

Влияние случайной подвижности злокачественных клеток на устойчивость фронта опухоли

А. В. Колобов^{1,a}, А. А. Полежаев^{1,b}

¹ Физический институт им. П. Н. Лебедева РАН,
119991, ГСП-1, г. Москва, Ленинский проспект, д. 53

E-mail: ^a kolobov@lpi.ru, ^b apol@lpi.ru

Получено 15 июня 2008 г.

Хемотаксис играет важную роль в процессах морфогенеза и структурообразования в живой природе. Этим свойством обладают как одноклеточные организмы, так и отдельные клетки многоклеточных организмов. Эксперименты *in vitro* показывают, что многие типы опухолевых клеток, особенно метастатически активные, также обладают хемотаксисом. Существует целый ряд работ по моделированию роста и инвазии опухоли, использующих модель Келлера–Сигела для учета хемотаксиса. Однако аккуратный учет этого типа подвижности затруднен отсутствием сколько-нибудь надежных количественных оценок параметров хемотаксического члена. С помощью двумерной математической модели роста и инвазии опухоли, учитывающей только случайную подвижность клеток и конвективные потоки внутри плотной ткани, мы показали, что за счет конкуренции возможен рост опухоли в направлении источников питательных веществ (сосудов) в отсутствие хемотаксиса.

Ключевые слова: рост опухолей, инвазия опухолей, конвекция, подвижность клеток

Influence of random malignant cell motility on growing tumor front stability

A. V. Kolobov¹, A. A. Polezhaev¹

¹ Lebedev Physical Institute, Leninskiy av. 53, Moscow, GSP-1, 119991, Russia

Abstract. — Chemotaxis plays an important role in morphogenesis and processes of structure formation in nature. Both unicellular organisms and single cells in tissue demonstrate this property. *In vitro* experiments show that many types of transformed cell, especially metastatic competent, are capable for directed motion in response usually to chemical signal. There is a number of theoretical papers on mathematical modeling of tumour growth and invasion using Keller-Segel model for the chemotactic motility of cancer cells. One of the crucial questions for using the chemotactic term in modelling of tumour growth is a lack of reliable quantitative estimation of its parameters. The 2-D mathematical model of tumour growth and invasion, which takes into account only random cell motility and convective fluxes in compact tissue, has showed that due to competitive mechanism tumour can grow toward sources of nutrients in absence of chemotactic cell motility.

Key words: tumor growth, tumor invasion, convection, cell motility

Citation: *Computer Research and Modeling*, 2009, vol. 1, no. 2, pp. 225–232 (Russian).

В природе все живые существа стремятся оказаться в областях с наиболее благоприятными для их вида условиями. Это утверждение справедливо не только для многоклеточных организмов, но и для одноклеточных, и даже для отдельных клеток. Хорошо известно, что эндотелиальные клетки капиллярной сети [1], макрофаги [2] и целый ряд других клеток обладают хемотаксической подвижностью, т. е., способны изменять направление своего движения в ответ на внешний сигнал. Обычно таким сигналом является растворенное химическое вещество, называемое хемоаттрактантом, однако существует и другой тип направленного движения, гаптотаксис — движение по градиенту напряжения межклеточного матрикса. Кроме движения по градиенту аттрактанта, экспериментально наблюдается изменение скорости случайного движения клеток в зависимости от концентрации химического медиатора, так называемый хемокинез. Хемотаксис и хемокинез играют важную роль в процессах формообразования (морфогенеза), иммунных и регуляторных процессах. Кроме того, считается, что многие типы трансформированных клеток, особенно метастатически активных, обладают хемотаксической подвижностью и хемокинезом [3].

Одной из первых работ по математическому моделированию, учитывающей хемотаксис, была работа Патлака, опубликованная в 1953 году [4], которую затем развили Келлер и Сигел в 1970-м [5]. Используемая ими математическая запись хемотаксического члена стала общепризнанной для описания направленного движения клеток и одноклеточных организмов в различных биологических явлениях.

