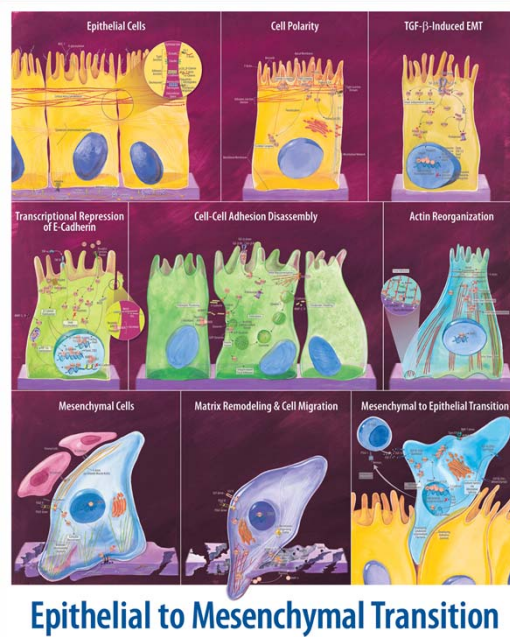
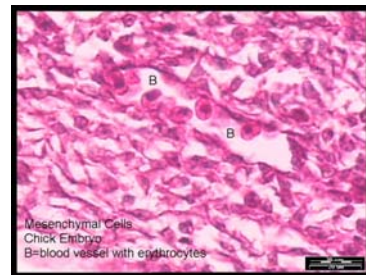
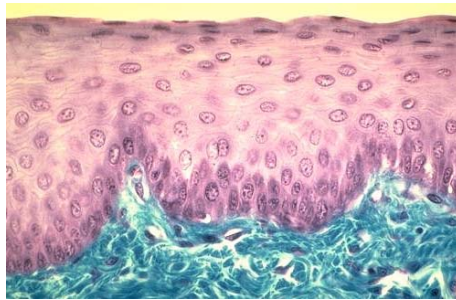


Transizioni Epitelio \leftrightarrow Mesenchimale (EMT & MET)

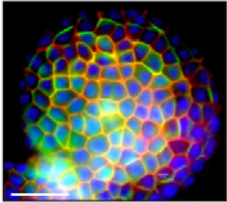
Ruolo nello sviluppo embrionale
e nelle patologie



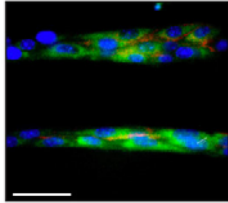
https://resources.rndsystems.com/images/site/emt_poster_2000x3000.gif

