

TRANSITION ÉPITHÉLIO-MÉSENCHYMATEUSE : ASPECTS FONDAMENTAUX

par

N. PALLET *.*.* et D. ANGLICHEAU *.*.*.*.*

La réparation d'un tissu à la suite d'une agression immunologique, infectieuse ou mécanique est un processus fondamental qui permet de renouveler les cellules mortes ou altérées et *in fine* de conserver la fonction de l'organe. Le processus de cicatrisation mis en place peut aboutir soit à la restitution *ad integrum* du tissu altéré, soit à la production en excès de tissu conjonctif qui va alors progressivement remplacer le tissu originel et aboutir à une dysfonction d'organe. Les processus aboutissant à la fibrose d'organe sont éminemment complexes, mais il est admis que les myofibroblastes y jouent un rôle central. Ces cellules sont souvent définies comme des fibroblastes « activés », c'est-à-dire exprimant l'actine de muscle lisse (α -SMA), synthétisant le transcrite ED-A de la fibronectine et ayant développé des complexes d'adhésion focale très structurés leur permettant de se contracter et de migrer [1, 2]. Sous la pression des médiateurs de l'inflammation produits lors de l'agression tissulaire, ces myofibroblastes vont migrer sur le site de l'agression, synthétiser de la matrice extracellulaire et induire une contraction de la zone tissulaire altérée. Cette contraction, permise par l'existence de fibres d'actine de stress et d' α -SMA qui ont développé des contacts avec les protéines de la matrice extracellulaire, va permettre le rapprochement des zones saines. Les cellules épithéliales au contact de ces zones vont alors proliférer et migrer afin de régénérer le tissu altéré. Si l'agression persiste, l'inflammation chronique et les phases de réparation répétées vont aboutir à l'accumulation excessive de composants de la matrice extracellulaire (acide hyaluronique, fibronectine, collagènes interstitiels, proteoglycans) et constituer une cicatrice permanente.

Bien qu'initialement considérés comme issus de l'activation de fibroblastes interstitiels résiduels, les myofibroblastes ont en réalité d'autres origines [3].

* INSERM U775, Centre universitaire des Saints Pères, Paris. ** Service de Transplantation rénale et Soins intensifs, Hôpital Necker, Paris. *** Université Paris V-René Descartes, Paris.

Des cellules circulantes mésenchymales issues de la moelle osseuse ont été identifiées comme ayant un phénotype fibroblastique et/ou myofibroblastique. La contribution de ces progéniteurs, appelés fibrocytes, au pool fibroblastique total varie selon l'organe étudié [4-6]. Une proportion variable de myofibroblastes a comme origine les cellules épithéliales à la suite du phénomène de transition épithélio-mésenchymateuse (TEM). La TEM est actuellement reconnue comme un contributeur important de la fibrose rénale. Les progrès réalisés dans la compréhension de ses mécanismes depuis une dizaine d'années seront probablement à l'origine de biomarqueurs de l'atteinte précoce, mais aussi d'alternatives thérapeutiques permettant de limiter plus efficacement la fibrogenèse rénale.

DÉFINITION DE LA TRANSITION ÉPITHÉLIO-MÉSENCHYMATEUSE

Cellules épithéliales et mésenchymales

La notion de TEM est sous-tendue par l'idée selon laquelle un épithélium mature n'est pas systématiquement différencié de manière terminale. Partant de ce pré-requis, il est envisageable que, sous la pression de divers stimuli micro-environnementaux (physiques, chimiques ou cytokiniques), des modifications épigénétiques surviennent permettant la transcription d'un programme génétique particulier aboutissant *in fine* à des altérations phénotypiques marquées. Ainsi, un épithélium mature pourra-t-il subir une transition vers d'autres phénotypes en fonction de la pression environnementale et des conséquences de celle-ci sur la régulation génique [7].

Les cellules épithéliales sont intimement jointes entre elles par des structures membranaires hautement spécialisées, jonctions serrées, jonctions adhérentes ou desmosomes par exemple, formant ainsi des couches cellulaires. Elles sont caractérisées par une polarisation apico-basale, une répartition localisée des molécules d'adhésion (intégrines et cadherines), une latéralisation des jonctions intercellulaires, une polarisation des filaments d'actine et reposent sur une lame basale au pôle basal des cellules. Ces cellules épithéliales disposent d'une certaine mobilité qui leur permet de se déplacer au sein de la couche cellulaire à laquelle elles appartiennent, mais elles ne peuvent pas, en temps normal, sortir de cette couche. Les cellules mésenchymateuses, au contraire, ne forment pas de couches organisées et n'ont pas de polarisation apico-basale. Ces cellules n'ont que de rares contacts focaux avec les autres cellules et ne reposent pas sur une lame basale. En culture, elles sont très mobiles et ont une forme en aiguille, « *spindle-shape* », qui les apparente à des fibroblastes, alors que les cellules épithéliales poussent en petits groupes. Une des particularités fondamentales des cellules mésenchymateuses est une plasticité qui permet leur migration, c'est-à-dire la répétition de phases transitoires d'extension, d'adhésion, de rétraction et de translocation. La migration requiert en outre la sécrétion d'enzymes protéolytiques détruisant la matrice extracellulaire afin d'envahir l'interstitium [8].

