

文章编号:1004-7220(2019)02-0127-06

基于 let7-LIN28 双稳态现象的动力学建模 与抗耐药策略分析

陈 然¹, 吴 禹^{1,2,3}

(1.浙江大学 航空航天学院工程力学系, 杭州 310027; 2.浙江省软件机器人与智能器件研究重点实验室, 杭州 310027;
3.浙江大学 软物质科学研究中心, 杭州 310027)

摘要:目的 探究不同参数对癌细胞中 let7-LIN28 负反馈系统双稳态性质的影响,以求找到对该双稳态系统影响较大的参数,为调节治疗时产生的细胞耐药性提供思路。**方法** 通过动力学建模研究二维系统双稳态,通过绘制系统零线图观察系统双稳态特性随参数取值改变而发生的变化。**结果** 各参数对系统双稳态特性的影响程度存在差异,改变参数取值可以调节系统的双稳态特性,甚至可以实现双稳态与单稳态的切换。**结论** 对敏感度较高的参数进行有针对性的调节可以达到控制细胞耐药性的目的。

关键词:双稳态; 耐药; 负反馈; 肿瘤

中图分类号: R 381.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2019.02.003

Dynamics Modeling and Anti-Drug Resistance Strategy Analysis Based on Let7-LIN28 Bistable Phenomena

CHEN Ran¹, WU Yu^{1,2,3}

(1. Department of Engineering Mechanics, School of Aeronautics and Astronautics, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China; 2. Key Laboratory of Soft Machines and Smart Devices of Zhejiang Province, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China; 3. Soft Matter Research Center, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Abstract: **Objective** To find the key factors that have great influences on the bistable properties between let7 and LIN28 by exploring the effects of different parameters on the negative feedback bistable system, and provide insights for regulating the drug resistance generated during treatment. **Methods** The bistability of two-dimensional system was studied by dynamics modeling, and the influence of the parameters on stability behavior of the system was investigated from the portrait of nullclines. **Results** The parameters showed heterogeneous effects on bistability behavior of the system. A shift in parameter values could regulate the characteristics of bistability and might even make a switch back and forth between bistability and monostability. **Conclusions** Targeted regulation of sensitive parameters can potentially achieve the goal of controlling drug resistance.

Key words: bistability; drug resistance; negative feedback; tumor

收稿日期:2019-03-01; 修回日期:2019-03-14

基金项目:国家自然科学基金项目(11402227, 11621062, 11432012), 中央高校基本科研业务费(2015QNA4034), 青年千人计划启动基金

通信作者:吴禹,教授,E-mail: ywu@zju.edu.cn

肿瘤是指机体在致瘤因子作用下局部细胞增生所形成的新生物,恶性肿瘤即为人们通常所说的癌症。癌症已经成为世界范围内致死率最高的疾病之一,对于癌症的治疗一直都是人类关注的焦点。在肿瘤的发生、发育与治疗中,力学因素与其存在着复杂的联系^[1],冯元桢先生为此奠定了基础^[2]。目前,定量或半定量的模型已经成为理解、预测、改善癌症治疗效果的有力武器,以此为目的所使用的方程大部分为常微分方程^[3-6]。本文从动力学角度研究治疗过程中肿瘤细胞内 let7 与 LIN28 之间存在的负反馈双稳态关系。let7 很可能是具备抑癌作用的 microRNA,因为 let7 的多个靶基因都是癌基因。另外,研究表明,多种肿瘤的发生也均与 let7 表达下降相关。LIN28 则是高度保守的 RNA 结合蛋白,可以抑制 let7 的成熟,而 let7 也可以抑制 LIN28 的表达^[7]。let7 与 LIN28 的相互抑制构成了一个双负反馈回路,当系统中的一方较为强势而另一方较为弱势的时候,便有可能达到一个稳定的平衡。目前已有研究发现,let7-LIN28 负反馈双稳态系统对癌症的治疗效果有着重要影响。当 let7 浓度较高从而抑制 LIN28 时,癌细胞的耐药性较低,治疗效果较好;相反,当 LIN28 浓度较高从而抑制 let7 时,癌细胞的耐药性较高,治疗效果较差。随着药物治疗和化疗的进行,细胞中的 let7 浓度会逐渐降低,同时 LIN28 浓度将逐渐升高,意味着系统将从非耐药状态逐渐变为耐药状态,这显然不利于治疗^[8]。因此,将系统维持在非耐药稳态至关重要。利用动力学方程建模与分析可以开展虚拟实验,找到对整个双稳态系统具有较大影响的参数,从而进行针对性的调节以提高控制效果。

