

Dynamik der Zellmigration

Die Bewegung von Zellen in komplexen Umgebungen lässt sich mittels stochastischer Bewegungsgleichungen beschreiben.

David Brückner



Die Mikroskopbilder zeigen interagierende Krebszellpaare (MDA-MB-231) mit einem fluoreszent gefärbten Aktin-Zytoskelet.

A. Fink und Ch. Hohnmann, LMU München

In vielen physiologischen Prozessen spielt die Zellmigration eine wichtige Rolle. Die zugrundeliegenden Mechanismen lassen sich mit Konzepten der Physik beschreiben. Um die Dynamik einzelner Zellen zu berechnen, ist die Ableitung stochastischer Modelle direkt aus experimentellen Daten ein vielversprechender Ansatz. Solche datengetriebenen Methoden liefern wichtige Erkenntnisse über das emergente Zellverhalten.

Die aktive Bewegung einzelner Zellen ist in physiologischen Phänomenen wie der Embryogenese, dem Immunsystem und der Krebsmetastase von zentraler Bedeutung [1]. In diesen Beispielen bewegen sich Zellen durch engmaschige Gewebe und stehen daher vor einer physikalischen Herausforderung: Sie müssen Engstellen passieren [2]. Wie viele biologische Prozesse ist Zell-

migration hochkomplex und beruht auf dem Zusammenwirken zahlreicher molekularer Komponenten. Trotz dieser intrinsischen Komplexität gibt es vereinende, universelle Aspekte der Zellmigration. Die aktive Bewegung von Zellen beruht auf Aktinflüssen, der Kraftproduktion molekularer Motoren und der Zellpolarität [3, 4]. Diese Mechanismen sind mit Konzepten der Physik zu beschreiben, etwa dem Ordnungsparameter des Aktinzytoskeletts, der Erzeugung aktiver Flüsse und der Ausübung von Kräften auf die Zellumgebung.

In den vergangenen Jahren gab es große Fortschritte im theoretischen Verständnis der zugrundeliegenden Mechanismen der Zellmigration. Physikalische Beschreibungen von komplexen, aktiven Systemen sind besonders im Kontinuumslimit erfolgreich, wo das beobachtete Verhalten des Systems auf wesentlich größeren Zeit- und Längenskalen abläuft als die mikroskopischen Mechanismen. So liefert die Physik aktiver Gele eine allgemeine Theorie, die es erlaubt zu berechnen, wie eine große Ansammlung molekularer Motoren und Zytoskelettfilamente zu Flüssen und Kräften auf der Skala der gesamten Zelle führt [5]. Auf größeren Längenskalen ist die kollektive Bewegung von hunderten bis tausenden interagierenden Zellen mit der Physik aktiver polarer und nematischer Fluide zu beschreiben, welche die exakte molekulare Natur dieser Interaktionen vernachlässigen [6].

Zwischen diesen beiden Extremen ist eine allgemeine Beschreibung schwieriger: Im Fall einer einzelnen Zelle finden die relevanten Bewegungsmuster auf einer ähnlichen Zeit- und Längenskala wie die zugrundeliegenden molekularen Prozesse statt. Dies erschwert die Beschreibung der Dynamik einzelner Zellen aus zwei Gründen: Erstens zeigen molekulare Prozesse große intrinsische Fluktuationen. Daher muss eine physikalische Theorie für die Bewegung einzelner Zellen die stochastische Natur dieser Phänomene abbilden. Zweitens können Zellen ihr Verhalten aktiv an ihre Umgebung anpassen, wodurch die Bewegungsdynamik in beengten Umgebungen je nach Kontext unterschiedlich sein kann.

Eine zentrale Frage ist daher, ob es überhaupt einfache emergente dynamische „Gesetze“ gibt, welche die Verhaltensdynamik migrierender Zellen in beengten Umgebungen beschreiben. Ein vielversprechender Ansatz, um dieser Frage nachzugehen, ist die Inferenz stochastischer Modelle direkt aus experimentellen Daten. Inferenz be-

deutet hier die Herleitung eines Modells direkt aus experimentellen Daten, mit möglichst minimalen vorherigen Annahmen.