Epithelial cells in 3D culture

before EMT



after EMT

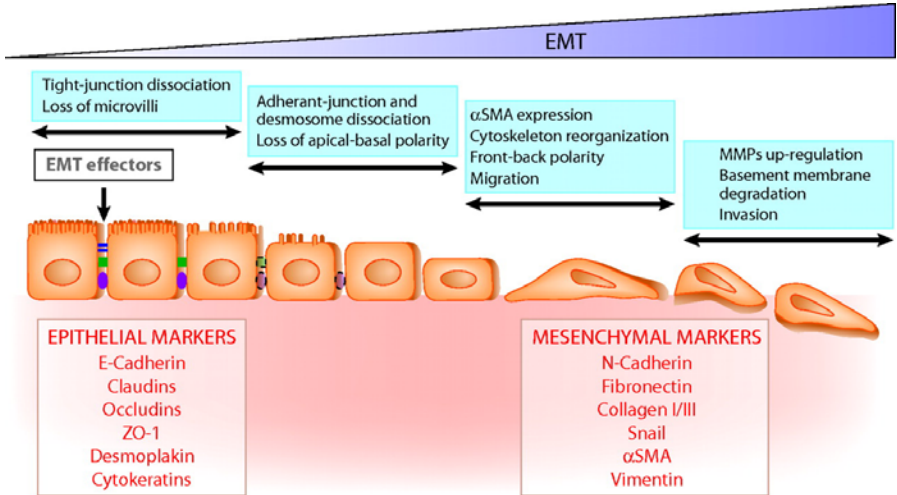


E-cadherin,
β-actin, DNA

Vimentin,
β-actin, DNA

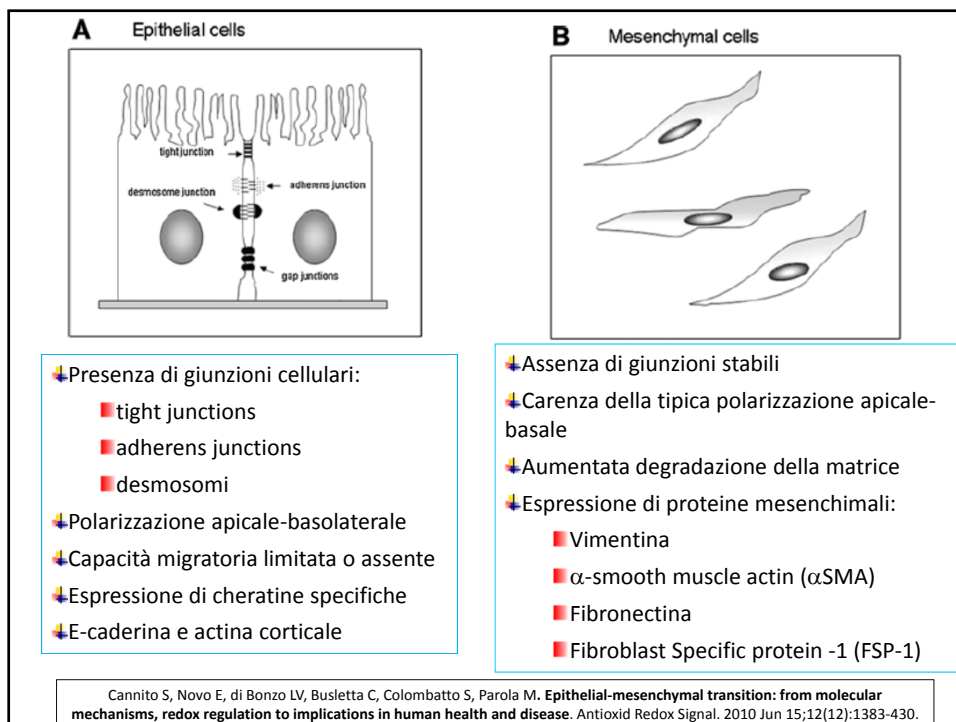
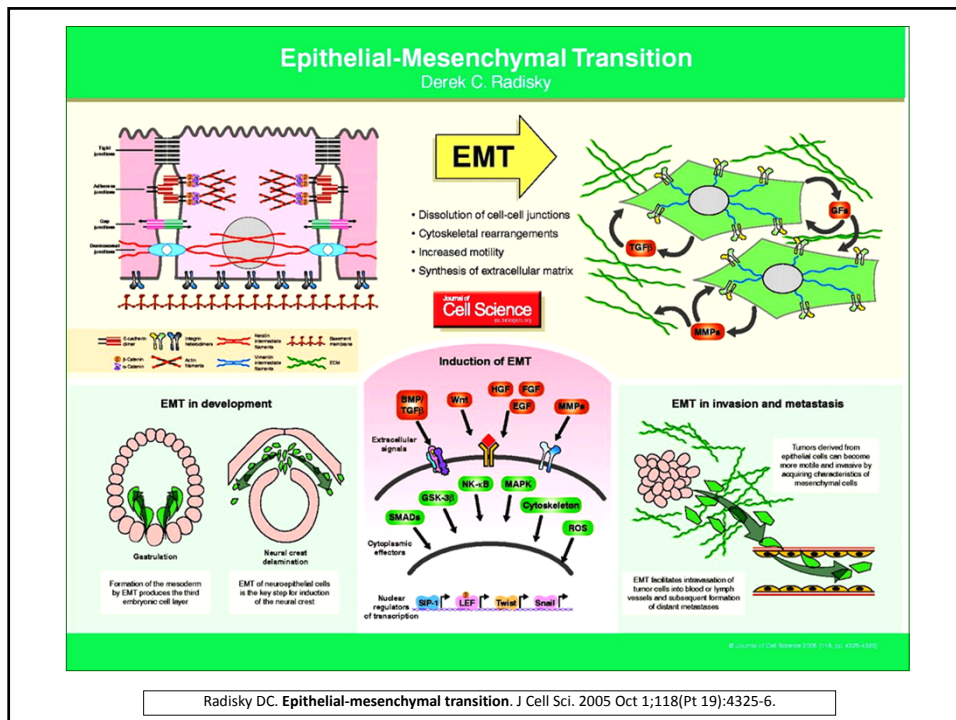
NMuMG-Ras) in collagen gel cultures (3D) form hollow, alveolar structures of **polarized epithelial cells (left panels) expressing E-cadherin and a cortical actin ring but no mesenchymal markers (vimentin)**. Addition of TGFβ (6 days) induces these cells to **undergo epithelial-mesenchymal transition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

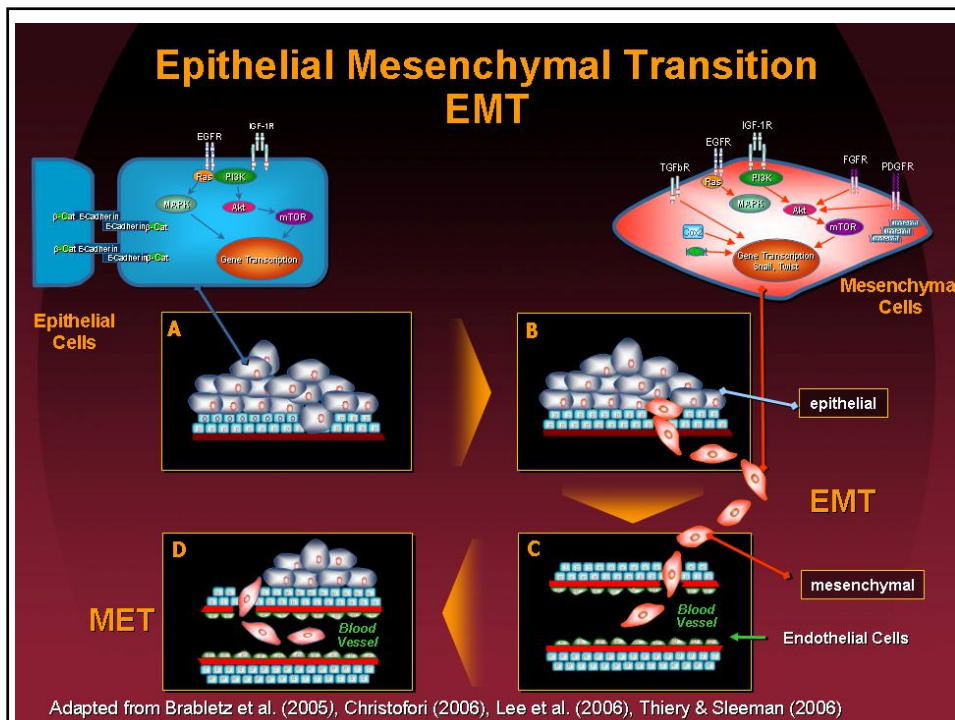
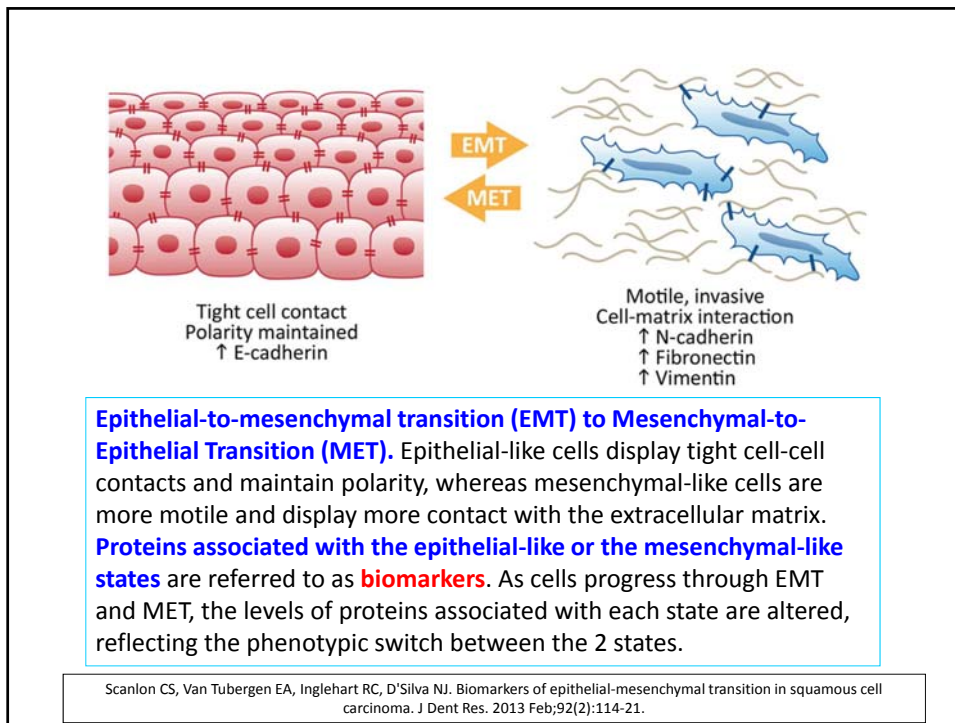
IMP - Research Institute of Molecular Pathology GmbH; Dr. Bohr-Gasse 7, 1030 Vienna, AUSTRIA



