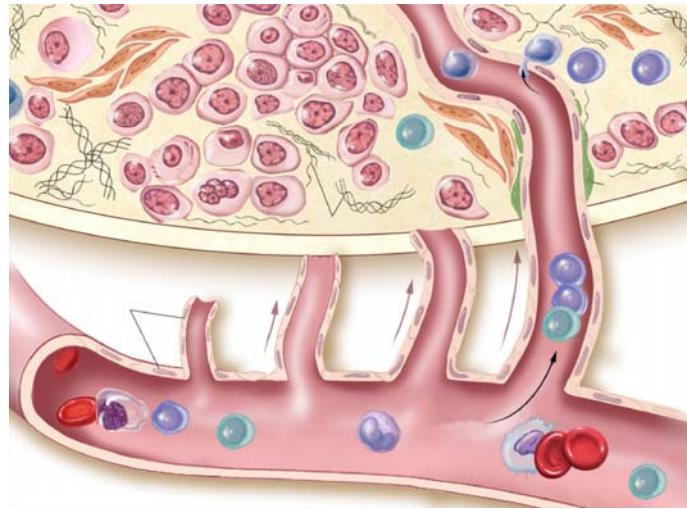
- Delle mutazioni in oncogeni e geni soppressori dei tumori portano alla trasformazione di una **cellula normale** in **cellula maligna**, che in molti casi è distrutta dai meccanismi di immunosorveglianza e da altri meccanismi (cellule scure).
- Alcune cellule maligne possono scappare al sistema immunitario ed espandersi fino a formare una massa microscopica con alcune centinaia di cellule (cellule verdi). Queste popolazioni non possono crescere ulteriormente oltre le dimensioni di 2-3 mm³ senza il reclutamento di nuovi vasi sanguigni e rimangono nel corpo per mesi o anni.
- Tuttavia, le cellule tumorali possono ancora dividersi nel tumore microscopico inattivo finché non diventano cellule tumorali angiogeniche (cellule rosse).
- Solo in rari casi una cellula maligna acquisisce un fenotipo angiogenico dall'inizio. Una volta che il fenotipo angiogenico viene innescato, la crescita e la progressione tumorale sono esponenziali.



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

ANGIOGENESI





Schema del microambiente tumorale, includendo cellule tumorali, cellule endoteliali, CD⁺ e CD⁻ e componenti della matrice extracellulare.

Burton ER, Libutti SK. Targeting TNF-alpha for cancer therapy. *J Biol.* 2009 Oct 23;8(9):85.
<http://jbiol.com/content/figures/jbiol189-1-1.jpg>

Healthy vessel



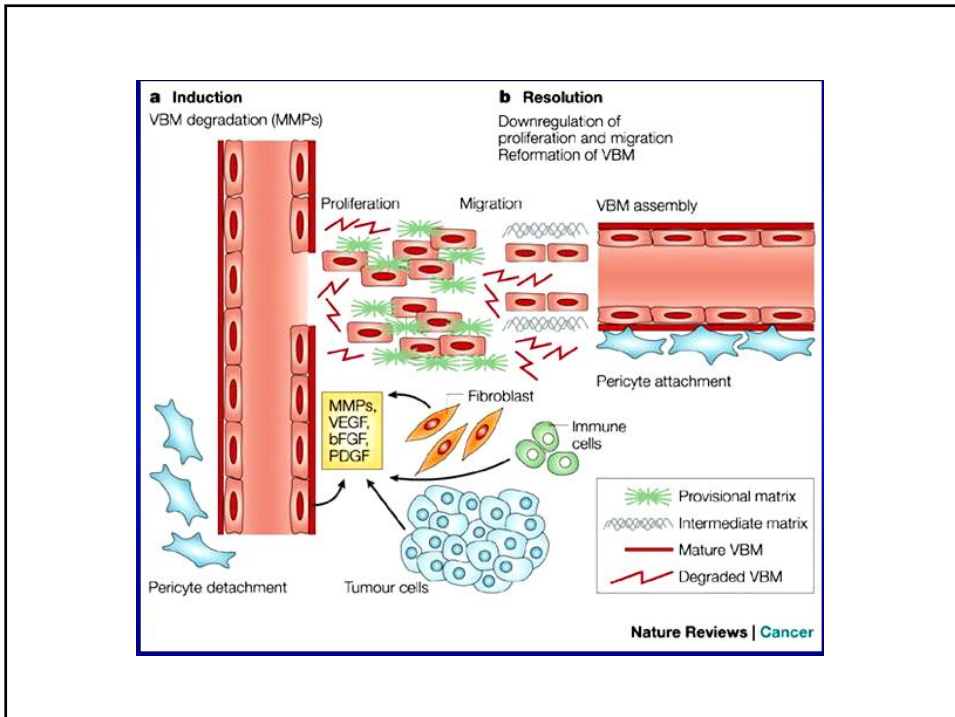
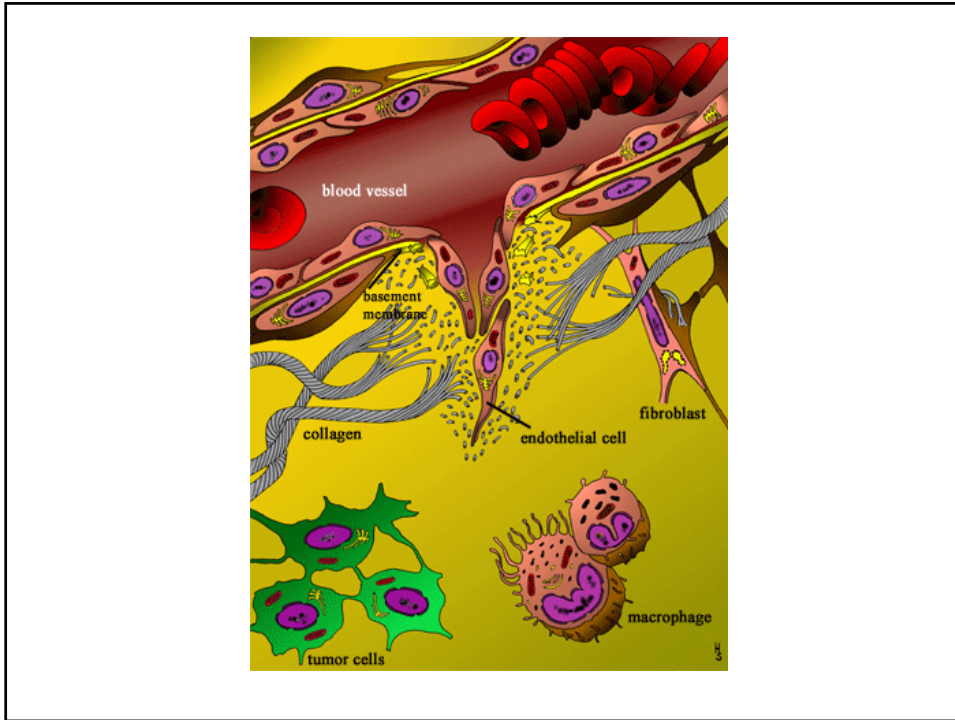
- Well organized
- Defined arterioles and venules
- Regularly distributed
- Non-dilated
- Non-permeable
- Mature and coated with mural cells
- Low interstitial pressure
- Complete basement membrane
- Endothelial cell and mural cell
- Appropriate expression of markers
- Normal rate of blood flow

