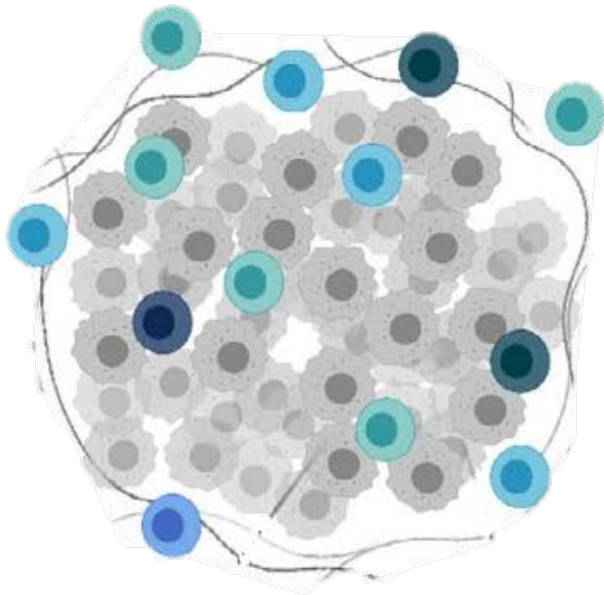


Моделирование иммунной инфильтрации иммуно-исключённого фенотипа опухолей в рамках клеточных моделей Поттса

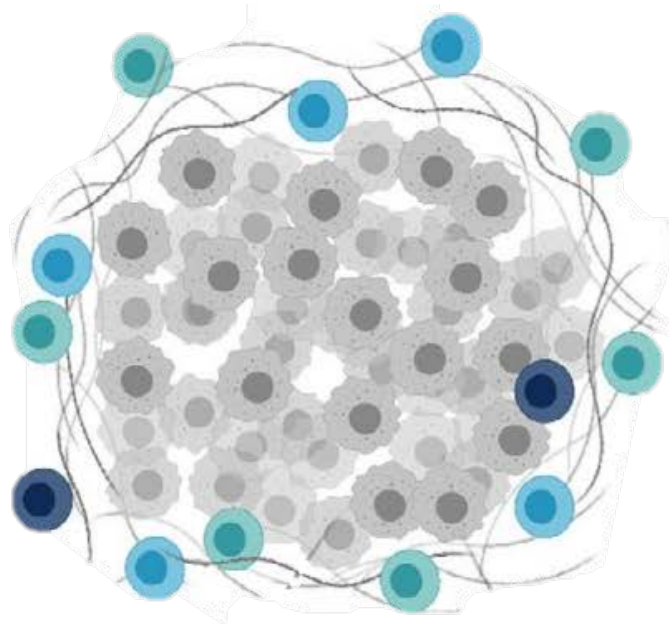
Мукова Елизавета, Азаров Иван

Классификация иммунных фенотипов опухолей

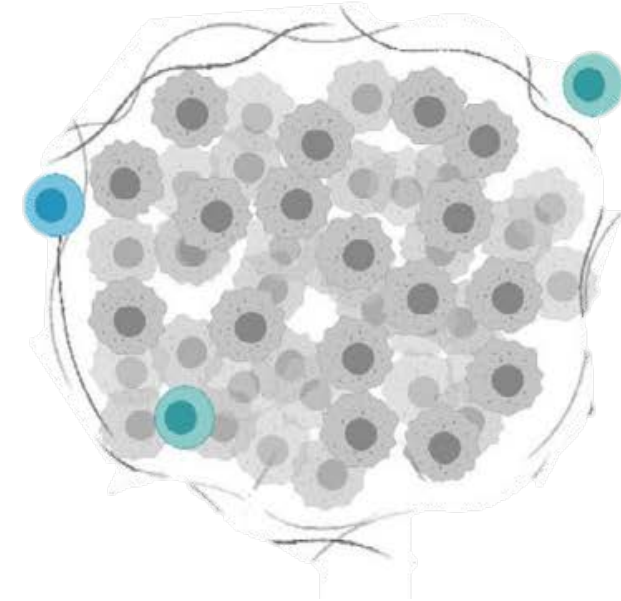
Воспалённый /
инфильтрированный



Исключённый



Пустынный



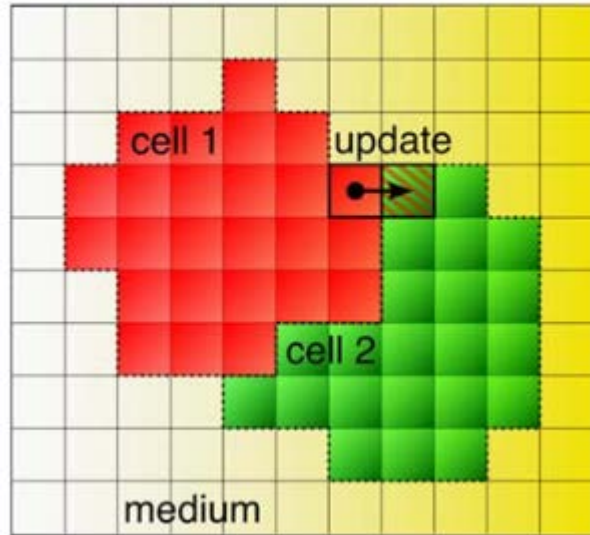
Цель: выяснить, что препятствует инфильтрации иммунных клеток в опухоль

Методы и алгоритмы

3

CPM – решёточные модели с нелокальной энергией конфигурации

Cellular Potts model



1. Много клеток одного типа, нет движения:

$$\mathcal{H}_{Potts} = \sum_{(i,j)(i',j')} (1 - \delta_{\sigma(i,j)\sigma(i',j')})$$

2. Разные типы клеток:

$$\mathcal{H}_{\tau} = \sum_{(i,j)(i',j')} J[\tau(\sigma), \tau(\sigma')] \cdot (1 - \delta_{\sigma(i,j)\sigma(i',j')})$$

3. Учёт размера клеток:

$$\mathcal{H}_{Modified} = \mathcal{H}_{\tau} + \lambda \cdot \sum_{\sigma} [a(\sigma) - A_{\tau(\sigma)}]^2 \cdot \theta(A_{\tau(\sigma)})$$

4. Движение по градиенту:

$$\Delta \mathcal{H}' = \Delta \mathcal{H} - \mu(c_{\text{automaton}} - c_{\text{neighbor}})$$

Эволюция системы во времени

На каждом временном шаге происходит:

- 1) Выбор случайного сайта-кандидата (i, j) со спином σ
- 2) Выбор случайного нового значения спина σ' из Q возможных значений
- 2b) Выбор случайного нового значения спина σ' причём σ' выбирается среди значений соседей
- 3) Расчёт энергии системы $\mathcal{H}$ в новой конфигурации
- 4) Смена спина $\sigma(i, j)$ на σ' :
 - Вероятность перехода при $T > 0$:

$$p(\sigma \rightarrow \sigma') = \begin{cases} e^{-\frac{\Delta\mathcal{H}}{kT}}, & \text{если } \Delta\mathcal{H} > 0 \\ 1, & \text{если } \Delta\mathcal{H} \leq 0 \end{cases}$$

- Вероятность перехода при $T = 0$:

$$p(\sigma \rightarrow \sigma') = \begin{cases} 0, & \text{если } \Delta\mathcal{H} > 0 \\ 0.5, & \text{если } \Delta\mathcal{H} = 0 \\ 1, & \text{если } \Delta\mathcal{H} < 0 \end{cases}$$

- 5) Увеличение числа сделанных попыток и возврат к шагу №1.

Модифицированный
алгоритм Метрополиса

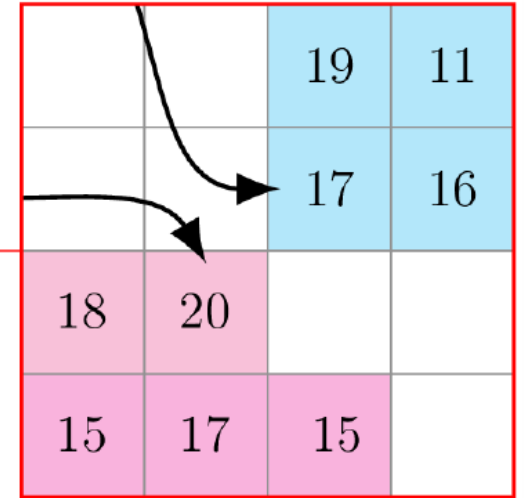
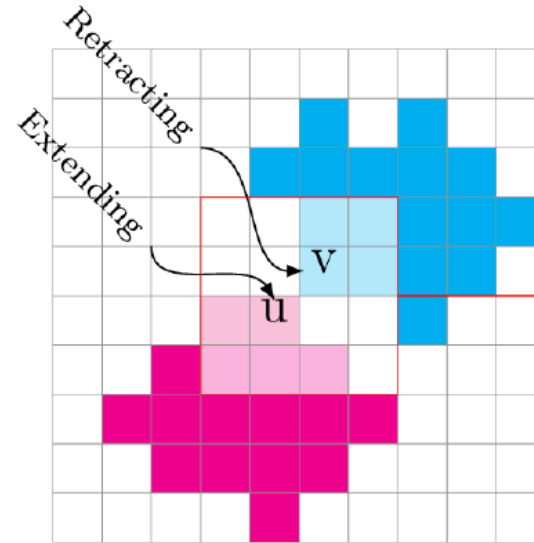


$$\Delta\mathcal{H} = \mathcal{H}_{after} - \mathcal{H}_{before}$$

Направление:
Принцип наименьшей энергии

Модель активного протрузивного движения клеток

- Для каждой клетки – поле активности (u или v)
- Активность матрикса = 0
- Активность свежего сайта Max_{Act}
- Каждый MCS уменьшение активности на 1
- Локальная петля положительной обратной связи: случайная флуктуация вызывает протрузивную активность



