http://www.applmathmech.cn

基质刚度和生长因子协同驱动上皮-间质转化的力-化耦合机制*

朱鸿源[1,2]，　王与帅[1,2]，　林　敏[1,2]

(1. 西安交通大学 生命科学与技术学院 生物信息工程教育部重点实验室, 西安 710049
2. 西安交通大学 生物医学信息工程教育部重点实验室 仿生工程与生物力学研究所(BEBC), 西安 710049)

(我刊编委林敏来稿)

摘要： 上皮-间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)是胚胎发育、伤口愈合、癌症发展等生理、病理过程中的关键步骤,使细胞从紧密黏附在一起的上皮状态转变为分散排布的间质状态.该文提出了一个基质刚度和生长因子协同驱动 EMT 的核心调控回路模型,发现在 EMT 过程中,基质刚度和生长因子通过协同调控 EMT 激活转录因子(EMT-activating transcript factors, EMT-TFs)来改变细胞间力学黏附分子 E/N-钙黏素的表达,从而影响 EMT 的进程与可逆性.该模型揭示了力学和化学因素的协同作用对 EMT 过程中细胞间力学黏附的影响机制,为研究癌症等疾病的发生、发展机制和防治策略奠定了理论基础.

关　键　词： 力学模型；　力-化耦合；　上皮-间质转化；　细胞间力学黏附
中图分类号： O34；Q66　　**文献标志码：** A　　DOI：10.21656/1000-0887.450107

The Mechanochemical Coupling Mechanism of Matrix Stiffnesses and Growth Factors Driving the Epithelial-Mesenchymal Transition

ZHU Hongyuan[1,2], WANG Yushuai[1,2], LIN Min[1,2]

(1. *The Key Laboratory of Biomedical Information Engineering of Ministry of Education, School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an* 710049, *P.R.China*;
2. *Bioinspired Engineering and Biomechanics Center (BEBC), The Key Laboratory of Biomedical Information Engineering of Ministry of Education, Xi'an Jiaotong University, Xi'an* 710049, *P.R.China*)

(Contributed by LIN Min, M. AMM Editorial Board)

Abstract: The epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a critical step in physiological and pathological processes such as the embryonic development, the wound healing, and the cancer progression, wherein cells

* **收稿日期：** 2024-04-19；**修订日期：** 2024-05-06
基金项目： 国家自然科学基金(12202345;12372316);中国博士后科学基金(2022M722534);中央高校基本科研业务费(xzy012024081)
作者简介： 朱鸿源(1992—),男,助理教授(E-mail: hongyuanzhu@xjtu.edu.cn);
林敏(1982—),男,教授(通讯作者. E-mail: minlin@xjtu.edu.cn).
引用格式： 朱鸿源, 王与帅, 林敏. 基质刚度和生长因子协同驱动上皮-间质转化的力-化耦合机制[J]. 应用数学和力学, 2024, **45**(6): 719-734.

transition from a tightly adherent epithelial state to a dispersed mesenchymal state. An EMT core circuit model driven by the synergistic regulation of matrix stiffnesses and growth factors was proposed. The results show that, during the EMT, the matrix stiffnesses and growth factors collaboratively regulate the expression of the E/N-cadherin, a typical cell-cell adhesion molecule, by modulating the EMT-activating transcription factors, thus influencing the progression and reversibility of the EMT. The model elucidates the mechanism of synergistic interactions between mechanical and chemical factors on cell-cell adhesion during the EMT, laying a theoretical foundation for understanding the occurrence, development mechanisms, and preventive strategies against diseases such as cancer.

Key words: mechanical modeling; mechanochemical coupling; epithelial-mesenchymal transition; cell-cell adhesion

0 引 言

上皮-间质转化(EMT)是细胞失去细胞间力学黏附约束而导致运动能力增加的过程,呈现出由静止而有序的上皮表型转化为活跃而离散的间质表型的现象.EMT 在胚胎发育、组织纤维化、癌症等生理、病理过程中发挥着重要作用[1-2],探究 EMT 过程的演化机制,对于癌症等疾病防治策略的制定至关重要[3-5].

EMT 主要受到一组核心分子——EMT 激活转录因子(EMT-TFs)的调控,包括 TWIST1、SNAIL1/2、ZEB1/2[6].这些 EMT-TFs 几乎作用于癌症所有阶段,包括肿瘤起始、癌前病变、侵袭转移、免疫逃逸和抵抗治疗等[6-7].不同的生化因素,如转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)[8]、Notch[9]、炎性因子[10],以及力学因素(如细胞应力)[11]等,都可以通过 EMT-TFs 诱导 EMT 过程.其中,TGF-β 作为一种高效的诱导剂,被广泛应用于引发 EMT 过程[8].其可以通过 EMT-TFs 直接抑制上皮标志物 E-钙黏素的表达,从而促进间质表型标记物 N-钙黏素的表达.

同时,EMT 过程也受到 microRNA 的调节,包括 miR-34 和 miR-200[12-13].这些 microRNA 可以通过转录和翻译等过程与 EMT-TFs 之间相互反馈,形成调控回路.其中,ZEB1/2(此后统称为 ZEB)和 miR-200 家族(包括 miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141 和 miR-429)之间可形成双向负反馈回路[14-15].而 SNAIL1/2(此后统称为 SNAIL)和 miR-34 家族(包括 miR-34a、miR-34b、miR-34c)之间形成双向负反馈回路[16-17].此外,抑制 miR-200 可以促进细胞释放 TGF-β,从而维持间质表型的稳定[18].已有的数理模型可以很好地描述实验中观察到的 TGF-β 诱导 EMT 的过程,并已得到了实验验证[19-20].

另有实验表明,TGF-β 驱动 EMT 的进程受到基质刚度的调控[21].细胞只有在足够硬的基底上才发生 EMT,而在软基底上会引发凋亡程序[22].基质刚度如何调控 TGF-β 驱动的 EMT 进程的力学生物学机制还不清晰.本文旨在结合现有的 EMT 核心调控分子回路模型和基质刚度对 EMT 影响的实验现象,构建数理模型,描述基质刚度和生长因子(TGF-β)在驱动 EMT 过程中的协同作用,阐明 EMT 过程中的力-化耦合机制.

1 基 本 方 程

1.1 生长因子驱动的 SNAIL-ZEB 核心回路模型

SNAIL-ZEB 核心回路由两个相互关联的双负反馈通路组成——miR-34/SNAIL 和 miR-200/ZEB(图 1)[19,23-25].模型主要描述如下分子相对浓度的变化:外源性 TGF-β ($\rho_{\mathrm{TGF,ext}}$)、内源 TGF-β (ρ_{TGF})、Snail 信使 RNA (ρ_{Rsnail})、转录因子 SNAIL (ρ_{SNAIL})、Zeb 信使 RNA (ρ_{Rzeb})、转录因子 ZEB (ρ_{ZEB})、miR-200(ρ_{miR200})、miR-34(ρ_{miR34})、E-钙黏素 (ρ_{Ecad}) 和 N-钙黏素 (ρ_{Ncad}).细胞高表达 microRNA(miR-34 和 miR-200)对应于上皮表型,而高表达 EMT-TFs(SNAIL 和 ZEB)对应于间质表型[26].这些分子之间的相互作用可以通过以下方程描述:

① miR-200 抑制内源性 TGF-β 的表达[18-19]:

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{TGF}}}{\mathrm{d}t}=\frac{k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{T}}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{miR200}}}{J_{\mathrm{T}}}\right)^{2}}-k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{T}}\rho_{\mathrm{TGF}}, \tag{1}$$

式中, k_g^T,k_d^T 分别为 TGF-β 的生成速率和降解速率, J_T 为 TGF-β 的生成米氏常数.

② 外源和内源性 TGF-β 促进 Snail 的转录过程[19,27]:

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{Rsnail}}}{\mathrm{d}t}=k_{g0}^{s}+k_g^{s}\frac{\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{TGF}}+\rho_{\mathrm{TGF,ext}}}{J_s}\right)^2}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{TGF}}+\rho_{\mathrm{TGF,ext}}}{J_s}\right)^2}-k_d^{s}\rho_{\mathrm{Rsnail}},\tag{2}$$

式中, k_{g0}^s,k_g^s 和 k_d^s 分别为 Snail 信使 RNA 的基础生成速率、TGF-β 依赖的生成速率和降解速率, J_s 为 TGF-β 依赖的 Snail 信使 RNA 生成米氏常数.

③ miR-34 抑制 SNAIL 的翻译过程[16,19]:

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{SNAIL}}}{\mathrm{d}t}=\frac{k_g^{S}\rho_{\mathrm{Rsnail}}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{miR34}}}{J_S}\right)^2}-k_d^{S}\rho_{\mathrm{SNAIL}},\tag{3}$$

式中, k_g^S 和 k_d^S 分别为 SNAIL 的生成速率和降解速率, J_S 为 SNAIL 生成米氏常数.

④ SNAIL 和 ZEB 共同抑制 miR-34 的表达[16,19]:

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{miR34}}}{\mathrm{d}t}=\frac{k_g^{34}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL}}}{J_{34S}}\right)^2+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{ZEB}}}{J_{34Z}}\right)^2}-k_d^{34}\rho_{\mathrm{miR34}},\tag{4}$$

式中, k_g^{34} 和 k_d^{34} 分别为 miR-34 的生成速率和降解速率, J_{34S} 和 J_{34Z} 分别为 SNAIL 和 ZEB 依赖的 miR-34 生成米氏常数.

⑤ SNAIL 促进 Zeb 的转录过程[19,28]:

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{Rzeb}}}{\mathrm{d}t}=k_g^{z}\frac{\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL}}}{J_z}\right)^2}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL}}}{J_z}\right)^2}-k_d^{z}\rho_{\mathrm{Rzeb}},\tag{5}$$

式中, k_g^z 和 k_d^z 分别为 Zeb 信使 RNA 的生成速率和降解速率, J_z 为 SNAIL 依赖的 Zeb 转录米氏常数.

