

考虑细胞外基质黏弹性行为的细胞黏附力学模型*

程 波^{1,2}, 徐 峰^{1,2}

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

摘要: 细胞外基质由大量胶原蛋白和纤维蛋白组成, 这些基质蛋白形成复杂的交联网络状结构, 具有黏弹性力学特性. 研究表明, 黏弹性基质能显著影响细胞迁移、增殖和分化等生理行为, 还能影响癌症转移和组织纤维化等疾病的发生与发展. 然而, 细胞感知细胞外基质黏弹性力学特性的分子机制仍不清楚. 该文通过建立细胞黏附力学模型, 从分子层次揭示细胞黏附在细胞响应外界黏弹性力学微环境中的作用. 结果表明, 细胞能通过调控细胞黏附动力学 (包括黏附周期和黏附形成时间) 响应细胞外基质的黏弹性力学特性. 通过将模型计算结果与实验现象相比较, 验证了模型的正确性. 细胞黏附力学模型将为组织工程中细胞力学微环境的构建奠定理论基础.

关键词: 黏弹性; 力信号传导; 细胞黏附; 力学微环境

中图分类号: O39 **文献标志码:** A **DOI:** 10.21656/1000-0887.420259

A Molecular Clutch Model for Cellular Adhesion on Viscoelastic Substrate

CHENG Bo^{1,2}, XU Feng^{1,2}

- (1. *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), Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, P.R.China)

Abstract: The viscoelastic nature of the microenvironment around a cell is critical to cell mechanobiology, and modulates the mechanical feedback between cells and extracellular matrix. However, the mechanisms underlying the ways that cells actively sense and respond to the viscoelastic microenvironment remain elusive. Therefore a molecular clutch model was developed for cell traction to predict the effects of substrate viscoelasticity on the dynamics of focal adhesions connecting the intracellular actin cytoskeleton to the viscoelastic substrate. The model predicts that certain levels of viscoelastic dampings can increase cell tractions on relatively compliant substrates, and this damping reduces cell tractions on relatively stiff substrates. The model predictions are qualitatively consistent well with reported experimental observations. The model offers physical insights into the role of substrate viscoelasticity on cell tractions and cell spreading.

* 收稿日期: 2021-08-31; 修订日期: 2021-09-23

基金项目: 国家自然科学基金(11972280;11761161004;12002262)

作者简介: 程波(1988—),男,助理教授,博士(E-mail: chenbo8874@163.com);

徐峰(1980—),男,教授,博士(通讯作者. E-mail: fengxu@mail.xjtu.edu.cn).

引用格式: 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.

Key words: viscoelasticity; mechanotransduction; cell adhesion; mechanical microenvironment

引 言

细胞力学微环境能显著影响细胞生物学行为,例如细胞迁移、增殖和分化等。此外,细胞力学微环境异常变化常常导致疾病的发生,例如癌症转移和组织纤维化等^[1-5]。细胞黏附(focal adhesions, FAs)能将肌动蛋白丝和细胞外基质相连,通过调节细胞牵张力感知细胞力学微环境(如基质力学特性、流体剪切力等),被认为是细胞重要的力敏感单元^[6-9]。细胞牵张力与细胞黏附动力学过程密切相关。例如,细胞牵张力的增加能显著增强细胞与细胞外基质的连接强度^[10]。而细胞黏附强度的增加(同时伴随着细胞牵张力的增大)与乳腺癌、肺癌等癌细胞的侵袭能力增强显著相关^[11]。然而,细胞如何通过细胞黏附调节细胞牵张力进而感知细胞外基质力学特性及其潜在的分子机制仍不清楚。

美国明尼苏达大学 Odde 课题组建立了细胞黏附力学模型(motor-clutch model)^[12-15]。该模型将细胞黏附蛋白和细胞外基质抽象为线性弹簧,描述了神经细胞牵张力和基质硬度之间的双相关系,揭示了神经细胞丝状伪足感知基质硬度的分子机制。近来,我们对该模型进行修正,引入“最弱分子连接键(weakest link)转换”动力学过程,即最弱分子连接键可从“肌动蛋白丝-整合素分子连接键”转移至“整合素-基质蛋白分子连接键”。修正后的模型可以预测成纤维细胞中细胞牵引力和基质刚度之间的单调关系^[16]。