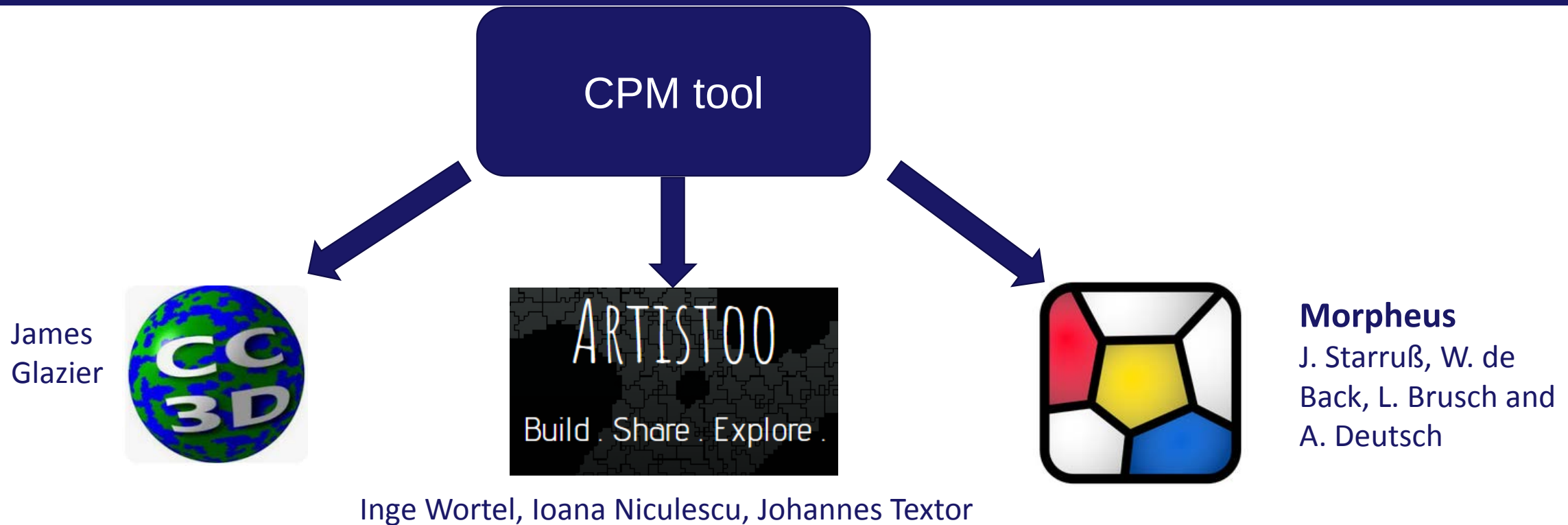
$$\Delta \mathcal{H}_{act} = \frac{\lambda_{Act}}{Max_{Act}} (GM_{Act}(u) - GM_{Act}(v))$$

Вес поправки

$$GM_{Act}(u) = \prod_{y \in V(y)} (Act(y))^{1/V(y)}$$

Окрестность Мура для сайтов той же клетки, включая и сам сайт

Чем проводить CPM расчёты?

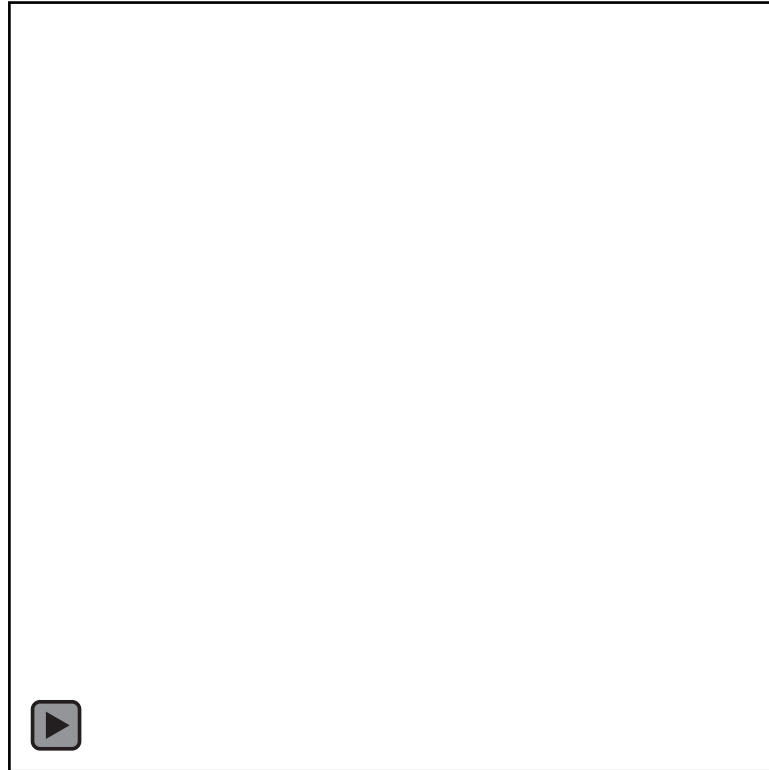


Результаты

8

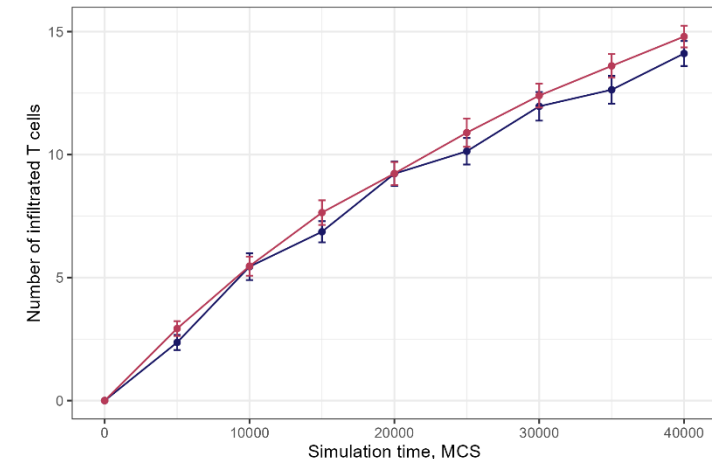
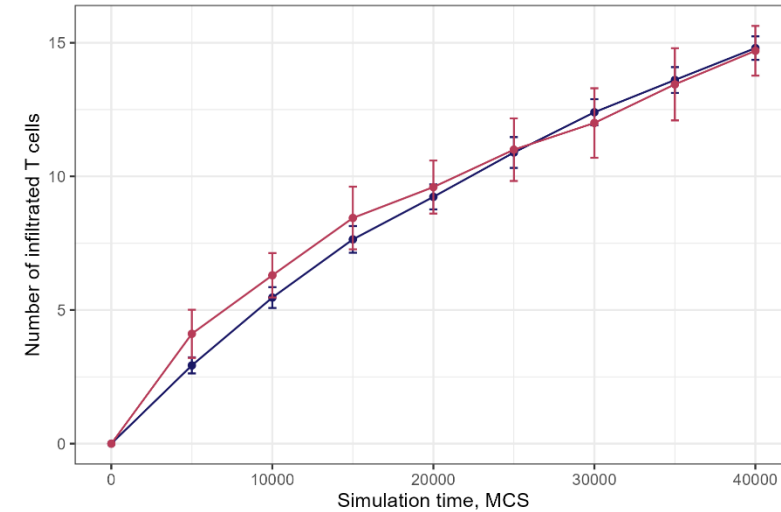
Демонстрация работы модели

-  – Т-клетки
-  – строма
-  – эпидермис
-  – опухоль



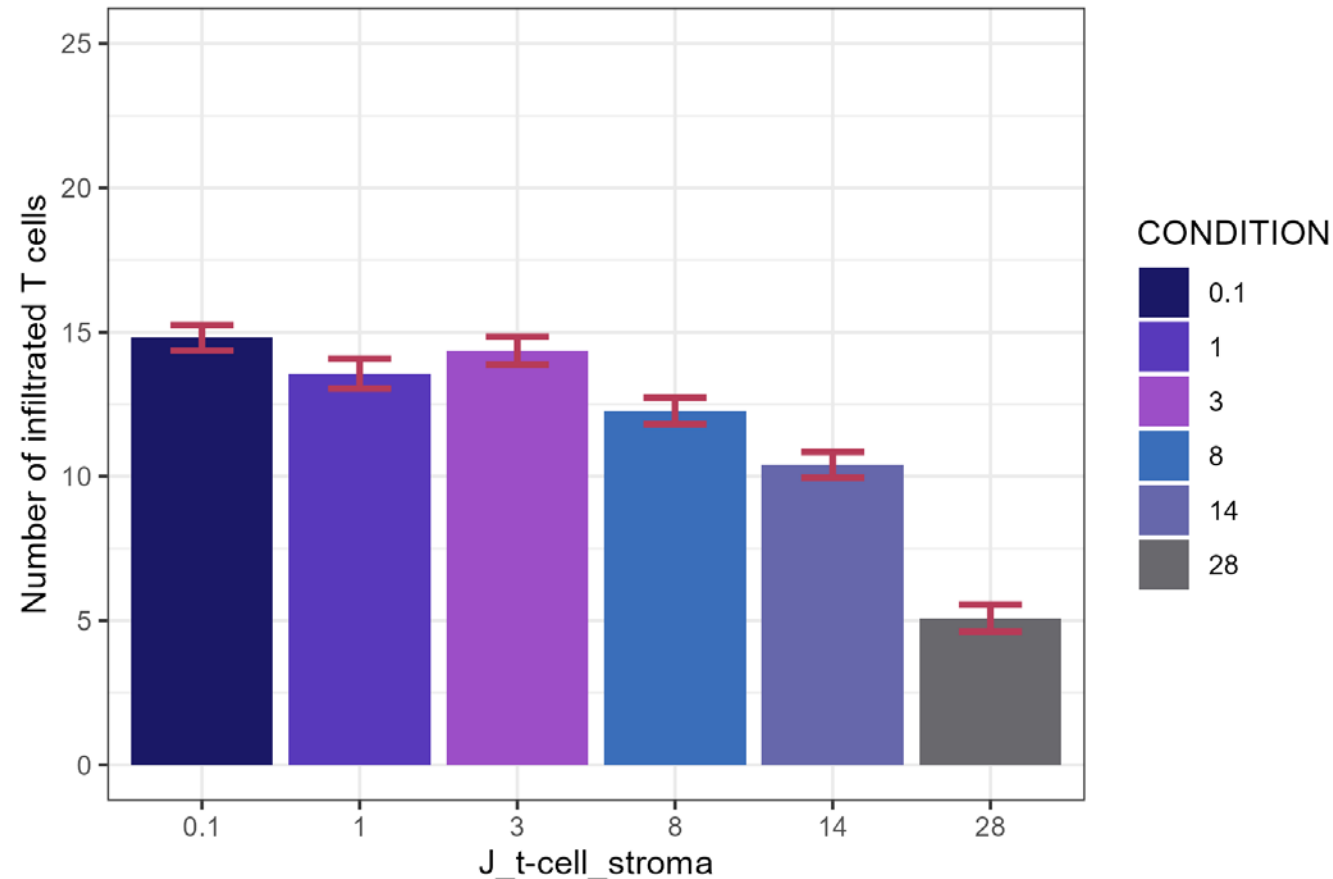
Характерные границы для варьирования параметров

- **Нижнее значение** энергии взаимодействия между Т-клетками и стромой $J = 0.1$. С такой энергией строма становится “невидимой” для Т-клеток.
- Первая **критическая температура** T_{c1} – температура, при которой происходит диссоциация клеток на отдельные сайты.
Теоретически: для $\delta E = J_{xx} = 8$, тогда $T_{c1} \cong n \cdot \delta E$, где $n = 8$ для квадратной решётки, $T_{c1} = 64$
Практически: $T_{c1} = 50$
- **Минимальное значение** $ecc_target_{str} = 1$
- **Максимальное значение** $ecc_target_{str} = 50$. При большем значении иммунные клетки по пути в опухоль разрывают стромальные клетки.



