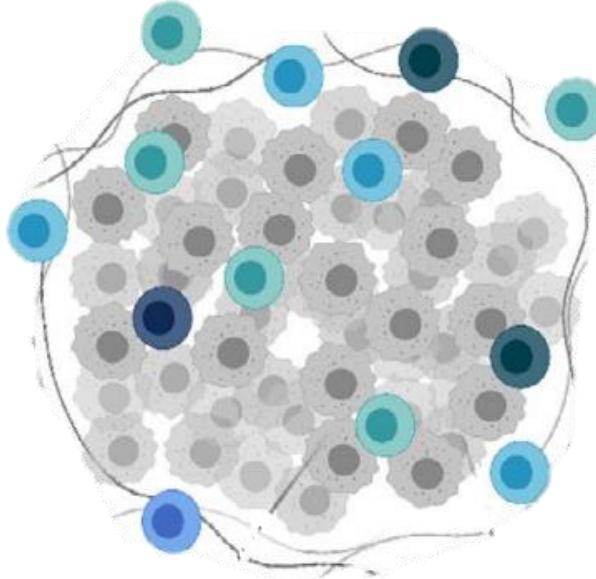


# Моделирование иммунной инфильтрации иммуно-исключённого фенотипа опухолей в рамках клеточных моделей Поттса

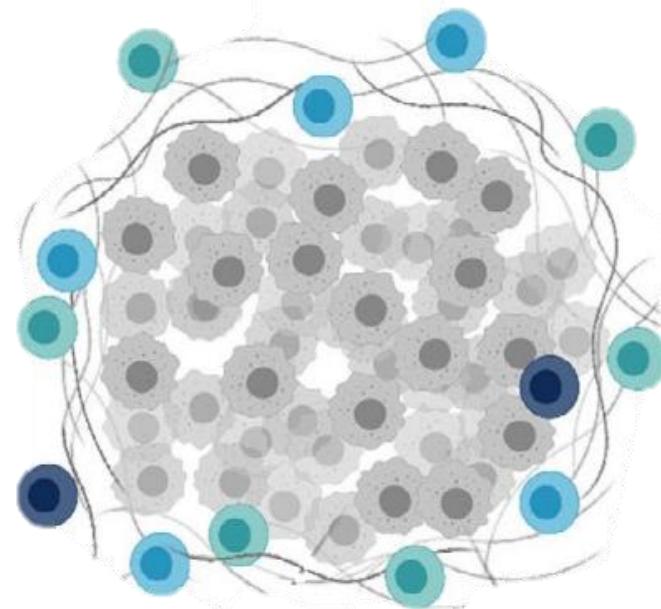
Мукова Елизавета, Азаров Иван

# Классификация иммунных фенотипов опухолей

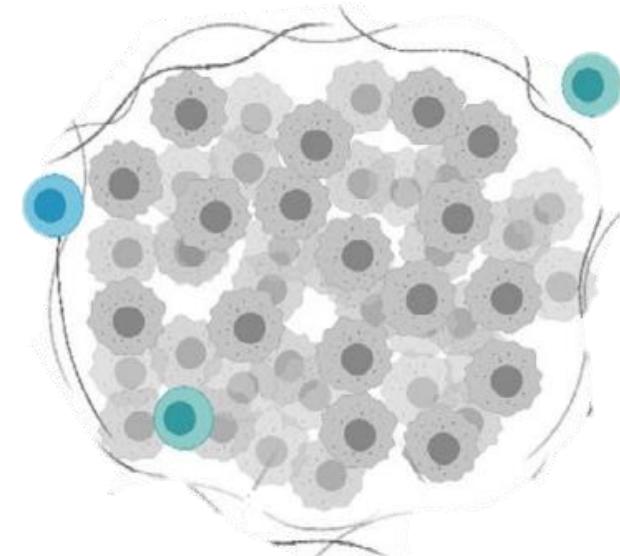
Воспалённый /  
инфилtrированный



Исключённый



Пустынный

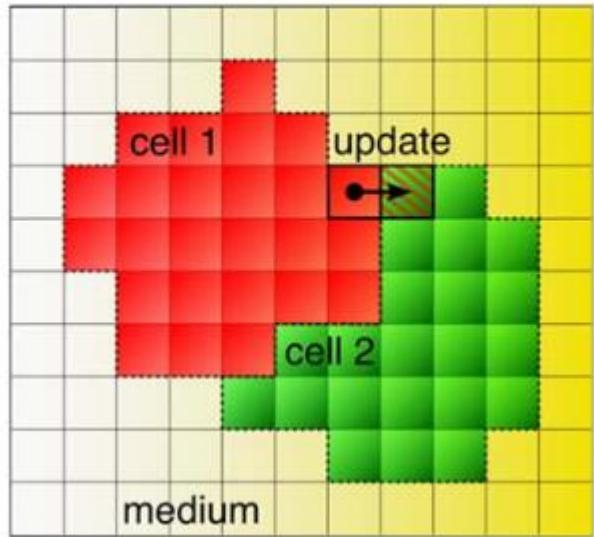


Цель: выяснить, что препятствует инфильтрации иммунных клеток в опухоль

# Методы и алгоритмы

# CRM – 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:

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

4. Движение по градиенту:

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

# Эволюция системы во времени

На каждом временном шаге происходит:

- 1) Выбор случайного сайта-кандидата  $(i, j)$  со спином  $\sigma$
- 2) Выбор случайного нового значения спина  $\sigma'$  из  $Q$  возможных значений
- 2b) Выбор случайного нового значения спина  $\sigma'$  причём  $\sigma'$  выбирается среди значений соседей
- 3) Расчёт энергии системы  $\mathcal{H}$  в новой конфигурации
- 4) Смена спина  $\sigma(i, j)$  на  $\sigma'$ :

- Вероятность перехода при  $T > 0$ :

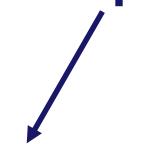
$$p(\sigma \rightarrow \sigma') = \begin{cases} e^{-\frac{\Delta \mathcal{H}}{kT}}, & \text{если } \Delta \mathcal{H} > 0 \\ 1, & \text{если } \Delta \mathcal{H} \leq 0 \end{cases}$$

- 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



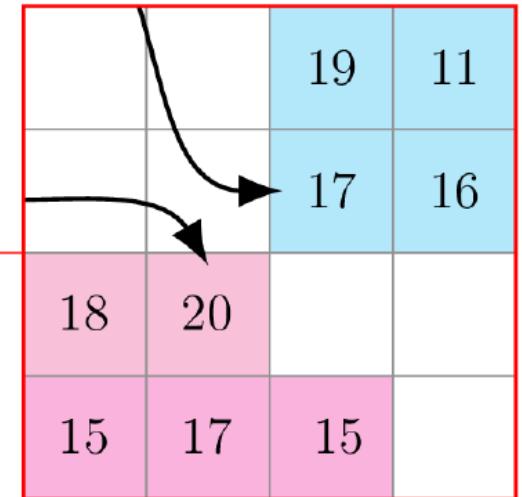
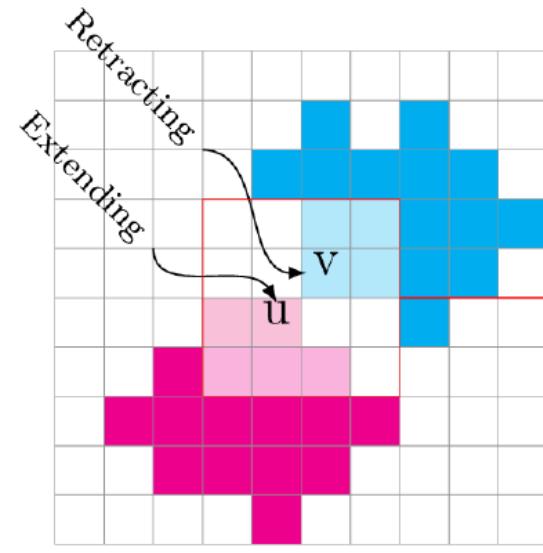
$$\Delta \mathcal{H} = \mathcal{H}_{\text{after}} - \mathcal{H}_{\text{before}}$$

Направление:

Принцип наименьшей энергии

# Модель активного протрузивного движения клеток

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



$$\Delta \mathcal{H}_{\text{act}} = \frac{\lambda_{\text{Act}}}{\text{Max}_{\text{Act}}} (G M_{\text{Act}}(u) - G M_{\text{Act}}(v))$$

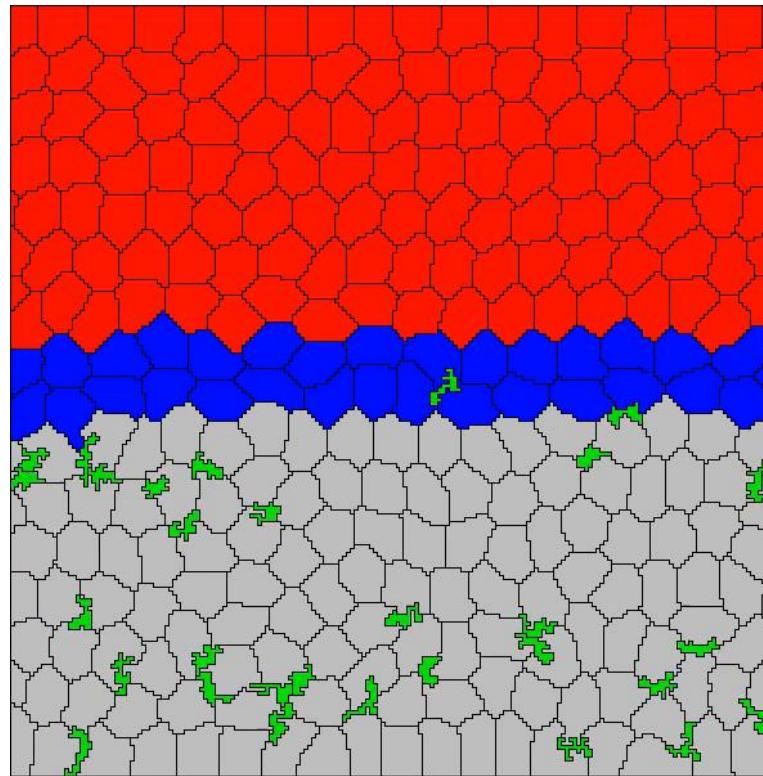
$$G M_{\text{Act}}(u) = \prod_{y \in V(u)} (Act(y))^{1/V(y)}$$