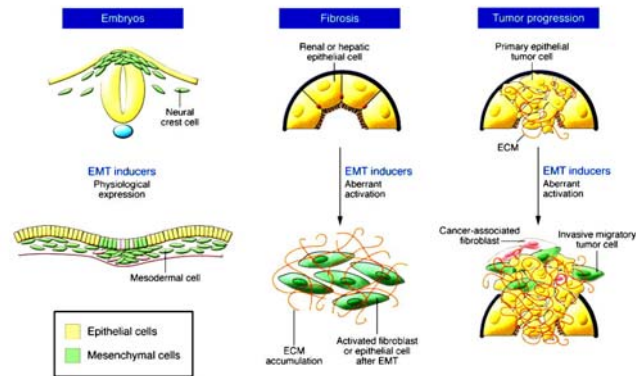
Eventi chiave durante la EMT. Il diagramma illustra i 4 passi chiave fondamentali per il completamento dell'intero decorso dalla EMT e i marcatori epiteliali e mesenchimali più comunemente usati.

Aroeira LS, et al. Epithelial to mesenchymal transition and peritoneal membrane failure in peritoneal dialysis patients: pathologic significance and potential therapeutic interventions. J Am Soc Nephrol. 2007 Jul;18(7):2004-13. <http://jasn.asnjournals.org/content/18/7/2004/F2.large.jpg>





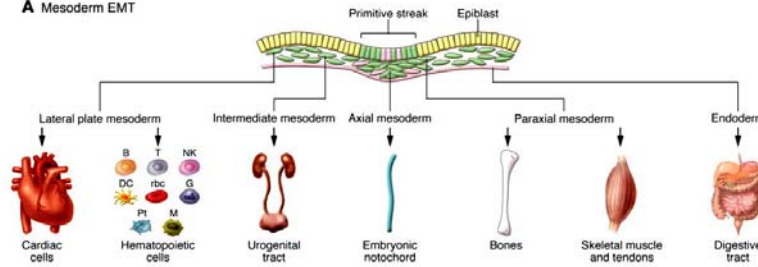
La EMT nello sviluppo embrionale e nella malattia



Cellule in EMT (verde) sono presenti durante il normale sviluppo embrionale, ad esempio durante la delaminazione delle cellule delle creste neurali dal tubo neurale dorsale oppure nell'ingresso del mesoderma lungo la stria primitiva. Mentre gli **induttori della EMT sono** di solito mantenuti in uno stato **silente nell'adulto**, essi vengono di solito **riattivati** durante i processi di **fibrosi** di organo e nel fronte **invasivo** dei carcinoma umani durante la progressione tumorale.

Acloque H, Adams MS, Fishwick K, Bronner-Fraser M, Nieto MA. **Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease.** J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1438-49.

A Mesoderm EMT



B Neural crest EMT

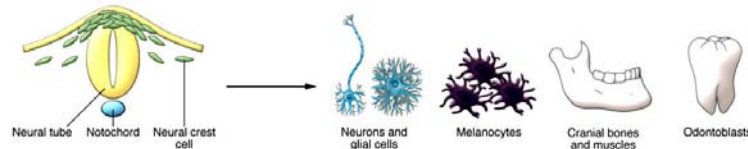


Figure 3

Primary EMTs give rise to progenitors of many organs and tissues. (A) Epiblast cells that internalize at gastrulation give rise to different mesodermal and endodermal populations from which a variety of cell types form. Embryonic cells undergoing EMT are shown in green. Pt, platelets; B, T, and NK, lymphocytes; G, granulocytes; M, macrophages. (B) In turn, the neural crest delaminates from the dorsal neural tube and will generate neurons of the peripheral nervous system, glial and satellite cells, pigment cells, odontoblasts, and the craniofacial cartilage, as well as other cell types.

Acloque H, Adams MS, Fishwick K, Bronner-Fraser M, Nieto MA. **Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease.** J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1438-49.

