



ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России

Кафедра патологической анатомии с секционным курсом

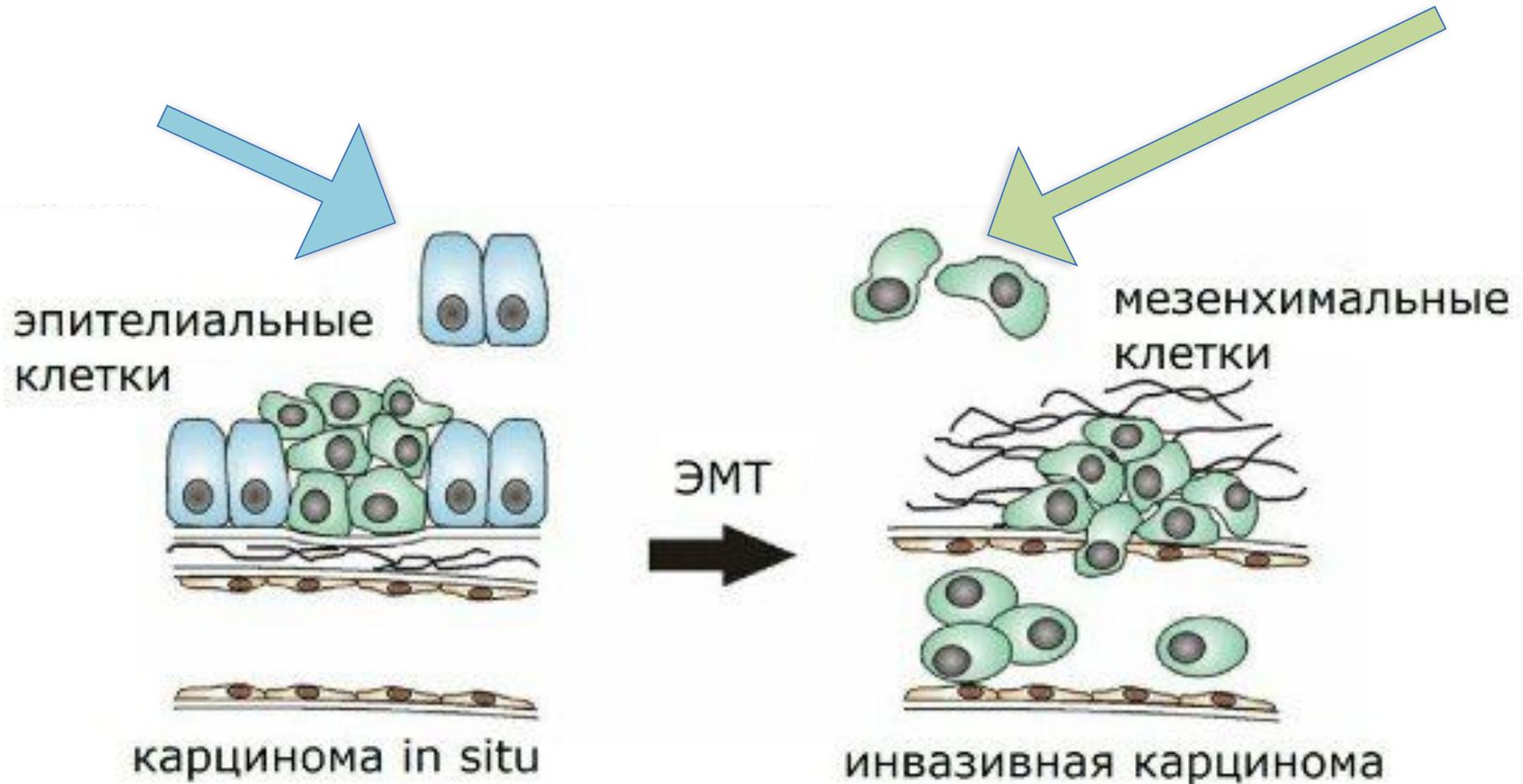
Эпителиально-мезенхимальная пластичность

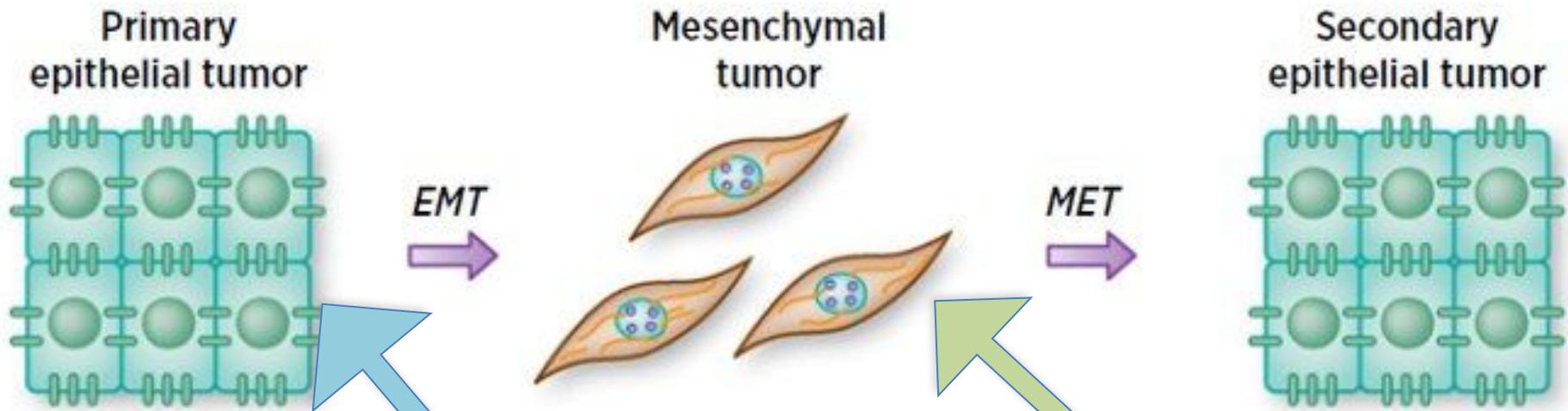
Подготовила:
студентка 408 группы
лечебного факультета
Шестакова А.Д.

Пермь, 2017 г

Эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМП/ЭМТ)

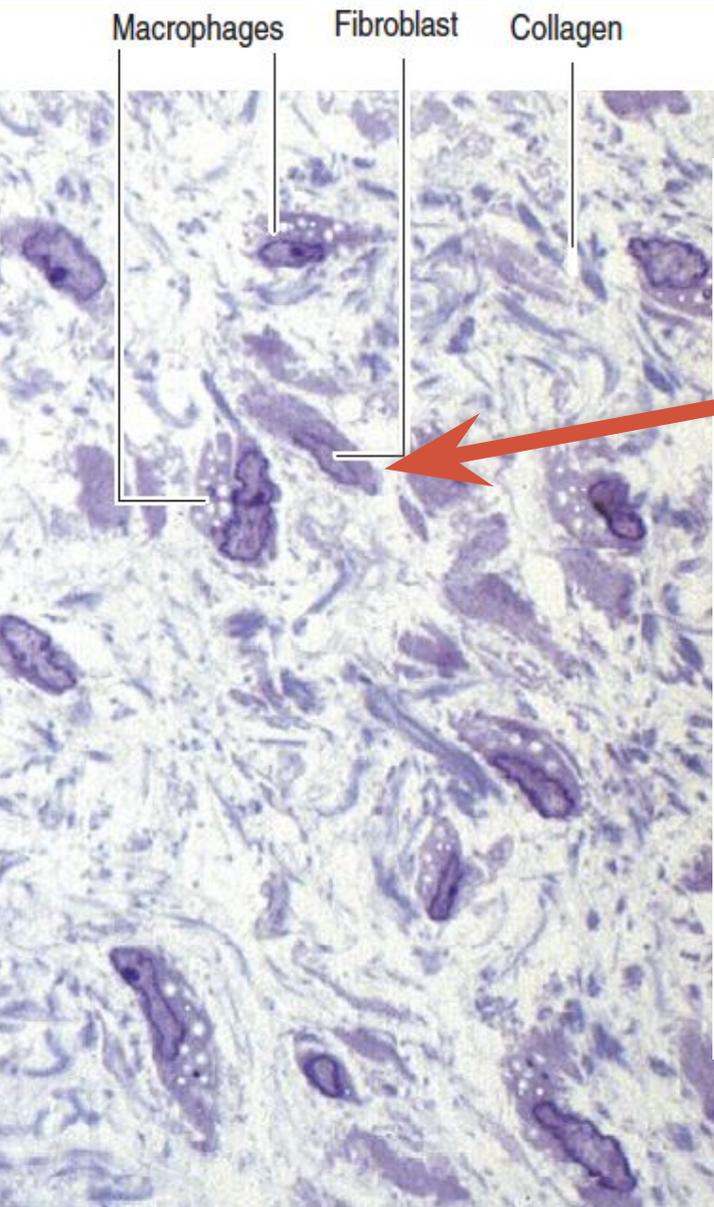
- процесс, при котором **покоящиеся эпителиальные клетки теряют свои межклеточные контакты и принимают мезенхимальную форму**





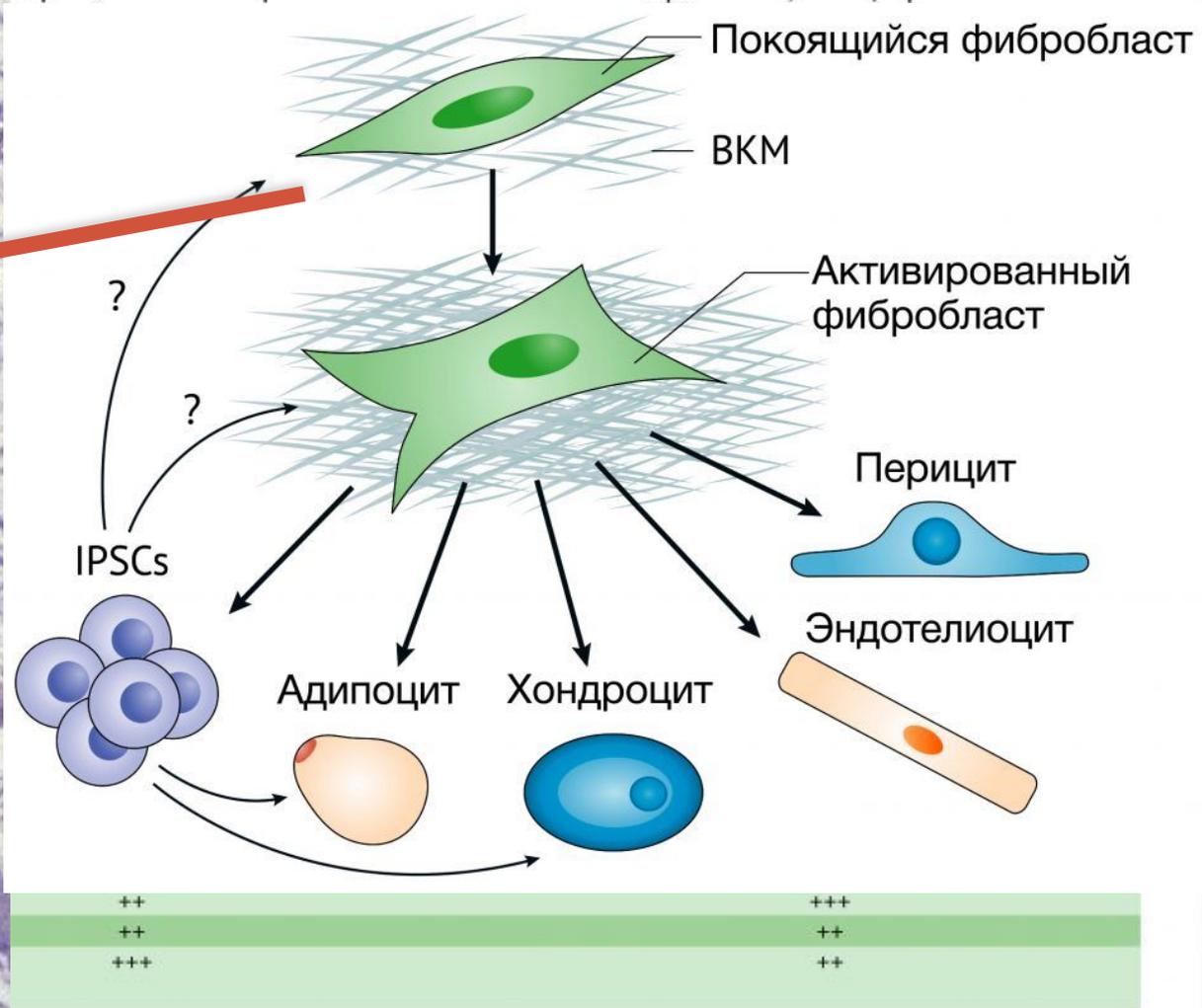
Отличия

Свойство	Эпителиальные клетки	Мезенхимальные клетки
Морфология в 2D-культуре	Полигональные	Веретенообразные, вытянутые
Поляризованность	Апикально-базальная	Передне-задняя
Подвижность	Нет	Подвижны и инвазивны
Цитоскелет	Экспрессия цитокератинов	Экспрессия виментина
Клетка-клеточные соединения	Формируют адгезионные и плотные контакты с соседними эпителиальными клетками	Не могут формировать адгезионные и плотные контакты; связываются с окружающим внеклеточным матриксом посредством фокальных



Нормальные активированные

с Фибробласты, ассоциированные



Физиологически этот процесс играет значимую роль при заживлении ран и в ходе эмбрионального развития организма.

Типы ЭМТ в зависимости от фенотипа трансдифференцируемых клеток:

Transdifferentiation

(Metaplasia)



Mature epithelia



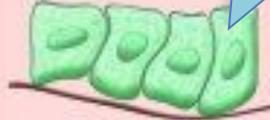
Unknown intermediate



Different mature epithelia

EMT by type (based on context)

Type 1 (mesenchymal)



Primitive epithelia

EMT



Mesenchymal cells

MET



Secondary epithelia

Type 2 (fibroblast)



Secondary epithelia or endothelia



Fibroblasts

Type 3 (metastatic)



Epithelial carcinoma



Metastatic tumor cells



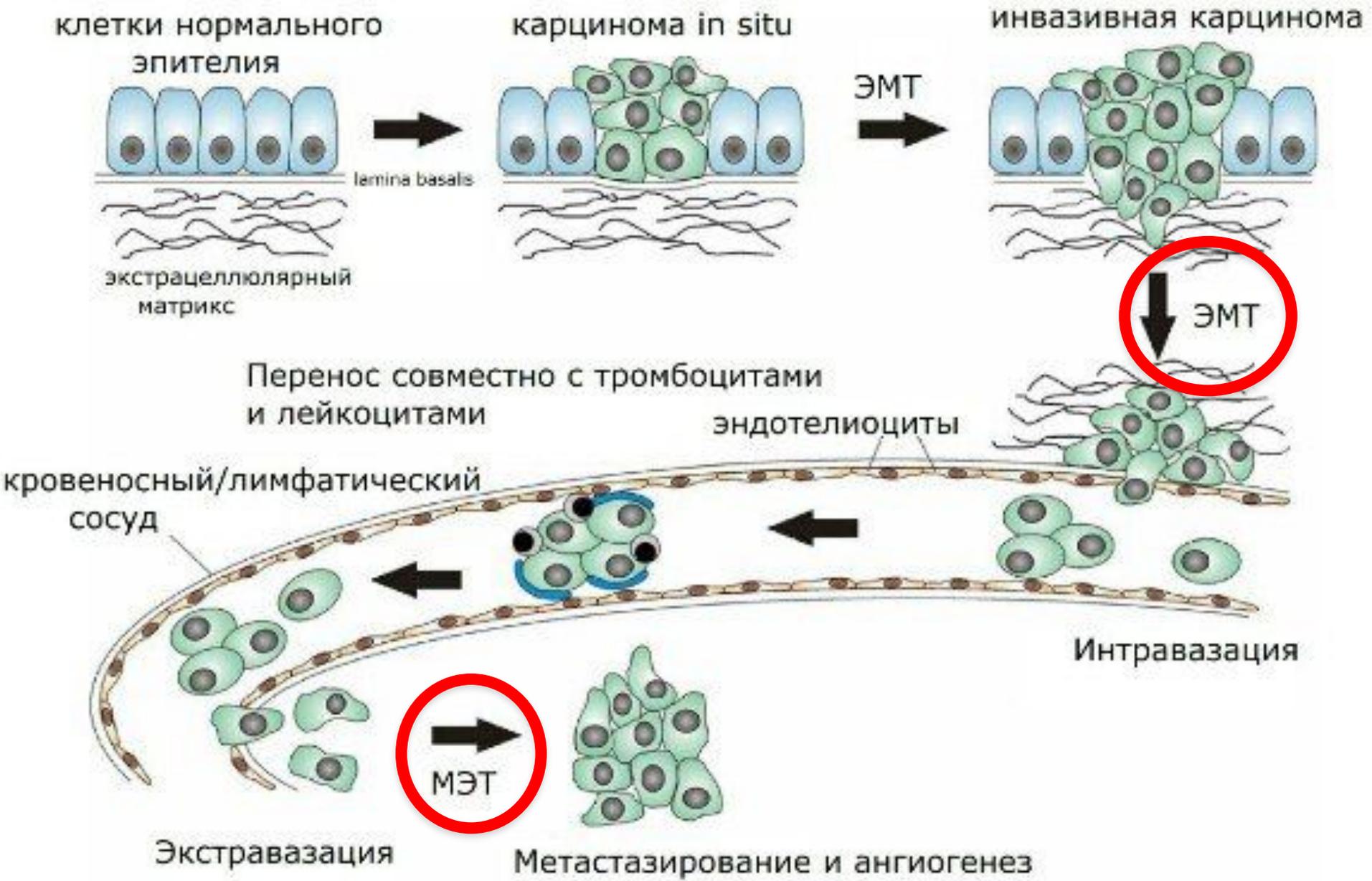
Secondary tumor nodule

Незрелые клетки эпителиального фенотипа, которые превращаются в мезенхимальные, из которых потом формируются клетки эпителия в участках, согласно программе гаструляции и миграции клеток нервного гребня.