⑥ miR-200 抑制 ZEB 的翻译过程[18-19]:

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{ZEB}}}{\mathrm{d}t}=\frac{k_g^{Z}\rho_{\mathrm{Rzeb}}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{miR200}}}{J_Z}\right)^2}-k_d^{Z}\rho_{\mathrm{ZEB}},\tag{6}$$

式中, k_g^Z 和 k_d^Z 分别为 ZEB 的生成速率和降解速率, J_Z 为 ZEB 生成米氏常数.

⑦ SNAIL 和 ZEB 共同抑制 miR-200 的表达[18-19]:

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{miR200}}}{\mathrm{d}t}=\frac{k_g^{200}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL}}}{J_{200S}}\right)^2+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{ZEB}}}{J_{200Z}}\right)^2}-k_d^{200}\rho_{\mathrm{miR200}},\tag{7}$$

式中, k_g^{200} 和 k_d^{200} 分别为 miR-200 的生成速率和降解速率, J_{200S} 和 J_{200Z} 分别为 SNAIL 和 ZEB 依赖的 miR-200 生成米氏常数.

⑧ SNAIL 和 ZEB 共同抑制 E-钙黏素表达[19,29-30]:

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{Ecad}}}{\mathrm{d}t}=\frac{k_{g1}^{E}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL}}}{J_{ES}}\right)^2}+\frac{k_{g2}^{E}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{ZEB}}}{J_{EZ}}\right)^2}-k_d^{E}\rho_{\mathrm{Ecad}},\tag{8}$$

式中, k_{g1}^E,k_{g2}^E 和 k_d^E 别为 E-钙黏素的 SNAIL 依赖的生成速率、ZEB 依赖的生成速率和降解速率, J_{ES} 和 J_{EZ} 分别为 SNAIL 和 ZEB 依赖的 E-钙黏素生成米氏常数.

⑨ SNAIL 和 ZEB 共同促进 N-钙黏素表达[19,31-32]：

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{Ncad}}}{\mathrm{d}t}=\frac{k_{\mathrm{g1}}^{\mathrm{N}}\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL}}}{J_{\mathrm{NS}}}\right)^{2}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL}}}{J_{\mathrm{NS}}}\right)^{2}}+\frac{k_{\mathrm{g2}}^{\mathrm{N}}\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{ZEB}}}{J_{\mathrm{NZ}}}\right)^{2}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{ZEB}}}{J_{\mathrm{NZ}}}\right)^{2}}-k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{N}}\rho_{\mathrm{Ncad}},\tag{9}$$

式中，$k_{\mathrm{g1}}^{\mathrm{N}}$，$k_{\mathrm{g2}}^{\mathrm{N}}$ 和 $k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{N}}$ 别为 N-钙黏素的 SNAIL 依赖的生成速率、ZEB 依赖的生成速率和降解速率，J_{NS} 和 J_{NZ} 分别为 SNAIL 和 ZEB 依赖的 N-钙黏素生成米氏常数.

1.2 基质刚度依赖的 TWIST1 核定位模型

G3BP(Ras-GAP SH3 domain binding proteins)家族，包括 G3BP1 和 G3BP2，因其结合 Ras-GTP 酶激活蛋白(Ras-GAP)SH3 结构域的能力而得名，参与多种细胞活动，包括细胞生长、分化和迁移等[33].G3BP2 主要分布于细胞质中，可以与 TWIST1 形成 TWIST1-G3BP2 复合物而将 TWIST1 锚定于细胞质中[21].而基质刚度增加可以通过整合素介导的力-化信号转导促进 TWIST1 的磷酸化，从而促使 TWIST1-G3BP2 复合物解离，促进 TWIST1 入核[21,34-35](图 1).

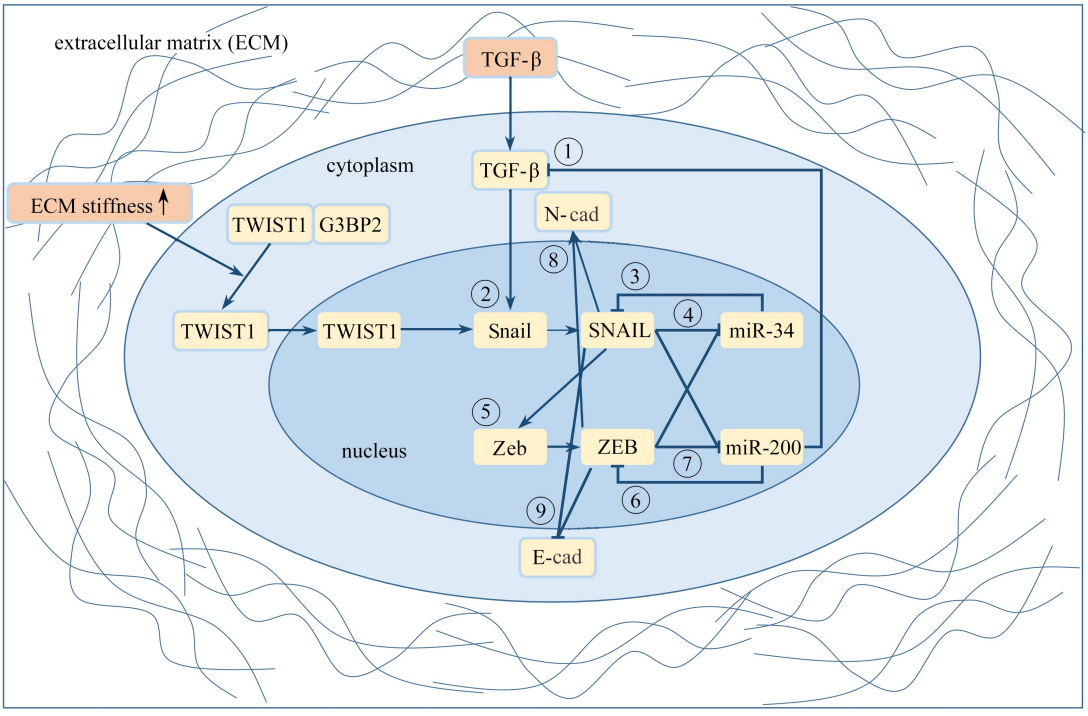


图 1 基质刚度和生长因子协同驱动 EMT 的核心调控回路模型

Fig. 1 The EMT core circuit model driven by the synergistic regulation of the matrix stiffness and growth factors

由于 TGF-β 和基质刚度对 TWIST1 表达量的影响几乎可以忽略[21]，因此模型中 TWIST1 的相对浓度($\rho_{\mathrm{TWIST1,tot}}$)被设为独立于 TGF-β 和基质刚度的常数.$\rho_{\mathrm{TWIST1,tot}}$ 包括细胞核内的 TWIST1($\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}$)、胞质内的 TWIST1($\rho_{\mathrm{TWIST1,cyt}}$)以及 TWIST1-G3BP2 复合物($\rho_{\mathrm{TWIST1\text{-}G}}$)三部分：

$$\rho_{\mathrm{TWIST1,tot}}=\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}+\rho_{\mathrm{TWIST1,cyt}}+\rho_{\mathrm{TWIST1\text{-}G}}.\tag{10}$$

假设胞质内 G3BP2 的相对浓度为 ρ_{G3BP2}，其可与未磷酸化的 TWIST1 形成不入核的 TWIST1-G3BP2 复合物：

$$\rho_{\mathrm{TWIST1\text{-}G}}=\frac{k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{TG}}}{k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{TG}}}(\rho_{\mathrm{TWIST1,cyt}}-\rho_{\mathrm{pTWIST1}})\rho_{\mathrm{G3BP2}},\tag{11}$$

式中，$k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{TG}}$ 和 $k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{TG}}$ 分别为 TWIST1-G3BP2 复合物的生成速率常数和解离速率，ρ_{pTWIST1} 为磷酸化 TWIST1 的相对浓度.则细胞核内的 TWIST 相对浓度($\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}$)可以表示为

$$\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}=\frac{k_{\mathrm{CN}}}{k_{\mathrm{NC}}}\rho_{\mathrm{TWIST1,cyt}}, \tag{12}$$

式中, k_{CN} 和 k_{NC} 分别为 TWIST1 的入核和出核速率.

本课题组之前的研究发现,基质刚度的增加可以促进整合素激活和团簇,形成更稳定的黏着斑,从而有利于黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)的磷酸化,因而磷酸化 FAK 的相对浓度与基质刚度之间呈现一阶 Hill 函数关系[36-37],而 TWIST1 磷酸化又与整合素激活相关[21].据此,模型假设基质刚度促进 TWIST1 磷酸化的形式与整合素介导的 FAK 磷酸化一致,胞质内磷酸化 TWIST1 的相对浓度也与基质刚度的关系遵循一阶 Hill 函数:

$$\rho_{\mathrm{pTWIST1}}=\rho_{\mathrm{TWIST1,cyt}}\left(\frac{E}{E+E_0}\right), \tag{13}$$

式中, E 为基质刚度(弹性模量), E_0 为拟合常数,代表 TWIST1 磷酸化水平达到最大值一半时的基质刚度.需要说明的是,虽然 TGF-β 也会影响 FAK 磷酸化,因而也可能会进一步影响 TWIST1 的磷酸化,但其影响效果没有基质刚度的显著[22],而目前缺乏 TGF-β 对 TWIST1 磷酸化的研究,为了简化模型,这里忽略了 TGF-β 对 TWIST1 核定位的影响.