Зависимость инфильтрации от адгезии Т-клеток и стромы

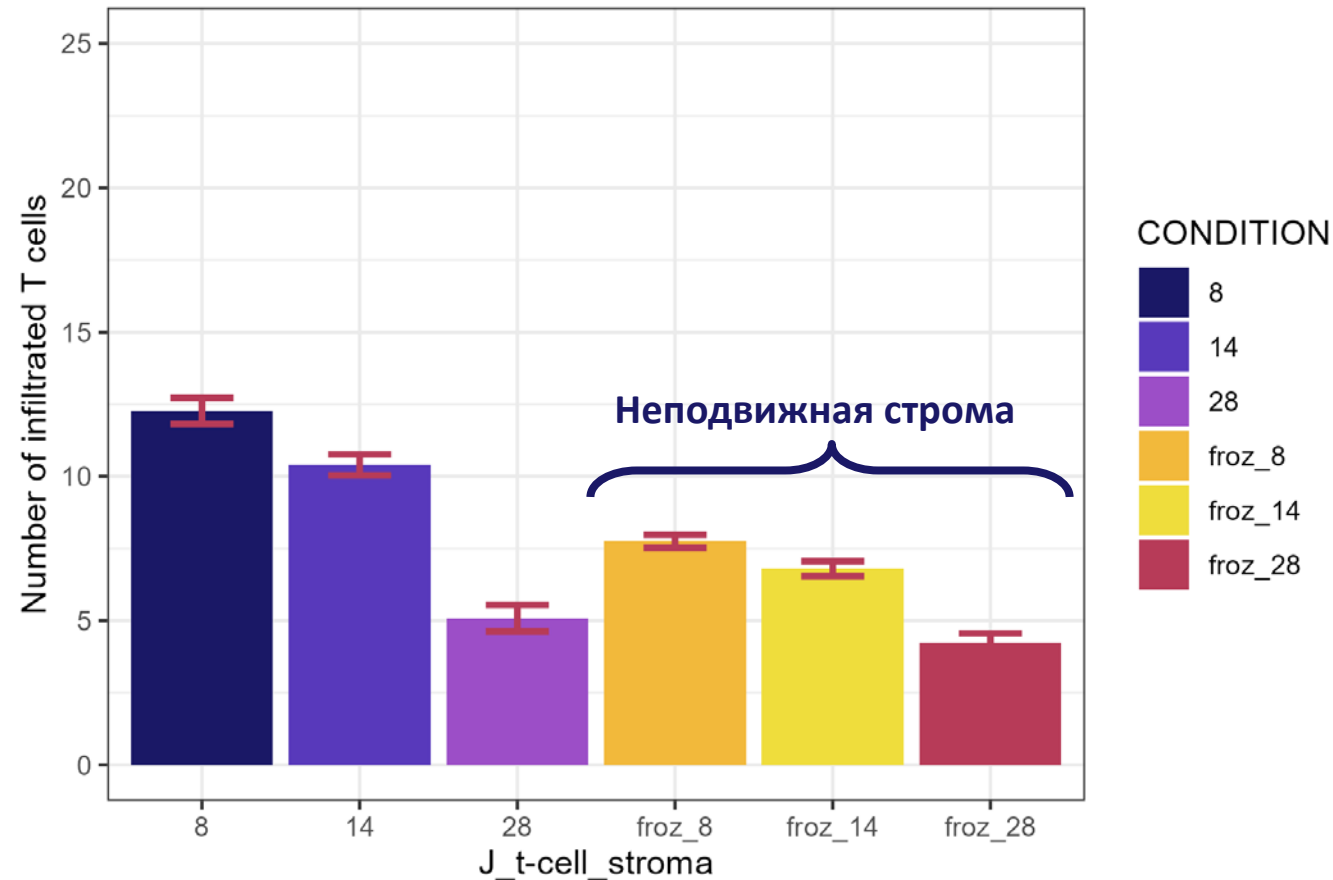
30 траекторий, $mean \pm se$, 40 000 MCS



- Более всего на инфильтрацию Т-клеток влияют физические качества стромы
- Инфильтрация падает с уменьшением адгезии Т-клеток и элементов стромы (эффект сковороды и капли воды)

Зависимость инфильтрации от адгезии Т-клеток и стромы: случай фиксированной стромы

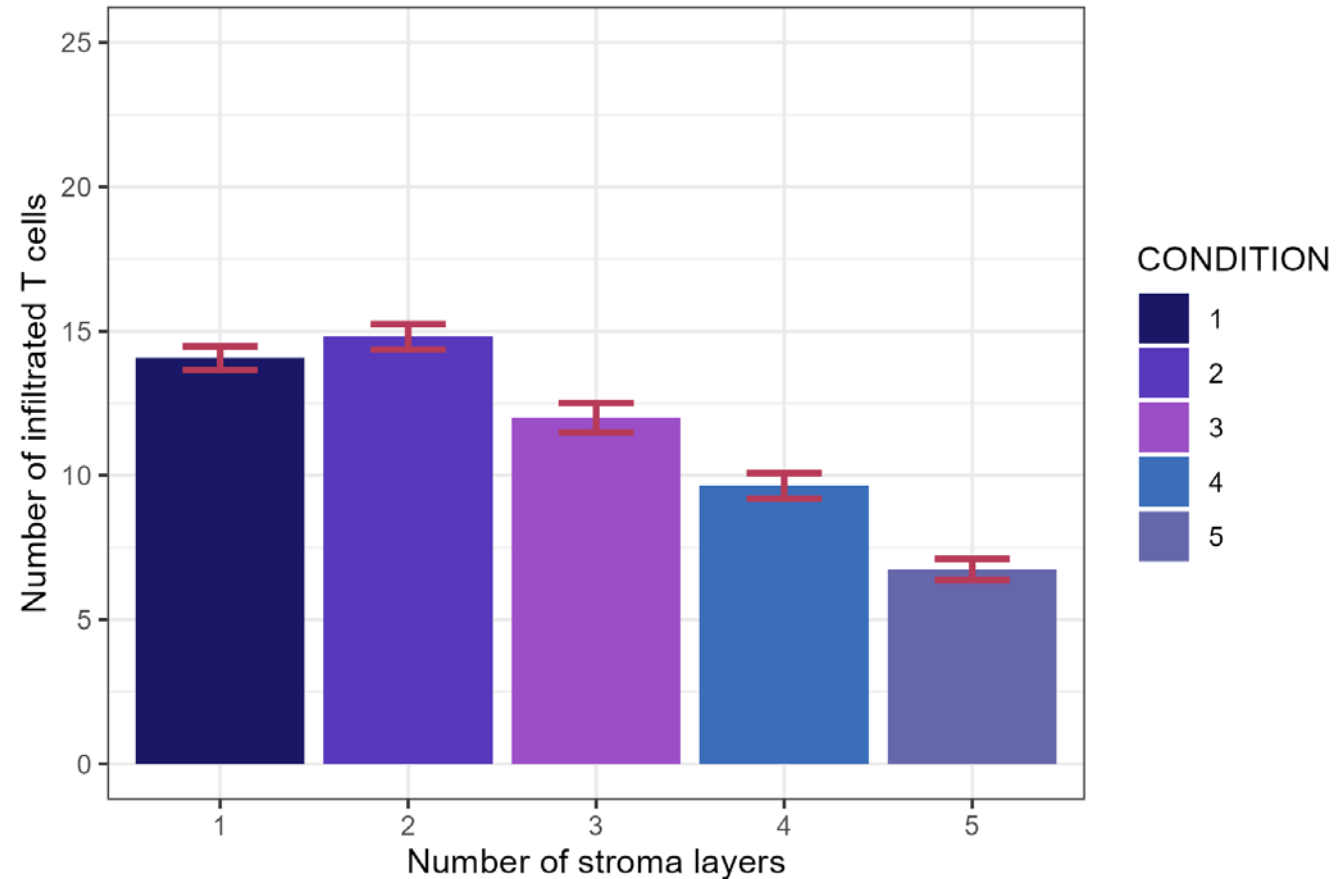
30 траекторий, $mean \pm se$, 40 000 MCS



- Инфильтрация падает с уменьшением адгезии Т-клеток и элементов стромы в том числе и для стромы в виде фиксируемых не обновляющихся элементов