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

# Результаты

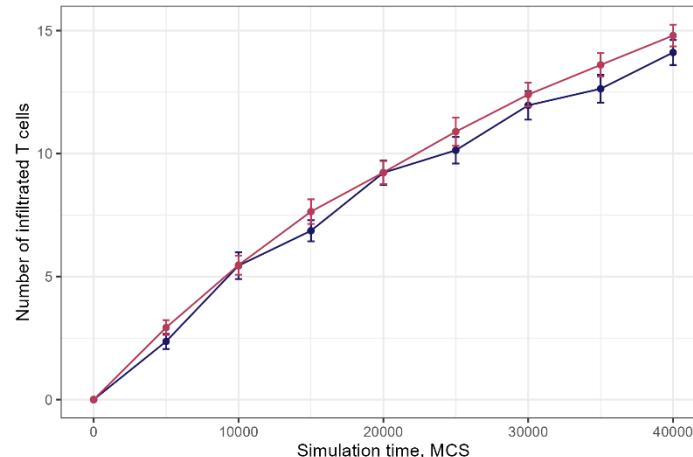
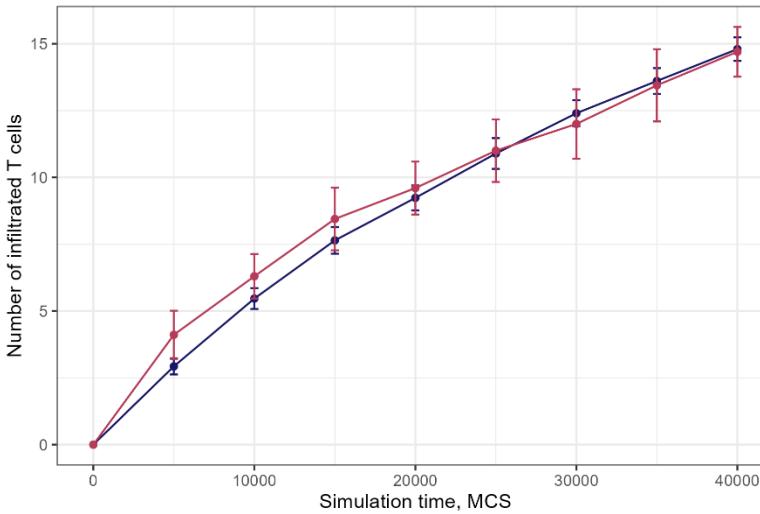
# Демонстрация работы модели

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



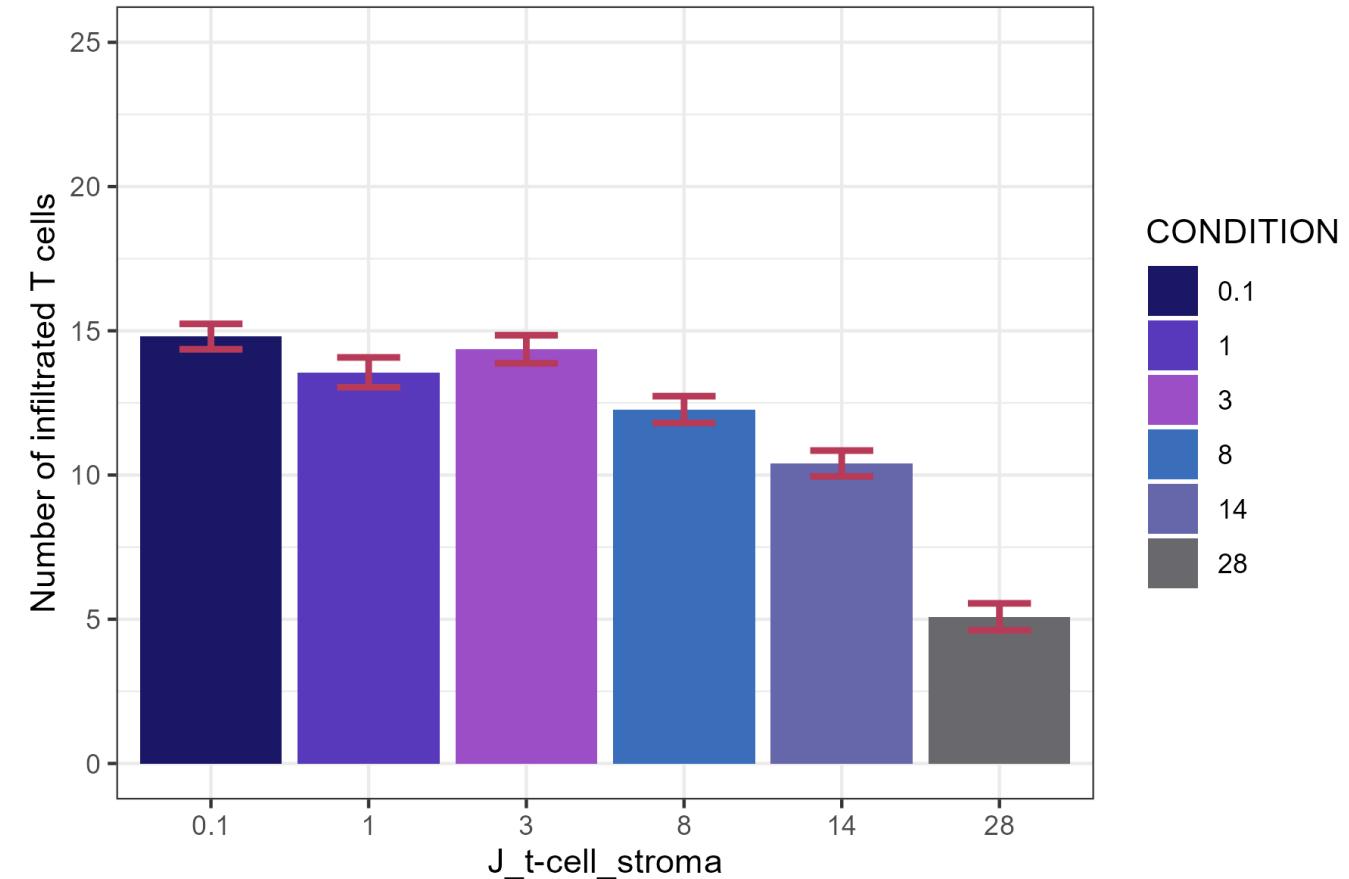
# Характерные границы для варьирования параметров

- 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

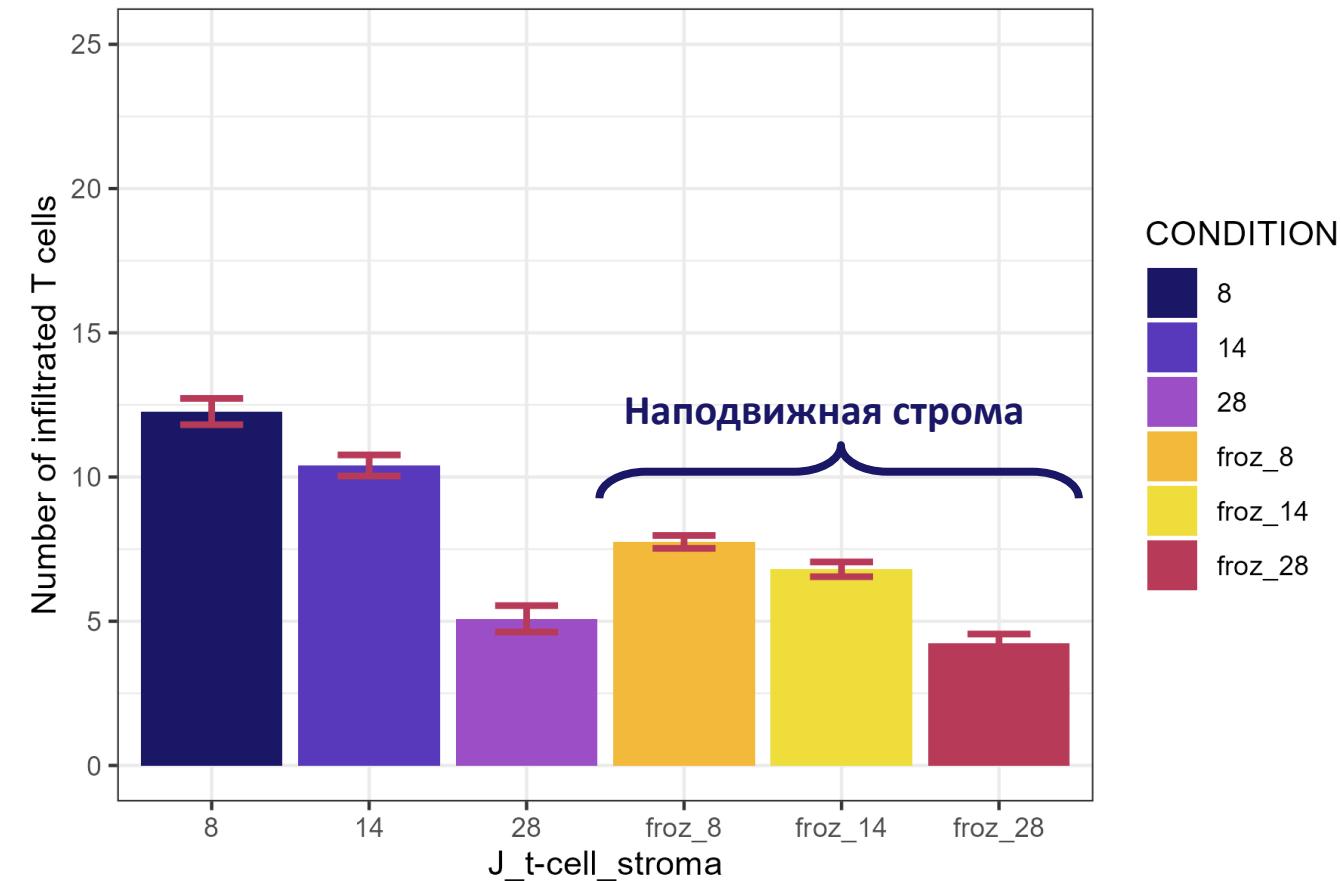
30 траекторий, *mean  $\pm$  se*, 40 000 MCS