Существует ряд работ по математическому моделированию роста опухоли, в которых учитывается хемотаксическая и/или хаптотаксическая подвижность опухолевых клеток [6, 7]. Однако корректный учет хемотаксической подвижности крайне затруднен из-за отсутствия сколько-нибудь достоверных экспериментальных данных относительно характерной величины этой подвижности в ткани. Действительно, практически все исследования хемотаксиса и хемокинеза опухолевых клеток проводятся *in vitro* в камере Бойдена или с помощью специальных плоских дисперсионных поверхностей. Однако эти исследования позволяют сравнивать величины хемотаксической подвижности у разных клеточных линий или же следить за ее изменением с течением времени или в зависимости от градиента химического медиатора (хемоаттрактанта). Отсутствие количественных данных о величине хемотаксической подвижности в плотной ткани делает ее учет в математической модели достаточно спекулятивным. Действительно, всегда можно подобрать параметры хемотаксического члена так, чтобы в результате получить необходимый эффект.

В этой связи нас заинтересовал вопрос: можно ли описать направленный рост опухоли в гетерогенной ткани без учета хемотаксиса и/или хемокинеза? Хорошо известно, что крупные опухоли в тканях имеют сложную форму, в частности, в некоторых направлениях способны выпускать отростки или щупальца, за что эта болезнь и получила название рак.

В данной работе с помощью математического моделирования будет исследована возможность направленного роста опухоли в гетерогенной ткани при учете только случайной подвижности ее клеток и конвективных потоков, возникающих при активном делении злокачественных клеток в плотной несжимаемой ткани.

Математическая модель

Для решения поставленной задачи была использована наиболее простая двумерная феноменологическая модель роста и инвазии опухоли, практически все параметры которой могут быть оценены в экспериментах *in vitro*.

Будем считать, что клетки опухоли могут либо делиться, либо покоиться, причем к последнему типу отнесем как живые, не делящиеся, так и мертвые клетки. Переход из состояния деления в состояние покоя пороговым образом зависит от концентрации ключевого метаболита. Та-

ким веществом является кислород, все модельные параметры которого можно найти в литературе. В модели учитывается только потребление кислорода делящимися клетками опухоли, так как оно заметно превосходит его потребление клетками других типов. Опухоль растет внутри нормальной ткани, которая не препятствует свободному движению клеток опухоли. На этом этапе мы пренебрегаем антагонистическим взаимодействием между нормальной тканью и трансформированными клетками, возникающем в результате действия иммунной системы, с одной стороны, и выделением протеолитических ферментов клетками опухоли, с другой. Мы считаем, что собственной, случайной подвижностью обладают только делящиеся клетки, кроме того, все типы клеток могут переноситься конвективными потоками. Эти потоки возникают в результате активного деления клеток опухоли внутри плотной, несжимаемой ткани.

Таким образом, модель роста и инвазии опухоли с учетом вышеизложенных предположений может быть представлена в следующем виде:

$$\begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} = Bn - P(S)n - \nabla \cdot (n\vec{V} - D_n \nabla n), \\ \frac{\partial m}{\partial t} = P(S)n - \nabla \cdot (n\vec{V}), \\ \frac{\partial h}{\partial t} = -\nabla \cdot (h\vec{V}), \\ \frac{\partial S}{\partial t} = -\frac{kS}{S + S^*}n + D_S \Delta S, \end{cases} \quad (1)$$

где n и m , соответственно, плотность делящихся и покоящихся клеток опухоли, а h — плотность нормальной ткани. Последнее уравнение, описывающее распределение питательного вещества (кислорода), учитывает его потребление пролиферирующими клетками опухоли и свободную диффузию от источников (сосудов). D_n — коэффициент случайной подвижности активных клеток опухоли, а $V(x, y)$ — скорость конвективного потока в данной точке ткани. Важным фактором, позволяющим находить поле скоростей конвективного движения, является предположение о плотной и несжимаемой ткани. Другими словами, мы требуем выполнение следующего условия: $n + m + h = 1$.