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**:

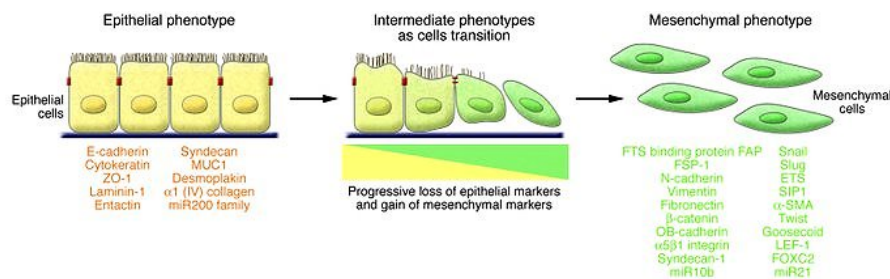
- Aumentata capacità migratoria
- Invasività
- Elevata resistenza all'apoptosi
- Produzione molto aumentata di componenti della matrice extracellulare (ECM).

✚ 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 e fare giungere a compimento una EMT

- ✚ 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 R, Weinberg RA. **The basics of epithelial-mesenchymal transition**. J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1420-8. doi: 10.1172/JCI39104. Review. Erratum in: J Clin Invest. 2010 May 3;120(5):1786.



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. **Co-localization 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 R, Weinberg RA. **The basics of epithelial-mesenchymal transition**. J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1420-8. doi: 10.1172/JCI39104. Review. Erratum in: J Clin Invest. 2010 May 3;120(5):1786.

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 viene 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 R, Weinberg RA. **The basics of epithelial-mesenchymal transition**. J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1420-8. doi: 10.1172/JCI39104. Review. Erratum in: J Clin Invest. 2010 May 3;120(5):1786.

- ✚ 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 implicherebbe che lo stato di differenziamento terminale sia necessario per svolgere tali funzioni specializzate e che le cellule siano 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.

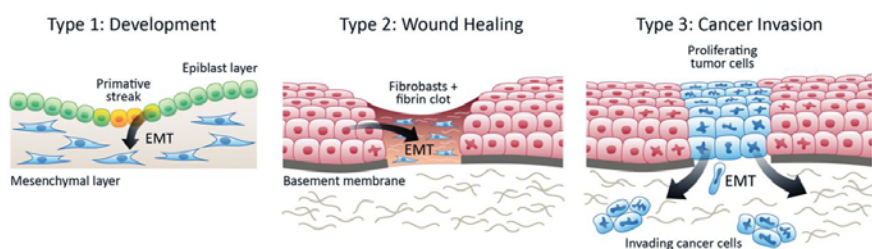
Kalluri R, Weinberg RA. **The basics of epithelial-mesenchymal transition**. J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1420-8. doi: 10.1172/JCI39104. Review. Erratum in: J Clin Invest. 2010 May 3;120(5):1786.

✚Questi **programmi di EMT** possono essere attivati in **associazione con fenomeni di riparo dei tessuti o di 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 R, Weinberg RA. **The basics of epithelial-mesenchymal transition**. J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1420-8. doi: 10.1172/JCI39104. Review. Erratum in: J Clin Invest. 2010 May 3;120(5):1786.

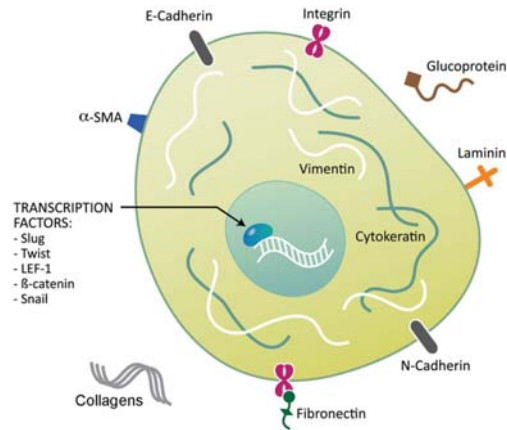
Tre tipi di transizione epitelio-mesenchimale (EMT)



Type 1 EMT occurs in development, for example, when gastrulation epithelial cells transition to motile mesenchymal cells. **Type 2 EMT** occurs when secondary epithelial or endothelial cells move to interstitial spaces in wound healing or chronic inflammation, resulting in fibrosis. **Type 3 EMT** occurs when epithelial tumor cells migrate beyond a primary tumor and metastasize.

Scanlon CS, Van Tubergen EA, Inglehart RC, D'Silva NJ. **Biomarkers of epithelial-mesenchymal transition in squamous cell carcinoma**. J Dent Res. 2013 Feb;92(2):114-21.

Proteins involved in Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)

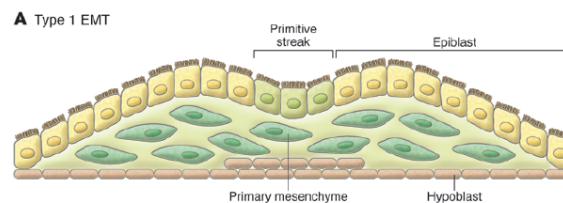


Several proteins have been identified as **biomarkers of EMT**. These proteins include **cell-surface proteins, cytoskeletal proteins, extracellular matrix proteins, and transcription factors**.

Scanlon CS, Van Tubergen EA, Inglehart RC, D'Silva NJ. Biomarkers of epithelial-mesenchymal transition in squamous cell carcinoma. J Dent Res. 2013 Feb;92(2):114-21.

Kalluri: Classificazione della EMT in tre sottotipi differenti

EMT di tipo 1: EMT durante l'impianto, embriogenesi e sviluppo degli organi



⚡ L'EMT di tipo 1 è associata all'impianto e alla gastrulazione dell'embrione e dà origine al mesoderma, all'ectoderma e alla 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 epitelii che subiranno una successiva EMT per generare cellule del tessuto connettivo, incluso astrociti, adipociti, condrociti, osteoblasti e cellule muscolari.