- 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

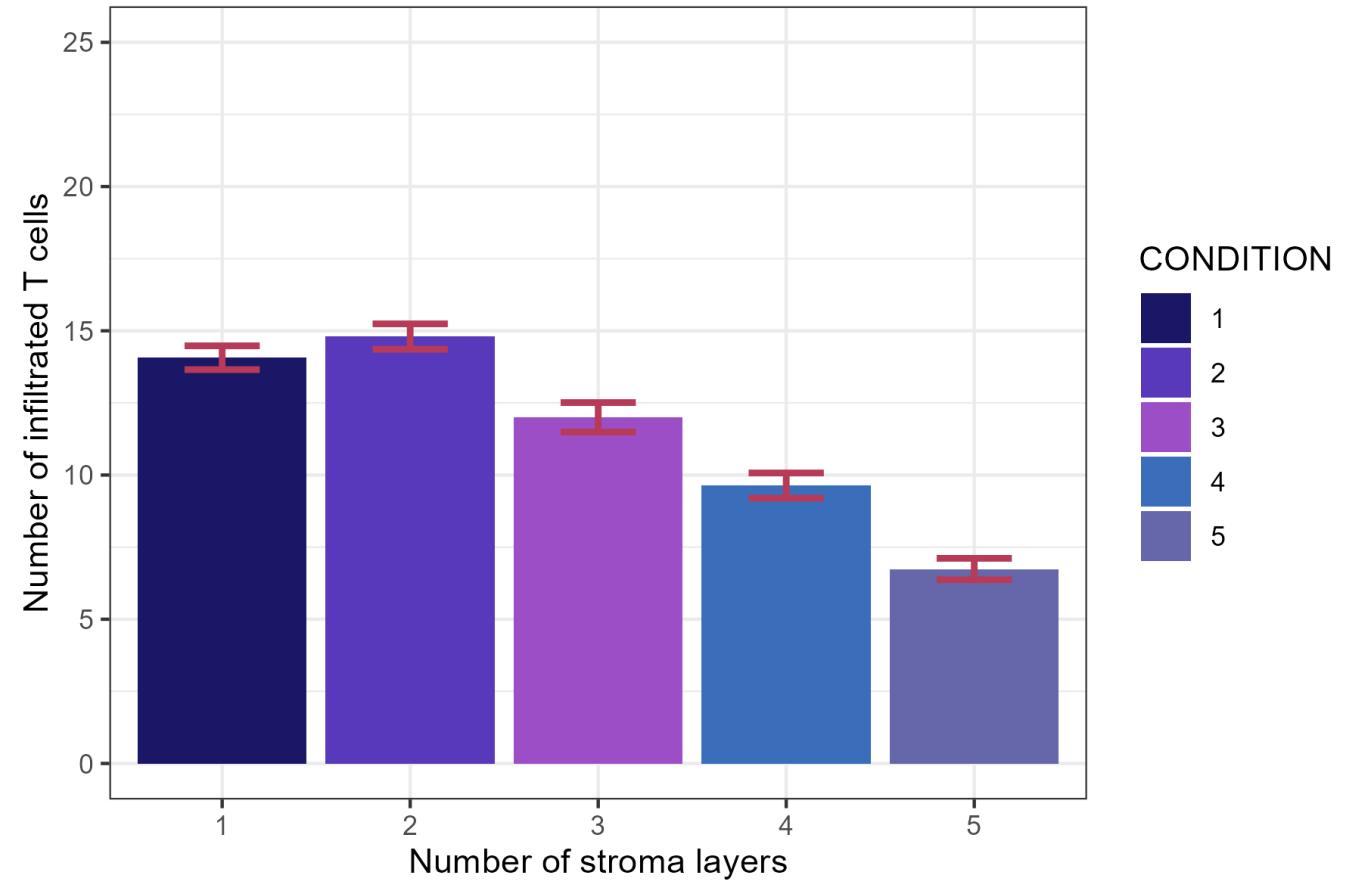
30 траекторий,  $mean \pm se$ , 40 000 MCS



- 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

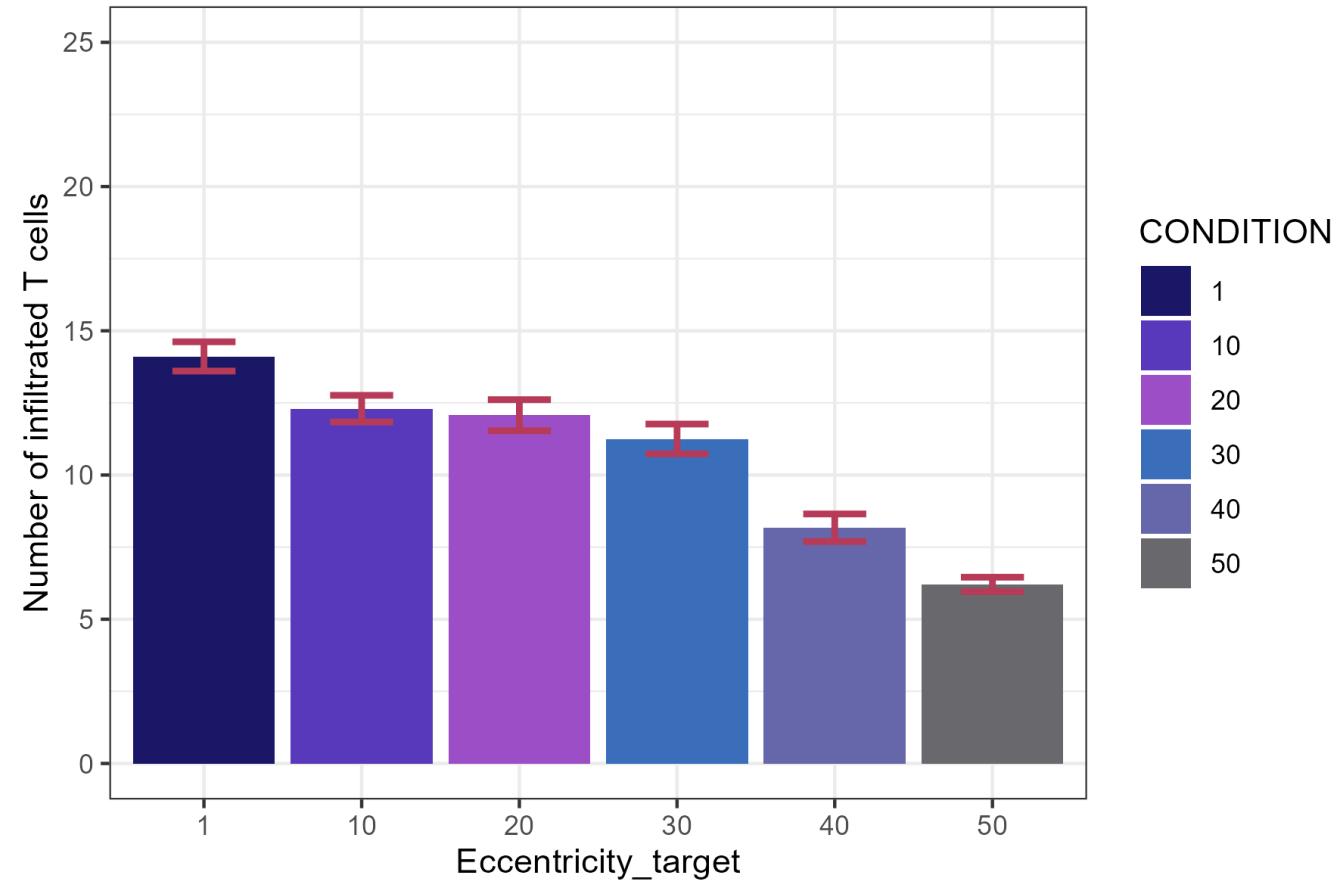
30 траекторий,  $mean \pm se$ , 40 000 MCS



