群体细胞动力学研究进展

林绍珍, 陈鹏程, 李博*, 冯西桥*

清华大学航天航空学院工程力学系生物力学与医学工程研究所, 北京 100084

* 联系人, libome@tsinghua.edu.cn; fengxq@tsinghua.edu.cn

2020-05-02 收稿, 2020-06-19 修回, 2020-06-23 接受, 2020-06-24 网络版发表

国家自然科学基金(11921002, 11922207)资助

摘要 在胚胎发育、伤口愈合、肿瘤侵袭等生理和病理过程中, 群体细胞动力学行为起着重要调控作用. 群体细胞动力学涉及细胞骨架演化、生化信号转导、细胞之间以及细胞与微环境之间的相互作用等, 是力学与生物学交叉领域的一个前沿课题. 本文重点介绍单层多细胞系统群体动力学研究的一些最新进展. 首先, 介绍单层多细胞系统在不同边界约束下的群体细胞运动模式及其演化规律, 并与多粒子系统拥堵转变行为进行类比分析. 进而介绍单层多细胞系统的细胞形状和取向的统计规律、细胞取向所形成的拓扑缺陷, 及其对群体细胞运动和细胞命运的影响. 然后, 介绍群体细胞的振荡行为及其发生机制与理论模型, 并简要讨论基底曲率对群体细胞动力学的影响. 最后, 介绍群体细胞动力学研究的一种常用力学模型——细胞顶点模型.

关键词 群体细胞动力学, 群体细胞迁移, 力-化-生耦合, 细胞顶点模型

在自然界中, 可以观察到大量的动物群体迁移行为, 其运动模式纷繁复杂. 例如, 鱼群可以自由散乱地随机游动, 也可以成群结队地定向游动. 在捕食者的追捕下, 或者遇到障碍物时, 鱼群又可以像被剧烈搅动的流体一样旋转, 形成瑰丽的旋涡环或旋涡团. 这些有趣而神秘的群体运动行为并非鱼群所特有, 而是广泛存在的一类现象^[1]. 群体行为普遍存在于各种生物系统中, 例如细菌菌落、细胞团、昆虫群、鱼群、鸟群、羊群甚至人群, 发生于从微米(如细胞骨架、细菌)到千米(如鱼群、斑马群、人群)甚至更大的空间尺度上. 为研究这些群体行为背后的物理机制, 人们将细菌、动物细胞、精子、蚂蚁、鱼、鸟等生物体视为活性粒子, 即具有自主迁移能力的粒子. 活性粒子的主要特征是将外环境能量或自身化学能转化为机械能, 从而实现自我驱动. 由于组分的活性和个体之间相互作用的复杂性, 活性粒子系统通常呈现出异于传统热力学平衡系统的新奇现象, 例如成簇、群集、相分离等^[2]. 若

所研究的系统粒子分布稠密, 则可将活性粒子系统视为一种连续介质——活性软物质, 进而采用连续介质力学和统计物理的方法来刻画其群体行为. 最近, 也有学者将具有自主意识和社会意识的人类社会视为一种广义的活性软物质——社会介质^[3]. 研究活性粒子系统的群体行为, 不仅可以揭示新的物理规律和加深对生命体自组装现象的认识, 也可以对临床治疗中的药物运输、社会生态领域的污染治理、人类安全防护等问题的解决有所帮助^[4].

本文关注多细胞系统的群体动力学行为, 尺度一般在 10^{-6} ~ 10^{-3} m量级. 群体细胞动力学行为主要包括群体细胞的运动、振荡、拓扑变换等. 细胞的主动运动能力来自细胞前缘伸出的丝状伪足和板状伪足, 它们使黏附于基底的细胞能够向前延伸并锚定, 进而通过细胞收缩产生牵引力使细胞发生迁移^[5]. 更具体而言, 单细胞迁移过程可视为如下几个步骤的循环. 首先, 细胞沿运动方向发生极化; 然后, 细胞前缘形成丝

引用格式: 林绍珍, 陈鹏程, 李博, 等. 群体细胞动力学研究进展. 科学通报, 2020, 65: 3100–3117

Lin S Z, Chen P C, Li B, et al. Advances on collective cell dynamics (in Chinese). Chin Sci Bull, 2020, 65: 3100–3117, doi: 10.1360/TB-2020-0522

状或板状伪足,向前伸展并形成附着;最后,细胞内应力纤维收缩,促使尾缘脱黏,进而产生整体迁移。细胞极化调控细胞迁移的方向,其由复杂的信号调控通路介导。在极化的细胞中,前缘和尾缘分别发生不同的生化过程,进而导致从尾缘到前缘的定向囊泡运输、微管取向和一些细胞器的定位。群体迁移是细胞运动的常见方式。相比于单细胞迁移,群体细胞迁移涉及更多因素。在细胞群体迁移过程中,细胞运动不仅受到各个细胞内部细胞骨架动态自组装和生化信号转导的调控,还受到细胞间相互作用的影响,如细胞-细胞黏附^[6,7]。此外,群体细胞迁移还受到外部环境多种因素的影响,包括基底刚度、化学因子浓度、电场、磁场等。因此,群体细胞动力学是力学与生物学、物理、化学等多学科交叉的一个前沿课题。

群体细胞迁移发生在各种生理和病理过程中,下面分别以胚胎发育、伤口愈合和肿瘤侵袭为例,阐明群体细胞迁移对这些生理或病理过程的意义。

群体细胞动力学行为对胚胎演化和组织器官的形成起重要调控作用。例如,果蝇胚胎发育始于合胞体阶段,大致分为如下两步:(1)经过大约10次同步分裂后,细胞核迁移到胚胎周边,并被由肌动蛋白构成的沟槽包裹,完成细胞化;(2)内胚层和中胚层从胚胎外表面向内迁移以形成内部器官。其中,第二步又可细分为以下过程:中胚层内陷、胚带延伸、胚带回缩、背部闭合。中胚层内陷标志着原肠胚形成的开始,其过程包括:在胚胎腹侧一条纵向带上的中胚层细胞形态发生改变,引起内陷,进而形成植物极沟;此后,细胞顶面收缩使得中胚层在胚胎内形成一小管;进而,中胚层细胞开始独立地以近乎单细胞迁移的模式运动到不同位点。在中胚层内陷完成之后,腹面胚层或胚带经过延伸驱使躯干后部区域围绕后端向上到达背侧,胚带伸长进一步促使后部中肠内陷闭合并且压紧羊浆膜组织。胚带延伸完成后又会回缩,其驱动力主要来源于羊浆膜细胞的铺展。在胚带回缩之后,果蝇胚胎背部只留下一层薄的羊浆膜组织。为维持果蝇胚胎结构的完整性,羊浆膜周围所连上皮细胞向背部中线移动并最终完全融合,即发生背部闭合。果蝇胚胎发育过程同样伴随着群体细胞振荡行为。例如,中胚层内陷过程由腹侧沟槽细胞的顶面脉冲式的主动收缩驱动,而收缩脉冲由肌动蛋白-肌球蛋白网络的收缩提供动力^[8]。转录因子*twist*和*snail*对脉冲收缩分别起到启动和稳定的作用:*snail*基因的表达启动肌动蛋白-肌球蛋白网络收缩,而

*twist*基因的表达对细胞顶面的收缩状态起到稳定作用。因此,皮质肌动蛋白-肌球蛋白细胞骨架在果蝇发育过程中起到类似于亚细胞棘轮的作用。再如,在背部闭合过程中,羊浆膜细胞在闭合前期发生群体形态振荡,且随着闭合的进行,振荡逐渐衰减直至闭合中期完全消失^[9,10]。由此可见,群体细胞动力学贯穿果蝇胚胎发育的整个过程,并对其精确演化起着重要的调控作用。因此,对群体细胞动力学行为的研究不仅有助于理解胚胎发育过程的力学机理,而且有望对胚胎发育相关疾病的诊断和治疗提供依据。

伤口愈合是多细胞生物一个重要的生理过程,包含旨在修复受损组织结构和功能的几个连续步骤,并涉及炎症和组织重塑^[11,12]。伤口愈合过程始于包括钙离子、过氧化氢和ATP等在内的损伤信号:这些损伤信号在上皮组织中扩散,并立即启动与基因转录无关的细胞效应,包括细胞形状的改变、功能性肌动蛋白结构的形成和免疫细胞的补充;这些事件和后续特定创伤反应基因的转录进一步促进伤口愈合^[12]。按照其主要过程可将伤口愈合分为两类,即胚胎组织伤口愈合和成体组织伤口愈合。胚胎组织伤口愈合的主要过程包括肌动蛋白结构的形成、免疫细胞的补充、组织收缩和细胞伸长以及伤口闭合。成体组织伤口愈合的主要过程包括血块形成、炎症反应、细胞增殖和迁移以及组织重塑。这两者尽管过程有所差别,但都涉及大量的群体细胞动力学行为。伤口愈合机制在生命系统中具有一定的保守性^[11]。目前,一般认为有两种机制驱动伤口愈合:第一种是超细胞肌动蛋白环在伤口边缘的形成,其收缩可以驱动伤口的闭合^[13];第二种是伤口边缘以及靠近边缘处细胞的群体迁移^[14],该过程由细胞前缘板状伪足和丝状伪足引导。大量实验证据表明,超细胞肌动蛋白环和板状伪足共同存在于伤口边缘^[15],但这些细胞骨架结构如何驱动伤口愈合仍有待进一步研究。Brugués等人^[16]研究表明,群体细胞迁移在伤口愈合的初始阶段起主导作用,但随后还伴有超细胞肌动蛋白环的收缩协同作用。他们认为超细胞肌动蛋白环的作用至少体现在两个方面:一是通过“荷包线”机制促进伤口愈合;二是通过主要沿伤口切向排布的黏着斑将其收缩力传导至基底,产生牵引力,并主导细胞单层向伤口前行。因此,揭示伤口愈合过程群体细胞动力学的规律和机制具有重要的生理学意义,并且有望应用于临床治疗。这主要体现在如下两个方面。其一,生物医学追求高效愈合。伤口愈合之后往往伴随伤

疤形成和局部组织纤维化,而这可能进一步导致其他疾病的发生或加重现有的疾病^[11]。例如,伤口会促进肿瘤的形成和演化,并且可能影响糖尿病、心血管疾病、自身免疫疾病等相关疾病的治疗效果^[17]。功能基因组研究表明,伤口修复期间的基因表达模式类似侵袭的肿瘤,揭示出伤口和肿瘤微环境的相似性^[17]。其二,伤口同样是病原体的主要入侵途径,可能导致潜在的破坏性传染病^[18]。