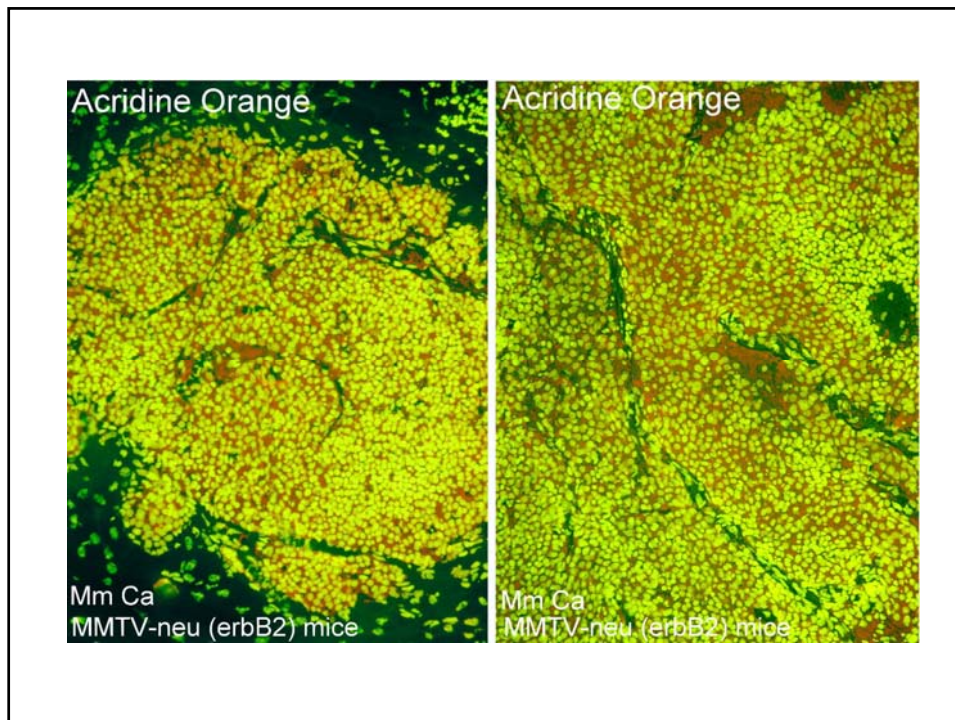
Tumor vessel



- Disorganized
- Undefined arterioles and venules
- Unevenly distributed
- Dilated
- Highly permeable
- Premature and lack of mural cells
- High interstitial pressure
- Lack basement membrane
- Mosaic cells
- High or low expression of markers
- Sluggish blood flow