体细胞外基质(如胶原蛋白和纤维蛋白)常常表现出黏弹性力学特征(如应力松弛等)^[17-18]。研究表明,细胞外基质的黏弹性力学特性能显著影响细胞生物学行为^[2]。例如,在具有相同初始模量的弹性基质与黏弹性基质上,细胞在黏弹性基质上表现出更高的牵张力与更大的铺展面积^[19]。然而,目前的细胞黏附力学模型并不能刻画黏弹性基质对细胞生物学行为的影响。因此,细胞对基质黏弹性力学特性的响应机制仍不清楚。

本文通过建立细胞黏附力学模型,揭示了细胞感知和响应基质黏弹性力学特性的分子机制。结果表明:1) 细胞牵张力最大值受到细胞黏附周期、细胞黏附形成时间及基质松弛时间的共同影响;2) 细胞牵张力受黏弹性基质三个力学参数(初始模量、长期模量及松弛时间)的影响。细胞黏附力学模型与现有实验结果一致,为深入理解细胞感知基质黏弹性力学特性的机理提供了理论依据。

1 理论模型

1.1 模型框架

本文通过建立细胞黏附力学模型,从分子尺度揭示细胞感知和响应基质黏弹性力学特性的机制。细胞黏附力学模型包含细胞内肌动蛋白丝、肌动蛋白马达、细胞黏附蛋白和细胞外基质。肌动蛋白马达通过牵拉肌动蛋白丝,使肌动蛋白丝产生向心流动。如图 1(a)所示,模型中每个肌动蛋白马达施加力为 F_m (pN);肌动蛋白丝无负载回流速率为 V_u (nm/s),其有效回流速率 V_r (nm/s) 与肌动蛋白马达牵拉力 ($F_{st} = n_m F_m$) 相关,计算方程如下:

$$V_r = V_u \left(1 - \frac{F_s}{F_{st}} \right), \quad (1)$$

$$F_s = k_c \sum_{i=1}^{n_c} (x_i - x_s), \quad (2)$$

其中 n_c 是细胞黏附分子数目, x_i (nm) 是细胞黏附分子的位置, x_s (nm) 是细胞外基质的位置。肌动蛋白丝通过细胞黏附分子与黏弹性基质连接,细胞黏附分子的弹性系数为 k_c (pN/nm)。细胞黏附分子键的形成速率为 k_{on} (s^{-1}),断裂速率为 k_{off} (s^{-1})。细胞黏附断裂速率与细胞黏附分子键内张力 F_i (pN) 相关,

$$k_{off} = k_0 e^{F_i/F_b}, \quad (3)$$

$$F_i = k_c (x_i - x_s), \quad (4)$$

其中, F_b (pN) 是细胞黏附分子键的特征断裂力, k_0 (s^{-1}) 是分子键的无负载断裂速率。黏弹性基质的力学行为由标准线性固体模型进行刻画,其应力-应变关系如下:

$$(E_a + E_l)\eta \frac{dx_s}{dt} + E_a E_l x_s = E_a F_s + \eta \frac{dF_s}{dt}, \quad (5)$$

其中 E_a (pN/nm) 和 E_l (pN/nm) 分别为黏弹性体模量系数, η (pN·s/nm) 为黏度系数. 细胞铺展速度 V_{edge} (nm/s) 计算如下:

$$V_{\text{edge}} = V_{\text{poly}} - V_r, \quad (6)$$

其中 V_{poly} (nm/s) 是肌动蛋白丝的聚合速率.

黏弹性基质的标准线性固体模型应力-应变等式的无量纲形式如下:

$$K_{\text{short}} \frac{dx_s^*}{dt^*} + K_{\text{long}} x_s^* = F_s^* + \frac{dF_s^*}{dt^*}, \quad (7)$$

其中

$$F_s^* = \sum_{i=1}^{n_c} (x_i^* - x_s^*), \quad K_{\text{short}} = \frac{E_a + E_l}{k_c}, \quad K_{\text{long}} = \frac{E_l}{k_c}, \quad x_i^* = \frac{x_i}{V_u \tau_s}, \quad x_s^* = \frac{x_s}{V_u \tau_s}, \quad t^* = \frac{t}{\tau_s},$$

τ_s 是黏弹性基质的应力松弛时间, K_{short} 和 K_{long} 分别是基质的初始模量和长期模量, $K_{\text{long}} = K_{\text{short}} / (E_a / E_l + 1)$, x_i^* 和 x_s^* 分别代表黏附分子键和细胞外基质的位移. 本文主要通过黏弹性材料的三个力学参数 (K_{short} , K_{long} 和 τ_s) 来反映黏弹性基质对细胞黏附、牵张力及细胞铺展的影响.

