

Glicoproteine (Introd. 1)

- ✚ Circa 200 tipi di glicoproteine complesse che svolgono miriadi di funzioni sono state identificate nel matrisoma dei mammiferi:
 - **Interazioni che permettono l'assemblaggio della MEC.**
 - Presenza di **domini** e **motivi** che **promuovono l'adesione cellulare e segnalamento** verso le cellule.
 - **Domini** che **legano fattori di crescita.**
- ✚ I **fattori di crescita legati** possono servire da **serbatoi che possono venire rilasciati** (ad es. mediante proteolisi) oppure **presentati come ligandi in fase solida** dalle proteine della MEC.
- ✚ Le più note sono le **laminine** (11 geni; 5 tipi di catene α , 3 tipi di catene β , 3 tipi di catena γ) e le **fibronectine** (1 gene che codifica diverse varianti di splicing).
- ✚ Sono molto studiate anche le **trombospondine** e le **tenascine**.

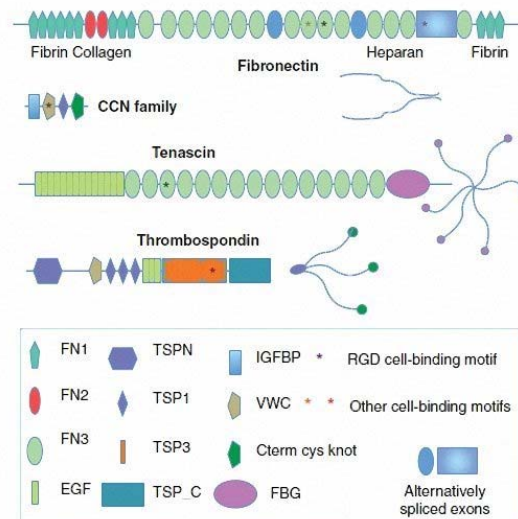
Hynes RO, Naba A. **Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions.** Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Jan 1;4(1):a004903.

Glicoproteine (Introd. 2)

- Due sottogruppi sono studiati particolarmente nell'ambito del sistema nervoso (es. netrins, slits, reelin, agrin, SCO-spondin) e del sistema emostatico (fattore di von Willebrand, vitronectina, fibrinogeno – una proteina facoltativa della MEC).
- Un altro gruppo molto studiato in diversi contesti normali e patologici che riguardano la **regolazione del Transforming Growth Factor beta** (TGF- β) comprende le fibrilline e le «Latent transforming growth-factor β -binding proteins», LTBPs.

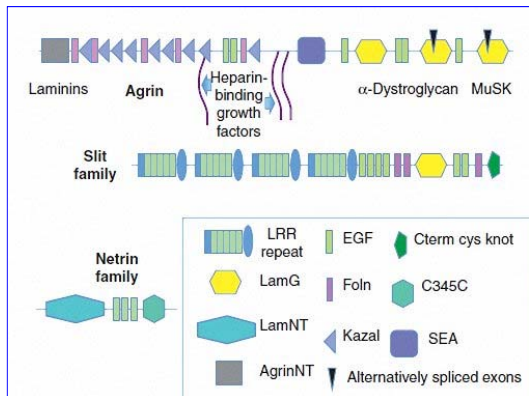
Hynes RO, Naba A. Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Jan 1;4(1):a004903.

Esempi di strutture caratteristiche delle glicoproteine della MEC



Hynes RO, Naba A. Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Jan 1;4(1):a004903.

Glicoproteine con ruoli particolari nel sistema nervoso



These three proteins are involved in **synapse formation (Agrin)** and in **axonal guidance (Slits and Netrins)**. Sites for binding other ECM proteins (laminins), growth factors, and cell-surface receptors (α -dystroglycan and MuSK) are indicated for agrin. Slit also contains known GF-binding domains (Folln). Agrin has two small alternatively spliced exons that markedly affect its functions, a characteristic of many ECM proteins. **Unlike many ECM proteins, the major receptors for these three proteins are not integrins.** Slit family proteins bind to Robo receptors, whereas Netrins bind to Unc5 and DCC receptors. The functions of these ECM-receptor pairs in the CNS are discussed in Barros et al. (2011) but they also function in other aspects of cell and tissue pattern regulation during development. They are evolutionarily ancient and are conserved in all bilateral phyla.

Hynes RO, Naba A. **Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions.** Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Jan 1;4(1):a004903.