<http://www.bioscience.org/2009/v14/af/3504/figures.htm>



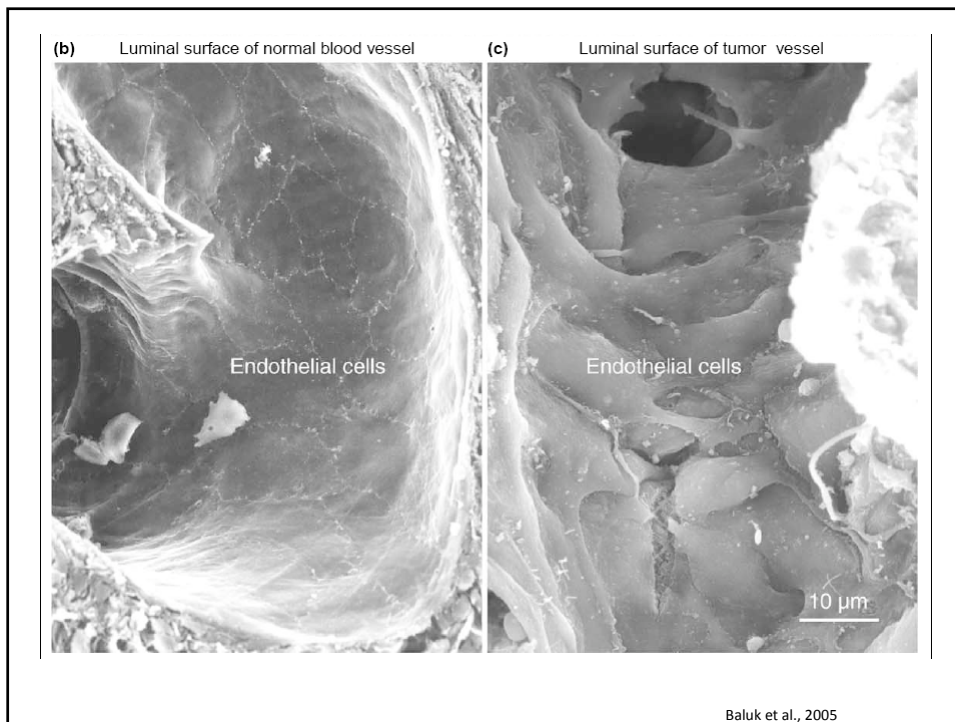
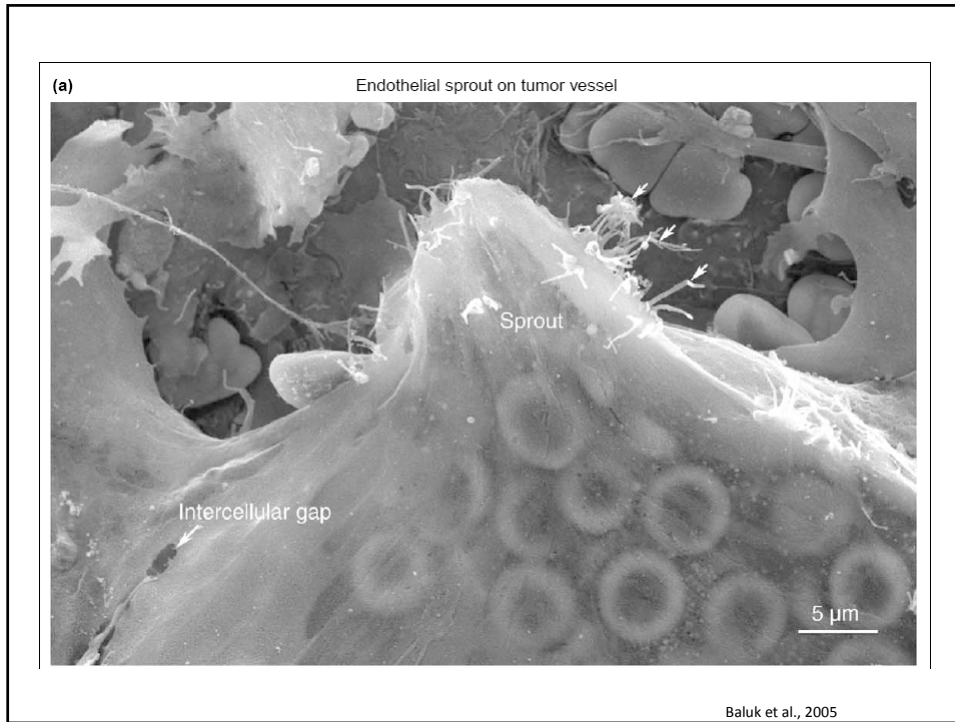


Cellular abnormalities of blood vessels as targets in cancer

Peter Baluk, Hiroya Hashizume and Donald M McDonald

Current Opinion in Genetics & Development 2005, 15:102-111

Tumor blood vessels have multiple structural and functional abnormalities. They are unusually dynamic, and naturally undergo sprouting, proliferation, remodeling or regression. The vessels are irregularly shaped, tortuous, and lack the normal hierarchical arrangement of arterioles, capillaries and venules. Endothelial cells in tumors have abnormalities in gene expression, require growth factors for survival and have defective barrier function to plasma proteins. Pericytes on tumor vessels are also abnormal. Aberrant endothelial cells and pericytes generate defective basement membrane. Angiogenesis inhibitors can stop the growth of tumor vessels, prune existing vessels and normalize surviving vessels. Loss of endothelial cells is not necessarily accompanied by simultaneous loss of pericytes and surrounding basement membrane, which together can then provide a scaffold for regrowth of tumor vessels. Rapid vascular regrowth reflects the ongoing drive for angiogenesis and bizarre microenvironment in tumors that promote vascular abnormalities and thereby create therapeutic targets.