此外,群体细胞迁移在肿瘤侵袭和转移过程中起着重要作用。经过长期研究,人们总结出如下癌症重要特征^[19]:持续的增殖信号、规避生长抑制因子、抵抗细胞凋亡、无限增殖能力、诱导血管生成、激活的侵袭和转移、能量代谢的重新编程以及规避免疫破坏。肿瘤侵袭和转移会在远处器官诱发继发肿瘤,增加肿瘤治疗的难度。因而,在这些特征中,肿瘤的侵袭和转移最为致命,也是癌症难以治愈的关键所在。肿瘤侵袭和转移主要可分为如下两个阶段:(1)癌细胞从原发肿瘤转移到远端器官;(2)转移的癌细胞对远端器官的“殖民化”。作为癌转移的第一步,肿瘤侵袭研究对于癌症治疗的价值不言而喻。肿瘤侵袭在组织病理学上定义为肿瘤细胞对正常组织的渗透^[20]。临床研究和体外实验研究皆表明,肿瘤细胞可以采取多种不同的侵袭模式。一般而言,根据细胞形态、细胞-细胞黏附和细胞-细胞信号转导的超细胞偶联,可将肿瘤侵袭大致分为如下几类^[21]:单细胞侵袭、多细胞流动、群体侵袭、扩张性生长和组织折叠。对于多种类型的癌症(如乳腺癌和肺癌),在组织形态学上最常见的侵袭单元是细胞群,其群体行为决定肿瘤的恶性功能。对于这些癌症,癌细胞通过表达细胞-细胞连接分子(如钙黏素或免疫球蛋白的黏附受体超家族)保持相互间的黏着。对癌细胞群体侵袭模式的研究有助于揭示肿瘤侵袭的力学机制,为抑制肿瘤侵袭提供理论支持,亦有望为癌症诊断提供新的方案。研究表明,肿瘤侵袭的群体迁移模式与肿瘤的恶化程度密切相关。例如,在临床上已经观察到,甲状腺乳头状癌在恶化后伴随着明显的旋涡增强行为^[22],因而可以将甲状腺乳头状癌的恶化程度和群体细胞旋涡运动强度关联起来。这说明对肿瘤侵袭模式的判断可能有助于癌症恶化程度的鉴别。此外,肿瘤的恶化过程通常伴随着细胞迁移能力、细胞间黏附以及细胞力学性质的变化。例如,癌细胞通常表现出与正常细胞截然不同的力学性质。癌细胞一般比正常细胞软,前者的杨氏模量可以比后者低一个数量级^[23]。揭示

这些细胞性质的变化对癌细胞群体行为的影响有助于理解肿瘤侵袭过程癌细胞的群体动力学规律。

综上所述,群体细胞动力学广泛存在于生理或病理过程中,且在其演化进程中扮演着重要角色。群体细胞动力学研究不仅具有科学价值,有助于发现和揭示新的物理规律,而且在疾病诊断、医疗健康等领域具有比较重要的参考价值。

1 二维群体细胞动力学

尽管体内真实的群体细胞迁移通常发生在三维微环境中,但三维细胞培养和成像比较困难。因此,目前多数研究仍着眼于二维群体细胞动力学。实验上主要是选取某一细胞系,将其接种于二维基底上,待其长至合适密度时利用显微成像技术记录不同时刻细胞的形貌和位置,分析群体细胞运动和形貌演化。例如,为研究细胞单层的铺展动力学,可以采用微接触印刷技术、微流控技术和紫外线照射技术等多种方法构建具有一定形状的自由/约束边界的细胞单层^[24]。然而,如何更加真实、准确地构建群体细胞的外环境并借助显微成像办法清晰地记录群体细胞运动变形的动态过程目前仍是生物力学领域的一大挑战。本节从以下几个方面阐述群体细胞动力学研究现状。

1.1 群体细胞迁移模式

对于群体细胞系统,细胞之间存在复杂的相互作用,包括细胞-细胞黏附等力学作用^[6,7]、生化通讯^[25]以及接触抑制迁移等社会性相互作用^[26]。这些细胞之间的相互作用会影响群体中细胞个体的动力学行为。再者,细胞还受到所处微环境(如基底刚度^[27]、电磁场^[28]、化学因子^[29]和几何约束^[30])的影响。这些因素使得群体细胞能够自发形成丰富多彩的动态迁移模式,如群体定向运动、旋涡运动、旋转运动和剪切流动等^[31-35]。

对于体外培养的二维细胞单层,细胞在铺满基底时会自发形成旋涡运动模式。该现象已在很多细胞系所形成的二维单层多细胞系统中观察到,包括人支气管上皮细胞(human bronchial epithelial cells, HBEC细胞)、Madin-Darby犬肾上皮细胞(Madin-Darby canine kidney cells, MDCK细胞)和NIH-3T3小鼠胚胎成纤维细胞(NIH-3T3 mouse embryo fibroblasts, NIH-3T3细胞)等^[31-33,37],如图1(a), (b)所示。对群体细胞迁移的雷诺数作如下估算:水密度 $\rho=1.0\times10^3\text{ kg m}^{-3}$ 、黏度

$\mu=1.0\times 10^{-3}\text{ N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$, 群体细胞迁移速度取为 $v=30\text{ }\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$, 几何特征尺寸取为 $L=10^3\text{ }\mu\text{m}$, 则相应的雷诺数为 $Re=pvL/\mu\approx 10^{-5}$. 由此可知, 群体细胞迁移的雷诺数很小, 这与在高雷诺数条件下才发生的传统宏观尺度湍流不符. 因此, 群体细胞的这种旋涡运动被称为主动湍流, 以区别于传统被动流体湍流. 对于不同的细胞系以及不同的微环境, 群体细胞的主动湍流模式的旋涡大小有所差别, 从几个细胞到几十个细胞不等^[31-33], 尺度为几十至几百微米. 因此, 这种主动湍流模式又被称为介观尺度湍流. Lin等人^[38]考虑细胞之间的社会性相互作用建立了主动顶点模型, 并基于此模型复现了介观尺度细胞湍流, 揭示了细胞间社会性相互作用对涡尺度的调控. 类似的群体旋涡运动亦在如细菌悬液、昆虫群落和鱼群等其他生物系统中观察到^[39]. 此外, 在三维细胞团中, 人们也观察到了与此类似的群体旋转运动模式^[36], 如图1(c)所示. 这说明旋涡运动模式可能是活性软物质系统的一个普遍运动模式.

在体环境中, 群体细胞在迁移过程会和其他非运动细胞或周围环境发生作用. 例如, 在肿瘤侵袭过程中, 癌细胞的迁移受到正常组织细胞的阻碍. 微环境约束会影响细胞群体运动模式^[30,40]. Vedula等人^[30]将MDCK细胞接种在具有不同宽度的长条形基底上, 研究了基底宽度对群体细胞迁移的影响. 该实验表明, 在较窄的条形基底上, MDCK细胞单层以群体定向迁移的方式向自由区域铺展; 而当基底较宽时, MDCK细胞群体自发形成局部旋涡运动模式. Doxzen等人^[40]研究了在不同尺寸的圆形黏附区域内群体细胞迁移模式, 发现了类似的几何约束尺寸对群体细胞迁移模式的调控: 当圆形区域尺寸较小时, 全体MDCK细胞绕着区域中心旋转; 而当圆形区域尺寸较大时, MDCK细胞单层无法维持整体旋转, 产生局部的动态旋涡结构, 如图2(a)所示. 有趣的是, 当区域小到只能容纳两三个细胞尺度时, 这两三个细胞能够稳定地绕中心旋转, 形成类似太极的图案^[34,41]. Lin等人^[38,42]的理论研究表明, MDCK细胞在不同尺寸的条形和圆形基底的迁移模式均可归结为细胞单层本征涡尺度和几何约束尺度之间的竞争: 当本征涡尺度小于几何约束尺度时, 细胞单层呈现湍流运动模式; 反之, 则呈现为定向运动模式(窄条形基底)或者整体旋转运动模式(小圆形基底). 图2(b)显示了Lin等人^[38]所建立的理论模型模拟在不同尺寸的圆域内群体细胞迁移模式, 与Doxzen等人^[40]的实验观测吻合. Doxzen等人^[40]还研究了其他细胞系在圆形区域内

图1 (网络版彩色)群体细胞系统的主动湍流模式. (a) MDCK细胞单层^[32]; (b) HBEC细胞单层^[33]; (c) 三维MCF10A细胞团^[36]
Figure 1 (Color online) Active turbulence in diverse collective cell systems. (a) A MDCK cell monolayer^[32]; (b) a HBEC monolayer^[33]; (c) 3D MCF10A cell aggregates^[36]

的群体运动模式, 包括人乳腺上皮细胞(MCF10A human breast epithelial cells, MCF10A细胞)和转移性的人乳腺癌细胞(MDA-MB-231 metastatic human breast carcinoma cells, MDA-MB-231细胞). 结果表明, 对于直径 $200\text{ }\mu\text{m}$ 的圆形区域, MDCK细胞可以保持整体旋转, MCF10A细胞整体旋转运动相对较弱, 而MDA-MB-231细胞则表现为完全无序的随机运动. 这说明在有限区域内的群体细胞迁移模式不仅与区域的几何尺寸有关, 还与细胞类型有关. 此外, 研究表明, 区域的几何形状同样会影响群体迁移模式. Li和Sun^[34]利用考虑细胞记忆效应的Voronoi模型研究了在不同形状的限域内群体细胞迁移模式, 发现区域的几何形状显著影响群体细胞迁移模式. 例如, 椭圆域内的群体细胞旋转的有序性随椭圆纵横比增大而减小, 即区域的几何各向异性诱导群体细胞迁移模式的各向异性, 甚至诱发往复振荡现象.

若无几何约束, 群体细胞迁移将表现出与约束迁移显著不同的动力学行为. 其中, 一个典型例子是伤口愈合过程. 研究者们设计了多种实验系统来研究伤口愈合过程中细胞群体向自由空间迁移的动力学行为. 图3列出了在几种不同自由边界几何条件下的群体细胞迁移模式. 当细胞单层的边界自由时, 原本平滑的边界(如直线边界、圆形边界等)将演化至极不规则的形

图2 圆域内群体细胞迁移模式. (a) 区域尺寸调控MDCK细胞群体迁移模式^[40]; (b) 主动顶点模型模拟不同尺寸的圆域内群体细胞迁移模式. 其中, N 表示圆域内的细胞数, 颜色表示速度大小, 箭头表示速度矢量

Figure 2 Collective migratory modes of cells confined in a circular domain. (a) The domain size regulates the collective migratory mode of a MDCK cell monolayer^[40]; (b) simulating the collective migratory modes of cells confined in circular domains of different domain size, with N denoting cell number in the domain. Here, the color code corresponds to the magnitude of cell velocity and the arrows represent for cell velocity vectors

图3 MDCK细胞单层铺展的群体动力学行为. (a) 直长条形MDCK细胞单层^[14]; (b) 圆形MDCK细胞单层^[47]; (c) 环形MDCK细胞单层^[47]

Figure 3 Collective cell dynamics during MDCK epithelial monolayer expansion. (a) A strip-shaped MDCK cell monolayer^[14]; (b) a circular MDCK cell monolayer^[47]; (c) a ring-shaped MDCK cell monolayer^[47]

貌, 类似软材料的表面失稳现象^[43], 即群体细胞系统原本的对称性被群体细胞迁移所打破. 在存在自由边界时, 群体细胞迁移模式具有如下突出特征: 其一, 靠近自由边界处的细胞朝向自由空间运动, 速度快且邻居细胞间运动方向高度协调, 而内部细胞的运动则比较

紊乱且较慢^[44]; 其二, 自由边界处的细胞会自发形成领头细胞, 引导周围其他细胞向自由边界铺展迁移^[24,45]. 这导致在自由边界处形成指形细胞团结构^[45], 如图3所示. 研究者将这种指形结构的形成演化称为生物组织自由边界的动力学失稳^[46]. 此外, 在自由边界处的细胞会向自由空间伸出伪足以驱动细胞迁移, 并形成超细胞肌动蛋白环将边界细胞紧密连接在一起^[16,47](图3(c)). 这些结构与自由边界的曲率密切相关: 在正曲率处(即细胞单层自由边界外凸处, 如指形结构前端)的细胞伪足较活跃而超细胞肌动蛋白环较弱; 相反地, 在负曲率处(即细胞单层自由边界内凹处)的细胞伪足较不活跃而超细胞肌动蛋白环较明显(图3(c)). 理论研究表明, 正是曲率对细胞伪足和超细胞肌动蛋白环的调控导致了自由边界指形失稳结构的形成^[46]. 然而, 伪足和超细胞肌动蛋白环存在曲率依赖性的生物物理机制目前尚不明确. 再者, Serra-Picamal等人^[48]发现条带状MDCK细胞单层向两侧自由空间铺展时, 产生了由边界处向细胞单层内部传播的变形波. 最近, Rodríguez-Franco等人^[49]在研究两片MDCK细胞单层相撞的问题时发现了类似的由边界向内传播的变形波.

