



真核细胞运动接触抑制行为的力学-化学耦合模拟

陈亚君¹, 周吕文^{2*}, 冯世亮², 吕守芹^{3,4}, 龙勉^{3,4*}

1. 宁波大学海运学院, 宁波 315832;

2. 宁波大学机械工程与力学学院, 智能材料与先进结构实验室, 宁波 315211;

3. 中国科学院力学研究所生物力学与生物工程中心, 中国科学院微重力重点实验室, 工程化构建与力学生物学北京市重点实验室, 北京 100190;

4. 中国科学院大学工程科学学院, 北京 100049

*联系人, 周吕文, E-mail: zhoulvwen@nbu.edu.cn; 龙勉, E-mail: mlong@imech.ac.cn

收稿日期: 2022-06-17; 接受日期: 2022-08-03; 网络出版日期: 2022-09-19

国家自然科学基金(编号: 12002176, 11972200)资助项目

摘要 某些真核细胞可通过运动的接触抑制特性显著调控细胞散布、群体细胞迁移及癌细胞转移等生理、病理进程. 本文基于“多层次”信号级联转导调控细胞定向迁移, 考察细胞间接触调控细胞骨架重组的动力学过程, 由此构建模拟运动细胞接触抑制行为的力学-化学耦合模型. 细胞考虑为包含网格状微丝骨架的圆环结构, 细胞接触引起微丝骨架全局应变及局部黏附共同调控Rho GTPase家族成员Rac及RhoA活性. 整体数学模型由非线性反应-扩散方程组及平衡微分方程构成, 对其采取自行发展LBM-D1Q3法数值求解. 数值模拟通过改变FilGAP-FLNa与N-cadherin通路对细胞接触的反馈强度, 重现了双细胞接触抑制实验观测现象. 模拟表明, FilGAP对Rac发挥适当抑制作用有利于细胞维持理想极性, 从而在N-cadherin调控下反转极性, 展现出接触抑制行为; 缺乏FilGAP抑制会使得细胞高度极化, 此时N-cadherin调控作用不足以反转细胞已有极性, 产生接触后绕行通过行为; 缺乏N-cadherin调控作用会使得细胞在接触后无法反转极性, 最终呈现静态黏附行为. 上述模拟结果对认识细胞接触抑制信号对细胞迁移行为的影响提供了理论基础.

关键词 细胞骨架重组, 力敏感信号通路, 格子玻尔兹曼法

PACS: 87.15.Rn, 87.16.Xa, 87.17.Aa, 87.17.Jj

1 引言

20世纪50年代, Abercrombie在体外(*in vitro*)环境中观察到鸡心成纤维细胞(Fibroblast Cells)相接触后会回缩伪足(Lamellipodia), 进而调转原有运动方向, 据此提出了接触抑制迁移(Contact Inhibition of Locomotion,

CIL)的概念^[1]. 迄今, CIL已被证实众多生理、病理进程中发挥重要作用^[2-6]——爪蟾胚胎早期发育阶段神经嵴细胞(Neural Crest Cells, NCCs)通过展现CIL调节定向运动^[2-4]; 果蝇发育早期血细胞(Hemocytes)通过展现CIL完成散布^[5]; CIL异常缺失则可导致癌细胞侵袭^[6]. 细胞水平上观察到CIL由4步构成^[7]: (1) 细胞

引用格式: 陈亚君, 周吕文, 冯世亮, 等. 真核细胞运动接触抑制行为的力学-化学耦合模拟. 中国科学: 物理学 力学 天文学, 2022, 52: 128711
Chen Y J, Zhou L W, Feng S L, et al. Mechanical-chemical coupling simulation of contact inhibition of locomotion in eukaryotic cells (in Chinese). Sci Sin-Phys Mech Astron, 2022, 52: 128711, doi: [10.1360/SSPMA-2022-0241](https://doi.org/10.1360/SSPMA-2022-0241)

相互接触; (2) 接触区域伪足活性降低; (3) 在远离接触点区域生出新的伪足; (4) 细胞沿新生出伪足方向迁移, 发生相互分离.

21世纪以来, 人们对调控各类细胞迁移的普遍分子机制已经有了深入掌握^[8,9], 这为理解CIL特异型分子机制及其起效机理提供了极大帮助. 驱动细胞运动的主动动力源于Rho家族小G蛋白(Rho GTPase)调控细胞骨架定向重组^[10]. Rho GTPase包含三个家族成员: Rac, Cdc42及RhoA, 各成员均可借助鸟苷酸交换因子(Guanine Nucleotide Exchange Factors, GEFs)及GTP酶激活蛋白(GTPases-Activating Proteins, GAPs)在活性/失活态间转化^[11], 而成员间拮抗作用(Antagonistic Effect)又引起它们在质膜上极性分布^[12]. 活性态Rac/Cdc42富集区域通过激活下游F-actin结合蛋白(例如: Arp2/3)促进肌动蛋白(F-actin)聚合、产生伸出力^[8], 而活性态RhoA富集区域通过ROCK蛋白激酶控制肌球蛋白(Myosin-II)激活、引起收缩力^[13].

运动细胞相互接触可调控Rho GTPase活性^[10]. 其一, 因为细胞接触造成自身骨架结构变形可触发FilGAP-FLNa力敏感信号通路^[14]. FilGAP是与F-actin交联蛋白Filamin A (FLNa)相结合的一种GAP分子, 骨架变形促使FilGAP与FLNa脱离, 随即转移至质膜, 在此引发Rac失活、促使F-actin解聚^[14]. Ehrlicher等人^[15]开展了体外重构(*in vitro* Reconstitution)的微丝骨架拉伸实验, 基于时变荧光强度检测到FilGAP经FLNa释放速率受到骨架拉伸程度调控. Kang等人^[16]则针对微丝骨架拉伸实验开展数值模拟, 给出了FilGAP仅在骨架特定角度变化区间获得最大释放速率的带通机制(Bandpass Mechanism). 其二, 两细胞接触引起钙黏附蛋白(cadherin, 简记为“cad”, 一种跨膜蛋白, 包括E-, N-, VE-等20多个家族成员)形成同质黏附(Homogeneity Adhesion), 进而局部调控Rho GTPase活性^[17]. Scarpa等人^[3]在NCCs由上皮细胞向间充质细胞转化(Epithelial-To-Mesenchymal Transition, EMT)实验中证实: 细胞表达E-cad有助于维持Rac活性, 但随着EMT进程开启, E-cad向着N-cad转化; N-cad发生同质黏附会降低Rac活性、抑制伪足生成, 引发CIL行为.