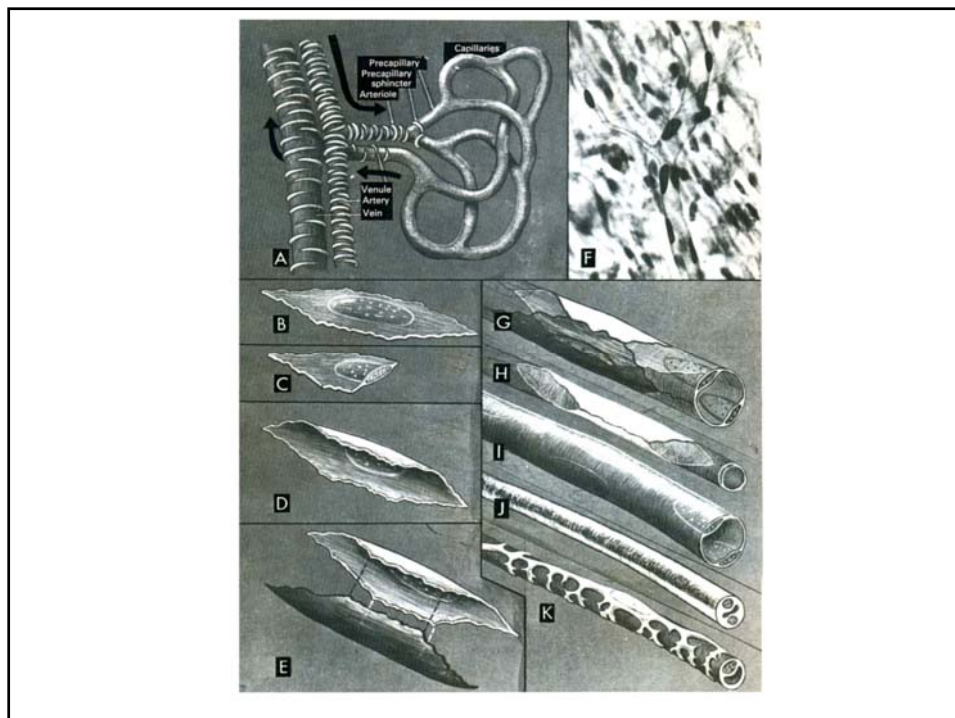


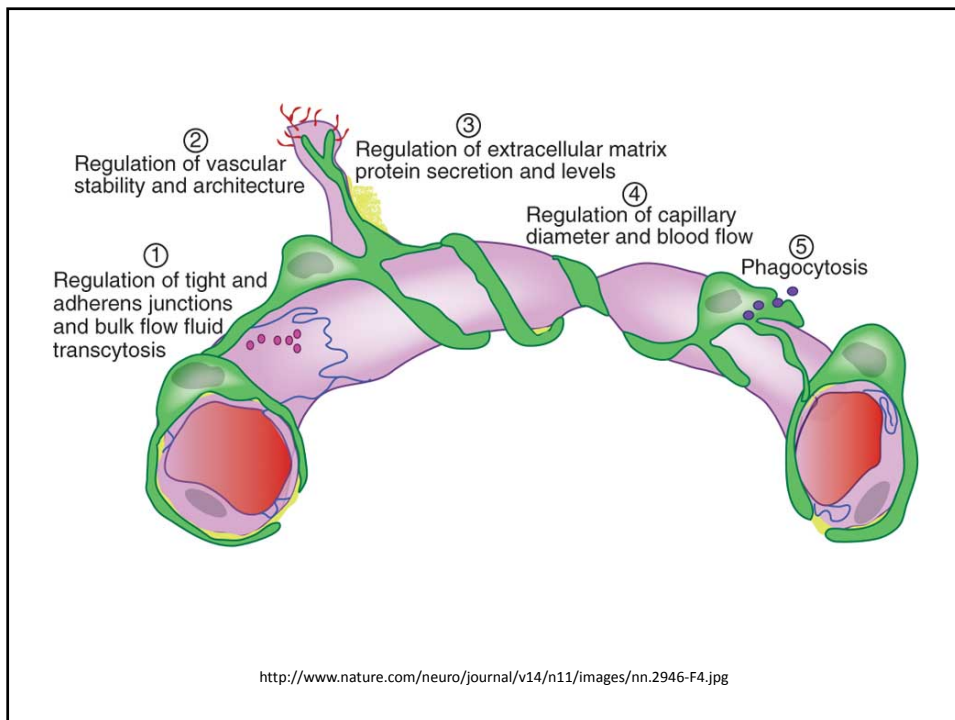
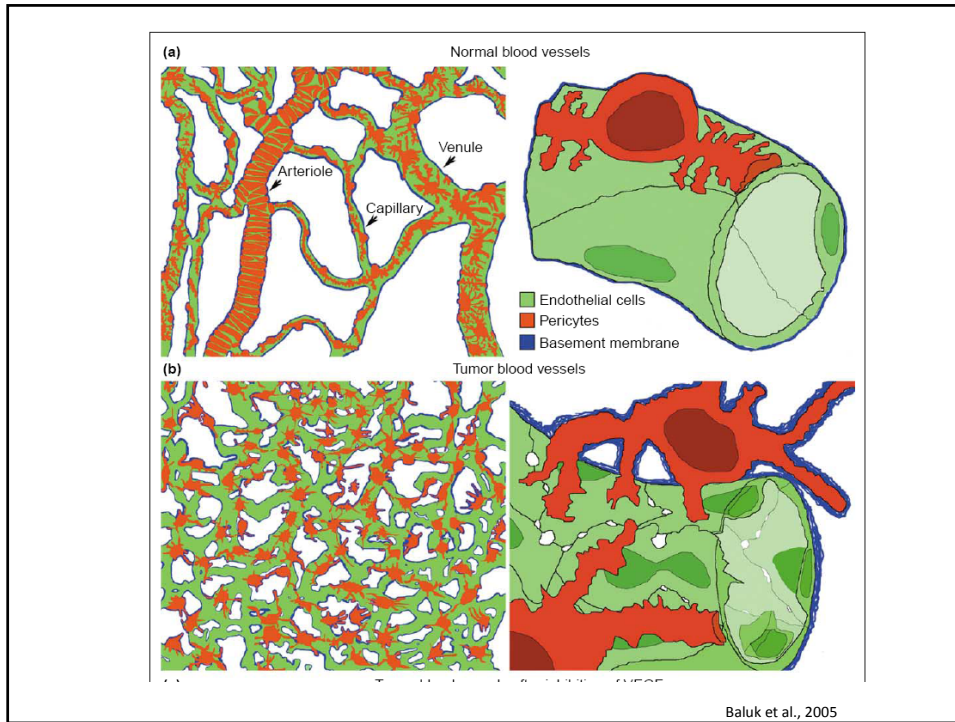
▼ CRESCITA E MANTENIMENTO DEI VASI SANI
 Le cellule endoteliali formano vasi sanguigni in risposta ai segnali di molecole che stimolano e inibiscono la crescita. I vasi sono sostenuti dai periciti e dalla membrana basale.

