

文章编号:1004-7220(2010)02-0136-07

肿瘤微循环血管网的数值模拟及后期处理

吴洁¹, 许世雄², 龙泉³, 丁祖荣¹

(1. 上海交通大学 船舶海洋与建筑工程学院, 上海 200240; 2. 复旦大学 力学与工程科学系, 上海 200433;

3. Brunel Institute for Bioengineering, Brunel University, Uxbridge, Middlesex, UK)

摘要: **目的** 通过数值模拟及后处理技术获取模拟的肿瘤微血管网络结构,为研究肿瘤血液动力学和药物输送提供更趋逼真的模拟微血管网模型。**方法** 建立具有宿主主动-静脉的肿瘤血管生成模型,其中考虑了血管分叉及管径变化等因素。对模型参数作了灵敏度分析以判断模拟结果的可调控性。同时检查了血管网的连通以确保网络结构的完整性。此外,对血管网作了后期平滑处理,以减少数值网络引起的流动阻力。**结果** 模拟结果符合肿瘤微血管网的基本形态特征,同时具有完整的循环系统、局部可调控性、网络连通性、较好的平滑度等。**结论** 该模型可为研究肿瘤血液动力学、药物输运以及血管靶向治疗提供更趋真实可靠的血管网络数值模型。

关键词: 肿瘤; 微血管; 数值模拟; 后处理

中图分类号: R318.01 文献标志码: A

Numerical simulation and post-processing of tumor microvasculature

WU Jie¹, XU Shi-xiong², LONG Quan³, DING Zu-rong¹ (1. School of Naval Architecture, Ocean and Civil Engineering, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China; 2. Department of Mechanics and Engineering Science, Fudan University, Shanghai 200433, China; 3. Brunel Institute for Bioengineering, Brunel University, Uxbridge, Middlesex, UK)

Abstract: Objective In order to provide a more realistic microvasculature model for the study on tumor hemodynamics and drug delivery, a simulated tumor microvascular network was developed by the technique of numerical simulation and post-processing. **Method** We constructed a tumor microvascular model with host arteriole-venule system, in which the variation in vascular branching and dimensions was taken into account. A sensitivity analysis was made for the parameters of the model to evaluate the adjustability of simulated results. The connectivity of the vascular network was tested to ensure the integrity of the network. The vascular network was smoothed afterwards to reduce flow resistance resulting from numerical networks. **Results** The simulated results are consistent with the characteristics of real tumor microvasculature, which show intact circulation, local adjustability, high network connectivity and smooth degree. **Conclusions** This study provided a numerical microvasculature model for the research on tumor hemodynamics, drug delivery and vascular-targeted therapy.

Key words : Tumor; Microvasculature; Numerical Simulation; Post-processing

肿瘤是典型的血管依赖性病变。肿瘤微血管网的形态结构对肿瘤内血液灌注、微环境状态以及药

物输运有着十分重要的影响作用。近年来,学者们对肿瘤血管生成数学模型进行了深入研究,采用不

收稿日期:2010-01-19; 修回日期:2010-02-02

基金项目:国家自然科学基金资助项目(10772051)

作者简介:吴洁(1982-),女,博士,研究方向:生物流体力学。

通讯作者:吴洁, E-mail: janny_wujie@yahoo.com.cn。

同方法来描述肿瘤诱导血管生成的主要特性^[1-7]。这些模型对探讨血管生成的生理过程具有很好的研究价值,但若要在上述生成的血管网基础上进一步进行血液流动、药物传递等方面的研究,就存在一定的缺陷性。比如,模型未考虑血液流动的循环系统;血管管径的不均匀分布;血管之间的有效连通;网络结构的可调控性;以及网格划分引起的流动几何阻力增加等问题。

本文目的是通过数值模拟及后期处理,来获取可进行有效流动模拟的肿瘤微血管网,为后续的血流动力学、药物输运以及血管靶向治疗研究提供更趋真实有效的血管网络数值模型。具体工作为(1)建立具有宿主主动-静脉母管的肿瘤血管生成三维模型,并进行数值模拟;(2)根据肿瘤微血管特性,考虑血管分叉级数、血管管径变化及血管分组等因素;(3)对生成的微血管网进行连通性检验,确保由母动脉和母静脉生成的血管最终能够相互连接融合,从而构成有效的血液微循环通路;(4)对模型参数进行灵敏度分析,考察网络结构的可调控性;(5)为减少由数值网络引起的血液流动几何阻力的增量,提出对生成的血管网进行后期平滑处理的观点,并进行实际操作。