将式(13)代入式(11),可得

$$\rho_{\mathrm{TWIST1\text{-}G}}=\frac{k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{TG}}}{k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{TG}}}\frac{E_0}{E_0+E}\rho_{\mathrm{G3BP2}}\rho_{\mathrm{TWIST1,cyt}}. \tag{14}$$

将式(12)、(14)代入式(10),可得

$$\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}=\frac{\dfrac{k_{\mathrm{CN}}}{k_{\mathrm{NC}}}}{1+\dfrac{k_{\mathrm{CN}}}{k_{\mathrm{NC}}}+\dfrac{k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{TG}}}{k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{TG}}}\dfrac{E_0}{E+E_0}\rho_{\mathrm{G3BP2}}}\rho_{\mathrm{TWIST1,tot}}. \tag{15}$$

为了简化参数,令 $\tilde{k}_{\mathrm{CN}}=\dfrac{k_{\mathrm{CN}}}{k_{\mathrm{NC}}}$, $\tilde{k}_{\mathrm{g}}^{\mathrm{TG}}=\dfrac{k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{TG}}}{k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{TG}}}\rho_{\mathrm{G3BP2}}$, $\tilde{k}_{\mathrm{CN}}$ 和 $\tilde{k}_{\mathrm{g}}^{\mathrm{TG}}$ 分别表示 TWIST1 入核以及 TWIST1-G3BP2 结合的相对速率,则式(15)可简化为

$$\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}=\frac{\tilde{k}_{\mathrm{CN}}}{1+\tilde{k}_{\mathrm{CN}}+\tilde{k}_{\mathrm{g}}^{\mathrm{TG}}\dfrac{E_0}{E+E_0}}\rho_{\mathrm{TWIST1,tot}}. \tag{16}$$

因此,基质刚度趋于 0 时 ($E\to 0$), $\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}=\dfrac{\tilde{k}_{\mathrm{CN}}}{1+\tilde{k}_{\mathrm{CN}}+\tilde{k}_{\mathrm{g}}^{\mathrm{TG}}}\rho_{\mathrm{TWIST1,tot}}$, 基质刚度趋于无限大时 ($E\to\infty$), $\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}=\dfrac{\tilde{k}_{\mathrm{CN}}}{1+\tilde{k}_{\mathrm{CN}}}\rho_{\mathrm{TWIST1,tot}}$, 当 TWIST1 入核速率远远大于出核速率时 ($\tilde{k}_{\mathrm{CN}}\gg 1$), $\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}\to 1$.

1.3　TWIST1 核定位对 SNAIL-ZEB 核心回路的调控模型

在 EMT 过程中,TWIST1 可以直接通过与 E/N-钙黏素的启动子结合的方式改变 E/N-钙黏素的表达[38-40],也可以通过影响 SNAIL1/2 来调控 E/N-钙黏素的表达[41-42].该模型中,我们假设核内的 TWIST1 通过 TGF-β 通路调控 Snail 转录,影响有效 TGF-β 的浓度.因此我们在式(2)上加入 $\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}$ 调控的一项,得到

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{Rsnail}}}{\mathrm{d}t}=k_{\mathrm{g0}}^{\mathrm{s}}+k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{s}}\frac{\left(\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}\dfrac{\rho_{\mathrm{TGF}}+\rho_{\mathrm{TGF,ext}}}{J_{\mathrm{s}}}\right)^2}{1+\left(\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}\dfrac{\rho_{\mathrm{TGF}}+\rho_{\mathrm{TGF,ext}}}{J_{\mathrm{s}}}\right)^2}-k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{s}}\rho_{\mathrm{Rsnail}}, \tag{17}$$

如图 1 所示.

为了简化计算,这里设定没有转化的上皮细胞 ($\rho_{\mathrm{TGF,ext}}=0$, $\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}\to 0$) 中的 ρ_{TGF}, ρ_{Rsnail}, ρ_{SNAIL}, ρ_{Rzeb},

ρ_{ZEB}, ρ_{miR34}, ρ_{miR200}, ρ_{Ecad}, ρ_{Ncad} 以及 $\rho_{\mathrm{TWIST1,tot}}$ 的初始值都为无量纲的 1, 设完全转化的间质细胞 ($\rho_{\mathrm{TGF,ext}} \to \infty$, $\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}} \to 1$) 中的相应分子的相对浓度为 $\rho_{\mathrm{TGF,M}}$, $\rho_{\mathrm{Rsnail,M}}$, $\rho_{\mathrm{SNAIL,M}}$, $\rho_{\mathrm{Rzeb,M}}$, $\rho_{\mathrm{ZEB,M}}$, $\rho_{\mathrm{miR34,M}}$, $\rho_{\mathrm{miR200,M}}$, $\rho_{\mathrm{Ecad,M}}$, $\rho_{\mathrm{Ncad,M}}$. 两种状态下对应分子相对浓度的时间导数 $\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{TGF}}}{\mathrm{d}t}$, $\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{Rsnail}}}{\mathrm{d}t}$, $\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{SNAIL}}}{\mathrm{d}t}$, $\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{Rzeb}}}{\mathrm{d}t}$, $\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{ZEB}}}{\mathrm{d}t}$, $\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{miR34}}}{\mathrm{d}t}$, $\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{miR200}}}{\mathrm{d}t}$, $\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{Ecad}}}{\mathrm{d}t}$, $\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{Ncad}}}{\mathrm{d}t}$ 都为 0. 根据式(1)、(3)—(9)和(17), 可以得到理想状态下完全 EMT 的间质细胞中的相对浓度表达式如下:

$$\rho_{\mathrm{TGF,M}} = \frac{\dfrac{k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{T}}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{miR200,M}}}{J_{\mathrm{T}}}\right)^{2}}}{k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{T}}}, \tag{18}$$

$$\rho_{\mathrm{Rsnail,M}} = \frac{k_{\mathrm{g0}}^{\mathrm{s}} + k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{s}}}{k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{s}}}, \tag{19}$$

$$\rho_{\mathrm{SNAIL,M}} = \frac{k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{S}}\rho_{\mathrm{SNAIL,M}}}{k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{S}}\left[1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{miR34,M}}}{J_{\mathrm{S}}}\right)^{2}\right]}, \tag{20}$$

$$\rho_{\mathrm{miR34,M}} = \frac{\dfrac{k_{\mathrm{g}}^{34}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL,M}}}{J_{34\mathrm{S}}}\right)^{2}+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{ZEB,M}}}{J_{34\mathrm{Z}}}\right)^{2}}}{k_{\mathrm{d}}^{34}}, \tag{21}$$

$$\rho_{\mathrm{Rzeb,M}} = \frac{k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{z}}\dfrac{\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL,M}}}{J_{\mathrm{z}}}\right)^{2}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL,M}}}{J_{\mathrm{z}}}\right)^{2}}}{k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{z}}}, \tag{22}$$

$$\rho_{\mathrm{ZEB,M}} = \frac{k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{Z}}\rho_{\mathrm{Rzeb,M}}}{k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{Z}}\left[1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{miR200,M}}}{J_{\mathrm{Z}}}\right)^{2}\right]}, \tag{23}$$

$$\rho_{\mathrm{miR200,M}} = \frac{\dfrac{k_{\mathrm{g}}^{200}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL,M}}}{J_{200\mathrm{S}}}\right)^{2}+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{ZEB,M}}}{J_{200\mathrm{Z}}}\right)^{2}}}{k_{\mathrm{d}}^{200}}, \tag{24}$$

$$\rho_{\mathrm{Ecad,M}} = \frac{\dfrac{k_{\mathrm{g1}}^{\mathrm{E}}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL,M}}}{J_{\mathrm{ES}}}\right)^{2}}+\dfrac{k_{\mathrm{g2}}^{\mathrm{E}}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{ZEB,M}}}{J_{\mathrm{EZ}}}\right)^{2}}}{k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{E}}}, \tag{25}$$

$$\rho_{\mathrm{Ncad,M}} = \frac{\dfrac{k_{\mathrm{g1}}^{\mathrm{N}}\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL,M}}}{J_{\mathrm{NS}}}\right)^{2}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{SNAIL,M}}}{J_{\mathrm{NS}}}\right)^{2}}+\dfrac{k_{\mathrm{g2}}^{\mathrm{N}}\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{ZEB,M}}}{J_{\mathrm{NZ}}}\right)^{2}}{1+\left(\dfrac{\rho_{\mathrm{ZEB,M}}}{J_{\mathrm{NZ}}}\right)^{2}}}{k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{N}}}. \tag{26}$$

由式(17)可以得到,足够硬的基底($\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}\to 1$)和足够高剂量的 TGF-β($\rho_{\mathrm{TGF,ext}}\to\infty$)诱导上皮细胞向间质细胞转化的过程中,Snail 信使 RNA 的相对浓度随时间变化的关系为

$$\rho_{\mathrm{Rsnail}}(t)=\rho_{\mathrm{Rsnail,M}}-(\rho_{\mathrm{Rsnail,M}}-1)\exp(-k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{s}}t)\,. \tag{27}$$

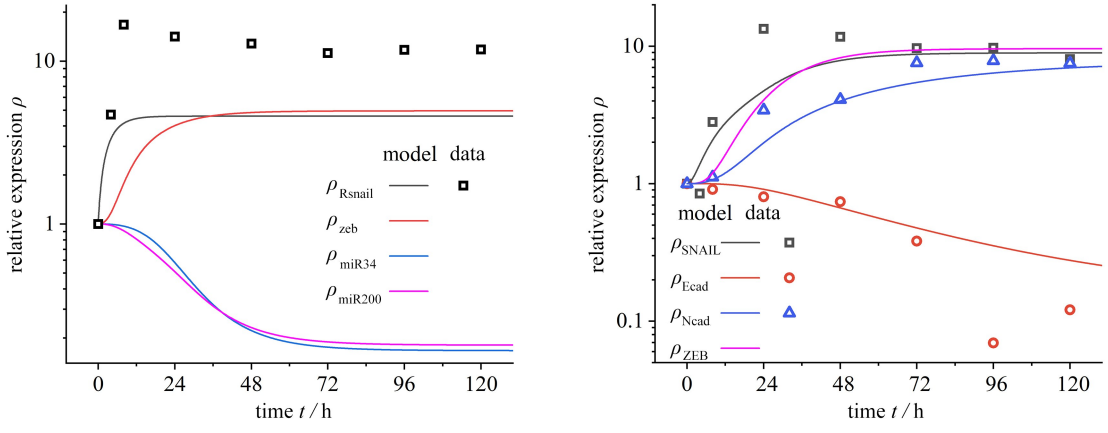
根据文献中报道的,充分诱导 EMT 前后,细胞中各蛋白和 RNA 的相对浓度(表 1,将上皮细胞相关分子的相对浓度设为 1),以及式(18)—(27),可以确定模型参数(表 2).