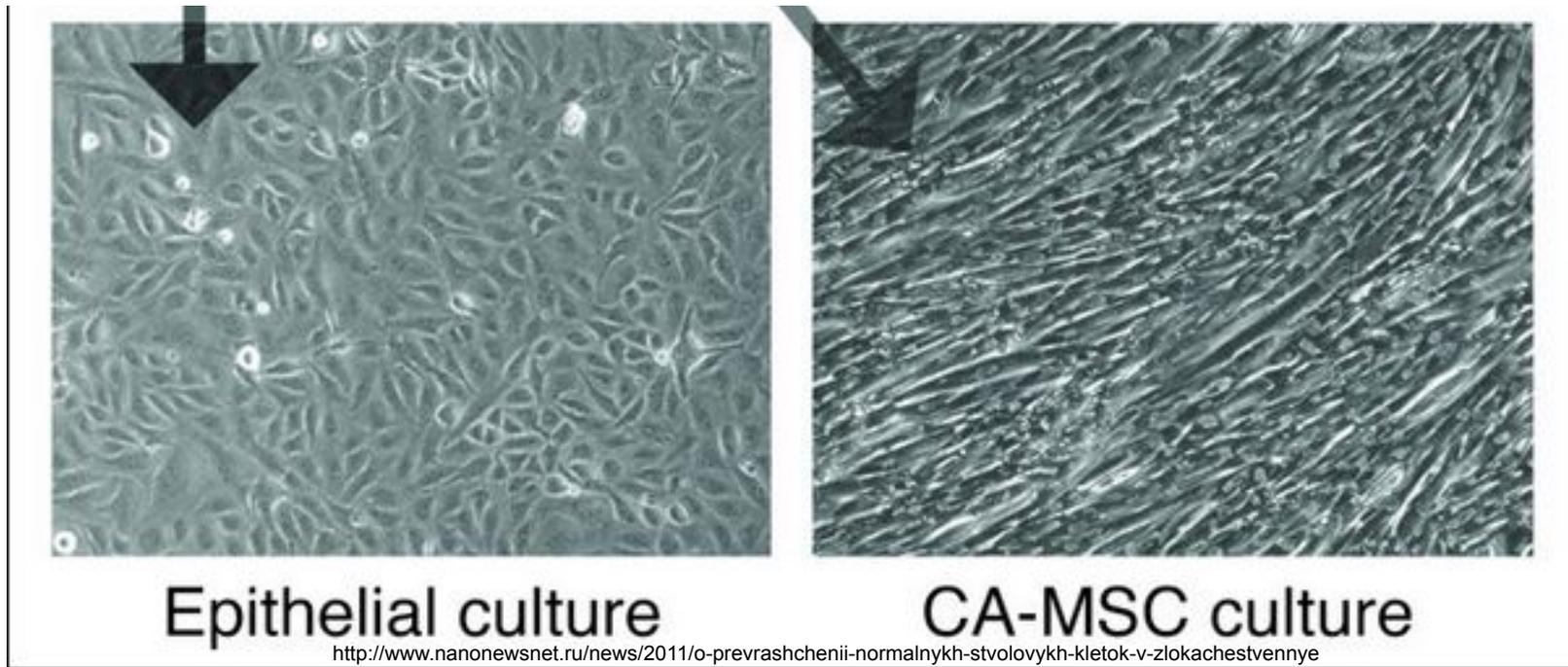
эпителиальные/эндотелиальные клетки заполняют интерстициальные пространства фибробластными клетками.

ЭМТ как часть метастатического процесса при опухолевой прогрессии, когда эпителиальные клетки покидают первичный очаг, мигрируют и реконструируются во вторичную ткань

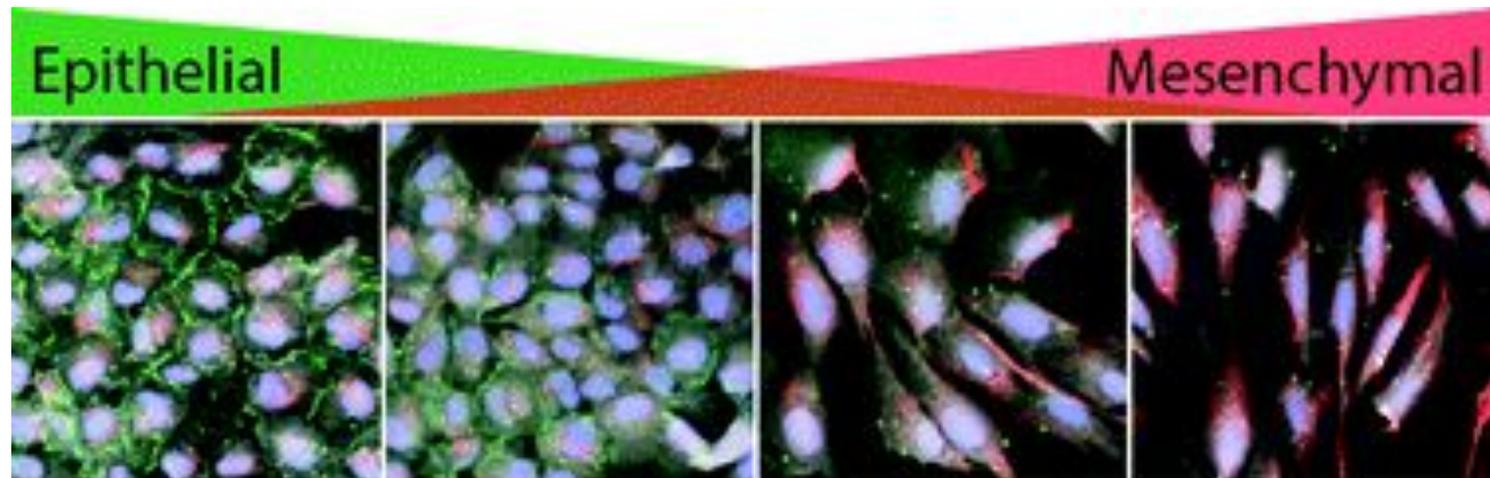
В контексте патологии ЭМТ способствует прогрессии опухолевых заболеваний

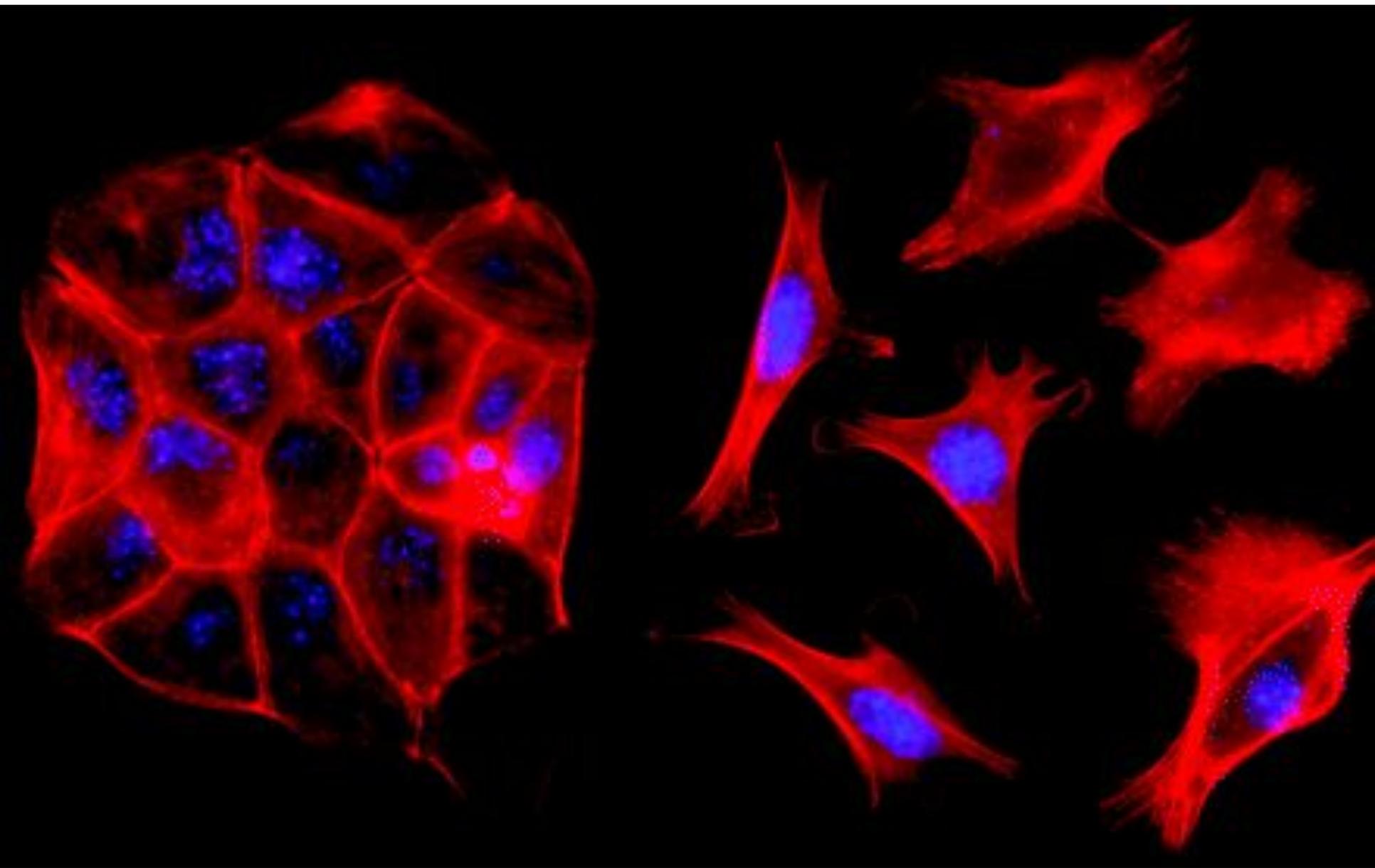


Хотя уже в конце XIX в. эпителиальные и мезенхимальные клетки были известны как два основных типа клеток,