1 模型与方程

根据 let7-LIN28 之间的负反馈关系,构建简化的负反馈模型(见图1)。

Gardner 等^[9]在研究大肠杆菌的负反馈模型中使用了一个较 Hill 方程来说形式更简单、参数更少的数学模型,且以此模型模拟了负反馈双稳态曲线。以 Gardner 等^[9]使用的方程为基础,本文使用的双稳态数学模型为:

$$\frac{d[\text{let7}]}{dt} = \frac{s_1}{1 + [\text{LIN28}]^{n_1}} - r_1 \cdot [\text{let7}] \quad (1)$$

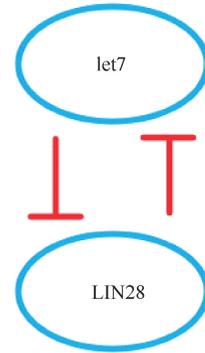


图1 let7-LIN28 负反馈模型

Fig.1 Negative feedback model of let7-LIN28

$$\frac{d[\text{LIN28}]}{dt} = \frac{s_2}{1 + [\text{let7}]^{n_2}} - r_2 \cdot [\text{LIN28}] \quad (2)$$

式中:[let7]和[LIN28]分别表示各自对应物质的量。等号右端第1项均表示各自被对方抑制的生成速率;第2项均表示各自正常的衰减速率。其中, s 为基础生成速率系数, r 为基础衰减速率系数, n 为协同抑制系数。

由方程(1)、(2)可以看出,当[let7]、[LIN28]的量为0时,各物质的生成速率系数均为基础生成速率系数 s 。随着各物质不断积累,生成速率一项的分母逐渐非线性增大,导致生成速率减缓,同时衰减速率则是随物质的积累线性增长;两者最终将达到平衡状态。在这个负反馈回路中的非线性项,是构成双稳态的必要条件之一^[10]。

2 分析

对于二维双稳态系统,相平面上零线的交点即为系统平衡点,因此可以利用零线图分析 let7-LIN28 系统双稳态特性随参数取值改变而发生变化的规律。一个典型二维系统零线图如图2所示(A 、 B 分别表示两种物质表达量)。蓝色实线表示 $dA/dt=0$ 的零线,红色虚线表示 $dB/dt=0$ 的零线,蓝色实线与红色虚线的交点即系统平衡点。因为用于模拟图2的两个双稳态方程形式一致且对应参数取值相同,故在图像上表现为对角线对称。

位于图2中橙色对角线以上的系统状态最终将归于左上角的稳定平衡点;位于橙色对角线以下的系统状态最终将归于右下角的稳定平衡点;位于

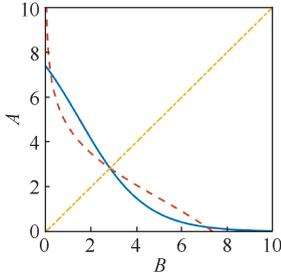


图2 二维双稳态系统零线图
Fig.2 Nullclines diagram of two-dimensional bistable system

对角线上的系统状态最终将归于 3 条线相交的不稳定平衡点。具体情况如图 3 所示,箭头表示与经过相平面上该点处的轨线相切的速度矢量。

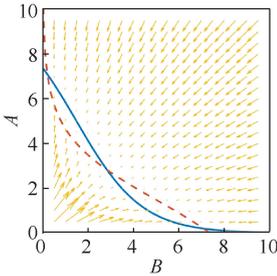


图3 二维双稳态系统矢量图
Fig.3 Vector diagram of two-dimensional bistable system

如果系统方程对应参数的取值不同,那么零线图将不再是对角线对称的。相图中将表现为系统其中一个稳定平衡点将拥有更大的吸引域,而系统另一个稳定平衡点拥有的吸引域将缩小。假设不稳定平衡点坐标为 (a, b) ,零线图中点 $(0, 0)$ 与点 (a, b) 以及点 (a, b) 与点 $(10, 10)$ 连接的两条线段将分隔出两个稳定平衡点的吸引域。如果更青睐系统的某一个稳态,可以通过调节方程参数来改变稳定平衡点的吸引域大小。如前文所述,对于肿瘤的治疗,更希望系统停留在 let7 浓度较高、LIN28 浓度较低的非耐药稳态。因此,可以通过调节系统参数以扩大非耐药平衡点的吸引域;同时,缩小耐药平衡点吸引域。