Зависимость инфильтрации от числа слоёв стромы

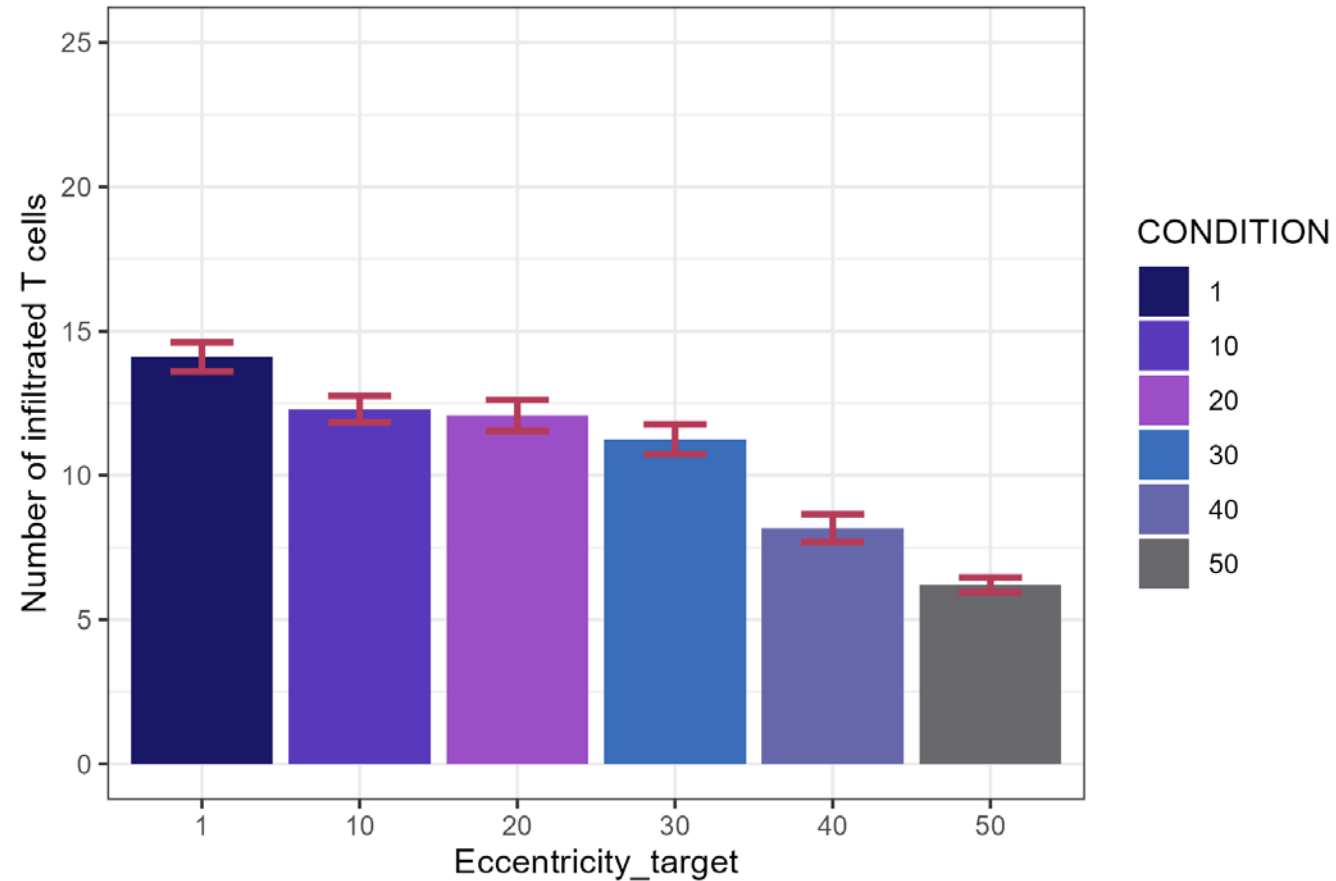
30 траекторий, $mean \pm se$, 40 000 MCS



➤ Инфильтрация падает с увеличением толщины стромы

Зависимость инфильтрации от характерной длины элементов стромы

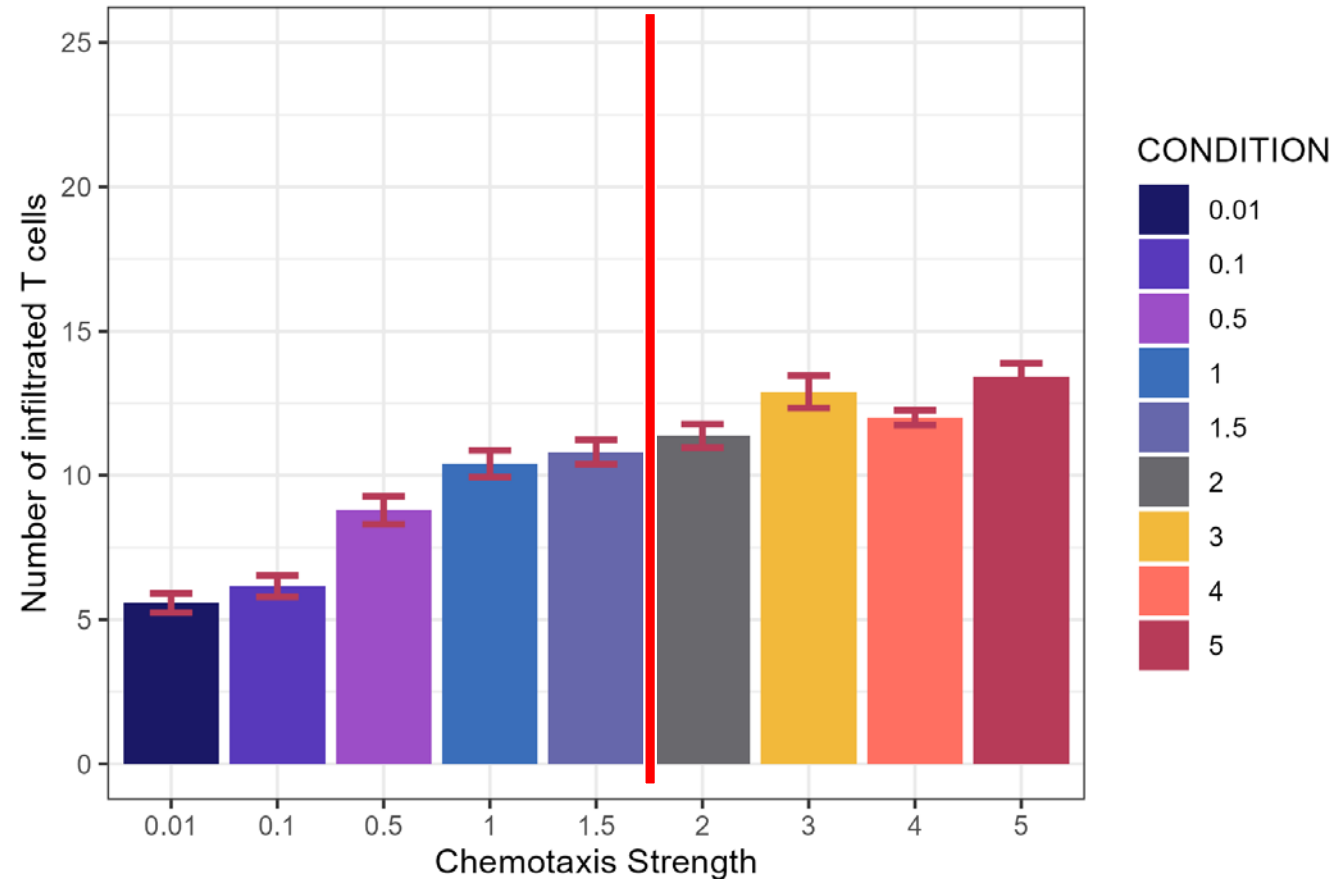
30 траекторий, $mean \pm se$, 40 000 MCS



- Инфильтрация зависит от геометрических свойств стромы: падает с удлинением элементов стромы (волокна коллагена и фибронектина)

Зависимость инфильтрации от силы хемотаксиса

30 траекторий, $mean \pm se$, 40 000 MCS

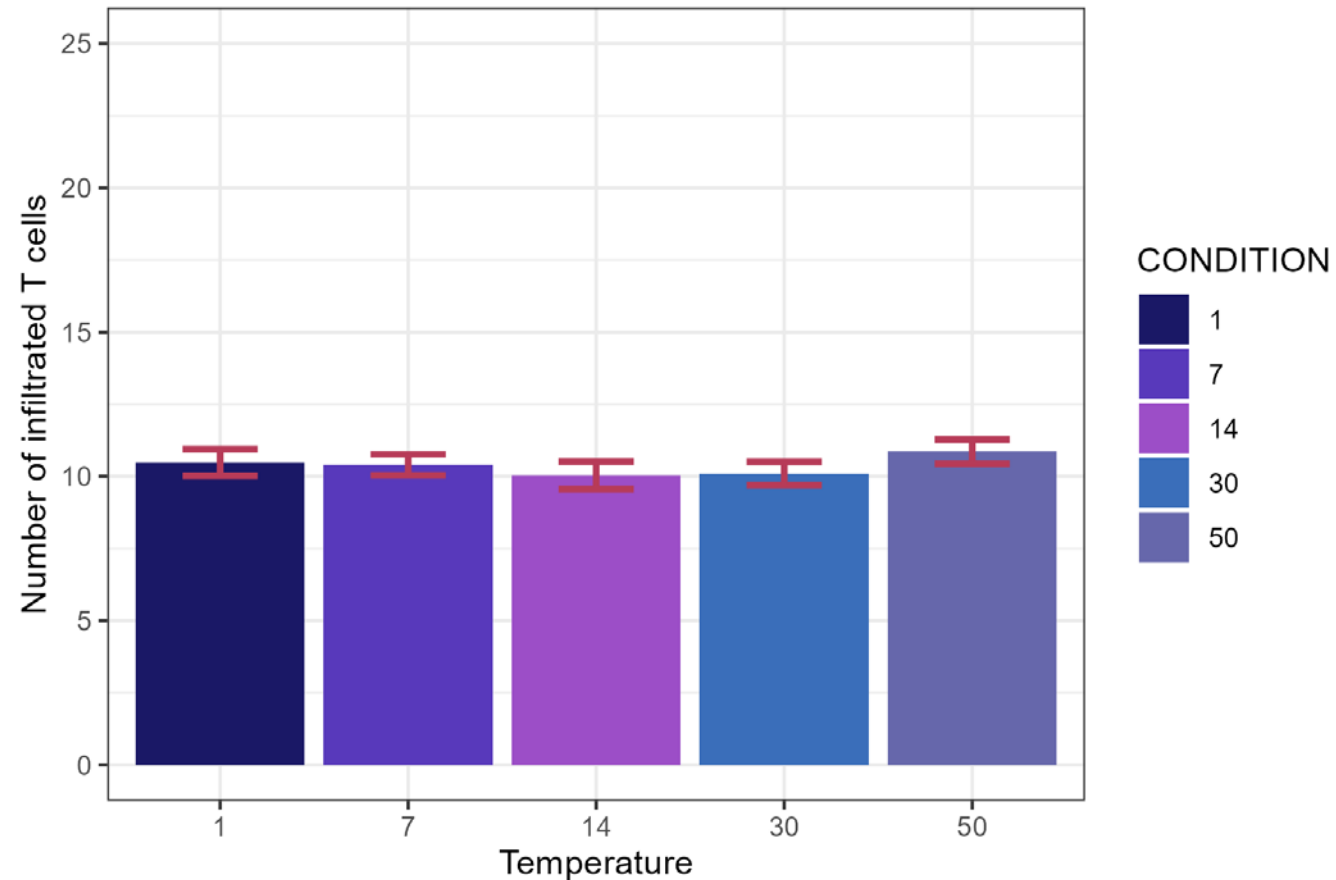


При силе хемотаксиса ≥ 2 начинается “вырывание” Т-клетками стромальных клеток

➤ Тривиальный результат: число клеток проникающих в опухоль растёт с усилением хемотаксиса

