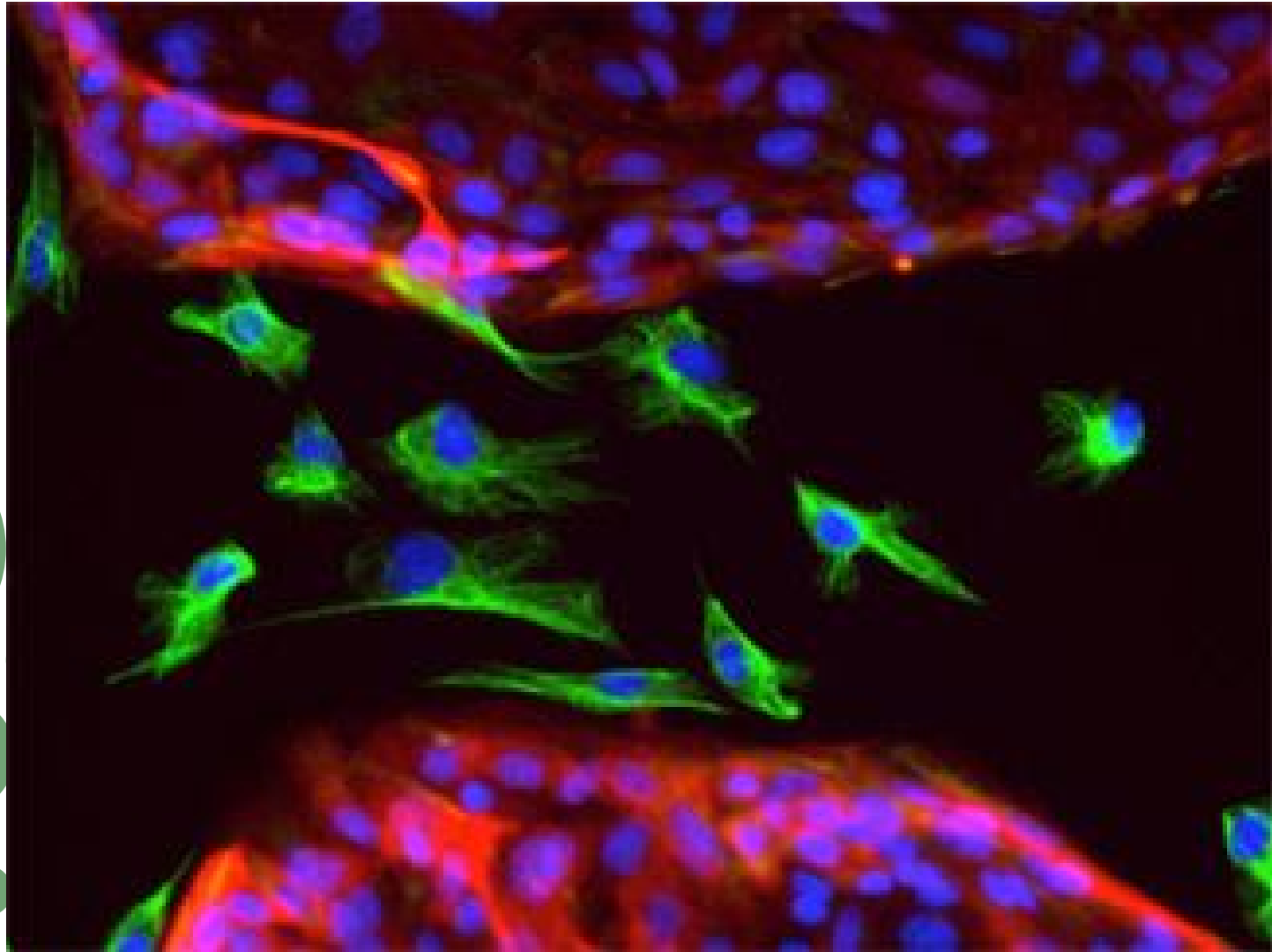


EPITHELIAL TO MESENCHYMAL TRANSITION (EMT) IN DEVELOPMENT AND DISEASES



Cristina Valacca – 18 Maggio 2012

DEFINIZIONE

L'EMT è un processo biologico che consente a una cellula epiteliale di iniziare numerosi cambiamenti biochimici che la portano ad assumere un fenotipo mesenchimale che include:

- aumento delle capacità migratorie
- invasività
- elevata resistenza all'apoptosi

Prime osservazioni

Elizabeth Hay osserva che le cellule epiteliali della stria primitiva dell'embrione di pollo cambiano morfologia durante lo sviluppo – 1968; la chiama “trasformazione” epitelio-mesenchimale. Il termine è stato poi cambiato in “transizione”, per distinguerla dalla trasformazione neoplastica ed evidenziare la REVERSIBILITA' del processo.

MET : Mesenchymal to Epthelial Transition



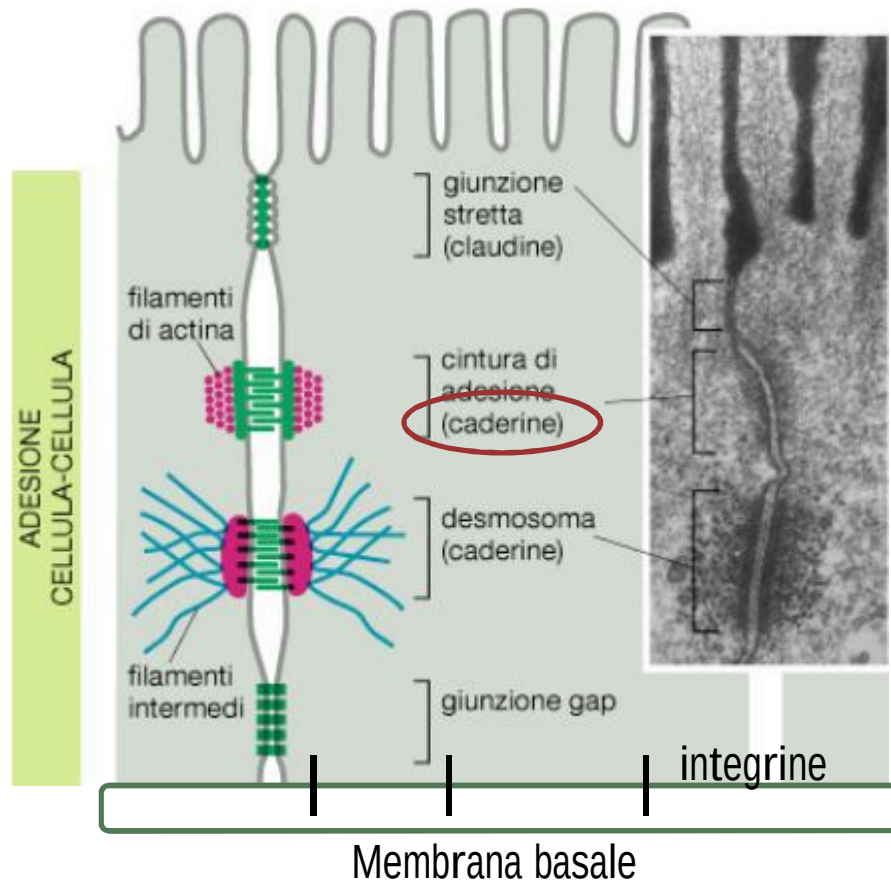
2 popolazioni cellulari (distinte per morfologia e capacità di adesione)

CELLULE EPITELIALI

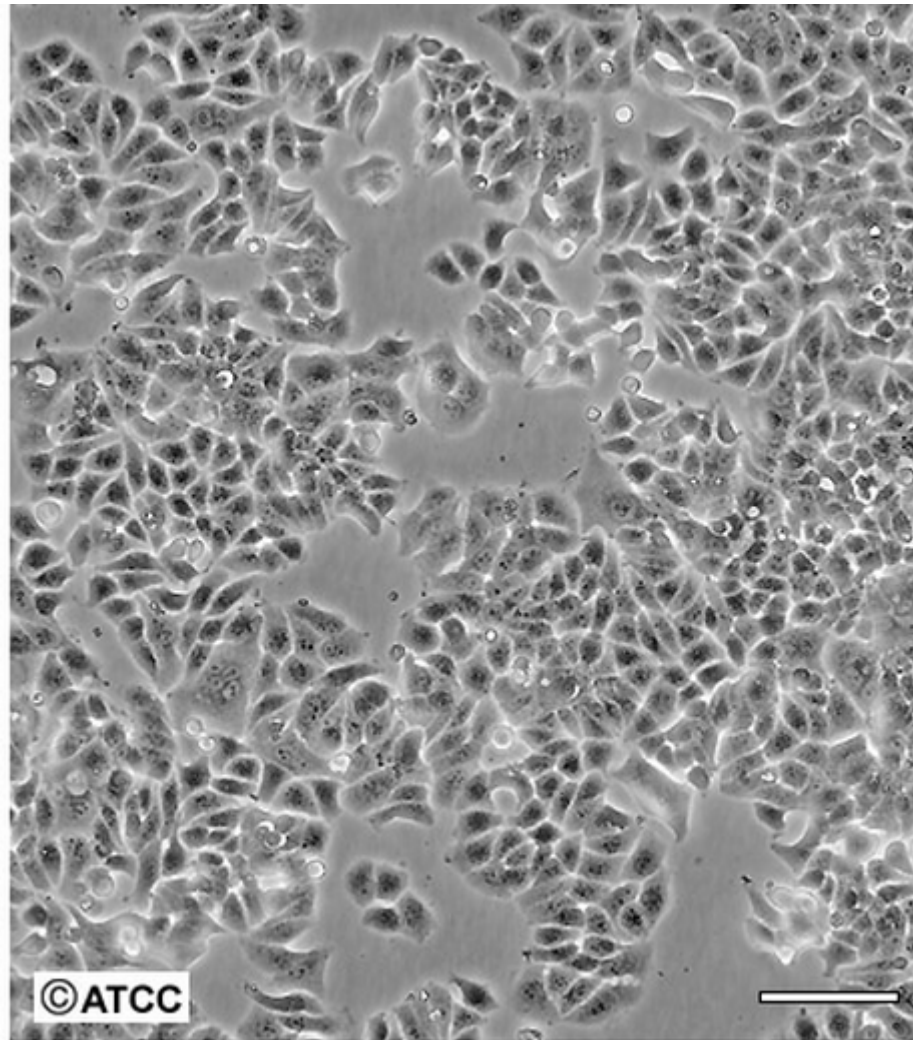
- polarità apico-basale
- forma geometrica
- forte giunzioni intercellulari
- membrana basale