CIL涉及复杂级联转导, 这使得研究者难以将特定分子过表达或缺失与细胞迁移行为直接关联, 对此可借助于建立数学模型并开展数值模拟. 我

们此前工作中是基于Rho GTPase-PIs (磷脂分子, 包括: PIP₃和PIP₂)反馈回路的空间效应可引发双向分子输运, 据此构建运动细胞力学-化学耦合模型^[18-20], 为反转极化^[21]、细胞捕获^[22]、U-型转向^[23]、相关随机迁移(Correlated Random Migration)^[24]等实验现象提供理论解释. 在此基础上, 本文进一步考察由细胞接触的力学行为调控N-cad同质黏附信号通路及FilGAP-FLNa力敏感信号通路, 改变局部Rho GTPase活性, 为Rho GTPase-PIs回路施加额外的负反馈调控以改变细胞极性, 并据此描述CIL行为.

2 模型与方法

图1(a)是离散细胞模型示意图. 将细胞考虑为外部圆环与内部网状的复合结构. 圆环指代细胞膜(代指质膜及皮层紧密贴合体), 网状结构指代微丝骨架. 圆环具有较强力学属性, 从而维持细胞在运动及接触过程中的结构完整性; 网状结构力学属性较弱, 其变形由圆环传递“边界条件”确定, 其角应变控制FilGAP释放. 考察信号分子仅在圆环结构上发生反应及扩散, 而圆环围绕的胞质区域内分子扩散较快, 假定此处浓度均一, 由质量守恒定律直接获取. 为考察分子沿可变形的细胞膜输运, 引入了自适应性D1Q3单元, 其长度与力学单元动态匹配. 整体数学模型由3个模块构成, 分别是: 细胞力学模块、信号转导模块、力敏感信号通路模块. 各模块的基本假设及控制方程如下.

2.1 细胞力学模块

细胞整体离散模型中, 细胞膜由离散节点首尾依次连接而成的圆环结构表示, 圆环结构上的任意节点*i*的受力满足以下平衡条件:

$$\frac{\partial(E_l + E_b + E_s)}{\partial \mathbf{p}_i} + \mathbf{F}_{\text{vis},i} + \mathbf{F}_{\text{drag},i} + \mathbf{F}_{\text{p},i} + \mathbf{F}_{\text{c},i} = 0, \quad (1)$$

式(1)第一项是保守力, 由势能函数对位置坐标(\mathbf{p}_i)求偏导获得. 系统中涉及以下三种弹性势能:

$$E_l = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n K_l \left(\frac{\ell_i - \ell_0}{\ell_0} \right)^2, \quad (2a)$$

$$E_b = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n K_b \tan^2 \left(\frac{\theta_i - \theta_0}{2} \right), \quad (2b)$$

$$E_s = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n K_s \left(\frac{S - S_0}{S_0} \right)^2, \quad (2c)$$

式(2a)描述的是细胞膜受到拉伸或压缩而产生的弹性势能(E_1), ℓ_i 是*i*单元实际长度, ℓ_0 是平衡长度, K_1 是弹簧刚度系数; 式(2b)描述的是细胞膜弯曲所产生的能量(E_b), θ_i 是与第*i*个节点相连的两弹簧角度, θ_0 是平衡角度, K_b 是弯曲常数; 式(2c)描述的是面积约束势能(E_s), 用以限制细胞在变形和迁移过程中的面积变化, S 和 S_0 分别是细胞当前面积及平衡面积, K_s 是面积约束系数. 式(1)第二项考察单元节点*i*和*j*受到与节点相对速度方向相反的黏性力, $F_{vis,i} = -\gamma(v_i - v_j)$, 其中 γ 是黏性系数. 式(1)第三项是细胞接触区摩擦阻力, $F_{drag,i} = -\mu v_i$, 其中 μ 为动摩擦系数. $F_{p,i}$ 和 $F_{c,i}$ 是伸出力和收缩力, 分别由F-actin聚合及Myosin-II水解ATP产生. F-actin聚合极度依赖PIP₃局部集聚^[8]; PIP₂为PTEN提供质膜结合点, 而PTEN又可调控Myosin-II在质膜上的定位^[25]. 据此, 本文假设 $F_{p,i}$ 和 $F_{c,i}$ 分别与该节点上PIP₃和PIP₂浓度成正比, 换算系数分别为: $\theta_{pro} = 4 \text{ pN}/\mu\text{M}$, $\theta_{con} = 3.2 \text{ pN}/\mu\text{M}$ ^[18].

内部节点也是由弹簧连接, 设定弹簧平衡长度为0. 连接*i*和*j*节点的弹簧拉力 F_{ij} 正比于弹簧长度 $p_i - p_j$, 当*j*节点平衡时有: $\sum_j(p_i - p_j) = 0$.

2.2 信号转导模块

如图1(b)所示, 基于“多层次”信号级联转导的核心是Rho GTPase调控模块. Rho GTPase接收由“平衡-抑制”(Balanced-Inactivation, BI)机制^[26]所提供的“上游”方向信号. “下游”是由磷酸激酶(PI3K)、磷酸酶(PTEN)及磷脂分子(PIs)参与调控的“双向分子运输”(Bidirectional Molecular Transport, BMT)系统^[27], 负责将细胞内信号转化为伸出力(F_p)及收缩力(F_c). 上述BI与BMT子模块的控制方程与参数设定与细胞接触无关, 均沿用以往模型设定^[20], 此处不再赘述. 本文引入了N-cad与FilGAP共同参与调控Rho GTPase. Rho GTPase成员(Rac和RhoA)的演化方程如下:

$$\frac{\partial G}{\partial t} = D_m \nabla^2 G + P_G(R, \rho) G_i - \delta_G(R, \rho) G + Q_G G, \quad (3)$$

其中, $G = R$ 和 ρ 分别代表活性态(膜结合态)Rac和RhoA. $G_i = R_i$ 和 ρ_i 分别为失活态Rac和RhoA的数量总和, 直接由守恒定律计算. P_G 是激活项, 包括 P_R 和 P_ρ 两