1 数学模型

1.1 控制方程

本文模型建立在肿瘤血管生成二维模型基础上^[1]。假设新生血管芽尖内皮细胞的迁移主要通过随机运动、趋化效应(对促血管生成因子 TAF 的响应)、趋触效应(对纤维连接蛋白 FN 的响应)进行迁移。模型中所有参数和方程均为无量纲形式,具体的无量纲化过程可参见文献[1]。设内皮细胞密度为 n , TAF 浓度为 c , FN 浓度为 f ,三者满足如下方程组:

$$\begin{aligned} \frac{\partial n}{\partial t} &= \overbrace{D(r) \nabla^2 n}^{\text{随机扩散项}} - \overbrace{\nabla \cdot (\chi(c)n \nabla c)}^{\text{趋化项}} - \\ &\quad \overbrace{\nabla \cdot (\rho n \nabla f)}^{\text{趋触项}} \\ \frac{\partial f}{\partial t} &= \overbrace{\beta n}^{\text{生成项}} - \overbrace{\gamma n f}^{\text{吸收项}} \\ \frac{\partial c}{\partial t} &= - \overbrace{\eta n c}^{\text{吸收项}} \end{aligned} \quad (1)$$

式中, $D(r) = \begin{cases} D_0, & (r > R_T) \\ D_0 (r/R_T)^2, & (r \leq R_T) \end{cases}$ 反映了内皮细胞的随机性迁移, D_0 为常数, r 为距肿瘤中心的无量纲距离, R_T 为肿瘤无量纲半径。假设肿瘤外部宿主组织为各向同性,扩散系数为常数 D_0 ;肿瘤内部,细胞活性以及组织黏附力随着 r 减小而减小,取 $D(r)$ 为如上形式^[5]。 $\chi(c) = \chi/(1 + \sigma c)$ 反映了内皮细胞的趋化性迁移,内皮细胞趋化敏感性随着 TAF 浓度的增加而降低, σ 和 χ 为常数。 ρ 反映了内皮细胞的趋触性迁移; β 表示内皮细胞自身产生 FN 的速率; γ 表示内皮细胞对 FN 的消耗速率; η 表示内皮细胞对 TAF 的消耗速率。

1.2 模拟区域

如图 1 所示,模拟区域为 $[0,1] \times [0,1] \times [0,1]$,相当于实际大小 $[0,2 \text{ mm}] \times [0,2 \text{ mm}] \times [0,2 \text{ mm}]$,划分为 $100 \times 100 \times 100$ 等间距网格。直径为 2 mm 的半球体肿瘤位于模拟区域左侧,周围为正常的宿主组织。宿主母动脉和母静脉分别位于模拟区域右边界的上、下端。两母管管径分别为 $d_{0,A}$ 和 $d_{0,V}$ 。

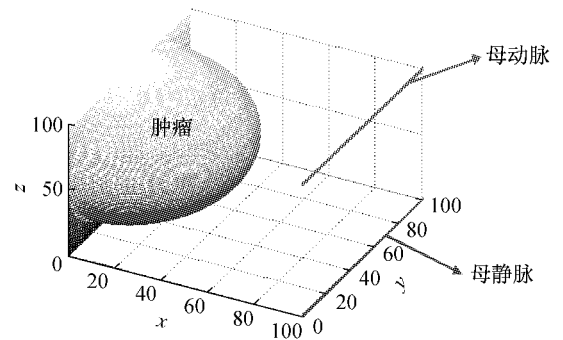


图1 肿瘤血管生成三维模型示意图
Fig.1 3D model scheme of tumor angiogenesis

1.3 边界条件

采用无流动边界条件如下, ζ 为模拟区域边界单位法向量:

$$\zeta \cdot (-D(r) \nabla n + n(\chi(c) \cdot \nabla c + \rho \nabla f)) = 0 \quad (2)$$

1.4 初始条件

取 TAF 初始浓度分布为:

$$c(r,0) = \begin{cases} 1 & r \leq 0.3 \\ \frac{(v-r)^2}{v-0.4771} & 0.3 < r \end{cases} \quad (3)$$