EMT di tipo 1

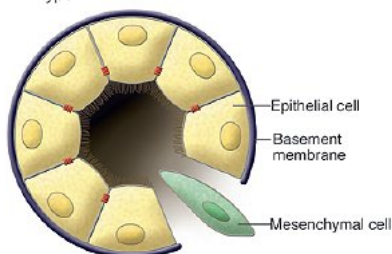
- ✚ Associata con lo sviluppo embrionale, si svolge anche durante la crescita post-natale.
- ✚ Passi specifici e ben definiti: le cellule epiteliali hanno forma da cuboide a cilindrica e sono in contatto una con l'altra mediante giunzioni aderenti e giunzioni strette ("tight").
- ✚ Le cellule mesenchimali primarie migratorie generate dalla EMT hanno la potenzialità di intraprendere il percorso opposto diventando di nuovo epitelio: **transizione mesenchima-epiteliale (MET)** che genera epitelio secondario 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

EMT di tipo 2: EMT associata alla rigenerazione dei tessuti e alla fibrosi di organo

B Type 2 EMT

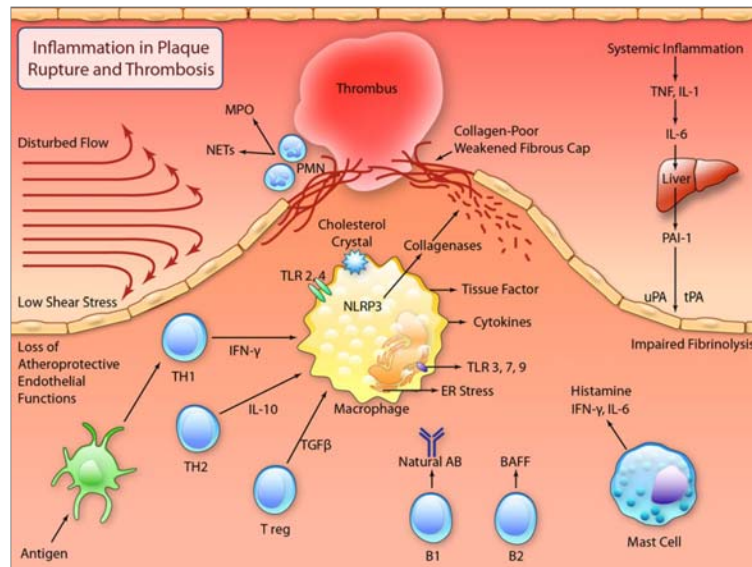


✚ Le EMTs ricompaiono nel contesto dell'**infiammazione** e **fibrosi** e rappresentano le EMTs di **tipo 2**.

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

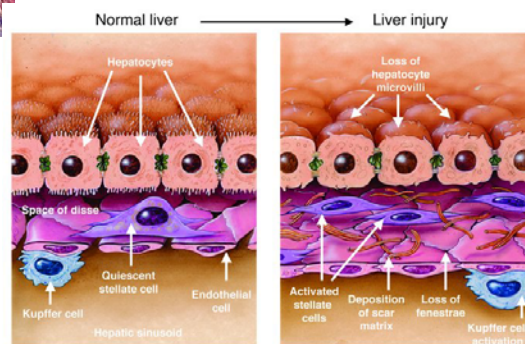
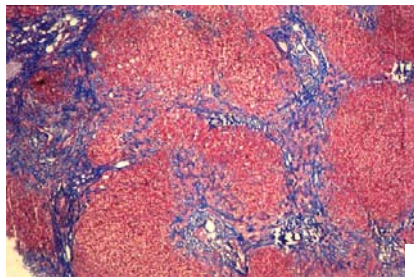
Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1420-8. doi: 10.1172/JCI39104. Review. Erratum in: J Clin Invest. 2010 May 3;120(5):1786.

Infiammazione



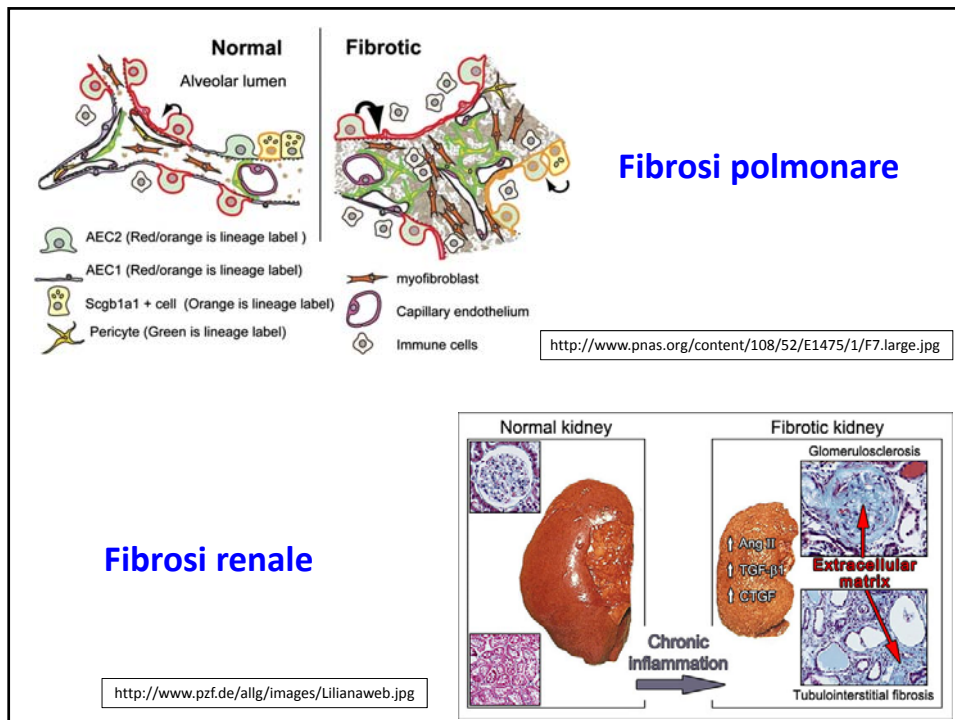
<http://circres.ahajournals.org/content/114/12/1867/F1.large.jpg>