表 1　完全 EMT 后细胞中相关分子的相对浓度

Table 1　Relative expressions of related molecules in the full EMT state

notation	meaning	value	reference
$\rho_{\mathrm{TGF,M}}$	relative expression of endogenous TGF-β in mesenchymal cells	10	[19]
$\rho_{\mathrm{Rsnail,M}}$	relative expression of Snail mRNA in mesenchymal cells	5	[20,43]
$\rho_{\mathrm{SNAIL,M}}$	relative expression of SNAIL in mesenchymal cells	10	[20,43]
$\rho_{\mathrm{miR34,M}}$	relative expression of miR-34 in mesenchymal cells	0.15	[20]
$\rho_{\mathrm{Rzeb,M}}$	relative expression of Zeb mRNA in mesenchymal cells	5	[20]
$\rho_{\mathrm{ZEB,M}}$	relative expression of ZEB in mesenchymal cells	10	[20]
$\rho_{\mathrm{miR200,M}}$	relative expression of miR-200 in mesenchymal cells	0.15	[20]
$\rho_{\mathrm{Ecad,M}}$	relative expression of E-cadherin in mesenchymal cells	0.13	[20,43]
$\rho_{\mathrm{Ncad,M}}$	relative expression of N-cadherin in mesenchymal cells	8	[20,43]

下面以 Snail 信使 RNA 相关参数为例,给出模型参数确定的过程.文献[18]报道的 Snail 信使 RNA 表达量随时间变化如图 2(a)所示,由式(27)拟合可以得到 $k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{s}}=0.26\ \mathrm{h}^{-1}$, $\rho_{\mathrm{Rsnail,M}}=12.8$.由于不同文献关于 $\rho_{\mathrm{Rsnail,M}}$ 的报道有出入[20],这里只取拟合得到的 $k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{s}}$ 为有效值,而 $\rho_{\mathrm{Rsnail,M}}$ 保留表 1 中的赋值.没有转化的理想上皮细胞($\rho_{\mathrm{TGF,ext}}=0$, $\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}\to 0$)满足 $\rho_{\mathrm{Rsnail}}=1$ 且 $\dfrac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{Rsnail}}}{\mathrm{d}t}=0$, 代入式(17)可得 $k_{\mathrm{g0}}^{\mathrm{s}}=k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{s}}=0.26\ \mathrm{h}^{-1}$.而根据表 1,完全 EMT 后的间质细胞满足 $\rho_{\mathrm{Rsnail,M}}=5$ 且 $\dfrac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{Rsnail}}}{\mathrm{d}t}=0$, 代入式(19)可得 $k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{s}}=\rho_{\mathrm{Rsnail,M}}k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{s}}-k_{\mathrm{g0}}^{\mathrm{s}}=1.04\ \mathrm{h}^{-1}$.同时,还需满足没有外源性 TGF-β 干预的情况下($\rho_{\mathrm{TGF,ext}}=0$),内源性 TGF-β 的相对浓度变化($\rho_{\mathrm{TGF}}\in[1,\rho_{\mathrm{TGF,M}}]$)足以完成 EMT,可以确定 J_{s} 的变化范围.



(a) RNA 相对浓度随时间变化曲线　　(b) 蛋白相对浓度随时间变化曲线

(a) Time evolutions of the RNA expression　　(b) Time evolutions of the protein expression

图 2　在高浓度外源性 TGF-β 和高基质刚度条件下,EMT 过程中细胞的相关分子随时间的变化规律

Fig. 2　Time evolutions of relative expressions of related molecules in cells during the EMT induced by the high exogenous TGF-β level and the high matrix stiffness

注　为了解释图中的颜色,读者可以参考本文的电子网页版本,后同.

表 2 模型参数

Table 2 Parameters used in the model

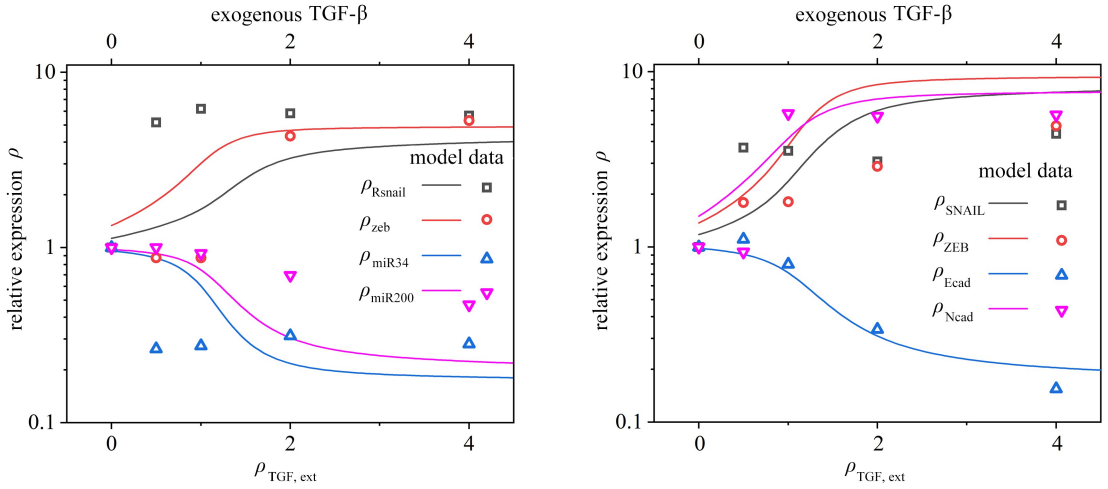
notation	meaning	value
$k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{T}}/\mathrm{h}^{-1}$	production rate of TGF-β	0.25
J_{T}	Michaelis constant of miR-200-inhibited production of TGF-β	0.29
$k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{T}}/\mathrm{h}^{-1}$	degradation rate ofTGF-β	0.02
$k_{\mathrm{g0}}^{\mathrm{s}}/\mathrm{h}^{-1}$	basic production rate of Snail mRNA	0.26
$k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{s}}/\mathrm{h}^{-1}$	TGF-β-dependent production rate of Snail mRNA	1.04
J_{s}	Michaelis constant of TGF-β-dependent Snail mRNA production	5
$k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{s}}/\mathrm{h}^{-1}$	degradation rate of Snail mRNA	0.26
$k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{S}}/\mathrm{h}^{-1}$	production rate of SNAIL	0.16
J_{S}	Michaelis constant of SNAIL production	1
$k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{S}}/\mathrm{h}^{-1}$	degradation rate of SNAIL	0.08
$k_{\mathrm{g}}^{34}/\mathrm{h}^{-1}$	production rate of miR-34	0.53
$J_{34\mathrm{S}}$	Michaelis constant of SNAIL-dependent miR-34 production	10
$J_{34\mathrm{Z}}$	Michaelis constant of ZEB-dependent miR-34 production	4.5
$k_{\mathrm{d}}^{34}/\mathrm{h}^{-1}$	degradation rate of miR-34	0.5
$k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{z}}/\mathrm{h}^{-1}$	production rate of Zeb mRNA	1.04
J_{z}	Michaelis constant of Zeb mRNA production	2
$k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{z}}/\mathrm{h}^{-1}$	degradation rate of Zeb mRNA	0.2
$k_{\mathrm{g}}^{\mathrm{Z}}/\mathrm{h}^{-1}$	production rate ZEB	0.2
J_{Z}	Michaelis constant of ZEB production	1
$k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{Z}}/\mathrm{h}^{-1}$	degradation rate of ZEB	0.1
$k_{\mathrm{g}}^{200}/\mathrm{h}^{-1}$	production rate of miR-200	0.53
$J_{200\mathrm{S}}$	Michaelis constant of SNAIL-dependent miR-200 production	4.5
$J_{200\mathrm{Z}}$	Michaelis constant of ZEB-dependent miR-200 production	10
$k_{\mathrm{d}}^{200}/\mathrm{h}^{-1}$	degradation rate of miR-200	0.5
$k_{\mathrm{g1}}^{\mathrm{E}}/\mathrm{h}^{-1}$	SNAIL-dependent production rate of E-cadherin	0.011
J_{ES}	Michaelis constant of SNAIL-dependent E-cadherin production	3.7
$k_{\mathrm{g2}}^{\mathrm{E}}/\mathrm{h}^{-1}$	ZEB-dependent production rate of E-cadherin	0.011
J_{EZ}	Michaelis constant of ZEB-dependent E-cadherin production	3.7
$k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{E}}/\mathrm{h}^{-1}$	degradation rate of E-cadherin	0.02
$k_{\mathrm{g1}}^{\mathrm{N}}/\mathrm{h}^{-1}$	SNAIL-dependent production rate of N-cadherin	0.086
J_{NS}	Michaelis constant of SNAIL-dependent N-cadherin production	2.76
$k_{\mathrm{g2}}^{\mathrm{N}}/\mathrm{h}^{-1}$	ZEB-dependent production rate of N-cadherin	0.086
J_{NZ}	Michaelis constant of ZEB-dependent N-cadherin production	2.76
$k_{\mathrm{d}}^{\mathrm{N}}/\mathrm{h}^{-1}$	degradation rate of N-cadherin	0.02
$\widetilde{k}_{\mathrm{CN}}$	relative import rate of TWIST1 into nucleus	10
$\widetilde{k}_{\mathrm{g}}^{\mathrm{TG}}$	relative binding rate of TWIST1 to G3BP2	100
E_0/kPa	stiffness where TWIST1 phosphorylation reaches the half maximum level	0.1