式中 $v = 1.07$, 认为肿瘤组织内部存在一个细胞坏死区 $r \leq 0.6R_T$ (即 $r \leq 0.3$, 模型 $R_T = 0.5$), 在该区域内, TAF 的初始浓度为常数, 并逐渐向外周扩散下降, 直至宿主组织内的母血管。

根据两根母血管的位置, FN 初始浓度取为:

$$f(x, y, z, 0) = \kappa \left(e^{-\frac{(x-1)^2 + (z-1)^2}{\varepsilon}} + e^{-\frac{(x-1)^2 + z^2}{\varepsilon}} \right) \quad (4)$$

其中, κ, ε 为正常数。

1.5 血管的分支和融合

模拟中还考虑了血管分支(从已有芽尖分生出新的血管芽尖)和融合(两相遇芽尖互相融合形成血管通路)两种常见的生理现象(图2), 并遵循如下规律^[1]:

分支。① 生长中芽尖的已生长时间大于分支发生的最低时间, 新生芽尖必须成熟到一定程度方可产生分支; ② 存在足够的空间为分支芽尖生成, 当分支芽尖的生长区域已被另一血管或芽尖占据, 则分支不能发生; ③ 内皮细胞密度须高于阈值水平。

融合。① 当两个芽尖相遇时, 任意选择其中之一生长; ② 若芽尖与已存在的血管相遇, 则仅发生融合现象, 芽尖失去继续生长的能力。

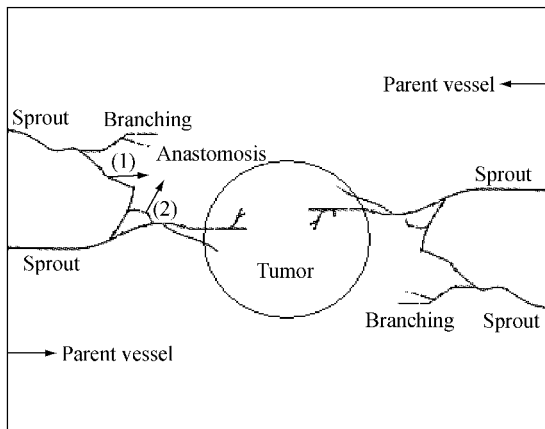


图2 血管生成过程中分支和融合现象示意图
Fig.2 Schematic representation of branching and anastomosis of sprouts in angiogenesis

1.6 血管分叉级数与血管管径

实验表明, 肿瘤血管生成过程中, 血管分叉后的分支管管径要小于分叉前的血管管径^[8]。这里定义血管分叉级数(或血管代数), 表示血管为宿主母

管经过 n 次分叉后所得。设血管管径有如下函数形式:

$$d_n = g_n d_0; n = 1, 2, \dots \quad (5)$$

式中, 下标 n 表示血管分叉级数; d_0 表示宿主母血管管径($d_{0,A}$ 为母动脉管径, $d_{0,V}$ 为母静脉管径); d_n 表示第 n 代血管的管径。血管经过不断地分叉后管径将逐渐减小, 第 n 代血管管径与第 $n+1$ 代血管管径之差将随分叉级数 n 增大而减小, 因此设 g_n 具有如下形式:

$$g_{n+1} = a^{\frac{1}{n+1}} g_n \quad (6)$$

式中, a 为小于 1.0 的常系数。

1.7 参数选取

模拟参数取值为^[1-3]: $D_0 = 35 \times 10^{-5}$, $\sigma = 0.6$, $\chi = 0.38$, $\rho = 0.22$, $\beta = 0.05$, $\gamma = 0.1$, $\eta = 0.1$, $\kappa = 0.45$, $\varepsilon = 0.75$ 。无量纲时间为 $\tilde{t} = t/\tau$, $\tau = L/D_c$ 为特征时间, L 为特征长度, $D_c = 29 \mu\text{m}^2/\text{s}$ 为 TAF 扩散系数。根据肿瘤微血管尺度, 取母动脉直径 $d_{0,A} = 24 \mu\text{m}$, 母静脉直径 $d_{0,V} = 32 \mu\text{m}$ 。 g_0, a 基值分别取为 0.75 和 0.6。