为研究细胞的自身性质以及细胞之间的相互作用对群体细胞迁移的影响, 人们通常采用加入化学药物、基因干扰或敲除的方法影响细胞相应蛋白的表达,

探究在此干扰条件下群体细胞迁移规律的变化,进而说明该蛋白及其关联的细胞行为对群体细胞迁移的调控。例如,在前述MDCK细胞通过条形通道的实验中,Vedula等人^[30]向细胞培养基中加入Blebbistatin以抑制细胞收缩活性。结果发现,在加入Blebbistatin的实验组中,即使对于较宽的通道,MDCK细胞单层仍然能够维持定向群体运动而未出现局部旋涡。这说明细胞的收缩活性对旋涡运动的产生至关重要。此外,为研究细胞-细胞连接对群体细胞迁移的作用,他们利用 α -catenin稳定敲除的MDCK细胞(记为 α -catenin KD MDCK细胞)进行实验。由于位于相邻细胞间的细胞-细胞连接蛋白(如E-钙黏蛋白)通过 α -catenin和细胞内的微丝骨架相连,因此 α -catenin KD MDCK细胞之间无法形成稳定的连接,即 α -catenin KD MDCK细胞之间的黏附作用较弱。该结果表明,相比于对照组的MDCK细胞, α -catenin KD MDCK细胞在通道内运动不协调,表现得随机杂乱,导致沿通道的平均运动速度明显减小。这说明细胞-细胞连接对维持群体细胞迁移的协调性和高效性起到关键作用。

1.2 多细胞系统的拥堵转变

如前所述,“无限大”的二维单层多细胞系统会自发产生旋涡运动模式,即介观尺度湍流。人们进一步发现,这种旋涡运动模式可以在实验时间内(超过24 h)一直保持^[31-33]。然而,随着细胞密度逐渐变大,细胞运动变得越来越慢,且细胞之间的邻居交换逐渐减少直至完全消失,致使细胞呈现被邻居“冻结”的状态。从介观尺度来看,整个单层多细胞系统从细胞密度低时的“流态”逐渐转变为最终高细胞密度时的“固态”。人们将这个过程称为多细胞系统的拥堵或者拥堵转变^[33,50,51]。

事实上,拥堵的概念源自粒子系统的研究。当松散的颗粒物系统(如石堆、沙堆和谷堆)的密度变得足够高时,颗粒之间的相对移动变得越来越困难,以致于系统变得像固体一样能够承受剪切变形。这个过程称为拥堵或者拥堵转变;反之,则称为解拥堵或者解拥堵转变^[52]。研究表明,在某些情形下拥堵转变具有与传统意义上的相变一致的性质,因此在某种程度上可以将拥堵转变视为相变过程^[52]。从力学视角看来,拥堵的发生往往伴随着屈服应力的出现,即系统变得具有一定抵抗流动的能力,从而表现出类似固体的性质。

随着细胞力学和细胞物理学的兴起,人们在研究细胞系统的动力学行为时发现了一些与传统颗粒系统

拥堵转变类似的动力学特征,包括玻璃态行为和动态异质性等^[53]。因此,研究人员开始逐渐将非生命系统中的拥堵概念应用到细胞系统中来^[50,51],这为细胞系统群体动力学行为研究提供了新的视角。细胞系统的拥堵现象最先在细胞的骨架网络系统中观察到。例如,Deng等人^[54]发现了细胞骨架的软玻璃态行为。Trepats等人^[55]发现,当细胞受等轴拉伸时,细胞的损耗模量与存储模量均有上升的趋势。后来,Krishnan等人^[56]利用牵引力显微镜技术发现了更精细化的细胞硬化现象:局部细胞拉伸会导致细胞硬化,而均匀的细胞拉伸则会导致其流化。这些研究在一定程度上反映了细胞骨架系统的玻璃态性质,可以和拥堵现象类比。

近年来,人们在群体细胞系统中同样发现了类似的拥堵现象。然而,由于生物系统的复杂性,这一领域的研究结果目前存在较大分歧。Angelini等人^[31]在研究MDCK细胞单层的群体运动时观察到了涡旋运动模式,且发现涡旋尺度与基底刚度有关。这种运动非均匀性以及协同运动的出现一定程度上与粒子系统拥堵转变的动力学行为一致。此后,Angelini等人^[32]进一步将拥堵的概念引入单层多细胞系统中,并发现细胞单层随时间演化过程表现出了类似于玻璃态转变的行为:随着细胞密度增大,细胞运动逐渐变缓,细胞间邻居交换逐渐消失,细胞被周围邻居“冻结”,但群体运动的空间相关尺度却逐渐增长。然而,生命系统的复杂性在于,生物、物理、化学、力学因素之间的耦合无处不在且随时间演化。以上这些研究仅仅认为细胞密度的增长导致单层多细胞系统的玻璃态转变行为,却忽视了单层多细胞系统在演化过程中生化、力学性质等的演化,例如细胞与细胞之间以及细胞与基底之间黏附的变化。这些变化所引起的作用力及其给单层多细胞系统的拥堵转变行为带来的影响尚不清楚。

随着牵引力显微镜技术的成熟^[57]和细胞单层应力显微技术的发明^[49],人们开始真正将群体细胞运动与力联系起来研究群体细胞的拥堵转变行为。Sadati等人^[50]借鉴无生命系统的拥堵相图,提出了控制群体细胞系统拥堵行为的3个关键因素,即细胞密度、细胞间黏附和细胞运动能力。Garcia等人^[33]对此相图表示质疑,认为细胞密度并不是驱动群体细胞拥堵转变的主要因素。由于在细胞密度随时间增大的同时,细胞与细胞之间的黏附蛋白逐步富集且细胞与基底之间的黏着斑也在逐渐成熟,因此他们认为细胞之间黏附以及细胞与基底之间摩擦力的增大才是驱使群体细胞拥堵的

主要因素,而密度仅仅是次要因素.然而,这一观点似乎并非完全正确. Park等人^[51]在人支气管上皮细胞系统发现较高的细胞间黏附应力反而导致细胞系统流动性变得更好,即发生解拥堵转变,这与前述Garcia等学者的结论相悖.随后, Bi等人^[58]利用顶点模型解释了Park等人^[51]的实验结果,并将细胞的形状因素引入进来作为拥堵转变的驱动因素.具体而言, Bi等人^[58]采用顶点模型研究了细胞形状因子(与细胞间黏附正相关)调控的流固相变.他们发现,当细胞形状因子(或细胞间黏附)较小时,单层多细胞系统呈现类似蜂巢结构的正六边形模式,细胞进行邻居交换的能垒较高且等效剪切模量较大,因而系统表现得像固体一样;而当细胞形状因子(或细胞间黏附)较大时,细胞单层呈现出类似无序液晶的细胞形态,细胞进行邻居交换的能垒较低且等效剪切模量较小,因而系统表现得像流体一样.

有学者将拥堵的概念拓展到伤口愈合过程中.伤口(自由空间)的出现可以降低细胞的拥堵程度,从而加快群体细胞运动,因此在伤口愈合初期细胞运动较快,这被视为一个解拥堵过程^[59].伤口愈合之后,组织重构完整性,细胞逐渐再次变得拥堵,并逐步停止运动,这被视为一个拥堵过程^[49].此外,拥堵的概念还被用来解释某些病理过程和发育过程中的群体细胞运动行为,如哮喘病和癌转移等^[51].这些病理过程中的群体细胞运动行为与正常生理过程相比可视为拥堵转变或解拥堵转变.例如, Park等人^[51]对比分析了哮喘疾病患者的支气管上皮细胞和正常人支气管上皮细胞的运动,发现哮喘疾病的演化可视为支气管上皮细胞的解拥堵转变.最近的体内实验发现群体细胞的拥堵行为在胚胎发育过程中也扮演着重要角色.例如, Mongera等人^[60]发现斑马鱼胚胎尾部群体细胞的拥堵转变直接决定着胚胎头尾的延伸过程.

多细胞系统的拥堵转变或解拥堵转变表明,同样的细胞系统在不同的条件下可以表现出截然不同的动力学行为.然而,这些神秘的、既可表现为固态又可表现为液态的动态自组装结构出现的原因,以及细胞-细胞、细胞-外环境相互作用对群体细胞系统拥堵转变的调控和影响机制,目前仍不清楚.

1.3 多细胞系统的细胞形状和取向

细胞迁移的动力源自细胞极化.当细胞发生极化时,细胞沿前进的方向伸出伪足,致使细胞变得细长而取向性明显增强.在群体细胞系统中,不同细胞的运动

变形相互耦合,因而不同细胞的形状和取向亦相互约束,需要满足一定的数学物理规律.最近, Atia等人^[61]研究了在体外培养的上皮单层多细胞系统的细胞形状.他们发现,在HBEC单层多细胞系统和MDCK单层多细胞系统中,不同培养时间下细胞纵横比都满足 k -伽马分布,且其分布参数 k 在不同细胞系之间以及不同生理或病理条件下变化较小. Atia等人^[61]进一步研究了在果蝇胚胎侧腹沟形成期间中胚层前体细胞的形状分布,同样发现了细胞纵横比的 k -伽马分布规律,且分布参数 k 和体外单层多细胞系统相差不大.因此, Atia等人^[61]指出,细胞纵横比的 k -伽马分布可能是上皮单层多细胞系统的一个普遍规律,且可能和多细胞系统的拥堵转变有关.然而,群体细胞运动速度是否也满足 k -伽马分布?最近, Lin等人^[62]研究表明,对于体外培养的二维细胞单层组织,细胞运动速度满足 q -高斯分布,而非 k -伽马分布,揭示了群体细胞运动的独特性.