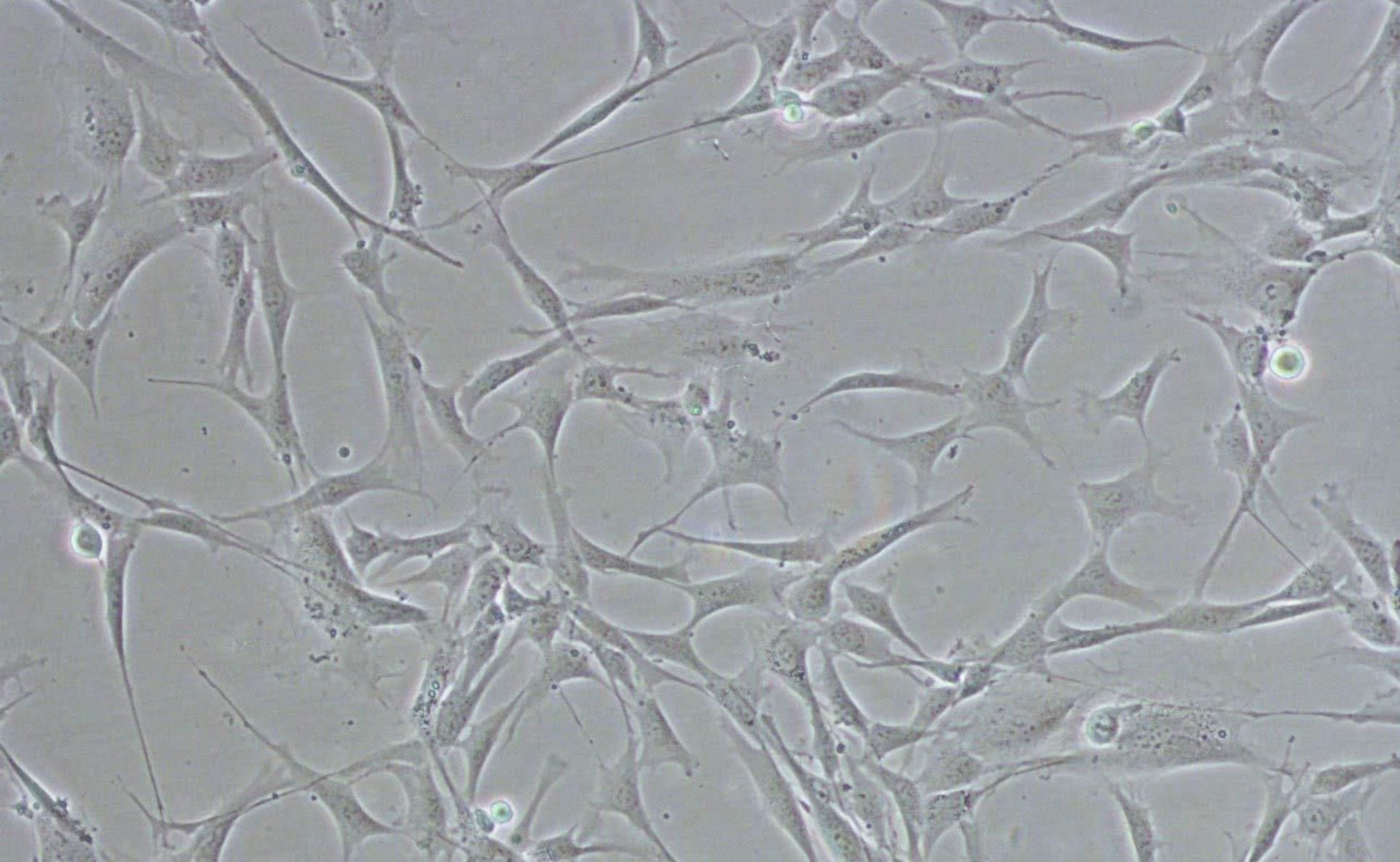


а процесс перехода между этими двумя типами был описан в 1908 г.,

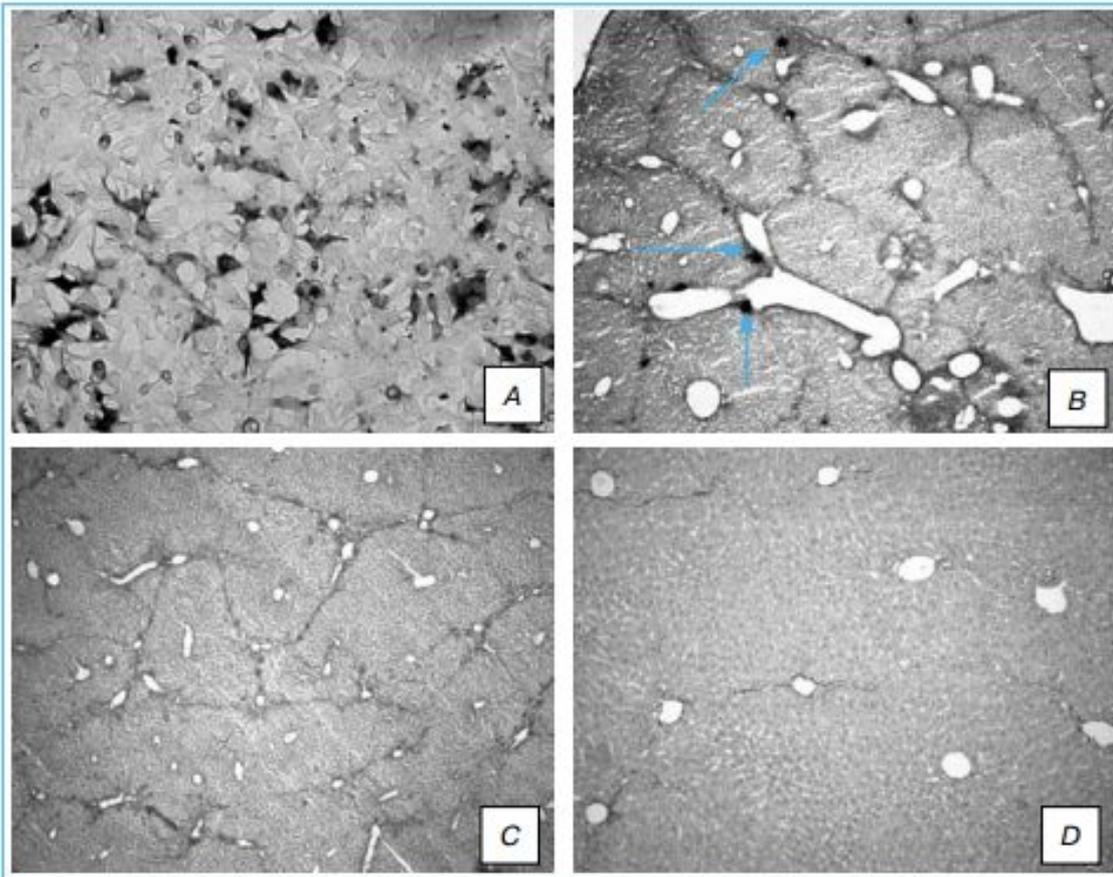




эпителиально-мезенхимальный переход как таковой был идентифицирован как самостоятельный процесс впервые лишь в 1982 г.



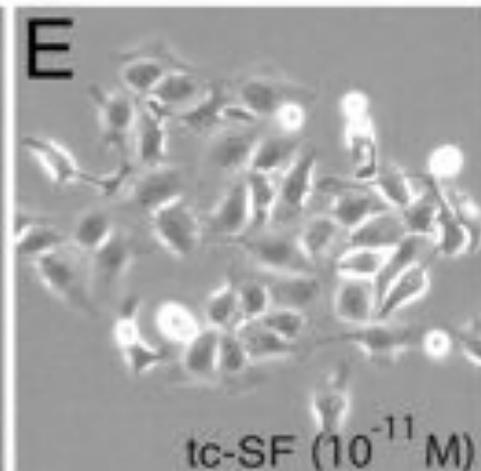
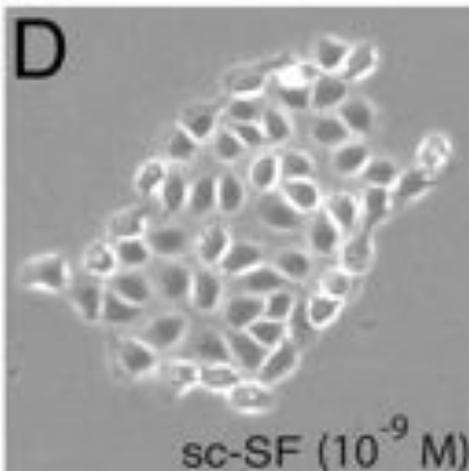
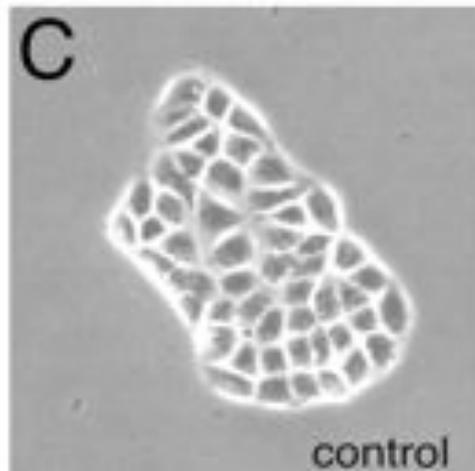
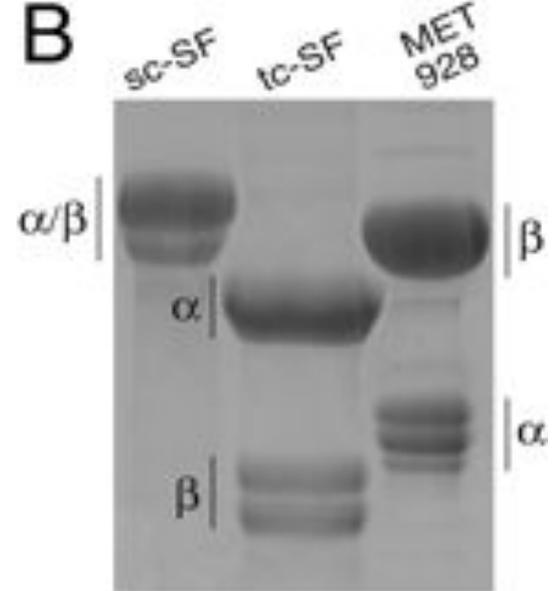
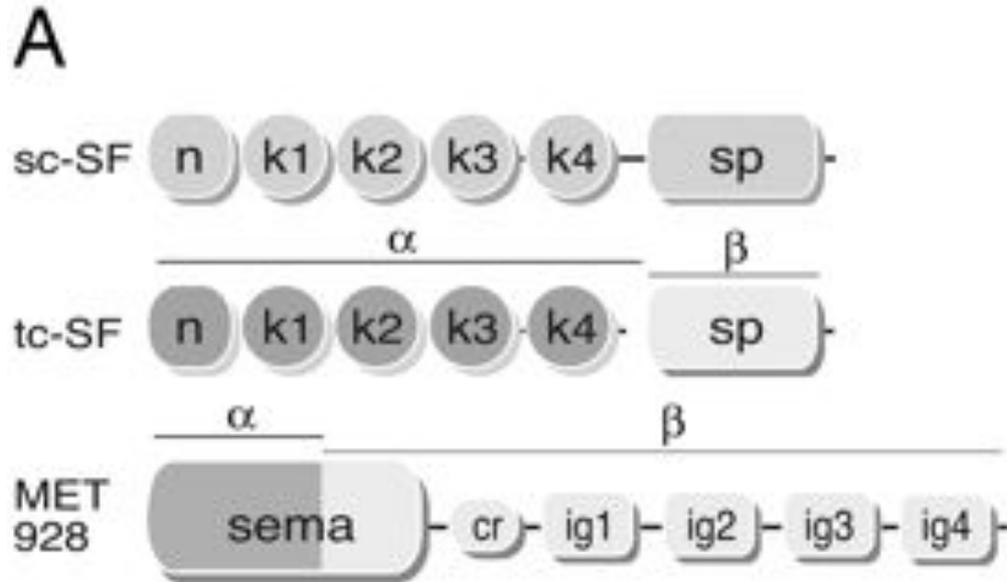
Вскоре после этого было обнаружено, что если инкубировать эпителиальные клетки в среде, в которой были культивированы фибробласты, то эпителиоциты разобьются и превращаются в мигрирующие мезенхимальные клетки.



Поначалу фактор, определённый как ответственный за данную трансформацию, получил обозначение “scatter factor”, а позднее был назван фактором роста гепатоцитов (HGF), поскольку была обнаружена его роль в качестве митогена для клеток ткани печени, участвующего в регенерации печени.



Рис. 4. Трансфекция клеток плазмидной ДНК. Клетки линии НЕК 293
 А — окраска субстратом X-Gal;
 В — срез печени на стадии фиброза через 6 дней после введения плазмидной ДНК, содержащей кДНК β -галактозидазы, методом гидропорации, окраска субстратом X-Gal и пикросириусом красным. Стрелками показаны участки печени, трансфицированные плазмидной ДНК, содержащей кДНК β -галактозидазы;
 С — срез печени на стадии фиброза после введения физиологического раствора методом гидропорации;
 D — после трансфекции плазмидной ДНК, содержащей кДНК фактора роста гепатоцитов человека, методом гидропорации, окраска пикросириусом красным.
 Увеличение $\times 10$



В экспериментах *in vitro* было указано на то, что HGF опосредует ЭМТ посредством активации тирозинкиназных рецепторов с-Met, кодируемых протоонкогеном.

Помимо HGF и другие факторы роста осуществляют вклад в индукцию ЭМТ путём стимуляции тирозинкиназных рецепторов (как *in vitro*, так и *in vivo*)

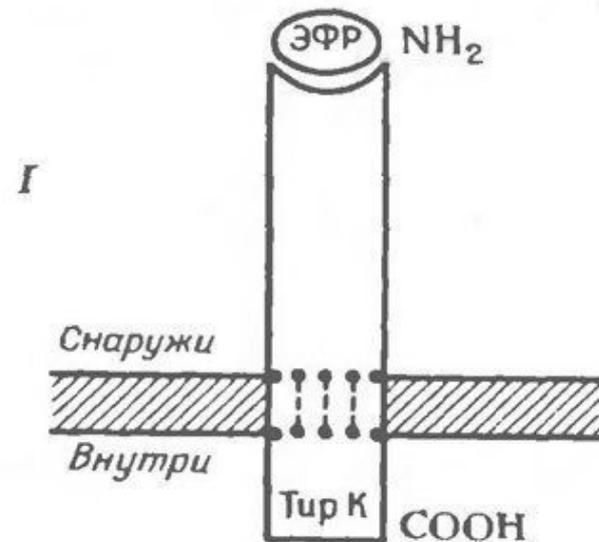
факторы роста

фактор роста фибробластов (FGF)

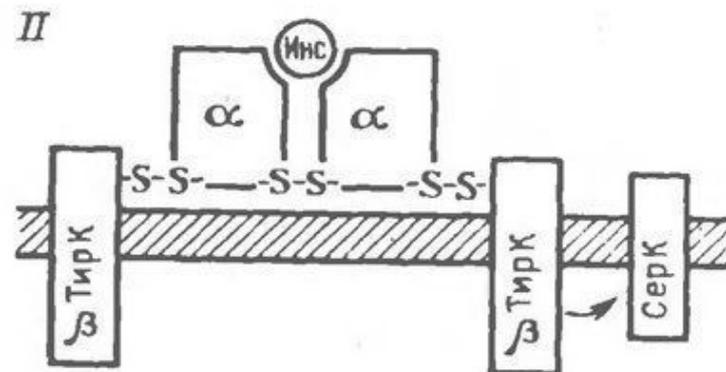
инсулиноподобный фактор роста (IGF)

эпителиальный фактор роста (EGF)

трансформирующий фактор роста бета (TGF- β)