- Инфильтрация падает с увеличением толщины стромы

# Зависимость инфильтрации от характерной длины элементов стromы

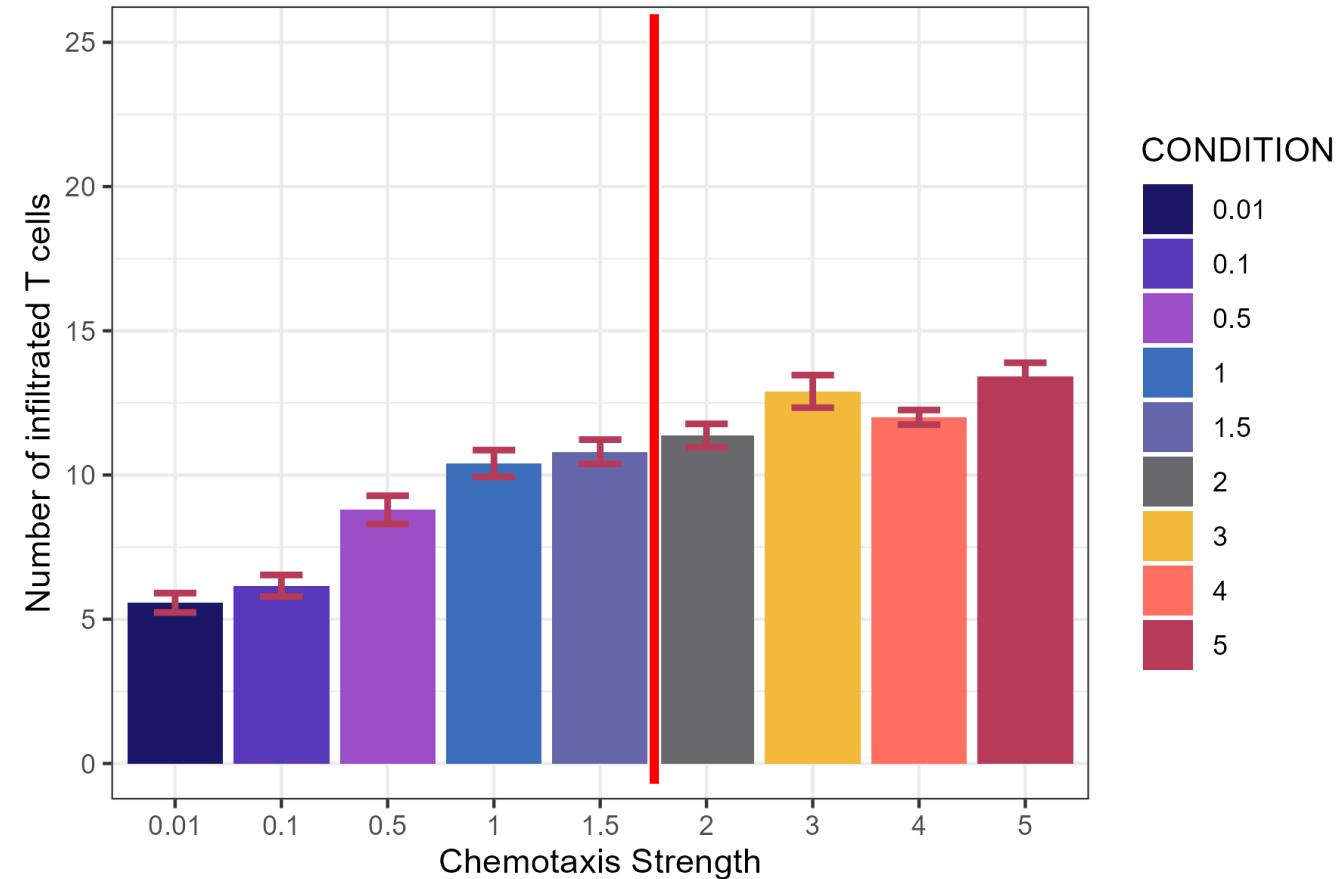
30 траекторий,  $mean \pm se$ , 40 000 MCS



- 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

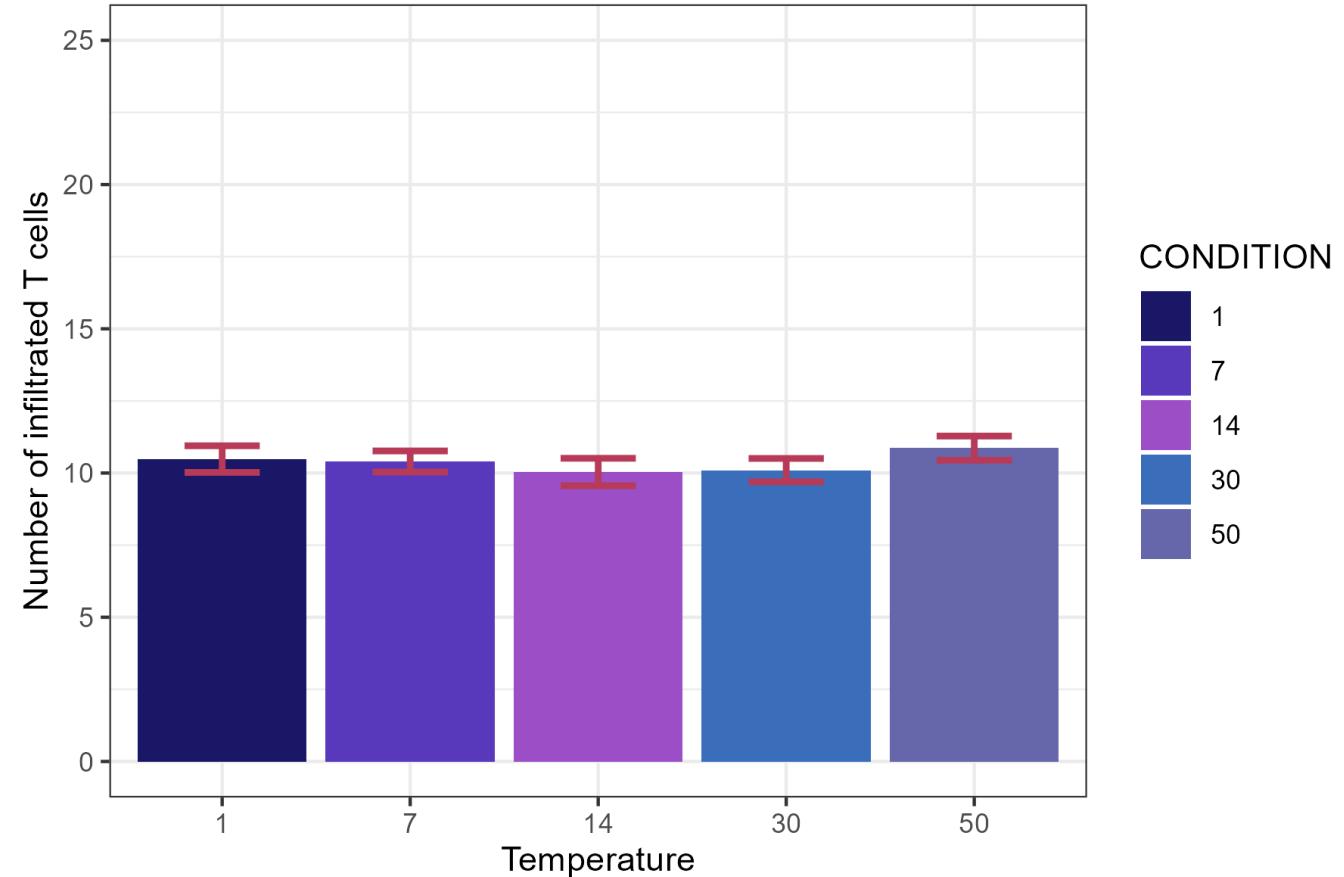


При силе хемотаксиса  $\geq 2$   
начинается “вырывание”  
Т-клетками стромальных  
клеток

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

# Зависимость инфильтрации от температуры

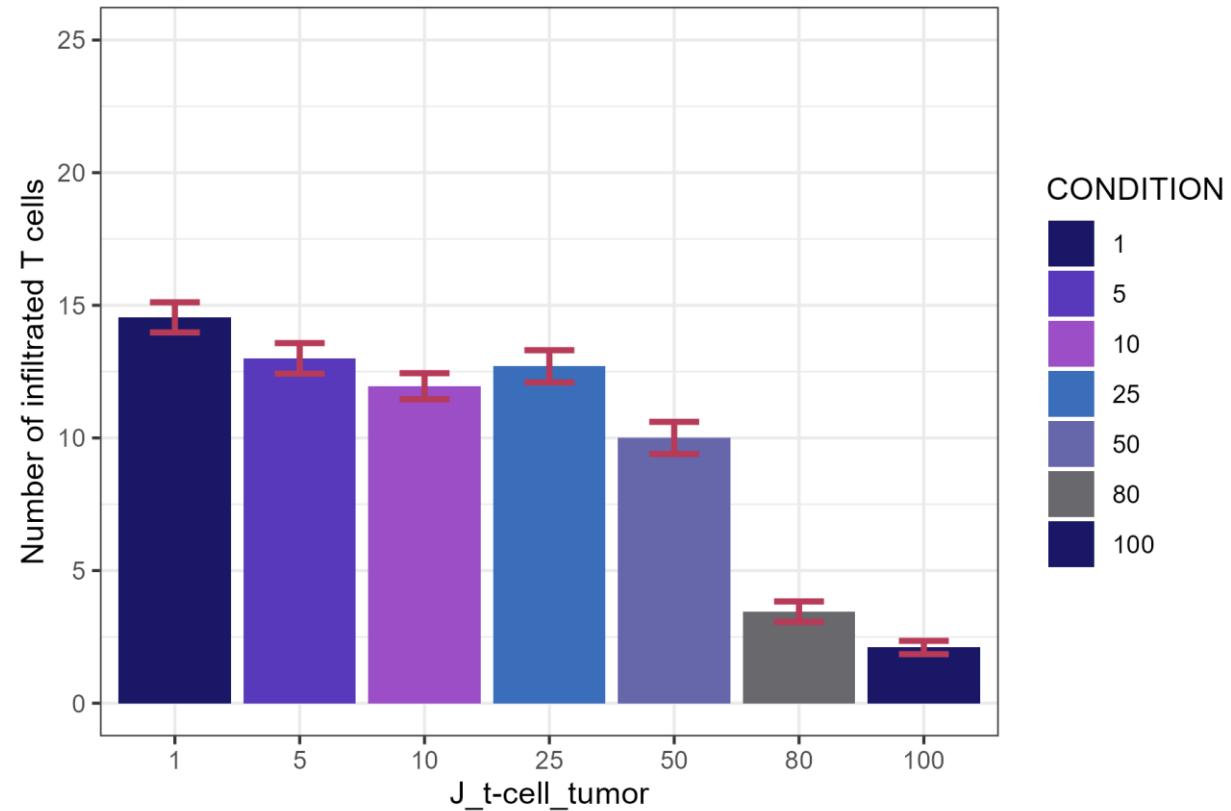
30 траекторий,  $mean \pm se$ , 40 000 MCS



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

# Зависимость инфильтрации от презентации антигенов

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



- Отсутствует строма
- Роль концентрации антигенов играет энергия взаимодействия Т-клеток и опухолевых клеток