2 结果与讨论

2.1 外源性 TGF-β 剂量依赖的 EMT 进程和可逆性

已有实验表明,在高刚度基底上,足量的外源性 TGF-β(质量浓度 $\rho^* \geqslant 4$ ng/mL)刺激下,通过长时间培养($\geqslant 4$ d),可以诱导完全 EMT,使得细胞呈现 N-钙黏素高表达的间质状态[19-21].模型计算了高刚度、高外源性 TGF-β 相对浓度条件下,细胞中相关 RNA 和蛋白随时间演化的曲线,计算结果可以很好地捕捉文献报道的实验数据,如图 2 所示(数据点来源于文献[43],模型设定 $\rho_{\mathrm{TGF,ext}}=5$, $\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}=1$).结果表明:EMT 可以

显著提升间质相关标志物(SNAIL、ZEB、N-钙黏素)的表达,而降低上皮相关标志物(miR-34、miR-200、E-钙黏素)的表达,最早响应外源性 TGF-β 刺激的是转录因子 SNAIL,随后是转录因子 ZEB,最后是 E/N-钙黏素,这些结果与目前主流观点一致[19-20,23-24,26].而 E/N-钙黏素的变化在第 5 天就已接近平台,表明 EMT 可以在 5 天之内完成.为了得到稳定的转化表型,后面的模拟时长都固定在 10 天.我们接下来模型模拟不同外源性 TGF-β 相对浓度条件下,相关 RNA 和蛋白相对浓度的变化,并与文献中的数据进行了对比,如图 3 所示(数据点来源于文献[20],模型设定 $\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}=1$).可以看到,模型重现了文献中的实验结果,而且 1 个单位的外源性 TGF-β 相对浓度与文献中的 1 ng/mL 的质量浓度相当.当外源性 TGF-β 相对浓度大于 2 个单位后,细胞趋于完全 EMT 的状态,这与文献中报道的诱导完全 EMT 所用外源性 TGF-β 的质量浓度(2~10 ng/mL)一致[20-22,43].



(a) RNA 相对浓度随外源性 TGF-β 变化曲线　　(b) 蛋白相对浓度随外源性 TGF-β 变化曲线

(a) The RNA expression as a function of TGF-β　　(b) The protein expression as a function of TGF-β

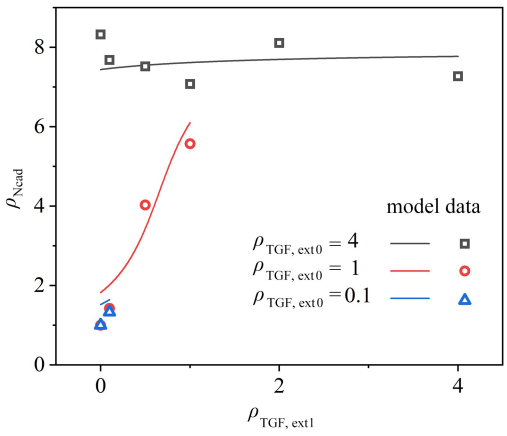
图 3　不同外源性 TGF-β 相对浓度诱导 10 天后,已完全 EMT 的细胞中相关分子随时间的变化规律

Fig. 3　The expressions of related molecules in cells treated with various exogenous TGF-β levels for 10 days

另外,有研究表明 EMT 并非非此即彼的过程[26].除了上皮和间质表型外,细胞还有可能呈现同时保有部分上皮特征和间质特征的部分 EMT(partial EMT, pEMT)表型.而部分 EMT 的癌细胞在保留了较强的细胞间力学黏附的同时,又被赋予了运动性、干性、致瘤性和治疗抗性等特性,从而增强了癌细胞的侵袭和转移能力[44-46].而值得注意的是,在撤去外源性 TGF-β 刺激的时候,发生部分 EMT 的细胞可以逆转回上皮表型的细胞,而完全 EMT 的细胞无法被逆转[19].为了探究 EMT 的可逆性,我们模型模拟了不同外源性 TGF-β 相对浓度($\rho_{\mathrm{TGF,ext0}}$)刺激足够长时间后,降低外源性 TGF-β 相对浓度到一定水平($\rho_{\mathrm{TGF,ext1}}$)再培养足够长时间,E/N-钙黏素相对浓度随时间的变化,如图 4 所示(数据点来源于文献[20]中的数据(N-钙黏素对应于 vimentin),模型设定 $\rho_{\mathrm{TWIST1,nuc}}=1$).模型再现了实验数据[20],预测结果表明:高相对浓度(4 个单位)的外源性 TGF-β 刺激后,细胞完成完全 EMT,可以通过自身反馈回路产生足量的内源性 TGF-β 维持间质表型,因此撤去外源性 TGF-β 无法使细胞恢复到上皮表型.然而,在中等相对浓度(1 个单位)的外源性 TGF-β 刺激后,细胞仅发生部分 EMT,在保留了上皮表型特征的同时又有了部分的间质表型特征,撤去外源性 TGF-β 可以使细胞恢复到上皮表型.而低相对浓度的外源性 TGF-β(0.1 个单位)几乎无法诱导 EMT 发生.这些结果表明,该模型很好地归纳了已有的外源性 TGF-β 刺激下 EMT 进程的变化规律.

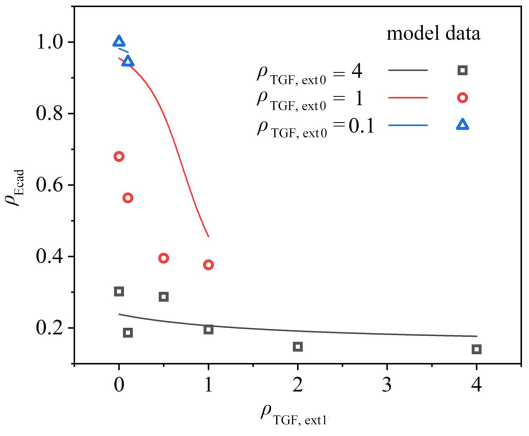
为了进一步探究 EMT 进程与外源性 TGF-β 相对浓度的关系,模型对常微分方程组(式(1)—(9))进行了分岔分析,如图 5 所示(所有计算结果是在不同初始条件下,分别模拟未 EMT、部分 EMT 以及完全 EMT 的细胞,常微分方程组的所有微分项置零后,割线法求解非线性方程组得到的).结果表明:当外源性 TGF-β 相对浓度小于 0.5 个单位时,方程组有且仅有两个解,即细胞存在两种绝对稳定的状态,即上皮和间质状态;而当外源性 TGF-β 相对浓度大于 0.5 个单位时,方程组仅有一个解,即细胞仅存在间质一种稳定状态.然而,如果允许一定的误差,细胞可以存在大量的中间状态,而这些中间状态随外源性 TGF-β 相对浓度的增加而减

少(图 5(a)、5(d)、5(g)).这些结果表明,低浓度的外源性 TGF-β 条件下,细胞会根据自身的初始状态选择向上皮或者间质表型转化,而高浓度的外源性 TGF-β 条件会倾向于诱导细胞彻底向间质表型转化.



(a) N-钙黏素相对浓度

(a) The relative expression of N-cadherin

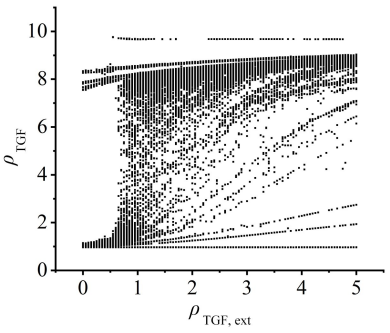


(b) E-钙黏素相对浓度

(b) The relative expression of E-cadherin

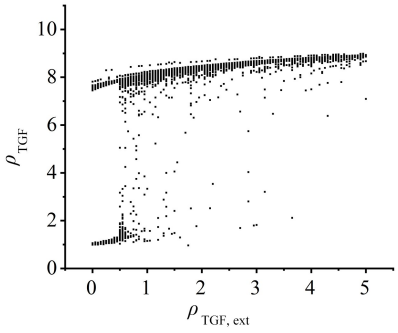
图 4 在不同外源性 TGF-β 相对浓度($\rho_{TGF,ext0}$)诱导细胞 EMT 发生 10 天后,将细胞置于相应外源性 TGF-β 相对浓度($\rho_{TGF,ext1}$)下培养 10 天,细胞中钙黏素相对浓度的变化

Fig. 4 Relative expressions of cadherins in cells firstly treated with various exogenous TGF-β levels ($\rho_{TGF,ext0}$) for 10 days and then with indicated exogenous TGF-β levels ($\rho_{TGF,ext1}$) for another 10 days