CELLULE MESENCHIMALI

- non sono polari
- morfologia “spindle-shaped”
- perdita delle giunzioni
- migrazione e invasione



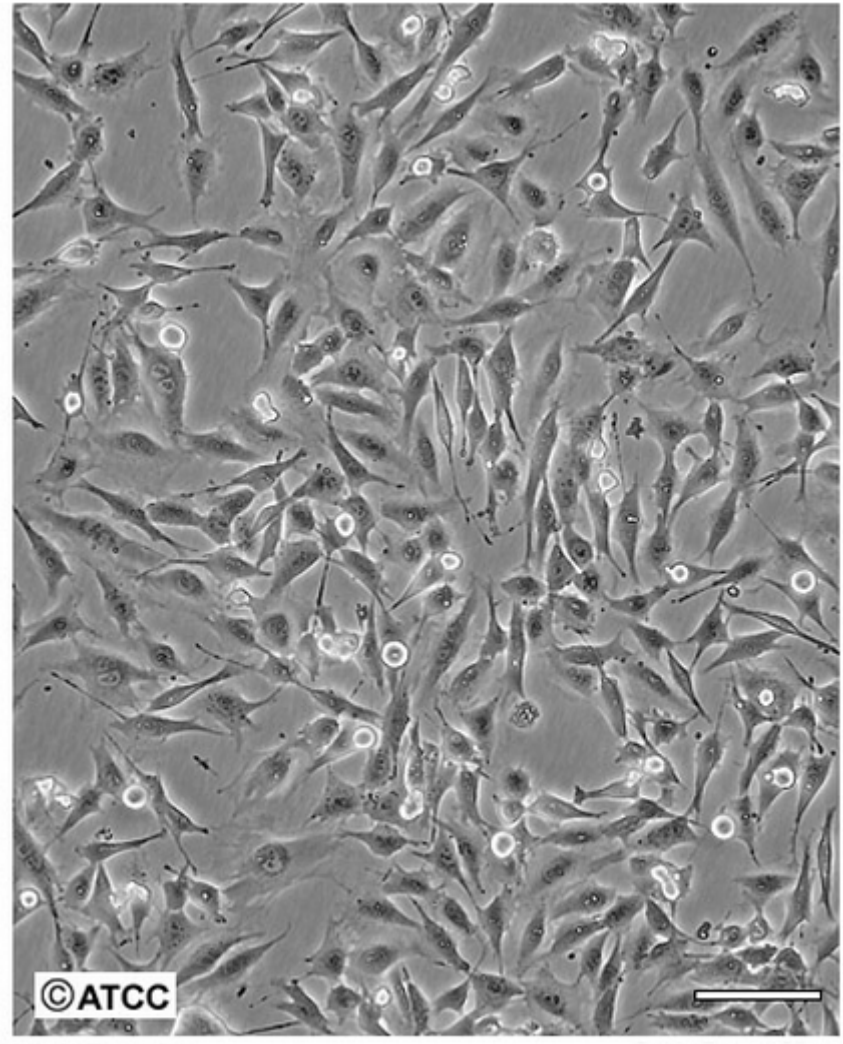
Epithelial-like phenotype



High Density

Scale Bar = 100μm

Mesenchymal-like phenotype

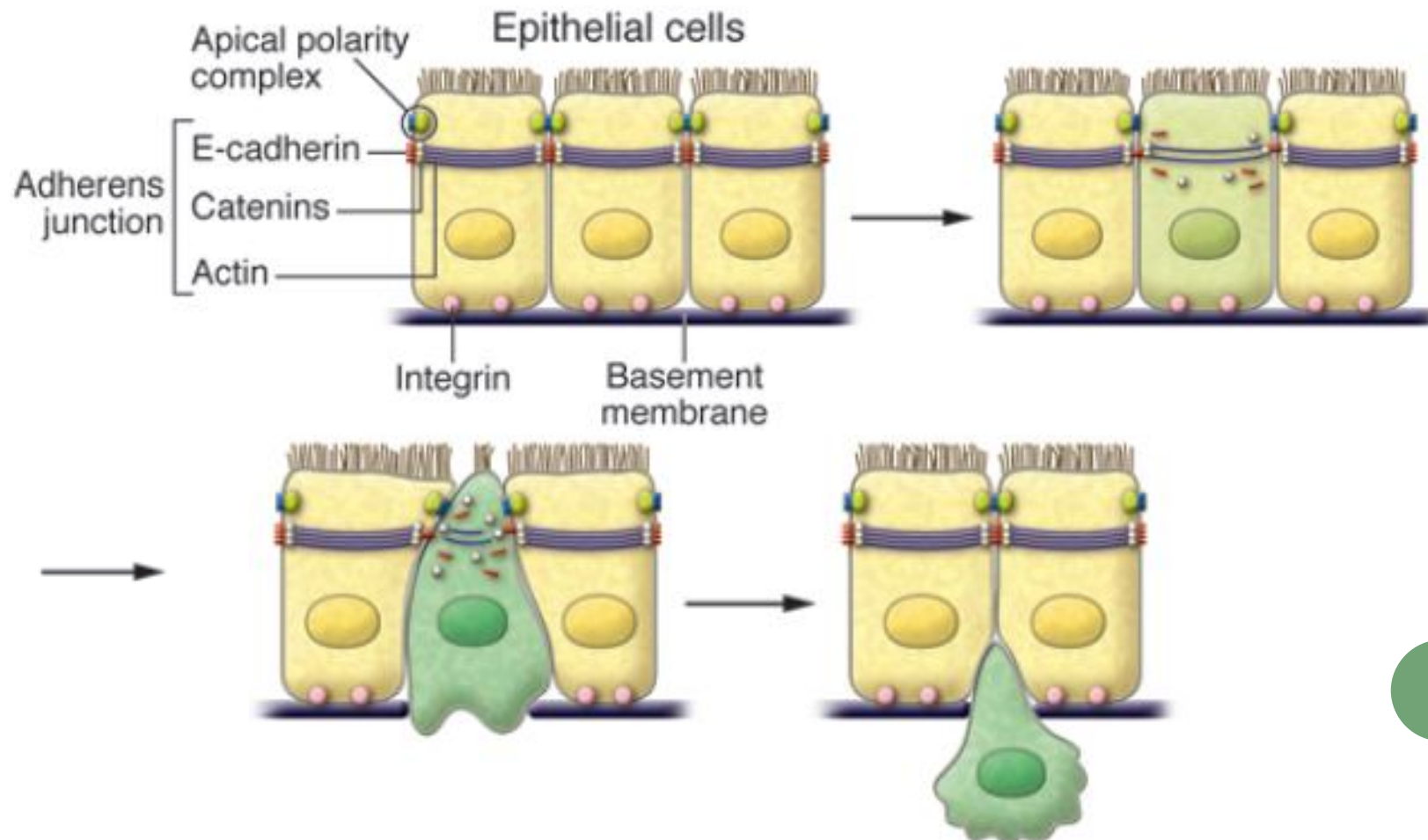


High Density

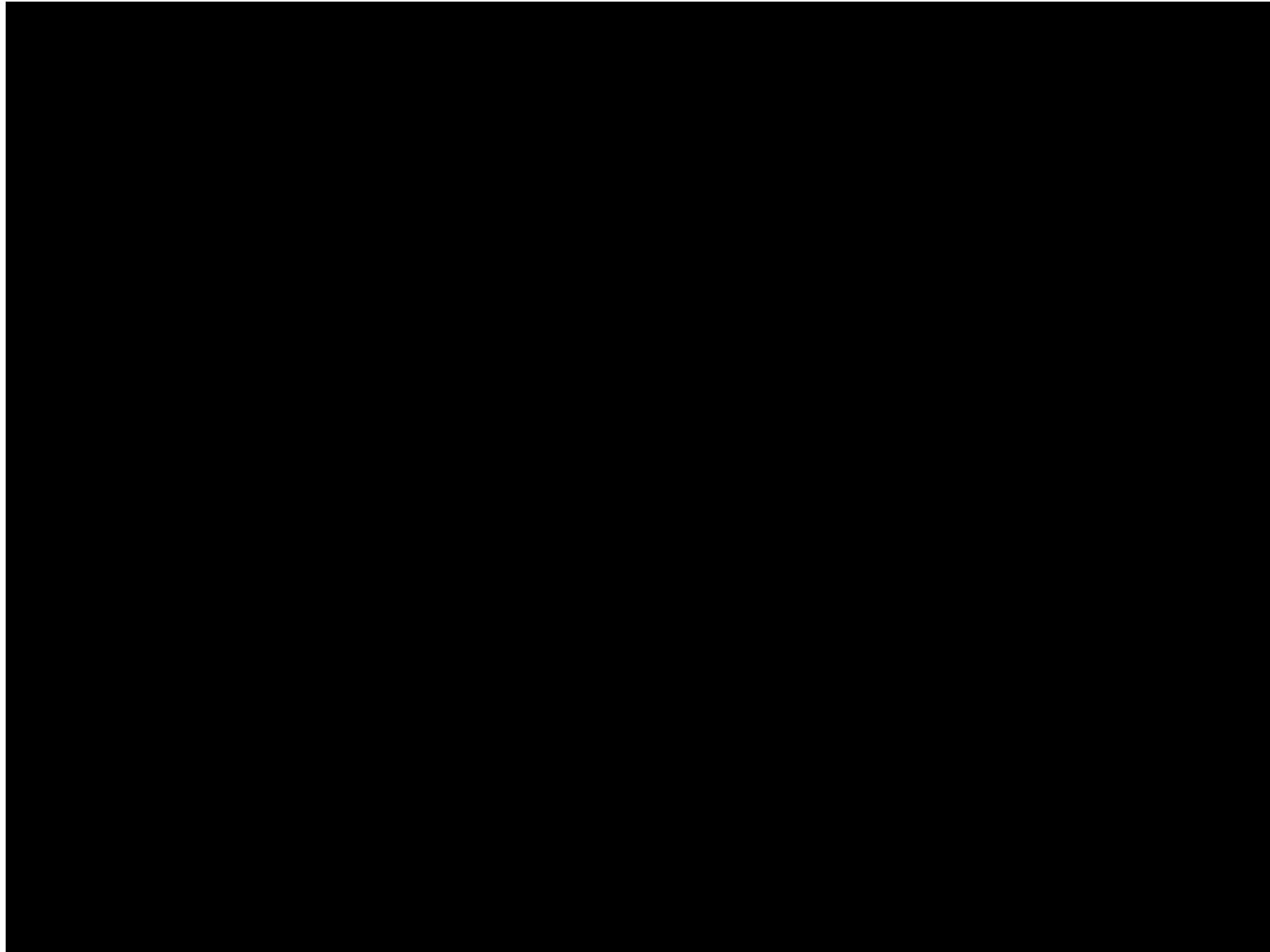
Scale Bar = 100μm

Dal punto di vista MORFOLOGICO e FUNZIONALE

- Perdita della polarità
 - Riarrangiamento del citoscheletro
 - Distruzione della membrana basale
- } MOTILITA'
- } INVASIVITA'