2 结果与讨论

本文采用 3D7P^[9] 格式对肿瘤血管生成进行三维模拟。血管芽尖生长方向如图3所示, $P_0 \sim P_6$ 体现了内皮细胞运动过程中的随机性、趋化性和趋触性, 取决于局部化学环境, 与内皮细胞向各个方向迁移的运动概率成比例。每一时间步内, 求解方程得到相应步的 $P_0 \sim P_6$ 系数, 依次相加 $R_0 = 0 \sim P_0$, $R_j = \sum_{i=0}^{j-1} P_i \sim \sum_{i=0}^j P_i (j = 1 \sim 6)$, 得到相应的概率范围 R_j 。随后, 数值产生一个平均分布的 0~1 之间的随机数。根据随机数属于的概率范围, 选择内皮细胞相应的运动方向, 根据上文所述分支融合条件, 确定血管的分支与融合。两母血管上任意选取六点, 作为新生血管的初始芽尖。

2.1 血管网拓扑结构

图4为模拟得到的肿瘤三维微血管网。如图所示, 血管生成初期, 芽尖几乎平行排列, 尚未发生分支和融合。随着芽尖不断向肿瘤靠近, 开始产生分支, 且相互之间发生融合, 形成血液灌注回路。在肿瘤边缘附近, 血管出现了大量的分支和融合, 血管不仅数量剧增, 同时更加曲折, 形成所谓的“毛刷效

应”,该区域通常被称为“富血管区”。此后,越向肿瘤内部深入,血管数量越少,肿瘤细胞缺乏必需的血液供应,趋于生长停滞状态。特别在肿瘤中心区域,几乎没有血管出现,形成坏死区。同时,还分析了血管密度、血管分叉级数、血管管径的分布情况。以上模拟结果均与实验观察得到的真实的肿瘤微血管网几何形态特征基本一致。

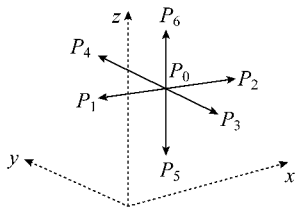


图3 内皮细胞运动方向 $P_0 \sim P_6$ 示意图
Fig.3 Motion directions $P_0 \sim P_6$ of ECs

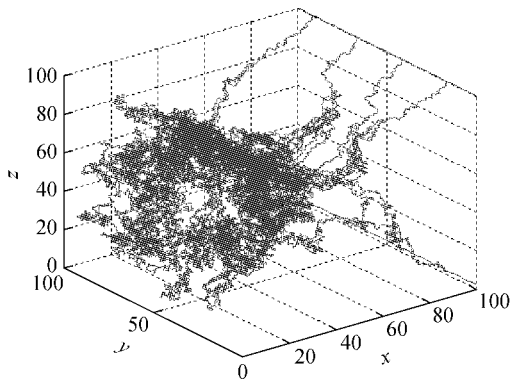


图4 模拟生成的肿瘤三维微血管网
Fig.4 Tumor microvasculature from 3D simulation

2.2 网络连通性检验

血管网连通性指由母动脉生成的血管最终能否与由母静脉生成的血管相互连接融合,形成有效的血液循环通路。这一点是之前相关模拟研究中未考虑到的问题,因此常导致后期血液流动模拟的失败。为此,这里采用追溯血管原始出生的方法将血管进行分类,考察血管网的连通性,同时对网络中未形成环路的血管进行修剪。如图5所示,红色表示该血管由母动脉生成;蓝色表示由母静脉生成;绿色表示血管为以上两类血管相互融合以后所生成。绿色血管的出现表明,该血管网已通过连通性检验,可用于此后的血液流动模拟。

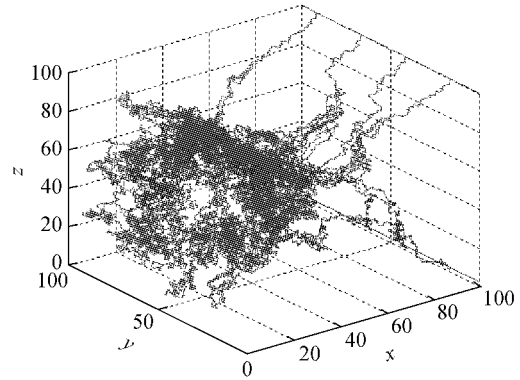


图5 微血管网的连通性检验:红色血管由母动脉生成;蓝色血管由母静脉生成;绿色血管为以上两类血管相互融合后生成
Fig.5 Connectivity examination of microvasculature; the red and blue vessels represent the ones induced from the parent vessel of "arteriole" and "venule" respectively, the green ones are the "daughter" vessels after the above two kinds of vessels connected together