Учет этого равенства, как описано в работе Гусева и Полежаева [8], приводит к исключению из системы уравнения для плотности нормальных клеток и добавлению уравнения для потенциала φ , определяющего поле скоростей конвективных потоков:

$$\vec{V} = \nabla \varphi + D_n \nabla n.$$

Таким образом, наша первоначальная система (1) преобразуется к следующему виду:

$$\begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} = Bn(1 - n) - P(S)n + \nabla \cdot (D_n(1 - n)\nabla n) - (\nabla n, \nabla \varphi), \\ \frac{\partial m}{\partial t} = P(S)n - mBn - \nabla \cdot (D_n m \nabla n) - (\nabla m, \nabla \varphi), \\ \frac{\partial S}{\partial t} = -\frac{kS}{S + S^*}n + D_S \Delta S, \\ \Delta \varphi = Bn. \end{cases} \quad (2)$$

Эта модель уже использовалась для анализа устойчивости фронта опухоли и продемонстрировала свою хорошую предсказательную способность [9]. Система (2) решалась в квадратной области 400x400 с учетом следующих граничных условий:

$$\begin{cases} n|_E = m|_E = 0, \\ S|_\infty = \varphi|_\infty = 0, \\ \nabla n|_I = \nabla m|_I = \nabla S|_I = \nabla \varphi|_I = 0, \end{cases}$$

где I — границы $x = 0$ и $y = 0$, а E — две оставшиеся границы области моделирования. Таким образом, две грани являлись непроницаемыми, а две другие свободными для клеток. В качестве источников питательного вещества были выбраны две симметричные точки (150; 400) и (400; 150), в которых концентрация питательных веществ поддерживалась постоянной $S = 1$. Эти точки являются модельным представлением достаточно крупных сосудов, расположенных перпендикулярно плоскости моделирования, в которых концентрацию кислорода можно считать постоянной. В начальный момент времени небольшой сектор у точки (0; 0) был заполнен делящимися клетками опухоли — n , все остальное пространство занимали нетрансформированные клетки — h .

Результаты

Предложенная выше математическая модель применялась для анализа роста и инвазии опухоли в гетерогенных условиях. Нас особо интересовала возможность роста опухоли в направлении источников питательных веществ в отсутствие хемотаксической подвижности у трансформированных клеток. Нами были выделены два принципиально различных режима роста. В первом случае коэффициент случайной подвижности опухолевых клеток был высок ($D_n = 2$), так что скорость фронта опухоли определялась так же, как и в уравнении Фишера:

$$V_{front} = 2\sqrt{D_n \times B}. \quad (3)$$

Когда же этот коэффициент мал ($D_n = 0.05$), то скорость фронта опухоли значительно превосходит скорость, посчитанную согласно уравнению (3), так как в этом случае скорость фронта определяется конвективными потоками внутри опухоли.

На рисунках 1 и 2 показаны пространственные распределения делящихся клеток опухоли в случае высокой и низкой подвижности ее клеток. Хорошо видно, что если в случае преобладания конвективных потоков пространственная однородность этого распределения нарушается уже на самой ранней стадии, когда опухоль еще не доросла и до середины области, то в случае с диффузионным фронтом эта неоднородность проявляется только при приближении к источникам питательных веществ. Надо сравнивать положение фронтов, а не время роста опухоли, так как время, за которое опухоль достигает границы области моделирования, отличается более чем в два раза. Однако вне зависимости от величины собственной подвижности делящихся клеток опухоль преимущественно растет в направлении сосудов, как если бы мы ввели в наши уравнения хемотаксическую подвижность. Это становится еще более очевидным, если посмотреть на рис. 3 и 4, где показано пространственное распределение всех клеток опухоли, делящихся и покоящихся. В случае высокой подвижности клеток мы видим плотный первичный очаг опухоли и два других плотных очага около модельных сосудов, а в случае преобладания конвективных потоков в ткани видно, как первичный очаг как бы выпускает щупальца в направлении сосудов.