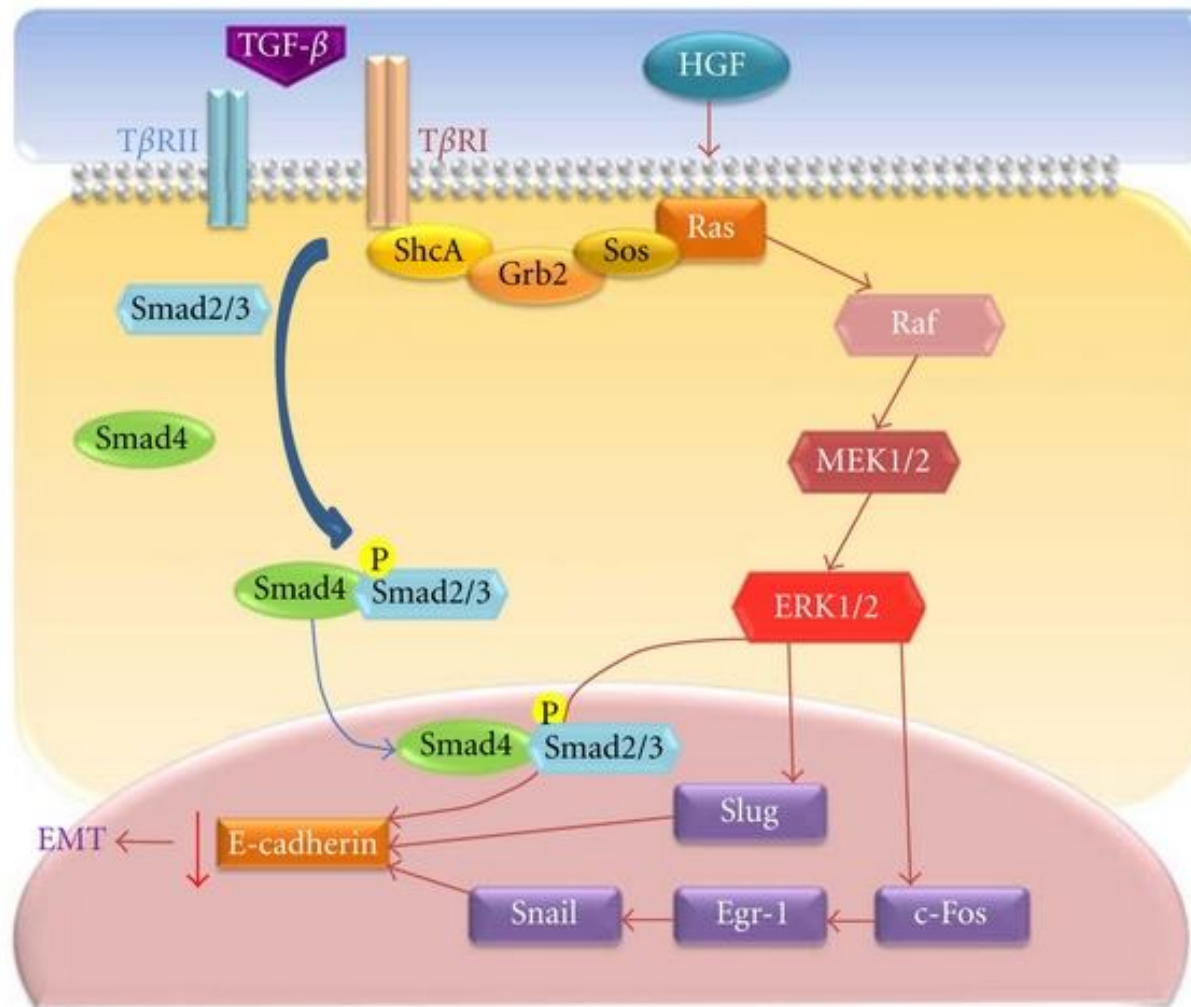


2 POPOLAZIONI CELLULARI: riesci a distinguerle?



Dal punto di vista MOLECOLARE

L'induzione di EMT è regolato da fattori extracellulari che attivano specifici signaling intracellulari, fino alla regolazione della trascrizione di geni chiave.



Abbassamento dell'E-caderina



Perdita delle giunzioni intercellulari



Rilascio di β -catenina



attivazione di geni specifici

Riarrangiamento del citoscheletro

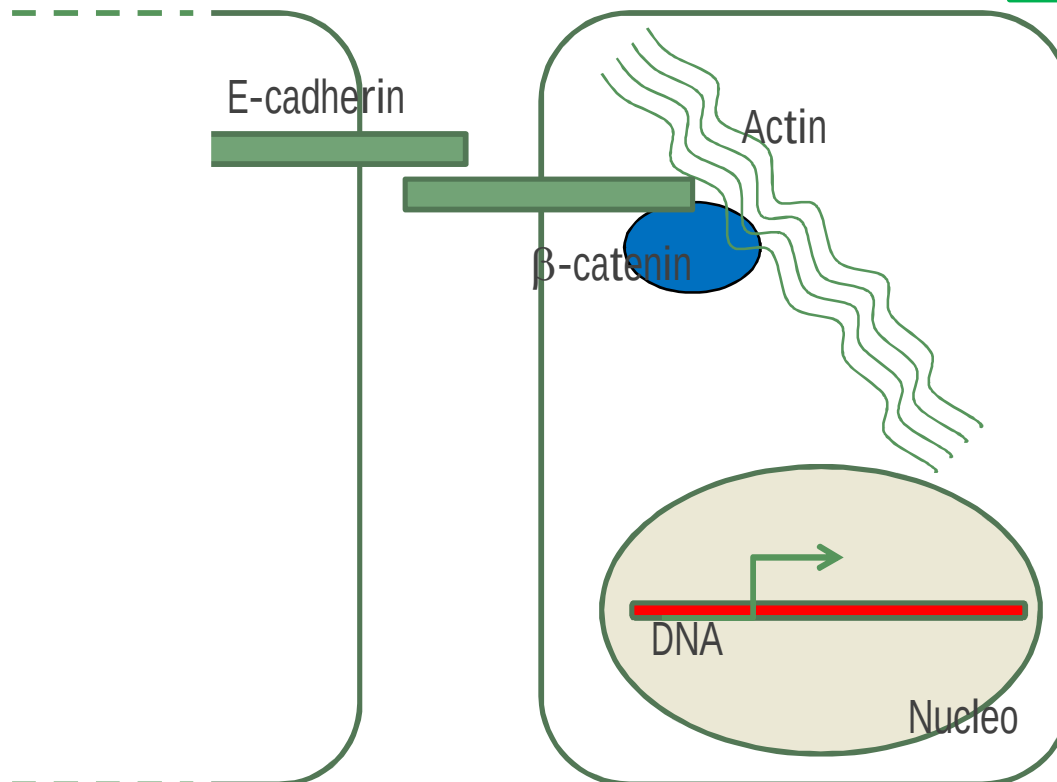
MOBILITA'

Distruzione della membrana basale e dell'ECM

INVASIONE

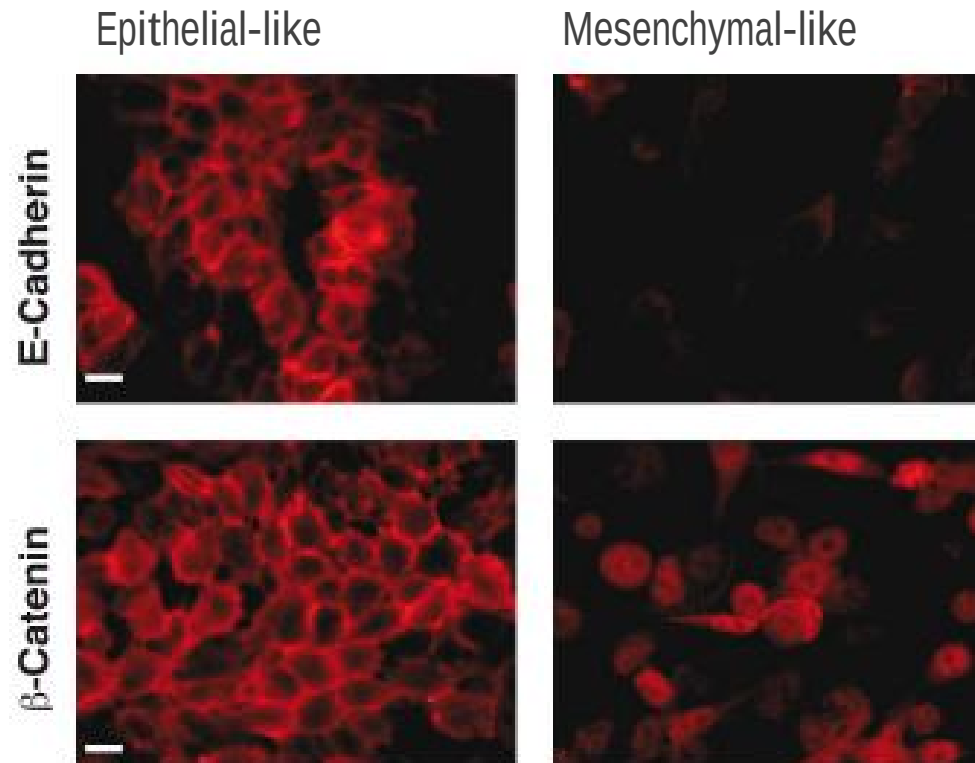
Resistenza all'apoptosi

SOPRAVVIVENZA



MARKERS MOLECOLARI per determinare l'EMT

organizzazione delle proteine del citoscheletro	{	Switch delle caderine Rilocalizzazione della beta-catenina
fattori di trascrizione specifici	{	Snail Slug Zeb1
RNA non codificanti	{	mir200