Transition épithélio-mésenchymateuse

Les cellules épithéliales peuvent acquérir un phénotype mésenchymateux au cours du phénomène de TEM. La TEM caractérise un processus dynamique au cours duquel les cellules perdent leurs caractéristiques épithéliales et développent des propriétés mésenchymateuses, ce qui requiert des modifications architecturales et fonctionnelles complexes. La transition d'un phénotype cellulaire à un autre recouvre un large spectre de modifications inter- et intracellulaires rarement observées en totalité impliquant que la TEM n'est pas nécessairement un changement complet de lignage cellulaire [8]. Le spectre de modifications survenant au cours de la TEM est lié à l'intégration de nombreux signaux extracellulaires afférents à la cellule. Cette pression de transition est contrebalancée par des stimuli induisant la transition dans le sens inverse, d'une transition d'un phénotype mésenchymateux à un phénotype épithélial. D'une certaine manière, on peut considérer que la cellule épithéliale peut développer des modifications phénotypiques dont l'amplitude est située sur un axe borné par un phénotype épithélial complet d'un côté et un phénotype mésenchymateux complet de l'autre, sans nécessairement aboutir à une de ces limites [7].

TRANSITION ÉPITHÉLIO-MÉSENCHYMATEUSE PHYSIOLOGIQUE ET PATHOLOGIQUE

Durant l'embryogenèse, de nombreux signaux extracellulaires peuvent convertir les cellules épithéliales en cellules mésenchymales par l'intermédiaire de la TEM : en effet, toutes les cellules mésenchymales ne dérivent pas du mésoderme. En absence de TEM, le développement de l'organisme ne dépasse pas le stade de la blastula et la TEM est impliquée dans la gastrulation, la formation de la crête neurale et des valves cardiaques [8-11].

Bien que la TEM ait été décrite initialement au cours de l'embryogenèse, ces modifications cellulaires sont récapitulées au cours de deux processus pathologiques, la néoplasie et la fibrose. Un spectre commun de modifications morphologiques et géniques accompagne ces processus et des études récentes ont montré une remarquable similarité dans les voies de signalisation impliquées au cours de la TEM dans ces pathologies. La TEM joue un rôle important dans l'évolutivité de certaines tumeurs et en particulier dans l'acquisition d'un potentiel métastasant au cours duquel les cellules néoplasiques développent des propriétés mésenchymales. Durant la TEM, les cellules cancéreuses perdent leurs propriétés adhésives et gagnent des propriétés migratrices et protéolytiques nécessaires à la formation de métastases [12, 13]. Au sein d'une même tumeur, le gain de marqueurs mésenchymateux comme la vimentine, S100A4 ou SNAIL et/ou la perte de marqueurs épithéliaux, la E-cadherine par exemple, sont corrélés avec la progression tumorale et un mauvais pronostic [8, 14-16]. L'acquisition de marqueurs mésenchymateux, et en particulier de S100A4 est accompagnée d'un phénotype cellulaire invasif, et à l'inverse, sa délétion a un rôle protecteur [17]. Des travaux similaires relatifs à la modulation de l'expression de la E-cadherine dans divers modèles néoplasiques ont mis en évidence que la délétion de cette protéine permettait de produire un phénotype invasif [18].

Le rôle de la TEM au cours de pathologies aboutissant à la fibrose d'organe devient de plus en plus évident, non seulement dans le rein, de loin l'organe le plus étudié, mais aussi le poumon et le foie.

TRANSITION ÉPITHÉLIO-MÉSENCHYMATEUSE TUBULAIRE

Description

Il fait à l'heure actuelle peu de doute que le processus de TEM tubulaire existe *in vitro*, dans des modèles *in vivo* et chez l'homme au cours de diverses néphropathies chroniques et qu'il participe à l'évolution de la fibrose dans des modèles expérimentaux [19-22]. La question, et le débat, seront alors de connaître son rôle « quantitatif » dans le développement de la fibrose rénale humaine et son rôle pronostique en cas de diagnostic précoce.