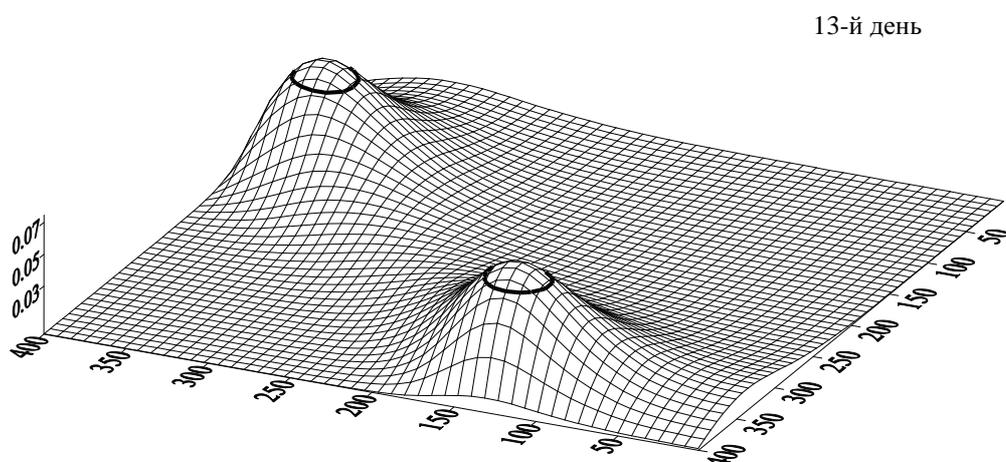
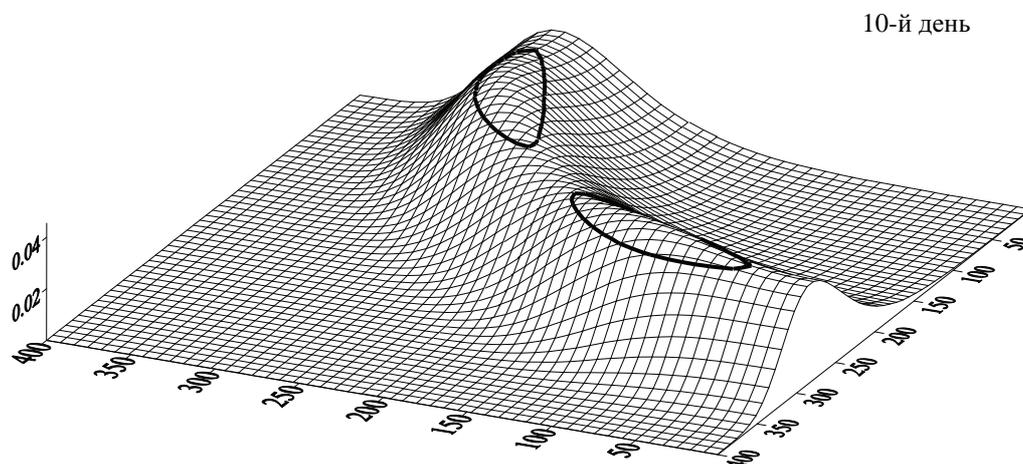
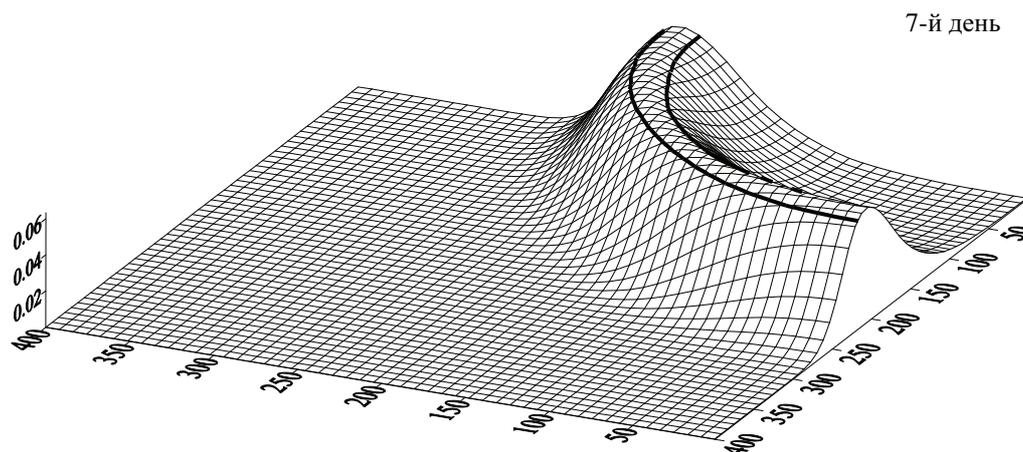