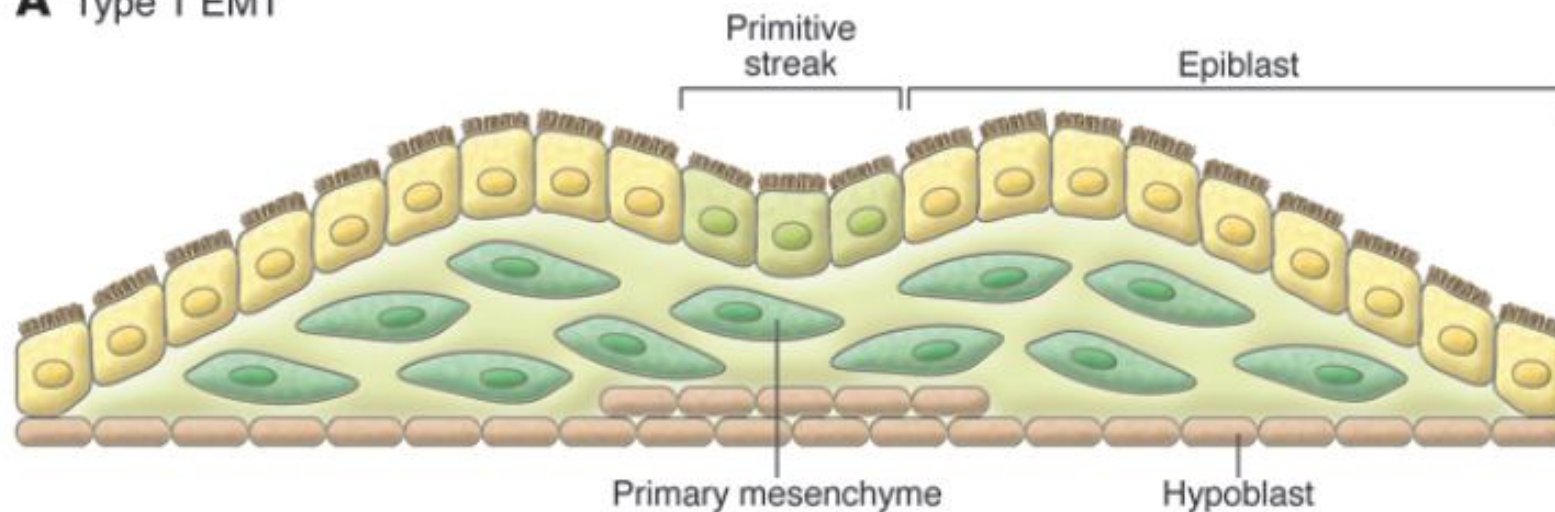


Caratterizzazione funzionale dell'EMT

Tipo I: ASSOCIATO ALLO SVILUPPO EMBRIONALE (fisiologico)

- impianto dell'embrione nell'utero
- gastrulazione
- formazione delle cellule della cresta neurale

A Type 1 EMT



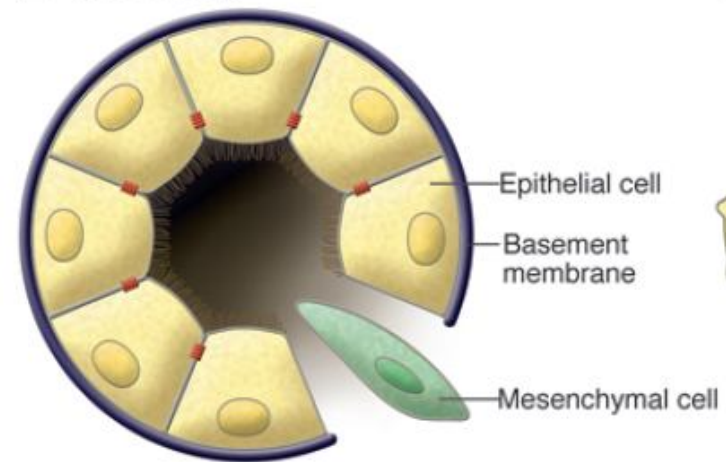
Caratterizzazione funzionale dell'EMT

Tipo II: ASSOCIATO ALLA FORMAZIONE DI FIBROBLASTI

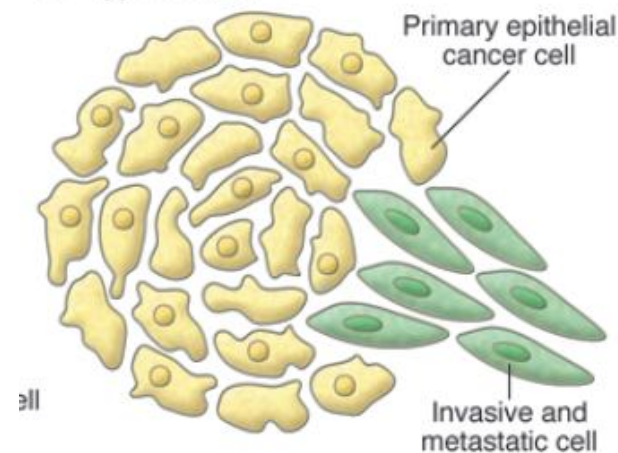
- rimarginazione delle ferite (fisiologico)
- rigenerazione del tessuto (fisiologico)
- fibrosi (patologico)

Tipo III: ASSOCIATO ALLA FORMAZIONE E DISPERSIONE DELLE METASTASI NELLA PROGRESSIONE TUMORALE (patologico)