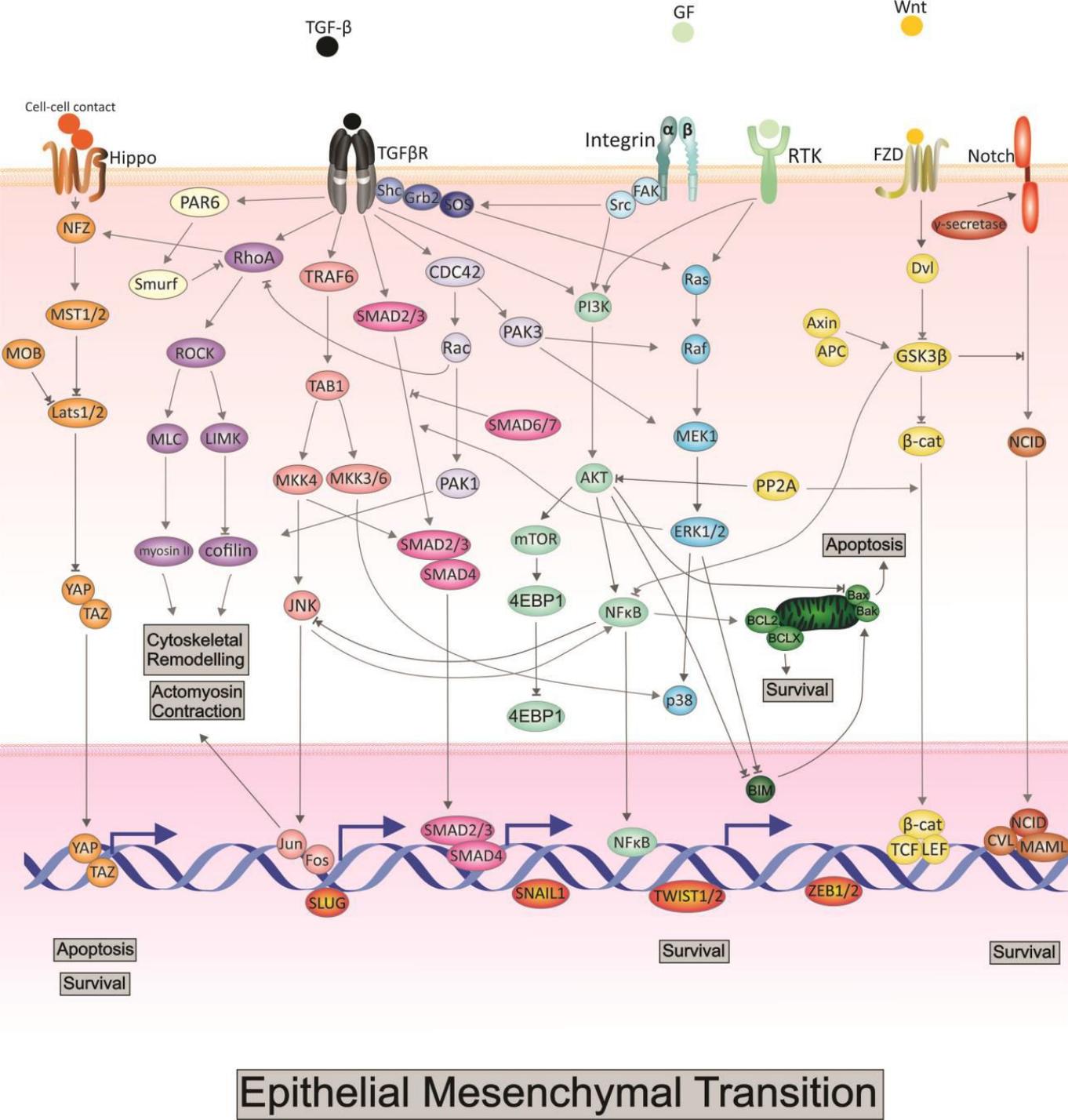


мономерный рецептор эпидермального фактора роста



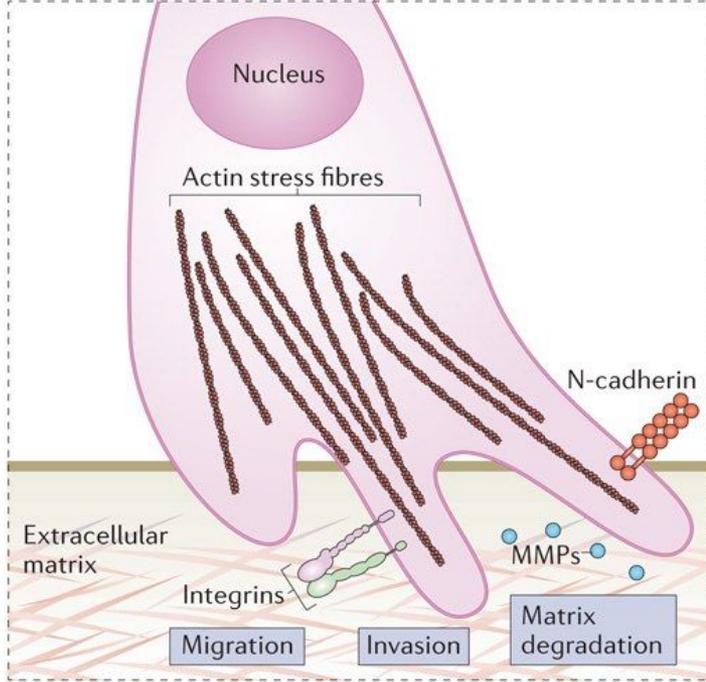
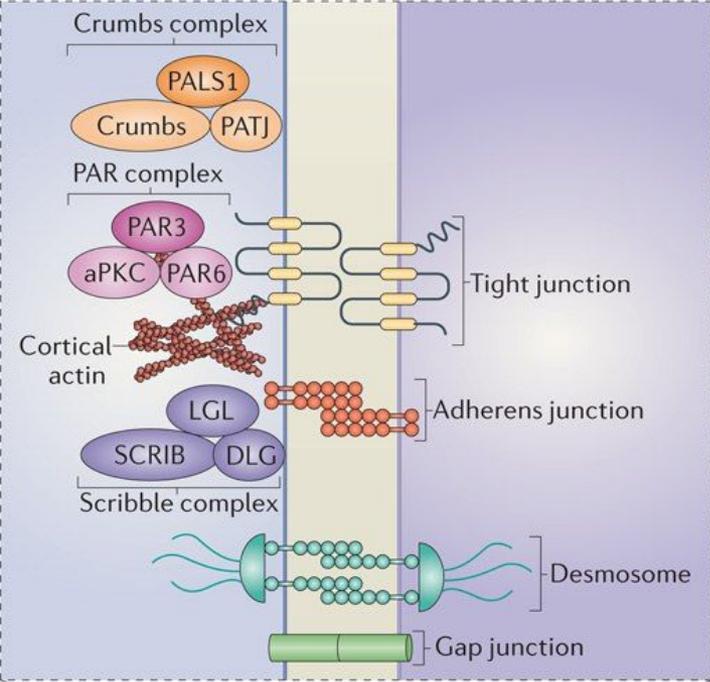
гетеротетраммерный рецептор инсулина

Часто перечисленные факторы действуют синергетически, усиливая эпителиально-мезенхимальный переход.

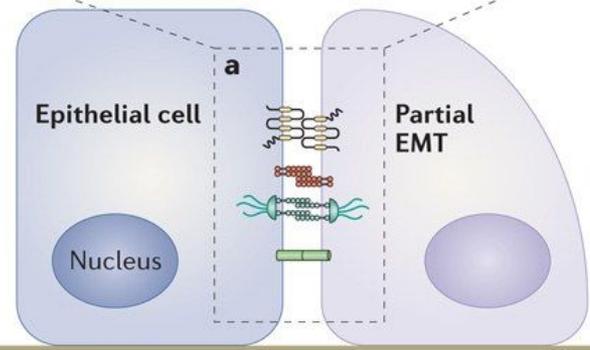


Характеристика пусковых факторов и вовлечённых сигнальных путей имеет огромное значение, поскольку **трансформационный процесс** рассматривается непосредственно как **терапевтическая мишень** в контексте разработки **лекарственных препаратов**, направленных на борьбу с фиброзами и инвазивными опухолями.

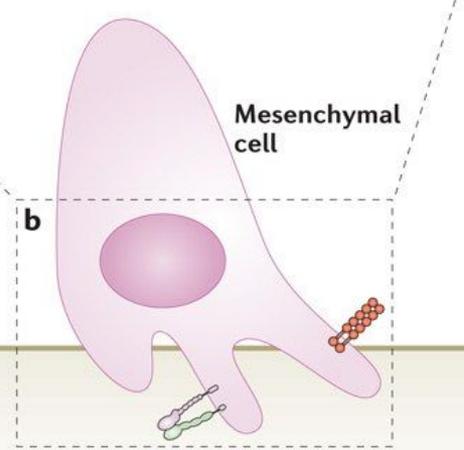
Epithelial Mesenchymal Transition



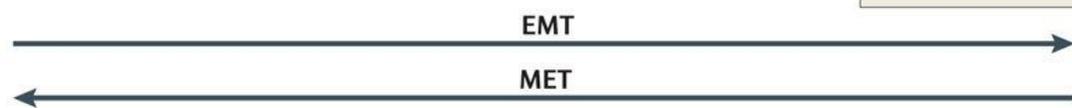
В ходе ЭМТ эпителиальные клетки теряют свою апикобазальную полярность и приобретают **фибробласто-подобный фенотип**.
 Вследствие потери контактов с соседними клетками эпителиоциты **высвобождаются из системы межклеточных связей** в организованной эпителиальной ткани.



- Cell-cell adhesion
 - Apical-basal polarity
 - Epithelial markers
 - Cortical actin
- Cell contact dissolution
 - Actin reorganization



- Cell individualization
- Front-rear polarity
- Mesenchymal markers
- Actin stress fibres



После реструктуризации актинового цитоскелета клетки могут **мигрировать** через **экстрацеллюлярный матрикс**, что опосредовано тем, что на этой стадии клетки в состоянии синтезировать характерные мезенхимальные белки, дающие возможность устанавливать клеточно-матриксные связи.

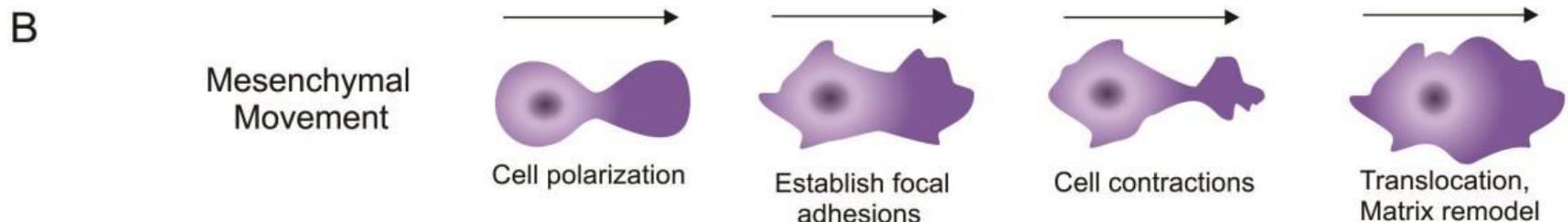
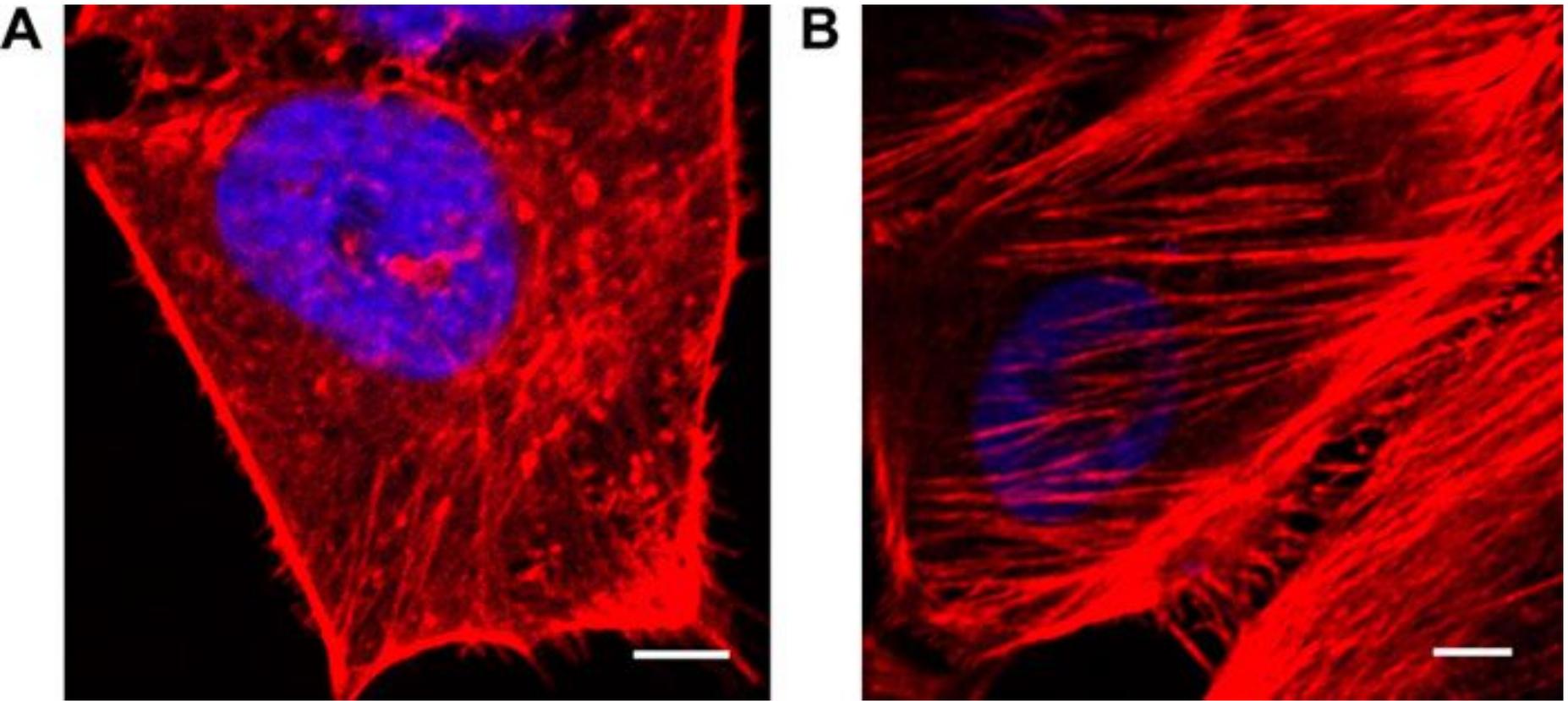
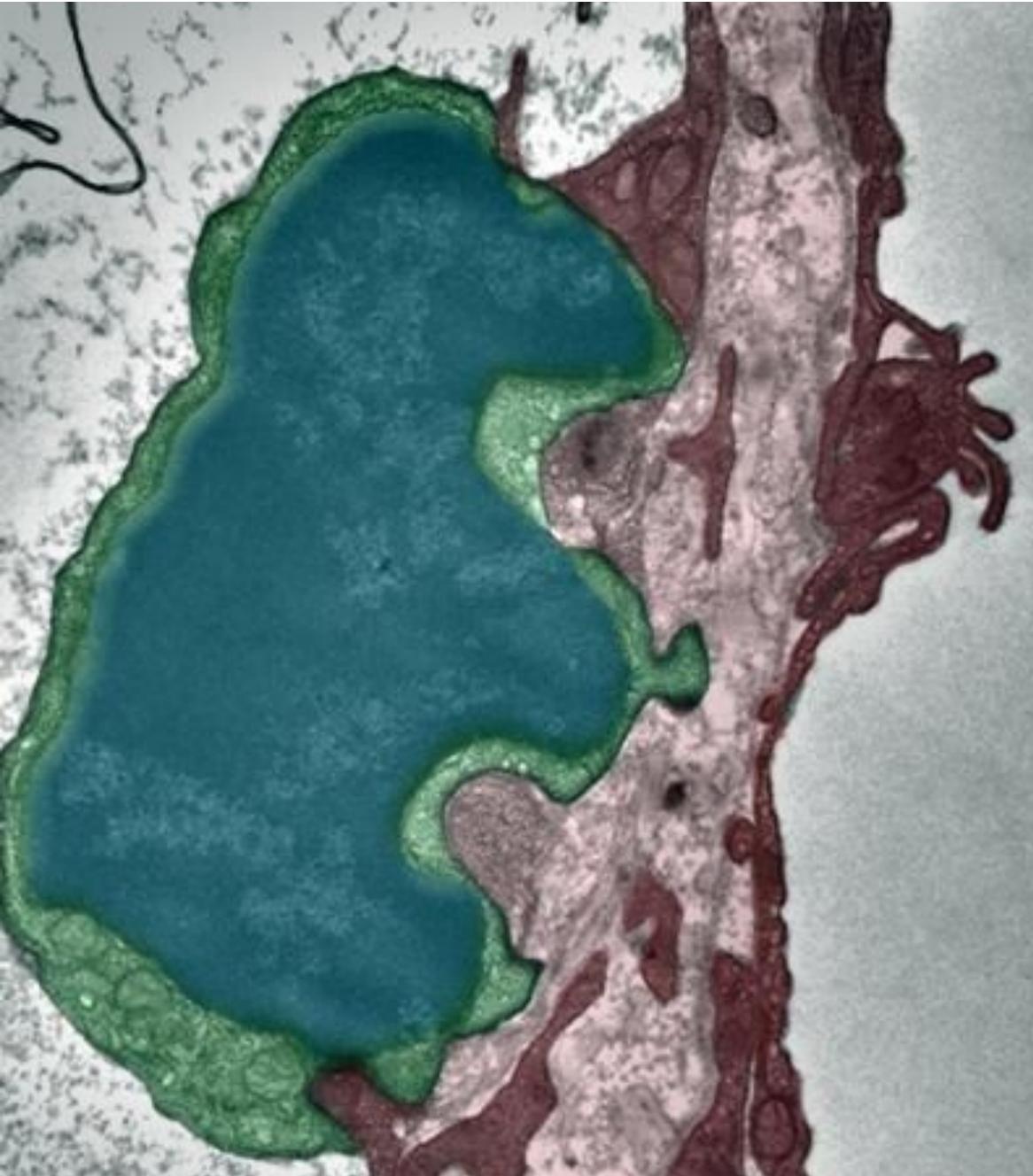
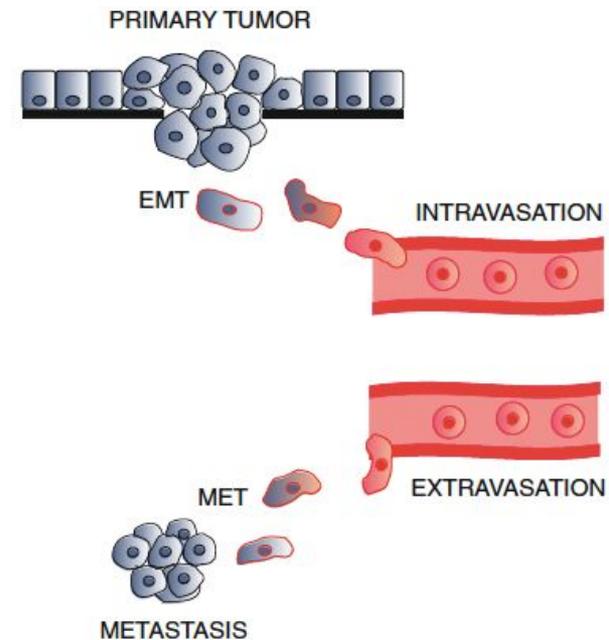