Зависимость инфильтрации от температуры

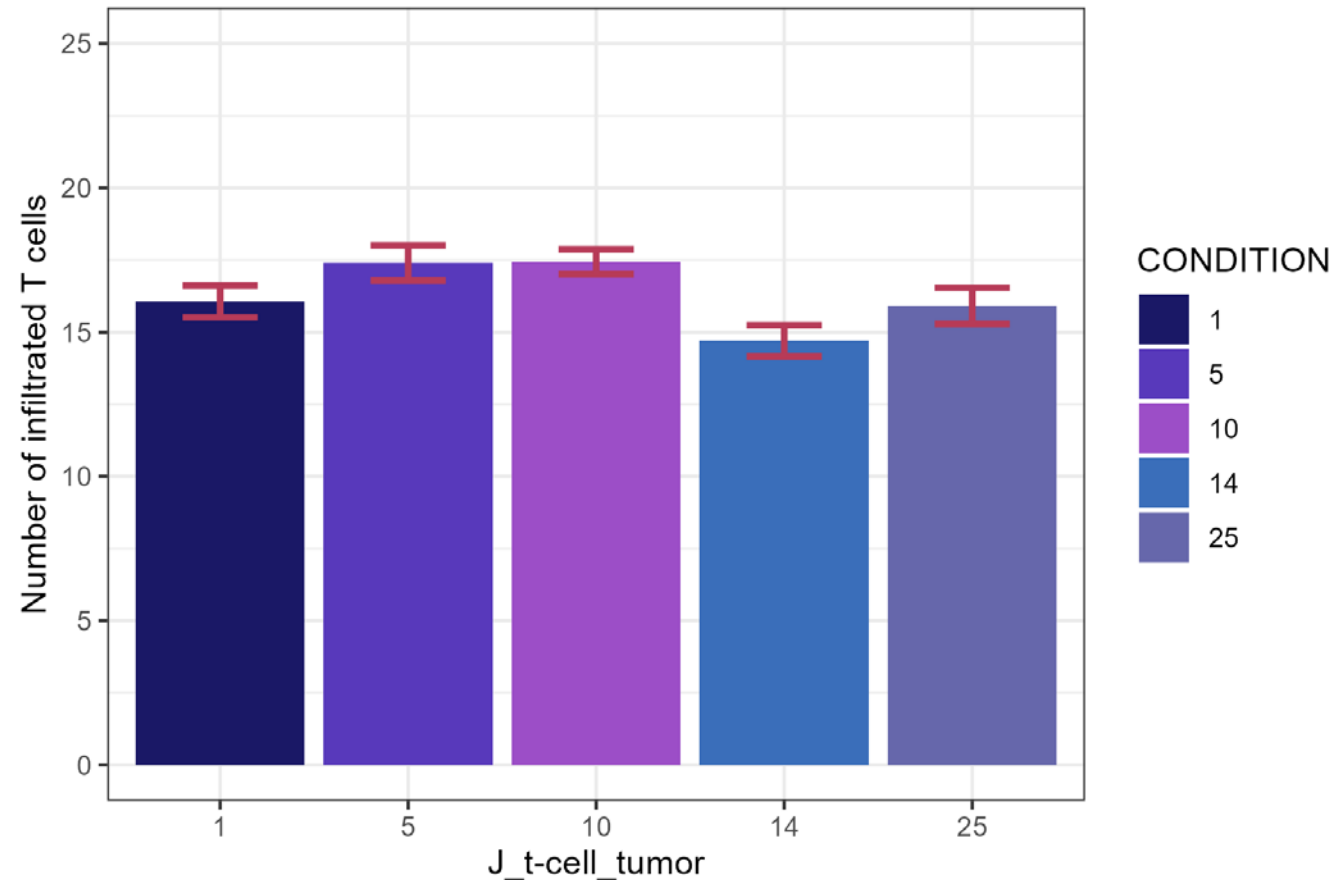
30 траекторий, $mean \pm se$, 40 000 MCS



- Иммунная инфильтрация не зависит от температуры: увеличение активности протрузивного движения нивелируется увеличением энергии стохастических осцилляций мембраны клеток

Зависимость инфильтрации от презентации антигенов

30 траекторий, $mean \pm se$, 40 000 MCS

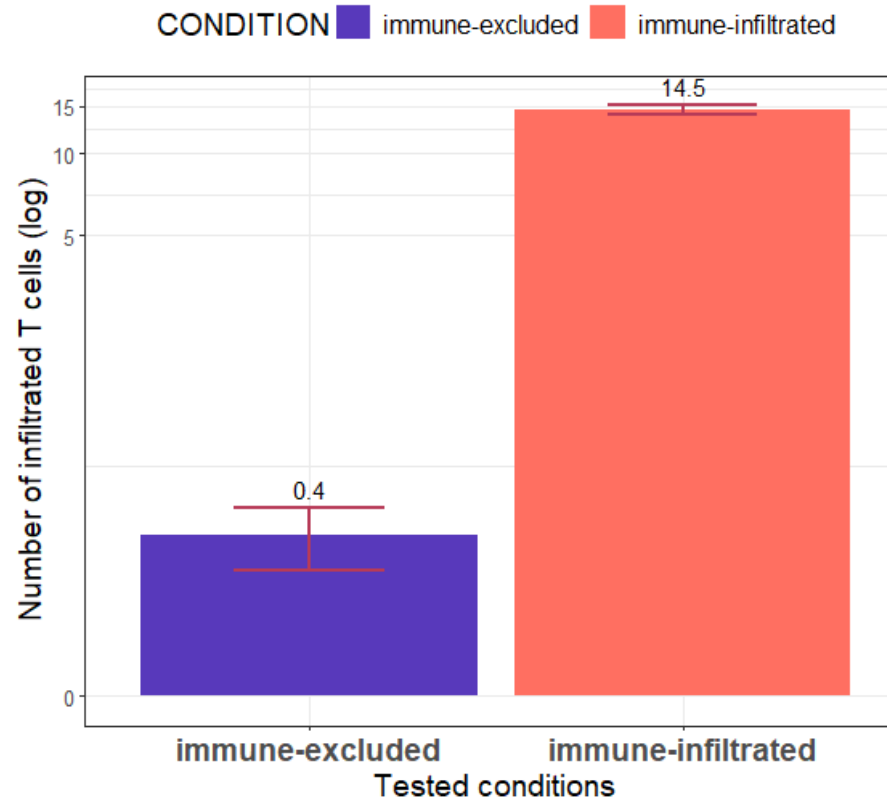


- В рамках текущей модели иммунная инфильтрация не зависит от презентации антигенов на поверхности опухоли

Сравнение иммуно-исключённого и воспалённого опухолевых фенотипов

30 траекторий, $mean \pm se$, 40 000 MCS

$$\begin{aligned}J_{T-cell_stroma} &= 28 \\ecc_target_{str} &= 50 \\layers_{stroma} &= 4 \\cs_{T-cell} &= 1\end{aligned}$$