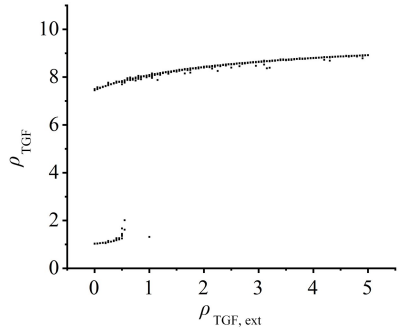
(a) 内源性 TGF-β 相对浓度,容许误差为 10^{-3}

(a) The relative expression of TGF-β with a max error of 10^{-3}



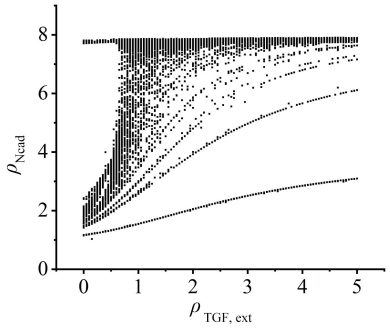
(b) 内源性 TGF-β 相对浓度,容许误差为 10^{-5}

(b) The relative expression of TGF-β with a max error of 10^{-5}



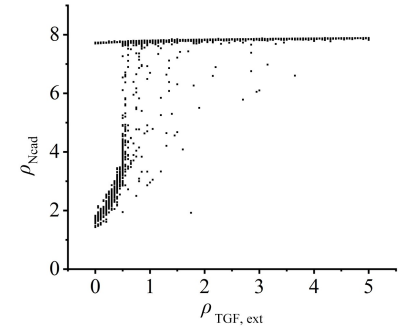
(c) 内源性 TGF-β 相对浓度,容许误差为 10^{-7}

(c) The relative expression of TGF-β with a max error of 10^{-7}



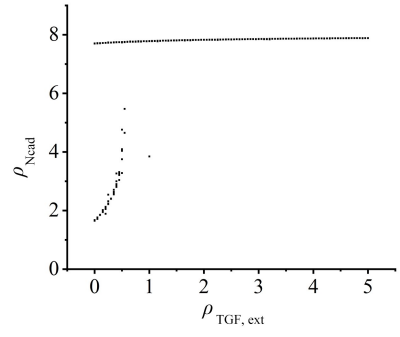
(d) N-钙黏素相对浓度,容许误差为 10^{-3}

(d) The relative expression of N-cadherin with a max error of 10^{-3}



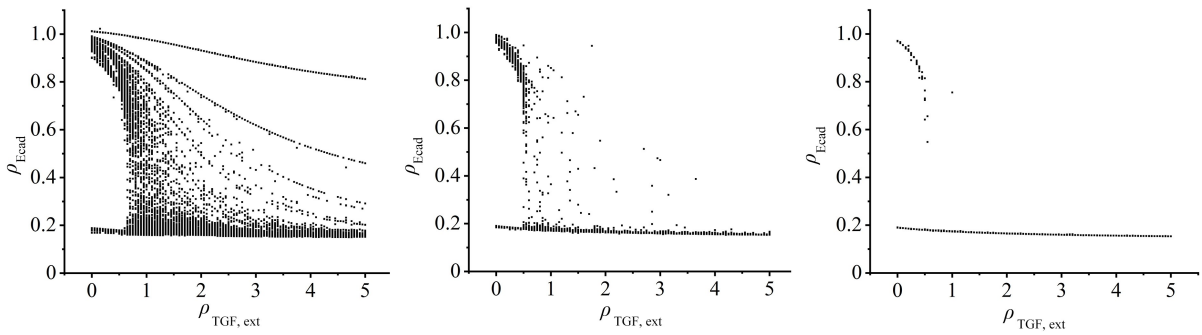
(e) N-钙黏素相对浓度,容许误差为 10^{-5}

(e) The relative expression of N-cadherin with a max error of 10^{-5}



(f) N-钙黏素相对浓度,容许误差为 10^{-7}

(f) The relative expression of N-cadherin with a max error of 10^{-7}



(g) E-钙黏素相对浓度,容许误差为 10^{-3}

(g) The relative expression of E-cadherin with a max error of 10^{-3}

(h) E-钙黏素相对浓度,容许误差为 10^{-5}

(h) The relative expression of E-cadherin with a max error of 10^{-5}

(i) E-钙黏素相对浓度,容许误差为 10^{7}

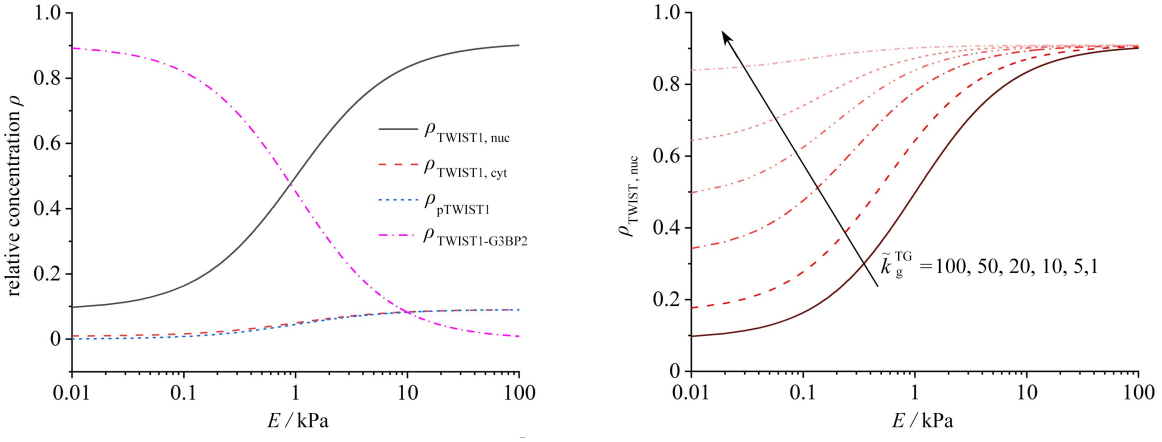
(i) The relative expression of E-cadherin with a max error of 10^{7}

图 5　外源性 TGF-β 诱导 EMT 的分岔分析

Fig. 5　Bifurcations of EMT-related markers vs. the exogenous TGF-β level

2.2　基质刚度通过 TWIST1 磷酸化影响其入核

然而,外源性 TGF-β 诱导 EMT 的过程不仅仅取决于其本身的浓度,也取决于细胞所处的力学环境.已有实验表明,增加基质刚度可以通过激活整合素介导的信号通路,磷酸化 TWIST1 上的酪氨酸残基 Tyr 103 (G3BP2 的结合位点),促进 TWIST1 从胞质中的锚定蛋白 G3BP2 释放而增加其核定位,而这一机制与细胞黏附-骨架收缩-核形变-YAP 核定位的力学调控途径不同[21,34,47-49].根据这一调控机制,我们模型模拟了不同形式的 TWIST1 随基质刚度的变化规律(图 6(a)).



(a) 不同形式 TWIST1 的相对浓度随基质刚度的变化关系

(a) Relative concentrations of different forms of TWIST1 as a function of the matrix stiffness

(b) 不同 G3BP2 结合速率($\tilde{k}_g^{TG}$)下,TWIST1 核内相对浓度随基质刚度的变化关系

(b) Relative concentrations of matrix stiffness-dependent nuclear TWIST1 under different G3BP2 binding rates ($\tilde{k}_g^{TG}$)

图 6　基质刚度与 TWIST1 核定位的关系

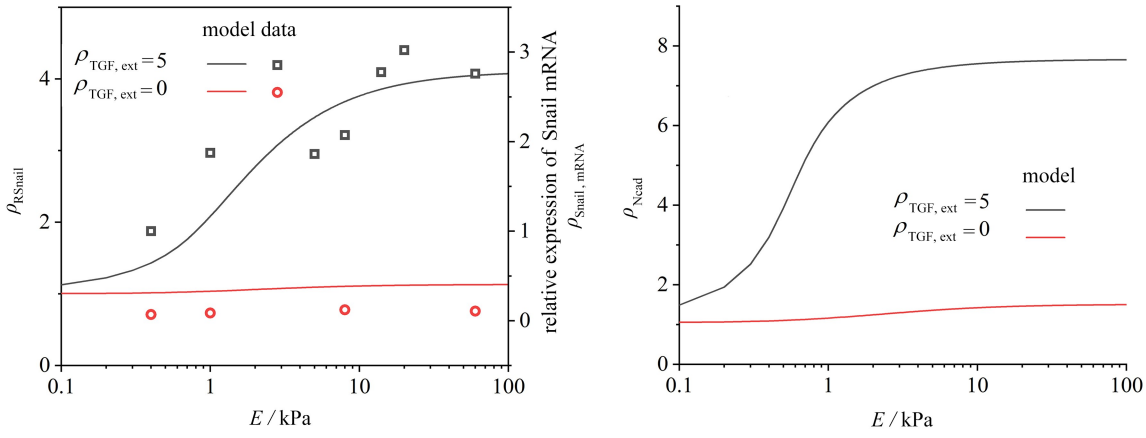
Fig. 6　The relationship between the nuclear translocation of TWIST1 and the matrix stiffness

可以看到,TWIST1 核内相对浓度($\rho_{TWIST1,nuc}$)随基质刚度之间的关系呈现 S 形曲线,基质刚度低于 0.1 kPa 时,TWIST1 核内相对浓度趋近于极小值,而高于 10 kPa 时,TWIST1 核内相对浓度趋于极大值,这与细胞实验中观察到的在 5.7 kPa 基质中 TWIST1 大部分集中于细胞核内,而在 0.15 kPa 基质中 TWIST1 大部分分散于细胞质中的现象一致[21,34].同时,计算结果表明胞质中 TWIST1 大部分以与 G3BP2 结合的形式存在,胞质中游离的 TWIST1 无论是否磷酸化都维持在较低的水平.模型进一步预测了不同 TWIST1-G3BP2 结合相对速率($\tilde{k}_g^{TG}$,与 G3BP2 相对浓度成正比)条件下,TWIST1 核内相对浓度随基质刚度的变化曲线(图 6(b)).结果表明,在软基底上降低 G3BP2 相对浓度都可以有效促使 TWIST1 核内相对浓度增加,这也与文献报道

的敲低 G3BP2 通过促进 TWIST1 入核来促进 EMT 发生的现象一致[21].

2.3 基质刚度和外源性 TGF-β 在 EMT 进程中的协同调控作用

为了进一步探究基质刚度和 TGF-β 如何协同影响 EMT 进程,我们模型模拟了有无外源性 TGF-β 刺激条件下,基质刚度对 Snai1 信使 RNA 以及 N-钙黏素相对浓度的影响,如图 7 所示(数据点来源于文献[22],模型设定 $\rho_{\mathrm{TGF,ext}}=5$, 培养时间为 10 天),计算结果与文献报道的实验结果一致.即没有外源性 TGF-β 刺激的条件下,增加基质刚度几乎不改变 Snail 的转录水平和 N-钙黏素表达量;在有充足的外源性 TGF-β 刺激下,增加基质刚度可以使 Snail 的转录水平产生显著的增高,从而推动细胞从上皮表型向间质表型转化;而在低基质刚度条件下,即使在充足的外源性 TGF-β 刺激下,细胞也不会发生 EMT.