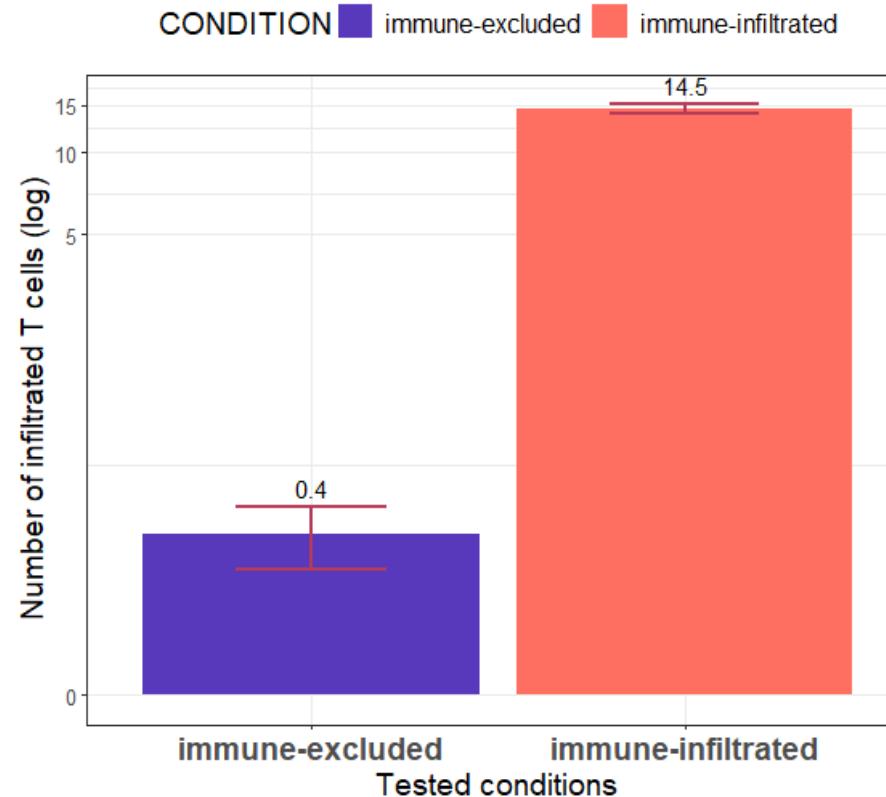
- В рамках текущей модели иммунная инфильтрация зависит от презентации антигенов на поверхности опухоли, при увеличении концентрации антигенов увеличивается инфильтрация Т-клеток.

# Сравнение иммуно-исключённого и воспалённого опухолевых фенотипов

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

$J_{T-cell\_stroma} = 28$   
 $ecc_{target\_str} = 50$   
 $layers_{stroma} = 4$   
 $cS_{T-cell} = 1$

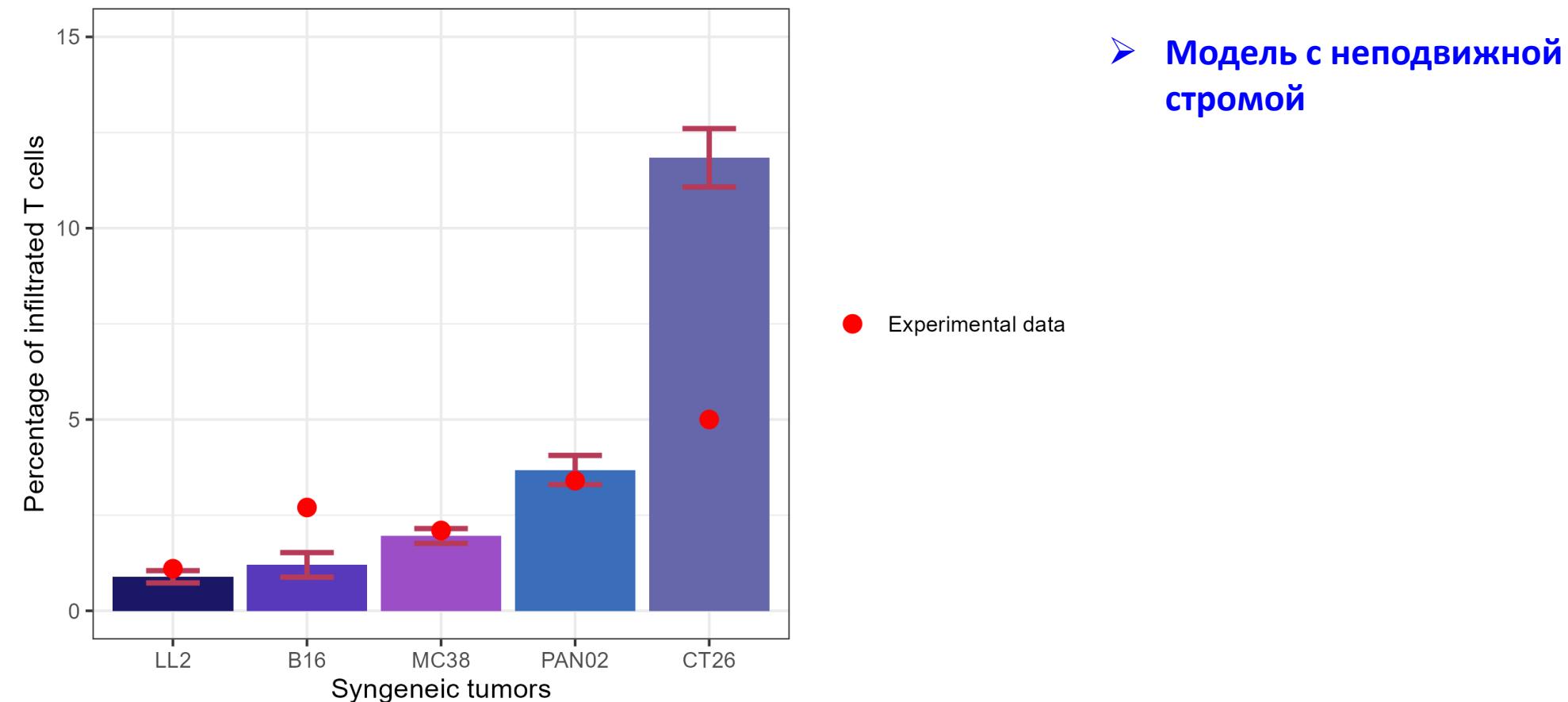
$J_{T-cell\_stroma} = 0.1$   
 $ecc_{target\_str} = 1$   
 $layers_{stroma} = 2$   
 $cS_{T-cell} = 1.4$



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

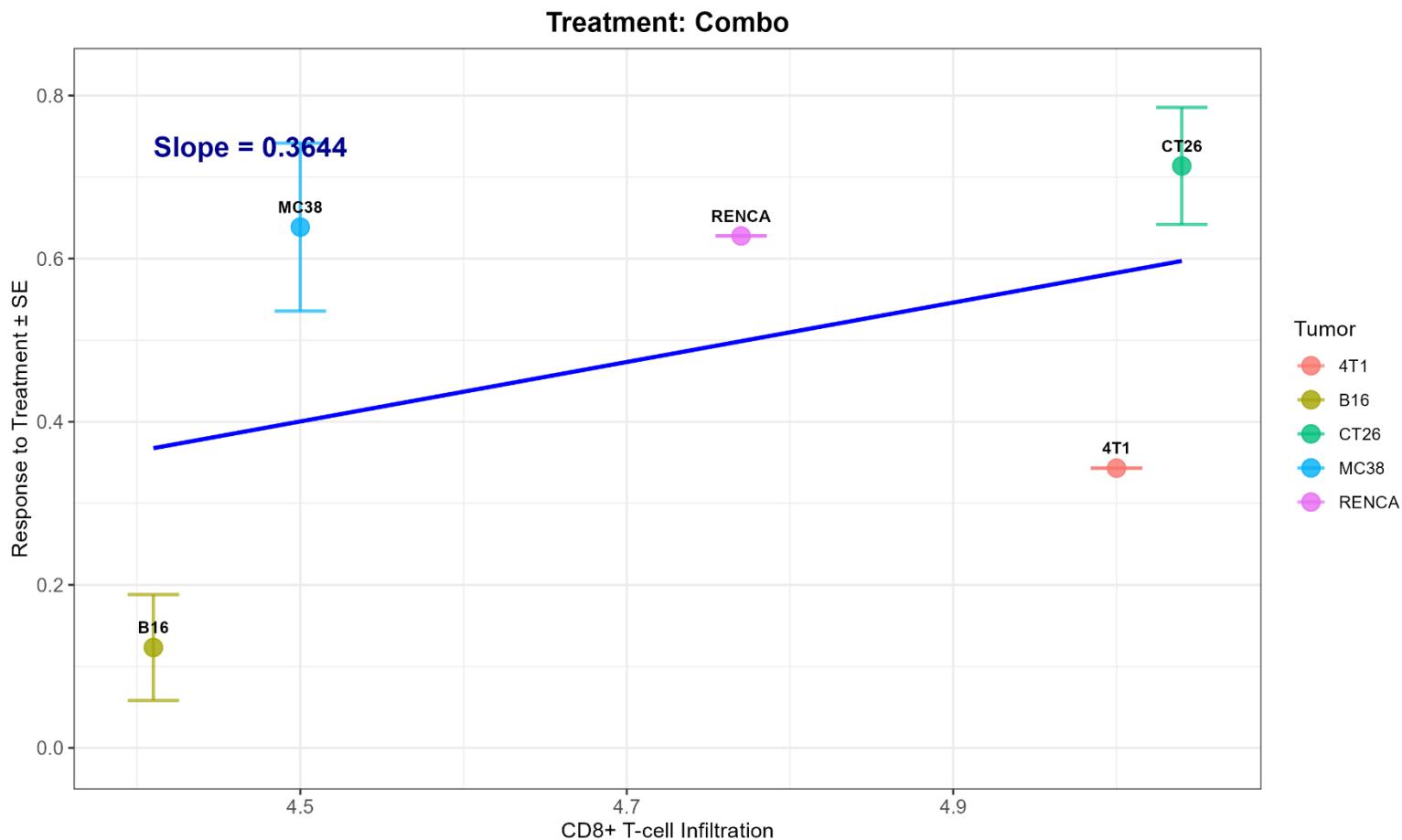
# Внешняя валидация: описание доклинических данных