Fibrosi epatica



<http://www.meddean.luc.edu/lumen/meded/orfpath/fibrosis.htm>

<http://www.jci.org/articles/view/23928/figure/1>

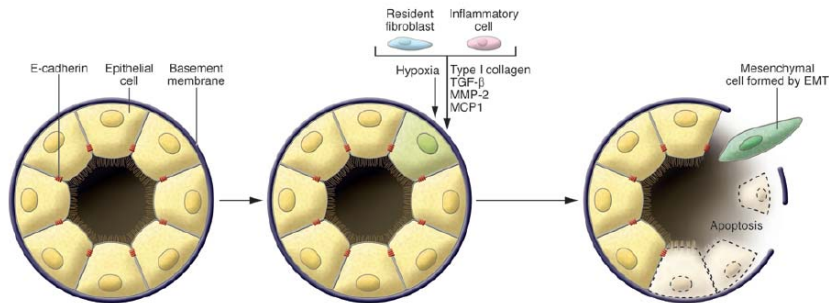


EMT di tipo 2

- ✚ E' la conseguenza di un processo di danno e ha come risultato la generazione di fibroblasti che devono ripristinare i tessuti danneggiati.
- ✚ Durante l'inflammatione i fibroblasti e le cellule del sistema immunitario rilasciano citochine e fattori pro-infiammatori nonchè proteine della matrice extracellulare che stimolano le cellule a subire EMT.
- ✚ Se l'inflammatione persiste in modo patologico, la continua EMT delle 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.

EMT & fibrosi

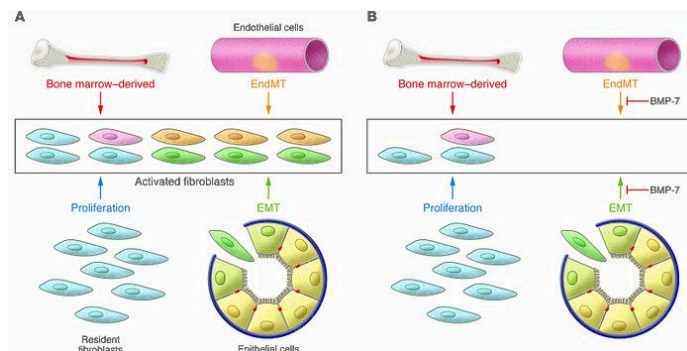


The EMTs associated with **fibrosis** are **associated with inflammation** and the generation of numerous types of molecules by inflammatory cells and resident activated fibroblasts (myofibroblasts). These molecules cause disruption of the epithelial layers via degradation of the basement membrane. The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

MCP1, monocyte chemoattractant protein 1.

Kalluri R, Weinberg RA. **The basics of epithelial-mesenchymal transition.** J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1420-8. doi: 10.1172/JCI39104. Review. Erratum in: J Clin Invest. 2010 May 3;120(5):1786.

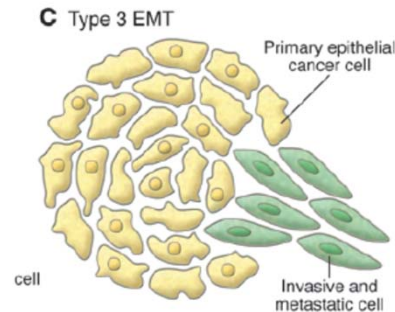
Origine dei fibroblasti durante la fibrosi e sua inversione indotta da «bone morphogenetic protein 7»;BMP-7



(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 Endothelial-to-Mesenchymal transition (EndMT)-derived fibroblasts.

Kalluri R, Weinberg RA. **The basics of epithelial-mesenchymal transition.** J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1420-8. doi: 10.1172/JCI39104. Review. Erratum in: J Clin Invest. 2010 May 3;120(5):1786.

Kalluri: **Classificazione della EMT in tre sottotipi differenti**



EMT di tipo 3: EMT associate alla progression tumorale e alla formazione di metastasi

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 per via metastatica: **tipo 3 della EMT.**

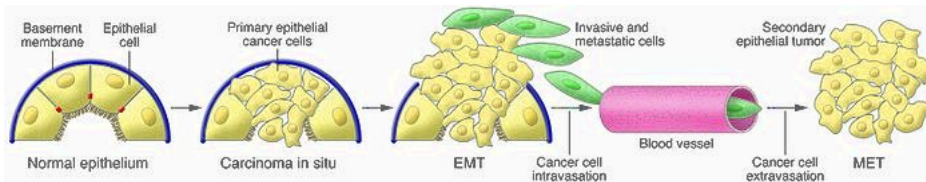
Kalluri R, Weinberg RA. **The basics of epithelial-mesenchymal transition.** J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1420-8. doi: 10.1172/JCI39104. Review. Erratum in: J Clin Invest. 2010 May 3;120(5):1786.

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.

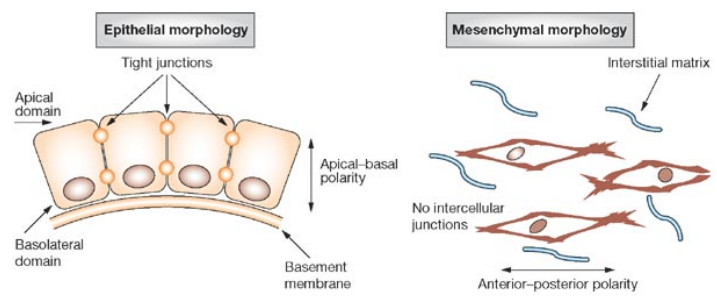
Samatov TR, Tonevitsky AG, Schumacher U. **Epithelial-mesenchymal transition: focus on metastatic cascade, alternative splicing, non-coding RNAs and modulating compounds.** Mol Cancer. 2013 Sep 23;12(1):107.