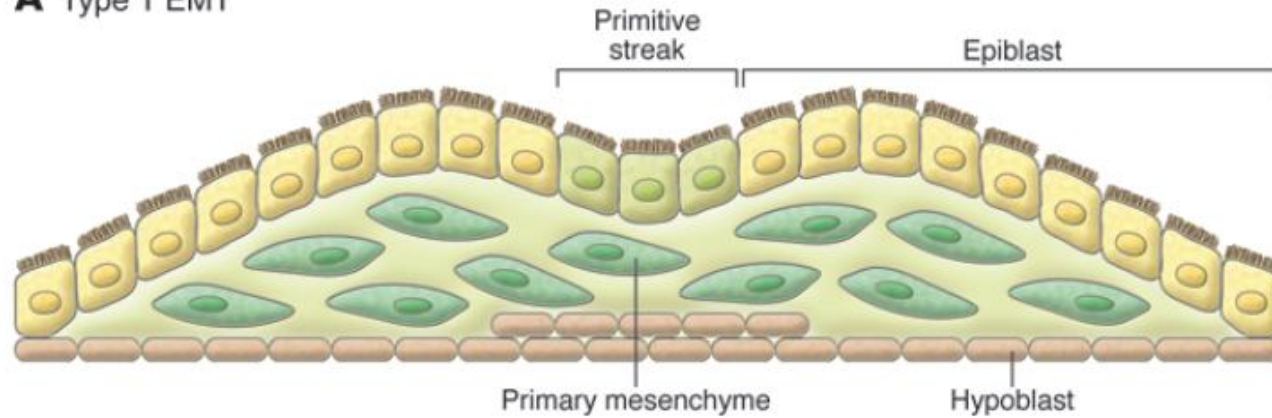
B Type 2 EMT



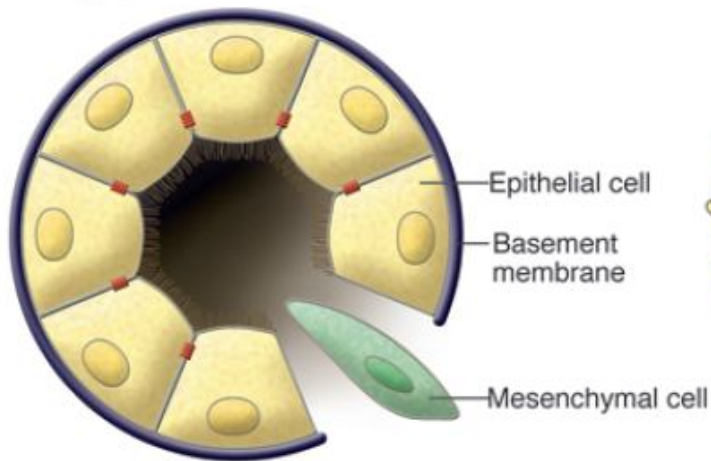
C Type 3 EMT



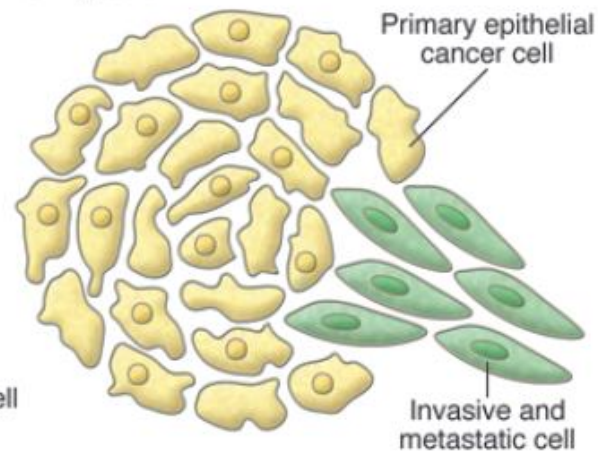
A Type 1 EMT



B Type 2 EMT



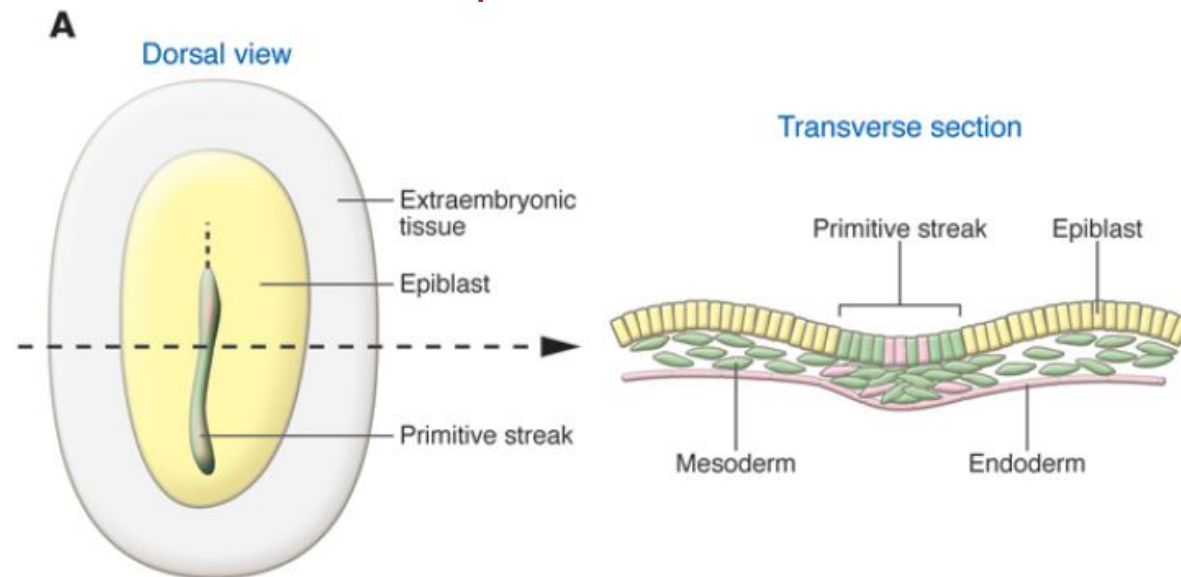
C Type 3 EMT



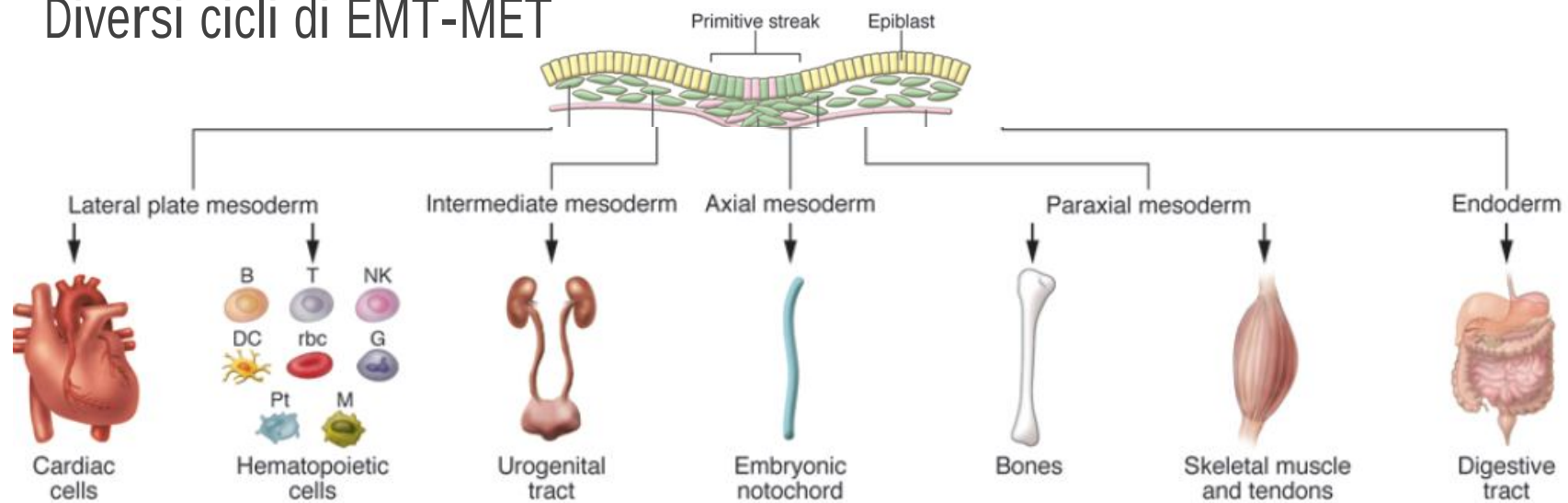
sostanzialmente oggi l'EMT è riconosciuto come il meccanismo per disperdere le cellule nell'embrione, formare cellule mesenchimali nei tessuti danneggiati e iniziare il comportamento invasivo e metastatico dei tumori epiteliali

EMT di tipo I

La gastrulazione

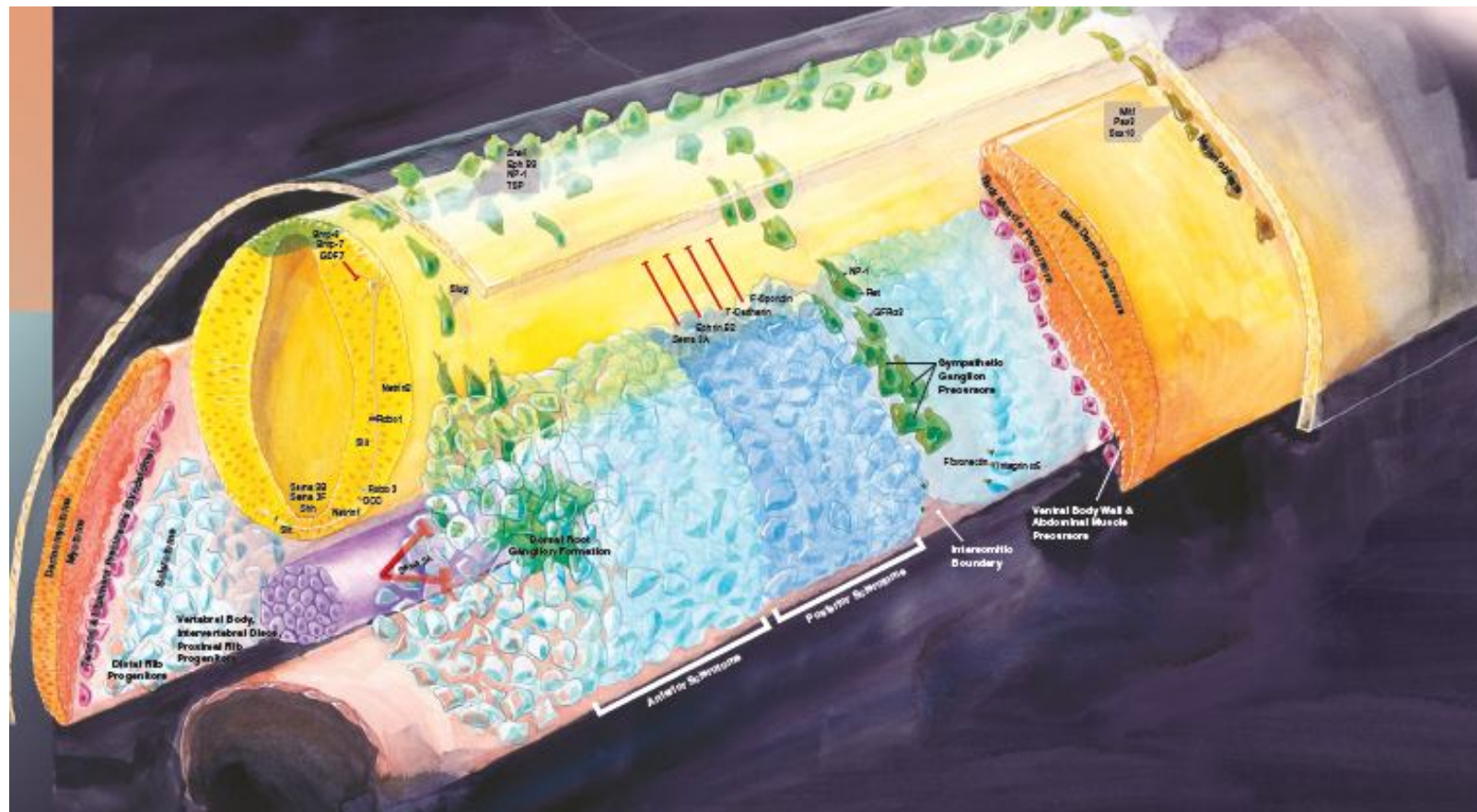
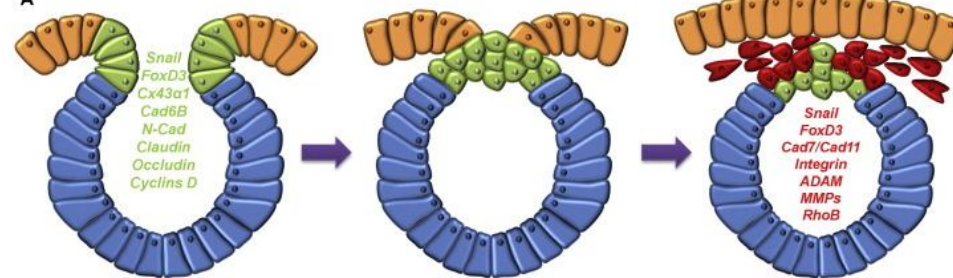