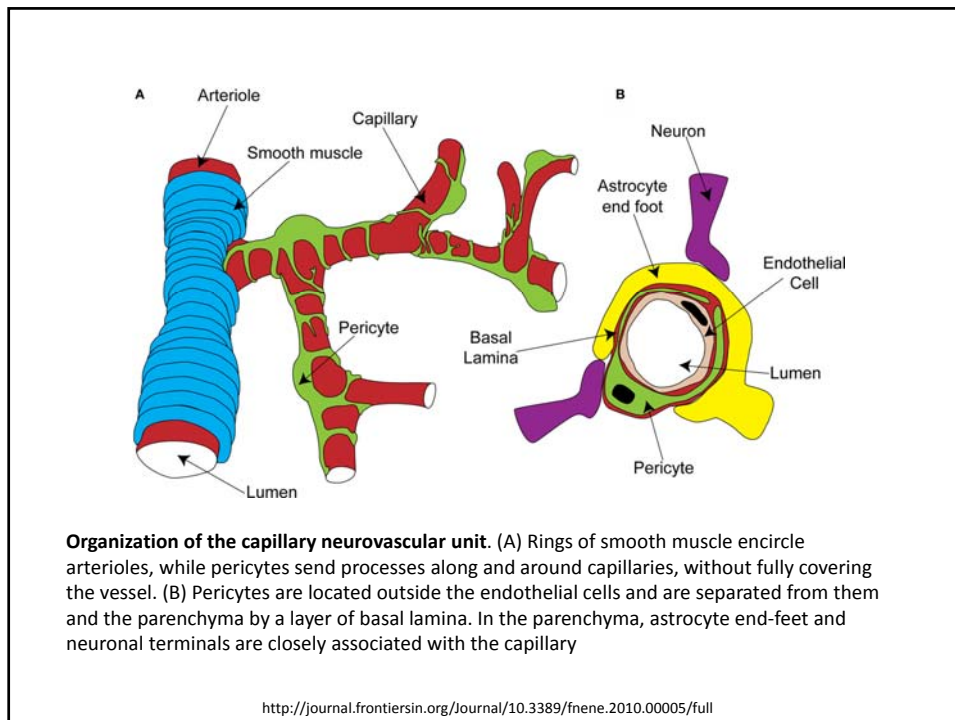
Periciti

- ✚ Cellule che si trovano attorno ai capillari e sono simili alle cellule muscolari lisce.
- ✚ Circondano l'endotelio come cellule singole.
- ✚ L'associazione con i periciti riduce l'apoptosi delle cellule endoteliali e stabilizza la vascolatura.

Dejana, 2008







Periciti & Cervello

1. Controllano l'integrità della "Brain-Blood-Barrier" (BBB) regolando l'orientamento e l'abbondanza delle proteine delle giunzioni tight e aderenti delle cellule endoteliali ed anche la velocità di transitosi di fluido (trasporto transendoteliale di vescicole piene di fluido);
2. Regolano la stabilità e l'architettura dei microvasi cerebrali neoformati;
3. Contribuiscono alla secrezione e regolano i livelli di proteine della matrice extracellulare formando la lamina basale;
4. Regolano il diametro dei capillari e il flusso sanguigno;
5. Forniscono le funzioni di "clearance" e fagocitosi del cervello.

Pericytes

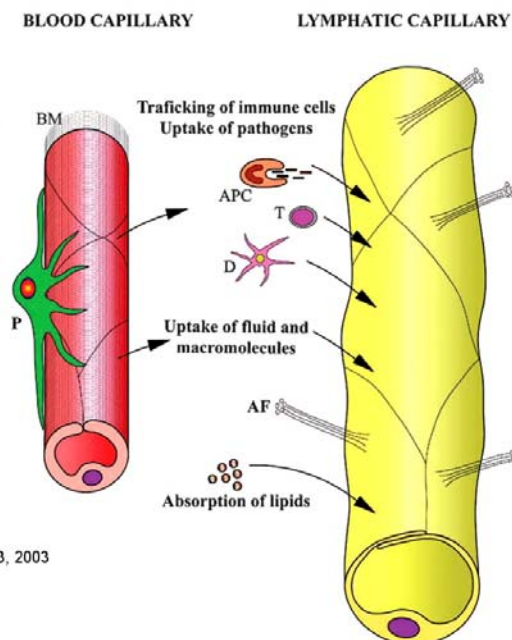
Pericytes are key cells in vascular development, stabilization, maturation and remodeling [23,24]. From both structural and functional studies, pericytes are known to be intimately associated with endothelial cells. Indeed, an important criterion in the identification of pericytes is their position, along with endothelial cells, within the vascular basement membrane. Pericytes are present on capillaries, postcapillary venules and collecting venules throughout the body. Nonetheless, pericytes on different segments of the microvasculature and in different organs differ in structure and expression of marker proteins. In addition, pericytes undergo phenotypic plasticity in disease, change in response to certain treatments, and are difficult to identify under some conditions because of the lack of unambiguous markers [25]. None of the conventional immunohistochemical markers of pericytes, including α -smooth muscle actin (α SMA), platelet derived growth factor receptor- β (PDGFR- β), high molecular weight melanoma-associated antigen (NG2) and aminopeptidases A and N [19,24] is unique to pericytes or is expressed by all pericytes.