Contributo della EMT alla progressione tumorale



Progression from normal epithelium to invasive carcinoma goes through several stages. The invasive carcinoma stage involves epithelial cells losing their polarity and detaching from the basement membrane. The composition of the basement membrane also changes, altering cell-ECM interactions and signaling networks. The next step involves EMT and an angiogenic switch, facilitating the malignant phase of tumor growth. Progression from this stage to metastatic cancer also involves EMTs, enabling cancer cells to enter the circulation and exit the blood stream at a remote site, where they may form micro- and macro-metastases, which may involve METs and thus a reversion to an epithelial phenotype.

Kalluri R, Weinberg RA. **The basics of epithelial-mesenchymal transition.** J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1420-8. doi: 10.1172/JCI39104. Review. Erratum in: J Clin Invest. 2010 May 3;120(5):1786.



EMT SEMINARIO

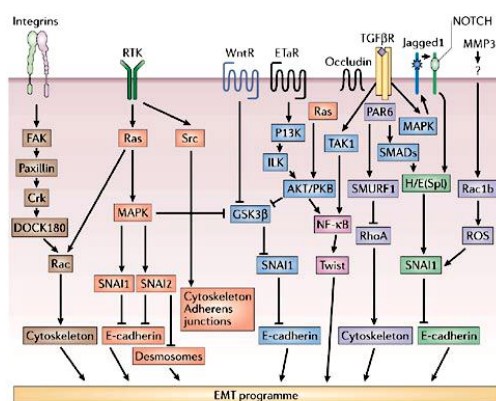
Mechanisms of Disease: epithelial-mesenchymal transition — does cellular plasticity fuel neoplastic progression? Eva A Turley, Mandana Veisoh, Derek C Radisky and Mina J Bissell Nature Clinical Practice Oncology (2008) 5, 280-290

Reti complesse orchestrano le transizioni epitelio-mesenchimali

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.

Thiery JP, Sleeman JP. **Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions**. Nat Rev Mol Cell Biol. 2006 Feb;7(2):131-42.

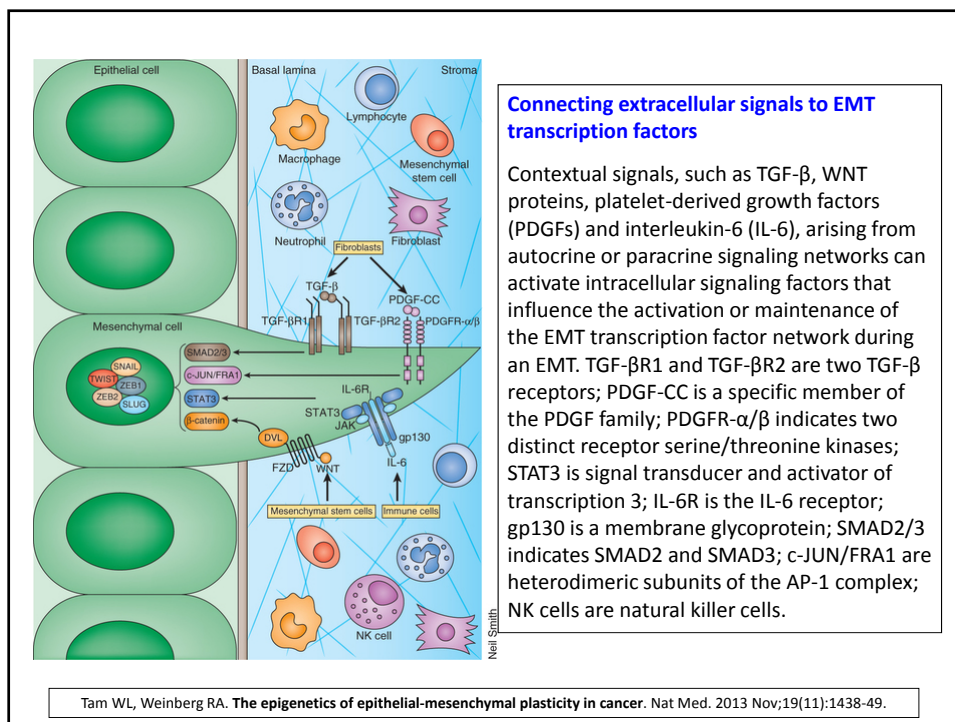
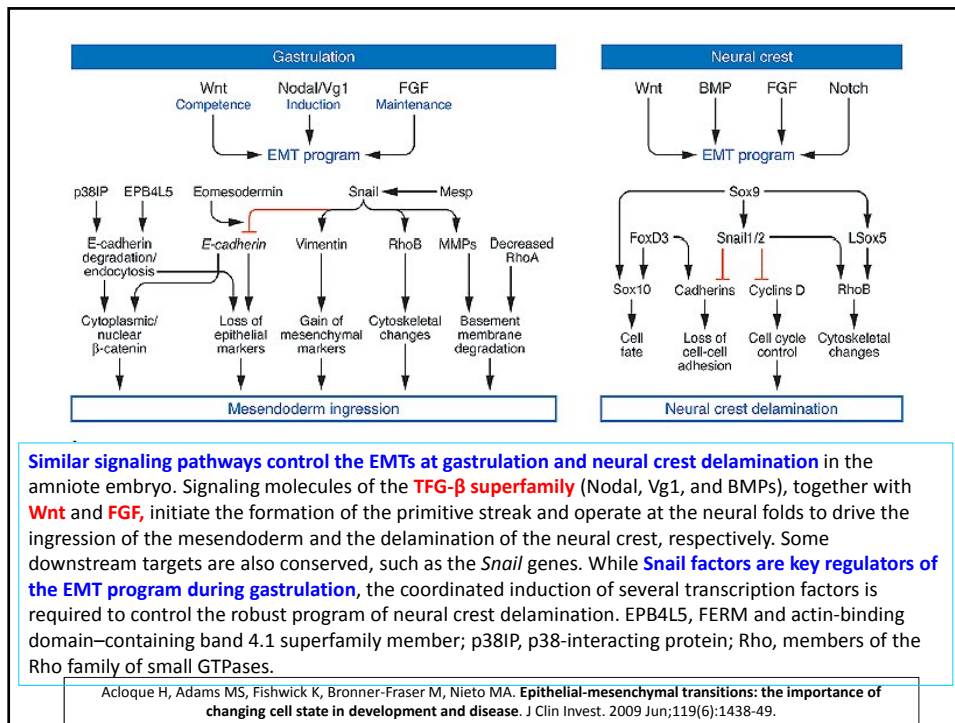
Reti molecolari che regolano la EMT