Fattori di crescita e secreti legati alla MEC (1)

- ✚ **Molti fattori di crescita si legano alle proteine della MEC** e debbono essere considerati come componenti della MEC.
- ✚ E' vero che molti fattori di crescita e secreti **si legano ai GAGs**, e specialmente ai **GAGs ad eparan solfato**.
- ✚ Tuttavia, molti fattori di crescita si possono legare a **domini specifici della proteine** della matrice:
 - La fibronectina si può legare specificamente a diversi tipi di fattori di crescita (VEGF, HGF, PDGF, ecc.)
 - I domini von Willebrand factor di tipo C (VWC/chordin) e follistatin che si trovano in molte proteine legano le "bone morphogenetic proteins" (BMPs),
 - Il TGF si lega specificamente a domini TB delle «Latent transforming growth-factor β -binding proteins» (LTBPs) che a loro volta si legano alle fibrilline e a matrici ricche di fibronectina.
 - Importante: mutazioni nelle fibrilline influenzano la regolazione della funzione del TGF- β nel sindrome di Marfan e altre patologie.

Hynes RO, Naba A. **Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions.** Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Jan 1;4(1):a004903.

Fattori di crescita e secreti legati alla MEC (2)

- ✚ La MEC può fungere da **serbatoio di fattori di crescita**.
- ✚ Vi sono molti esempi di questo per le chemochine e per molti dei più importanti fattori di differenziamento (es. VEGFs, Wnt, Hhs, BMPs, FGFs)
- ✚ Tali fattori formano **gradienti che controllano la formazione dei diversi pattern tissutali** durante lo sviluppo embrionale;
- ✚ I gradienti sono fortemente influenzati dal legame alla MEC.

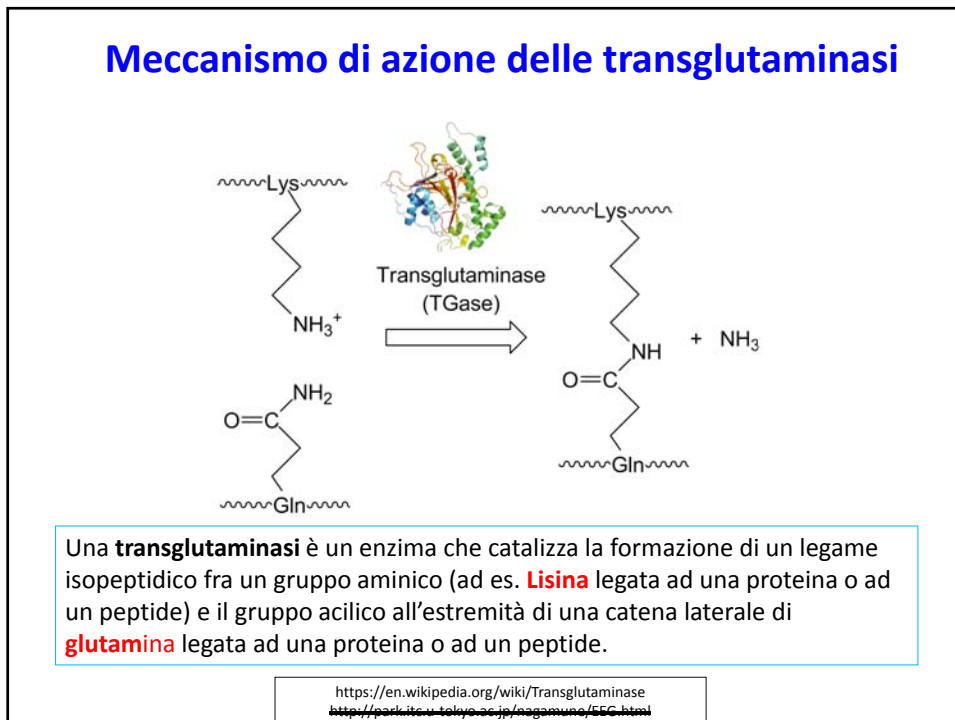
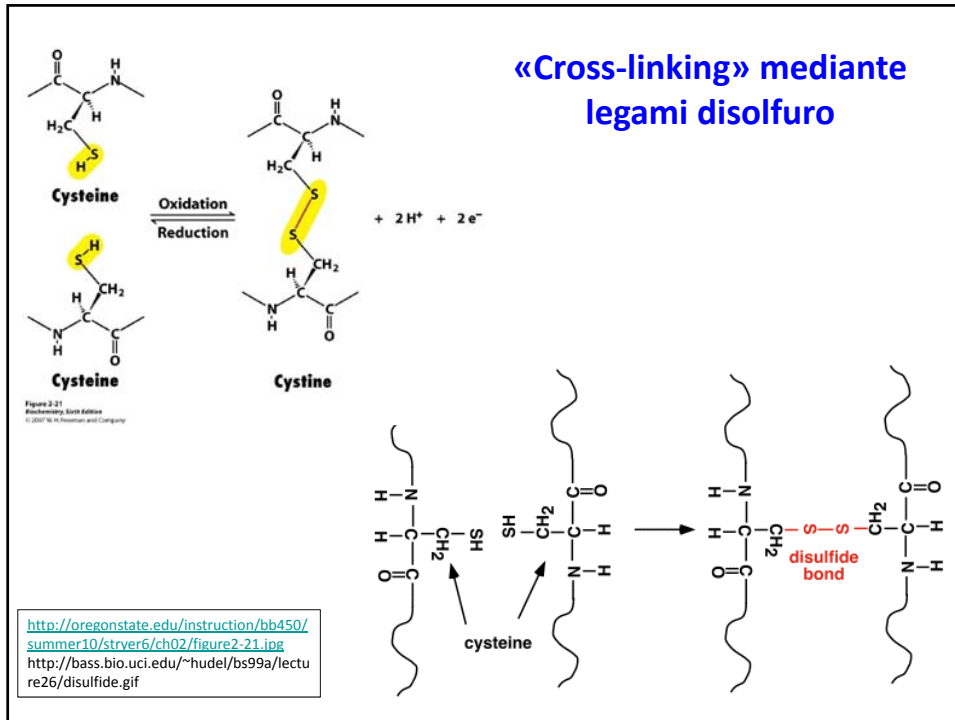
[**Chemochine**: piccole citochine (molecole di segnalamento) secrete dalle cellule. Il nome deriva dalla loro **capacità di indurre la chemotassi** in cellule vicine responsive]