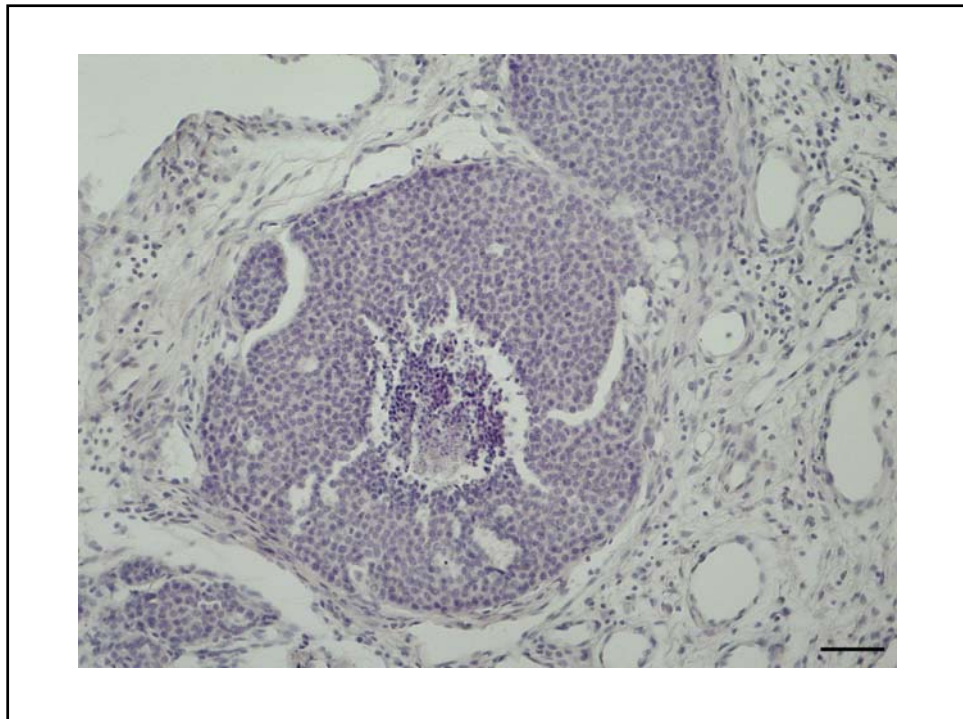
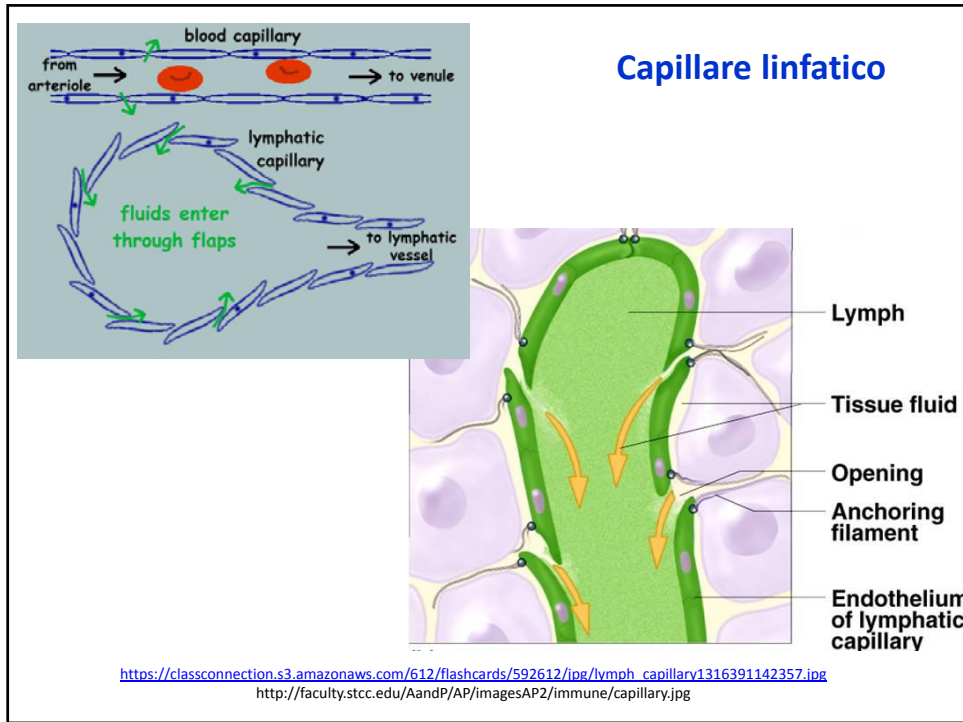
The vulnerability of newly formed blood vessels has been attributed to absence of pericytes as judged by lack of α SMA-immunoreactive cells. However, a single marker of pericytes will give misleading results when the pericytes are present but do not express the marker. Indeed, use of multiple markers has shown that pericytes are consistently present on tumor vessels [26] and other growing blood vessels at a stage when pericytes do not express α SMA [24,27,28].

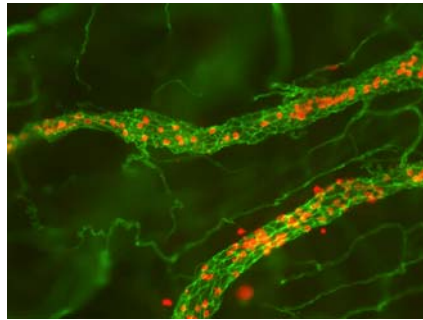
Baluk et al., 2005

Figure 1. Characteristic structure and function of the lymphatic microvasculature. The lymphatic capillary is uniquely adapted for the uptake of fluid, lipids, macromolecules, and cells from the interstitium. In contrast to the blood capillary, the lymphatic capillary has poorly developed basal lamina (BM) and is devoid of pericytes (P). Lymphatic endothelium is highly attenuated, and cells are connected directly to the interstitial collagen via anchoring filaments (AF). T, T cell; D, dendritic cell; APC, antigen presenting cell.