2.3 血管分组

定义临界血管分叉级数 n_c ,并据此将血管分为三组:如果某血管的分叉级数大于临界值 n_c ,则该血管被视为毛细血管组;否则,根据其原始出生,分别视为小动脉组或小静脉组。如图6所示,红色血管为小动脉组,蓝色血管为小静脉组,粉色为毛细血管组(图中 $n_c = 7$)。

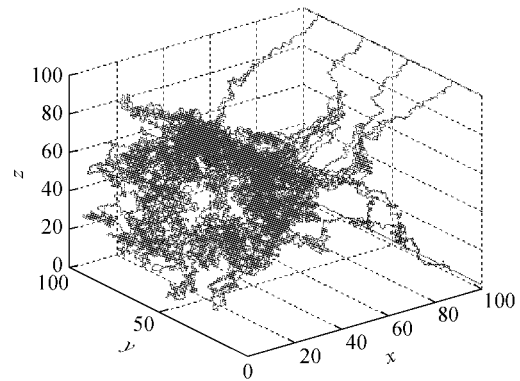


图6 根据血管分叉级数的肿瘤血管分组
Fig.6 Classification of tumor angiogenic vessels according to their branching generations

研究表明,真实的肿瘤内部血管参差不齐,结构混乱且相互纠结,一般很难分类。本文对血管分类,主要为了便于后期的血液动力学分析。从图6可

见,在肿瘤内部绝大部分血管均归为毛细血管组。事实上,在肿瘤血管系统中某些血管,诸如小动脉和小静脉,通常被视为永久性组成部分,而毛细血管则往往被视为暂时性组成部分。在肿瘤发展过程中,毛细血管更有可能受微环境的影响而发生改变、重构、甚至消亡。此外,肿瘤毛细血管壁的渗透率远高于其它血管,其它一些物理特性也有明显差别。因此,血管分组有利于后期血液动力学模拟时对参数的选择和调控。

2.4 网络结构调控性

上文建立了血管管径 d 与血管分叉级数 n 之间的关系式,其中常参数为 a 和 g_0 。本文模拟中取 g_0 和 a 分别为 0.75 和 0.6,此时得到的血管网平均直径约为 $8 \mu\text{m}$,符合肿瘤毛细血管管径尺度。此外,可根据特定肿瘤的血管管径尺度,通过改变 a 和 g_0 的值来有效地调控模拟生成的血管网的血管管径分布。

血管生成模拟过程中还涉及到多个可调控参数。比如临界血管长度 L_c ,模型规定血管长度须大于 L_c 方可进行分支。图4中 L_c 值取为6,相当于实际长度 $120 \mu\text{m}$ 。实际上,因模拟过程中存在血管间的融合,因此血管网内最短的血管长度要小于 $120 \mu\text{m}$ 。根据 Tozer 等^[10]的研究,通常情况下,肿瘤血管的平均长度为几十至几百 μm 。为此,本文针对不同 L_c 值进行了多次模拟,通过统计分析来研究调控微血管网的网络拓扑结构等。

以上分析说明,模拟生成的血管网络结构具有可调控性和灵活性,可通过改变某些模型参数值,生成具有特定结构特征的肿瘤血管网,如不同种类的肿瘤、同类肿瘤在不同生长期或抗血管生成治疗的不同阶段的血管网等。

2.5 血管网的平滑处理

现有数值生成的肿瘤微血管网尽管在宏观上与真实的肿瘤微血管网越来越接近,但在微观上,由于血管生长方向的限制,使得血管呈阶梯状走向,这势必会影响血管网内血液流动的当量阻力,对此后的血液动力学计算带来误差。为减少上述因素对流动模拟造成的误差,可通过改变模拟时内皮细胞的生长方向,如在二维五点格式基础上,建立二维九点格式^[11,12]以及二维任意方向格式^[13]模型等,使得血管生长方向改进为沿折线形和沿任意方向,从而提高

血管网的光滑程度。图7为3种格式下的血管网模拟结果。Zheng 等^[14]模型采用自适应有限元网格,达到血管芽尖沿任意方向生长的效果,但随着血管及肿瘤生长,自适应网格划分得越来越紧密,以致部分血管排列过度密集,网络结构清晰度降低,同时偏离了真实情况(见图8)。