La première description de TEM tubulaire a été publiée par Strutz et coll. qui, en 1995, a montré que des cellules tubulaires exprimaient FSP-1 (*fibroblast specific peptide 1*), un marqueur spécifique des cellules mésenchymateuses, et donc fibroblastiques, au cours de néphropathies aiguës et chroniques [23]. Depuis, ces données ont été confirmées dans un grand nombre de modèles animaux [24-27] et également chez l'homme au cours de néphropathies lupiques, diabétiques, de maladies de Berger, de glomérulonéphrites extra-membraneuses, de hyalinoses segmentaires et focales et également dans des greffons rénaux [28-31].

Le processus dynamique de transition d'un phénotype épithélial à un phénotype mésenchymateux est bien défini actuellement, *in vitro* et *in vivo*. Ainsi, quatre étapes sont classiquement décrites [21, 25] : diminution d'expression de la E-cadherine et de ZO-1 avec comme conséquence une déstabilisation de l'intégrité de l'épithélium et une perte de contact des cellules entre elles. La perte d'expression de la E-cadherine libère la β -caténine dans le cytoplasme qui peut constituer un complexe transcriptionnel avec LEF-1 ou Smad3 qui va alors activer la transcription de gènes impliqués dans la TEM. Ensuite surviennent la réorganisation du cytosquelette d'actine avec formation de fibres de stress, la synthèse d'actine de muscle lisse (α -SMA) et la conversion des filaments intermédiaires d'un type épithélial (cytokératine) à un type mésenchymateux (vimentine). L'acquisition de l' α -SMA donne à la cellule des propriétés contractiles qui lui permettent de migrer et c'est alors qu'elle devient un myofibroblaste. La migration à travers la membrane basale tubulaire nécessite la digestion préalable de deux de ses principaux constituants, le collagène IV et la laminine, par l'intermédiaire des protéases matricielles MMP-2 et 9, dont l'expression est augmentée par le *transforming growth factor* β (TGF- β). Enfin, les myofibroblastes mobiles dans l'interstitium synthétisent des constituants de la matrice extracellulaire, fibronectine, collagènes 1 et 3 (fig. 1).

Cette description formelle doit être nuancée. Tout d'abord, la grande majorité des études phénotypiques de TEM le sont avec l'induction par le TGF- β et/ou dans des modèles de néphropathie obstructive, observations faites dans des contextes similaires ne rendant compte que d'une petite part des nombreuses autres situations possibles. Ensuite, la TEM tubulaire est un processus dynamique et évolutif qui intègre de nombreuses contraintes extracellulaires et des déterminants intracellulaires spécifiques à un modèle cellulaire donné : elle ne constitue donc en aucun cas un phénotype définitif.

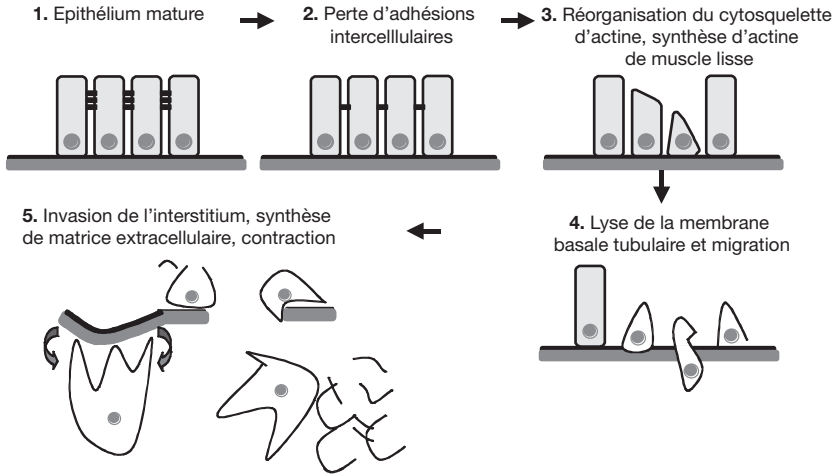


FIG. 1. — Représentation schématique et simplifiée des principales étapes de la transition épithélio-mésenchymateuse.

Les observations itératives seraient susceptibles de mettre en évidence des phénotypes différents, partant du même type cellulaire et dans les mêmes conditions expérimentales. Cette remarque sous-tend la troisième : le « protéome » de la TEM, c'est-à-dire les marqueurs possibles pour décrire les cellules au cours de la TEM, est très vaste, avec au moins 25 protéines surexprimées et une dizaine réprimées, ce qui rend difficile la définition précise du phénotype et une standardisation des critères (tableau I).

TABLEAU I. — MARQUEURS SUREXPRIMÉS OU RÉPRIMÉS AU COURS DE LA TRANSITION ÉPITHÉLIO-MÉSENCHYMATEUSE.