Рис. 1. Пространственное распределение делящихся клеток опухоли в случае высокой случайной подвижности $D_n = 2$

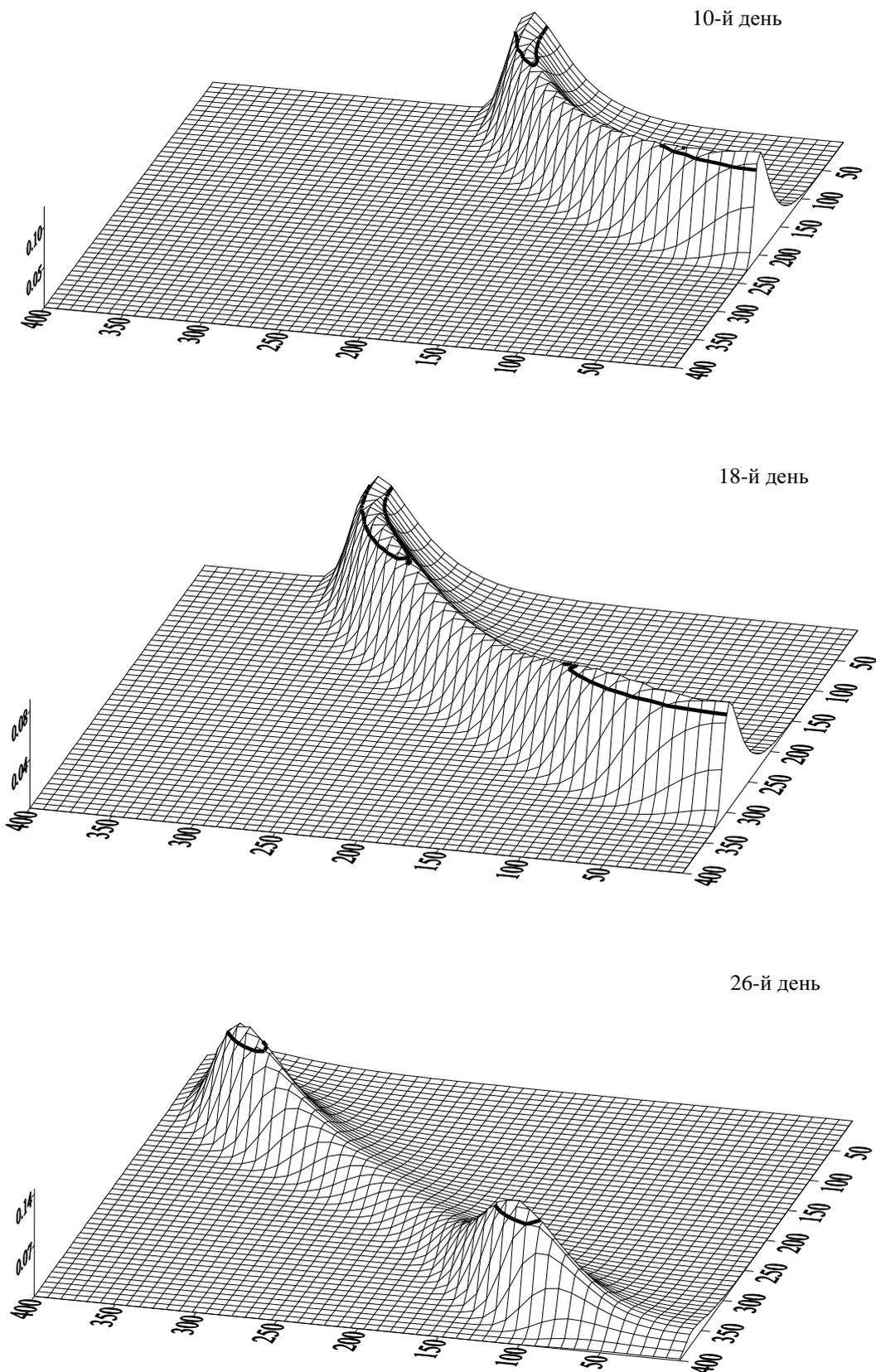


Рис. 2. Пространственное распределение делящихся клеток опухоли в случае низкой случайной подвижности $D_n = 0.05$

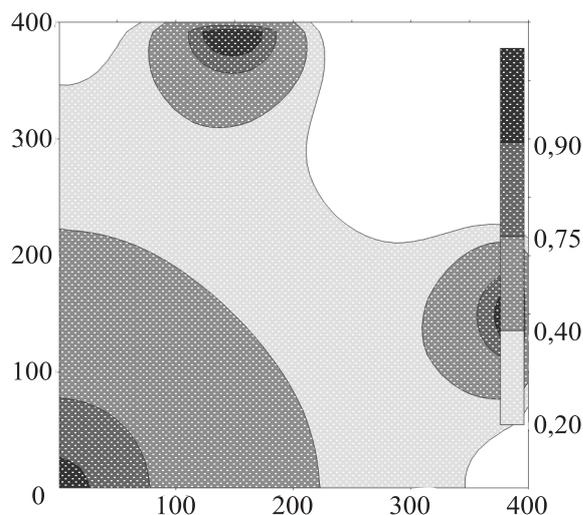


Рис. 3. Пространственное распределение клеток опухоли всех типов ($n + m$) в случае высокой подвижности $D_n = 2$, после 15 дней роста. Максимальная плотность клеток в ткани нормирована на единицу

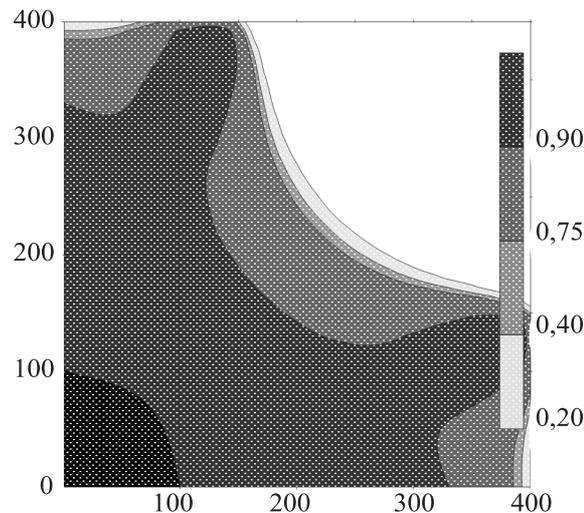


Рис. 4. Пространственное распределение клеток опухоли всех типов ($n + m$) в случае низкой подвижности $D_n = 0.05$, после 32 дней роста

Выводы

Нам удалось показать, что и при отсутствии хемотаксической подвижности клеток опухоль может расти в направлении источников питательных веществ (сосудов). Однако механизм этого роста отличается от случая хемотаксиса, когда клетки двигаются преимущественно в направлении максимального градиента аттрактанта. В нашей модели не существовало такого выделенного направления для движения клеток опухоли, а возникновение пространственной неоднородности объясняется гетерогенным распределением химического медиатора.