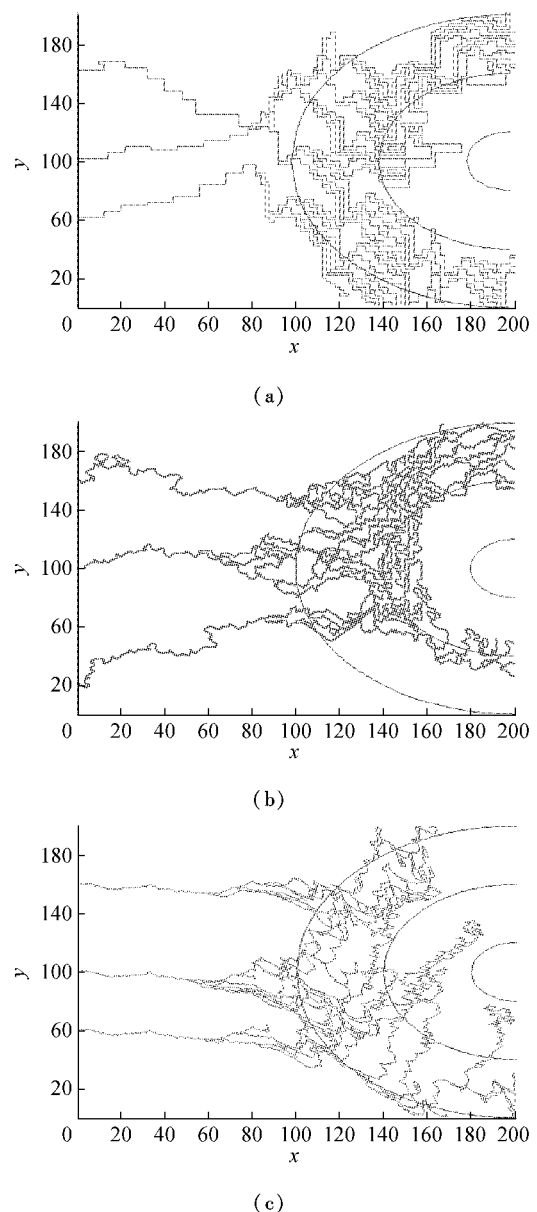


图7 不同差分格式下模拟所得二维微血管网 (a) 2D5P 格式, (b) 2D9P 格式, (c) 2DRD 格式

Fig.7 2D simulated microvascular networks using by the various difference scheme (a) 2D5P scheme, (b) 2D9P scheme, (c) 2DRD scheme

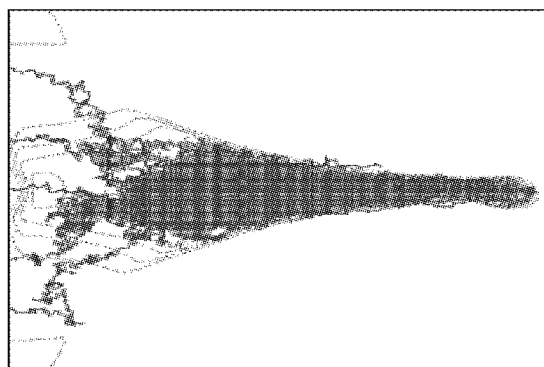


图8 Zheng 等人的肿瘤血管生成模拟结果^[14]
Fig.8 Simulation Result of tumor angiogenesis from Zheng et al^[14]

本文提出了一种后期处理方法——微血管网平滑处理,即通过对已生成的血管网进行后期处理,将呈阶梯状的血管段用光滑的空间拟合曲线进行取代。图9是单根血管段进行平滑处理后的效果图((a)为二维情况,(b)为三维情况)。对每根血管进行上述处理后,即可得到所需的平滑度较高的血管网络结构。如图10和图11所示,分别为二维和三维微血管网平滑处理前后的效果对比图。相比差分格式的改进,平滑处理方法简单易行,不仅可避免繁琐的方程离散化推导,同时大大减少了模拟计算

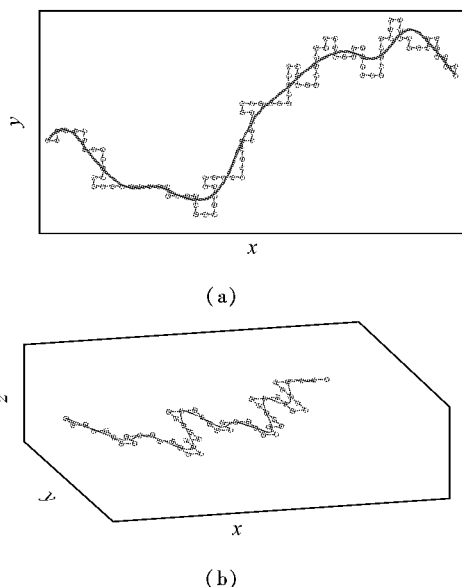


图9 对单根血管的平滑处理示意图 (a) 二维血管, (b) 三维血管
Fig.9 Schematic representation of smoothing of single vessel (a) 2D vessel, (b) 3D vessel

