

DOI:

РЕЗУЛЬТАТЫ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ РЕГУЛЯЦИИ ЭФФЕКТИВНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ВАКЦИНЫ С ДЕНДРИТНЫМИ КЛЕТКАМИ

Бабушкина Н.А.

Институт проблем управления им. В.А. Трапезникова РАН, Россия, г. Москва

ул. Профсоюзная д.65

babushkina_na@mail.ru

Аннотация: В работе представлены результаты математического моделирования этапов развития иммунного ответа на введение антигенпрезентативных дендритных клеток и механизма гибели опухолевых клеток в результате стимуляции клеточного иммунного ответа против растущей в организме опухоли. Определена максимально эффективная стратегия введения дендритных клеток, позволяющая достигать подавления роста опухоли на длительном периоде времени после лечения. Показано, что необходимым условием для достижения эффективности лечения является многократное введение дендритных клеток, при первоначальном однократном введении максимально эффективной дозы. Определён наиболее эффективный интервал между повторными введениями минимально эффективных доз.

Ключевые слова: математическая модель, дендритные клетки, иммунный ответ, Т-лимфоциты, опухолевые клетки, экспериментальная онкология, кривые роста опухоли.

Введение

Для решения проблемы успешного лечения онкологических заболеваний в настоящее время широко изучаются различные методы дополнительной стимуляции иммунной системы против размножающихся в организме опухолевых клеток.

Значительным преимуществом вакцинотерапии на дендритных клетках является наблюдаемое отсутствие побочных эффектов. При этом фиксируется заметная регрессия опухоли или её стабилизация, что значительно повышает продолжительность жизни онкологических больных [1].

Дендритные клетки уже давно используются в микробиологических исследованиях для увеличения численности цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров, способных уничтожить опухолевые клетки.

Дендритные клетки осуществляют передачу антигена опухолевой клетки в селезёнку и другие лимфоидные органы для эффективной стимуляции иммунной системы и образования цитотоксических Т-лимфоцитов. Ряд экспериментальных исследований на мышах показал, что цитотоксические Т-лимфоциты могут эффективно воспроизводиться в результате адаптивной передачи информации о специфичности опухолевых клеток от антигенпрезентативных дендритных клеток. В настоящее время разработан метод получения антигенпрезентативных дендритных клеток вне организма по специальным технологиям совместного культивирования костномозговых дендритных клеток и опухолевых клеток организма [2]. Антигенпрезентативные дендритные клетки вводятся обратно в организм и передают информацию об антигене опухоли незрелым Т-лимфоцитам предшественникам для стимуляции клеточного иммунного ответа на опухоль.

Для описания процессов стимуляции Т-клеточного иммунного ответа антигенпрезентативными дендритными клетками разработан ряд математических моделей, в которых основное внимание уделено описанию процессов взаимодействия между популяциями антигенпрезентативных дендритных клеток, незрелых Т-лимфоцитов предшественников и цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров [2-6]. Однако успех иммунотерапевтического лечения рака на основе дендритных клеток по-прежнему ограничен, поскольку особенности механизма регулирования и динамики взаимодействия дендритных клеток с цитотоксическими Т-лимфоцитами киллерами ещё недостаточно изучен. Тем не менее связь между образованием цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров, которые осуществляют непосредственное уничтожение опухолевых клеток, и дозой вводимых антигенпрезентативных дендритных клеток, является ключевым фактором в регуляции адаптивного иммунного ответа на опухоль. Сложность структуры взаимосвязей в разработанных моделях затрудняет решение задачи регуляции и управления стратегиями введения дендритных клеток с целью подавления роста опухоли. Актуальность данного исследования заключается в необходимости построения простейшей математической модели противоопухолевой вакцинотерапии, которая ориентирована на поиск таких стратегий введения дендритных клеток, при которых возможно достичь полного подавления роста опухоли. Реализация математической модели в системе MatLab-Simulink позволяет проводить исследование различных стратегий применения вакцинотерапии на дендритных клетках путём вычислительных экспериментов на модели.