在多细胞系统中,细胞的取向同样受到周边细胞的相互约束和影响.例如,图4(a), (b)分别显示了在体外培养的高密度C2C12小鼠成肌细胞(C2C12 mouse myoblasts, C2C12细胞)单层形貌和取向场.可见, C2C12细胞呈现出明显的细长形状,这要求在局部范围内不同细胞的取向高度一致.因此, C2C12细胞单层呈现出空间尺度比单细胞尺度大得多的类似液晶的宏观图案.然而,局部取向高度一致无法使整个C2C12细胞单层内细胞取向均一致.观察C2C12取向角的空间分布可以发现,虽然各个局部的细胞取向协调一致,但整体看来光滑均匀的取向场却存在一些奇点.这些奇点破坏了C2C12细胞取向的空间连续性,称为拓扑缺陷,其示意图如图4(c)所示.在C2C12细胞单层中观察到两种拓扑缺陷,即 $+1/2$ 缺陷和 $-1/2$ 缺陷(图4):围绕 $+1/2$ (或 $-1/2$)缺陷周围的一条逆时针封闭路径取向角的增量累积为 π (或 $-\pi$).大量实验表明,单层多细胞系统的拓扑缺陷通常只有这两种^[37,63,64].鉴于细胞单层在大尺度上呈现出类似液晶的结构图案,并考虑到细胞的主动收缩能力,单层多细胞系统也常被视为活性液晶系统^[37,63,64].

最近的研究表明,细胞单层内细胞取向和拓扑缺陷的演化不仅可作为研究非平衡态液晶物理学的重要模型系统,还与生物组织的生理状态密切相关.例如,细胞挤出与发育过程和组织内稳态有着重要联系.上皮组织可通过细胞挤出去除多余细胞,以防止不必要或病态细胞的积累. Saw等人^[64]研究了MDCK单层系

图4 (网络版彩色)C2C12细胞单层的细胞取向和拓扑缺陷。(a) C2C12细胞单层相差图;(b) 细胞取向角分布云图;(c) +1/2拓扑缺陷和-1/2拓扑缺陷示意图

Figure 4 (Color online) Cell orientations and topological defects in a C2C12 cell monolayer. (a) Phase contrast image of a C2C12 cell monolayer; (b) spatial distribution of the cell orientation angle; (c) schematic of the +1/2 topological defect and the -1/2 topological defect

统的细胞挤出动力学行为,发现了在不同上皮组织中细胞挤出位置和+1/2拓扑缺陷位置之间的关联性,认为上皮组织中自发形成的拓扑缺陷决定细胞的命运,而凋亡细胞的挤出是由+1/2拓扑缺陷激发的。拓扑缺陷驱动的群体细胞动力学行为在其他类型的多细胞系统中亦有观测到。Kawaguchi等人^[63]研究了小鼠神经前体细胞(neural progenitor cells, NPC细胞)的群体动力学行为。他们发现, NPC细胞会在+1/2缺陷处不断累积并最终形成三维土堆结构,这与Saw等人^[64]所观察到MDCK细胞单层拓扑缺陷诱导的细胞挤出有异曲同工之妙。Kawaguchi等人^[63]还发现,与此相反的是, NPC细胞会不断逃离-1/2缺陷。+1/2缺陷和-1/2缺陷所诱导的截然相反的NPC细胞群体动力学行为导致NPC组织细胞密度呈现空间不均匀性,诱发大密度波动现象^[63]。±1/2缺陷所诱导的局部物质输运现象在其他生物系统同样存在,例如细菌悬液系统^[65]。这说明拓扑缺陷对活性软物质系统的群体动力学调控规律具有一定的普遍性。然而, Kawaguchi等人^[63]的实验同样指出,在C2C12小鼠成肌细胞单层系统中,±1/2缺陷所诱导的局部物质输运现象并不明显。他们假设缺陷附近摩擦力各向异性并考虑缺陷产生的活性应力,提出了一个简单的理论模型,可以重现实验观察到的±1/2缺陷附近细胞输运现象,但缺陷附近摩擦力各向异性的假设仍有待实验检验。

如1.1节所述,空间几何约束对群体细胞迁移模式有显著影响。类似地,群体细胞取向和拓扑缺陷同样受到空间几何约束的影响。Duclos等人^[37]研究了被限制在介观尺度圆域内梭形细胞单层组织拓扑缺陷的演化。

他们发现,拓扑缺陷的数目随时间逐渐减少,并最终演变为两个取向相反、位置对称的+1/2缺陷。此后, Duclos等人^[35]又研究了在二维条形直通道内梭形细胞单层的自发剪切流动和细胞取向。研究表明,剪切流动和细胞取向依赖于通道宽度。当通道较宽时,细胞自组装成与通道成一特定角度的液晶相,并产生靠近通道边缘的剪切流。然而,当通道窄至小于某一临界尺寸时,细胞取向均沿通道方向,且细胞不再沿通道方向流动。Duclos等人^[35]采用流体动力学活性凝胶理论解释了这些实验结果,并指出沿通道方向的非流动相和呈现剪切流的倾斜相之间的转变是由细胞活性驱动的Fréedericksz转变。此外, He等人^[66]研究了在具有一定几何形貌的黏附基底上MC3T3-E1小鼠成骨细胞(MC3T3-E1 mouse osteoblastic cells, MC3T3-E1细胞)单层内细胞取向的群体行为。研究表明,细胞纵横比和取向表现出明显的位置依赖性,且受黏附基底几何形状的调控:越靠近边界,细胞纵横比越大,且细胞倾向于沿边界取向。他们进一步采用连续介质力学方法,通过理论分析说明,细胞的排列受细胞单层的面内最大切应力调控,即切应力越大,细胞越倾向于沿最大主应力的方向取向。最近, He等人^[67]基于传统液晶弹性理论,考虑细胞取向和细胞形变之间的耦合作用,建立了描述单层多细胞系统的液晶弹性模型。模型预测了基底刚度、细胞单层所处空间几何形状、外载荷和肌球蛋白活性对细胞纵横比和取向的影响,与相关实验观测吻合。

群体细胞取向可能形成手性结构。手性是一个基本的生物性质,对正常发育过程至关重要。例如,遗传或环境因素诱导的手性改变可能导致畸形和疾病^[68]。

虽然人们对器官和生物体的手性已有广泛的研究,但对细胞或多细胞尺度的手性却知之甚少. Wan等人^[69]实验探究了接种于圆环形区域内多种不同细胞类型的单层组织的本征手性. 研究发现,各种不同类型的细胞均呈现出特定的手性,且细胞手性不依赖于基底表面化学、蛋白修饰和重力场方向,但细胞在正常状态与癌变后所表现出的手性不同. 通过药物干扰肌动蛋白的功能可以使某些细胞单层组织的手性发生翻转. Wan等人^[69]进一步指出,群体细胞的手性取决于肌动蛋白骨架的功能性. 此外, Sato等人^[70]研究了果蝇生殖器官上皮细胞的群体手性旋转运动. 细胞群体手性旋转运动会导致组织尺度的手性以及肌球蛋白在整个组织的手性分布,且这几种不同尺度上的手性特征一致. 尽管如此,亚细胞尺度的手性、多细胞尺度的手性乃至组织器官甚至整个生物体手性之间的联系,以及这些形貌上的手性和细胞运动的手性之间的联系还有待进一步研究.

细胞取向同样受到外加载荷的影响. 目前的研究主要局限于单细胞极化对作用于基底的外加载荷的响应. 在静态载荷作用下,细胞将随机取向^[71]或者沿平行于载荷方向取向^[72]. 然而,大量实验表明,细胞对动态载荷的响应与此截然不同. Jungbauer等人^[71]实验探究了黏附于受循环拉伸载荷作用的PDMS基底上的大鼠胚胎成纤维细胞(rat embryonic fibroblasts, REF-52细胞)和人真皮成纤维细胞(human dermal fibroblasts, HDF细胞)的取向. 他们发现,当载荷幅值较大、频率较高时, REF-52细胞和HDF细胞都将沿垂直于载荷方向取向,且幅值阈值和频率阈值跟细胞有关. 之后, Livne等人^[73]研究了在双轴循环载荷作用下REF-52细胞的重新取向行为. 实验表明, REF-52细胞的取向角受双轴载荷幅值之比的调控,例如,当双轴载荷幅值相等时,细胞沿双轴载荷的对角线方向取向. 关于细胞极化对循环载荷的响应行为,近年来有不少学者建立理论模型加以解释. 例如, Qian等人^[74]考虑亚细胞结构的演化,建立了描述黏附于受单轴循环载荷作用的基底上细胞重新取向动力学行为的力-化学模型. 该模型主要假设细胞倾向于沿最有利于应力纤维形成的方向取向,预测结果与多个实验观测吻合. Chen等人^[75]建立了考虑黏着斑所受拉张力和剪切力的理论模型,用以描述细胞在双轴循环载荷作用下的重新取向行为. 之后, Xu等人^[76]建立了描述细胞取向的张拉整体模型,研究了在受双轴循环载荷作用的基底上极化细胞的重新取

向. 随后, Xu等人^[77]考虑肌动蛋白聚合、肌动蛋白逆流和整合素锚定动力学,建立了描述在受双轴载荷作用的柔性基底上极化细胞重新取向行为的张拉整体模型. 虽然单细胞取向对外载的响应已有大量而深入的研究,但是在力学载荷作用下群体细胞的取向、拓扑缺陷的演化以及细胞间相互作用的影响等尚不清楚.

1.4 群体细胞振荡

群体细胞动力学不仅涉及细胞运动,还涉及细胞形貌演化,甚至可能引发形貌振荡. 事实上,振荡现象较为广泛地存在于各种生物过程中,例如昼夜节律^[78,79]、钙火花^[80]、DNA合成^[81]、胞质分裂^[82]、胚胎发育^[9,10]和细胞迁移^[48]. 对于不同的系统和生物过程,振荡周期跨度很大,从几秒到几十个小时不等. 这些动力学行为源于一些生物功能所要求的主动程序性调节,如昼夜节律^[78,79],或者对环境的被动响应,如在饥饿处理的盘基网柄菌细胞中出现的环磷酸腺苷振荡^[83]. 生物振荡通常由Hopf分岔引发,并且当系统演化至越过其分岔点时,系统将由平衡状态失去稳定性而进入一个极限环^[84]. 因此,细胞振荡可看作生物系统的一种非平衡自组织机制.