Zellmigration als stochastischer Prozess

Die quantitative Untersuchung der Zellmigration begann mit der einfachen Situation einer einzelnen, isolierten Zelle, die sich auf einer unstrukturierten zweidimensionalen Umgebung zurechtfinden muss, beispielsweise einer proteinbeschichteten Petrischale (Abb. 1a). Bereits 1913 gelang es, die stochastische Bewegung schwimmender Einzeller nur mit Mikroskop, Bleistift und Metronom zu messen [7]. Diese und weitere Studien zeigten, dass die Bewegung solch winziger Organismen auf langen Zeitskalen zufällig ist, auf kurzen Zeitskalen jedoch die Tendenz einer konstanten Richtung besitzt (persistente Bewegung). Schon damals war klar, dass sich diese Bewegung mathematisch durch die stochastische Dynamik beschreiben lässt, die sich in den Jahren nach Einsteins Durchbruch 1905 zur Brownschen Bewegung entwickelte [8]. Eine simple Idee fasst diese Erkenntnisse zusammen: Die Bewegung einzelner Zellen folgt stochastischen Bewegungsgleichungen, etwa der persistenten Zufallsbewegung

$$\frac{dv}{dt} = -\frac{1}{\tau} v + \sigma \eta(t),$$

wobei $\eta(t)$ ein Gauß-verteilttes weißes Rauschen darstellt. Der Parameter τ bezeichnet die Persistenzzeit, also die Zeitskala, auf der Korrelationen der Zellgeschwindigkeit typischerweise abfallen. Jenseits der Persistenzzeit ist die Bewegung rein zufällig. σ ist die Amplitude der stochastischen Fluktuationen.

Im Fall der Brownschen Bewegung passiver Teilchen lassen sich die Parameter einer solchen Bewegungsgleichung durch physikalisch bekannte Größen berechnen, beispielsweise mit der Teilchengröße, der Temperatur und der Viskosität des umgebenden Fluids [9]. Bei einer aktiv migrierenden Zelle ist das nicht möglich, da die Parameter durch die komplexen biologischen Eigenschaften des Systems bestimmt sind und daher experimentell gemessen werden müssen. Eine Parameter-Reduktion von komplexen

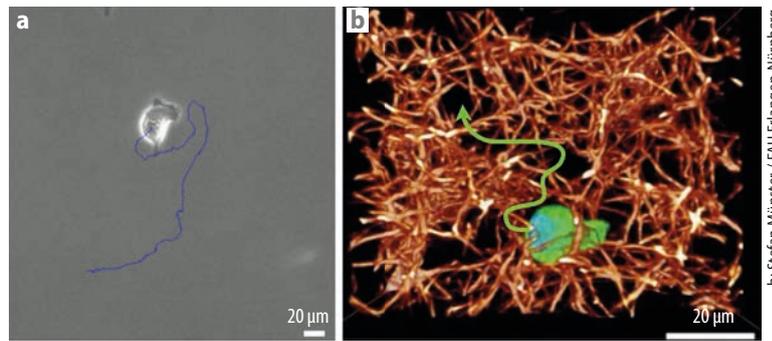


Abb. 1 Eine isolierte Brustkrebszelle (MDA-MB-231) bewegt sich auf einer unstrukturierten, isotropen 2D-Oberfläche, die mit Fibronectin beschichtet ist (a). Die Trajektorie des Zellkerns ist blau dargestellt. Eine Lymphozyten-Zelle (b, grün) migriert durch eine Collagenmatrix (orange).

b: Stefan Münster / FAU Erlangen-Nürnberg

Zellmigrationstrajektorien in eine einfache effektive Bewegungsgleichung mit nur zwei Parametern erlaubt es, das Zellverhalten einfach zu quantifizieren. Dies ist ein wichtiger Baustein für die Entwicklung biophysikalischer Modelle für die Mechanismen, die den Aktinflüssen innerhalb der Zelle zugrunde liegen [3]. Sie wurde verallgemeinert, um die gerichtete Bewegung von Zellen in Gradienten, etwa der Chemotaxe, zu beschreiben [10].