Hynes RO, Naba A. **Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions**. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Jan 1;4(1):a004903.

Agenti che modificano la struttura e la funzione della MEC (1)

- ✚ Le proteine della MEC e le fibrille in cui si assemblano sono in seguito spesso **modificate** in modo significativo.
- ✚ I collagene subiscono legami incrociati («**cross-links**») mediante **legami disolfuro** (S-S) o derivati dall'azione di **transglutaminasi** o **lisil ossidasi** e idrossilasi:
 - ◆ Le laminine e altre proteine della membrana basale subiscono «cross-links» mediante legami disolfuro.
 - ◆ Idem per la fibronectina che inoltre subisce ulteriore processamento ad uno stato caratterizzato da insolubilità in desossicolato (DOC).
 - ◆ Anche la fibronectina e altre proteine della MEC sono substrati per la transglutaminasi 2 che contribuisce indubbiamente all'insolubilità della MEC.

Hynes RO, Naba A. **Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions**. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Jan 1;4(1):a004903.

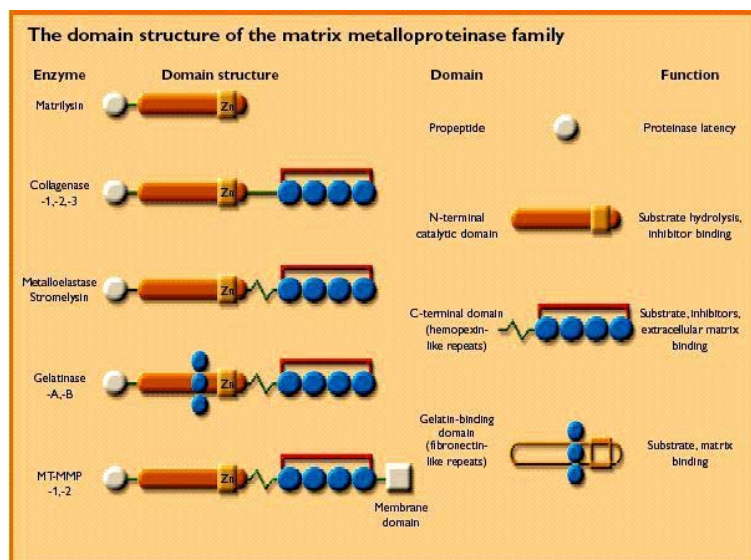


Agenti che modificano la struttura e la funzione della MEC (2)