Protéines réprimées	Protéines surexprimées
E-cadherine	α -SMA
β -catenine	Collagène type 1
Cytokératine-18	Collagène type 3
Desmoplakine	E47
Muc-1	Ets
Syndécan-1	FGF-1, -2, -3
ZO-1	Fibronectine
	FSP1
	FTS <i>binding protein</i>
	MMP-2
	MMP-9
	PAI-1
	RhoB
	Scratch
	SIP1
	Slug
	Snail
	TGF- β
	Thrombospondine
	Vimentine

Implication dans la fibrogenèse rénale

La preuve définitive de l'implication des fibroblastes issus de la TEM dans le développement de la fibrose rénale a été apportée en 2002 par l'équipe d'Éric Neilson dans un article au titre univoque : « *Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis* » [5]. Dans un modèle de souris transgénique exprimant la protéine LacZ sous le contrôle du promoteur de la γ GT et développant une fibrose rénale par ligature unilatérale de l'uretère, 36 p. 100 des fibroblastes (FSP1+) étaient LacZ+, ce qui témoignait indiscutablement de leur origine tubulaire proximale. Il a également été noté que 15 p. 100 des fibroblastes présents au cours du processus fibrotique avaient comme origine des cellules précurseurs issues de la moelle osseuse. Depuis ce travail, il est admis que la population de fibroblastes participant à la fibrose rénale est une population hétérogène constituée d'une proportion variable de fibroblastes résiduels activés, de fibroblastes issus de TEM et de fibroblastes issus de cellules médullaires pluripotentes. Une deuxième preuve intangible de la participation de la TEM à la fibrose rénale a été apportée par l'équipe de Youhua Liu en 2002 [32]. Des souris n'exprimant pas l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA $-/-$) et soumises à une obstruction unilatérale urétérale étaient protégées de la fibrose interstitielle, et ne développaient pas de TEM. Les auteurs ont montré que le niveau d'expression de la MMP9 était significativement plus bas que chez les souris sauvages suggérant une régulation de l'expression du gène codant MMP9 par le tPA. Enfin, l'absence de MMP9 était associée à une préservation de l'intégrité de la membrane basale inhibant le développement de la TEM. Ce travail démontre ainsi que l'inhibition de la TEM par l'inhibition de la dégradation de la membrane basale tubulaire réduit significativement le développement de la fibrose rénale et que, par extension, la TEM est nécessaire au développement de la fibrose interstitielle.

Controverse

Ces preuves de l'existence de la TEM et de son implication dans la fibrose expérimentale ne parviennent néanmoins pas à lever le scepticisme de certains basé sur l'argument qui est qu'en pratique, des cellules tubulaires en transition sur des biopsies rénales sont rarement observées. Cette question n'a pas de réponse formelle, mais on peut admettre que la TEM est un processus dont l'incidence est largement sous-estimée. Cette sous-estimation tient tout d'abord à ce que les études utilisent différents marqueurs de TEM et que certains d'entre eux sont peu fiables, comme l' α -SMA, car exprimée de manière très hétérogène et très partielle, même par un pool identique de cellules. En effet, 5 à 10 p. 100 des cellules tubulaires proximales exposées au TGF- β expriment l' α -SMA [5, 34]. Ensuite, la TEM a une dynamique rapide évoluant en vague dont la durée n'est que de quelques jours. Ainsi, l'analyse faite un peu trop tard ou un peu trop tôt par rapport à la transition peut induire une sous-estimation de son incidence. De plus, l'identification de cellules en transition est souvent basée sur l'expression concomitante de marqueurs mésenchymateux et de marqueurs épithéliaux, période dont la durée est certainement limitée. Enfin, ces cellules en transition et les fibroblastes produits ont une durée de vie plus courte et un taux de renouvellement plus élevé que les cellules épithéliales ce qui rend leur observation moins évidente [33].

TEM, comme par exemple les petites protéines GTPases (Rho, Rac et cdc42), la voie des MAPKineses avec notamment les c-jun-N terminal kinases, toutes deux impliquées dans la réorganisation du cytosquelette d'actine et la plasticité cellulaire, ou bien la voie PI3K/Akt qui inhibe la glycogène-synthase kinase 3 (GSK3 β) et active la voie Wnt (*voir ci-dessous*). Néanmoins, il semble que la signalisation Smad-dépendante du TGF- β soit nécessaire à la conversion phénotypique, car la surexpression de Smad7, une Smad inhibitrice de Smad2 bloque la TEM [35-37].

D'autres facteurs tels que le *basic fibroblast growth factor* et l'*epidermal growth factor* sont impliqués dans la TEM et ont la particularité d'agir en synergie avec le TGF- β [38, 39]. Le collagène 1 et l'acide hyaluronique sont également capables d'induire la TEM [38, 40]. Ces activateurs ont en commun la voie de signalisation activant les petites protéines Rho, Rac et cdc42, ainsi que la famille des tyrosine kinases Src, qui ont comme fonction de défaire les jonctions intercellulaires, de réorganiser le cytosquelette d'actine, de former des protrusions cytoplasmiques appelées lamellipodiae et filopodiae, mais également d'activer les facteurs transcriptionnels Snail1 et Slug (Snail2) qui reconnaissent les motifs « E-box » du promoteur de la E-cadherine [8, 20].