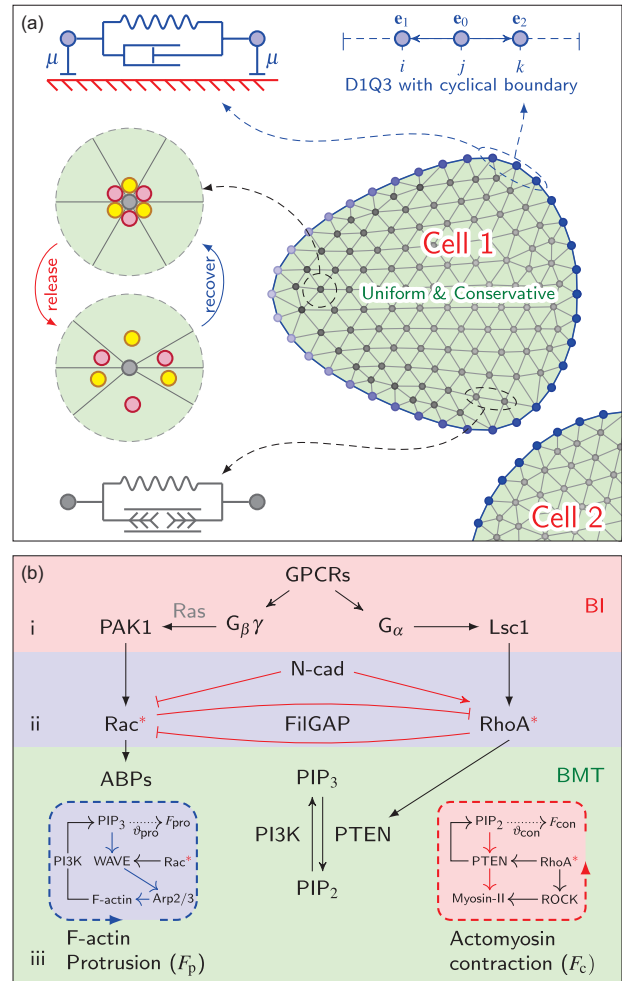


图 1 (网络版彩图) CIL力学-化学耦合模型示意图. (a) 细胞模型示意图. 将细胞膜离散为弹簧-质量系统, 弹簧长度与求解反应-扩散系统的LBM-D1Q3单元长度动态匹配; 将微丝骨架离散为三角形网状结构, 由角应变控制FilGAP分子(由红色和黄色小球表示)释放速率. (b) 控制CIL级联转导通路示意图. FilGAP与N-cadherin共同参与调控Rho GTPase家族成员的活性. Rho GTPase上游是由“平衡-抑制”机制主导的信号处理模块, 下游是由“双向分子运输”机制主导的主动动力生成模块

Figure 1 (Color online) Schematic of the mechanical-chemical coupling model for CIL. (a) Geometry of the cell model. The cell membrane is modeled as the spring-mass system, matching dynamically the cell membrane element implemented by LBM-D1Q3 for solving the diffusion-reaction equation. The lamellipodia are triangulated, manipulating the release rate of FilGAP molecules (marked as red and yellow balls) based on angular strain. (b) Signaling cascades for CIL. Activity of Rho GTPase family members is regulated cooperatively via the FilGAP and the N-cadherin signaling cascades. The balanced-inactivation (BI) mechanism domains the upstream signaling processing module, and the bidirectional molecular transport (BMT) mechanism governs the downstream active force generation module.

项, 具体表示为

$$P_R = Act_R + \alpha E_R, \quad P_\rho = Act_\rho + \tau E_\rho + \eta \cdot \text{sgn}(i), \quad (4)$$

其中 Act_R 和 Act_ρ 分别是Rac和RhoA基准激活率. $\eta \cdot \text{sgn}(i)$ 项表征细胞接触通过N-cad信号通路局部提高RhoA激活速率, $\text{sgn}(i)$ 是示性函数(式(5)同), 表征 i 节点是否是与其他细胞的接触点, “是”则该函数值为1, “否”则为0, 该函数在细胞碰撞中被标记(参见3.2节). α 和 τ 项传递自BI机制, 代表由信号源引起Rac和RhoA局部激活^[18]. 式(3)中的 $\delta_G(R, \rho)$ 是失活项:

$$\delta_R = I_R + \varphi \cdot \text{sgn}(i), \quad \delta_\rho = I_\rho, \quad (5)$$

其中 I_R 和 I_ρ 代表基准失活率; Q_G 是由FilGAP介导Rac与RhoA相互拮抗作用, 采用了超敏(Ultrasensitivity)开关形式^[28]:

$$Q_R = -Q_\rho = \frac{-1}{1 + A_G \exp(-b[\text{FilGAP}] \cdot [\text{PIP}_3])}, \quad (6)$$

其中 A_G 控制陡度, b 控制信号强度.

2.3 力敏感信号通路模块

考察处于FLNa结合态的FilGAP从FLNa的释放速率是由角应变控制的带通机制控制^[16]. 当微丝骨架的角度变化在一定范围内时, 节点处于缓慢释放FilGAP状态, 而一旦角度变化超出范围, 即转变为快速释放状态. 网状节点 i 上剩余的FilGAP(m_i)随时间演化采用下式予以描述^[20].

$$\frac{dm_i}{dt} = A \cdot (m_i^0 - m_i) \left(\sum_i m_i^0 - \sum_i m_i \right) - [k_{\text{slow}} + (k_{\text{fast}} - k_{\text{slow}}) \cdot \text{sng}(\Delta\theta_i, t)], \quad (7)$$

其中 A 为常量, k_{fast} 和 k_{slow} 分别是快速和慢速释放速率. sng 是示性函数, 用以在慢速与快速释放速率间切换. 设定FilGAP总量守恒, 细胞质中FilGAP浓度均一, 可根据质量守恒定律获得.

3 数值方法

3.1 LBM-D1Q3

可发生CIL的细胞通常具有较大的个体, 例如成纤维细胞长度可达20 μm , NCCs可达40 μm . 模拟中,

细胞的初始形态被设置为直径10 μm 的圆. 当细胞完全极化后长度可达15 μm , 与成纤维细胞尺寸接近. 细胞膜结构由45个节点和依次连接这些节点的弹簧构成. 细胞的微丝骨架由421个内部节点构成的网状结构模拟. 分子在细胞膜上的反应-扩散问题由LBP-D1Q3方法求解. LBP是将格子玻尔兹曼方法(LBM)与粒子(Particle)法耦合^[12].

传统的LBM方法通常可以分为以下两步交替循环进行:

$$\text{碰撞: } f'_{v,\alpha}(x, t) - f_{v,\alpha}(x, t) = \Omega, \quad (8)$$

$$\text{迁移: } f_{v,\alpha}(x + e_\alpha \Delta t, t + \Delta t) = f'_{v,\alpha}(x, t), \quad (9)$$

其中 $f_{v,\alpha}(x, t)$ 是定义在离散速度方向集上的瞬时粒子分布函数; 对于D1Q3(图1(a))单元的 e_α 取: $e_0 = 0$, $e_1 = 1$ 和 $e_2 = -1$. Ω 是碰撞算符, 由反应项(Ω^R)及非反应项(Ω^{NR})构成: $\Omega = \Omega^R + \Omega^{\text{NR}}$. Ω^{NR} 采用单松弛模型:

$$\Omega^{\text{NR}} = -\frac{\Delta t}{\tau} [f_{v,\alpha}(x, t) - f_{v,\alpha}^{\text{eq}}(x, t)], \quad (10)$$

其中 $f_{v,\alpha}^{\text{eq}}(x, t)$ 是平衡函数:

$$f_{v,\alpha}^{\text{eq}}(x, t) = w_\alpha \rho_v, \quad (11)$$

其中 ρ_v 是宏观密度, w_α 是粒子速度权重系数.