1.2 数值方法

细胞黏附力学模型利用 Gillespie 随机模拟算法实现. 在每一循环步中, 依次执行以下步骤: 1) 根据每个黏附分子键上的张力, 计算分子键的断裂速率; 2) 计算循环中每个潜在反应的暂定反应时间,

$$t_i = \frac{-\ln(N_{\text{RAN}_i})}{k_i}, \quad (8)$$

其中 N_{RAN_i} 是 0 到 1 之间均匀分布的随机数, k_i 是每个黏附分子键的形成及断裂动力学速率; 3) 选取并执行暂定反应时间最小的化学反应; 4) 根据当前循环内细胞牵引力, 用线性力-速度关系计算肌动蛋白丝逆行流率; 5) 通过肌动蛋白丝逆行流率和时间步长的乘积更新细胞黏附分子键的伸长; 6) 通过标准线性固体模型的力-位移关系, 更新细胞外基质位置; 7) 计算细胞铺展速率; 8) 返回第 1) 步. 参数值见表 1.

表 1 细胞黏附力学模型参数

Table 1 Model parameters used in the simulation

| parameter | symbol | value |
|---|--|---------------------|
| number of myosin motors | n_m | 50 |
| stall force of motor | F_m / pN | 2 |
| maximum actin flow rate | $V_u / (\text{nm/s})$ | 120 |
| number of clutch bonds | n_c | 50 |
| characteristic rupture force of clutch bond | F_b / pN | 2 |
| bond on-rate | $k_{\text{on}} / \text{s}^{-1}$ | 0.3 |
| bond unload off-rate | $k_{\text{off}} / \text{s}^{-1}$ | 0.1 |
| bond spring constant | $k_c / (\text{pN/nm})$ | 0.8 |
| substrate long-term stiffness | $E_l / (\text{pN/nm})$ | $10^{-2} \sim 10^2$ |
| substrate additional stiffness | $E_a / (\text{pN/nm})$ | $10^{-2} \sim 10^2$ |
| substrate viscosity | $\eta / (\text{pN} \cdot \text{s/nm})$ | $10^{-2} \sim 10^2$ |

2 结 果

2.1 细胞黏附及细胞牵张力动力学

首先利用模型分析基质松弛时间 (τ_s) 对细胞黏附周期 (τ_c) 和细胞牵张力的影响. 黏弹性基质松弛时间显著影响细胞黏附动力学, 包括细胞黏附周期及细胞牵张力的变化速度 (图 1(b)、(c)). 在松弛时间较短 ($\tau_s \approx 0.01 \text{ s}$, 蓝线) 的黏弹性基质上, 细胞黏附周期长, 形成的细胞黏附分子键多, 细胞牵张力增长速率慢. 同

时,在细胞黏附周期内,当 $\tau_s \approx 0.1$ s 时(紫线),细胞牵张力的增长速度呈现先高后低的现象,且细胞牵张力处于最高值(78.63 pN)。当基质松弛时间进一步提高后($\tau_s \approx 1$ s 时,绿线),细胞黏附周期变短,只形成较少黏附分子键,细胞牵张力进而降低。综上所述,黏弹性基质的松弛时间是影响细胞黏附动力学(黏附周期)及细胞牵张力动态变化的重要力学参数。