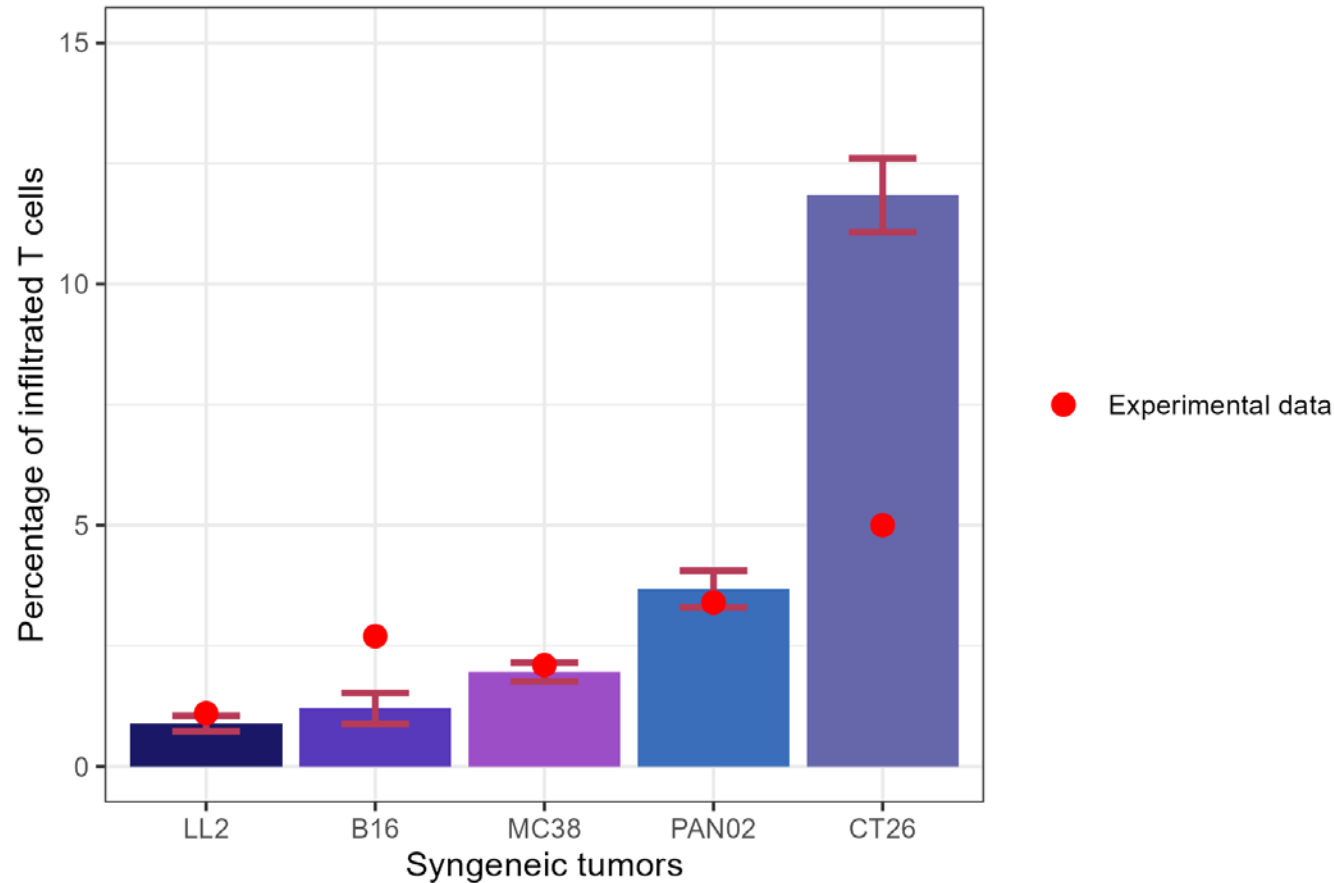


$$\begin{aligned}J_{T-cell_stroma} &= 0.1 \\ecc_target_{str} &= 1 \\layers_{stroma} &= 2 \\cs_{T-cell} &= 1.4\end{aligned}$$

- С учётом эффекта всех параметров модель способна описывать разницу в инфильтрации между иммуно-исключённым и воспалённым фенотипами в полтора порядка

Внешняя валидация: описание доклинических данных

10 траекторий, $mean \pm se$, 40 000 MCS



- На основе цитометрии различных типов мышинных опухолей были созданы модели и было проведено сравнение инфильтрации Т-клеток каждого типа опухолей с экспериментальными данными

Выводы

Выводы



Практическое применение

Воздействие на факторы

Толщина стромы


Front Oncol. 2020 Oct 15;10:576399. doi: [10.3389/fonc.2020.576399](https://doi.org/10.3389/fonc.2020.576399)
Stroma-Targeting Therapy in Pancreatic Cancer: One Coin With Two Sides?
[Bolun Jiang](#)¹, [Li Zhou](#)¹, [Jun Lu](#)¹, [Yizhi Wang](#)¹, [Chengxi Liu](#)¹, [Lei You](#)¹, [Junchao Guo](#)^{1,*}
▶ Author information ▶ Article notes ▶ Copyright and License information
PMCID: PMC7593693 PMID: [33178608](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33178608/)

Увеличение инфильтрации

Увеличение эффекта иммунотерапии

Thank you for your attention!

Contacts:

Elizabeth.mukova@yandex.ru, phone: +7 967 112 2575

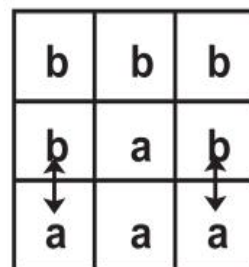


Ограничение связности иммунных клеток

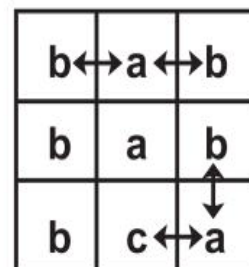
Чтобы проверить, изменит ли копирование индекса на сайт $\vec{x}$ локальную связность, подсчитывается, сколько соседей сайта $\vec{x}$ имеют тот же индекс.

Если значение

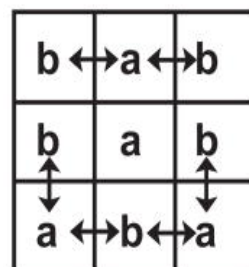
$\sum_i \delta_{\sigma(\vec{x}), \sigma(\vec{x}_i)} (1 - \delta_{\sigma(\vec{x}), \sigma(\vec{x}_i)}) > 2$, то изменение сайта приведет к нарушению локальной связности.



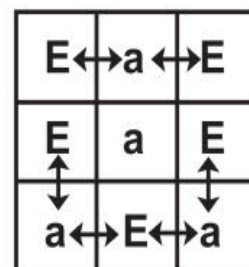
a) accept



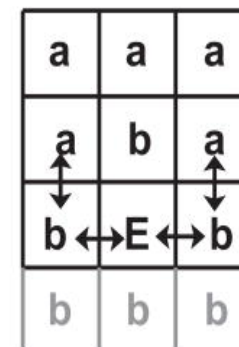
b) reject



c) accept



d) reject



e) false reject

Удлинение клеток

Текущий эксцентриситет клеток определяется в Morpheus с помощью тензора инерции I .

$$ecc(\sigma) = (1 - \frac{\mu(\sigma)}{v(\sigma)})^{1/2}$$

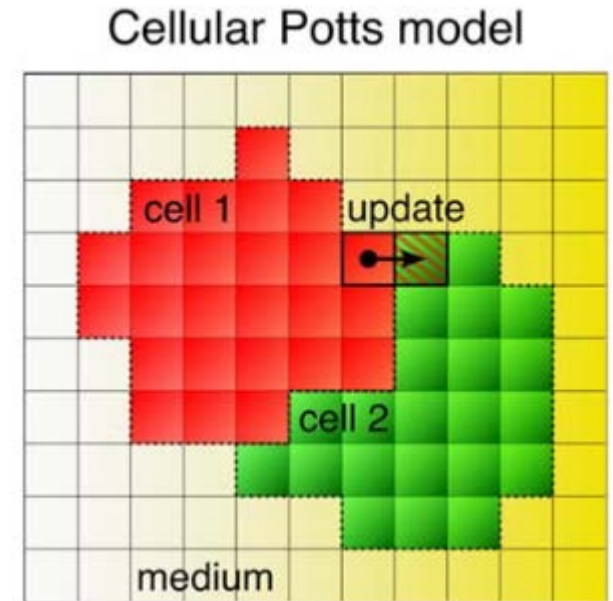
где $\mu(\sigma) \geq v(\sigma)$ – два собственных значения тензора инерции I .

$$I = \begin{bmatrix} \sum_i x_i^2 - \frac{1}{a} (\sum_i x_i)^2 & -\sum_i x_i y_i - \frac{1}{a} \sum_i x_i y_i \\ -\sum_i x_i y_i - \frac{1}{a} \sum_i x_i y_i & \sum_i y_i^2 - \frac{1}{a} (\sum_i y_i)^2 \end{bmatrix}$$

Суммирование в изменённом гамильтониане идёт по отдельным клеткам, то есть по совокупностям сайтов со спином σ .

Модель Поттса

- Шаг дискретизации пространства в модели - ячейки, из которой состоят все клетки – неподвижный “сайт”.
- Каждому сайту присваивается единственная величина “спин” $\sigma(i,j)$.
- Биологические клетки состоят из сайтов с одинаковым спином σ : обычно порядка 40 сайтов на одну клетку.
- Дальнейшее поведение системы описывается с помощью поттсовского гамильтониана – эффективной функции полной энергии.



Гамильтониан модели Поттса

$$\mathcal{H}_\tau = \sum_{(i,j)(i',j')} J[\tau(\sigma), \tau(\sigma')] \cdot (1 - \delta_{\sigma(i,j)\sigma(i',j')})$$

- Суммирование ведётся по соседним сайтам
- Клетка состоит из всех сайтов с одинаковым спином $\Rightarrow$ энергия взаимодействия сайтов внутри клетки равна 0.
- Вводятся не только разные клетки, но и разные **типы** клеток τ, τ' (2, 3 разных типа на модель)
- $J(\tau, \tau')$ – величина энергии взаимодействия сайтов, которые относятся к типам клеток τ и τ' .
- τ и τ' могут быть одинаковыми.

Гамильтониан модели Поттса

$$\mathcal{H}_{Modified} = \mathcal{H}_{\tau} + \lambda_A \cdot \sum_{\sigma} [a(\sigma) - A_{\tau(\sigma)}]^2 + \lambda_L \cdot \sum_{\sigma} [ecc(\sigma) - Ecc_{\tau(\sigma)}]^2 + \lambda_P \cdot \sum_{\sigma} [p(\sigma) - P_{\tau(\sigma)}]^2$$

- Суммирование идёт по отдельным клеткам (то есть по совокупностям сайтов со спином σ)
- λ – Лагранжев множитель, отвечающий за силу эффекта на ограничение
- $a(\sigma)$ – текущая площадь клетки σ
- $A_{\tau(\sigma)}$ – целевая площадь клетки σ
- $ecc(\sigma)$ – текущий эксцентриситет клетки σ
- $Ecc_{\tau(\sigma)}$ – целевой эксцентриситет клетки σ
- $p(\sigma)$ – текущий периметр клетки σ
- $P_{\tau(\sigma)}$ – целевой периметр клетки σ
- Расчетная область 200×200
- Граничные условия: x – период. , y – пост.