In vielen biologischen Prozessen bewegen sich Zellen jedoch in viel komplizierteren Umgebungen als einer einfachen zweidimensionalen Oberfläche. Oft müssen sie sich durch Engstellen in ihrer Umgebung hindurchzwängen, beispielsweise durch dünne Kanäle in der Collagenmatrix, die unserer Haut mechanische Integrität verleiht (Abb. 1b). Um die Hindernisse zu passieren, müssen sich Zellen physisch deformieren. Eine wichtige Frage ist daher, ob sich solch eingeschlossene Zellmigration auch durch Bewegungsgleichungen und damit durch einfache dynamische „Gesetze“ beschreiben lässt.

Pendeln zwischen den Inseln

Vereinfachte experimentelle Systeme sind ein vielversprechender Ansatz, um die Dynamik migrierender Zellen während der Passage künstlicher Engstellen zu messen. Hierzu entwickelten wir ein zellbiologisches „Zwei-

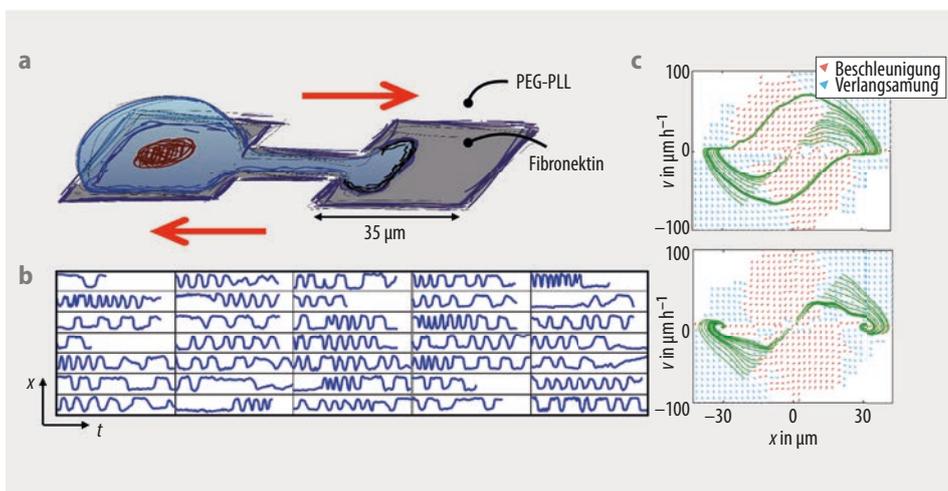


Abb. 2 Die Zelle befindet sich in einem Zwei-Zustands-Mikropattern, das innen mit dem zelladhärierenden Protein Fibronectin beschichtet ist und außen mit zellabstoßendem PEG-PLL (a). Der Zellkern bewegt sich auf den in b) gezeigten Trajektorien als Funktion der Zeit. Die Position x hat eine Skala von $100 \mu\text{m}$, die Zeit t von 50 Stunden. Aus den experimentellen Trajektorien leiten sich die nichtlineare Zelldynamik und deren Phasenporträts ab (c). Pfeile zeigen die Richtung des Flussfeldes, grüne Trajektorien die nichtlineare Dynamik. Das obere Panel illustriert die Grenzzyklus-Dynamik krebsartiger MDA-MB-231-Zellen, das untere Panel die bistabile Dynamik nicht-krebsartiger MCF10A-Zellen.