量和耗时量,降低了对计算机内存的需求,这些优势在三维问题中表现得更为明显。而且,经平滑处理后的血管网也更接近于真实的肿瘤血管网。

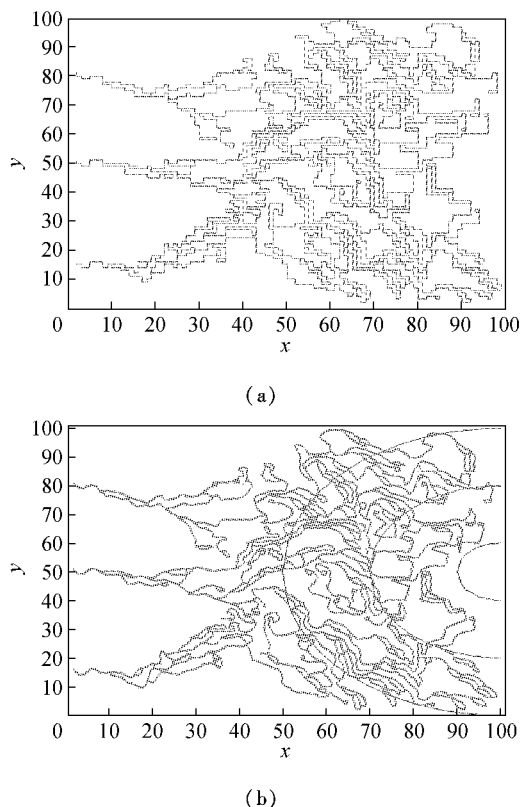


图10 二维血管网的平滑处理效果图 (a) 平滑处理前, (b) 平滑处理后
Fig.10 Smoothing of 2D angiogenic vasculature (a) before smoothing, (b) after smoothing

2.6 模型局限性

(1) 力学因素的影响。本文考虑了力学因素的影响,从肿瘤组织与正常组织不同特性出发,对 endothelial cells 的随机运动项进行了修正,但此修正项为一种简化的各向同性形式。组织中的纤维排列和走向是一种空间异构的分布,将影响内皮细胞在组织中的运动方向和运动速度,因此需要进一步准确精细地描述局部组织与内皮细胞间力的作用。

(2) 新生血管的重构与消亡。模型未考虑血管重构与消亡。事实上,新生血管一旦形成环路,则血液开始流通,就存在血管的重构过程。血液流动的壁面剪切力、血管内压力等都将影响新生血管的重构过程,如血管管径的调整,内皮细胞的凋亡,冗余血管网的消退,以及壁面剪切力形成生长芽尖等等。

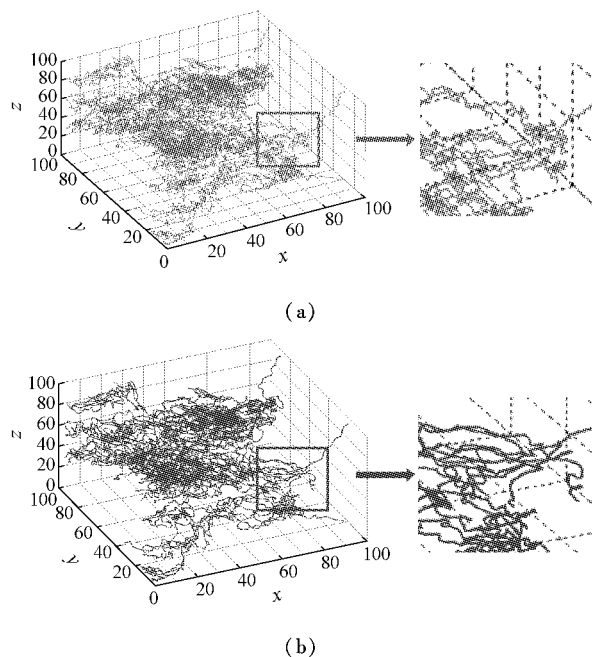


图 11 三维血管网的平滑处理效果图(右侧为放大图) (a) 平滑处理前; (b) 平滑处理后

Fig. 11 Smoothing of 3D angiogenic vasculature (the right one is the enlargement of the left square) (a) before smoothing; (b) after smoothing