Diversi cicli di EMT-MET



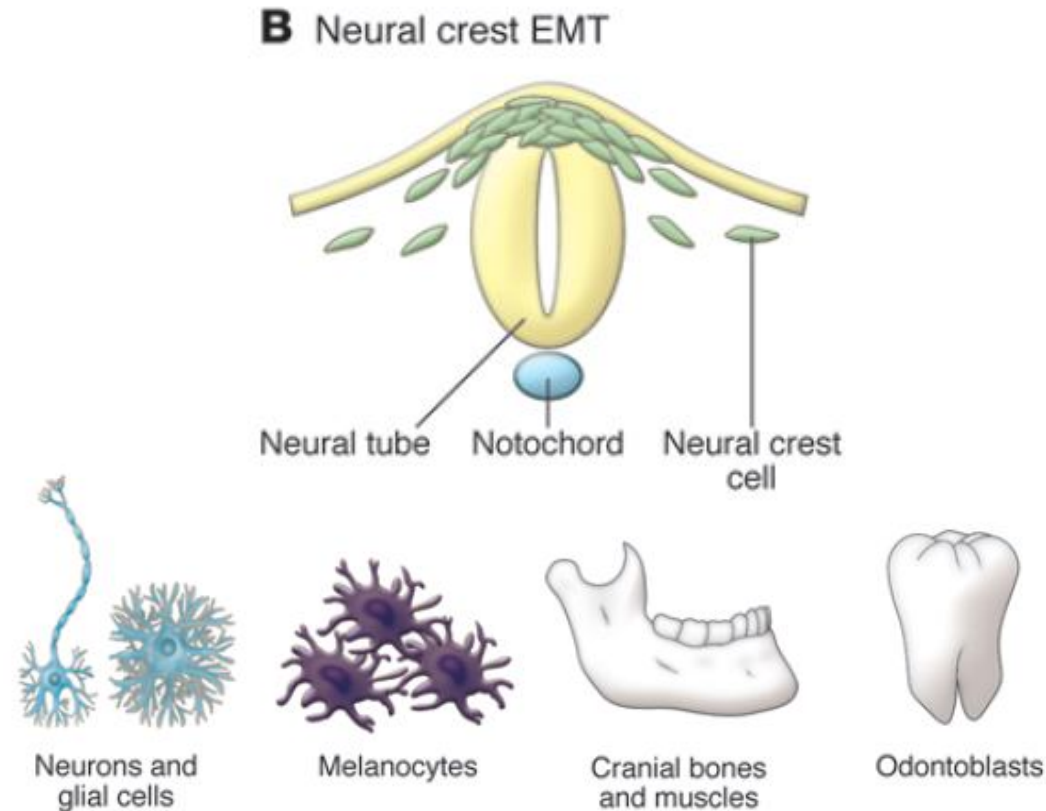
EMT type I

La cellule della cresta neurale



EMT type I

La cellule della cresta neurale



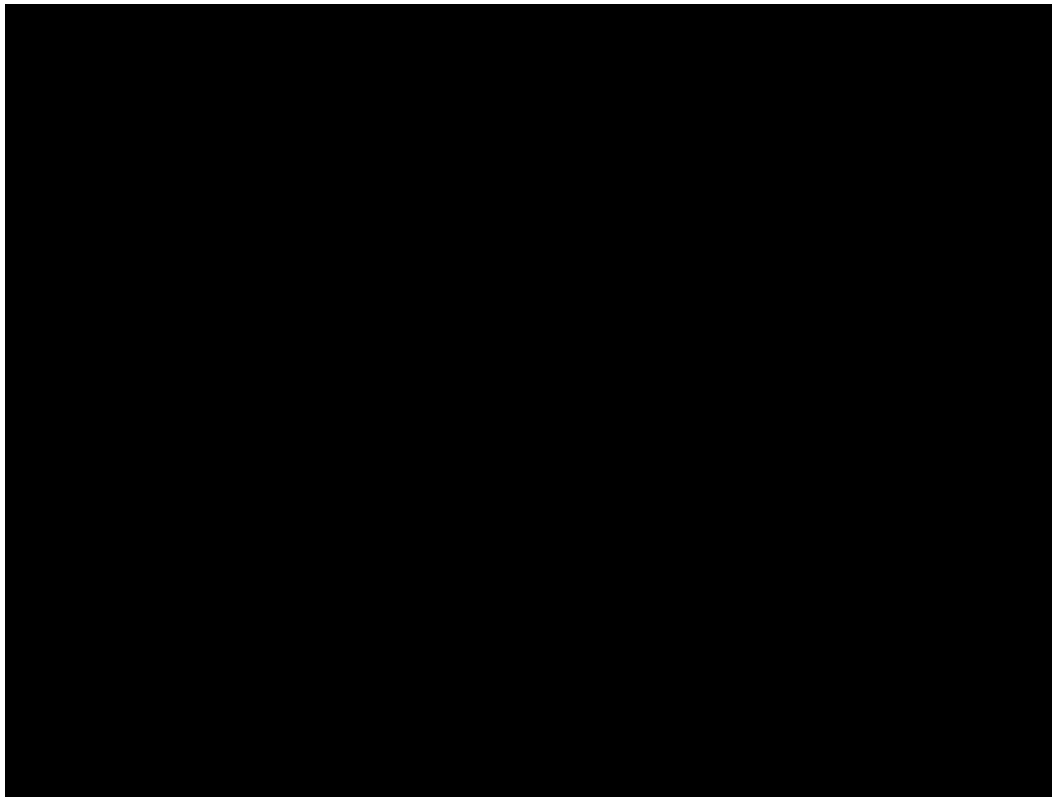
N.B. il processo di EMT non ha niente a che vedere con il destino cellulare e con la specificazione della funzione della cellula. Si riferisce soltanto alle caratteristiche morfologiche e di adesione

EMT di tipo II

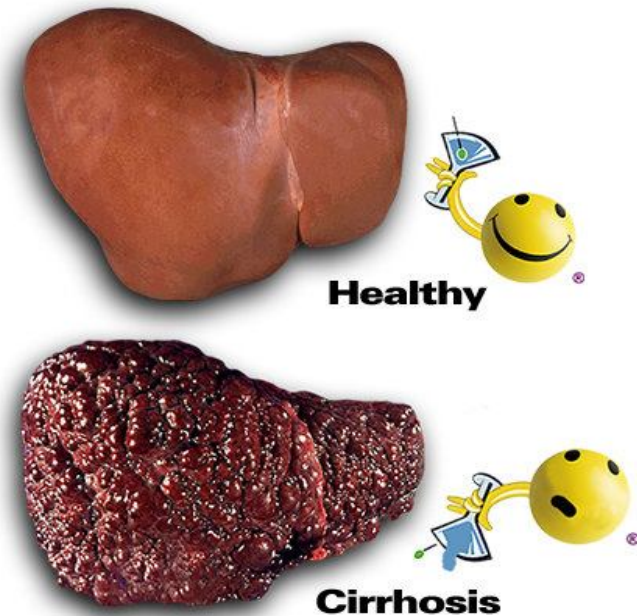
In seguito al danneggiamento dei tessuti per traumi o infiammazioni, le cellule epiteliali del tessuto circostante diventano fibroblasti tramite EMT, in risposta a specifici segnali infiammatori.

I FIBROBLASTI sono le cellule mesenchimali per eccellenza.

Rimarginazione delle ferite



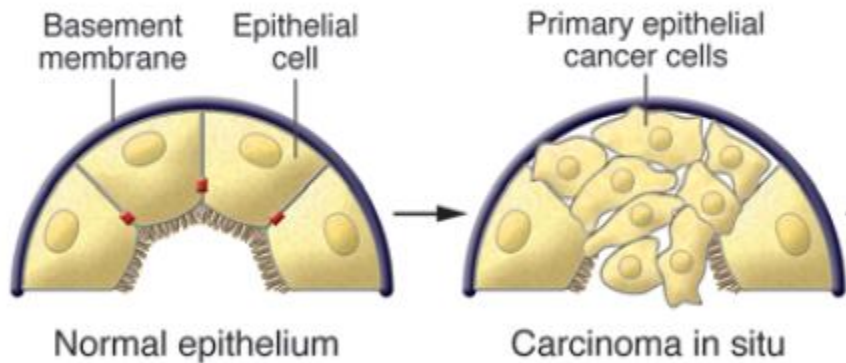
Fibrosi



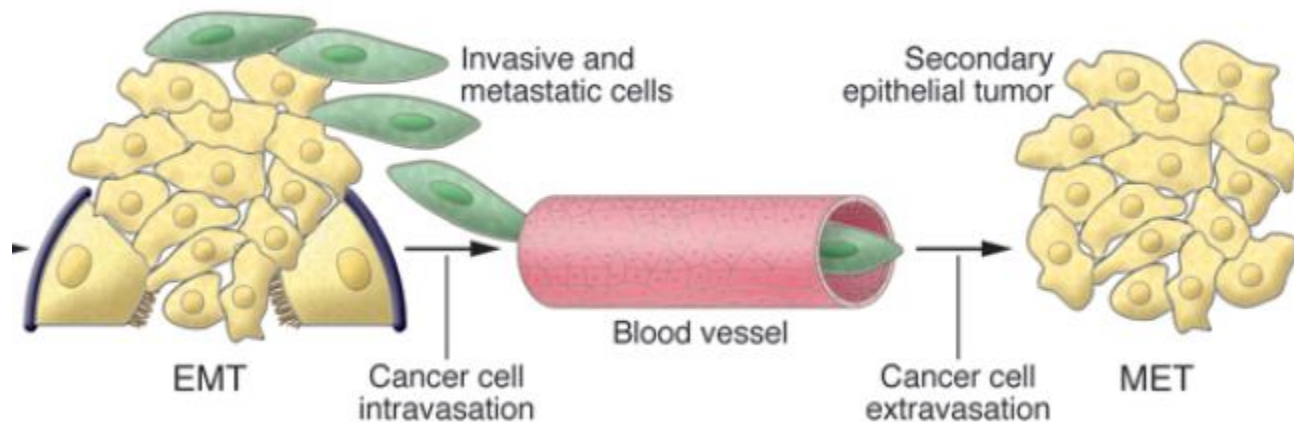
La fibrosi è essenzialmente una forma ininterrotta di rimarginazione dovuta a un'infiammazione persistente

EMT type III

progressione tumorale



Formazione del tumore primario
(instabilità genetica e/o epigenetica)