传统的LBM中格子尺寸均匀不变, 但本文表示细胞膜的相邻节点距离随时间变化, 为此采用具有动态变化不均匀网格的LBP-D1Q3算法. LBP-D1Q3将D1Q3单元与力学单元动态匹配, 当粒子发生位移并导致单元长度变化后, 对 $f_{v,\alpha}(x + e_\alpha \Delta t, t + \Delta t)$ 在网格节点 $\{x_i\}$ 上进行三次样条插值, 由此获得 $f_{v,\alpha}(\{x_i\}, t + \Delta t)$. 为保证插值前后各分子总量严格守恒, 需对分布函数作如下缩放:

$$f_{v,\alpha}(x_i, t + \Delta t) := f_{v,\alpha}(x_i, t + \Delta t) \times \frac{\sum \rho_v(t + \Delta t) \Delta x_i(t + \Delta t)}{\sum \rho_v(t) \Delta x_i(t)}, \quad (12)$$

式中的“:=”表示赋值, 即将等号右侧赋值给左侧(式(13)同).

3.2 细胞碰撞

两细胞基于单细胞受力平衡更新位置后即有可能相互交叠. 为避免这种重叠, 必须引入细胞的碰撞. 本文将细胞的碰撞简化为细胞膜节点间的碰撞. 假设在

某个时间步更新细胞位置后, 从属“cell 1”的细胞膜节点*i*进入了“cell 2”, 则在“cell 2”上找到与节点*i*距离最近的节点*j*, 采用*i*和*j*的平均位置/平均速度作为碰撞后两节点的位置/速度:

$$p_i = p_j := \frac{1}{2}(p_i + p_j), \quad (13a)$$

$$v_i = v_j := \frac{1}{2}(v_i + v_j), \quad (13b)$$

式(13a)是为了消除两个细胞在空间上的重叠. 式(13b)则是出于动量守恒的考虑, 即在质量相同时, 节点*i*和*j*发生完全非弹性碰撞后的共同速度为碰撞前的平均速度. 与此同时, 将“cell 1”的*i*节点与“cell 2”的*j*节点标记为接触点, 通过更新式(4)和(5)与接触相关的源项, 将力学接触与非线性反应-扩散系统耦合.

4 结果

本节首先模拟正常生理参数下两细胞接触后CIL响应, 随后通过改变FilGAP浓度或N-cad信号通路的强度, 考察特异型细胞在相互接触后的迁移动力学响应. 本文采用的力学参数及单细胞级联转导动力学参数与此前工作一致. 为模拟CIL, 仅需额外引入两细胞接触点处Rac与RhoA调控参数.

CIL体外实验通常将细胞置于微模式基底(Micropatterned Substrates)以提高运动接触机率^[29]. 模拟时可在两细胞中心连线的中点位置放置胞外诱导信号源, 以促使两细胞初始极化. 初始无极性细胞各分子浓度的初始值见附录表a2. 在极化完全后允许两细胞发生相对运动, 进而发生面对面接触. 设定细胞极化完全并开始运动时为*t* = 0时刻, 模拟持续3 min. 在本节展示的结果中, 以“μM”为单位的分子浓度是由二维模型中单位面积分子数量转换而来, 转换系数为ξ = 1/100 μM μm²^[30].

4.1 正常细胞的CIL行为

图2(a)展示了两细胞在初始极化后发生相向运动及在接触后极性反转的运动过程. 图中细胞质膜颜色标记驱动细胞力场的伸出力场PIP₃浓度(蓝色区域浓度较低), 微丝骨架节点颜色标记局部角应变(蓝色区域角应变较小, 角应变大小反比于节点上的FilGAP浓度). 两细胞均极化为椭圆形, 并发生相向运动(*t* =

40 s). 在两细胞接触后(*t* = 80 s), N-cad信号通路在接触区域开启, 对RhoA及Rac施加正、负调控作用, 引起细胞原有极性降低、伪足回缩(*t* = 80 s). 标记头部的效应分子PI3K由于缺少质膜结合点(PIP₃)而进入胞质, 在其他区域移置到质膜后通过介导Rho GTPase-PIs 反馈回路空间效应, 造成PIP₃局部积聚. 由于在“BMT”模块中保留了随机性, 这使得两细胞随后的运动特征并不相同——“cell 1”在其原有头部的侧方建立新的头部, “cell 2”在之前的尾部方位建立. 两细胞由于原有运动方向改变而发生分离(*t* = 160, 200 s).

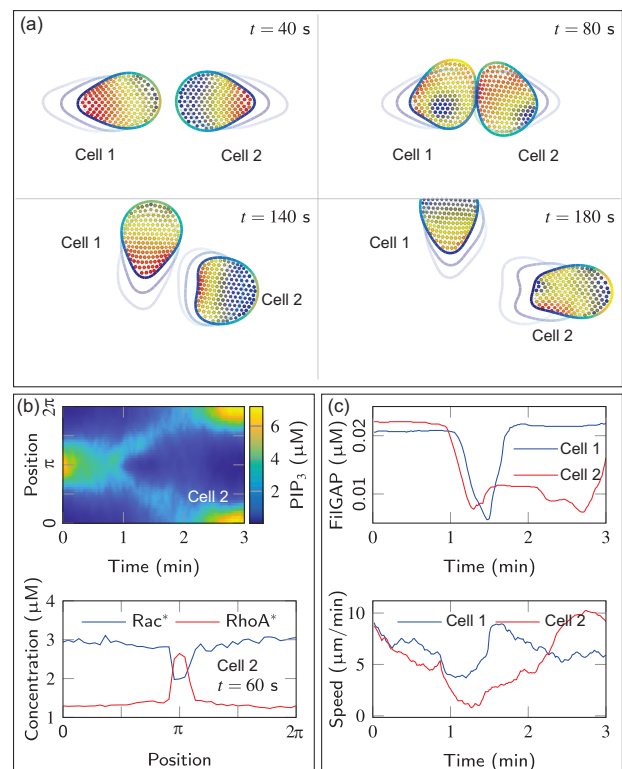


图2 (网络版彩图) FilGAP-FLNa与N-cad信号通路共同调控下的CIL行为及分子响应. (a) 两细胞在4个典型时刻(*t* = 40, 80, 160, 200 s)的相对运动(图中暗线标记细胞在该时刻前连续形态变化); (b) 细胞极性标记分子(PIP₃)浓度时空演化图(上)及活性态Rho GTP在细胞接触后(*t* = 80 s)沿质膜浓度分布图(下); (c) 两细胞胞质内FilGAP浓度(上)及运动速度(下)时程曲线图

Figure 2 (Color online) CIL behavior upon the combined action of FilGAP-FLNa and N-cad signaling pathways. (a) Cells polarization and relative motion at four typical time points (*t* = 40, 80, 160, 200 s); (b) spatio-temporal regulation of cell polarity marker-PIP₃ (upper panel) and the concentration profiles of Rho GTPase at *t* = 80 s (lower panel), when two cells were in contact; (c) temporal plots of the concentration of cytosolic FilGAP (upper) and cell speed (lower).