细胞形状或者面积振荡存在于包括脊椎动物体轴分割^[86]、组织延伸^[87]、胚胎内陷^[8]和组织闭合^[10]等各种形貌发生过程中,且对演化调控和信息传递起着关键作用. 例如,在果蝇胚胎发育过程中,中胚层内陷时的腹股沟细胞^[8]和背部闭合时的羊膜膜细胞^[9]会发生群体形状振荡. Martin等人^[8]发现在果蝇胚胎中胚层内陷过程中腹侧沟槽细胞的顶面发生脉冲式的主动收缩以驱动内陷过程. 其中,转录因子Twist和Snail分别起到启动和稳定脉冲收缩的作用. Solon等人^[9]和Blanchard等人^[10]先后发现,在果蝇胚胎发育过程中,羊膜膜细胞在胚带回缩之后会经历周期约为4 min的群体细胞形状振荡,如图5(a)所示,且这种振荡会持续超过1 h直到背部闭合中期才结束. 人们亦在果蝇卵室发育过程的第9阶段观察到卵泡细胞的群体形状振荡现象^[88,89]. 此外,在非洲爪蟾胚胎发育过程中,外胚层和中胚层细胞在聚合延伸过程中表现出振荡的收缩能力^[90]. 除了前述各种群体细胞振荡,单细胞系统也会表现出振荡特征,包括运动的阿米巴细胞^[91]、悬浮的3T3细胞^[92]和胞质分裂时的Hela细胞与L929成纤维细胞^[82]等. 例如,单个阿米巴细胞在可黏附玻璃表面迁移时,会表现出周期2~10 min的形状振荡现象^[91];而根据培养条件不

图 5 (网络版彩色)果蝇胚胎背部闭合过程羊浆膜细胞群体振荡。羊浆膜细胞群体振荡实验观测^[9]: (a1) 果蝇胚胎背部闭合过程示意图, 中间椭圆形区域为羊浆膜; (a2) 羊浆膜细胞发生明显的群体形状振荡。羊浆膜细胞群体振荡模拟^[85]: (b1) 将羊浆膜组织简化为椭圆形细胞单层; (b2) 肌球蛋白活性和细胞变形之间的负反馈; (b3) 模拟得到振荡的细胞单层中某一细胞面积和肌球蛋白活性的演化

Figure 5 (Color online) Collective shape oscillations of *Drosophila* amnioserosa cells during dorsal closure. Experimentally observed collective shape oscillations of amnioserosa cells^[9]: (a1) Schematic of *Drosophila* dorsal closure, where the central elliptical domain is the amnioserosa; (a2) collective shape oscillations of amnioserosa cells. Simulating the observed collective shape oscillations of amnioserosa cells^[85]: (b1) Representing the *Drosophila* amnioserosa as an elliptic cell monolayer; (b2) negative feedback loop between the myosin activity and the cell deformation; (b3) temporal evolution of the area and myosin activity of an arbitrary cell within the simulated collective oscillating cell monolayer

同, 悬浮的3T3成纤维细胞也会经历周期1~5 min的自发形状振荡^[92]。

群体细胞振荡的发生涉及生物学、化学和力学机制在分子尺度、亚细胞尺度和超细胞尺度的耦合协调。大量实验研究表明, 细胞振荡现象源于细胞内肌动蛋白-肌球蛋白细胞骨架的主动收缩^[89,93], 且通常和其他细胞内的生化信号通路耦合^[86,89,93]。位于细胞质膜下的肌动蛋白-肌球蛋白细胞骨架是由相互交联的肌动蛋白微丝以及附着其上的肌球蛋白组成的一个薄层, 并且通过黏附连接蛋白与周围细胞相互连接^[7,94,95]。肌动蛋白-肌球蛋白网络的收缩能力源于II型肌球蛋白的活性。这是一种依赖于ATP的马达蛋白, 并且可沿着肌动

蛋白微丝“行走”, 进而产生收缩力^[95]。在振荡过程中, 肌动蛋白-肌球蛋白细胞骨架被激活并且一般在细胞内部的上表面靠近细胞膜处形成一个网络结构。这种网络结构可进一步促进细胞之间连接的形成以实现在细胞之间的力传递^[7]。已有研究表明, 在形状振荡的细胞中, 肌球蛋白活性也以一种近似反相的形式振荡^[10,82,88,89,96]。实验还发现, 当肌动蛋白收缩能力被抑制时, 细胞的形状振荡便会消失。这表明细胞振荡与肌动蛋白-肌球蛋白细胞骨架网络产生的细胞收缩密切相关。

近年来, 细胞振荡动力学受到持续关注, 已在多个实验系统中观察到。这些实验现象推动了相关理论模

型的建立,主要可归为两类.一类是基于力-化学耦合的模型,这类模型将细胞膜张力与肌动蛋白调控通路耦合以产生单细胞或者多细胞振荡现象^[89,96];另一类是棘轮模型,其将皮质肌动蛋白-肌球蛋白细胞骨架或者超细胞肌动蛋白环视作一个利用收缩-松弛循环驱动细胞或者组织振荡的程序化机器^[8,9,93].例如,为解释羊浆膜细胞群体振荡现象,Solon等人^[9]通过假设存在正弦演化的收缩力或者面积相关收缩力来解释羊浆膜振荡现象.Wang等人^[93]将羊浆膜看作由81个正六边形相互连接形成的网络,用连接相邻顶点间的弹簧来描述细胞收缩力,并考虑肌球蛋白活性与收缩力之间的调控,建立了描述果蝇羊浆膜组织细胞振荡的力学模型.Dierkes等人^[96]考虑了细胞内肌球蛋白的主动更新动力学,提出了一维收缩杆模型来研究细胞振荡,但这种模型无法描述真实的单层多细胞系统的群体振荡行为.上述研究为理解群体细胞振荡提供了一些理论视角.尽管这些理论模型将力学因素和生化因素(如肌球蛋白活性)联系在一起,但力学在调控组织形貌动力学演化过程中所扮演的具体角色仍未阐明.例如,已有实验表明,力载荷^[13]和边界约束^[97]可以调控群体细胞振荡,但其作用规律和力学机理仍不清楚.鉴于此,Lin等人^[85,98]考虑细胞变形和细胞内肌球蛋白活性之间的负反馈调控,基于顶点模型,建立了描述单层多细胞系统形貌动力学演化的力-化学耦合模型,如图5(b)所示.该模型复现了Solon等人^[9]实验中观测到的果蝇胚胎羊浆膜群体细胞振荡现象,如图5(b)所示,揭示了群体细胞振荡的力学机制以及力载荷和边界约束对群体细胞振荡的调控,同时为果蝇胚胎背部闭合过程羊浆膜细胞群体振荡的出现和逐渐消失提供了力学解释.

1.5 曲面基底上的群体细胞迁移

现有关于群体细胞动力学行为的研究主要局限于平面基底上的二维单层多细胞系统.但实际上,体内真实的生物过程通常发生于三维环境中或者被限制在曲面上.已有研究表明,基底的几何拓扑和曲率对单细胞的迁移具有重要影响.例如,Pieuchot等人^[99]研究了间充质干细胞、成纤维细胞和上皮细胞等多种细胞系在双向正弦型曲面基底上的迁移行为,发现细胞在迁移过程中倾向于避开凸面区域,并在凹面位置处锚定聚集.其结果表明,曲率调控的细胞运动依赖于细胞核和细胞骨架之间的动态相互作用:细胞核充当力感应器,引导细胞向凹面处迁移.

基底的几何拓扑和曲率对群体细胞动力学同样具有重要影响.Yevick等人^[100]研究了黏附于PDMS圆柱外表面的MDCK细胞单层的群体迁移行为.他们发现,MDCK细胞应力纤维的排列方向、黏着斑密度和运动模式均受圆柱尺寸的影响.对于较小的圆柱,细胞应力纤维沿圆柱的环向取向,黏着斑密度高,群体细胞前缘运动快;而对于较大的圆柱,细胞应力纤维随机取向,黏着斑密度低,群体细胞前缘运动慢^[100].之后,Xi等人^[101]研究了在PDMS圆柱管腔内表面MDCK细胞群体迁移.其研究表明,对于黏附在微圆柱内表面的MDCK细胞,当圆柱较小时,细胞应力纤维沿圆柱轴向排列,这与附着于圆柱外表面细胞的极化截然不同,揭示了曲面曲率的正负对细胞群体行为的重要影响.此外,Behrndt等人^[102]研究了斑马鱼胚胎发育外包过程中细胞层在卵黄细胞上铺展动力学行为.他们将包膜细胞层等效为活性黏性流体并考虑曲率的影响,揭示了斑马鱼原肠胚形成过程收缩肌动球蛋白环驱动外包过程的力学机制.也有一些学者对曲面/三维群体细胞迁移开展了理论分析和数值模拟.例如,Liu等人^[103]将群体细胞单层简化为黏附在曲面基底上的存在预应变的膜,建立了相应的有限元模型.Murisic等人^[104]考虑细胞之间的弯曲能,将二维顶点模型推广至曲面,并结合弹性壳体理论研究了细胞单层组织在三维空间的屈曲失稳,但并未考虑群体细胞运动.最近,Lin等人^[105]进一步考虑细胞主动运动能力以及细胞间社会性相互作用,研究了在多种典型曲面(如球面、圆柱面、圆环面等)上单层多细胞系统群体细胞动力学行为,预测了曲率和拓扑对群体细胞运动模式、细胞密度分布和波动等的影响.例如,图6显示了细胞单层在几种典型曲面上的群体运动模式,包括旋涡运动模式、螺旋运动模式和蛇形运动模式等.尽管这些研究揭示了基底几何拓扑和曲率对细胞极化和运动的重要影响,但曲率和拓扑结构对细胞群体动力学行为产生影响的力学生物学机制尚需进一步研究.

1.6 细胞顶点模型

为从机理上研究群体细胞迁移,人们提出了多种理论模型,包括细胞顶点模型(下文简称顶点模型)、泰森多边形模型、粒子模型、细胞波特模型、有限元模型和相场法等.其中,顶点模型能较好地反映细胞形态(尤其对于上皮组织,如图7(a)所示)且相对简单,因而应用十分广泛.顶点模型最早由Honda^[106]在1978年提出,

图6 曲面上单层多细胞系统的几种典型群体细胞迁移模式。(a) 球面上的旋涡运动模式；(b) 圆柱面上的螺旋运动模式；(c) 圆环面上的蛇形运动模式。箭头表示细胞速度矢量，颜色表示细胞速度大小

Figure 6 Typical collective cell migration modes in cell monolayers adhering on curved substrates. (a) The dynamic swirling mode on a spherical surface; (b) the spiral crawling mode on a cylindrical surface; (c) the serpentine crawling mode on a toroidal surface. Arrows represent for cell velocity vectors and the color code refers to the magnitude of cell velocity

用于描述体外培养的单层细胞或上皮组织的细胞形态和排列模式。此时的模型还只是纯粹的几何学描述——对细胞单层的Dirichlet划分，并未引入系统的能量泛函和运动方程。此后，Honda及其合作者对最初的顶点模型作了一系列的发展，并最终引入描述细胞单层的能量泛函^[107~109]，即细胞单层的“本构模型”。在顶点模型发展早期，除了Honda及其合作者之外，Weliky及其合作者亦对顶点模型的发展作出了贡献^[110,111]。Honda的顶点模型和Weliky的顶点模型的区别在于：前者基于能量泛函给出各个顶点的作用力；后者直接显式地给出各个顶点的作用力而缺乏能量基础。Honda的顶点模型被后续研究者更多地采用，因而得到更充分的发展。在Honda及其合作者提出的模型基础之上，Farhadifar等人^[112]和Fletcher等人^[113]对顶点模型进行精简并进一步考虑细胞的收缩，给出了更一般的顶点模型。近年来，Koride等人^[89]和Lin等人^[85,98]将生化反馈通路引入顶点模型，建立了力-化学耦合顶点模型，用来研究群体细胞振荡现象。Barton等人^[114]和Lin等人^[38,42,105]将细胞主动迁移能力引入顶点模型，并考虑细胞间的社会性相互作用，建立了主动顶点模型，该模型有助于深入地研究群体细胞迁移的规律和力学机制。目前，二维顶点模型已得到较为完善的发展，下面简要介绍二维顶点模型的理论基础及其若干应用。