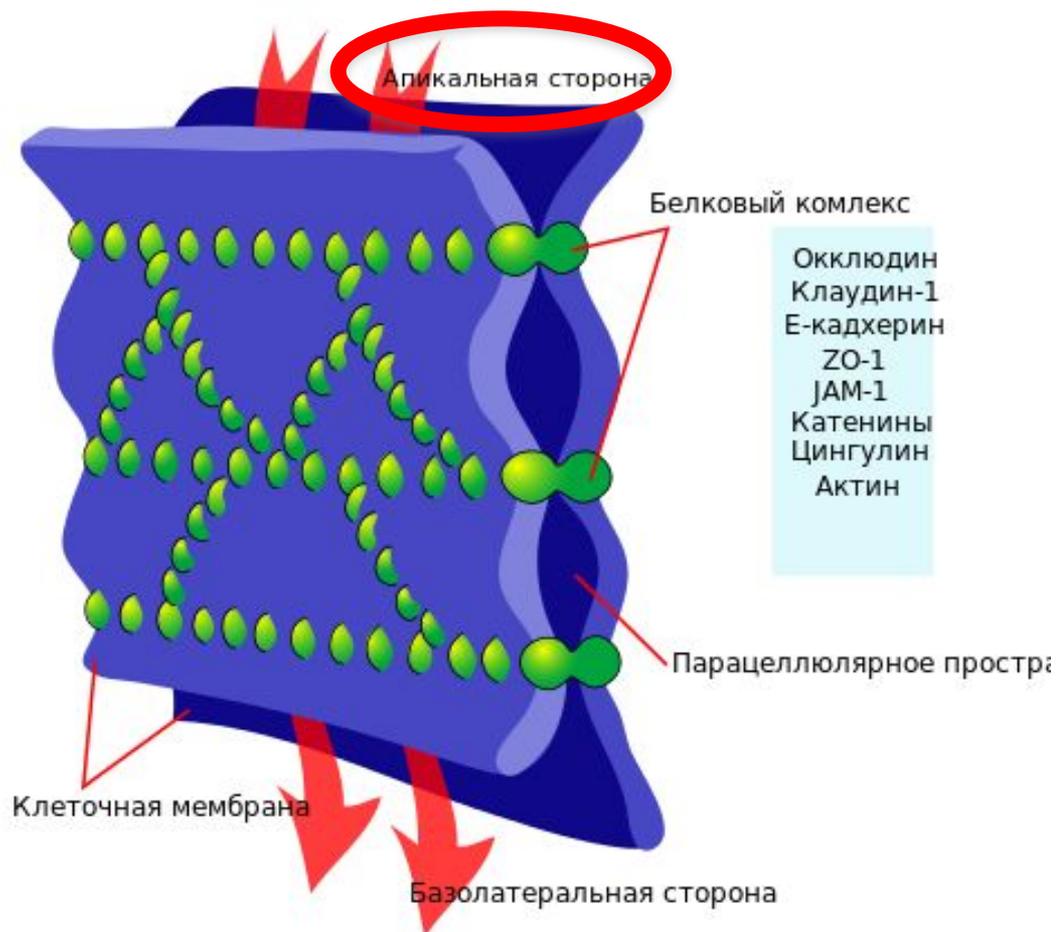
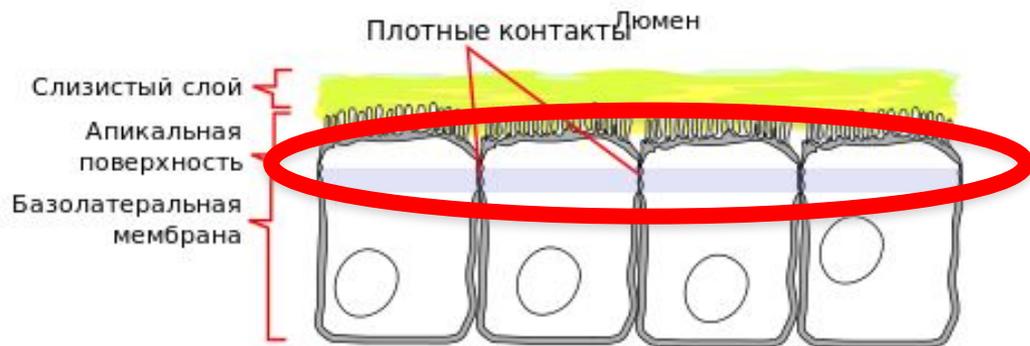
Fig. Confocal microscopy planes of F-actin (red) in fixed (A) MCF-7 and (B) MCF-10A cells at different section, (A,B): basal section (Scale bar represents 5 μ m.)



клетка рака легких, прорастающая в кровеносный сосуд

Также клетки вырабатывают матрикс-деградирующие протеазы, разрушающие базальную мембрану и **облегчающие инвазию** трансформированных клеток в кровеносное и лимфатическое русло.

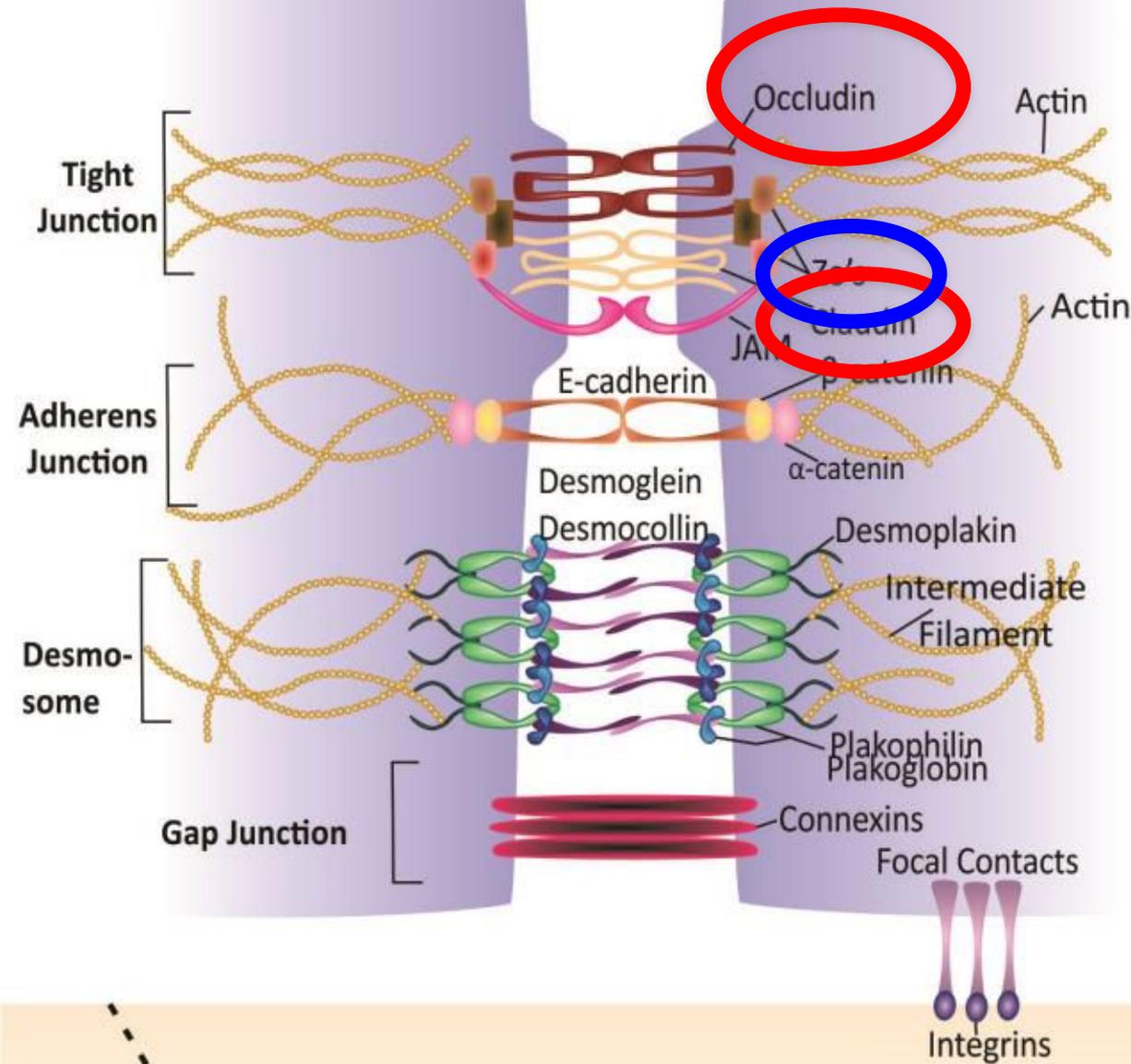




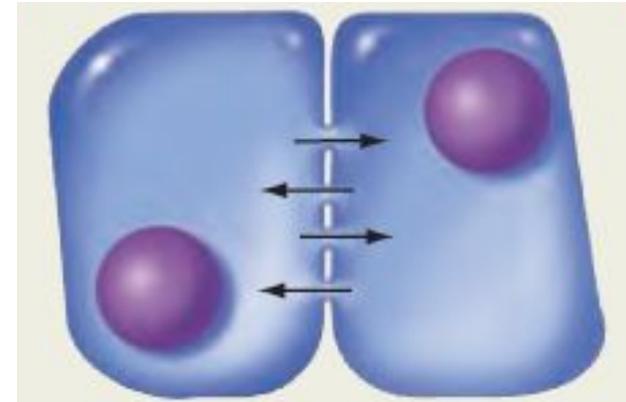
Плотные контакты (tight junctions), связывающие клетки в эпителиальных тканях, служат для поддержания целостности ткани, обеспечивают взаимодействие клеток друг с другом, а также выполняют барьерную функцию, принимая участие в регуляции проницаемости эпителия путём ограничения парацеллюлярного транспорта, и придают клеткам полярность благодаря своей организации преимущественно в апикальной области (zona occludens).

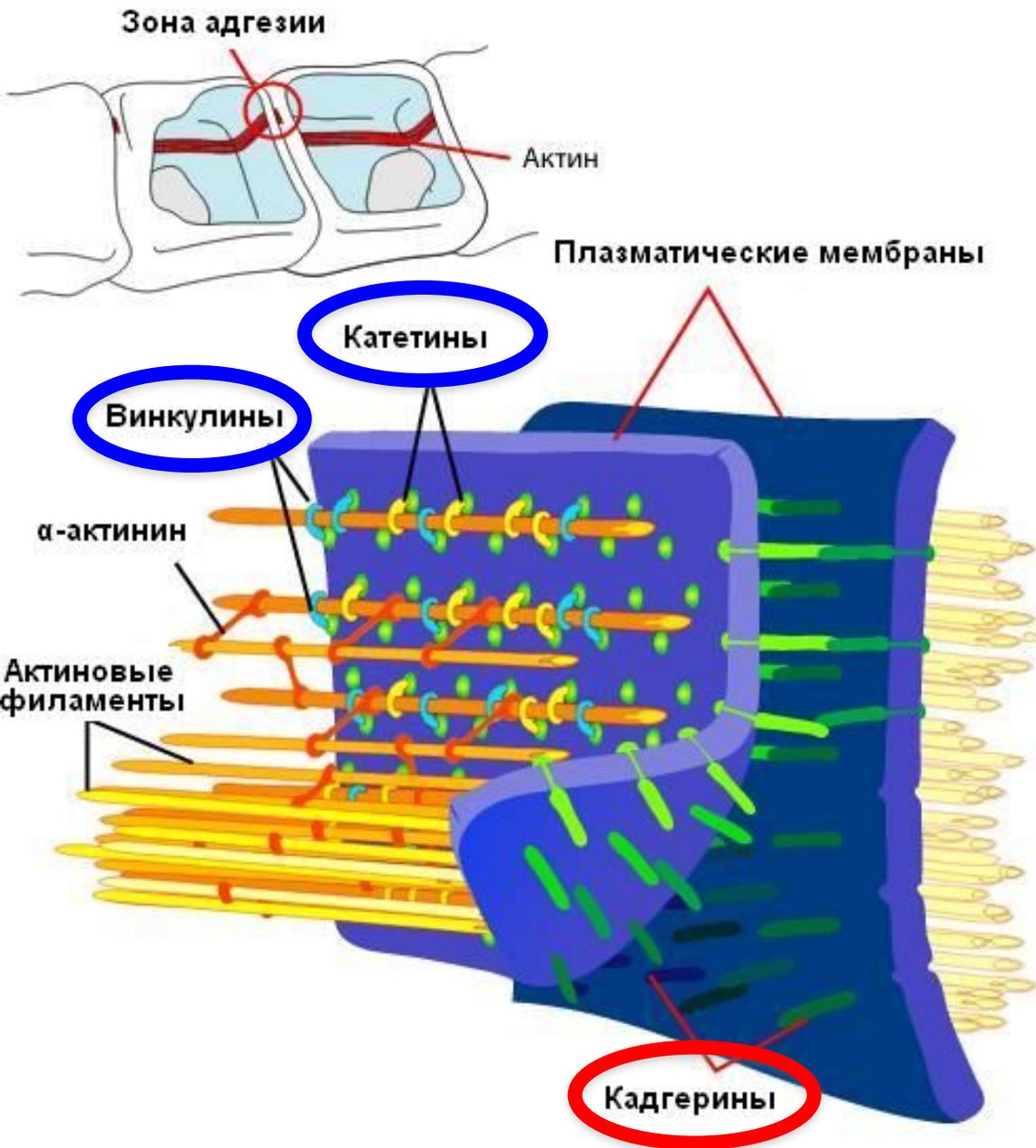
Epithelial Cell

Apical Surface



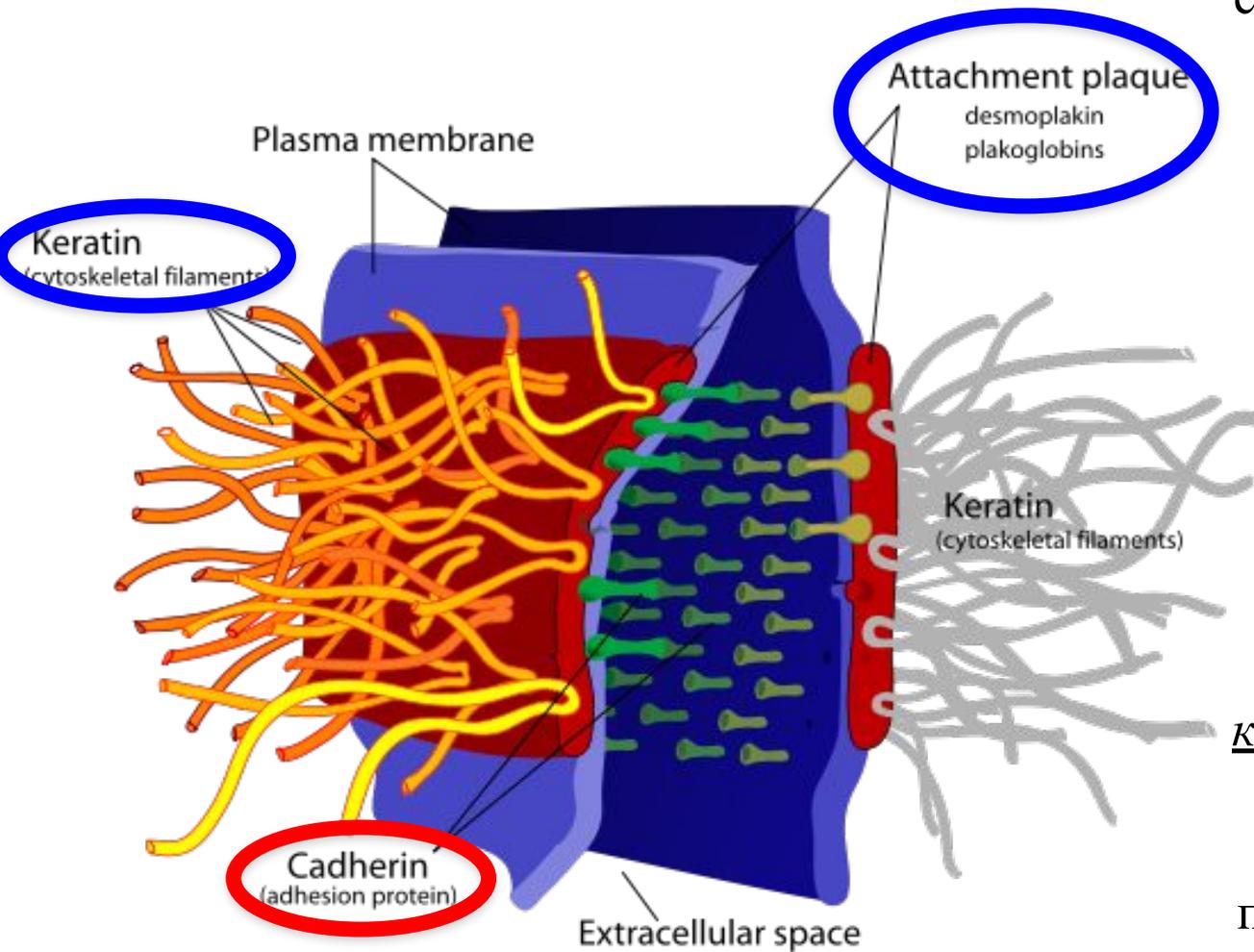
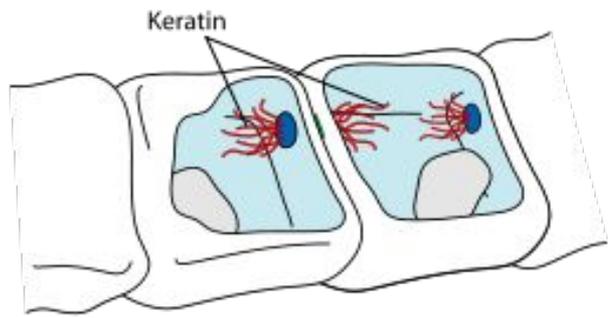
Формируются плотные контакты за счёт трансмембранных белков **ОККЛЮДИНОВ** и **КЛАУДИНОВ**, которые связываются с актиновым цитоскелетом через внутриклеточные белки, как например, ZO-1 (zona occludens protein 1).