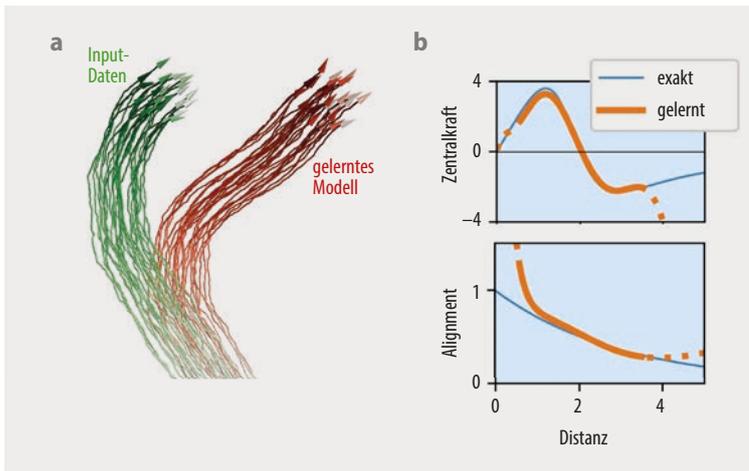


Abb. 3 Mit stochastischer Inferenz können die Bewegungsgleichungen eines simulierten aktiven Teilchenschwarms (grün) gelernt werden, die qualitativ ähnliches Verhalten vorhersagen (rot). Abweichungen entstehen durch die stochastischen Fluktuationen im System. (a). Die Zentralkraft sowie die Alignment-Interaktionen als Funktion der Teilchendistanz lassen sich exakt bestimmen (blau, b) und mit dem Modell (orange) vergleichen, das sich aus den Trajektorien in a) ergibt.

Zustandssystem“: eine geometrische Begrenzung, welche die Bewegung der Zelle auf zwei quadratische Inseln und eine verbindende Brücke beschränkt (**Abb. 2a**) [11]. Mittels Mikropatterning lässt sich die Oberfläche der Geometrie innen und außen unterschiedlich beschichten, damit die Zelle nur innerhalb der Geometrie adhären kann. Der Bewegungsdrang vieler frei beweglicher Zelltypen (etwa Krebszellen) sorgt dafür, dass diese pausenlos hin und her pendeln, wobei sich die Zelle immer wieder über die Engstelle von einer auf die andere Insel bewegt. Dieses experimentelle System erlaubt es, die Geometrie präzise zu kontrollieren und einen großen Datensatz von hunderten Zelltrajektorien zu erheben, die sich statistisch analysieren lassen (**Abb. 2b**).

Fluktuationen herausrechnen

Auf Basis dieser Experimente ist es möglich, eine Theorie für eingeschlossene Zellbewegung zu formulieren. Als Er-

weiterung der persistenten Zufallsbewegung postulierten wir, dass eine Bewegungsgleichung für eingeschlossene Zellen die folgende Form hat:

$$\frac{dv}{dt} = F(x, v) + \sigma(x, v) \eta(t).$$

Anders als in der persistenten Zufallsbewegung hängt die Dynamik hier von der Zellposition x ab, da das System räumlich strukturiert ist. Der Term $F(x, v)$ beschreibt die deterministischen Komponenten der Bewegung, während $\sigma(x, v)$ die Amplitude der zufälligen Fluktuationen quantifiziert.

Allerdings ist keine allgemeine physikalische Theorie der Zellbewegung bekannt, aus der sich die Struktur und Parameter der Terme dieser Bewegungsgleichung ableiten. Diese Terme hängen sowohl von den komplexen molekularen Mechanismen innerhalb der Zelle ab als auch von der einschließenden Geometrie. Aus diesem Grund entwickelten wir datengetriebene Ansätze, um die Bewegungsgleichung des Systems direkt aus experimentellen Daten abzuleiten.

Eine zentrale Schwierigkeit besteht darin, die signifikanten stochastischen Fluktuationen in den Trajektorien herauszurechnen, sodass wir aus der Dynamik einen deterministischen Term isolieren können, der die Bewegung der Zellen im statistischen Mittel beschreibt (**Abb. 2c**). Dieser deterministische Teil der Dynamik zeigt, dass sich Zellen „aktiv“ in Engstellen hineinbewegen – entgegen der intuitiven Erwartung, dass Engstellen ein Hindernis darstellen. Der aktive Antrieb führt zu einer komplexen nichtlinearen Dynamik. Interessanterweise fanden wir so heraus, dass verschiedene Zelltypen unterschiedliche Bewegungsmuster aufweisen. So bewegen sich Brustkrebszellen als Grenzzyklus-Oszillator, während weniger invasive gesunde Brustzellen ein bistabiles System bilden (**Abb. 2c**). Diese Unterschiede in der Bewegungsdynamik implizieren mögliche Unterschiede in den zugrundeliegenden molekularen Prozessen dieser Zelltypen. Eine solche Methode liefert somit eine Art „Bewegungs-Fingerabdruck“, der es erlaubt, verschiedene Zelltypen zu unterscheiden.