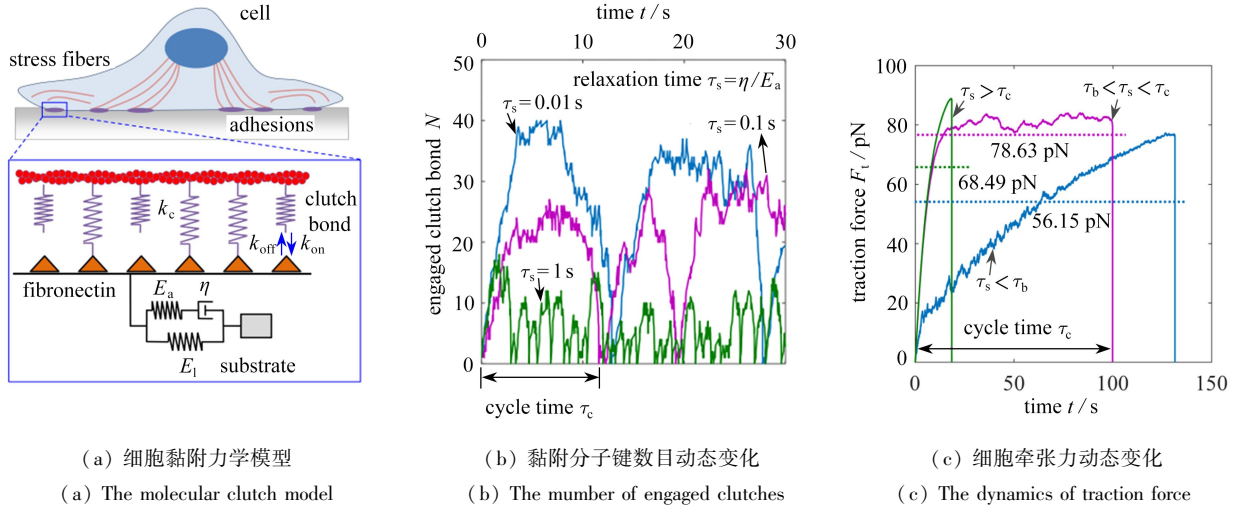


图 1 黏弹性基质上细胞黏附及牵张力动力学

Fig. 1 Molecular clutch dynamics of cell tractions on the viscoelastic substrate

2.2 时间尺度分析

为进一步分析细胞产生最大牵张力的理论机制,对细胞黏附力学模型中的三个时间尺度(细胞黏附周期 τ_c 、基质松弛时间 τ_s 和细胞黏附形成时间 τ_b) 进行分析(图 2(a)).细胞黏附形成时间表示为

$$\tau_b = \frac{1}{k_{on}} \sum_{i=0}^{n_c-1} \frac{1}{n_c - i},$$

其中 k_{on} (s^{-1}) 是细胞黏附分子键的形成速率, n_c 是细胞黏附分子的数量。当细胞黏附分子数目固定后,细胞黏附形成时间为常数,约为 14 s(蓝线)。当细胞黏附周期(τ_c) 约等于细胞黏附形成时间(τ_b) 时,细胞牵张力达到最大值。当 $\tau_c > \tau_b$ 时,细胞黏附系统处于“滑动-摩擦(frictional-slippage)”区域,单个细胞黏附分子键在细胞黏附周期内发生随机断裂,难以使细胞牵张力达到最大值;当 $\tau_c < \tau_b$ 时,细胞黏附系统处于“负载-失效(load and fail)”区域,即在细胞黏附周期内,细胞黏附分子键难以形成,同样导致细胞牵张力下降。因此,使细胞牵张力呈现出先上升后下降的趋势。同时,细胞最大牵张力的产生由细胞黏附周期(τ_c) 与细胞黏附形成时间(τ_b) 共同决定。