Адгезионные контакты (adherens junctions) представляют собой гомодимерные межклеточные контакты, характеризующиеся связью через классические **кадгерины** (находятся в зависимости от ионов кальция; типичные примеры — E-кадгерин, N-кадгерин).

Пронизывающие мембрану кадгерини связаны, опять же, с внутренней стороны с цитоскелетом посредством бета- и альфа-катенинов и винкулина или плакоглобина.



Десмосомы,
распределяющие силы
напряжения по всему
объёму ткани,
противостоят разрывам и
смещениям, то есть, важны
для стабилизации ткани.

Десмосомы соседних
клеток связаны друг с
другом за счёт
трансмембранных
**десмосомальных
кадгеринов**
(десмоколлины и
десмоглеины), а также
скреплены с
кератиновыми волокнами с
ПОМОЩЬЮ
ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ
ПАРТНЁРОВ — плакоглобина
и десмоплакина.

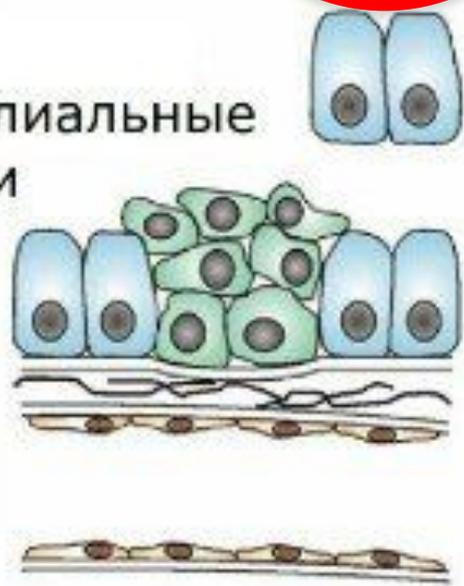
снижение
синтеза
маркеров
эпителиальных
клеток

Е-кадгерин
Клаудины
Окклюдины
Десмоплакин
Цитокератины
MUC-1

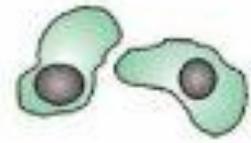
N-кадгерин
Фибронектин
Витронектин
Виментин
LEF-1
MMP-2

усиление синтеза
маркеров
мезенхимальных
клеток

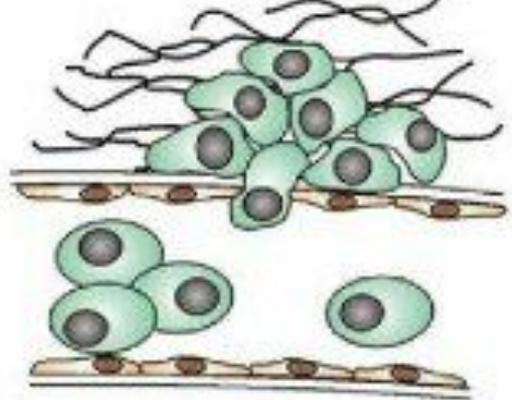
эпителиальные
клетки



карцинома in situ



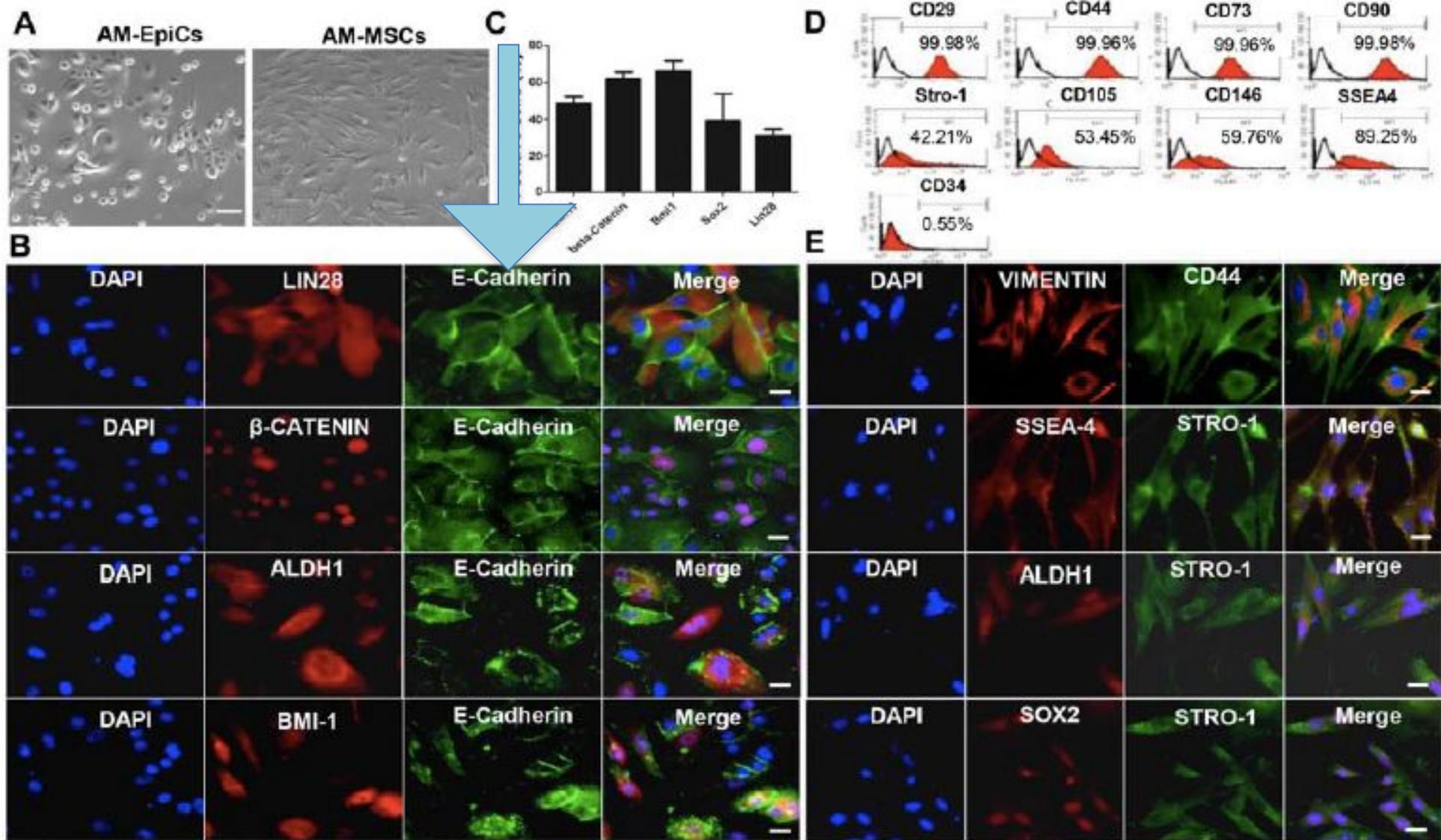
мезенхимальные
клетки



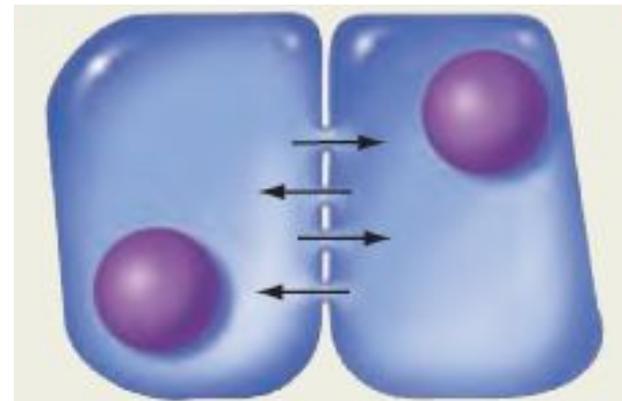
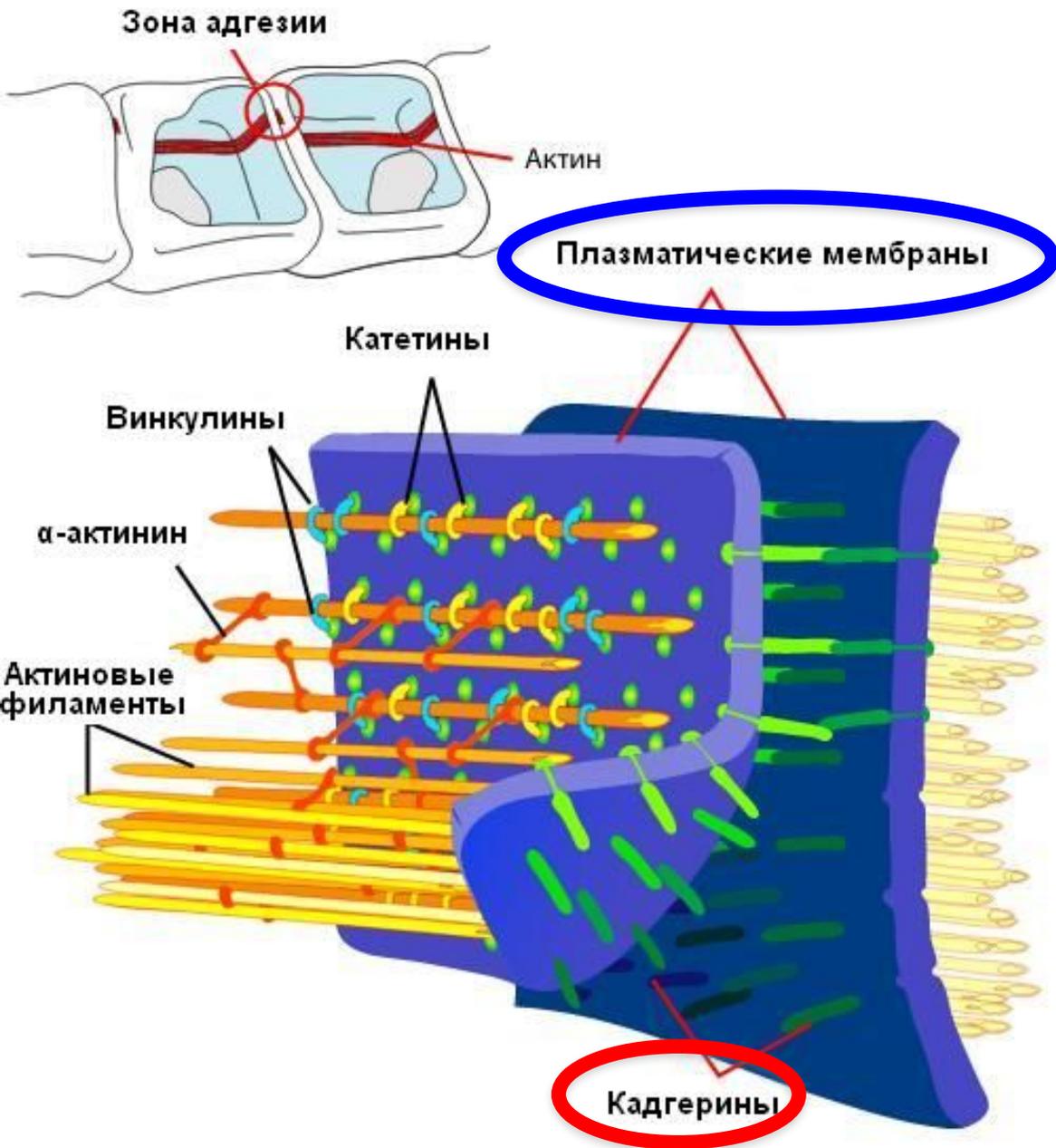
инвазивная карцинома

Таким образом, при утрате того или иного соединения какой-либо клетки с окружающими содержание соответствующих контактных белков резко снижено.

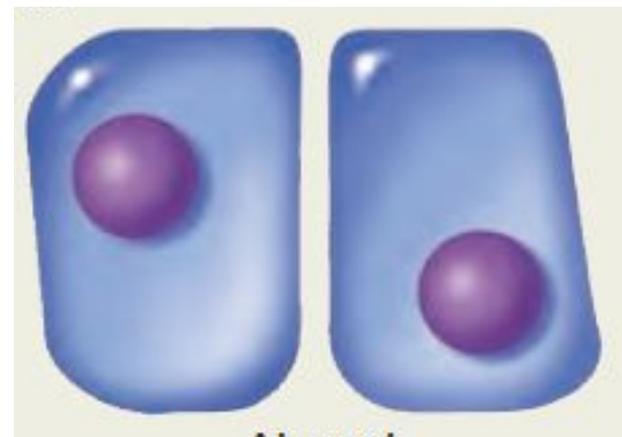
По этой причине эти белки годятся для трансформационного статуса эпителиальных клеток.

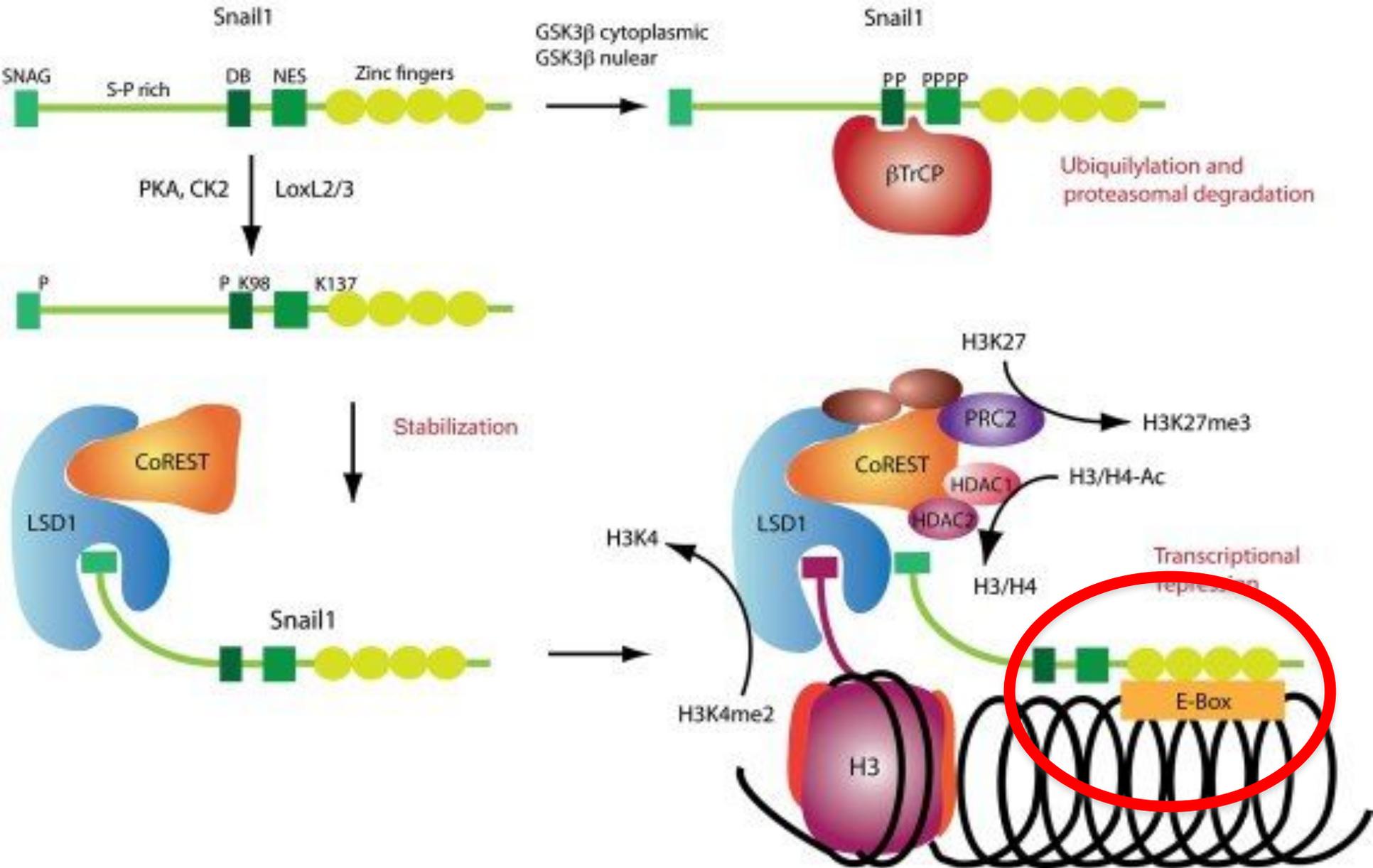


Снижение экспрессии или функциональной активности **Е-кадгерина** является крайне важной информацией о развитии опухоли, поскольку наблюдается в канцерогенезе множества злокачественных опухолей и связано с индукцией ЭМТ, а потому представляется существенным признаком инвазивного роста опухоли.