Snail1 est un facteur transcriptionnel en doigt de zinc qui a un rôle central dans l'induction de la TEM car il est responsable de la répression de la transcription du gène codant la E-cadherine et de ZO-1, mais également de l'expression de gènes codant des marqueurs mésenchymateux. Son expression post-traductionnelle est régulée par l'activité kinase de la GSK3 β qui facilite son ubiquitinylation et sa dégradation par le protéasome. Snail1, sous contrôle de l'activité de la GSK3 β , se trouve à la croisée de plusieurs voies de signalisation impliquées dans la TEM car l'activité GSK3 β est inhibée lors de l'activation des voies Akt et Wnt. La signalisation Smad-dépendante du TGF- β active également Snail1 [8, 41]. La répression de l'expression de la E-cadherine qui normalement séquestre la β -caténine à la membrane cellulaire libère celle-ci, qui va alors intervenir dans la signalisation de la voie Wnt en formant le complexe transcriptionnel LEF-1/ β -caténine. La translocation nucléaire des protéines LEF ou Smad3 avec la β -caténine est une voie importante dans la régulation transcriptionnelle des gènes de la TEM. En temps normal, la β -caténine est séquestrée, nous l'avons vu par la E-cadherine, mais également dans le complexe APC/axin aboutissant à sa dégradation protéasomale après phosphorylation par la GSK3 β . L'inhibition de la GSK3 β , notamment par l'activation de la voie Wnt, va donc aboutir à l'augmentation de l'expression de β -caténine et à la formation des complexes nucléaires avec LEF ou Smad3 [42-44].

La voie des intégrines $\alpha/\beta 1$ ou $\beta 3$ activée par liaison des récepteurs avec des composants de la matrice extracellulaire partage avec le TGF- β la capacité d'induire la TEM [45, 46] par l'intermédiaire d'une kinase appelée ILK (*integrine linked kinase*) dont le rôle dans la TEM tubulaire est reconnu comme croissant [47]. ILK, qui forme un complexe avec un cofacteur appelé PINCH-1, est un médiateur important de la TEM induite par le TGF- β car son inhibition génique ou chimique inhibe la répression de la E-cadherine et l'expression de la fibronectine. ILK est localisée au niveau des adhésions focales et des adhésions fibrillaires et est impliquée dans l'assemblage des fibres de fibronectine. L'expression d'ILK augmente très précocement après stimulation des cellules tubulaires par le TGF- β et semble être Smad-dépendante [48]. Son rôle précis dans la régulation des gènes impliqués dans la TEM est encore inconnu.

Enfin, un dernier acteur de la TEM est la protéine liant le calcium FSP-1, connue également sous le nom de S100A4 par les biologistes du cancer. FSP-1 est sélectivement présente dans les fibroblastes produits lors de la TEM, et son expression est corrélée à l'existence d'une TEM et d'une fibrose tissulaire. La TEM induite par le TGF- β est inhibée par la délétion de FSP-1 et les niveaux d'expression des transcrits de FSP-1 sont inversement corrélés à ceux de la E-cadherine [5, 23, 38]. FSP-1 est impliquée dans l'acquisition de propriétés motiles et de la modification de la plasticité cellulaire par son action sur la régulation du calcium intracellulaire et de la réorganisation du cytosquelette d'actine [49-51].

INHIBITEURS DE LA TRANSITION ÉPITHÉLIO-MÉSENCHYMATEUSE TUBULAIRE

L'*hepatocyte growth factor*, HGF, possède des propriétés antifibrotiques reconnues *in vitro* et *in vivo*. En effet, plusieurs travaux ont démontré une efficacité d'un traitement par HGF ou de la surexpression de son gène sur la fonction rénale et l'évolution de la fibrose [24, 26, 52]. À l'inverse, la blocage de la signalisation de l'HGF aggrave la fibrose dans divers modèles de néphropathies chroniques. Le mode d'action antifibrotique principal de l'HGF est une inhibition de la signalisation Smad-dépendante du TGF- β [53]. L'HGF bloque l'induction de la TEM tubulaire induite par le TGF- β , *in vitro* et *in vivo*, par l'induction transcriptionnelle de SnoN (*Sloan-Kettering Institute proto-oncogene (Ski)-related novel gene, non-Alu containing*). L'induction de SnoN par HGF est dépendante de Erk-1/2 et implique les facteurs transcriptionnels CREB et Sp1. SnoN interfère avec la signalisation du TGF- β en induisant avec Smad2 un complexe incapable d'induire la transcription des gènes Smad-dépendants impliqués dans la TEM [54, 55].