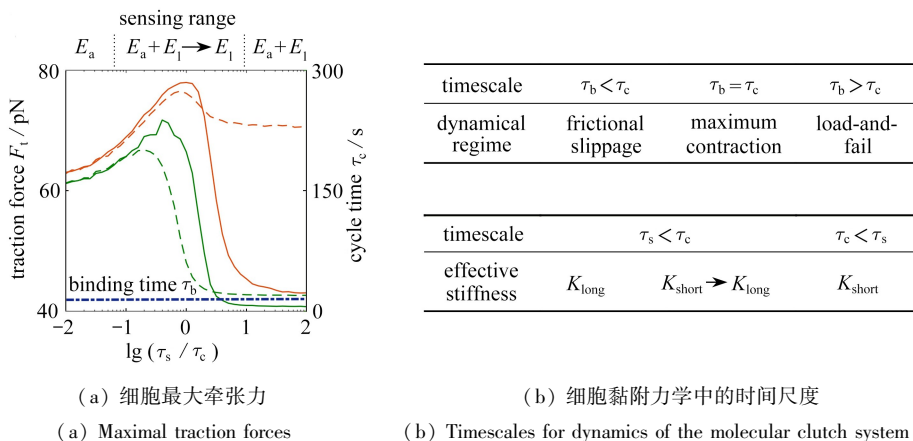


图 2 细胞黏附力学模型时间尺度分析

Fig. 2 Timescales analysis in the molecular clutch model

接下来,进一步考虑基质松弛时间对细胞牵张力的影响机制.如图2(a)所示,考虑当基质的初始模量差异较大,而长期模量相同时的系统动力学行为,即(i) $E_a = 10 \text{ pN/nm}$ 且 $E_l = 0.01 \text{ pN/nm}$ (实线);(ii) $E_a = 0.1 \text{ pN/nm}$ 且 $E_l = 0.01 \text{ pN/nm}$ (虚线).当 $\tau_s > \tau_c$ 时,在细胞黏附周期内,由于松弛时间较高,基质模量变化较小,因此细胞只受到黏弹性基质初始模量(K_{short})的影响.当 $\tau_s < \tau_c$ 时,在细胞黏附周期内,基质应力松弛现象较为明显,而应力的降低将减少细胞黏附分子键中的张力,进而延长其连接时间,最终导致细胞产生更强的牵张力.当基质松弛时间非常小时,黏弹性基质的有效模量值将在较短时间内达到其长期模量附近,而该时间尺度远小于细胞黏附周期.因此,细胞只受到基质长期模量(K_{long})的影响.如图2(b)所示,当基质松弛时间较长或者较短时,细胞最大牵张力均发生在模量为 $0.09 \sim 0.1$ 区域内.综上所述,可做出如下结论:1) 细胞黏附周期等于细胞黏附形成时间时,细胞呈现最大牵张力;2) 细胞黏附周期与基质松弛时间决定细胞感知到黏弹性基质力学特性的差异.

2.3 细胞牵张力受力学参数调控

接下来,进一步分析 K_{short} , E_a/E_l 和 τ_s 对细胞牵张力的影响.当 τ_s 较高时($\tau_s \approx 100 \text{ s}$),黏弹性基质在细胞黏附周期内尚未发生明显松弛现象($\tau_s > \tau_c$),细胞力敏感行为与在弹性基质上类似.因此,细胞牵张力与基质初始模量(K_{short})之间呈现双相关系(图3,紫线).其中,基质有效模量(E_e)代表在细胞黏附周期内,黏弹性基质模量的平均值.在 τ_s 较低时,基质在细胞黏附周期内很快松弛到其长期模量附近,因此其有效模量只由 K_{short} 和 E_a/E_l (即 K_{long}) 决定.如图3所示,红色圆圈代表黏弹性基质有效模量的初始位置(即初始模量 K_{short}),而蓝色和绿色圆圈代表基质松弛后的终态位置(即长期模量 K_{long}).基质松弛时间(τ_s) 决定红色圆圈是否能在细胞黏附周期内到达蓝色/绿色圆圈的位置,即基质有效模量是否能从 K_{short} 松弛到 K_{long} .其中, E_a/E_l 决定了红圈和蓝/绿圈之间的距离.因此,可做出如下结论:1) 当红色实心圆($K_{\text{short}} \approx 0.3$) 到达绿色和蓝色实心圆的位置,细胞牵张力的关系为 $F_C > F_A > F_B$; 2) 当红色虚线圆($K_{\text{short}} \approx 1$) 到达绿色和两个蓝色虚线圆的位置,细胞牵张力的关系为 $F_d > F_{b,c} > F_a$.综上所述,细胞牵张力与黏弹性基质的有效模量相关,而有效模量又受多个力学参数(K_{short} , E_a/E_l 和 τ_s) 的调节.