以方程(1)、(2)对应参数取某一相同数值时的零线图为基准,得到基准零线图(见图4)。图中蓝色实线表示 let7 的零线,红色虚线表示 LIN28 的零线(图5与此一致),各参数基准为 $s_1 = s_2 = 5, r_1 = r_2 = 1, n_1 = n_2 = 2$ 。

为便于比较各参数灵敏度,使用控制变量的方

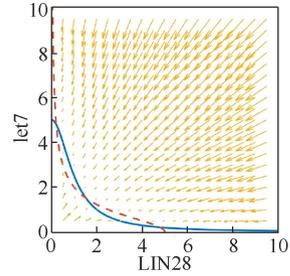


图4 基准零线图
Fig.4 Reference of nullclines

法依次改变各参数取值且其余参数取值仍与基准相同,将各参数依次向有利于非耐药方向变化 20%,得到参数改变后零线图(见图5),图5中左上平衡点即非耐药稳态。可以发现,提升 s_1, r_2, n_2 或者降低 s_2, r_1, n_1 均有利于抑制治疗过程中产生的耐药性;反之则是不利的。当调节参数时,系统具备从双稳态变为非耐药单稳态的可能,这在治疗上是可以被重点利用的特性。根据治疗需求可知,整体被系统左上角非耐药稳定平衡点吸引的区域越大,对治疗越有利。假设系统在整个相平面上只有位于左上的平衡点则是最佳的全局稳定,因为此时不论 let7、LIN28 的表达量如何变化,系统最终都将归于非耐药平衡点。

关于考察系统对各参数连续变化的灵敏度,可以将点 $(0, 0)$ 、点 $(10, 10)$ 以及不稳定平衡点坐标所构成的三角形面积作为标准。由图5可知,该钝角三角形的两条钝角边以上的区域为非耐药平衡点吸引域,两条钝角边以下的区域为耐药平衡点吸引域。因此,在参数改变率相同的情况下,图5中紫色线框三角形面积越大,该参数的灵敏度越高,靶向调节该参数越有利于提高细胞的非耐药性。由于对角线长度确定,故三角形面积由不稳定平衡点距对角线的距离决定。图6所示为不稳定平衡点与对角线的距离随单一参数变化百分比的改变结果。

由图6可知,对于图4的参数基准,各参数在向有利于系统非耐药方向改变时,除 n_2 以外,其余参数的灵敏度都较高,其中尤以 n_1, s_2 为甚;以及除 n_2 以外,其余各参数在改变量达到某一阈值时,不稳定平衡点距对角线距离跳变为零。根据零线变化的趋势可以判断,此时的跳变意味着原双稳态系统在参数变化到临界值时发生了分叉,即系统从双稳