La signalisation du TGF- β , son action profibrotique et inductrice de TEM peuvent également être contrées par l'action de BMP-7 (*Bone Morphogenic Protein 7*). BMP-7, en se liant aux récepteurs ALK3/6 active Smad1 et Smad5 qui appartiennent au groupe des Smads « inhibitrices » [56, 57]. *In vitro*, Smad1 et 5 se lient à Smad4 puis le complexe migre dans le noyau de la cellule et induit l'expression transcriptionnelle de la E-cadherine et la restauration d'un phénotype épithélial [27, 58]. Le traitement de souris présentant une glomérulonéphrite proliférative par BMP-7 est efficace dans la prévention de la fibrose rénale, l'atrophie tubulaire et la perte de fonction rénale. Dans ce même modèle, il a été montré que le BMP-7 réduisait également significativement le survenue d'une TEM [27, 58].

L'activation de la voie phosphatidylinositol 3-kinase et Akt par le TGF- β induit l'activation de mTOR (*mamalian Target Of Rapamycin*) et la phosphorylation de la S6 kinase 1 et de *4E-binding protein 1*, induisant une augmentation de la taille des cellules et de leur contenu en protéines. La rapamycine, en inhibant mTOR, ne modifie pas le phénotype cellulaire induit par le TGF- β (diminution d'expression de la E-cadherine, formation de fibres de stress d'actine et synthèse de fibronectine) mais réduit significativement le potentiel migratoire et d'invasion des cellules. Bien que le modèle étudié soit oncologique (cystadénome mammaire) ces données soulignent le rôle potentiellement bénéfique des inhibiteurs de mTOR dans l'évolution des néphropathies fibrosantes et en particulier de la néphropathie chronique du transplant [59].

CONCLUSION

Les progrès réalisés dans la compréhension du rôle de la TEM au cours de la fibrogenèse rénale a profondément enrichi notre connaissance de la biologie de la fibrose rénale. Durant ces dernières années, une simple hypothèse a été étayée par des travaux expérimentaux princeps et s'est progressivement transformée en une réalité physiopathologique. Initialement sous-estimée et méconnue, la TEM est progressivement devenue un événement moteur de la production de myofibroblastes et un acteur important de la fibrogenèse rénale.

Après l'étape de progrès conceptuels et biologiques issus de l'étude de la TEM, les travaux devront être, entre autres, axés sur l'application clinique de ces découvertes. Les récentes études couronnées de succès ayant comme cible la TEM dans la prévention de la fibrose rénale ont ouvert la voie vers de nouvelles possibilités de diagnostic précoce et de nouvelles pistes thérapeutiques dans la prévention ou le ralentissement de la fibrose humaine.

BIBLIOGRAPHIE

1. HINZ B, PHAN SH, THANNICKAL VJ et al. The Myofibroblast. One function, multiple origins. *Am J Pathol*, 2007 ; **170** : 1807-1816
2. TOMASEK JJ, GABBIANI G, HINZ B et al. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002 ; **3** : 349-363.
3. WYNN TA. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases. *J Clin Invest*, 2007 ; **117** : 524-529.
4. BUCALA R, SPIEGEL LA, CHESNEY J et al. Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. *Mol Med*, 1994 ; **1** : 71-81.
5. IWANO M, PLIETH D, DANOFF TM et al. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest*, 2002 ; **110** : 341-350.
6. QUAN TE, COWPER SE, BUCALA R. The role of circulating fibrocytes in fibrosis. *Curr Rheumatol Rep*, 2006 ; **8** : 145-150.
7. NELSON EG. Plasticity, nuclear diapause, and a requiem for the terminal differentiation of epithelia. *J Am Soc Nephrol*, 2007 ; **18** : 1995-1998.
8. THIERY JP, SLEEMAN JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006 ; **7** : 131-142.
9. GERSHENGORN MC, HARDIKAR AA, WEI C et al. Epithelial-to-mesenchymal transition generates proliferative human islet precursor cells. *Science*, 2004 ; **306** : 2261-2264.
10. MEULEMANS D, BRONNER-FRASER M. Gene-regulatory interactions in neural crest evolution and development. *Dev Cell*, 2004 ; **7** : 291-299.
11. PEINADO H, QUINTANILLA M, CANO A. Transforming growth factor beta-1 induces snail transcription factor in epithelial cell lines : mechanisms for epithelial mesenchymal transitions. *J Biol Chem*, 2003 ; **278** : 21113-21123.
12. SLEEMAN JP. The lymph node as a bridgehead in the metastatic dissemination of tumors. *Recent Results Cancer Res*, 2000 ; **157** : 55-81.
13. THOMPSON EW, NEWGREEN DF, TARIN D. Carcinoma invasion and metastasis : a role for epithelial-mesenchymal transition ? *Cancer Res*, 2005 ; **65** : 5991-5995 ; discussion 5995.
14. BARRALLO-GIMENO A, NIETO MA. The Snail genes as inducers of cell movement and survival : implications in development and cancer. *Development*, 2005 ; **132** : 3151-3161.
15. MOODY SE, PEREZ D, PAN TC et al. The transcriptional repressor Snail promotes mammary tumor recurrence. *Cancer Cell*, 2005 ; **8** : 197-209.