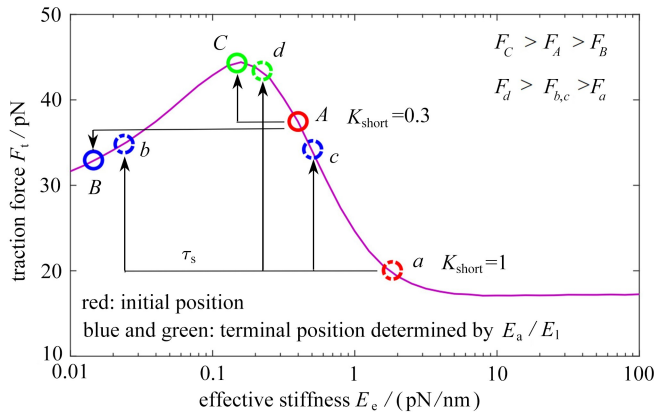


图3 细胞牵张力与黏弹性基质力学特性相关

Fig. 3 The traction force influenced by the mechanical parameters of viscoelastic materials

2.4 实验验证

接下来,通过与文献[19]的实验结果进行比较,对细胞黏附力学模型结论进行验证.实验结果表明,与在具有相同初始模量的弹性基质上相比,细胞在黏弹性基质上具有更大的细胞铺展面积.在细胞铺展过程中,肌动蛋白单体将被添加到细胞边缘附近的肌动蛋白丝末端.假设肌动蛋白聚合率为常数,则细胞在弹性和黏弹性基质上的铺展速度的差异(ΔV_{edge})可以表示为

$$\Delta V_{\text{edge}} = V_{\text{retro-viscoelastic}} - V_{\text{retro-elastic}}, \quad (9)$$

其中 V_{retro} (pN/nm) 是肌动蛋白的向心流率.如图4(a)所示,细胞铺展速度随着基质黏度的增加而变大,与实验现象一致.如图4(b)所示,在①低初始模量和低长期模量与②高初始模量和高长期模量情况下,黏弹性基质对细胞铺展产生抑制.在上述第①个条件下,由于细胞外基质有效模量较小,细胞无法产生成熟的细胞黏

附,因此导致细胞铺展面积较小;在上述第②个条件下,当细胞外基质有效模量较高时,细胞黏附分子键内张力过大,使得分子键较为容易断裂,因此细胞黏附生存期较短,因而也导致了细胞铺展面积较小.综上所述,细胞黏附力学模型为目前的实验观察提供了一个合理的理论解释,并做出了合理的预测.

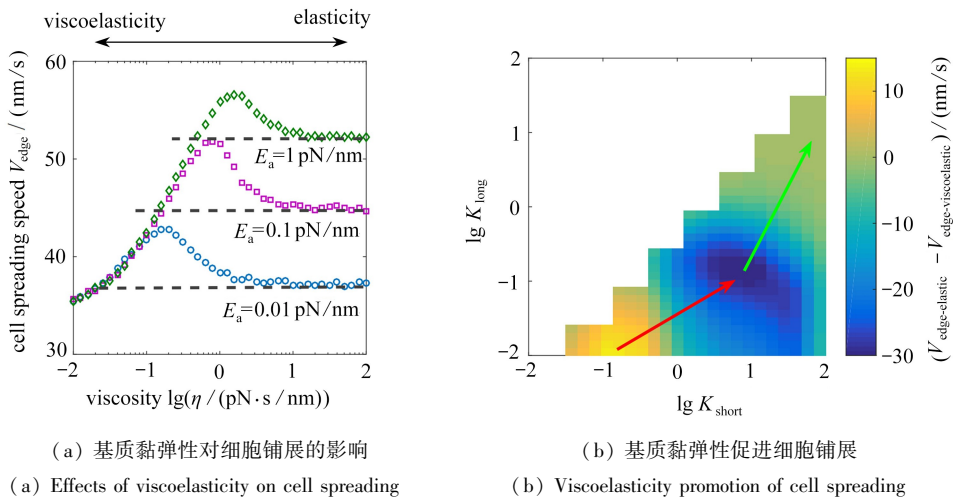


图 4 模型预测细胞铺展动力学

Fig. 4 Model predictions of the dynamics of cell spreading

3 结 论

综上所述,本文通过建立细胞黏附力学模型分析细胞外基质黏弹性力学特性对细胞牵张力及铺展等生物学行为的影响.研究表明:1) 细胞牵张力最大值受到细胞黏附周期、细胞黏附形成时间及基质松弛时间的影响;2) 细胞牵张力由黏弹性基质的三个力学参数(初始模量、长期模量和应力松弛时间)共同调控.通过将模型计算结果与实验现象进行对比^[19],验证了模型的合理性.细胞黏附力学模型揭示了基质黏弹性通过细胞黏附动力学调节细胞行为的分子机制,从生物力学与力生物学角度为组织工程中细胞力学微环境的构建奠定了理论基础.