Эволюция системы во времени

На каждом временном шаге происходит:

- 1) Выбор случайного сайта-кандидата (i, j) со спином σ
- 2) Выбор случайного нового значения спина σ' из Q возможных значений (среди значений соседей)
- 3) Расчёт энергии системы $\mathcal{H}$ в новой конфигурации
- 4) Смена спина $\sigma(i, j)$ на σ' :
 - а) если новая энергия ниже, всегда принимается копия;
 - б) если новая энергия выше, принимается копия с вероятностью
 - Вероятность перехода при $T > 0$:

$$p(\sigma \rightarrow \sigma') = \begin{cases} e^{-\frac{\Delta\mathcal{H}}{T}}, & \text{если } \Delta\mathcal{H} > 0 \\ 1, & \text{если } \Delta\mathcal{H} \leq 0 \end{cases}$$

- Вероятность перехода при $T = 0$:

$$p(\sigma \rightarrow \sigma') = \begin{cases} 0, & \text{если } \Delta\mathcal{H} > 0 \\ 0.5, & \text{если } \Delta\mathcal{H} = 0 \\ 1, & \text{если } \Delta\mathcal{H} < 0 \end{cases}$$

$$\Delta\mathcal{H} = \mathcal{H}_{after} - \mathcal{H}_{before}$$

Направление:

Принцип наименьшей энергии

Температура Больцмана T определяет вероятность энергетически невыгодных флуктуаций

Актиновая модель миграции клеток, зависящей от формы.

$$\Delta \mathcal{H}_{Act}(u \rightarrow v) = \frac{\lambda_{Act}}{Max_{Act}} (GM_{Act}(u) - GM_{Act}(v))$$

$$GM_{Act}(u) = \sqrt[5]{15 * 17 * 15 * 18 * 20}$$

$$GM_{Act}(v) = \sqrt[4]{17 * 16 * 19 * 11}$$

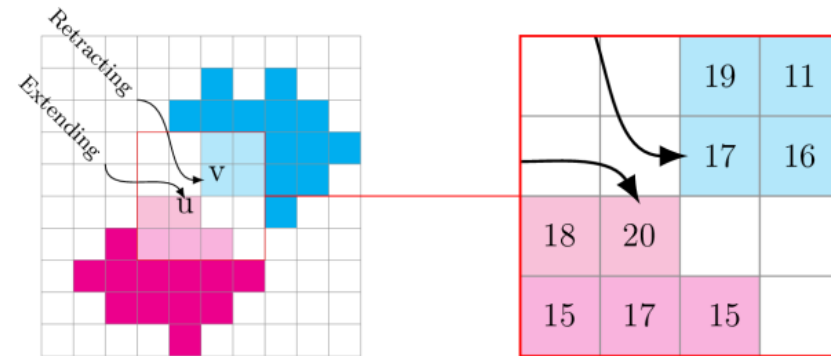
$$GM_{Act}(u) = (\prod_{y \in V(u)} Act(y))^{1/|V(y)|}$$

- $GM_{Act}(u)$ - среднее геометрическое значений активности в окрестности объекта u
- $Max_{Act}(u, v)$ - максимальное значение активности
- λ_{Act} — Лагранжев множитель, отвечающий за силу эффекта

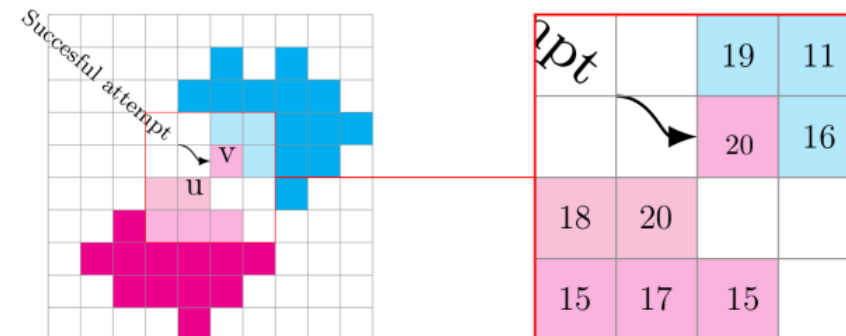
Значение активности сайта уменьшается на единицу после каждого MCS, пока не достигнет нуля

В актиновой модели мы поощряем копирование с сайтов с относительно высокими значениями активности на сайты с более низкими значениями.

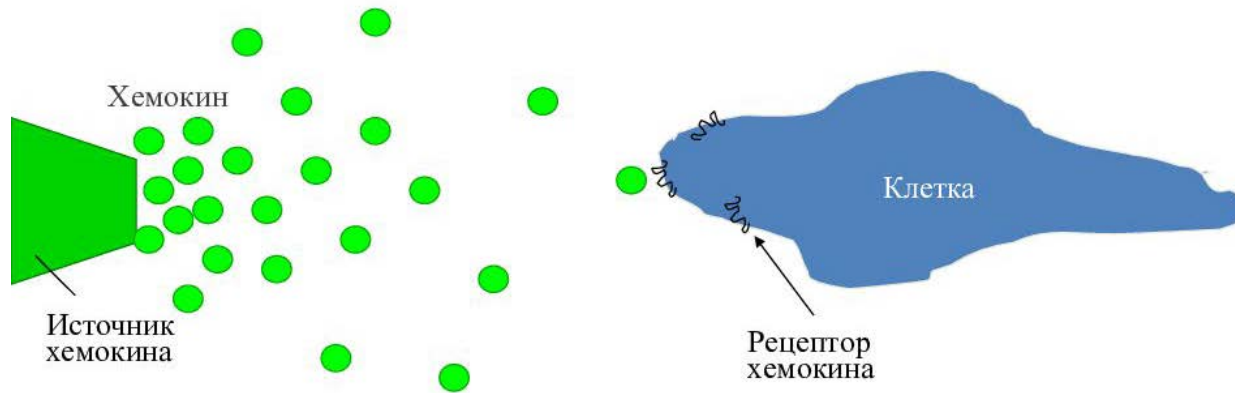
A



B



Хемотаксис



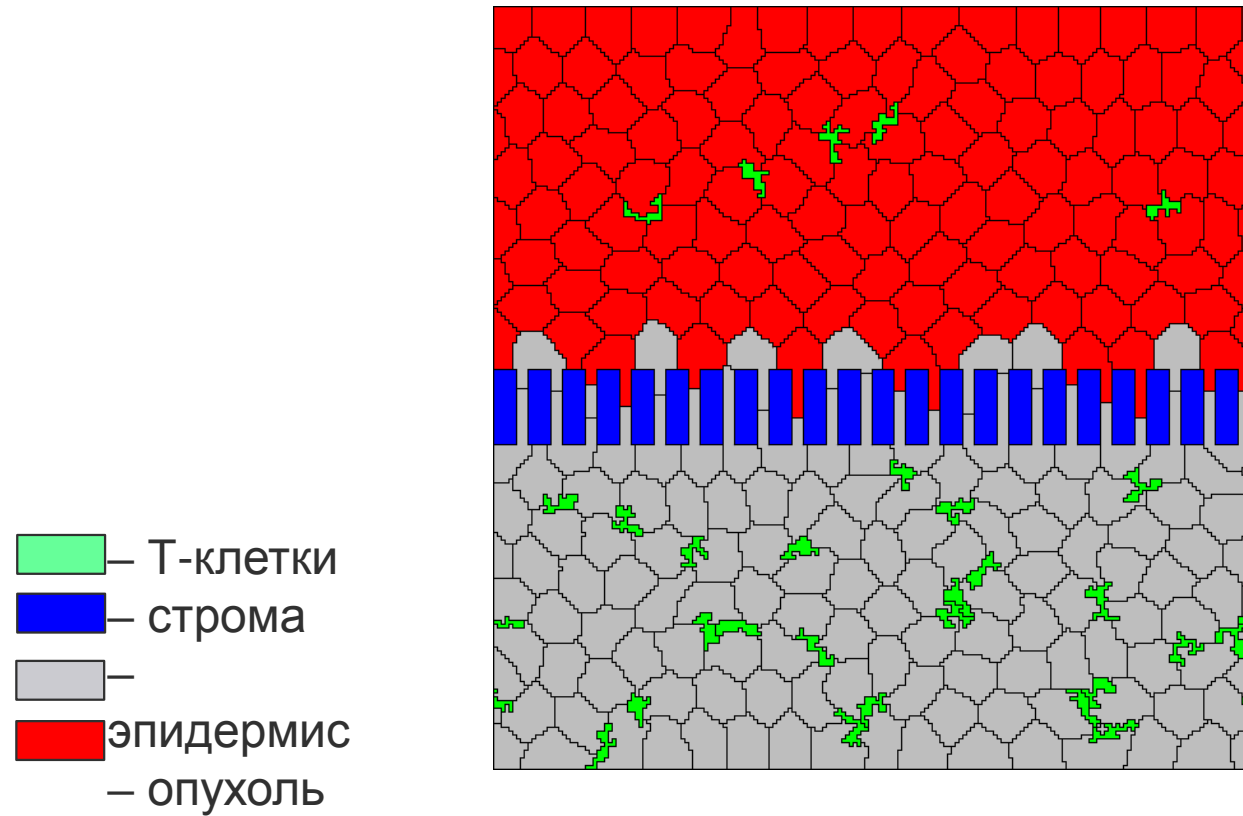
Клетка с большей вероятностью переместится в область с более высокой концентрацией хемокинов и с меньшей вероятностью переместится в область с более низкой концентрацией хемокинов.

$$\Delta \mathcal{H}' = \Delta \mathcal{H} - \mu \cdot (U_{x(i',j')} - U_{x(i,j)})$$