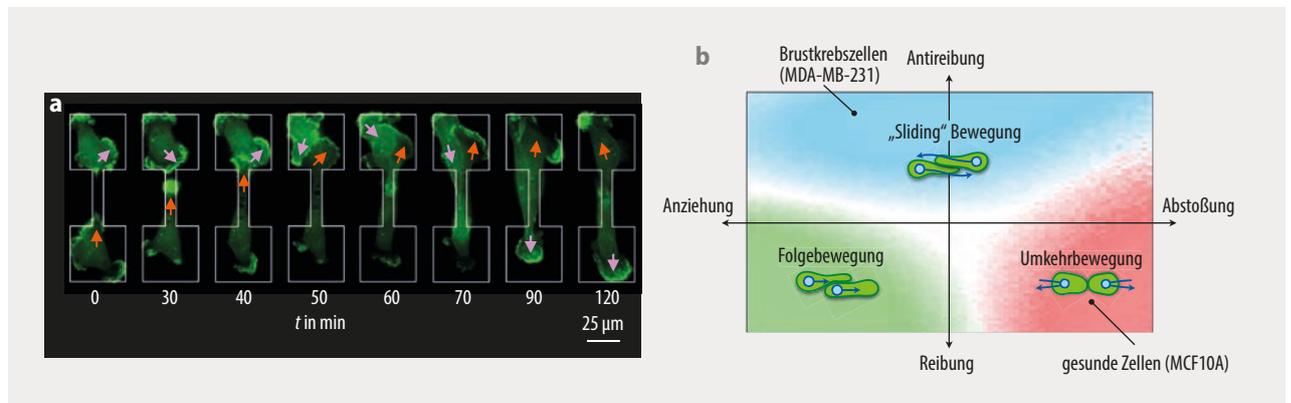


Abb. 4 Die Fluoreszenz-Aufnahmen zeigen das Aktin-Zytoskelett zweier miteinander interagierender Brustkrebszellen (MDA-MB-231, a). Der Phasenraum des inferierten Interaktionsmodells weist drei stereotypische Bewegungsmuster auf: Umkehrbewegung (rot), Sliding-Bewegung (blau) und Folgebewegungen (grün). Die inferierten Interaktionen von Brustkrebszellen (MDA-MB-231) und gesunden Zellen (MCF10A) sind eingezeichnet.

Zusammenstoß von Zellen

Zellen passen sich nicht nur an ihre Umgebung an, sondern kommunizieren auch aktiv miteinander, um ihr Verhalten in physiologischen Prozessen zu koordinieren. Physikalische Theorien der kollektiven aktiven Bewegung zeigen, wie diese Zell-Zell-Interaktionen das kollektive Verhalten großer Zellgruppen steuern [12]. Weniger gut verstanden ist, wie diese Interaktionen die Zusammenstöße einzelner Zellpaare kontrollieren. Diese finden auf einer Längenskala statt, auf der stochastische Fluktuationen eine große Rolle spielen. Um solche Interaktionen zu inferieren, gilt es, eine Bewegungsgleichung für ein interagierendes Zellpaar zu finden, aber zusätzlich zum Verhalten einer einzelnen Zelle auch Interaktionsterme zu berücksichtigen. Stochastische Inferenzmethoden können derartige Interaktionen aus den Trajektorien stochastischer Systeme ableiten [13]. Dies lässt sich beispielsweise an einem interagierenden Schwarm aktiver Teilchen demonstrieren, bei dem eine Bewegungsgleichung inklusive Interaktionstermen simuliert wurde und die Interaktionsterme erneut abgeleitet werden können (**Abb. 3**).