对于上皮组织，细胞之间紧密连接，呈现出多边形形貌，如图7(a)所示。基于上皮组织的这种形貌特点，可以将单层上皮组织简化为二维多边形网络系统，如图7(b)所示。在此多边形网络系统中，每个多边形代表一个细胞，且每3个细胞共享1个顶点。对各顶点建立随机动力学方程，则可模拟上皮组织的演化。单层多细胞系统的势能泛函可写为^[58,85,98,107,112~114]

图7 顶点模型模拟上皮组织。(a) MDCK细胞单层；(b) 多边形细胞网络；(c) 拓扑变换

Figure 7 Simulating an epithelial monolayer using the vertex model. (a) A MDCK cell monolayer; (b) polygonal cell network; (c) topological transitions

$$U = \sum_{j=1}^N \frac{1}{2} K_a^{(j)} [A_j - A_0^{(j)}]^2 + \sum_{j=1}^N \frac{1}{2} K_c^{(j)} L_j^2 + \sum_{\langle i,j \rangle} A_{ij} l_{ij}, \quad (1)$$

式中第一项表示面积弹性能，源于细胞骨架系统的弹性；第二项表示细胞收缩能，源于细胞微丝骨架系统的收缩；第三项表示细胞之间的界面能，源于细胞皮质张力和细胞间黏附之间的竞争^[58,115]。各参数物理含义如下： $K_a^{(j)}$ 表示细胞 j 的面积弹性模量， $A_0^{(j)}$ 表示参考面积， A_j 表示细胞 j 的真实面积； $K_c^{(j)}$ 表示细胞 j 的收缩模

量, L_j 为细胞 J 的周长; A_{ij} 表示细胞-细胞界面 ij 的界面张力, l_{ij} 表示连接顶点 i 和 j 的界面长度. 值得注意的是, A_{ij} 可正可负: 若 $A_{ij} > 0$, 则皮质张力占优; 反之, 则细胞间黏附占优^[58,115]. 势能泛函式(1)给出了二维单层上皮组织能量的一般形式, 不仅可以考虑细胞之间的个体差异, 还能耦合细胞生化调控通路. 例如, 引入 RhoA 蛋白介导的肌球蛋白活性对细胞收缩的调控, 则可研究群体细胞振荡现象^[85,98]. 特别地, 若所研究系统只有一种细胞且忽略由细胞生长或生化因子引起的细胞性质改变, 则可忽略细胞个体力学性质的差异性, 即 $K_a^{(j)} = K_a$ 、 $A_0^{(j)} = A_0$ 和 $K_c^{(j)} = K_c$. 进一步假定各个细胞-细胞界面的张力相等, 即 $A_{ij} = A$, 则系统势能泛函可写为

$$U = \sum_{j=1}^N \frac{1}{2} K_a (A_j - A_0)^2 + \sum_{j=1}^N \frac{1}{2} K_c L_j^2 + \sum_{(i,j)} A l_{ij}. \quad (2)$$

相比于参数繁多的式(1), 式(2)是一种更常用的能量泛函形式.

细胞所处环境多为液体环境, 在迁移过程中受到周围流体的黏性阻力(可能还有基底摩擦阻力), 因而运动缓慢(速度 $v \approx 30 \mu\text{m h}^{-1}$). 对应的细胞运动雷诺数很小 ($Re=10^{-5}$, 参见1.1节), 能量耗散主要来自黏性耗散, 则多细胞系统可视为过阻尼系统, 可忽略细胞的惯性效应^[113]. 考虑各个顶点的力平衡, 细胞各顶点位置 $\mathbf{r}_i(t)$ 满足如下朗之万方程:

$$\gamma \frac{d\mathbf{r}_i}{dt} = -\frac{\partial U}{\partial \mathbf{r}_i} + \mathbf{F}_i^{(\text{other})}, \quad (3)$$

式中 γ 为细胞与基底(外环境)之间的等效摩擦系数; $\mathbf{F}_i^{(\text{other})}$ 为非保守力, 包括细胞伪足的主动迁移力、细胞主动收缩力和随机力等.

除了细胞空间位置的改变, 上皮组织的形貌演化还常常伴随着细胞重排^[6], 即细胞之间拓扑关系的改变, 包括细胞嵌插^[116]、细胞挤出和凋亡^[117,118]、细胞分裂^[119]等. 为更准确地描述上皮形貌演化, 在顶点模型中, 各个顶点除需满足式(3)所示演化方程之外, 还应允许细胞-细胞之间“旧键”(细胞-细胞黏附形成的结合界面)的破坏和“新键”的形成. 细胞重排可通过多边形网络系统的拓扑变换实现. 细胞嵌插, 即细胞-细胞邻居交换, 又被称为 T1 变换, 如图7(c)所示. 当两个原本相互隔离的细胞 A 、 B 相互靠近至足够近的距离

($l_{ij} < \Delta_{T1}$), 它们可将阻挡在其间的邻居细胞 C 、 D 挤开, 破坏原有的细胞-细胞界面 ij , 继续靠近直至黏附形成新的细胞-细胞界面 ij' . 判断 T1 变换进行与否的长度阈值 Δ_{T1} 需满足多边形网络系统的稳定性条件. 若 Δ_{T1} 太小, 则系统不会发生 T1 变换; 反之, 则 T1 变换过多, 对系统的稳定和模拟均不利. 阈值 Δ_{T1} 的选取对模拟结果具有一定的影响, 但究竟如何设定阈值 Δ_{T1} 目前尚无定论, 一般将其设定为远小于细胞边长的较小值. 上皮组织的过度拥挤会导致细胞挤出和凋亡^[117,118], 称为 T2 变换. 其过程如下: 首先, 细胞逐渐缩小; 随后, 细胞黏附断裂; 最后, 细胞与周围其他细胞分离并从上皮组织中脱落. 在顶点模型中, T2 变换可按照如下准则和方法实现. 如图7(c)所示, 若某一细胞退化为三角形或四边形, 且其面积小于某一阈值 Δ_{T2} , 则将其从多边形网络中移除. 此外, 为研究上皮组织的生长过程, 还需考虑细胞分裂. 如图7(c)所示, 当细胞的面积超过某一面积阈值 Δ_{div} 时, 将其分为两个子细胞 A 、 B . 一般而言, 细胞分裂面的方向垂直于其长轴方向, 此即所谓 Hertwig 长轴法则^[120]. 实际上, 细胞单层的拓扑变换还包括其他类型, 如 T3 变换^[113], 在此不做具体介绍.

2 总结与展望

本文关注单层多细胞系统的群体细胞动力学行为, 重点从以下几个方面论述了国内外在该领域的研究现状. 其一, 介绍了群体细胞系统的迁移模式以及细胞生化性质和外界几何约束的影响. 其二, 介绍了群体细胞系统在组织发育成熟、伤口愈合、组织铺展等生理、病理过程中动力学行为, 并将其和粒子系统的拥堵现象类比, 揭示其内在物理规律. 其三, 介绍了群体细胞系统细胞极化的时空规律及其对群体运动和细胞命运的影响, 并引入拓扑缺陷的概念, 阐明外环境(几何约束、外载荷)对细胞极化的调控. 其四, 介绍了群体细胞系统细胞形状振荡现象及其内在力学生物学机制. 其五, 简要介绍了曲面基底上的群体细胞迁移以及曲率对细胞极化和迁移模式的影响. 此外, 介绍了一种目前研究群体细胞系统力学性质和动力学规律常用的细胞顶点模型.

然而, 由于生物系统的复杂性, 群体细胞动力学异常复杂, 涉及的影响因素方方面面. 对群体细胞动力学行为的研究目前尚不充分, 仍然存在着很多亟待研究和阐明的问题. 例如, 目前的研究大都局限于体外二维

实验, 体内生理环境下三维空间中群体细胞迁移的规律有待进一步研究. 而且, 在体环境中, 许多器官和组织呈现曲面结构, 尽管目前的研究揭示了基底曲率对细胞极化和运动具有显著影响, 但产生该影响的力学生物学机制尚不明确. 此外, 群体细胞系统是一个非平衡动力系统, 且涉及多种细胞重排等现象, 因而表现出复杂的流变性质, 而其机制及其与生化信号的关联尚不清楚. 再者, 群体细胞动力学涉及细胞内细胞骨架的

动态自组装以及细胞间的复杂相互作用, 且二者相互关联. 在力学理论方面, 现有模型还未将二者很好地结合起来. 如何构建一个考虑从亚细胞尺度的细胞骨架动态自组装到多细胞尺度的细胞间相互作用的跨尺度力学模型仍然是一大挑战. 此外, 目前群体细胞动力学研究多关注于其时空演化规律和生物力学机制, 如何将其与发育、疾病、临床诊断等更加紧密地联系起来有待进一步研究.