参考文献 (References):

- [1] SCHOEN I, PRUITT BL, VOGEL V. The Yin-Yang of rigidity sensing: how forces and mechanical properties regulate the cellular response to materials[J]. *Annual Review of Materials Research*, 2013, **43**: 589-618.
- [2] CHAUDHURI O, LUO G, KLUMPERS D, et al. Hydrogels with tunable stress relaxation regulate stem cell fate and activity[J]. *Nature Materials*, 2016, **15**(3): 326-334.
- [3] CHAUDHURI O, KOSHY S T, CUNHA C D. Extracellular matrix stiffness and composition jointly regulate the induction of malignant phenotypes in mammary epithelium[J]. *Nature Materials*, 2014, **13**(10): 970-978.
- [4] DALBY MJ, GADEGAARD N, OREFFO R O. Harnessing nanotopography and integrin-matrix interactions to influence stem cell fate[J]. *Nature Materials*, 2014, **13**: 558-569.
- [5] TRAPPMANN B, GAUTROT J, CONNELLY J, et al. Extracellular-matrix tethering regulates stem-cell fate[J]. *Nature Materials*, 2012, **11**(7): 642-649.
- [6] CASE L B, WATERMAN C M. Integration of actin dynamics and cell adhesion by a three-dimensional, mechanosensitive molecular clutch[J]. *Nature Cell Biology*, 2015, **17**(8): 955-963.
- [7] NING L, LU S, YAN Z, et al. Mechanokinetics of receptor-ligand interactions in cell adhesion[J]. *Acta Mechanica Sinica*, 2015, **31**: 248-258.
- [8] CHENG B, LIN M, HUANG G, et al. Cellular mechanosensing of the biophysical microenvironment: a review of mathematical models of biophysical regulation of cell responses[J]. *Physics of Life Reviews*, 2017, **22/23**: 88-119.
- [9] CHENG B, LIN M, HUANG G, et al. Energetics: an emerging frontier in cellular mechanosensing: reply to

- comments on “cellular mechanosensing of the biophysical microenvironment: a review of mathematical models of biophysical regulation of cell responses”[J]. *Physics of Life Reviews*, 2017, **22/23**: 130-135.
- [10] MARUTHAMUTHU V, SABASS B, SCHWARZ U S, et al. Cell-ECM traction force modulates endogenous tension at cell-cell contacts[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, **108**(12): 4708-4713.
- [11] KOCH T M, STEFAN M, NAVID B, et al. 3D traction forces in cancer cell invasion[J]. *PLoS One*, 2012, **7**(3): e33476. DOI:10.1371/journal.pone.0033476.
- [12] CHAN C E, ODDE D J. Traction dynamics of filopodia on compliant substrates[J]. *Science*, 2008, **322**: 1687-1691.
- [13] BANGASSER B L, ROSENFELD S, ODDE D J. Determinants of maximal force transmission in a motor-clutch model of cell traction in a compliant microenvironment[J]. *Biophysical Journal*, 2013, **105**(3): 581-592.
- [14] BANGASSER B L, ODDE D J. Master equation-based analysis of a motor-clutch model for cell traction force: cellular and molecular bioengineering[J]. *Cell Mol Bioeng*, 2013, **6**(4): 449-459.
- [15] BANGASSER B L, SHAMSAN G A, CHAN C E, et al. Shifting the optimal stiffness for cell migration[J]. *Nature Communications*, 2017, **8**: 15313.
- [16] CHENG B, LIN M, LI Y, et al. An integrated stochastic model of matrix-stiffness-dependent filopodial dynamics[J]. *Biophysical Journal*, 2016, **111**(9): 2051-2061.
- [17] GEERLIGS M, PETERS G W, ACKERMANS P A, et al. Linear viscoelastic behavior of subcutaneous adipose tissue[J]. *Biorheology*, 2008, **45**: 677-688.
- [18] BABAEI B, ABRAMOWITZ S D, ELSON E L, et al. A discrete spectral analysis for determining quasi-linear viscoelastic properties of biological materials[J]. *Journal of the Royal Society Interface*, 2015, **12**(113): 20150707.
- [19] CHAUDHURI O, GU L, DARNELL M, et al. Substrate stress relaxation regulates cell spreading[J]. *Nature Communications*, 2015, **6**: 6365.