- ✚ Anche gli **enzimi proteolitici** modificano la MEC:
 - ◆ Ad es le pro-peptidasi dei procollageni sono necessarie per processare i collageni in modo che essi possano polimerizzare.
 - ◆ I collageni e altre proteine della MEC sono inoltre substrati per le metalloproteinasi della matrice (MMPs) e per le proteasi ADAMTs («A Desintegrin and a Metalloproteinase with a Thrombospondin domain»).
 - ◆ Molti altri enzimi proteolitici (elastasi, catepsine, diverse serina esterasi proteasi, ecc.) possono intervenire su diverse proteine della MEC.
- ✚ Queste proteasi sono coinvolte nel **turn-over della MEC** e inoltre probabilmente contribuiscono a **rilasciare fattori di crescita** legati alla matrice oppure **ad esporre attività criptiche** della MEC, incluso il rilascio di **inibitori dell'angiogenesi**.

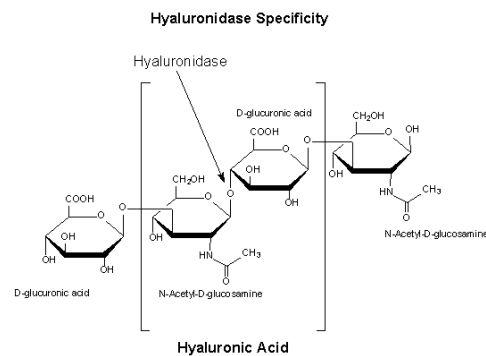
Hynes RO, Naba A. Overview of the *matrisome*--an inventory of extracellular matrix constituents and functions. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Jan 1;4(1):a004903.

Struttura a domini delle MMPs

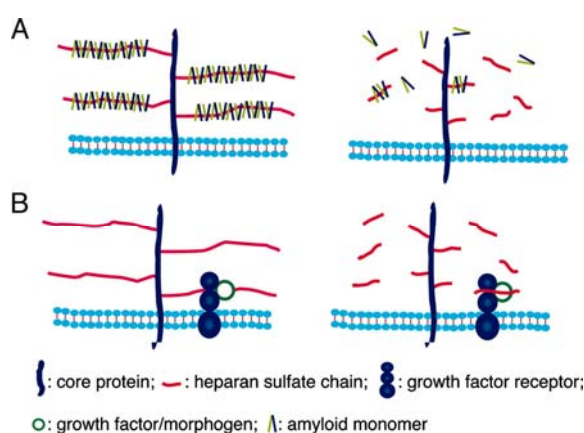


Agenti che modificano la struttura e la funzione della MEC (3)

- Allo stesso modo, **enzimi che degradano i GAGs**, quali ad esempio le **ialuronidasi**, le **eparanasi** e le **solfatasi**, possono alterare le proprietà dei PGs della matrice.
- Il **rimodellamento della MEC** da parte di queste attività ha effetti estremamente importanti nello sviluppo embrionale e nelle patologie.



Proposed models of HS function in normal and heparanase-overexpressing tissues



(A) Polyvalent interaction. Efficient polymerization and deposition of amyloid peptides is promoted by intact HS (Left), but not by fragments of HS generated upon cleavage of HS by heparanase (Right). **(B)** Monomeric/oligomeric interactions with proteins. HS side chains of a cell-surface HS proteoglycan bind a ligand (e.g., growth factor, morphogen) and its receptor. Complex formation (here shown to involve a monomeric receptor only) is promoted by the intact HS chain (Left) as well as by HS fragments released by heparanase (Right).

Li JP, Galvis ML, Gong F, Zhang X, Zcharia E, Metzger S, Vlodavsky I, Kisilevsky R, Lindahl U. **In vivo fragmentation of heparan sulfate by heparanase overexpression renders mice resistant to amyloid protein A amyloidosis.** Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 May 3;102(18):6473-7.