В случае высокой подвижности клетки опухоли быстро достигали источники питания, возле которых начинали активно делиться. Это приводит к резкому снижению концентрации критического метаболита ниже порогового значения во всей остальной области, а значит и прекращению там деления. В результате образовывалось три плотных очага опухоли: первичный очаг и два вторичных у сосудов. Когда же рост опухоли происходил в основном за счет конвективных потоков, плотная упаковка опухоли сохранялась, а пространственная неоднородность проявлялась на более ранней стадии, так что наблюдались щупальца, направленные в сторону сосудов.

Не стоит удивляться, что в последнем случае максимальные плотности клеток вначале появлялись на границах $x = 0$ и $y = 0$, эти грани считались непроницаемыми, а значит существовали как бы виртуальные источники, симметричные модельным относительно этих границ, так что в начальный момент роста опухоли максимальная концентрация кислорода достигалась именно на этих границах.

Таким образом, сложная форма реальных опухолей может быть объяснена не только за счет сложных типов подвижности ее клеток, а за счет гетерогенности среды, в которой происходит рост опухоли. Причем под гетерогенностью нужно понимать не только неоднородность распределения критических метаболитов опухолевых клеток, но и хорошо известное различие в механических свойствах тканей.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ и гранта Президента РФ, при поддержке ведущих научных школ.

Список литературы

1. *Brockmann M. A., Ulbricht U., Gruner K., Fillbrandt R., Westphal M., Lamszus K.* Glioblastoma and cerebral microvascular endothelial cell migration in response to tumor-associated growth factors // *Neurosurgery*. 2003. Vol. 52, № 6. Jun. P. 1391–1399.
2. *Truman L. A., Ogden C. A., Howie S. E., Gregory C. D.* Macrophage chemotaxis to apoptotic Burkitt's lymphoma cells in vitro: role of CD14 and CD36 // *Immunobiology*. 2004. Vol. 209, № 1–2. P. 21–30.
3. *Quinones L. G. and Garcia-Castro I.* Characterization of human melanoma cell lines according to their migratory properties in vitro // *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2004. Vol. 40, № 1–2. Jan-Feb. P. 35–42.
4. *Patlak C. S.* Random walk with persistence and external bias // *Bull. of Math. Biophys.* 1953. Vol. 15, P. 311–338.
5. *Keller E. F. and Segel L. A.* Initiation of slide mold aggregation viewed as an instability // *J. Theor. Biol.* 1970. Vol. 26, P. 399–415.
6. *Dormann S. and Deutsch A.* Modeling of self-organized avascular tumor growth with a hybrid cellular automaton // *In Silico Biol.* 2002. Vol. 2, № 3. P. 393–406.
7. *Stewart J. M., Broadbridge P. and Goard J. M.* Symmetry Analysis and Numerical Modelling of Invasion by Malignant Tumour Tissue // *Nonlinear Dynamics*. 2002. Vol. 28, P. 175–193.
8. *Gusev A. and Polezhaev A.* Modelling of a cell population evolution for the case existence of maximal possible total cell density // *Kratkie soobscheniya po fizike FIAN*. 1997. № 11–12. P. 85–90.
9. *Kolobov A. V., Polezhaev A. A., Solyanik G. I.* Stability of tumour shape in pre-angiogenic stage of growth depends on the migration capacity of cancer cells // *Mathematical Modelling & Computing in Biology and Medicine* (Ed. V. Capasso). Bologna: Progetto Leonardo, 2003. P. 603–609.