Wir wendeten diese Methode auf Daten eingeschlossener Zellpaare an, die wiederholt miteinander kollidieren [14]. Die Inferenz einer Bewegungsgleichung inklusive Interaktionstermen belegte, dass gesunde und krebsartige Zellen unterschiedlich physikalisch wechselwirken: Während gesunde Zellen mit Abstoßung und effektiver Reibung interagieren, zeigen Krebszellen Anziehung und eine überraschende „Anti-Reibung“ (**Abb. 4**). Letztere führt dazu, dass Zellen, die sich aneinander vorbeibewegen, aktiv beschleunigen. Diese Interaktionen bewirken, dass gesunde Zellen nach Kollisionen primär umkehren, während Krebszellen effizient aneinander vorbeigleiten. Eine solche Sliding-Bewegung könnte potenzielle medizinische Relevanz haben und etwa zur Fluidisierung von Gewebestrukturen während der Ausbreitung von Tumorzellen in gesundes Gewebe beitragen.

Ausblick

Datengetriebene Ansätze könnten helfen, die emergente stochastische Dynamik migrierender Zellen besser zu verstehen, weil sie die zugrundeliegenden Mechanismen aufdecken. Als zukünftiges Anwendungsfeld dieser Inferenzansätze kommen komplexere Prozesse infrage, etwa die Migration von Zellen durch heterogene, mechanisch

deformierbare Strukturen (**Abb. 1a**). Weiterhin könnten Inferenzmethoden dazu beitragen, die Interaktionen von Zellen in kollektiven Systemen zu identifizieren [12], beispielsweise in Embryos oder metastasierenden Tumoren. In diesen Fällen könnte die Herleitung der effektiven Bewegungsgleichungen dieser Systeme einen wichtigen Baustein liefern, um die zugrundeliegenden Mechanismen zu verstehen und zu modellieren. Das kann zum Erfolg physikalischer Modelle in der Beschreibung komplexer biologischer Systeme beitragen.

Literatur

- [1] D. A. Fletcher und J. A. Theriot, *Phys. Biol.* **1**, T1 (2004)
- [2] P. Friedl und K. Wolf, *Nat. Rev. Cancer* **3**, 362 (2003)
- [3] A. C. Callan-Jones und R. Voituriez, *Curr. Opin. Cell Biol.* **38**, 12 (2016)
- [4] T. D. Pollard, *Nature* **422**, 741 (2003)
- [5] J. Prost, F. Jülicher und J. F. Joanny, *Nat. Phys.* **11**, 111 (2015)
- [6] M. C. Marchetti et al., *Rev. Mod. Phys.* **85**, 1143 (2013)
- [7] K. Przibram, *Pflügers Arch. Physiol.* **153**, 401 (1917)
- [8] D. Selmecki et al., *Eur. Phys. J. Spec. Top.* **157**, 1 (2008)
- [9] E. Frey und K. Kroy, *Ann. Phys.* **14**, 20 (2005)
- [10] W. Alt, *J. Math. Biol.* **9**, 147 (1980)
- [11] D. B. Brückner et al., *Nat. Phys.* **15**, 595 (2019)
- [12] R. Alert und X. Trepat, *Annu. Rev. Condens. Matter Phys.* **11**, 77 (2020)
- [13] D. B. Brückner, P. Ronceray und C. P. Broedersz, *Phys. Rev. Lett.* **125**, 58103 (2020)
- [14] D. B. Brückner et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **118**, e2016602118 (2020)

Der Autor

Max Hofstätter / NOMIS Stiftung



David Brückner studierte Physik an der Universität Cambridge in Großbritannien. Im Rahmen seiner Doktorarbeit in der Gruppe von Chase Broedersz an der LMU München untersuchte er die stochastische Dynamik migrierender Zellen. Derzeit forscht er als Postdoktorand und Fellow der NOMIS-Stiftung am IST Austria in

den Arbeitsgruppen von Edouard Hannezo und Gašper Tkacik zur Physik entwicklungsbiologischer Systeme.

Dr. David Brückner, Institute of Science and Technology, Am Campus 1, 3400 Klosterneuburg, Austria