Pepper MS & Skobe M. J Cell Biol 163: 209-213, 2003





Molecole di adesione & angiogenesi

VE-CADERINA

Cavallaro U, Liebner S, Dejana E. **Endothelial cadherins and tumor angiogenesis**. Exp Cell Res. 312: 659-667, 2006.

- ✚ Le **giunzione aderenti**, e più specificamente le **caderine** giocano un ruolo importante nell'**integrità** e **crescita delle cellule endoteliali** e, in genere **nella morfogenesi vascolare**.
- ✚ Oltre alla loro proprietà adesive, le caderine possono funzionare trasferendo segnali intracellulari mediante l'interazione con una rete complessa di molecole citoscheletriche e di segnalamento.
- ✚ Le caderine possono segnalare in modi diversi:
 - Attivando direttamente le vie di segnalamento, mediante interazione con recettori cellulari specifici per fattori di crescita
 - Controllando la traslocazione di beta-catenina e/o altri fattori di trascrizione fino al nucleo.

- ✚ Le cellule endoteliali presentano diversi tipi di caderine che possono trasferire segnali specifici ed esercitare ruoli funzionali diversi:
 - La **VE-Caderina** è specifica per l'endotelio e la principale costituente della giunzioni aderenti. Questa proteina è in grado di proteggere le cellule endoteliali dall'apoptosi e contribuisce all'inibizione di contatto per la crescita endoteliale.
 - La N-caderina è anche essa abbondantemente espressa dall'endotelio e può essere importante per modulare l'espressione della VE-caderina.
 - La T-caderina, la R-caderina e la VE-caderina 2 furono identificate in regioni specifiche dell'albero vascolare ma il loro ruolo nello sviluppo vascolare o nell'angiogenesi è ancora poco noto.

Caderine endoteliali: localizzazione e funzione.

- ✚ La **VE-caderina** è localizzata nelle **giunzioni aderenti** fra cellule adiacenti, dove media l'adesione cellula-cellula di tipo omotipico, l'inibizione di contatto e la sopravvivenza.
- ✚ Vice-versa, la N-caderina si trova nei siti di contatto fra le cellule endoteliali e le cellule della parete dei vasi ("cellule murali"), dove è coinvolta nell'adesione cellula-cellula di tipo eterotipico.
- ✚ La funzione adesiva della VE-caderina2 e della R-caderina non è ancora nota.
- ✚ La T-caderina non ha proprietà adesive e potrebbe essere coinvolta nell'indirizzamento dei vasi.

Vascular Endothelial Cadherin (VE-cadherin) (1) (Cadherin 5, type 2 or VE-cadherin, CD144 (Cluster of Differentiation 144))

- ✚ Caderina codificata dal gene umano CDH5.
- ✚ La **VE-caderina** è una classica caderina della superfamiglia delle caderine il cui gene è localizzato in un cluster di sei caderine in una regione del braccio lungo del cromosoma 16 che è coinvolto nella perdita di eventi di eterozigosi nei **tumori del seno e della prostata**.
- ✚ La proteina codificata è una glicoproteina di adesione cellula-cellula Ca^{2+} -dipendente composta da 5 ripetizioni caderiniche extracellulari, una regione transmembrana e una coda citoplasmatica altamente conservata.
- ✚ Funzionando come una **caderina classica** conferendo alle cellule la capacità di **aderire in modo omofilico**, la proteina può giocare un ruolo importante nella **biologia delle cellule endoteliali** mediante il controllo della coesione e l'organizzazione delle giunzioni intracellulari.

<http://en.wikipedia.org/wiki/VE-cadherin>

Vascular Endothelial Cadherin (VE-cadherin) (2)

- ✚ **L'integrità delle giunzioni intercellulari** è il principale determinante della **permeabilità dell'endotelio**, e si ritiene che la giunzione aderente basata sulla VE-caderina sia particolarmente importante.
- ✚ La VE-caderina è richiesta per mantenere una barriera endoteliale restrittiva:
 - Studi con anticorpi contro la VE-caderina hanno dimostrato di aumentare la permeabilità di un monostrato di cellule endoteliali e, in vivo, di aumentare l'edema interstiziale e l'emorragia.
- ✚ La VE-caderina è indispensabile per lo **sviluppo corretto dei vasi sanguigni**.

N-cadherin/p120 Catenin Association at Cell-Cell Contacts Occurs in Cholesterol-rich Membrane Domains and Is Required for RhoA Activation and Myogenesis*

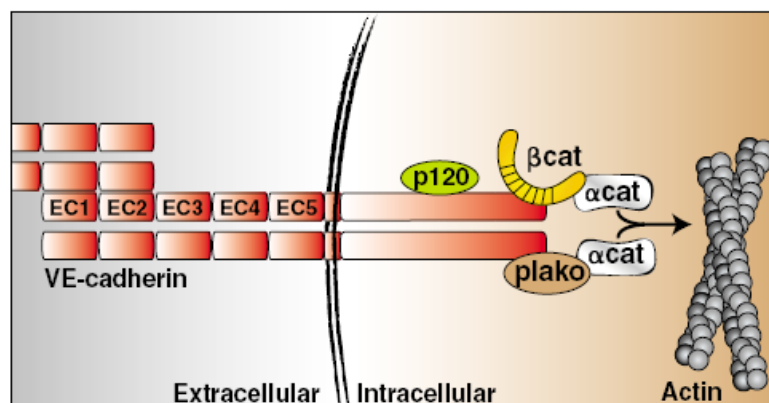
Received for publication, May 6, 2009, and in revised form, June 17, 2009. Published, JBC Papers in Press, June 22, 2009, DOI 10.1074/jbc.M109.017665