图2(b)是标记细胞头部极性的分子PIP₃时空演化图(上)及两细胞接触阶段($t = 80$ s)活性态Rho GTPase (包括: Rac*及RhoA*)沿质膜一周浓度分布图(下). 图中坐标轴上的“ π ”位置指示细胞在初始极化阶段正对信号源的一点. 0–80 s是细胞在接触前的初始极化运动阶段, PIP₃依据信号源方向在[3/4, 5/4]区间积聚(图2(b)上); 两细胞在80–120 s时间区间内接触, 引起活性态RhoA及Rac浓度在[3/4, 5/4]区间显著改变(图2(b)下). 150–180 s阶段, “cell 2”由于展现CIL沿着反方向运动, 与之相应, PIP₃在与之前反向的细胞尾部积聚(图2(b)上).

图2(c)是两细胞胞质内FilGAP浓度(上)及运动速度时程曲线图(下). 以“cell 2”为例, 在0–80 s阶段, 两细胞由初始无极性转变为稳定极化形态; 微丝骨架的角应变使得FilGAP释放, 其浓度最终维持在0.02 μM . 200–400 s阶段, 两细胞处于接触状态, 细胞相互阻碍引起运动速度逐步下降为 $\sim 2 \mu\text{m}/\text{min}$; 随着细胞极性程度降低, 部分处于快速释放FilGAP状态的微丝骨架节点切换为慢速释放状态, 观察到胞质内FilGAP浓度曲线下降至 $\sim 0.005 \mu\text{M}$. 120–180 s阶段, 两细胞由于重新极化而发生分离, 观察到速度曲线升高至 $\sim 10 \mu\text{m}/\text{min}$, 同时由于细胞极化形变导致FilGAP加速释放, FilGAP浓度曲线出现短暂升高. 由于“cell 1”重新极化领先于“cell 2”(图2(a), $t = 140$ s), 这导致前者释放FilGAP速率高于后者, [FilGAP]时程曲线在两细胞脱离阶段($t = 80$ –180 s)发生明显分离.

4.2 FilGAP-FLNa力敏感信号通路对CIL调控

通过调整初始时赋予网格节点上的FilGAP浓度值考察FilGAP-FLNa力敏感信号通路对CIL的调控效果. 图3(a)是消除FilGAP后所获得的两细胞在不同时刻($t = 40, 80, 160, 200$ s)的极性形态及相对运动图. 由于细胞无法通过FilGAP抑制局部Rac活性, 细胞呈现出显著的“头-尾”极性($t = 40$ s); 两快速运动细胞在接触后, 最终是以绕行方式脱离接触($t = 80, 160, 200$ s). 图3(b)是PIP₃时空调控图(上)及活性态Rac(Rac*)、RhoA(RhoA*)在接触时刻($t = 80$ s)沿质膜的分布图(下). 注意到, 接触发生在沿细胞圆周的[3/4, 5/4]区间, 该区间内N-cad通路激活, 引起了局部Rac活性降低、RhoA活性升高(图3(b)下). 由于细胞在接触

前已处于充分极化状态, 局部N-cad调控并不足以造成细胞极性反转, 但会使得PIP₃从原有积聚位置偏移(图3(b)上), 验证了细胞通过维持原有伪足的继续迁移. 从两细胞运动速度图中可见(图3(c)下), 两细胞在40–140 s阶段彼此接触速度较低($\sim 3 \mu\text{m}/\text{min}$); 两细胞分离后速度恢复至 $\sim 10 \mu\text{m}/\text{min}$.

图4是将FilGAP初始浓度提升为0.5 μM 所获得的两细胞在不同时刻相对运动图及分子响应图. 由图4(a)可知, 两细胞在初始极化运动阶段($t = 40$ s), 仅建立较弱的极性. 在运动过程中, 由于细胞形变导致FilGAP大量释放; 而胞质内FilGAP浓度的提升则会消弱细胞极性, 造成了细胞极化方向频繁转变($t = 80, 160, 200$ s), 细胞因而展现出“相关性随机迁移”行为. 与之相应, PIP₃细胞时空分布图中出现了不同位置强度较低的分子积聚(图4(b)). 由于两细胞并未发生接触, FilGAP的释放仅与细胞自身极化相关. 细胞运动速度较快预示着细胞形变加大, 这导致FilGAP释放量增

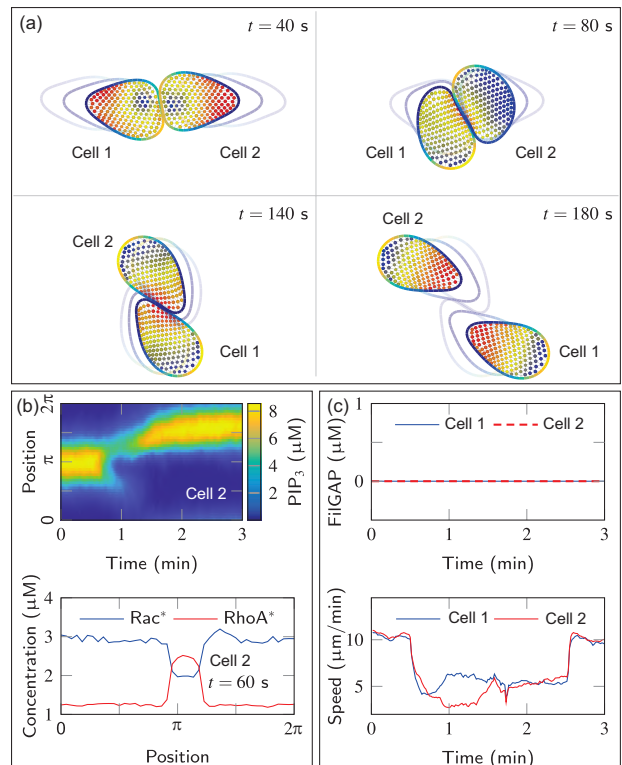


图3 (网络版彩图) N-cad信号通路单独作用下的CIL行为及分子响应. (a)–(c)分图描述同图2

Figure 3 (Color online) CIL behavior upon single action of N-cad signaling pathway. Captions of (a)–(c) are the same as Figure 2.