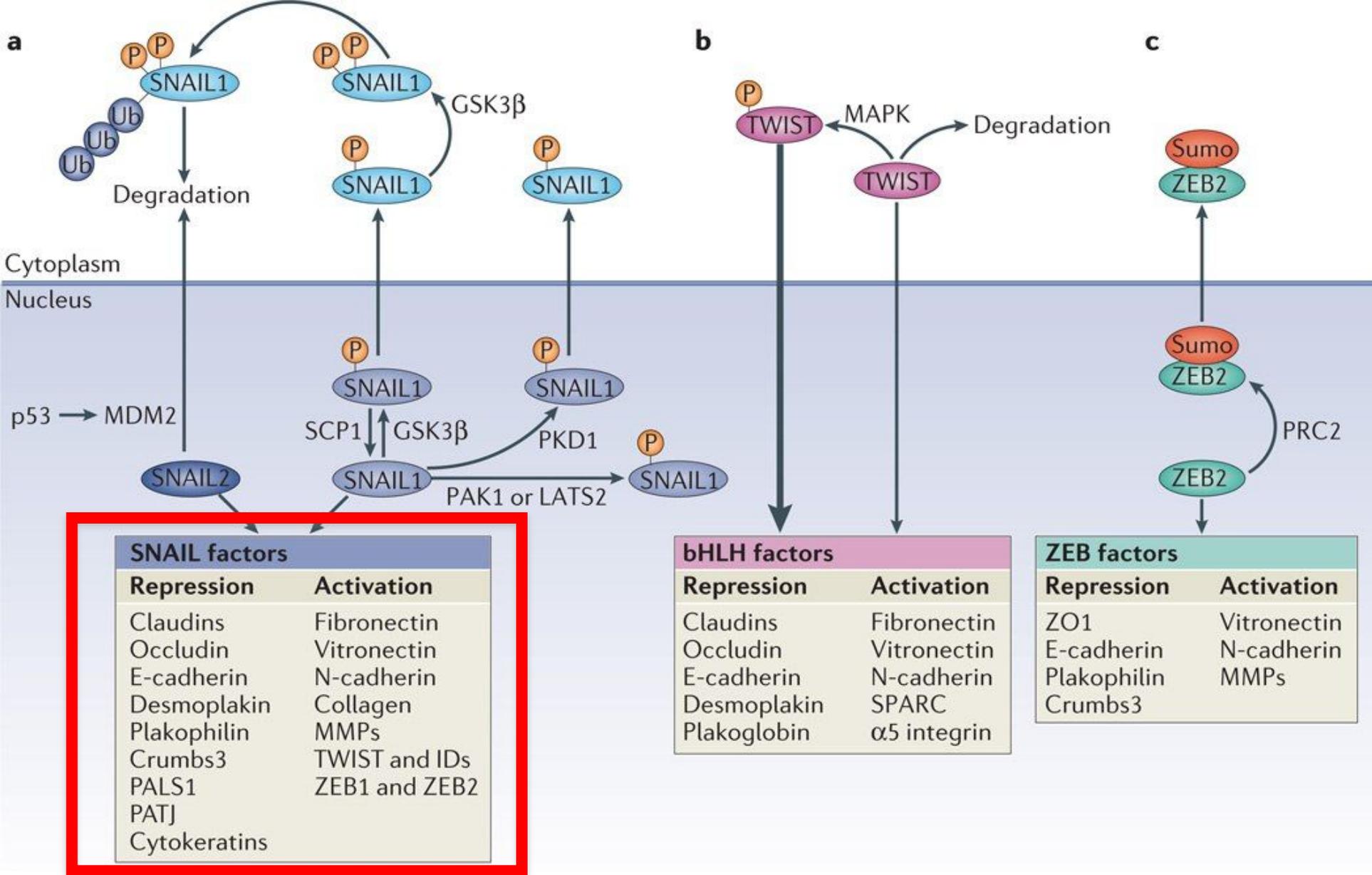


Ослабление адгезионных контактов осуществляется как путём передислокации E-кадгерина из цитоплазматической мембраны в цитоплазму, так и опосредованно через генетическую регуляцию.



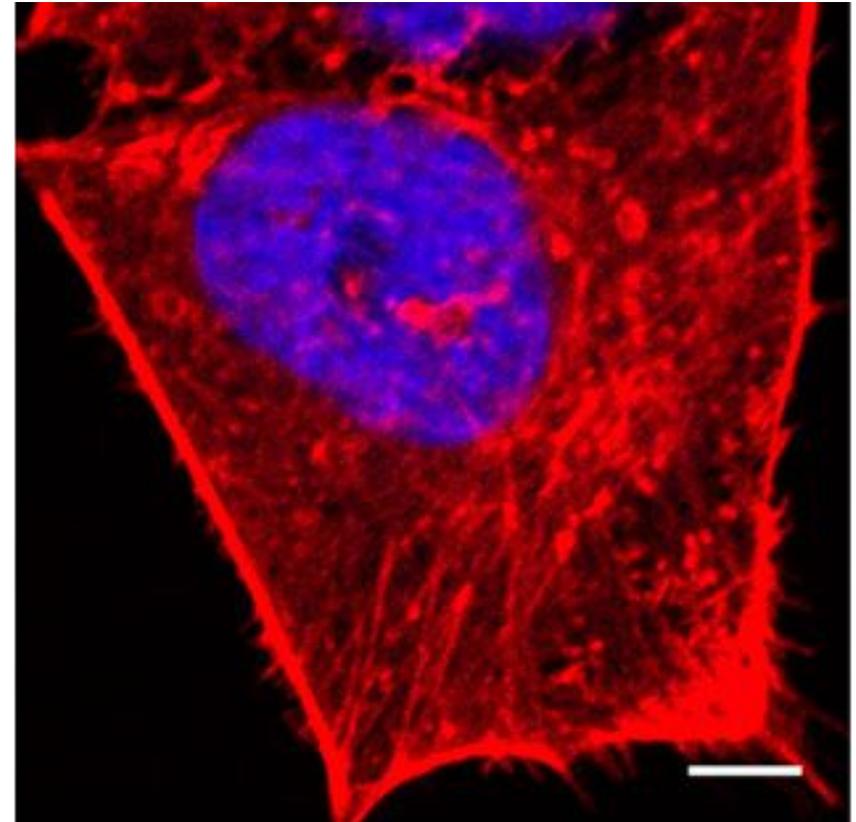
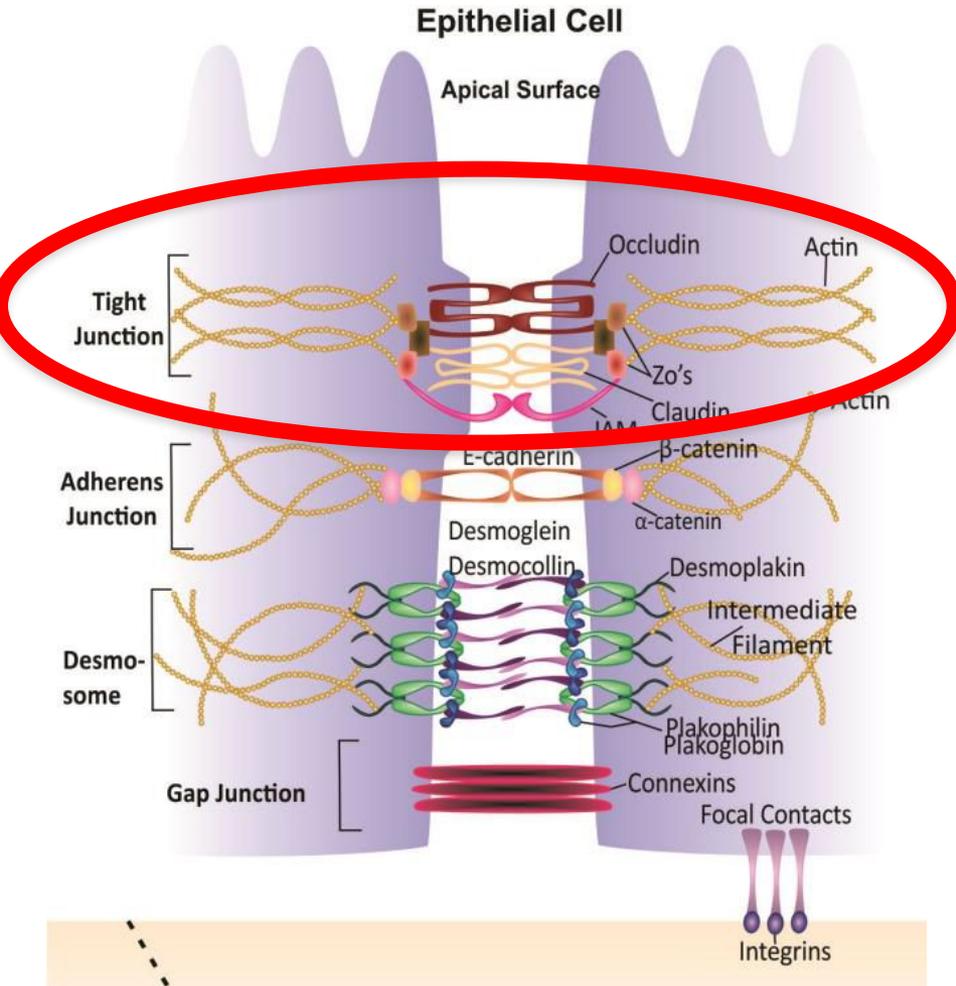


Белки типа цинкового пальца **Snail** и **Slug** препятствуют транскрипции **E-кадгерина**, зацепляясь на специальном сайте связывания промотора гена E-кадгерина (E-бокс, Enhancer Box).



Белки, отвечающие за развитие эпителиального и мезенхимального фенотипа и их регуляция факторами транскрипции SNAIL, TWIST и ZEB в ходе ЭМТ.

Разобравшись с потерей межклеточных контактов, обратимся к тому, в чём же заключается **реструктуризация цитоскелета**.

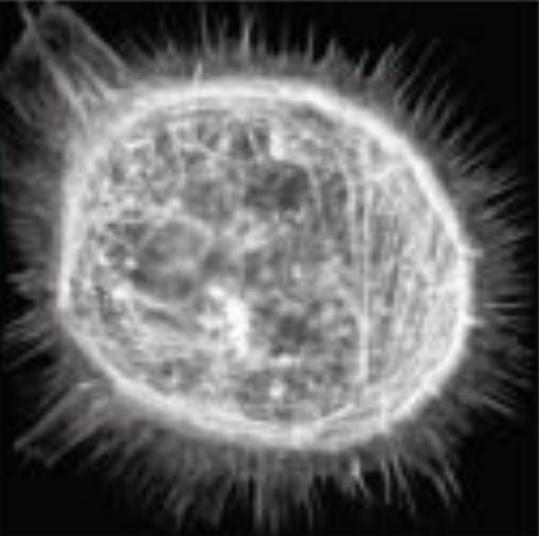


Для **эпителиальных клеток** в связи с их полярностью характерен так называемый **пояс актина**, волокна которого участвуют в создании адгезионных и плотных контактов, являя собой мощное дополнение периферическому актину, также задействованному в поддержании межклеточных соединений.

В мезенхимальных клетках актин представлен в виде:

филоподий

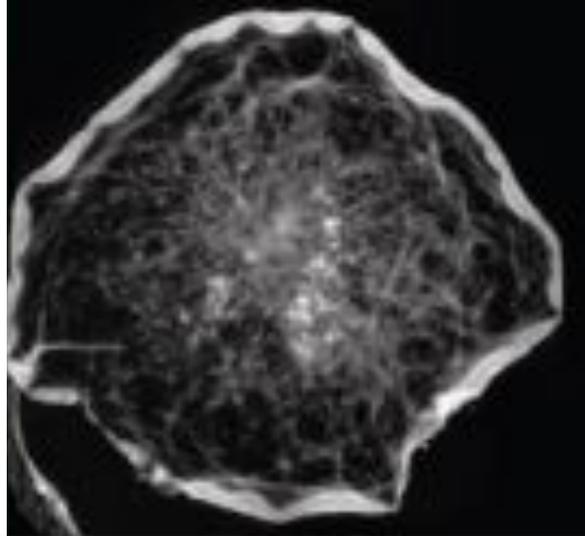
Cdc42



(толстые пучки актина, цилиндрично вытянутые в сторону передвижения клетки),

ламеллоподий

Rac



(тонкие сети на переднем конце клетки, инициирующие движение клетки вперед; придают клеточной мембране характерный внешний вид)