Nicolas Taulet^{†1}, Franck Comunale[‡], Cyril Favard[§], Sophie Charrasse[¶], Stéphane Bodin^{†2}, and Cécile Gauthier-Rouvière^{†2,3}

p120 catenin is a major regulator of cadherin stability at cell-cell contacts and a modulator of Rho GTPase activities. In C2C12 myoblasts, N-cadherin is stabilized at cell contacts through its association with cholesterol-rich membrane domains or lipid rafts (LR) and acts as an adhesion-activated receptor that activates RhoA, an event required for myogenesis induction. Here, we report that association of p120 catenin with N-cadherin at cell contacts occurs specifically in LR. We demonstrate that interaction of p120 catenin with N-cadherin is required for N-cadherin association with LR and for its stabilization at cell contacts. LR disruption inhibits myogenesis induction and N-cadherin-dependent RhoA activation as does the perturbation of the N-cadherin-p120 catenin complex after *p120 catenin* knockdown. Finally, we observe an N-cadherin-dependent accumulation of RhoA at phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate-enriched cell contacts which is lost after LR disruption. Thus, a functional N-cadherin-catenin complex occurs in cholesterol-rich membrane microdomains which allows the recruitment of RhoA and the regulation of its activity during myogenesis induction.

The role of adherens junctions and VE-cadherin in the control of vascular permeability

Elisabetta Dejana^{1,2,*}, Fabrizio Orsenigo¹ and Maria Grazia Lampugnani^{1,2}



Organizzazione molecolare delle giunzione aderenti (AJs) degli endoteli - 1

- ✦ La caderina VE è rappresentata come un dimerico, la minima unità funzionale delle caderine;
- ✦ EC1-EC5 sono i cinque domini extracellulari omologhi della VE-caderina.
- ✦ L'aggregazione della VE-caderina nei punti di contatto cellula-cellula promuove la formazione di complessi multimolecolari che comprendono proteine con funzioni nel segnalamento, regolatorie e "scaffold".
- ✦ Le proteine ben note per l'interazione con la VE-caderina includono le proteine della famiglia della catenine **p120**, **β -catenina** (β cat) e **placcoglobina** (plako).
- ✦ La β -catenina e la placcoglobina si associano direttamente con la VE-caderina e con la **α -catenina** (α cat).

Dejana et al., 2008

Organizzazione molecolare delle giunzione aderenti (AJs) degli endoteli - 2

- ✦ Alcune proteine che interagiscono con la VE-caderina hanno **attività enzimatica** (**tirosina o serina chinasi, tirosina fosfatasi e GTPasi**).
- ✦ Altre hanno funzione di "**scaffold**", che potrebbe permettere l'organizzazione di aggregate molecolari complessi. Le proteine illustrate ... si assemblano formando **complessi multimerici nelle AJs** che possono **modular la funzione della barriera endoteliale**, regolando l'attività della VE-caderina e trasducendo segnali intracellulari.
- ✦ C'è una probabile specificità nella composizione molecolare di tali complessi, che dipende dal tipo e dallo stato di attivazione dei vasi sanguigni.

ENDOTHELIAL CELL-CELL JUNCTIONS: HAPPY TOGETHER

Elisabetta Dejana

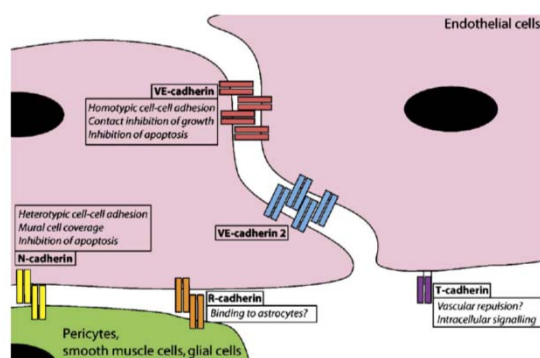
Junctional structures maintain the integrity of the endothelium. Recent studies have shown that, as well as promoting cell-cell adhesion, junctions might transfer intracellular signals that regulate contact-induced inhibition of cell growth, apoptosis, gene expression and new vessel formation. Moreover, modifications of the molecular organization and intracellular signalling of junctional proteins might have complex effects on vascular homeostasis.



Endothelial cadherins and tumor angiogenesis

Cell. Mol. Life Sci. 65 (2008) 3756–3788

Ugo Cavallaro^a, Stefan Liebner^d, Elisabetta Dejana^{a,b,c,*}



Adherens junctions and more specifically cadherins play an important role in endothelial cell integrity and growth and, in general, in vascular morphogenesis. Besides their adhesive properties, cadherins may act by transferring intracellular signals through interaction with a complex network of cytoskeletal and signaling molecules. Cadherins may signal in different ways: through direct activation of signaling pathways, through interaction with cell-specific growth factor receptors or by controlling beta-catenin and/or other transcription factors' translocation to the nucleus. Endothelial cells present different cadherins which may transfer specific signals and exert distinct functional roles. VE-cadherin is endothelial-specific and the major constituent of adherens junctions. This protein is able to protect endothelial cells from apoptosis and contributes to contact inhibition of endothelial cell growth. N-cadherin is also abundantly expressed in the endothelium and may be important in modulating VE-cadherin expression. T-cadherin, R-cadherin and VE-cadherin 2 were found in specific regions of the vascular tree but their role in vascular development or angiogenesis is still unclear.