(3) 与肿瘤生长的耦合。肿瘤缺乏营养诱使血管生成,而新生血管的出现促进肿瘤组织的生长,二者之间互相影响,肿瘤血管生成和肿瘤组织生长相辅相成。因此,在考虑肿瘤血管生成的模型中,需要考虑肿瘤组织在从无血管生长阶段进入血管化阶段中对新生血管生成的影响。

(4) 模拟方法的改进。本文模型采用均匀网格点划分,内皮细胞的运动速度为固定值,限制了芽尖生长速度的不一致性。实验观察发现,当血管网络靠近肿瘤组织时,细胞分裂成为一个重要的影响因素,尤其是在高 TAFs 浓度下增殖速度加快。因此应考虑内皮细胞运动速度的相异性等因素,改进模拟方法,以此获得更加接近真实的血管网络。

3 结语

本文模型一定程度上能模拟生成相对真实可信的,符合肿瘤血管系统基本形态特征的血管网络。同时,模拟结果具有局部可调控性、完备的循环系统、完整的网络连通性、较好的网络平滑度等,能够为肿瘤血液灌注及药物运输的理论研究提供较真实有效的血管网络模型。

参考文献:

- [1] Anderson ARA, Chaplain MAJ. Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis [J]. Bull Math Biol, 1998, 60(5): 857-899.
- [2] Ste'phanou A, Mcdougall SR, Anderson ARA, *et al.* Mathematical modeling of flow on 2D and 3D vascular networks: Applications to anti-angiogenic and chemotherapeutic drug strategies [J]. Math Comp Mod, 2005, 41: 1137-1156.
- [3] Ste'phanou A, McDougall SR, Anderson ARA, *et al.* Mathematical modelling of the influence of blood rheological properties upon adaptive tumour-induced angiogenesis [J]. Math Comp Mod, 2006, 44: 96-123.
- [4] McDougall SR, Anderson ARA, Chaplain MAJ. Mathematical modeling of dynamic adaptive tumor-induced Angiogenesis: clinical implications and therapeutic targeting strategies [J]. J Theor Biol, 2006, 241: 564-589.
- [5] 高昊, 许世雄, 蔡颖, 等. 力学环境影响下肿瘤内外血管生成的数值模拟[J]. 医用生物力学, 2006, 21(1): 2-7.
- [6] Bartha K, Rieger H. Vascular network remodeling via vessel cooption, regression and growth in tumors [J]. J Theor Biol, 2006, 241: 903.
- [7] Welter M, Bartha K, Rieger H. Emergent vascular network inhomogeneities and resulting blood flow patterns in a growing tumor [J]. J Theor Biol, 2008, 250: 257.
- [8] Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy [J]. J Clin Oncol, 2002, 20: 4368-4380.
- [9] 吴洁, 许世雄, 赵改平, 等. 实体肿瘤血液动力学的三维数值模拟[J]. 医用生物力学, 2006, 21(1): 8-13.
- [10] Tozer GM, Ameer-Beg SM, Baker J, *et al.* Intravital imaging of tumor vascular networks using multi-photon fluorescence microscopy [J]. Adv Drug Delivery Rev, 2005, 57: 135-152.
- [11] Wu J, Xu SX, Long Q, *et al.* Coupled modeling of blood perfusion in intravascular, interstitial spaces in tumour microvasculature [J]. J Biomech, 2008, 41: 996-1004.
- [12] Wu J, Xu SX, Long Q, *et al.* Simulation of microcirculation in solid tumors [C]//Proceedings of 2007 IEEE/ICME International Conference on Complex Medical Engineering, CME2007, 1555-1562.
- [13] 吴洁, 许世雄, 龙泉, 等. 实体肿瘤血管任意方向生成的二维数值模拟[J]. 医用生物力学, 2007, 22(1): 50-54.
- [14] Zheng X, Wise SM, Cristini V. Nonlinear simulation of tumor necrosis, neo-vascularization and tissue invasion via an adaptive finite-element/level-set method [J]. Bull Math Biol, 2005, 67: 211-259.