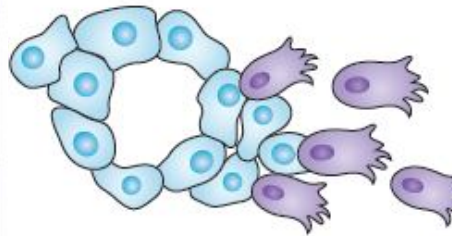
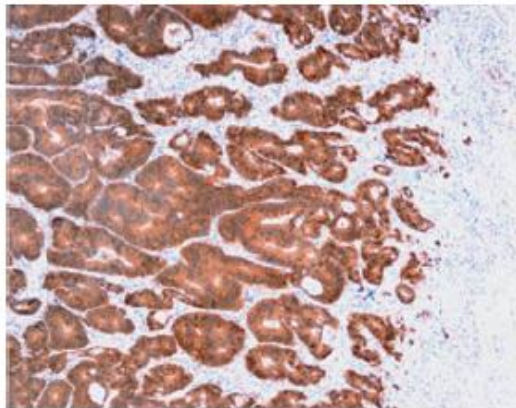


Disseminazione delle cellule tumorali e
formazione del tumore secondario
(metastasi)

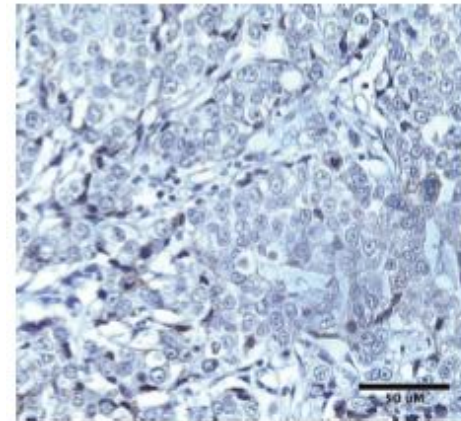
EMT type III

Le metastasi hanno un fenotipo EPITELIALE e in molti casi esprimono più E-Caderina del tumore primario

Primary tumour → Invasion

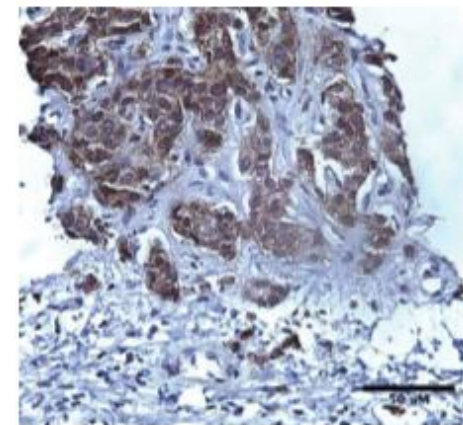
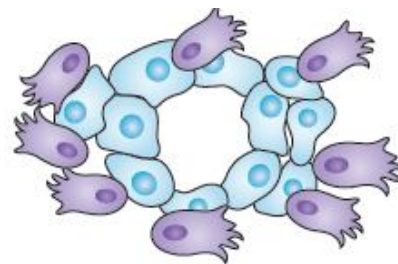
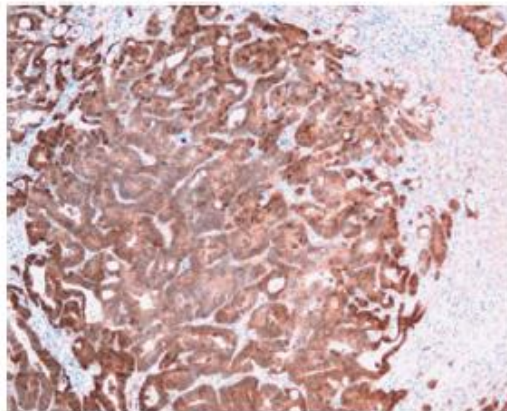


Tumore primario



Metastasi

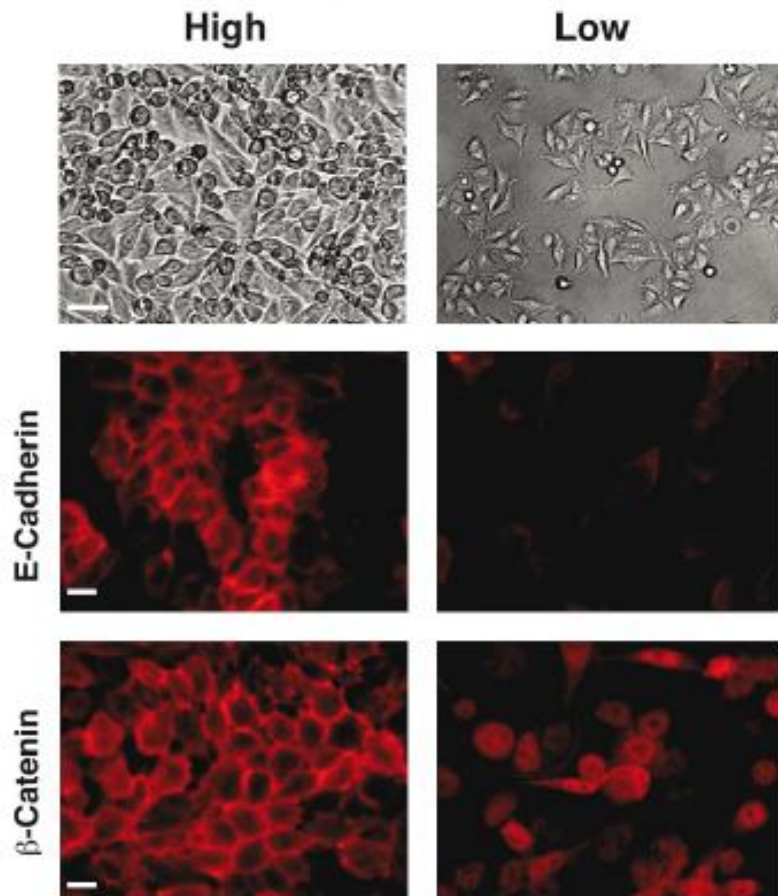
Metastases



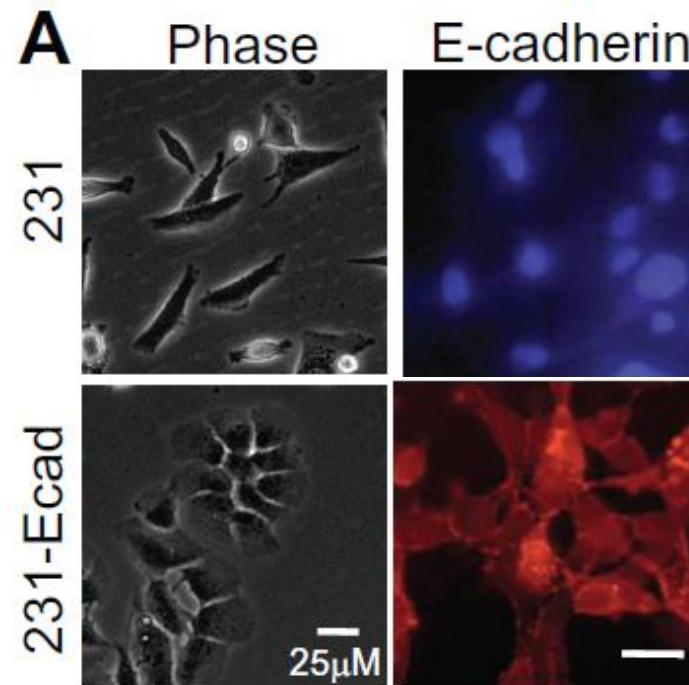
Staining per E-Caderina

Cellule tumorali mesenchimali possono “switchare” verso un fenotipo epiteliale Come riproduciamo questo fenomeno in laboratorio?

A - Cellule mesenchimali seminate ad alta densità assumono un fenotipo epiteliale



B - La sovraespressione dell'E-caderina in cellule mesenchimali induce un fenotipo epiteliale

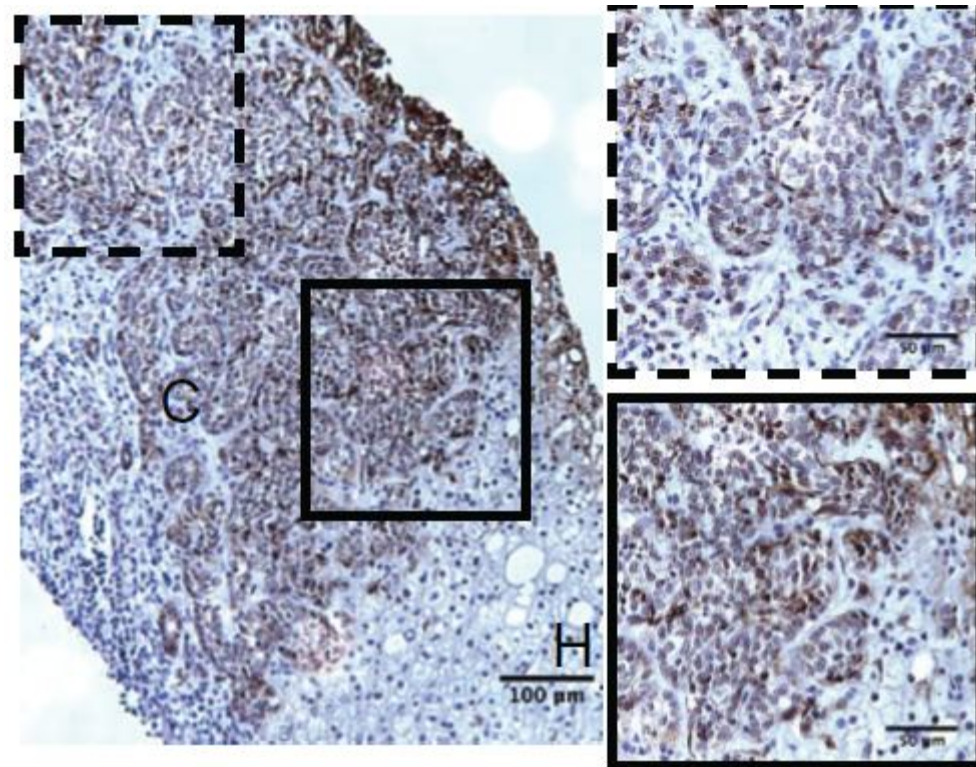


PROBLEM SOLVING

Cosa induce l'attivazione di MET nelle metastasi?