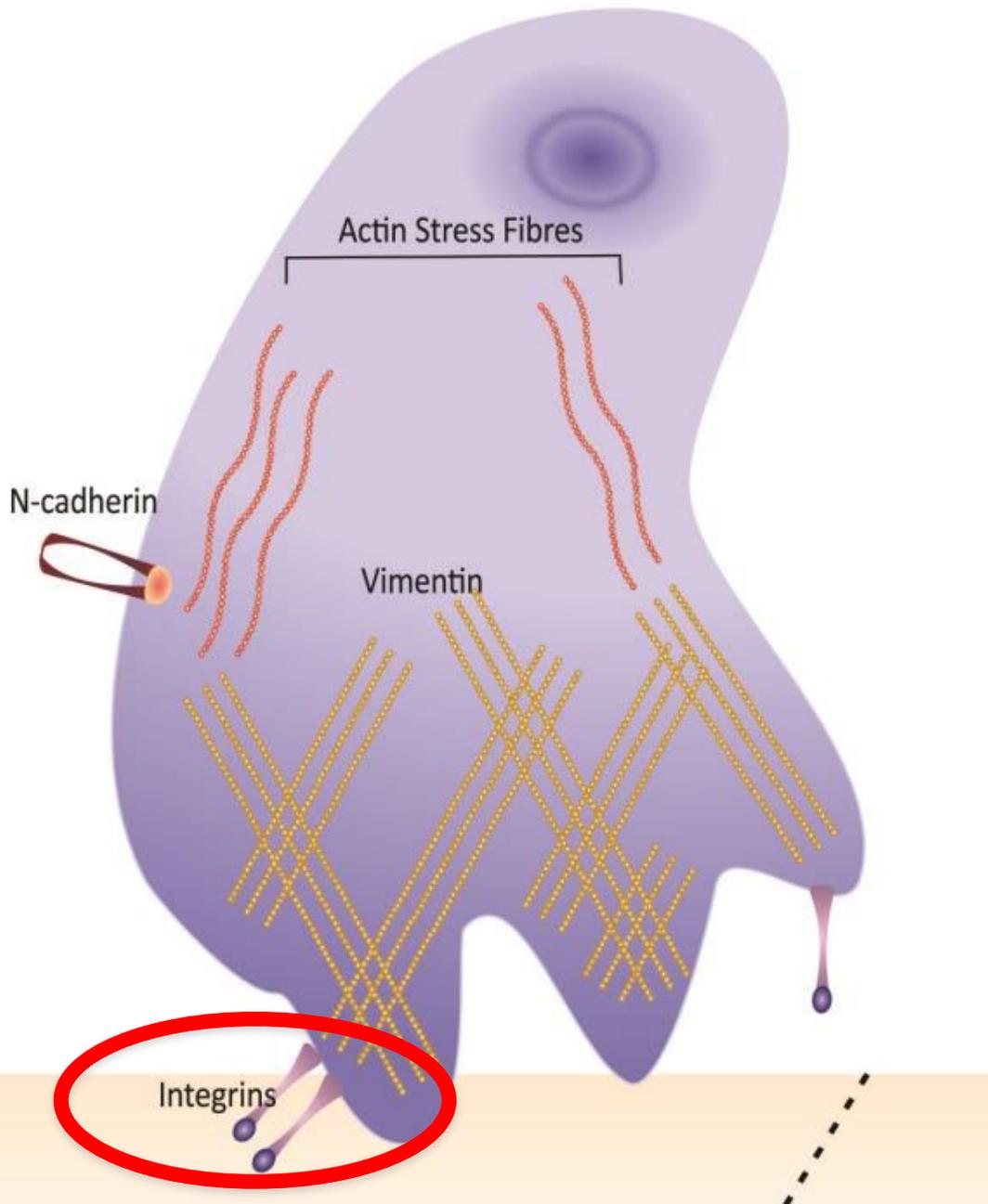
стрессовых волокон

Rho



(пучки коротких актиновых филаментов с добавлением миозиновых филаментов; простираются параллельно продольной оси тела клетки, сокращаясь, продвигают ее)

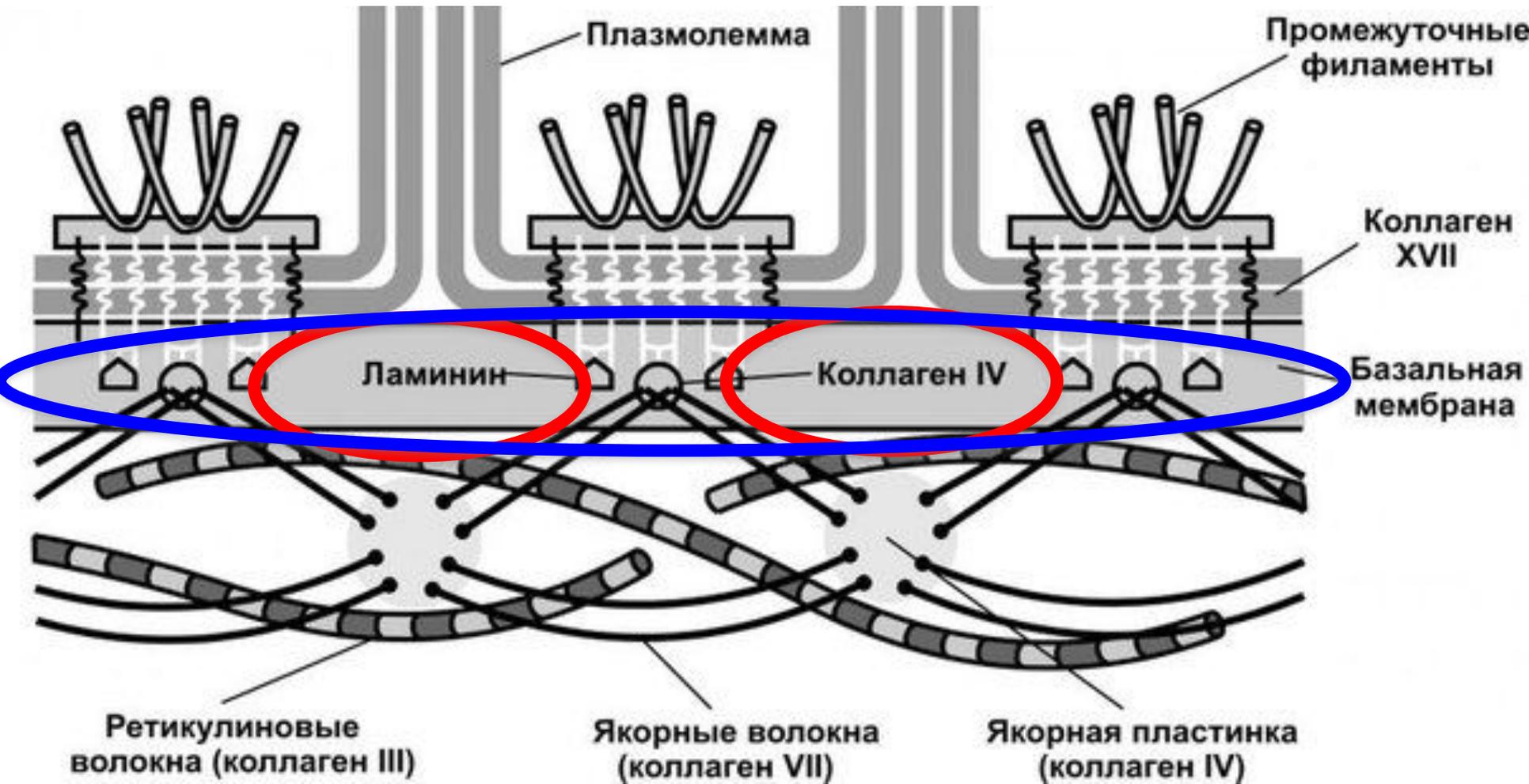
Mesenchymal Cell



После того, как произошло переформирование внутриклеточных актиновых структур, клетка может приступать к миграции сквозь внеклеточный матрикс.

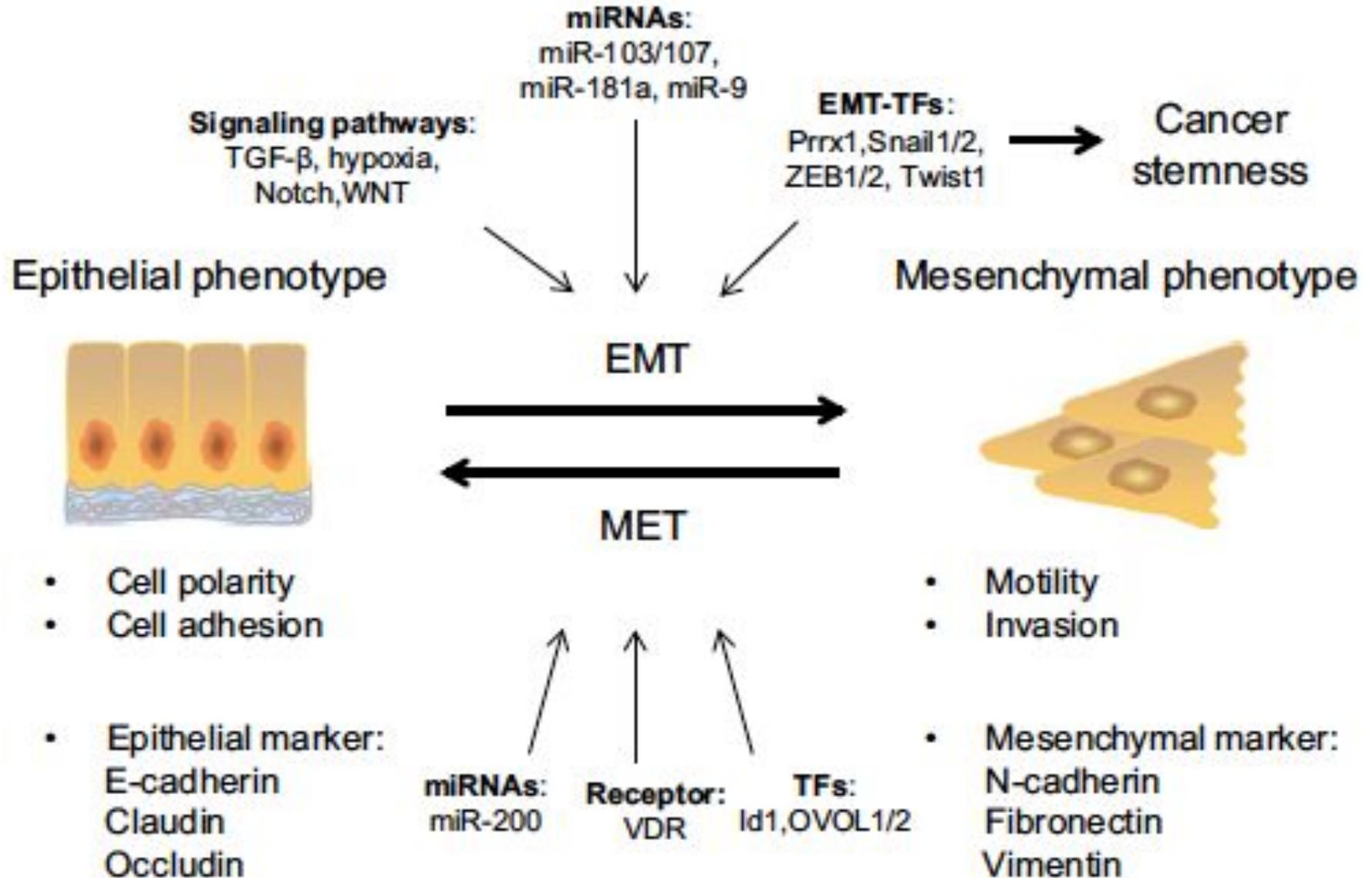
Для этого ей необходимо **умение образовывать новые контакты** между собственными интегринами и белками матрикса.

Ещё одна важная черта, характеризующая нормальные эпителиальные клетки — **связь с базальной пластинкой** посредством гемидесмосом.



В ходе эпителиально-мезенхимальной трансформации клетки эпителия отделяются от базальной пластинки и с помощью матриксных металлопротеиназ начинают разрушать коллаген IV, ламинин, нидоген, из которых она построена.

Вывод: ЭМТ можно описать как процесс, в ходе которого полярные фиксированные эпителиальные клетки трансдифференцируются, приобретая характеристики подвижных мезенхимальных клеток.



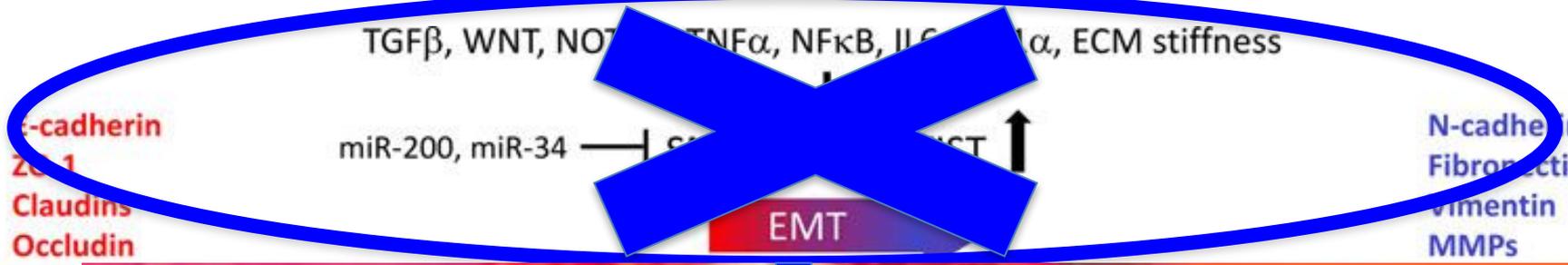
TGF β , WNT, NOTCH, TNF α , NF κ B, IL6, IGF1, α , ECM stiffness

E-cadherin
ZO-1
Claudins
Occludin

miR-200, miR-34

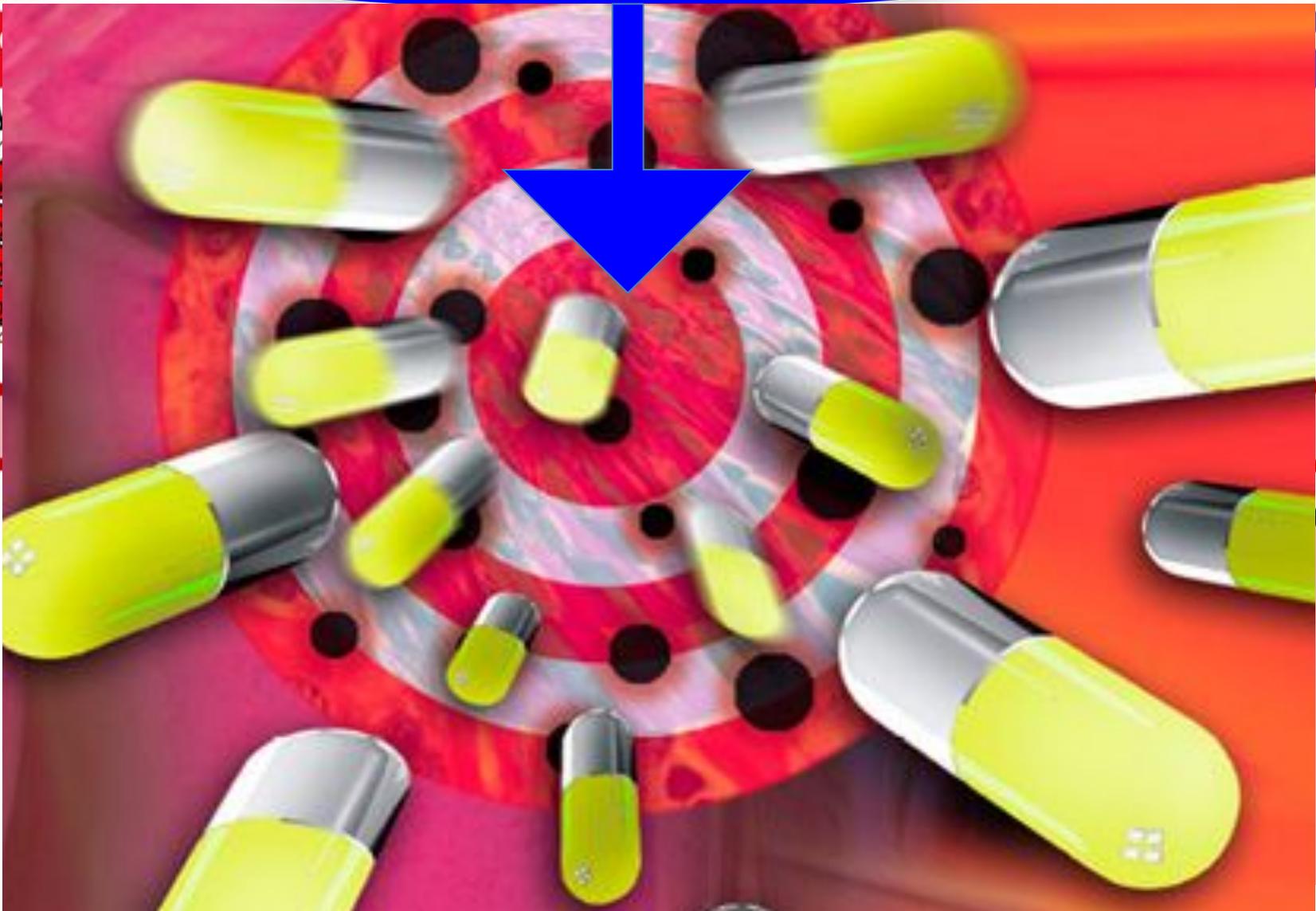
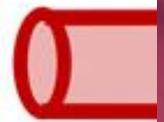
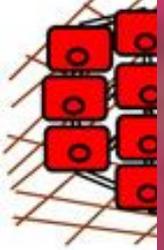
N-cadherin
Fibronectin
Vimentin
MMPs

EMT



Epithel

Primary



nal

ncy

Спасибо за внимание!