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



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

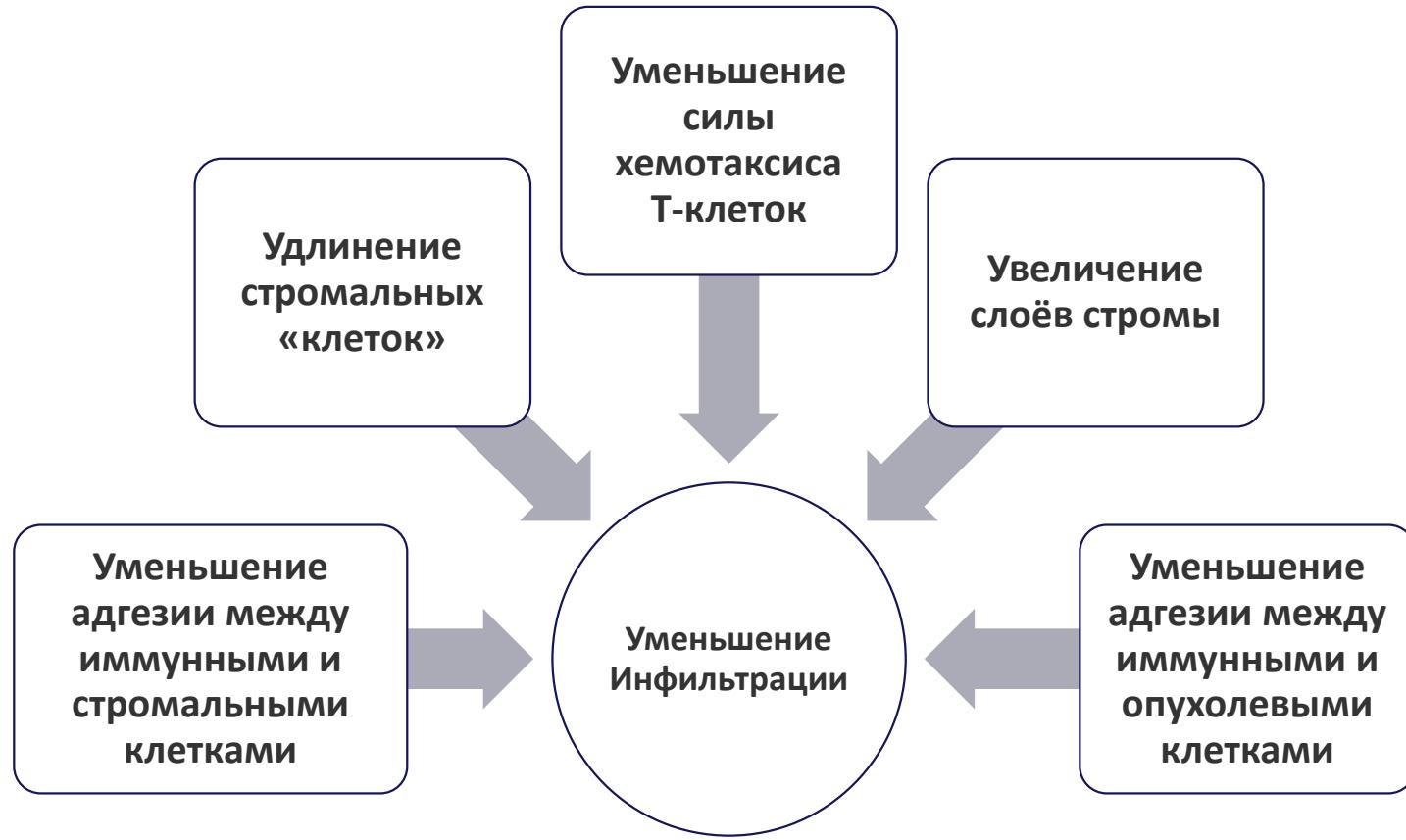
# Зависимость реакции на лечение сингенных опухолей от инфильтрации иммунными клетками



- Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что инфильтрация опухолевых тканей иммунными клетками способствует улучшению реакции на комбинированное лечение.

# Выводы

# Выводы



# Практическое применение

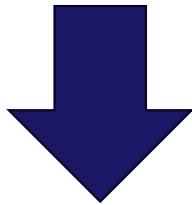
## Воздействие на факторы

Конструирование Т-клеток с  
заданным рецептором (CAR-T)

Адгезия между иммунными и  
стромальными клетками

Толщина стромы

Адгезия между иммунными и  
стромальными «клетками»



Увеличение эффекта иммунотерапии

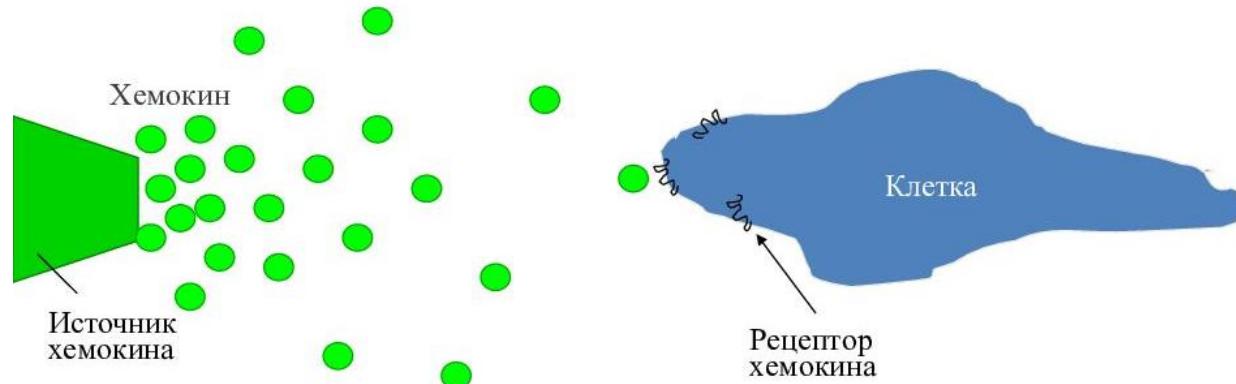
# Thank you for your attention!

Contacts:

[Elizabeth.mukova@yandex.ru](mailto:Elizabeth.mukova@yandex.ru), phone: +7 967 112 2575



# Хемотаксис



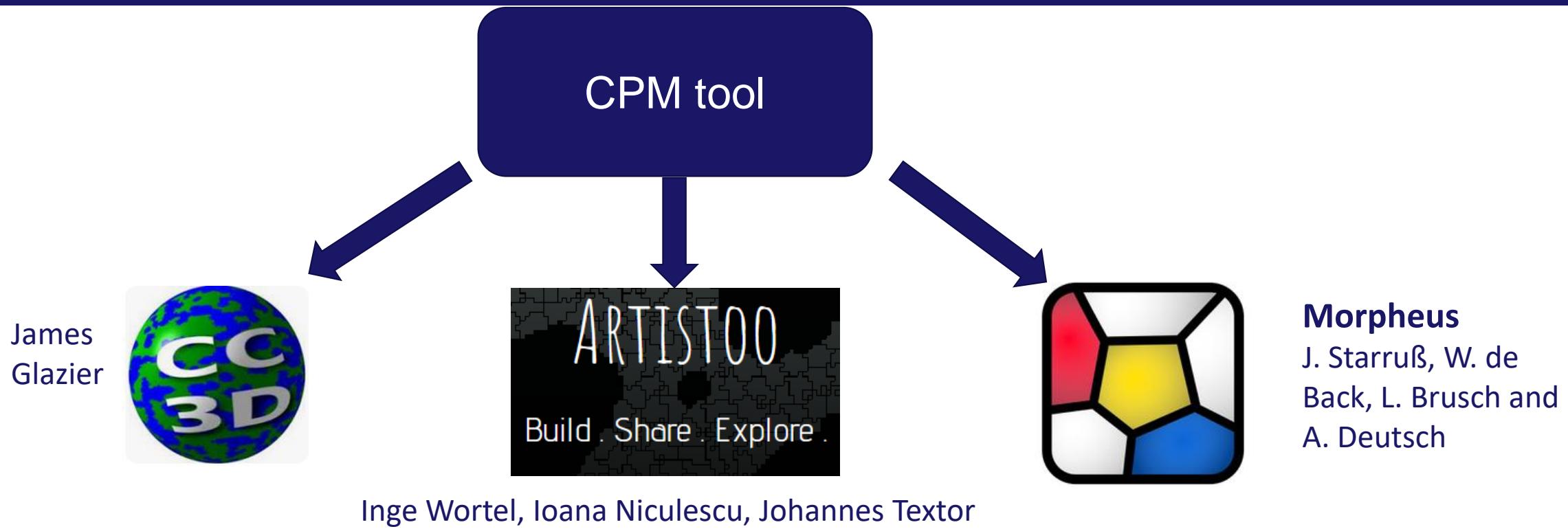
Клетка с большей вероятностью переместится в область с более высокой концентрацией хемокинов и с меньшей вероятностью переместится в область с более низкой концентрацией хемокинов.

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

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

- $p$  – продукция хемокинов
- $d$  – разрушение хемокинов
- $U$  – концентрация поля хемокинов в  $x_{(i,j)}$
- $\mu$  – сила хемотаксиса

# Чем проводить СРМ расчёты?



# 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 –

b	b	b
b	a	b
a	a	a

a) accept

b	$\leftarrow$ a $\rightarrow$ b	b
b	a	b
b	c $\leftrightarrow$ a	a

b) reject

b	$\leftarrow$ a $\rightarrow$ b	b
b	a	b
a $\leftrightarrow$ b $\leftrightarrow$ a	b	a

c) accept

E	$\leftarrow$ a $\rightarrow$ E	E
E	a	E
a $\leftrightarrow$ E $\leftrightarrow$ a	E	a

d) reject

a	a	a
a	b	a
b	$\leftarrow$ E $\rightarrow$ b	b
b	b	b

e) false reject

# Удлинение клеток

Текущий эксцентризитет клеток определяется в Morpheus с помощью тензора инерции  $I$ .