1 Математическая модель вакцинотерапии на основе дендритных клеток

Математическая модель вакцинотерапии на основе дендритных клеток описывает этапы развития противоопухолевого клеточного иммунного ответа организма на основе данных экспериментальных исследований на мышах и литературных данных для оценки некоторых параметров модели. Антигенпрезентативные дендритные клетки передают информацию о специфичности антигена опухолевых клеток незрелым Т-лимфоцитам, которые в процессе деления и дифференцировки превращаются в цитотоксические Т-лимфоциты киллеры, которые участвуют в борьбе с опухолевыми клетками.

Критерием эффективности лечения служит количество оставшихся в живых опухолевых клеток после введения дендритных клеток. Оценка эффективности лечения определяется по численности оставшихся в живых опухолевых клеток после введения вакцины.

Для описания роста опухоли без лечения (контроль) в модели были использованы экспериментальные кинетические кривые роста аденокарциномы Эрлиха, которые описываются уравнением вида [7,8]:

$$(1) \frac{dN(t)}{dt} = \lambda(t)N(t) \quad \text{при} \quad N(t_0) = N_0,$$

где $N(t)$ – численность популяции опухолевых клеток, $N_0 = 0.78$ – начальное количество опухолевых клеток в момент $t_0 = 0$, $\lambda(t) = \alpha_N \beta_N \exp(-\beta_N t)$ – скорость роста экспериментальной опухоли.

Кинетическая кривая роста аденокарциномы Эрлиха без лечения наиболее точно описывается функцией Гомпертца $N(t) = N_0 \exp(\alpha_N (1 - \beta_N \exp(-\beta_N t)))$, при $\alpha_N = 3.3613$, $\beta_N = 0.0332$ и $CKO = 0,21$.

Этапы развития клеточного иммунного ответа в организме против опухоли после введения антигенпрезентативных дендритных клеток представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Этапы развития клеточного иммунного ответа в организме при вакцинотерапии на дендритных клетках

I этап	Получение информации дендритными клетками о специфическом антигене опухолевой клетки	Вне организма в контакте с опухолевыми клетками организма.
II этап	Передача информации о специфическом антигене опухолевой клетки от антигенпрезентативных дендритных клеток к незрелым Т-лимфоцитам предшественникам	В селезёнке и других лимфоидных органах
III этап	Процесс образования цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров в результате деления и дифференцировки антигенпрезентативных Т-лимфоцитов предшественников	В селезёнке и других лимфоидных органах
IV этап	Процесс гибели опухолевых клеток под действием цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров	В опухоли

Процесс передачи информации дендритным клеткам о специфичном антигене опухоли происходит вне организма, в котором развивается опухоль. Незрелые дендритные клетки выделяют из крови организма и по специальным технологиям организуют возможность созреть и размножиться в контакте с опухолевыми клетками своего организма [3-5]. Длительность этого периода неизвестна и не рассматривается в модели.

Антигенпрезентативные дендритные клетки вводят обратно в кровь организма для стимуляции клеточного иммунного ответа. В связи с тем, что кровь выполняет только функции транспортировки клеточных популяций, она не рассматривалась в данной модели как участник взаимодействия клеточных популяций с опухолевыми клетками.

Система дифференциальных уравнений математической модели записывается в соответствии с этапами развития клеточного иммунного ответа.

Динамика численности антигенпрезентативных дендритных клеток $DK^N(t)$ описывается дифференциальным уравнением вида:

$$(2) \frac{dDK^N(t)}{dt} = -\alpha_{DK}(t)DK^N(t), \quad \text{при} \quad DK^N(t_1) = DK^N_0$$

где DK_0^N – вводимая доза антигенпрезентативных дендритных клеток, t_1 – момент введения дендритных клеток, $\alpha_{DK}(t)$ – темп расхода антигенпрезентативных дендритных клеток при передаче антигена опухоли Т-лимфоцитам предшественникам.

Функция $\alpha_{DK}(t)$ записывается в виде:

$$(3) \alpha_{DK}(t) = 1/\pi K_1 \times \arctg(2\alpha_1 \beta_1 t / (1 - \beta_1^2 t^2))$$

где $K_1=0,96$, $\alpha_1=0,1$ – постоянные параметры, и $\beta_1=1/t_1^*$, где $t_1^*=3$ суток – время, за которое расходуется половина из числа дендритных клеток, введённых в организм [4].