参考文献

- 1 Vicsek T. *Fluctuations and Scaling in Biology*. New York: Oxford University Press, 2001
- 2 Bechinger C, Di Leonardo R, Löwen H, et al. Active particles in complex and crowded environments. *Rev Mod Phys*, 2016, 88: 045006
- 3 Yang W, Wang H T, Li T F, et al. X-Mechanics—An endless frontier. *Sci China-Phys Mech Astron*, 2019, 62: 14601
- 4 Nelson B J, Kaliakatos I K, Abbott J J. Microrobots for minimally invasive medicine. *Annu Rev Biomed Eng*, 2010, 12: 55–85
- 5 Lauffenburger D A, Horwitz A F. Cell migration: A physically integrated molecular process. *Cell*, 1996, 84: 359–369
- 6 Guillot C, Lecuit T. Mechanics of epithelial tissue homeostasis and morphogenesis. *Science*, 2013, 340: 1185–1189
- 7 Lecuit T, Lenne P F, Munro E. Force generation, transmission, and integration during cell and tissue morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2011, 27: 157–184
- 8 Martin A C, Kaschube M, Wieschaus E F. Pulsed contractions of an actin-myosin network drive apical constriction. *Nature*, 2009, 457: 495–499
- 9 Solon J, Kaya-Çopur A, Colombelli J, et al. Pulsed forces timed by a ratchet-like mechanism drive directed tissue movement during dorsal closure. *Cell*, 2009, 137: 1331–1342
- 10 Blanchard G B, Murugesu S, Adams R J, et al. Cytoskeletal dynamics and supracellular organisation of cell shape fluctuations during dorsal closure. *Development*, 2010, 137: 2743–2752
- 11 Sonnemann K J, Bement W M. Wound repair: Toward understanding and integration of single-cell and multicellular wound responses. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2011, 27: 237–263
- 12 Cordeiro J V, Jacinto A. The role of transcription-independent damage signals in the initiation of epithelial wound healing. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14: 249–262
- 13 Hutson M S. Forces for morphogenesis investigated with laser microsurgery and quantitative modeling. *Science*, 2003, 300: 145–149
- 14 Poujade M, Grasland-Mongrain E, Hertzog A, et al. Collective migration of an epithelial monolayer in response to a model wound. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 15988–15993
- 15 Klarlund J K. Dual modes of motility at the leading edge of migrating epithelial cell sheets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 15799–15804
- 16 Brugués A, Anon E, Conte V, et al. Forces driving epithelial wound healing. *Nat Phys*, 2014, 10: 684–691
- 17 Arwert E N, Hoste E, Watt F M. Epithelial stem cells, wound healing and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12: 170–180
- 18 Grice E A, Segre J A. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol*, 2011, 9: 244–253
- 19 Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 2011, 144: 646–674
- 20 Leighton J, Kalla R L, Turner J M, et al. Pathogenesis of tumor invasion: II. Aggregate replication. *Cancer Res*, 1960, 20: 575–586
- 21 Friedl P, Locker J, Sahai E, et al. Classifying collective cancer cell invasion. *Nat Cell Biol*, 2012, 14: 777–783
- 22 Szporn A H, Yuan S, Wu M, et al. Cellular swirls in fine needle aspirates of papillary thyroid carcinoma: A new diagnostic criterion. *Mod Pathol*, 2006, 19: 1470–1473
- 23 Plodinec M, Loparic M, Monnier C A, et al. The nanomechanical signature of breast cancer. *Nat Nanotechnol*, 2012, 7: 757–765
- 24 Ladoux B, Mège R M. Mechanobiology of collective cell behaviours. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18: 743–757
- 25 Brücher B L, Jamall I S. Cell-cell communication in the tumor microenvironment, carcinogenesis, and anticancer treatment. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 34: 213–243
- 26 Stramer B, Mayor R. Mechanisms and *in vivo* functions of contact inhibition of locomotion. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 18: 43–55
- 27 Sunyer R, Conte V, Escribano J, et al. Collective cell durotaxis emerges from long-range intercellular force transmission. *Science*, 2016, 353: 1157–1161
- 28 Cohen D J, James Nelson W, Maharbiz M M. Galvanotactic control of collective cell migration in epithelial monolayers. *Nat Mater*, 2014, 13: 409–417

- 29 Theveneau E, Marchant L, Kuriyama S, et al. Collective chemotaxis requires contact-dependent cell polarity. *Dev Cell*, 2010, 19: 39–53
- 30 Vedula S R K, Leong M C, Lai T L, et al. Emerging modes of collective cell migration induced by geometrical constraints. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 12974–12979
- 31 Angelini T E, Hannezo E, Trepat X, et al. Cell migration driven by cooperative substrate deformation patterns. *Phys Rev Lett*, 2010, 104: 168104
- 32 Angelini T E, Hannezo E, Trepat X, et al. Glass-like dynamics of collective cell migration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 4714–4719
- 33 Garcia S, Hannezo E, Elgeti J, et al. Physics of active jamming during collective cellular motion in a monolayer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 15314–15319
- 34 Li B, Sun S X. Coherent motions in confluent cell monolayer sheets. *Biophys J*, 2014, 107: 1532–1541
- 35 Duclos G, Blanch-Mercader C, Yashunsky V, et al. Spontaneous shear flow in confined cellular nematics. *Nat Phys*, 2018, 14: 728–732
- 36 Wang H, Lacoche S, Huang L, et al. Rotational motion during three-dimensional morphogenesis of mammary epithelial acini relates to laminin matrix assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 163–168
- 37 Duclos G, Erlenkämper C, Joanny J F, et al. Topological defects in confined populations of spindle-shaped cells. *Nat Phys*, 2017, 13: 58–62
- 38 Lin S Z, Ye S, Xu G K, et al. Dynamic migration modes of collective cells. *Biophys J*, 2018, 115: 1826–1835
- 39 Vicsek T, Zafeiris A. Collective motion. *Phys Rep*, 2012, 517: 71–140
- 40 Doxzen K, Vedula S R K, Leong M C, et al. Guidance of collective cell migration by substrate geometry. *Integr Biol*, 2013, 5: 1026–1035
- 41 Huang S, Brangwynne C P, Parker K K, et al. Symmetry-breaking in mammalian cell cohort migration during tissue pattern formation: Role of random-walk persistence. *Cell Motil Cytoskel*, 2005, 61: 201–213
- 42 Lin S Z, Bi D, Li B, et al. Dynamic instability and migration modes of collective cells in channels. *J R Soc Interface*, 2019, 16: 20190258
- 43 Feng X Q, Cao Y P, Li B. Surface Wrinkling Mechanics of Soft Materials (in Chinese). Beijing: Science Press, 2018 [冯西桥, 曹艳平, 李博. 软材料表面失稳力学. 北京: 科学出版社, 2018]
- 44 Petitjean L, RefRAY M, Grasland-Mongrain E, et al. Velocity fields in a collectively migrating epithelium. *Biophys J*, 2010, 98: 1790–1800
- 45 Mayor R, Etienne-Manneville S. The front and rear of collective cell migration. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17: 97–109
- 46 Mark S, Shlomovitz R, Gov N S, et al. Physical model of the dynamic instability in an expanding cell culture. *Biophys J*, 2010, 98: 361–370
- 47 Rolli C G, Nakayama H, Yamaguchi K, et al. Switchable adhesive substrates: Revealing geometry dependence in collective cell behavior. *Biomaterials*, 2012, 33: 2409–2418
- 48 Serra-Picamal X, Conte V, Vincent R, et al. Mechanical waves during tissue expansion. *Nat Phys*, 2012, 8: 628–634
- 49 Rodríguez-Franco P, Brugués A, Marín-Llauradó A, et al. Long-lived force patterns and deformation waves at repulsive epithelial boundaries. *Nat Mater*, 2017, 16: 1029–1037
- 50 Sadati M, Taheri Q N, Krishnan R, et al. Collective migration and cell jamming. *Differentiation*, 2013, 86: 121–125
- 51 Park J A, Kim J H, Bi D, et al. Unjamming and cell shape in the asthmatic airway epithelium. *Nat Mater*, 2015, 14: 1040–1048
- 52 van Hecke M. Jamming of soft particles: Geometry, mechanics, scaling and isostaticity. *J Phys-Condens Matter*, 2009, 22: 033101
- 53 Trepat X, Fredberg J J. Plithotaxis and emergent dynamics in collective cellular migration. *Trends Cell Biol*, 2011, 21: 638–646
- 54 Deng L, Trepat X, Butler J P, et al. Fast and slow dynamics of the cytoskeleton. *Nat Mater*, 2006, 5: 636–640
- 55 Trepat X, Grabulosa M, Puig F, et al. Viscoelasticity of human alveolar epithelial cells subjected to stretch. *Am J Physiol-Lung Cellular Mol Physiol*, 2004, 287: L1025–L1034
- 56 Krishnan R, Park C Y, Lin Y C, et al. Reinforcement versus fluidization in cytoskeletal mechanoresponsiveness. *PLoS One*, 2009, 4: e5486
- 57 Han S J, Oak Y, Groisman A, et al. Traction microscopy to identify force modulation in subresolution adhesions. *Nat Methods*, 2015, 12: 653–656
- 58 Bi D, Lopez J H, Schwarz J M, et al. A density-independent rigidity transition in biological tissues. *Nat Phys*, 2015, 11: 1074–1079
- 59 Chepizhko O, Lionetti M C, Malinverno C, et al. From jamming to collective cell migration through a boundary induced transition. *Soft Matter*, 2018, 14: 3774–3782
- 60 Mongera A, Rowghanian P, Gustafson H J, et al. A fluid-to-solid jamming transition underlies vertebrate body axis elongation. *Nature*, 2018, 561: 401–405
- 61 Atia L, Bi D, Sharma Y, et al. Geometric constraints during epithelial jamming. *Nat Phys*, 2018, 14: 613–620
- 62 Lin S Z. Theoretical and experimental studies on collective cell dynamics (in Chinese). Doctoral Dissertation. Beijing: Tsinghua University, 2019 [林绍珍. 群体细胞动力学的理论与实验研究. 博士学位论文. 北京: 清华大学, 2019]
- 63 Kawaguchi K, Kageyama R, Sano M. Topological defects control collective dynamics in neural progenitor cell cultures. *Nature*, 2017, 545: 327–331
- 64 Saw T B, Doostmohammadi A, Nier V, et al. Topological defects in epithelia govern cell death and extrusion. *Nature*, 2017, 544: 212–216
- 65 Genkin M M, Sokolov A, Lavrentovich O D, et al. Topological defects in a living nematic ensnare swimming bacteria. *Phys Rev X*, 2017, 7: 011029
- 66 He S, Liu C, Li X, et al. Dissecting collective cell behavior in polarization and alignment on micropatterned substrates. *Biophys J*, 2015, 109:

489–500

- 67 He S, Green Y, Saeidi N, et al. A theoretical model of collective cell polarization and alignment. *J Mech Phys Solids*, 2020, 137: 103860
- 68 Mercola M, Levin M. Left-right asymmetry determination in vertebrates. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2001, 17: 779–805
- 69 Wan L Q, Ronaldson K, Park M, et al. Micropatterned mammalian cells exhibit phenotype-specific left-right asymmetry. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 12295–12300
- 70 Sato K, Hiraiwa T, Maekawa E, et al. Left-right asymmetric cell intercalation drives directional collective cell movement in epithelial morphogenesis. *Nat Commun*, 2015, 6: 10074
- 71 Jungbauer S, Gao H, Spatz J P, et al. Two characteristic regimes in frequency-dependent dynamic reorientation of fibroblasts on cyclically stretched substrates. *Biophys J*, 2008, 95: 3470–3478
- 72 Collinsworth A M, Torgan C E, Nagda S N, et al. Orientation and length of mammalian skeletal myocytes in response to a unidirectional stretch. *Cell Tissue Res*, 2000, 302: 243–251
- 73 Livne A, Bouchbinder E, Geiger B. Cell reorientation under cyclic stretching. *Nat Commun*, 2014, 5: 3938
- 74 Qian J, Liu H, Lin Y, et al. A mechanochemical model of cell reorientation on substrates under cyclic stretch. *PLoS One*, 2013, 8: e65864
- 75 Chen B, Chen X, Gao H. Dynamics of cellular reorientation on a substrate under biaxial cyclic stretches. *Nano Lett*, 2015, 15: 5525–5529
- 76 Xu G K, Li B, Feng X Q, et al. A tensegrity model of cell reorientation on cyclically stretched substrates. *Biophys J*, 2016, 111: 1478–1486
- 77 Xu G K, Feng X Q, Gao H. Orientations of cells on compliant substrates under biaxial stretches: A theoretical study. *Biophys J*, 2018, 114: 701–710
- 78 Dunlap J C. Molecular bases for circadian clocks. *Cell*, 1999, 96: 271–290
- 79 Reppert S M, Weaver D R. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 2002, 418: 935–941
- 80 Cheng H, Lederer W J. Calcium sparks. *Physiol Rev*, 2008, 88: 1491–1545
- 81 Zhang T, Brazhnik P, Tyson J J. Exploring mechanisms of the DNA-damage response: p53 pulses and their possible relevance to apoptosis. *Cell Cycle*, 2007, 6: 85–94
- 82 Sedzinski J, Biro M, Oswald A, et al. Polar actomyosin contractility destabilizes the position of the cytokinetic furrow. *Nature*, 2011, 476: 462–466
- 83 Kamino K, Fujimoto K, Sawai S. Collective oscillations in developing cells: Insights from simple systems. *Dev Growth Diff*, 2011, 53: 503–517
- 84 Goldbeter A. Computational approaches to cellular rhythms. *Nature*, 2002, 420: 238–245
- 85 Lin S Z, Li B, Lan G, et al. Activation and synchronization of the oscillatory morphodynamics in multicellular monolayer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 8157–8162
- 86 Oates A C, Morelli L G, Ares S. Patterning embryos with oscillations: Structure, function and dynamics of the vertebrate segmentation clock. *Development*, 2012, 139: 625–639
- 87 Rauzi M, Lenne P F, Lecuit T. Planar polarized actomyosin contractile flows control epithelial junction remodelling. *Nature*, 2010, 468: 1110–1114
- 88 He L, Wang X, Tang H L, et al. Tissue elongation requires oscillating contractions of a basal actomyosin network. *Nat Cell Biol*, 2010, 12: 1133–1142
- 89 Koride S, He L, Xiong L P, et al. Mechanochemical regulation of oscillatory follicle cell dynamics in the developing *Drosophila* egg chamber. *Mol Biol Cell*, 2014, 25: 3709–3716
- 90 Kim H Y, Davidson L A. Punctuated actin contractions during convergent extension and their permissive regulation by the non-canonical Wnt-signaling pathway. *J Cell Sci*, 2011, 124: 635–646
- 91 Satoh H, Ueda T, Kobatake Y. Oscillations in cell shape and size during locomotion and in contractile activities of *Physarum polycephalum*, *Dictyostelium discoideum*, *Amoeba proteus* and macrophages. *Exp Cell Res*, 1985, 156: 79–90
- 92 Salbreux G, Joanny J F, Prost J, et al. Shape oscillations of non-adhering fibroblast cells. *Phys Biol*, 2007, 4: 268–284
- 93 Wang Q, Feng J J, Pismen L M. A cell-level biomechanical model of *Drosophila* dorsal closure. *Biophys J*, 2012, 103: 2265–2274
- 94 Lecuit T, Lenne P F. Cell surface mechanics and the control of cell shape, tissue patterns and morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 633–644
- 95 Murrell M, Oakes P W, Lenz M, et al. Forcing cells into shape: The mechanics of actomyosin contractility. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, 16: 486–498
- 96 Dierkes K, Sumi A, Solon J, et al. Spontaneous oscillations of elastic contractile materials with turnover. *Phys Rev Lett*, 2014, 113: 148102
- 97 Pasakarnis L, Frei E, Caussinus E, et al. Amnioserosa cell constriction but not epidermal actin cable tension autonomously drives dorsal closure. *Nat Cell Biol*, 2016, 18: 1161–1172
- 98 Lin S Z, Xue S L, Li B, et al. An oscillating dynamic model of collective cells in a monolayer. *J Mech Phys Solids*, 2018, 112: 650–666
- 99 Pieuchot L, Marteau J, Guignandon A, et al. Curvotaxis directs cell migration through cell-scale curvature landscapes. *Nat Commun*, 2018, 9:

3995

- 100 Yeck H G, Duclos G, Bonnet I, et al. Architecture and migration of an epithelium on a cylindrical wire. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 5944–5949
- 101 Xi W, Sonam S, Beng Saw T, et al. Emergent patterns of collective cell migration under tubular confinement. *Nat Commun*, 2017, 8: 1517
- 102 Behrndt M, Salbreux G, Campinho P, et al. Forces driving epithelial spreading in zebrafish gastrulation. *Science*, 2012, 338: 257–260
- 103 Liu C, Xu J, He S, et al. Collective cell polarization and alignment on curved surfaces. *J Mech Behav BioMed Mater*, 2018, 88: 330–339
- 104 Murisic N, Hakim V, Kevrekidis I G, et al. From discrete to continuum models of three-dimensional deformations in epithelial sheets. *Biophys J*, 2015, 109: 154–163
- 105 Lin S Z, Li Y, Ji J, et al. Collective dynamics of coherent motile cells on curved surfaces. *Soft Matter*, 2020, 16: 2941–2952
- 106 Honda H. Description of cellular patterns by Dirichlet domains: The two-dimensional case. *J Theor Biol*, 1978, 72: 523–543
- 107 Nagai T, Honda H. A dynamic cell model for the formation of epithelial tissues. *Philos Mag B-Phys Condens Matter Stat Mech Electron Opt Magn Prop*, 2001, 81: 699–719
- 108 Nagai T, Honda H. Computer simulation of wound closure in epithelial tissues: Cell-basal-lamina adhesion. *Phys Rev E*, 2009, 80: 061903
- 109 Nagai T, Honda H, Takemura M. Simulation of cell patterning triggered by cell death and differential adhesion in *Drosophila* wing. *Biophys J*, 2018, 114: 958–967
- 110 Weliky M, Oster G. The mechanical basis of cell rearrangement. I. Epithelial morphogenesis during *Fundulus* epiboly. *Development*, 1990, 109: 373–386
- 111 Weliky M, Minsuk S, Keller R, et al. Notochord morphogenesis in *Xenopus-laevis*—Simulation of cell behavior underlying tissue convergence and extension. *Development*, 1991, 113: 1231–1244
- 112 Farhadifar R, Röper J C, Aigouy B, et al. The influence of cell mechanics, cell-cell interactions, and proliferation on epithelial packing. *Curr Biol*, 2007, 17: 2095–2104
- 113 Fletcher A G, Osterfield M, Baker R E, et al. Vertex models of epithelial morphogenesis. *Biophys J*, 2014, 106: 2291–2304
- 114 Barton D L, Henkes S, Weijer C J, et al. Active vertex model for cell-resolution description of epithelial tissue mechanics. *PLoS Comput Biol*, 2017, 13: e1005569
- 115 Manning M L, Foty R A, Steinberg M S, et al. Coaction of intercellular adhesion and cortical tension specifies tissue surface tension. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 12517–12522
- 116 Collinet C, Rauzi M, Lenne P F, et al. Local and tissue-scale forces drive oriented junction growth during tissue extension. *Nat Cell Biol*, 2015, 17: 1247–1258
- 117 Marinari E, Mehonic A, Curran S, et al. Live-cell delamination counterbalances epithelial growth to limit tissue overcrowding. *Nature*, 2012, 484: 542–545
- 118 Eisenhoffer G T, Loftus P D, Yoshigi M, et al. Crowding induces live cell extrusion to maintain homeostatic cell numbers in epithelia. *Nature*, 2012, 484: 546–549
- 119 Gudipaty S A, Lindblom J, Loftus P D, et al. Mechanical stretch triggers rapid epithelial cell division through Piezo1. *Nature*, 2017, 543: 118–121
- 120 Bosveld F, Markova O, Guirao B, et al. Epithelial tricellular junctions act as interphase cell shape sensors to orient mitosis. *Nature*, 2016, 530: 495–498

Summary for “群体细胞动力学研究进展”

Advances in collective cell dynamics

Shaozhen Lin, Pengcheng Chen, Bo Li^{*} & Xiqiao Feng^{*}

Institute of Biomechanics and Medical Engineering, Department of Engineering Mechanics, School of Aerospace Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China

^{*} Corresponding authors, E-mail: libome@tsinghua.edu.cn; fengxq@tsinghua.edu.cn

Collective cell dynamics plays significant roles in various physiological or pathological processes including embryo development, wound healing, and cancer invasion. It involves the self-organization of cytoskeleton and biochemical signaling transduction, as well as complex cell-cell interactions and cell-environment interactions. Therefore, collective cell dynamics is a hot topic in the interdisciplinary fields of biology, mechanics, physics and chemistry, attracting increasing efforts, both experimentally and theoretically, toward understanding the underlying biomechanical principles.

In this review, we focus on the collective cell dynamics in cell monolayer systems and introduce the research progresses in recent years. A cell monolayer refers to a single layer of cells in which cells connect to their neighbors via cell-cell adhesions and adhere to the subjacent substrate via focal adhesions.

We first introduce collective cell migration modes in cell monolayer systems under various boundary constraints. In confluent cell monolayers of large size, cells always self-organize into dynamic swirling motion patterns, as observed in various cell lines. Such motion patterns stem from active cell motility and cell-cell interactions, and can be theoretically accounted for by both continuum mechanical theory such as active gel theory and discrete models such as active vertex model. Boundary constraints affect collective cell migration modes significantly. For example, for cell monolayers in confined spaces, the persistent rotation mode, the collectively directed motion mode, and the shear flow mode have been observed. While for freely expanding cell monolayers, deformation waves emerge spontaneously and propagate toward the interior region of the cell monolayer. As a confluent cell monolayer matures, the cell density increases while cell motions gradually slow down, indicating a jamming-like behavior. Such jamming-like behavior of collective cell migration has been suggested similar to the jamming behavior of particle systems.

We next introduce the statistics of cell shape and cell orientation, and discuss the relation between collective cell migration, cell fate and topological defects formed by cell orientation. Specifically, reported experiments indicated that in two-dimensional cell monolayers $+1/2$ topological defects trigger cell accumulation or cell extrusion while $-1/2$ topological defects lead to cell escape, accompanied with distinct tissue flow patterns. This topological defect-dictated cell fate has been observed in both eukaryotic cell monolayers and bacterial suspensions, revealing its potential universality.

We further introduce collective cell shape oscillations and the underlying biomechanical mechanisms. Cell shape oscillation has been observed in both isolated cell systems and collective cell systems, stemming from the negative feedback between myosin activity and cell deformation. Compared with isolated cell oscillations, collective cells exhibit coordinated oscillatory morphodynamics, including aligned oscillatory patterns, polarized oscillation directions, and synchronized oscillatory amplitudes, which may help signaling transmission and synchronization among cells over large scales.

In addition, collective cell dynamics on curved substrates and the role of substrate curvature is briefly introduced. This topic is in its infancy and plenty of questions remain to be explored. Finally, we introduce the cellular vertex model, an extensively used mechanical model in the study of epithelial mechanics and collective cell dynamics. In the cellular vertex model, cells are represented by interconnected polygons and vertices refer to tri-cellular junctions. The history, development, theoretical foundation, and applications of the cellular vertex model are briefly introduced.

collective cell dynamics, collective cell migration, mechano-chemo-biological coupling, cellular vertex model

doi: [10.1360/TB-2020-0522](https://doi.org/10.1360/TB-2020-0522)