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

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

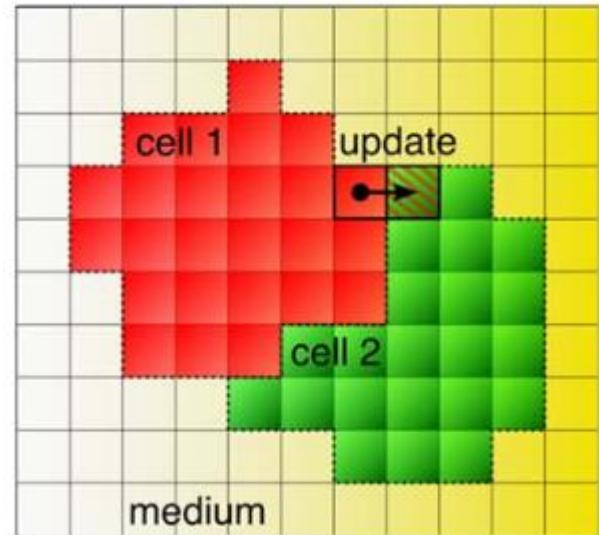
$$I = \begin{bmatrix} \sum_i x_i^2 - \frac{1}{a} (\sum_i x_i)^2 & -\sum_i x_i y_i - \frac{1}{a} \sum_i x_i y_i \\ -\sum_i x_i y_i - \frac{1}{a} \sum_i x_i y_i & \sum_i y_i^2 - \frac{1}{a} (\sum_i y_i)^2 \end{bmatrix}$$

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

# 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  $\sigma$ : обычно порядка 40 сайтов на одну клетку.
- Дальнейшее поведение системы описывается с помощью поттсовского гамильтониана – эффективной функции полной энергии.

Cellular Potts model



# 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  $\tau, \tau'$  (2, 3 разных типа на модель)
- $J(\tau, \tau')$  – величина энергии взаимодействия сайтов, которые относятся к типам клеток  $\tau$  и  $\tau'$ .
- $\tau$  и  $\tau'$  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  $\sigma$ )
- $\lambda$  – Лагранжев множитель, отвечающий за силу эффекта на ограничение
- $a(\sigma)$  – текущая площадь клетки  $\sigma$
- $A_{\tau(\sigma)}$  – целевая площадь клетки  $\sigma$
- $ecc(\sigma)$  – текущий эксцентриситет клетки  $\sigma$
- $Ecc_{\tau(\sigma)}$  – целевой эксцентриситет клетки  $\sigma$
- $p(\sigma)$  – текущий периметр клетки  $\sigma$
- $P_{\tau(\sigma)}$  – целевой периметр клетки  $\sigma$
- Расчетная область  $200 \times 200$
- Границные условия:  $x$  – период.,  $y$  – пост.

# Активная модель миграции клеток, зависящей от формы.

$$\Delta \mathcal{H}_{Act}(u \rightarrow v) = \frac{\lambda_{Act}}{\text{Max}_{Act}} (\text{GM}_{Act}(u) - \text{GM}_{Act}(v))$$

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

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

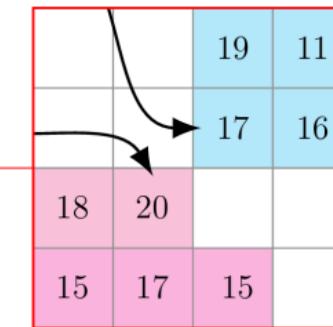
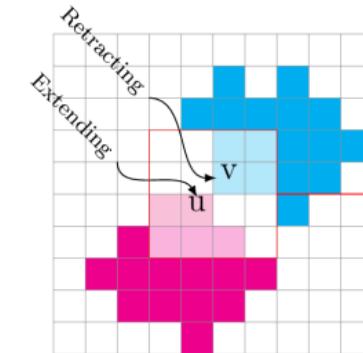
$$GM_{Act}(u) = (\prod_{y \in V(u)} Act(y))^{1/|V(y)|}$$

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

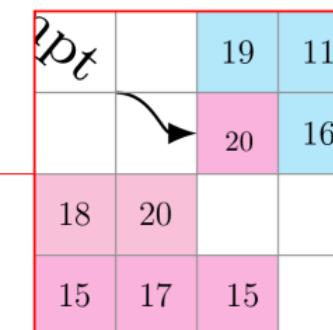
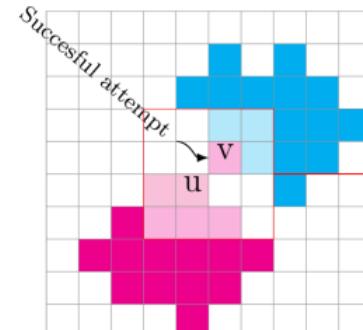
Значение активности сайта уменьшается на единицу после каждого MCS, пока не достигнет нуля