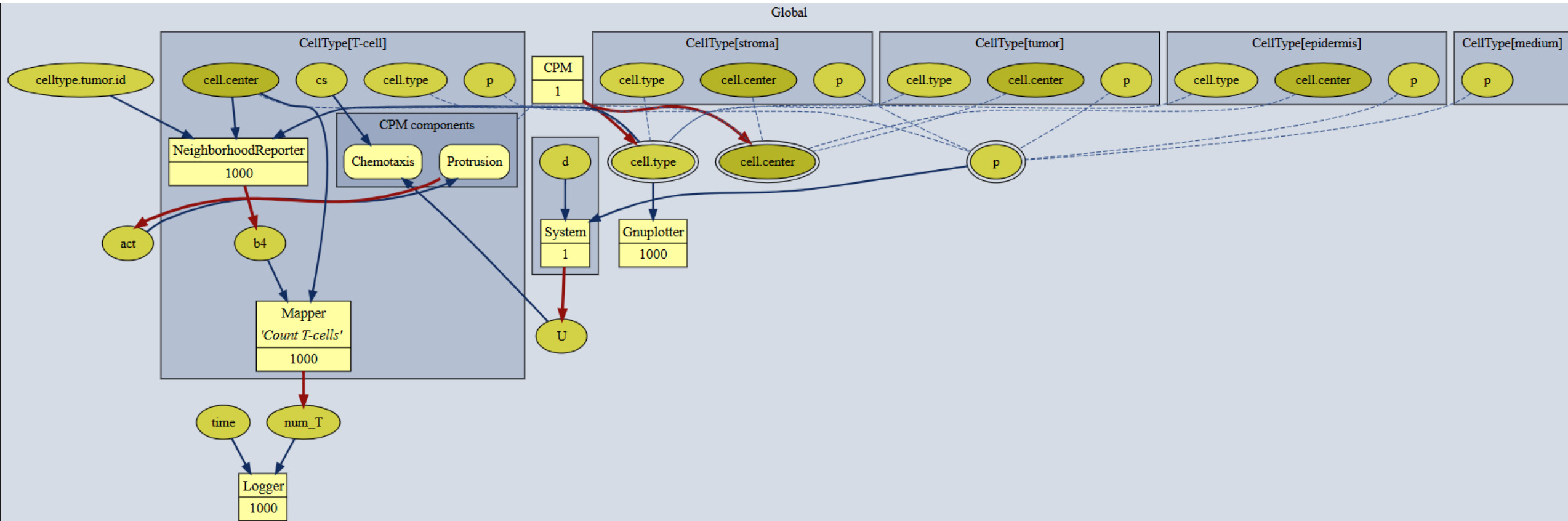
$$\frac{dU}{dt} = p - d \cdot U$$

- p – продукция хемокинов
- d – разрушение хемокинов
- U – концентрация поля хемокинов в $x(i,j)$
- μ – сила хемотаксиса

Замороженная строма



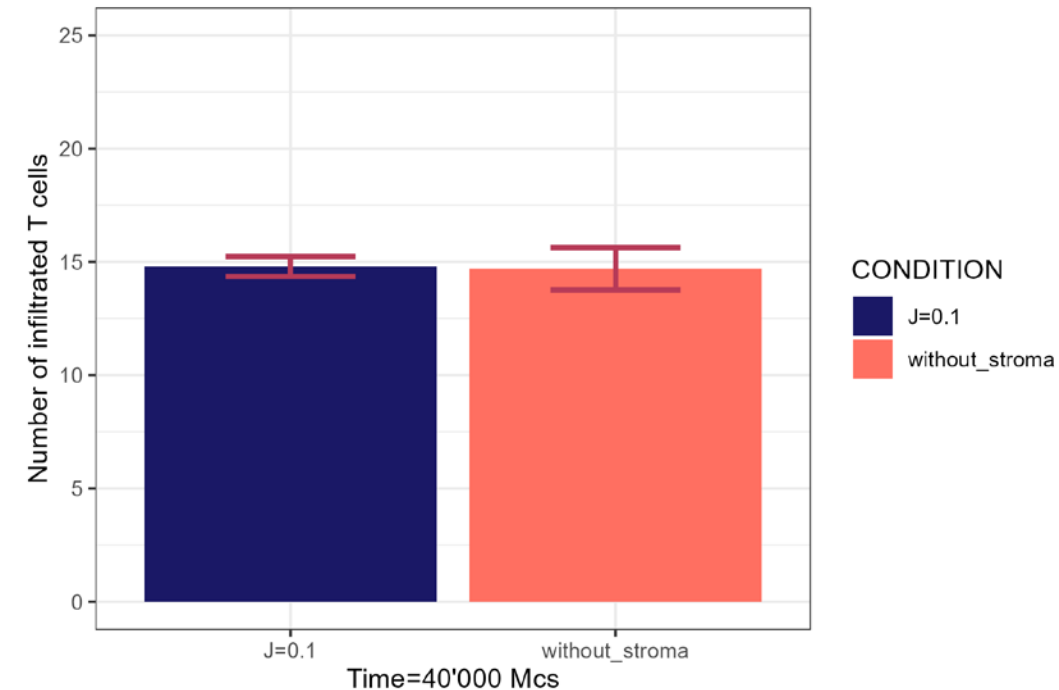
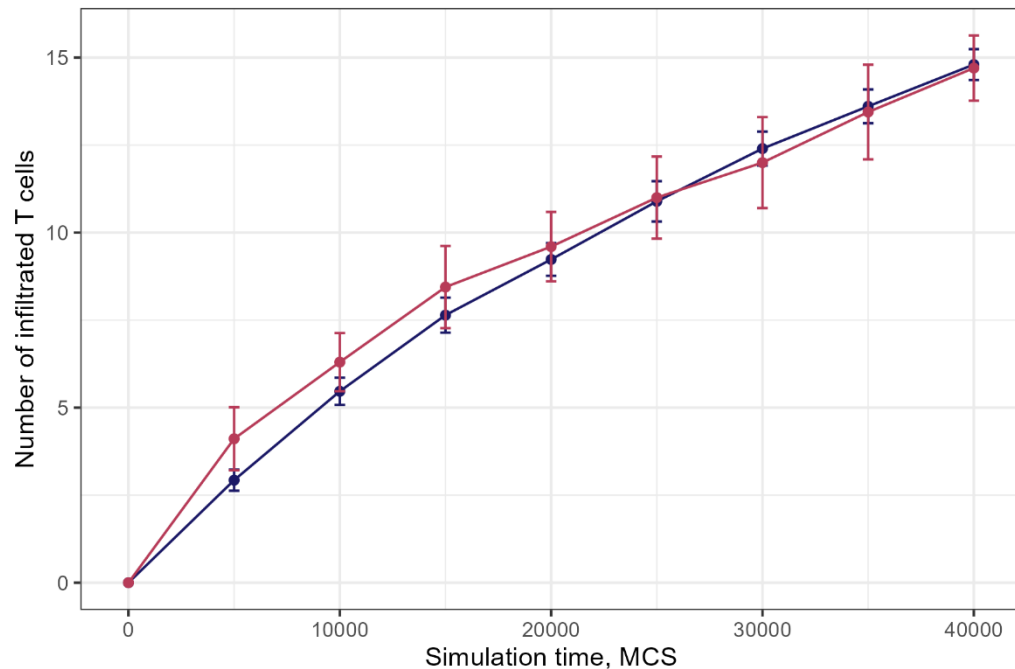
Model-graph



Характерные границы для варьирования параметров

Нижнее значение энергии взаимодействия между Т-клетками и стромой $J=0.1$.

С такой энергией строма становится “невидимой” для Т-клеток.



Характерные границы для варьирования параметров

Интерпретация температуры в контексте движения биологических клеток заключается в том, что она определяет скорость, с которой различные (внутренние) процессы в клетке изменяют границы. Эту скорость можно трактовать, как временную шкалу для колебаний мембраны.

Первая **критическая температура** T_{c1} - температура, при которой происходит диссоциация клеток на отдельные сайты. Означает долгое время жизни спина, целиком окружённого несовпадающими спинами (*того же типа*):

Пусть $\delta E = J_{xx} = 8$, тогда $T_{c1} \cong n \cdot \delta E$, где $n = 8$ для квадратной решётки. $T_{c1} = 64$

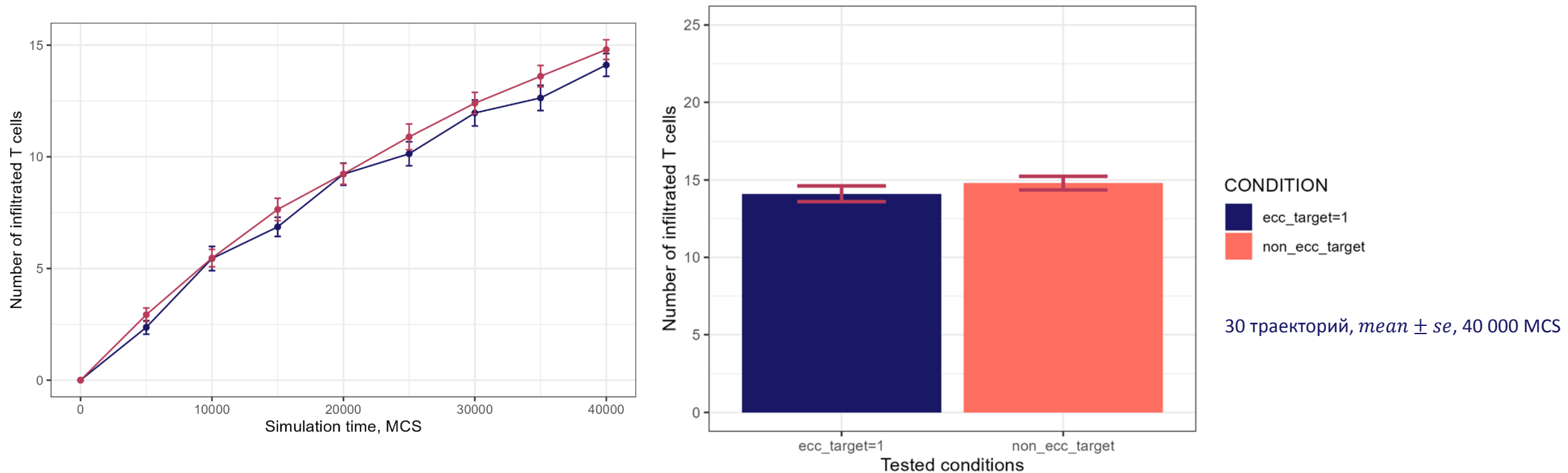
На практике оказалось, что $T_{c1}=50$.



Характерные границы для варьирования параметров

Eccentricity_target определяется на основе приближения формы клетки к эллипсоиду с использованием тензора инерции.

Минимальное значение $ecc_target_{str} = 1$. При таком значении параметра форма стромальных клеток и количество инфильтрировавших иммунных клеток в опухоль остается прежней.



Максимальное значение $ecc_target_{str} = 50$. При большем значении иммунные клетки по пути в опухоль разрывают стромальные клетки.

Тип опухоли	Строма	Инфильтрация, CD8+, Mosely
LL2	15,4%	1.10%
B16	13,8%	2.70%
MC38	9,2%	2.10%
PAN02	7,7%	3,4%
CT26	1,5%	5%