16. PEINADO H, PORTILLO F, CANO A. Transcriptional regulation of cadherins during development and carcinogenesis. *Int J Dev Biol*, 2004 ; **48** : 365-375.
17. XUE C, PLIETH D, VENKOV C et al. The gatekeeper effect of epithelial-mesenchymal transition regulates the frequency of breast cancer metastasis. *Cancer Res*, 2003 ; **63** : 3386-3394.
18. PERL AK, WILGENBUS P, DAHL U et al. A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma. *Nature*, 1998 ; **392** : 190-193.
19. BURNS WC, KANTHARIDIS P, THOMAS MC. The role of tubular epithelial-mesenchymal transition in progressive kidney disease. *Cells Tissues Organs*, 2007 ; **185** : 222-231.
20. KALLURI R, NEILSON EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest*, 2003 ; **112** : 1776-1784.
21. LIU Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis : pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention. *J Am Soc Nephrol*, 2004 ; **15** : 1-12.
22. ZEISBERG M, KALLURI R. The role of epithelial-to-mesenchymal transition in renal fibrosis. *J Mol Med*, 2004 ; **82** : 175-181.
23. STRUTZ F, OKADA H, LO CW et al. Identification and characterization of a fibroblast marker : FSP1. *J Cell Biol*, 1995 ; **130** : 393-405.
24. YANG J, DAI C, LIU Y. Hepatocyte growth factor gene therapy and angiotensin II blockade synergistically attenuate renal interstitial fibrosis in mice. *J Am Soc Nephrol*, 2002 ; **13** : 2464-2477.
25. YANG J, LIU Y. Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis. *Am J Pathol*, 2001 ; **159** : 1465-1475.
26. YANG J, LIU Y. Blockage of tubular epithelial to myofibroblast transition by hepatocyte growth factor prevents renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol*, 2002 ; **13** : 96-107.
27. ZEISBERG M, HANAI J, SUGIMOTO H et al. BMP-7 counteracts TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat Med*, 2003 ; **9** : 964-968.
28. HERTIG A, VERINE J, MOUGENOT B et al. Risk factors for early epithelial to mesenchymal transition in renal grafts. *Am J Transplant*, 2006 ; **6** : 2937-2946.
29. JINDE K, NIKOLIC-PATERSON DJ, HUANG XR et al. Tubular phenotypic change in progressive tubulointerstitial fibrosis in human glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis*, 2001 ; **38** : 761-769.
30. RASTALDI MP, FERRARIO F, GIARDINO L et al. Epithelial-mesenchymal transition of tubular epithelial cells in human renal biopsies. *Kidney Int*, 2002 ; **62** : 137-146.
31. VONGWIWATANA A, TASANARONG A, RAYNER DC et al. Epithelial to mesenchymal transition during late deterioration of human kidney transplants : the role of tubular cells in fibrogenesis. *Am J Transplant*, 2005 ; **5** : 1367-1374.
32. YANG J, SHULTZ RW, MARS WM et al. Disruption of tissue-type plasminogen activator gene in mice reduces renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *J Clin Invest*, 2002 ; **110** : 1525-1538.
33. DAI C, YANG J, LIU Y. Transforming growth factor-beta1 potentiates renal tubular epithelial cell death by a mechanism independent of Smad signaling. *J Biol Chem*, 2003 ; **278** : 12537-12545.
34. OKADA H, MORIWAKI K, KALLURI R et al. Inhibition of monocyte chemoattractant protein-1 expression in tubular epithelium attenuates tubulointerstitial alteration in rat Goodpasture syndrome. *Kidney Int*, 2000 ; **57** : 927-936.
35. BOTTINGER EP, BITZER M. TGF-beta signaling in renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 2002 ; **13** : 2600-2610.
36. MASSAGUE J. How cells read TGF-beta signals. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000 ; **1** : 169-178.
37. SCHNAPER HW, HAYASHIDA T, HUBCHAK SC et al. TGF-beta signal transduction and mesangial cell fibrogenesis. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003 ; **284** : F243-252.
38. OKADA H, DANOFF TM, KALLURI R et al. Early role of Fsp1 in epithelial-mesenchymal transformation. *Am J Physiol*, 1997 ; **273** : Pt 2, F563-574.
39. STRUTZ F, ZEISBERG M, ZIYADEH FN et al. Role of basic fibroblast growth factor-2 in epithelial-mesenchymal transformation. *Kidney Int*, 2002 ; **61** : 1714-1728.
40. ZEISBERG M, BONNER G, MAESHIMA Y et al. Renal fibrosis : collagen composition and assembly regulates epithelial-mesenchymal transdifferentiation. *Am J Pathol*, 2001 ; **159** : 1313-1321.
41. PEINADO H, OLMEIDA D, CANO A. Snai, Zeb and bHLH factors in tumour progression : an alliance against the epithelial phenotype ? *Nat Rev Cancer*, 2007 ; **7** : 415-428.
42. ABERLE H, BAUER A, STAPPERT J et al. Beta-catenin is a target for the ubiquitin-proteasome pathway. *Embo J*, 1997 ; **16** : 3797-3804.
43. ATTISANO L, WRANA JL. Signal transduction by the TGF-beta superfamily. *Science*, 2002 ; **296** : 1646-1647.