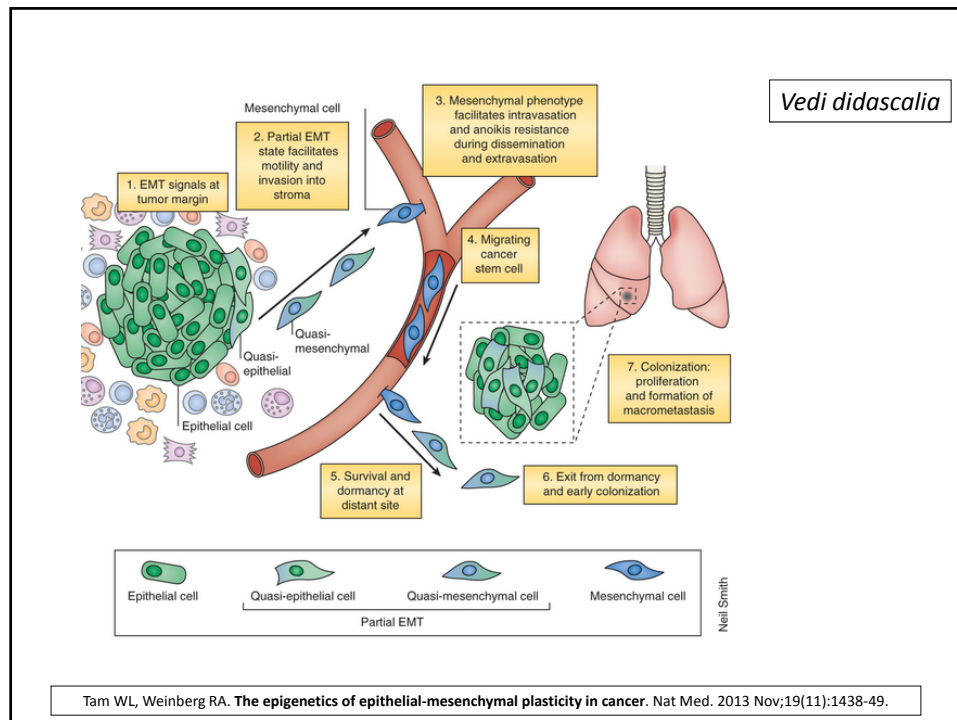


Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

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 JP. **Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions**. Nat Rev Mol Cell Biol. 2006 Feb;7(2):131-42.





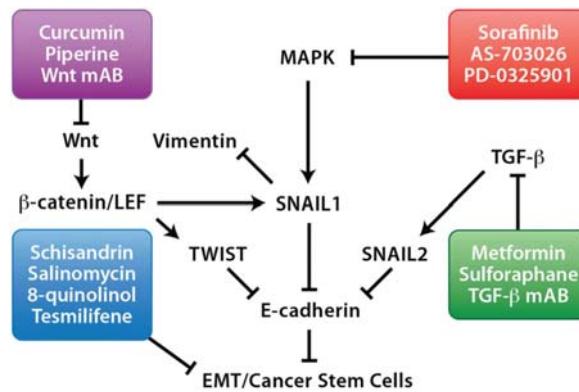
Didascalía Figura Tam & Weinber, 2013

Epithelial-mesenchymal plasticity allows cancer cells to undergo functional adaptations during the invasion-metastasis cascade.

In response to EMT-promoting signals, **a subpopulation of epithelial cells at the invasive edge of the tumor may lose epithelial traits**. As these cells detach further from the bulk of the tumor, they become less exposed to epithelial signals and acquire more mesenchymal properties in the presence of **EMT signals** supplied by stromal cells. The metastable mesenchymal cells are suited for invasion into surrounding tissues. **A fully mesenchymal phenotype facilitates intravasation into blood capillaries or draining lymphatic vessels**. In some instances, this process may be aided by macrophages. **The disseminating cancer cell is also more resistant to environmental and genotoxic stresses**, a characteristic that is crucial for survival in circulation. After arrival at a distant organ, **the mesenchymal phenotype facilitates extravasation and invasion into the foreign tissue**. Here **disseminated cells are exposed to signals different from those of the primary tumor**, and **the mesenchymal state may confer survival advantages to single cancer cells** or alternatively may **support long-term dormancy**. When the appropriate contextual signals become available, **disseminated cells may undergo an MET** and gradually **reacquire epithelial properties such as rapid proliferative capabilities**. Epithelial signals are reinforced through autocrine and paracrine signals, resulting in the stabilization of an epithelial phenotype. This facilitates the **outgrowth of macrometastases** that are composed predominantly of epithelial cells.

Tam WL, Weinberg RA. The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer. Nat Med. 2013 Nov;19(11):1438-49.

Targeted therapies against epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) pathways.



EMT progression involves many **signaling pathways** that may be targeted in the clinical setting, which include monoclonal antibodies (mAB) and small molecule inhibitors (boxed).

Scanlon CS, Van Tubergen EA, Inglehart RC, D'Silva NJ. Biomarkers of epithelial-mesenchymal transition in squamous cell carcinoma. J Dent Res. 2013 Feb;92(2):114-21.