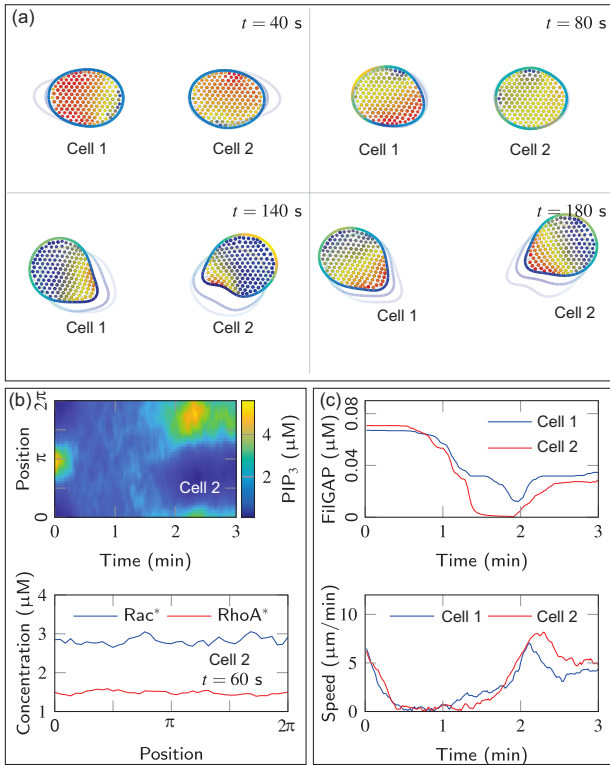


图4 (网络版彩图)过表达FilGAP时两细胞迁移及分子响应。(a)–(c)分图描述同图2
Figure 4 (Color online) Cell migration upon over-expression of FilGAP. Captions of (a)–(c) are the same as Figure 2.

大, 而过高的胞质内FilGAP浓度又导致了细胞极性降低、速度减慢, 因此造成了FilGAP浓度与细胞速度时程曲线呈负相关(图4(c)).

4.3 N-cad通路对CIL调控

图5是设定FilGAP初始浓度 $0.1 \mu\text{M}$ 并取消N-cad信号所获得的细胞相对运动及分子响应. 由图5(a)可见, 两细胞发生相向运动, 在 $t = 80 \text{ s}$ 已处于接触状态, 随后始终维持黏附状态($t = 140, 180 \text{ s}$). 由图5(b)可知, 因缺少N-cad调控, 两细胞在接触区域并未发生明显的Rac和RhoA活性改变(图5(b)下). 尽管如此, 由于细胞接触初期, 细胞形态相比于接触前更接近圆形(图5(a), $t = 80 \text{ s}$), 这将导致FilGAP释放量降低. 图5(c)上中观察到细胞质内FilGAP浓度在60–90 s阶段下降至 $\sim 0.01 \mu\text{M}$. FilGAP浓度的降低削弱了对Rac的抑制作用, 这导致60–90 s阶段 PIP_3 极性的提升(图5(b)上). 由于两细胞均无法改变极化方向, 它们

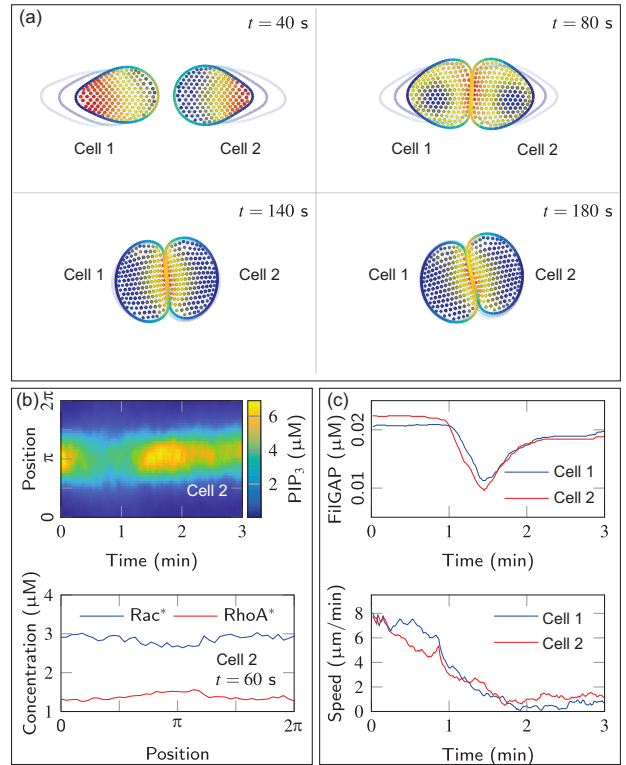


图5 (网络版彩图)缺少N-cad信号通路下的两细胞接触行为及分子响应。(a)–(c)分图描述同图2
Figure 5 (Color online) CIL behavior in the absence of N-cad signaling pathways. Captions of (a)–(c) are the same as Figure 2.

在接触后的运动速度趋近为0, 处于静态黏附状态(图5(c)下).

5 讨论

生物化学学者开展CIL实验往往配合开展分子抑制/过表达对照组实验^[2,4]. 信号级联转导如何调控CIL动力学? 对于这一分子-细胞“跨尺度”问题可借助于构建力学-化学耦合模型予以回答. 此前, Scarpa等人^[29]观测到两NCCs正面遭遇后可展现出三种行为: 极性反转后脱离接触、发生黏附或绕行通过. 针对上述实验现象, 已提出的CIL力学-化学耦合模型是基于Rho GTPase自身调控——由非线性反应-扩散方程描述的波桩(Wave Pinning)机制主导^[31,32]. 考虑到Rho GTPase是信号分子, 其自身调控的时空特征与标识主动力场的F-actin和Myosin-II调控特征并不一致^[33,34]. 本文及此前围绕运动细胞开展的一系列工作是将细胞视为受到Rho GTPase调控的“双向分子运输”系

统^[18-20]. 基于模型化视角, CIL与单细胞迁移的区别在于CIL细胞之间发生物理接触能转变为Rho GTPase调控信号, 进而对原有细胞极性施加了“负反馈”. 本文通过考察“负反馈”与调控细胞初始极化的“正反馈”之间的竞争, 重现了CIL实验中观测到的行为多样性.

本文为构建整体数学模型采取了必要的假设及简化. 在本文工作基础上, 今后可继续开展以下三方面工作.

其一, 本文将细胞-基底黏附及细胞间黏附均表征为正比于(相对)运动速度的黏附力. 考虑到展现CIL的细胞往往正处在EMT进程, 细胞-基底黏附力大幅下降, 仅产生瞬时的接触点^[35], 据此推断对细胞-基底黏附的简化处理并不影响细胞迁移动力学. 近期Roycroft等人^[2]观测到两个NCCs接触后会使得接触区域的黏附斑(Focal Adhesion)快速解聚, 两细胞张力即沿反方向拉动细胞接触点, 由此促进两细胞分离. 一个合理的猜想是: 细胞间及细胞-基底黏附可以通过协调细胞张力来调控两CIL细胞在分离阶段的动力学. 后续可引入“马达-离合器”(Motor-Clutch)机制^[36]模拟两种黏附行为, 对该猜想予以论证.