44. KIM K, LU Z, HAY ED. Direct evidence for a role of beta-catenin/LEF-1 signaling pathway in induction of EMT. *Cell Biol Int*, 2002 ; **26** : 463-476.
45. BHOWMICK NA, ZENT R, GHIASSI M et al. Integrin beta 1 signaling is necessary for transforming growth factor-beta activation of p38MAPK and epithelial plasticity. *J Biol Chem*, 2001 ; **276** : 46707-46713.
46. PRUNIER C, HOWE PH. Disabled-2 (Dab2) is required for transforming growth factor beta-induced epithelial to mesenchymal transition (EMT). *J Biol Chem*, 2005 ; **280** : 17540-17548.
47. LI Y, YANG J, DAI C et al. Role for integrin-linked kinase in mediating tubular epithelial to mesenchymal transition and renal interstitial fibrogenesis. *J Clin Invest*, 2003 ; **112** : 503-516.
48. LI Y, DAI C, WU C et al. PINCH-1 promotes tubular epithelial-to-mesenchymal transition by interacting with integrin-linked kinase. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; **18** : 2534-2543.
49. AMBARTSUMIAN N, KLINGELHOFFER J, GRIGORIAN M et al. The metastasis-associated Mts1(S100A4) protein could act as an angiogenic factor. *Oncogene*, 2001 ; **20** : 4685-4695.
50. BARRACLOUGH R. Calcium-binding protein S100A4 in health and disease. *Biochim Biophys Acta*, 1998 ; **1448** : 190-199.
51. CHEN H, FERNIG DG, RUDLAND PS et al. Binding to intracellular targets of the metastasis-inducing protein, S100A4 (p9Ka). *Biochem Biophys Res Commun*, 2001 ; **286** : 1212-1217.
52. YANG J, DAI C, LIU Y. Systemic administration of naked plasmid encoding hepatocyte growth factor ameliorates chronic renal fibrosis in mice. *Gene Ther*, 2001 ; **8** : 1470-1479.
53. LIU Y, RAJUR K, TOLBERT E et al. Endogenous hepatocyte growth factor ameliorates chronic renal injury by activating matrix degradation pathways. *Kidney Int*, 2000 ; **58** : 2028-2043.
54. TAN R, ZHANG X, YANG J et al. Molecular basis for the cell type specific induction of SnoN expression by hepatocyte growth factor. *J Am Soc Nephrol*, 2007 ; **18** : 2340-2349.
55. YANG J, DAI C, LIU Y. A novel mechanism by which hepatocyte growth factor blocks tubular epithelial to mesenchymal transition. *J Am Soc Nephrol*, 2005 ; **16** : 68-78.
56. LUND RJ, DAVIES MR, HRUSKA KA. Bone morphogenetic protein-7 : an anti-fibrotic morphogenetic protein with therapeutic importance in renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2002 ; **11** : 31-36.
57. WANG S, HIRSCHBERG R. BMP7 antagonizes TGF-beta-dependent fibrogenesis in mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003 ; **284** : F1006-1013.
58. ITOH S, THORIKAY M, KOWANETZ M et al. Elucidation of Smad requirement in transforming growth factor-beta type I receptor-induced responses. *J Biol Chem*, 2003 ; **278** : 3751-3761.
59. LAMOUILLE S, DERYNCK R. Cell size and invasion in TGF- β induced epithelial to mesenchymal transition is regulated by activation of the mTOR pathway. *J Cell Biol*, 2007 ; **178** : 437-451.