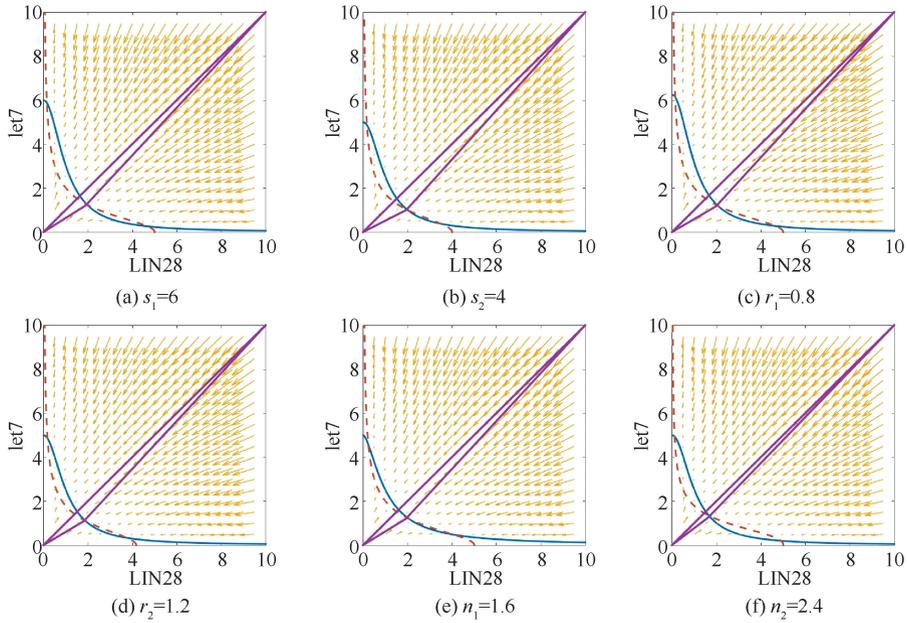


图5 参数改变后零线图

Fig.5 Nullclines with changed parameters (a) $s_1=6$, (b) $s_2=4$, (c) $r_1=0.8$, (d) $r_2=1.2$, (e) $n_1=1.6$, (f) $n_2=2.4$

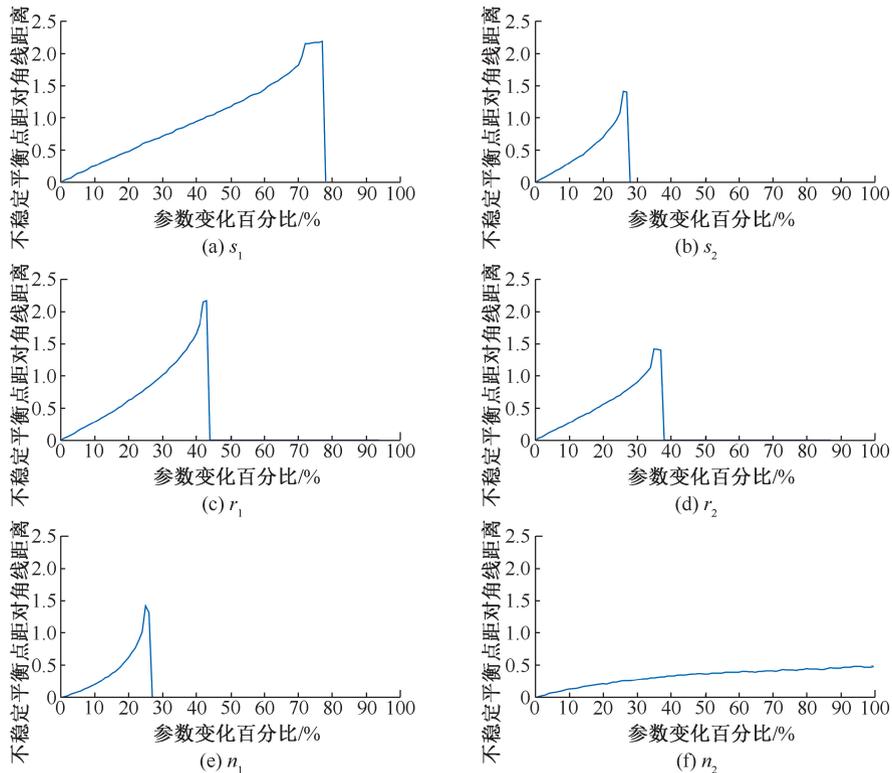


图6 系统不稳定平衡点距对角线距离随单一参数连续变化改变图

Fig.6 Distance between diagonal and unstable steady state varying with continuously changing single parameter

(a) s_1 , (b) s_2 , (c) r_1 , (d) r_2 , (e) n_1 , (f) n_2

态突变为单稳态,不稳定平衡点随之消失,因而距离跳变为零。从曲线走势来看,不稳定平衡点距对角线距离随参数变化百分比的改变呈现不同规律。图 6 仅展现了系统对单个参数的灵敏度;当同时同