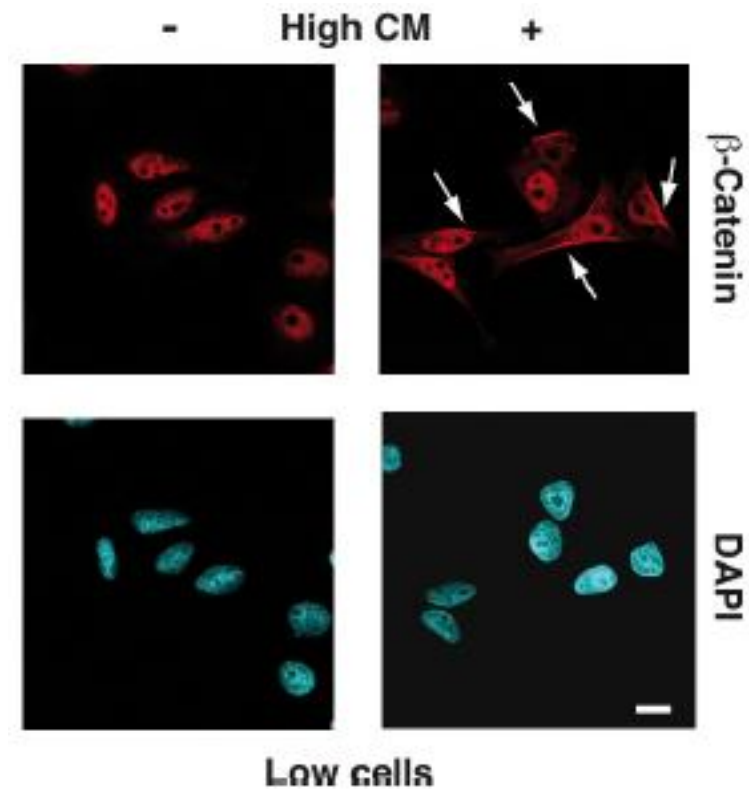
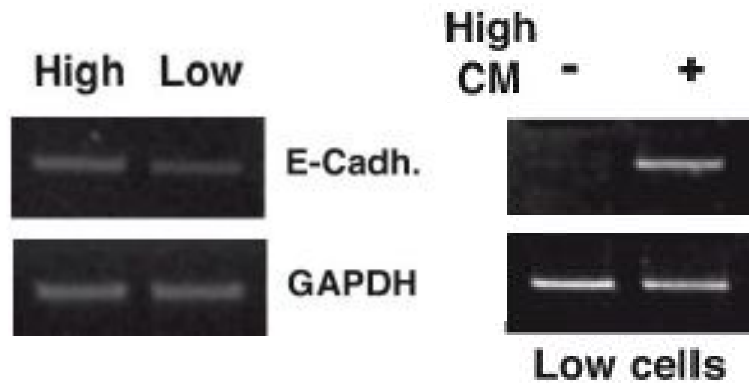
Osservazione

L'espressione di E-caderina nelle metastasi è più alta nelle zona di interfaccia con le cellule sane dell'organo secondario

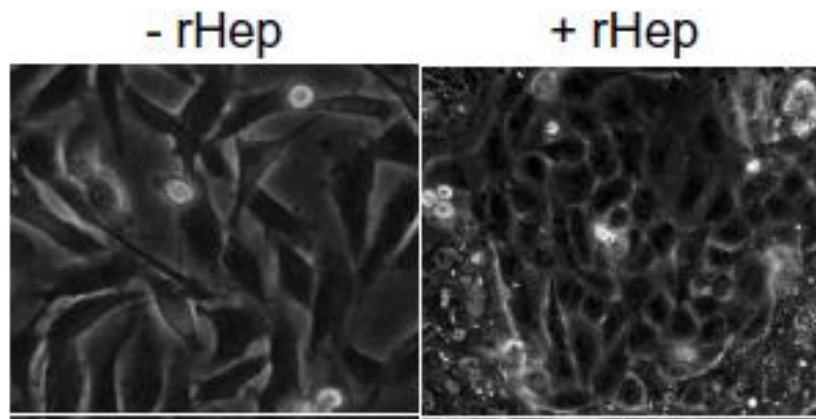


Le cellule epiteliali circostanti inducono cellule mesenchimali a diventare epiteliali

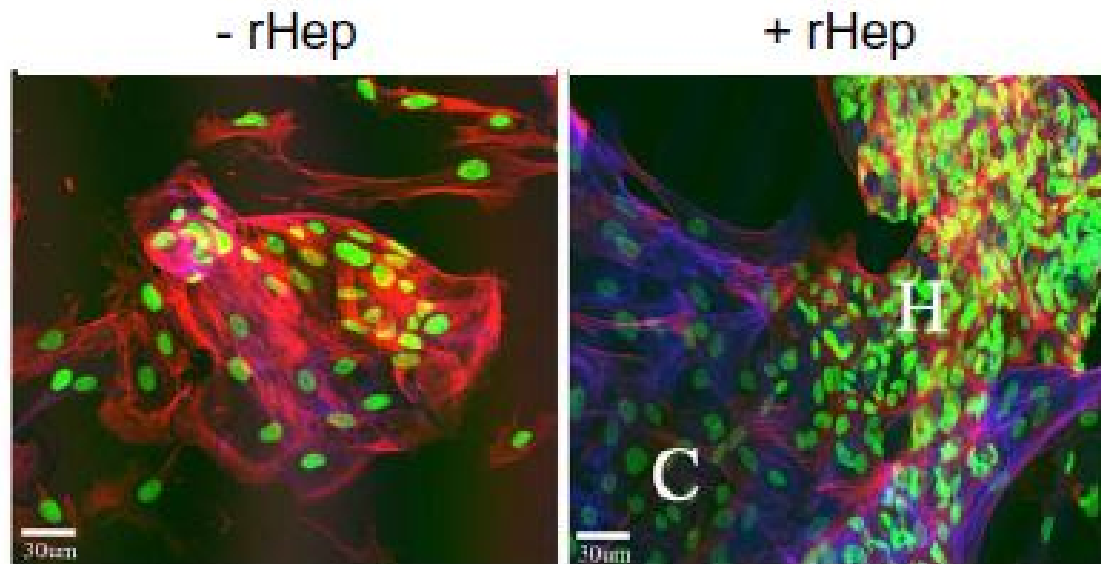
A - Il terreno condizionato da cellule epiteliali rende epiteliali cellule mesenchimali!



B – Cellule mesenchimali co-coltivate con cellule epiteliali, diventano epiteliali!



espianti di human breast cancer – fenotipo mesenchimale – co-cultivati con epatociti di ratto, riattivano l'espressione dell'E-caderina



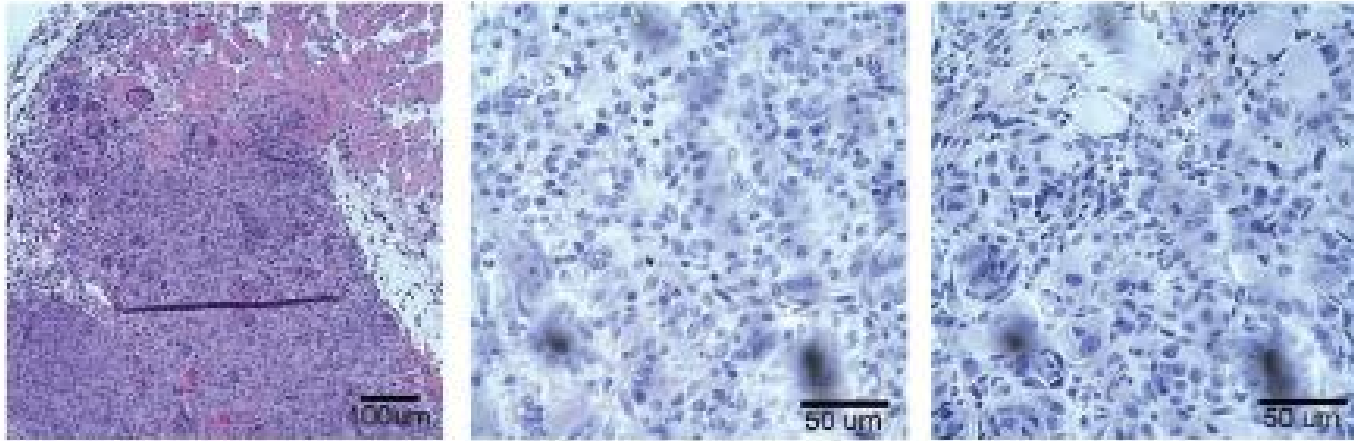
Red = actin
Blue = hu E-Caderina
Green = nuclei



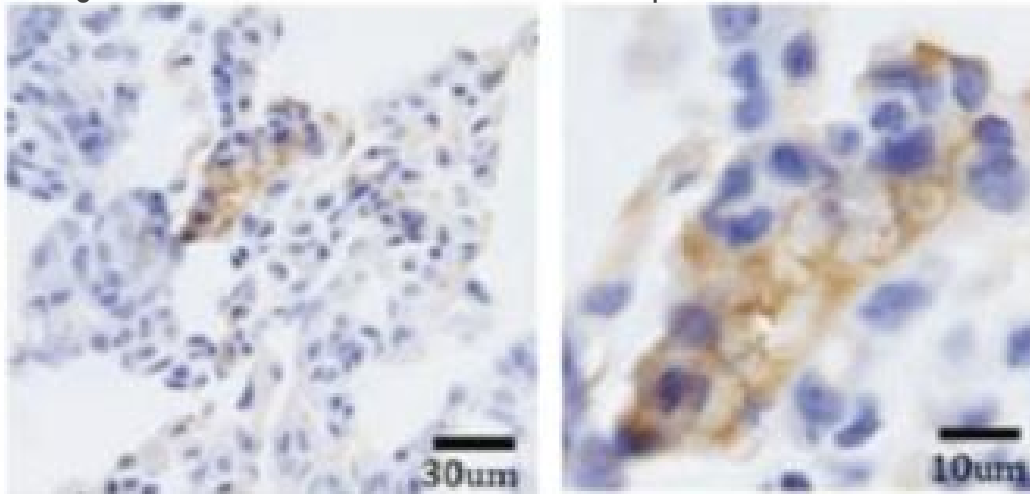
IN VIVO

Cellule di human breast cancer – mesenchimali – iniettate in
fat pad inguinali di ratto

Tumore primario: no E-cadherin expression



Lung metastasis: human E-cadherin expression



FINE