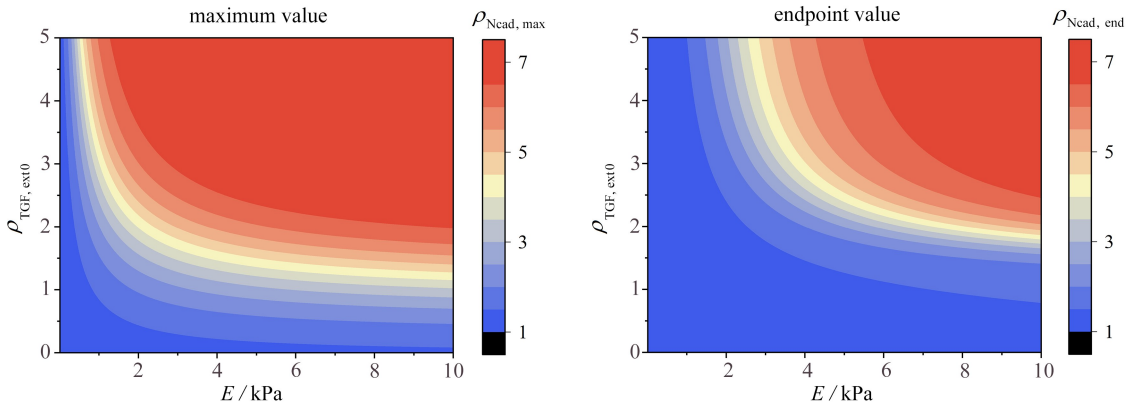
(a) Snai1 信使 RNA 相对浓度 (b) N-钙黏素相对浓度

(a) Relative expressions of Snai1 mRNA (b) Relative expressions of E-cadherin

图 7 有无外源性 TGF-β 刺激条件下,相关分子相对浓度随基质刚度的变化关系

Fig. 7 Relative expressions of related molecules as a function of the matrix stiffness with or without exogenous TGF-β

最后,我们模型计算了对一定在基质刚度上培养的上皮细胞,先进行外源性 TGF-β 刺激,后撤去外源性 TGF-β,N-钙黏素相对浓度的最大值和最终值随外源性 TGF-β 相对浓度和基质刚度的变化相图(图 8).



(a) N-钙黏素相对浓度的最大值 (b) N-钙黏素相对浓度的最终值

(a) The maximum expression of N-cadherin (b) The end-point expression of N-cadherin

图 8 上皮细胞在一定外源性 TGF-β 相对浓度($\rho_{\mathrm{TGF,ext0}}$)培养 10 天后,再撤去外源性 TGF-β 培养 10 天,N-钙黏素相对浓度的最大值和最终值随不同外源性 TGF-β 相对浓度和基质刚度的变化相图

Fig. 8 Phase diagrams showing N-cadherin maxima and end-point values at different matrix stiffnesses and exogenous TGF-β levels ($\rho_{\mathrm{TGF,ext0}}$). The simulations correpond to epithetial cells firstly treated with various exogenous TGF-β levels for 10 days and then without exogenous TGF-β for another 10 days

结果表明,只有在高于 2 kPa 的基底上,充足外源性 TGF-β 刺激下($\rho_{\mathrm{TGF,ext}}>2$),细胞才会发生完全 EMT($\rho_{\mathrm{Ncad}}>7$),而低剂量的 TGF-β 刺激($\rho_{\mathrm{TGF,ext}}<1$)只能诱导部分 EMT 的发生.而撤去外源性 TGF-β 刺

激时,部分 EMT 的表型可以恢复到上皮表型,但在足够硬的基底上 ($E > 6$ kPa),经历了足够高的外源性 TGF-β ($\rho_{\mathrm{TGF,ext}} > 2$) 刺激后的细胞会维持在间质表型.这些结果说明了高基质刚度和高外源性 TGF-β 是促使细胞发生完全 EMT 的充要条件.

为了理解不同参数值的变化如何影响基质刚度与 TGF-β 的协同作用,我们对表 2 中的 27 个参数进行了敏感性分析.每个参数上下调整 10%,选取了图 8 中的 1 个点 ($\rho_{\mathrm{TGF,ext}} = 2$, $E = 6$ kPa),观察 N-钙黏素相对浓度的最大值和最终值分别相对于标准参数的变化比例,如图 9 所示(标准参数组对应于图 8 中的指定点,$\rho_{\mathrm{TGF,ext}} = 2$, $E = 6$ kPa).根据这些参数对应的动力学过程,可以将其分为 4 组,分别为:内源性 TGF-β 调控参数、miR-34/SNAIL 调控参数、miR-200/ZEB 调控参数以及基质刚度-TWSIT1 调控参数.可以看出,相比于基质刚度-TWSIT1 调控参数,N-钙黏素相对浓度对其他三组生化信号相关调控参数的响应更加敏感,说明 EMT 过程中生化因素的影响比力学因素更为显著,这也就意味着细胞本身的初始状态(细胞类型)以及外界生化信号的诱导比单纯改变基质刚度更能影响细胞间力学黏附状态的转变.

值得注意的是,本文拟合的实验数据主要来源于人乳腺上皮细胞 MCF10A[20-21,43] 以及小鼠乳腺上皮细胞 NMuMG[22],不同来源的细胞在转化时间上会存在一定差异[19],但并不影响该模型得到的主要结论.

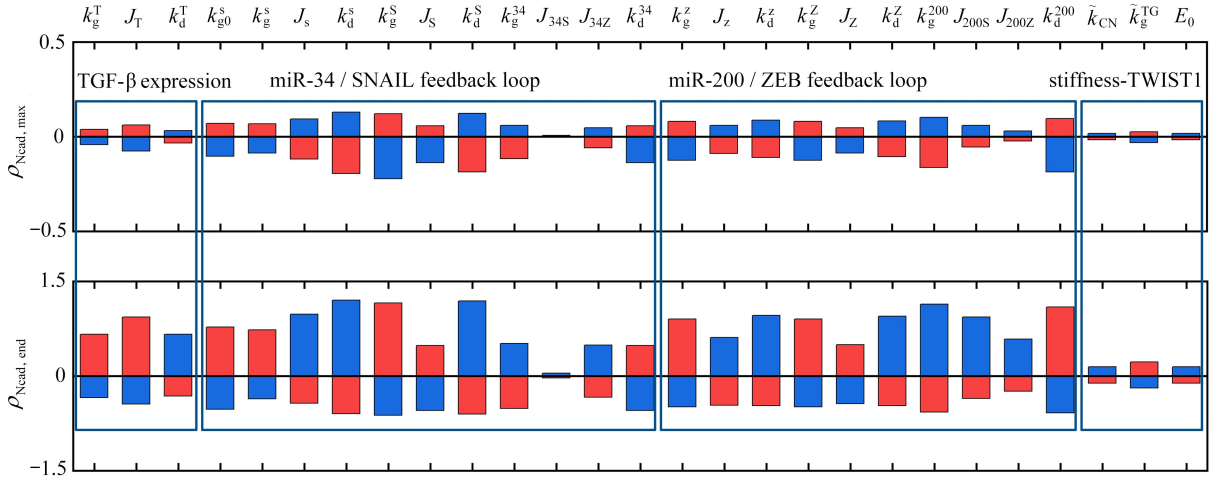


图 9　不同参数变化对 N-钙黏素相对浓度的最大值和最终值的影响

Fig. 9　The effects of changing parameters on N-cadherin maxima and end-point values

3　结　　论

本文建立了基质刚度和生长因子协同驱动 EMT 的核心调控回路模型.该模型整合了现有的基质刚度和 TGF-β 通过 EMT 核心转录因子(TWIST1、SNAIL1/2、ZEB1/2)调控细胞间力学黏附分子表达(E-钙黏素、N-钙黏素)的实验现象,揭示了力学因素和生化因素在 EMT 进程中的协同调控作用,为理解 EMT 过程中细胞功能的力-化耦合机制提供了新的视角.该研究不仅有助于揭示癌症发生发展的分子机制,还为从力学生物学角度开发新的癌症治疗策略奠定了理论基础.

参考文献(References):

[1]　NIETO M A, HUANG R Y J, JACKSON R A, et al. EMT: 2016[J]. *Cell*, 2016, **166**(1): 21-45.

[2]　孙玉川, 李红, 罗庆, 等. 肿瘤组织力学异质性与肿瘤细胞的上皮-间质转化[J]. 医用生物力学, 2021, **36**(4): 658-663. (SUN Yuchuan, LI Hong, LUO Qing, et al. Mechanical heterogeneity of tumor tissues and epithelial-mesenchymal transition of tumor cells[J]. *Journal of Medical Biomechanics*, 2021, **36**(4): 658-663. (in Chinese))

[3]　刘扬, 王金佩, 黄国友, 等. 肿瘤上皮-间质转化(EMT)的生物力学特性研究进展[J]. 西南民族大学学报(自然

科学版), 2020, **46**(6): 571-577. (LIU Yang, WANG Jinpei, HUANG Guoyou, et al. Research advances in biomechanical properties of EMT in tumor cells[J]. *Journal of Southwest University for Nationalities* (*Natural Science Edition*), 2020, **46**(6): 571-577. (in Chinese))

[4] FONT-NOGUERA M, MONTEMURRO M, BENASSAYAG C, et al. Getting started for migration: a focus on EMT cellular dynamics and mechanics in developmental models[J]. *Cells & Development*, 2021, **168**: 203717.

[5] THIERY J P, ACLOQUE H, HUANG R Y J, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease[J]. *Cell*, 2009, **139**(5): 871-890.

[6] STEMMLER M P, ECCLES R L, BRABLETZ S, et al. Non-redundant functions of EMT transcription factors [J]. *Nature Cell Biology*, 2019, **21**(1): 102-112.

[7] PUISIEUX A, BRABLETZ T, CARAMEL J. Oncogenic roles of EMT-inducing transcription factors[J]. *Nature Cell Biology*, 2014, **16**(6): 488-494.

[8] HAO Y, BAKER D, TEN D P. TGF-β-mediated epithelial-mesenchymal transition and cancer metastasis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, **20**(11): 2767.