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

A

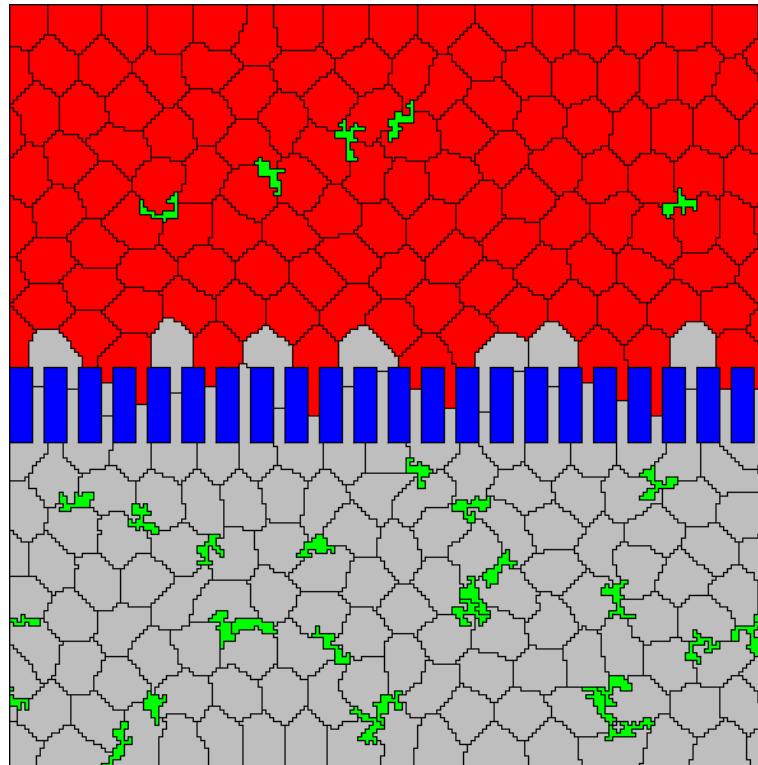


B

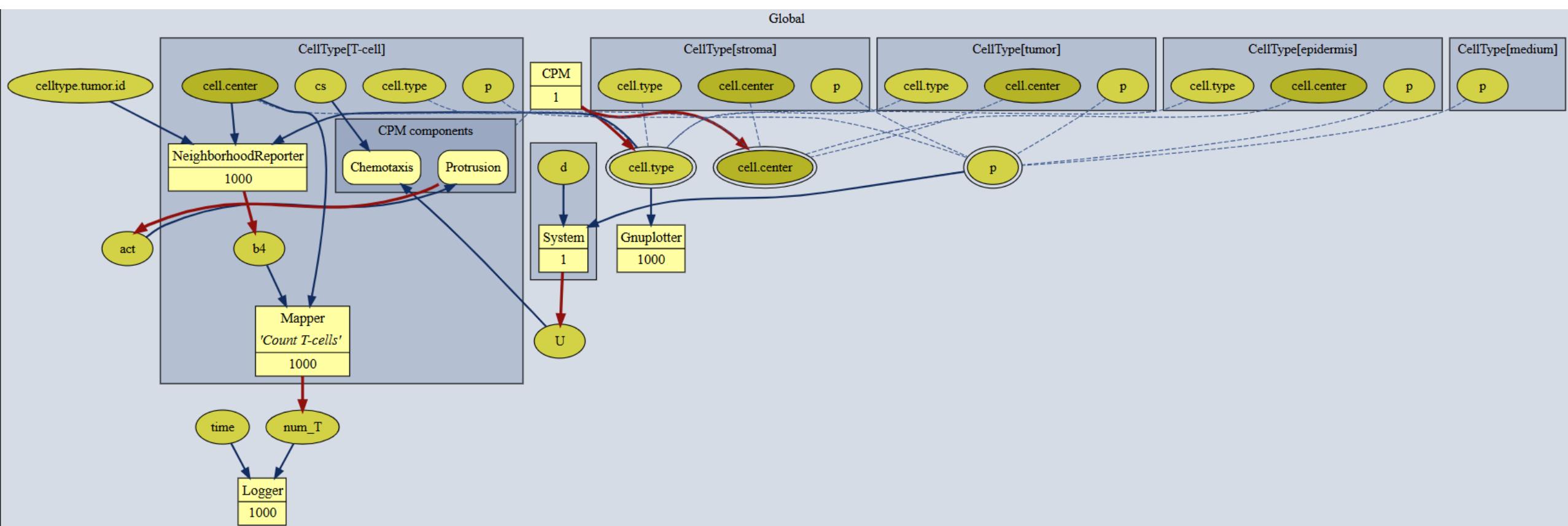


# Замороженная строма

- Т-клетки
- строма
- эпидермис
- опухоль



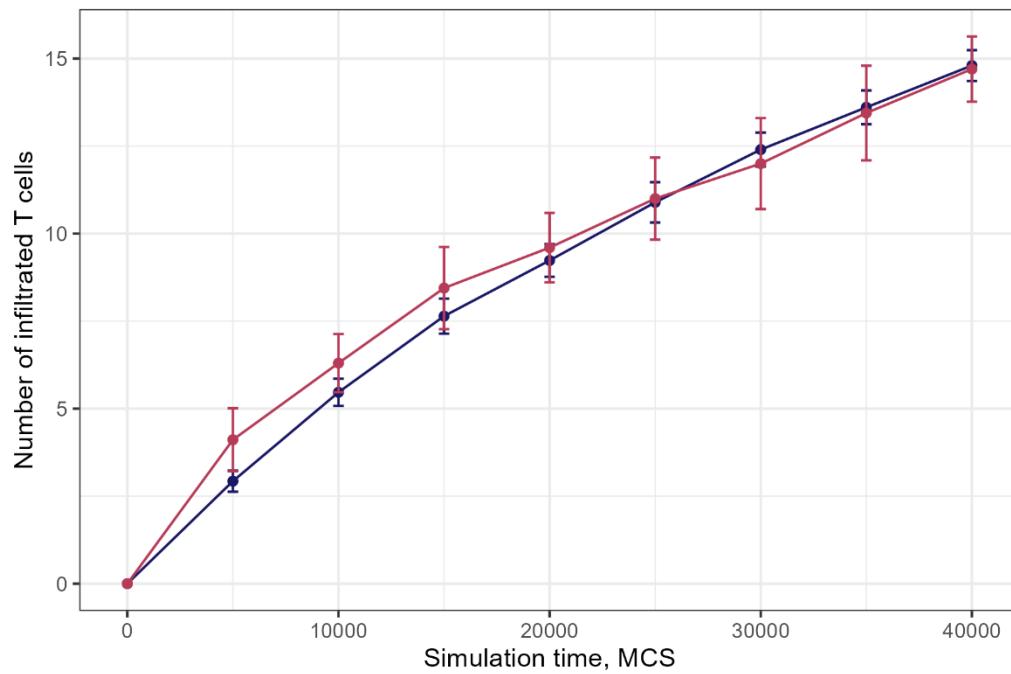
# Model-graph



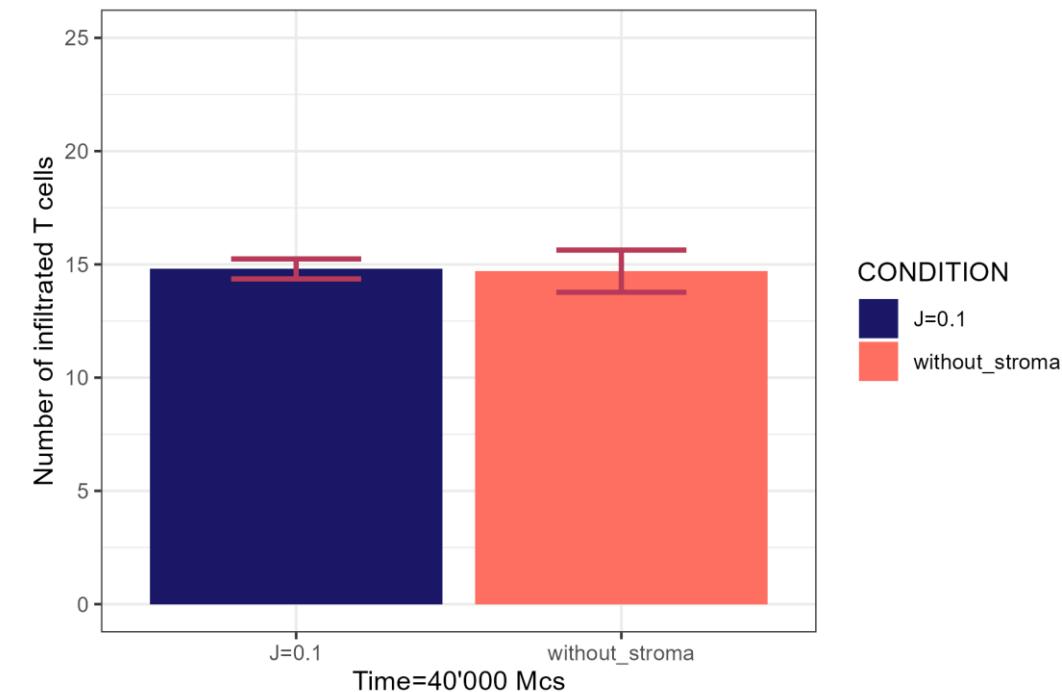
# Характерные границы для варьирования параметров

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

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



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



# 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.  $T_{c1} = 64$

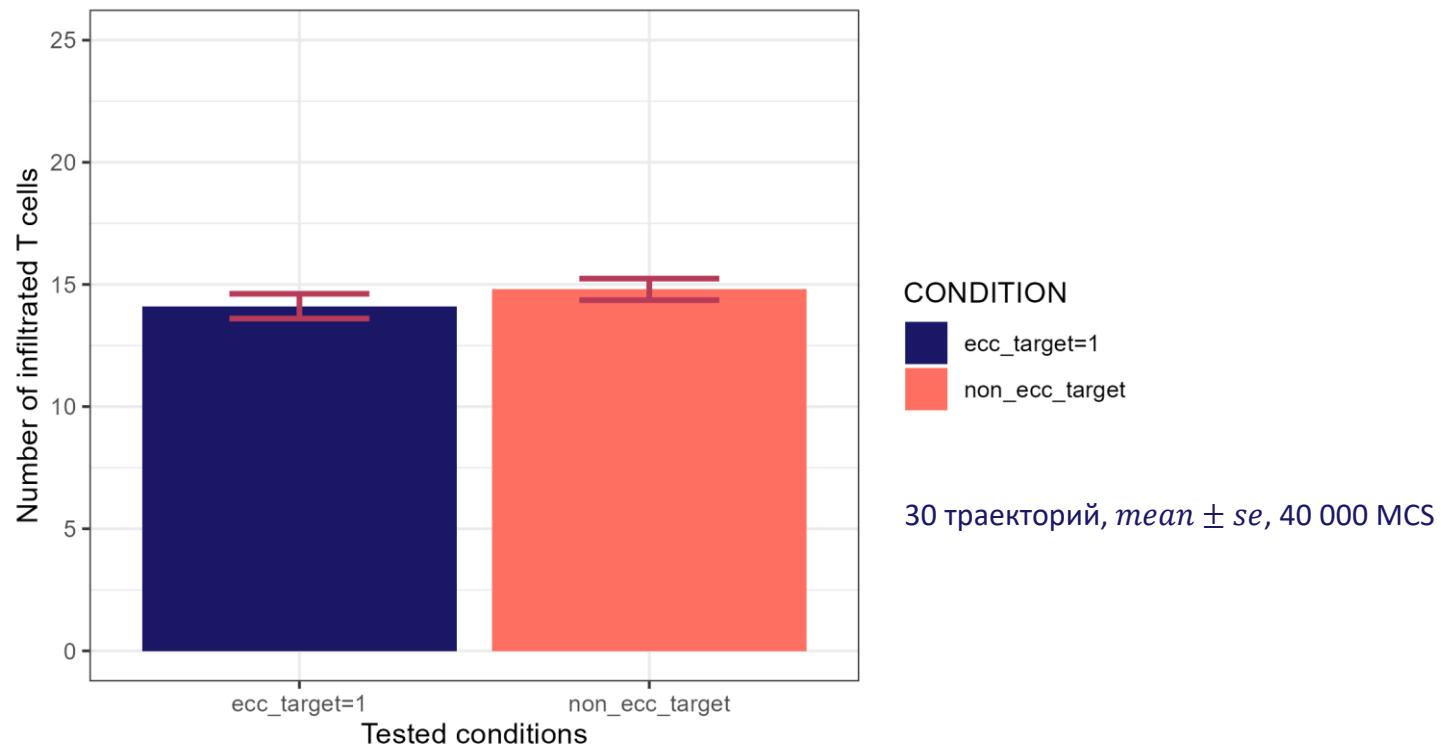
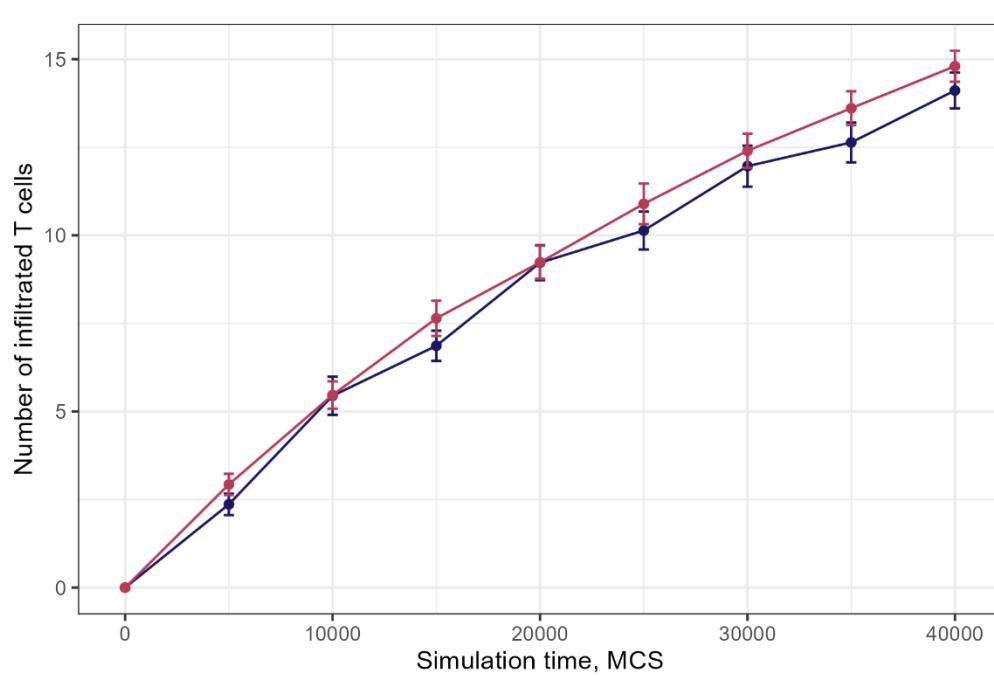
На практике оказалось, что  $T_{c1}=50$ .



# 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.

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