<http://www.pnas.org/content/102/18/6473/F4.large.jpg>

Recettori cellulari per la MEC (integrine e non solo) (1)

- ✚ La MEC influenza il comportamento cellulare tramite **recettori specifici**.
- ✚ I principali recettori sono la famiglia delle **integrine**, che comprende 24 eterodimeri $\alpha\beta$.
- ✚ Un altro recettore per le proteine della MEC è il **distroglicano**, che si lega alla laminina, agrina e perlecano nelle membrane basali ed anche alle neurexine transmembrana.
- ✚ Ciascuno di questi ligandi del distroglicano contiene domini LamG che si legano al distroglicano in modo dipendente dalla glicosilazione, probabilmente mediante legame alle catene di carboidrati laterali del distroglicano.
 - ◆ Mutazioni nel distroglicano o nelle sue proteine associate nella membrana o nel citoscheletro (o nella laminina) possono produrre varie forme di **distrofia muscolare**, a causa della perdita del collegamento transmembrana alla membrana basale che circonda le cellule muscolari.

Hynes RO, Naba A. **Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions**. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Jan 1;4(1):a004903.

Recettori cellulari per la MEC (integrine e non solo) (1)

- ✚ Altri recettori cellulari per la MEC includono:
 - ◆ La GPVI sulle piastrine e le tirosina chinasi «Discoidin Domain receptor» (DDR), tutti recettori per i collagenei.
 - ◆ Il complesso GPIb/V/IX, che forma un recettore per il fattore di von Willebrand nelle piastrine
 - ◆ **CD44**, che si lega all'ialuronato ed è espresso in molte cellule.
- ✚ Oltre a collegarsi ai ligandi extracellulari questi recettori per la matrice forniscono **collegamenti transmembrana al citoscheletro** e alle vie di trasduzione del segnale.
- ✚ I **domini citoplasmatici dei recettori** per la MEC **assemblano grandi complessi dinamici di proteine** che **regolano l'assemblaggio del citoscheletro** ed all'interno delle cellule **e attivano molte cascate di segnalazione**.
- ✚ Questo è vero non solo per le integrine ma anche per gli altri tipi di recettore.

Hynes RO, Naba A. **Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions**. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Jan 1;4(1):a004903.

Le componenti extracellulari dell'adesione cellulare

- ✦ In vitro, l'**adesione**, l'**espansione** e la **migrazione** delle cellule richiedono **interazioni tra la cellula e la MEC**.
- ✦ Il grado di espansione dipende dalla **concentrazione delle componenti della MEC**, ossia del **numero di contatti focali** stabiliti.
- ✦ **Quando una cellula incontra quantità limitate di sostanze adesive, essa tende a migrare verso regioni dove la concentrazione è sufficiente per permettere alle cellule di espandersi.**
- ✦ Sembra che la migrazione abbia luogo quando le interazioni cellula-matrice sono poche in numero ma tali da conferire la **trazione** necessaria per la migrazione:
 - ✦ L'aumento del numero di punti di adesione cellulare immobilizza la cellula.
- ✦ Si ritiene che meccanismi simili abbiano luogo durante lo sviluppo embrionale, i processi di riparo e la disseminazione metastatica.

Smith & Wood, 1999

Extracellular matrix, integrins, and growth factors as tailors of the stem cell niche

Current Opinion in Cell Biology 2012, 24:645–651

Maria Felice Brizzi¹, Guido Tarone² and Paola Defilippi²

It is widely acknowledged that **integrins**, the major receptors for the extracellular matrix (ECM) proteins, **exert an extensive crosstalk with many growth factor and cytokine receptors**. Among them, growth factor receptors, such as the EGFR, MET, PDGFR and VEGFR, and the IL-3 receptor have been shown to be physically and functionally associated to integrins. The **connection between integrins and other transmembrane receptors is bidirectional**, integrins being essential for receptor signalling, and receptors being involved in regulation of integrin expression or activation. Moreover, there is accumulating evidence for **direct binding of specific growth factors and morphogens to the ECM proteins** suggesting that **ECM might spatially integrate different types of signals in a specific microenvironment, facilitating integrin/transmembrane receptors connection**. These interactions **are crucial in controlling a variety of cell behaviours including proliferation, survival and differentiation**. The increasing interest for cell therapy in **regenerative medicine** has recently emphasized the **role of cell-ECM adhesion as stem cell determinant**. The relevance of ECM, integrins and growth factor receptor network in the establishment of stem cell niche, in maintenance of stem cells and in their differentiation will be analyzed in the present review.