[9] BOARETO M, JOLLY M K, GOLDMAN A, et al. Notch-jagged signalling can give rise to clusters of cells exhibiting a hybrid epithelial/mesenchymal phenotype[J]. *Journal of the Royal Society Interface*, 2016, **13** (118): 20151106.

[10] 刘祉宁, 桑晨. 炎性因子引起器官纤维化及上皮-间充质转化机制的研究进展[J]. 生命科学, 2018, **30**(8): 868-875. (LIU Zhining, SANG Chen. Roles of proinflammatory cytokines in organ fibrosis and epithelial-mesenchymal transition[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2018, **30**(8): 868-875. (in Chinese))

[11] DESPRAT N, SUPATTO W, POUILLE P A, et al. Tissue deformation modulates twist expression to determine anterior midgut differentiation in drosophila embryos[J]. *Developmental Cell*, 2008, **15**(3): 470-477.

[12] 张众, XIAO G G S, 石宇, 等. 细胞生命进程中 microRNA 调控的意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, **28** (5): 477-481. (ZHANG Zhong, XIAO G G S, SHI Yu, et al. Significance of microRNA regulation in cell life process[J]. *Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2012, **28**(5): 477-481. (in Chinese))

[13] FENG X, WANG Z, FILLMORE R, et al. MiR-200, a new star miRNA in human cancer[J]. *Cancer Letters*, 2014, **344**(2): 166-173.

[14] WELLNER U, SCHUBERT J, BURK U C, et al. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs[J]. *Nature Cell Biology*, 2009, **11**(12): 1487-1495.

[15] CHEN L, GIBBONS D L, GOSWAMI S, et al. Metastasis is regulated via microRNA-200/ZEB1 axis control of tumour cell PD-L1 expression and intratumoral immunosuppression[J]. *Nature Communications*, 2014, **5** (1): 5241.

[16] SIEMENS H, JACKSTADT R, HÜNTEN S, et al. miR-34 and SNAIL form a double-negative feedback loop to regulate epithelial-mesenchymal transitions[J]. *Cell Cycle*, 2011, **10**(24): 4256-4271.

[17] HAHN S, JACKSTADT R, SIEMENS H, et al. SNAIL and miR-34a feed-forward regulation of ZNF281/ZBP99 promotes epithelial-mesenchymal transition[J]. *The EMBO Journal*, 2013, **32**(23): 3079-3095.

[18] GREGORY P A, BRACKEN C P, SMITH E, et al. An autocrine TGF-β/ZEB/miR-200 signaling network regulates establishment and maintenance of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2011, **22**(10): 1686-1698.

[19] TIAN X J, ZHANG H, XING J. Coupled reversible and irreversible bistable switches underlying TGFβ-induced epithelial to mesenchymal transition[J]. *Biophysical Journal*, 2013, **105**(4): 1079-1089.

[20] ZHANG J, TIAN X J, ZHANG H, et al. TGF-β-induced epithelial-to-mesenchymal transition proceeds through stepwise activation of multiple feedback loops[J]. *Science Signaling*, 2014, **7**(345): ra91.

[21] WEI S C, FATTET L, TSAI J H, et al. Matrix stiffness drives epithelial-mesenchymal transition and tumour metastasis through a TWIST1-G3BP2 mechanotransduction pathway[J]. *Nature Cell Biology*, 2015, **17**(5): 678-688.

[22] LEIGHT J L, WOZNIAK M A, CHEN S, et al. Matrix rigidity regulates a switch between TGF-β1-induced apoptosis and epithelial-mesenchymal transition[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2012, **23**(5): 781-791.

[23] LU M, JOLLY M K, LEVINE H, et al. MicroRNA-based regulation of epithelial-hybrid-mesenchymal fate determination[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, **110**(45): 18144.

[24] TRIPATHI S, CHAKRABORTY P, LEVINE H, et al. A mechanism for epithelial-mesenchymal heterogeneity in a population of cancer cells[J]. *PLOS Computational Biology*, 2020, **16**(2): e1007619.

[25] BOCCI F, GEARHART-SERNA L, BOARETO M, et al. Toward understanding cancer stem cell heterogeneity in the tumor microenvironment[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, **116**(1): 148-157.

[26] TRIPATHI S, LEVINE H, JOLLY M K. The physics of cellular decision making during epithelial-mesenchymal transition[J]. *Annual Review of Biophysics*, 2020, **49**(1): 1-18.

[27] PEINADO H, QUINTANILLA M, CANO A. Transforming growth factor β-1 induces snail transcription factor in epithelial cell lines: mechanisms for epithelial mesenchymal transitions[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, **278**(23): 21113-21123.

[28] DAVE N, GUAITA-ESTERUELAS S, GUTARRA S, et al. Functional cooperation between SNAIL1 and TWIST in the regulation of ZEB1 expression during epithelial to mesenchymal transition[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, **286**(14): 12024-12032.

[29] CANO A, PÉREZ-MORENO M A, RODRIGO I, et al. The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression[J]. *Nature Cell Biology*, 2000, **2**(2): 76-83.

[30] BATLLE E, SANCHO E, FRANCÍ C, et al. The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells[J]. *Nature Cell Biology*, 2000, **2**(2): 84-89.

[31] MORENO-BUENO G, CUBILLO E, SARRIÓ D, et al. Genetic profiling of epithelial cells expressing E-cadherin repressors reveals a distinct role for snail, slug, and E47 factors in epithelial-mesenchymal transition[J]. *Cancer Research*, 2006, **66**(19): 9543-9556.

[32] VANDEWALLE C, COMIJN J, DE CRAENE B, et al. SIP1/ZEB2 induces EMT by repressing genes of different epithelial cell-cell junctions[J]. *Nucleic Acids Research*, 2005, **33**(20): 6566-6578.

[33] JIN G, ZHANG Z, WAN J, et al. G3BP2: structure and function[J]. *Pharmacological Research*, 2022, **186**: 106548.

[34] FATTET L, JUNG H Y, MATSUMOTO M W, et al. Matrix rigidity controls epithelial-mesenchymal plasticity and tumor metastasis via a mechanoresponsive EPHA2/LYN complex[J]. *Developmental Cell*, 2020, **54**(3): 302-316.

[35] 龚博, 林骥, 王彦中, 等. 细胞骨架与细胞外基质的力学建模与分析[J]. 应用数学和力学, 2021, **42**(10): 1024-1044. (GONG Bo, LIN Ji, WANG Yanzhong, et al. Mechanical modeling and analyses of cytoskeleton and extracellular matrix[J]. *Applied Mathematics and Mechanics*, 2021, **42**(10): 1024-1044. (in Chinese))

[36] CHENG B, WAN W, HUANG G, et al. Nanoscale integrin cluster dynamics controls cellular mechanosensing via FAKY397 phosphorylation[J]. *Science Advances*, 2020, **6**(10): eaax1909.

[37] 程波, 徐峰. 考虑细胞外基质黏弹性行为的细胞黏附力学模型[J]. 应用数学和力学, 2021, **42**(10): 1074-1080. (CHENG Bo, XU Feng. A molecular clutch model of cellular adhesion on viscoelastic substrate[J]. *Applied Mathematics and Mechanics*, 2021, **42**(10): 1074-1080. (in Chinese))

[38] ALEXANDER N R, TRAN N L, REKAPALLY H, et al. N-cadherin gene expression in prostate carcinoma is modulated by integrin-dependent nuclear translocation of TWIST1[J]. *Cancer Research*, 2006, **66**(7): 3365-3369.

[39] REN J, CROWLEY S D. TWIST1: a double-edged sword in kidney diseases[J]. *Kidney Diseases*, 2020, **6**(4): 247-257.

[40] YANG M H, HSU D S, WANG H W, et al. BMI1 is essential in TWIST1-induced epithelial-mesenchymal transi-

tion[J]. *Nature Cell Biology*, 2010, **12**(10): 982-992.

[41] XU Y, LEE D K, FENG Z, et al. Breast tumor cell-specific knockout of TWIST1 inhibits cancer cell plasticity, dissemination, and lung metastasis in mice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2017, **114**(43): 11494-11499.

[42] CASAS E, KIM J, BENDESKY A, et al. SNAIL2 is an essential mediator of TWIST1-induced epithelial mesenchymal transition and metastasis[J]. *Cancer Research*, 2011, **71**(1): 245-254.

[43] TRAN D D, CORSA CAS, BISWAS H, et al. Temporal and spatial cooperation of SNAIL1 and TWIST1 during epithelial-mesenchymal transition predicts for human breast cancer recurrence[J]. *Molecular Cancer Research*, 2011, **9**(12): 1644-1657.

[44] SUBBALAKSHMI A R, ASHRAF B, JOLLY M K. Biophysical and biochemical attributes of hybrid epithelial/mesenchymal phenotypes[J]. *Physical Biology*, 2022, **19**(2): 025001.

[45] CUI J, ZHANG C, LEE J E, et al. MLL3 loss drives metastasis by promoting a hybrid epithelial-mesenchymal transition state[J]. *Nature Cell Biology*, 2023, **25**(1): 145-158.

[46] MULLINS R D Z, PAL A, BARRETT T F, et al. Epithelial-mesenchymal plasticity in tumor immune evasion[J]. *Cancer Research*, 2022, **82**(13): 2329-2343.

[47] ZHU H, MIAO R, WANG J, et al. Advances in modeling cellular mechanical perceptions and responses via the membrane-cytoskeleton-nucleus machinery[J]. *Mechanobiology in Medicine*, 2024, **2**(1): 100040.

[48] ZHANG C, ZHU H, REN X, et al. Mechanics-driven nuclear localization of YAP can be reversed by N-cadherin ligation in mesenchymal stem cells[J]. *Nature Communications*, 2021, **12**(1): 6229.

[49] ZHANG Z, ZHU H, ZHAO G, et al. Programmable and reversible integrin-mediated cell adhesion reveals hysteresis in actin kinetics that alters subsequent mechanotransduction[J]. *Advanced Science*, 2023, **10**(35): 2302421.