其二, Scarpa等人^[29]采取微模式基底将细胞限制在一维运动, 已为高效、定量分析CIL提供了基础. 为了进一步检验本文模拟预测, 可将该实验与沉默FilGAP或者表达缺失GAP活性的FilGAP突变体蛋白实验结合, 即固定细胞两两碰撞的角度, 统计分析不同的细胞对照组的运动路径.

其三, 基于本文中两细胞动态接触模拟体系, 后

续将开发自发式群体细胞迁移(Spontaneous Collective Migration, SCM)模拟平台. 以NCCs为例, NCCs自身可分泌趋化因子(C3a)并表达相应受体(C3aR), 从而展现出自吸引(Co-Attraction, COA)特性^[2]. 此前, Merchant等人^[37]模拟在受限空间内通过CIL与COA之间的配合能产生SCM行为. 结合本文工作, 后续可考察力敏感信号通路在SCM中所发挥的作用.

6 结论

本文基于此前“多层次”级联转导调控单细胞运动基础考察了细胞接触触发FilGAP-FLNa力敏感信号通路及N-cad信号通路, 由此构建用以模拟CIL行为的力学-化学耦合模型, 并通过自行发展的LBP-D1Q3法予以数值求解. 通过改变分子表达水平模拟正常或特异型细胞, 获得了以下三方面结论.

(1) 细胞CIL行为受到FilGAP-FLNa力敏感信号通路与N-cad同质黏附信号通路的共同调控. FilGAP对Rac发挥抑制作用水平能够帮助细胞维持适中的极性, 从而在细胞接触后利用N-cad调控完成细胞极性反转, 由此展现CIL行为.

(2) FilGAP-FLNa力敏感信号通路不起作用时, 细胞呈现高度极化状态, 此时接触后N-cad对Rho GTPase施加有限的局部调控作用不足以改变细胞极化方向, 细胞维持原有极性以绕行方式脱离接触.

(3) N-cad通路失效使得细胞在接触后不发生极性反转, 进而产生细胞静态黏附现象.

致谢 感谢宁波大学王骥教授、杜建科教授在本文撰写过程中给予的建议.

参考文献

- Rajagopal V, Holmes W R, Lee P V S. Computational modeling of single-cell mechanics and cytoskeletal mechanobiology. *WIREs Mech Dis*, 2018, 10: e1407
- Roycroft A, Szabó A, Bahm I, et al. Redistribution of adhesive forces through Src/FAK drives contact inhibition of locomotion in neural crest. *Elsevier Sponsored Documents*, 2018, 45: 565-579
- Scarpa E, Szabó A, Bibonne A. Cadherin switch during EMT in neural crest cells leads to contact inhibition of locomotion via repolarization of forces. *Dev Cell*, 2015, 34: 421-434
- Carmona-Fontaine C, Matthews H K, Kuriyama S. Contact inhibition of locomotion *in vivo* controls neural crest directional migration. *Nature*, 2008, 456: 957-961
- Davis J R, Huang C Y, Zanet J. Emergence of embryonic pattern through contact inhibition of locomotion. *Development*, 2012, 139: 4555-4560
- Abercrombie M. Contact inhibition and malignancy. *Nature*, 1979, 281: 259-262
- Mayor R, Carmona-Fontaine C. Keeping in touch with contact inhibition of locomotion. *Trends Cell Biol*, 2010, 20: 319-328
- Charest P G, Firtel R A. Feedback signaling controls leading-edge formation during chemotaxis. *Curr Opin Genet Dev*, 2006, 16: 339-347

- 9 Kim J H, Hanlon C D, Vohra S. Hedgehog signaling and *Tre1* regulate actin dynamics through PI(4,5)P₂ to direct migration of *Drosophila* embryonic germ cells. *Cell Rep*, 2021, 34: 108799
- 10 Versaevel M, Alaimo L, Seveau V. Collective migration during a gap closure in a two-dimensional haptotactic model. *Sci Rep*, 2021, 11: 5811
- 11 Zegers M M, Friedl P. Rho GTPases in collective cell migration. *Small GTPases*, 2014, 5: e983869
- 12 Feng S L, Zhou L W, Lü S Q, et al. Mechanochemical coupling model and numerical simulation for cell-cell adhesion in suspended epithelial cells (in Chinese). *Chin J Theor Appl Mech*, 2020, 52: 854–863 [冯世亮, 周吕文, 吕守芹, 等. 悬浮态上皮细胞黏附的力学-化学耦合模型及数值模拟. *力学学报*, 2020, 52: 854–863]
- 13 Bamburg J R, Minamide L S, Wiggan O N. Cofilin and actin dynamics: Multiple modes of regulation and their impacts in neuronal development and degeneration. *Cells*, 2021, 10: 2726
- 14 Nakamura F. FilGAP and its close relatives: A mediator of Rho-Rac antagonism that regulates cell morphology and migration. *Biochem J*, 2013, 453: 17–25
- 15 Ehrlicher A J, Nakamura F, Hartwig J H. Mechanical strain in actin networks regulates FilGAP and integrin binding to filamin A. *Nature*, 2011, 478: 260–263
- 16 Kang J, Puskar K M, Ehrlicher A J. Structurally governed cell mechanotransduction through multiscale modeling. *Sci Rep*, 2015, 5: 8622
- 17 Kopfer K H, Jäger W, Matthäus F. A mechanochemical model for rho GTPase mediated cell polarization. *J Theor Biol*, 2020, 504: 110386
- 18 Feng S, Zhou L, Zhang Y. Mechanochemical modeling of neutrophil migration based on four signaling layers, integrin dynamics, and substrate stiffness. *Biomech Model Mechanobiol*, 2018, 17: 1611–1630
- 19 Feng S L, Zhou L W, Lü S Q. Dynamic seesaw model for rapid signaling responses in eukaryotic chemotaxis. *Phys Biol*, 2018, 15: 056004
- 20 Zhou L, Feng S, Li L. Two complementary signaling pathways depict eukaryotic chemotaxis: A mechanochemical coupling model. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 786254
- 21 Dalous J, Burghardt E, Müller-Taubenberger A. Reversal of cell polarity and actin-myosin cytoskeleton reorganization under mechanical and chemical stimulation. *Biophys J*, 2008, 94: 1063–1074
- 22 Meier B, Zielinski A, Weber C. Chemotactic cell trapping in controlled alternating gradient fields. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 11417–11422
- 23 Gerisch G, Keller H U. Chemotactic reorientation of granulocytes stimulated with micropipettes containing fMet-Leu-Phe. *J Cell Sci*, 1982, 52: 1–10
- 24 Van Haastert P J M. Chemotaxis: Insights from the extending pseudopod. *J Cell Sci*, 2010, 123: 3031–3037
- 25 Pramanik M K, Iijima M, Iwadate Y. PTEN is a mechanosensing signal transducer for myosin II localization in *Dictyostelium* cells. *Genes Cells*, 2009, 14: 821–834
- 26 Levine H, Kessler D A, Rappel W J. Directional sensing in eukaryotic chemotaxis: A balanced inactivation model. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 9761–9766
- 27 Feng S, Zhu W. Bidirectional molecular transport shapes cell polarization in a two-dimensional model of eukaryotic chemotaxis. *J Theor Biol*, 2014, 363: 235–246
- 28 Lipshtat A, Jayaraman G, He J C. Design of versatile biochemical switches that respond to amplitude, duration, and spatial cues. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 1247–1252
- 29 Scarpa E, Roycroft A, Theveneau E, et al. A novel method to study contact inhibition of locomotion using micropatterned substrates. *Biol Open*, 2013, 9: 786254
- 30 Mogilner A, Edelstein-Keshet L. Regulation of actin dynamics in rapidly moving cells: A quantitative analysis. *Biophys J*, 2002, 83: 1237–1258
- 31 Mori Y, Jilkine A, Edelstein-Keshet L. Wave-pinning and cell polarity from a bistable reaction-diffusion system. *Biophys J*, 2008, 94: 3684–3697
- 32 Kulawiak D A, Camley B A, Rappel W J. Modeling contact inhibition of locomotion of colliding cells migrating on micropatterned substrates. *PLOS Comput Biol*, 2016, 12: 1–25
- 33 Feng S L, Zhu W P. Simulation for reversal of cell polarity based on bidirectional transport of signaling molecules (in Chinese). *Chin J Theor App Mech*, 2015, 47: 337–345 [冯世亮, 朱卫平. 基于信号分子双向运输的运动细胞极性反转模拟. *力学学报*, 2015, 47: 337–345]
- 34 Feng S L, Zhu W P. Molecular mechanisms and dynamic simulations of bipolarization of chemotactic (in Chinese). *Sci Sin-Phys Mech Astron*, 2012, 42: 973–986 [冯世亮, 朱卫平. 运动细胞初始极化阶段胞内信号分子双向积聚的分子机制及动态数值模拟. *中国科学: 物理学 力学 天文学*, 2012, 42: 973–986]
- 35 Thiery J P, Acloque H, Huang R Y J. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*, 2009, 139: 871–890
- 36 Chan C E, Odde D J. Traction dynamics of filopodia on compliant substrates. *Science*, 2008, 322: 1687–1691
- 37 Merchant B, Edelstein-Keshet L, Feng J J. A Rho-GTPase based model explains spontaneous collective migration of neural crest cell clusters. *Dev Biol*, 2018, 444: S262–S273