步(相同变化百分比)调节两个参数时,系统不稳定平衡点距对角线距离随一对参数连续变化改变曲线如图 7 所示。

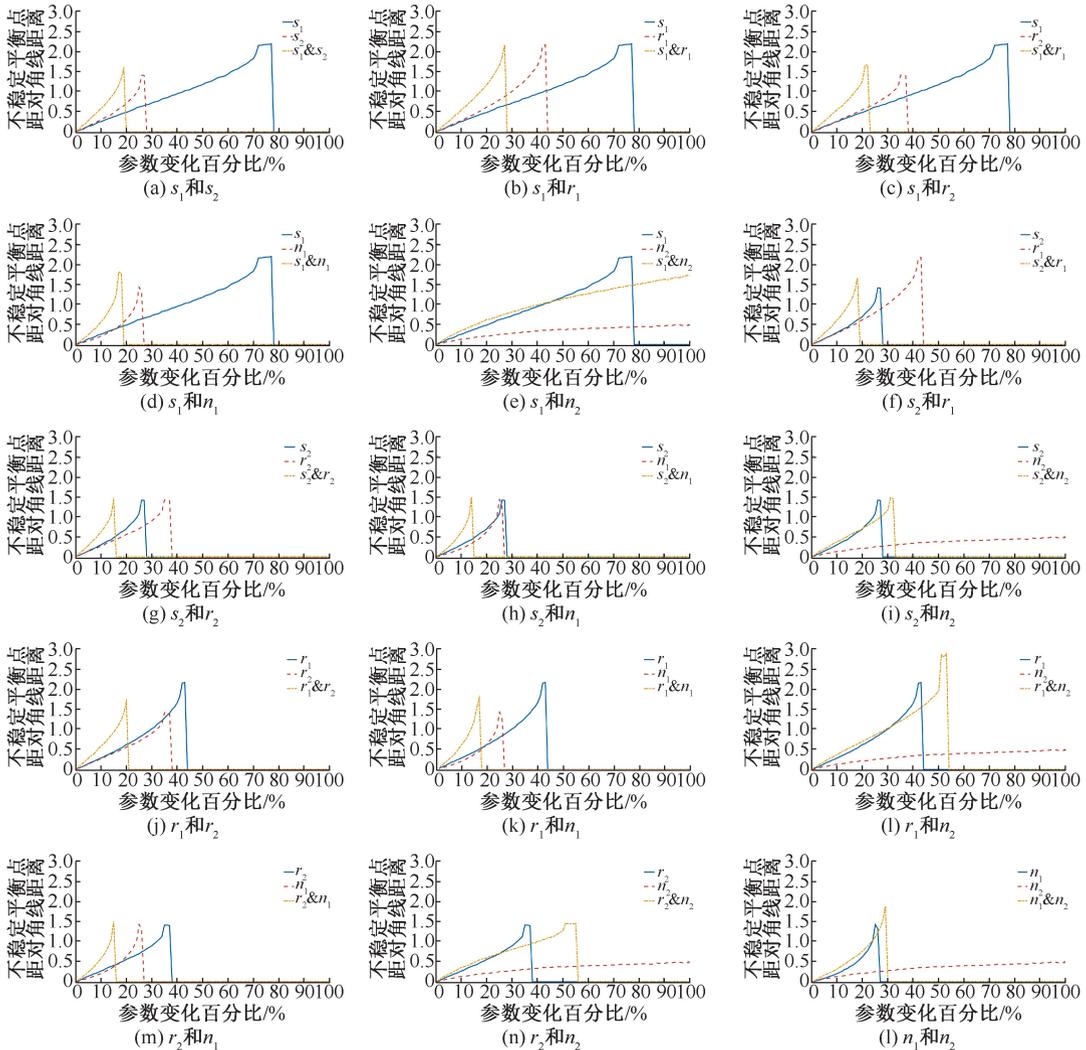


图 7 系统不稳定平衡点距对角线距离随一对参数连续变化改变图(同时同步调节)

Fig.7 Distance between diagonal and unstable steady state varying with continuously changing couple parameters

- (a) s_1 & s_2 , (b) s_1 & r_1 , (c) s_1 & r_2 , (d) s_1 & n_1 , (e) s_1 & n_2 , (f) s_2 & r_1 , (g) s_2 & r_2 , (h) s_2 & n_1 , (i) s_2 & n_2 , (j) r_1 & r_2 , (k) r_1 & n_1 , (l) r_1 & n_2 , (m) r_2 & n_1 , (n) r_2 & n_2 , (o) n_1 & n_2

图 7 列举了全部 15 种可能的组合,大部分组合可以显著降低该双稳态系统进入单稳态的临界参数值。由此可见,同时调节多个参数对控制该系统耐药性具有积极作用。另外,只要没有 n_2 参与的组合,从不稳定平衡点距对角线的最大距离来看,组合参数调节的效果一般,接近单参数调节的平均

值;从系统进入单稳态的临界参数值来看,组合参数调节具有一定协同效应,对参数调节幅度的要求远远低于单参数调节,因而增加了临床上实现的可能性,这对于达成临床上的非耐药转化具有一定指导意义和参考价值。可以预见,同时调节更多参数将更加有利于非耐药性的维持。

3 讨论与展望

本文模拟发现,通过提升 let7 的基础生成速率、LIN28 的基础衰减速率、let7 对 LIN28 的协同抑制系数,或者降低 LIN28 的基础生成速率、let7 的基础衰减速率、LIN28 对 let7 的协同抑制系数,均可控制癌细胞在治疗过程中产生的耐药性,对治疗产生正面影响。甚至在某些情况下,可能将 let7-LIN28 系统调节为非耐药的单稳态。另外,同时调节该系统的两个参数时,将显著提高对细胞耐药性的控制效果。

在动力学方程的选择上,除了运用 Gardner 等^[9]使用的这一类方程,也可以运用在双稳态建模中广泛使用的 Hill 方程,如 Shi 等^[11]使用 Hill 方程对 let7-LIN28 双稳态进行研究。Hill 方程相较于 Gardner 等^[9]使用的方程涉及更多的参数,意味着系统具有更多的可调性,相应的系统也会更加复杂。如果对系统具有较好的理解和较为合理的模型,采用 Hill 方程也是完全合适的。

相信随着对肿瘤治疗中 let7-LIN28 负反馈双稳态现象和机理研究的深入,不论是模型完善、方程选取、数据分析还是临床运用都会更加成熟,最终有望推动临床抗耐药策略的发展。

参考文献:

[1] 冯西桥,薛时磊,李博,等. 肿瘤力学学生物学[J]. 医用生物力学, 2018, 33(S): 61-73.
 FENG XQ, XUE SL, LI B, *et al.* Mechnobiology of tumors

[J]. J Med Biomech, 2018, 33(S): 61-73.
 [2] FUNG YC. Biomechanics: Motion, flow, stress, and growth [M]. New York: Springer, 1990.
 [3] AGUDA BD, KIM Y, PIPER-HUNTER MG, *et al.* MicroRNA regulation of a cancer network: Consequences of the feedback loops involving miR-17-92, E2F, and Myc [J]. PNAS, 2008, 105(50): 19678-19683.
 [4] WEI HC. A mathematical model of tumour growth with Beddington-DeAngelis functional response: A case of cancer without disease [J]. J Biol Dyn, 2018, 12(1): 194-210.
 [5] ITIK M, BANKS SP. Chaos in a three-dimensional cancer model [J]. Int J Bifurcat Chaos, 2010, 20(1): 71-79.
 [6] DEPILLIS LG, GU W, RADUNSKAYA AE. Mixed immunotherapy and chemotherapy of tumors: Modeling, applications and biological interpretations [J]. J Theor Biol, 2006, 238: 841-862.
 [7] 梁静,廖娟,杨怡萍. Lin28-let7 信号通路和下游靶基因在食管癌中的表达及其临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(10): 2161-2165.
 [8] YIN J, ZHAO J, HU W, *et al.* Disturbance of the let7/LIN28 double-negative feedback loop is associated with radio-and chemo-resistance in non-small cell lung cancer [J]. PLoS ONE, 2017, 12(2): 1-16.
 [9] GARDNER TS, CANTOR CR, COLLINS JJ. Construction of a genetic toggle switch in Escherichia coli [J]. Nature, 2000, 403: 339-342.
 [10] FERRELL JEJ. Self-perpetuating states in signal transduction positive feedback double negative feedback and bistability [J]. Curr Opin Chem Biol, 2002, 6: 140-148.
 [11] SHI F, YU W, WANG X. Bistable switch in let-7 miRNA biogenesis pathway involving Lin28 [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15: 19119-19133.