附录

表 a1 英文缩写对照表

Table a1 English abbreviations

英文缩写	英文全称	中文译名
CIL	Contact inhibition of locomotion	接触抑制迁移
Cad	Cadherin	钙黏附蛋白
EMT	Epithelial-to-mesenchymal transition	上皮细胞向间充质细胞转化
FilGAP	FLNa-binding GTPase activating protein	可与细丝蛋白结合的GTP酶激活蛋白
FLNa	Filamin A	细丝蛋白A
GAPs	GTPase activating proteins	GTP酶激活蛋白
GEFs	Guanine nucleotide exchange factors	鸟苷酸交换因子
N-cad	Neural cadherin calcium-dependent adhesion	神经钙黏素
NCCs	Neural crest cells	神经嵴细胞
Rho GTPase	-	Rho家族小G蛋白
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase	磷酸肌醇-3-激酶
PIP ₂	PtdIns(4,5)P ₂	二磷酸磷脂酰肌醇
PIP ₃	PtdIns(3,4,5)P ₃	三磷酸磷脂酰肌醇
PTEN	Phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome	磷酸酶与张力蛋白同源物

表 a2 分子初始浓度^{a)}Table a2 Initial concentration of all molecules^{a)}

名称	所在区域	浓度 (μM)	名称	所在区域	浓度 (μM)
PIP ₂	细胞膜	10	PIP ₃	细胞膜	0.2
PI3K	细胞质	0.06	PTEN ^{a)}	细胞质	0.07
Rac*	细胞膜	3	RhoA*	细胞膜	1.25
Rac	细胞膜	7.5	RhoA	细胞膜	3
FilGAP	微丝骨架	0.1/0/0.5	FilGAP	细胞质	0

a) 表左列的FilGAP浓度 = $\frac{\text{微丝骨架节点上初始的FilGAP总量}}{\text{细胞面积}}$, 表示微丝骨架节点上的FilGAP全部释放到胞质中能达到的浓度.

Mechanical-chemical coupling simulation of contact inhibition of locomotion in eukaryotic cells

CHEN YaJun¹, ZHOU LüWen^{2*}, FENG ShiLiang², LÜ ShouQin^{3,4} & LONG Mian^{3,4*}

¹*Faculty of Maritime and Transportation, Ningbo University, Ningbo 315832, China;*

²*Smart Materials and Advanced Structure Laboratory, Faculty of Mechanical Engineering and Mechanics, Ningbo University, Ningbo 315211, China;*

³*Key Laboratory of Microgravity (National Microgravity Laboratory), Center of Biomechanics and Bioengineering, and Beijing Key Laboratory of Engineered Construction and Mechanobiology, Institute of Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China;*

⁴*School of Engineering Science, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*

Contact inhibition of locomotion (CIL) drives various biological phenomena, including cell dispersion, collective cell migration, and cancer invasion. Based on our previously proposed cell migration model with multilayered signaling cascades, a mechanical-chemical coupling model for CIL was developed by further incorporating cell-cell contact-dependent signaling pathways to guide the cytoskeleton remodeling. The cell structure model incorporates a discrete actin filament network within a cycle. The entire mathematical model is composed of nonlinear diffusion-reaction equations coupled with force-balance equations and solved numerically by the in-house built LBP-D1Q3 method. Numerical simulations indicated that the manifestation of distinct CIL behavior depends on the cooperation between FilGAP-FLNa and N-cadherin signaling pathways in terms of Rho GTPase signaling. After achieving a suitable inhibitory effect of FilGAP, the cells retain moderate polarity, which can be reversed in response to N-cadherin signaling, leading to normal CIL behavior. The lack of FilGAP transforms the cells to a fully polarized state, which is difficult to reverse, thus leading to the “bypass” behavior. The lack of N-cadherin signaling prevents cells from repolarizing in response to cell-cell contact, leading to static cell-cell adhesion. These simulations provide a theoretical basis for understanding the effect of contact inhibition signaling on cell migration.

cytoskeleton remodeling, mechanosensitive signaling pathway, lattice Boltzmann method

PACS: 87.15.Rn, 87.16.Xa, 87.17.Aa, 87.17.Jj

doi: [10.1360/SSPMA-2022-0241](https://doi.org/10.1360/SSPMA-2022-0241)