Динамика численности антиген активированных Т-лимфоцитов предшественников $TL^N(t)$ описывается дифференциальным уравнением вида:

$$(4) dTL^N(t)/dt = \alpha_{TL} DK^N(t) - \beta_{TL} TL^N(t), \text{ при } TL^N(t_1) = TLn,$$

где TLn – количество незрелых Т-лимфоцитов организма в норме, t_1 – момент введения дендритных клеток, $\alpha_{TL}=2,43$ – скорость увеличения числа антиген активированных Т-лимфоцитов, получающих информацию об антигене опухоли от антигенпрезентативных дендритных клеток, $\beta_{TL}=0,3$ – скорость расхода активированных Т-лимфоцитов за период образования цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров.

Динамика численности цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров $CTL(t)$ описывается дифференциальным уравнением вида:

$$(5) dCTL(t)/dt = \alpha_{CTL}(t) TL^N(t) - \beta_{CTL} CTL(t), \text{ при } CTL(t_1) = 0,0001$$

где $CTL(t_1)$ – начальная численность цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров, $TL^N(t)$ – численность антиген активированных Т-лимфоцитов предшественников, β_{CTL} – скорость расхода цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров на уничтожение опухолевых клеток, $\alpha_{CTL}(t)$ – скорость образования цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров из Т-лимфоцитов предшественников, которая описывается функцией вида:

$$(6) \alpha_{CTL}(t) = \alpha_{CTL}^{\max} [1 - 1/\pi K_2 \times \arctg(2\alpha_2 \beta_2 t / (1 - \beta_2^2 t^2))],$$

где $\alpha_{CTL}^{\max}=2,43$ – максимальная скорость образования цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров,

$K_2=0,96$, $\alpha_2=0,1$ – постоянные параметры, и $\beta_2=1/t_2^*$, где $t_2^*=4,5$ суток – время, за которое образуется половина максимального количества цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров.

В связи с тем, что процесс дифференцировки и созревания цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров происходит как в селезёнке, так и в других лимфоидных органах, продолжительность этого процесса у мышей точно не определена. В данной модели было принято считать, что продолжительность процесса образования цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров из Т-лимфоцитов предшественников соответствует времени дифференцировки и созревания стволовых клеток в гранулоцитарном ростке кроветворения, которое происходит в костном мозге. Известно, что время дифференцировки в гранулоцитарном ростке кроветворения для мышей равно 9 суткам [9].

Динамика популяции клеток опухоли $N(t)$ после однократного введения дендритных клеток в момент t_1 описывается дифференциальным уравнением вида:

$$(7) dN(t)/dt = [\lambda(t) - K_{CTL} CTL(t)] N(t), \text{ при } N_{01} = N(t_1),$$

где $N(t_1) = N_0 \exp(\alpha_N (1 - \beta_N \exp(-\beta_N t_1)))$ – размер опухоли в момент введения вакцины, $\lambda(t)$ – скорость роста экспериментальной опухоли в контроле, $CTL(t)$ – численность цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров, $K_{CTL} = 0,8$ – скорость расхода цитотоксических Т-лимфоцитов на взаимодействие с клетками опухоли.

2 Результаты исследования эффективности вакцинотерапии на дендритных клетках при однократном введении вакцины

Математическая модель вакцинотерапии на дендритных клетках была реализована в виде программного модуля в среде MatLab-Simulink. Исследование эффективности различных схем введения дендритных клеток проводилось методом вычислительного эксперимента на построенной математической модели при однократном их введении на $t_1=1, 5, 10, 15, 20, 25, 30$ и 35 сутки.

Для определения оптимальной стратегии введения вакцины необходимо знать минимальный размер дозы дендритных клеток, который позволяет образовывать достаточное количество цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров, способное вызывать гибель опухолевых клеток.

Проведённые исследования показали, что размер минимально эффективной дозы не зависит от размера опухоли в момент её введения и является величиной постоянной $DK_0^N = 0,01$. Действие минимально эффективных доз вызывает задержку роста опухоли на короткие интервалы времени, не превышающие 5 суток (Рис. 1,2).

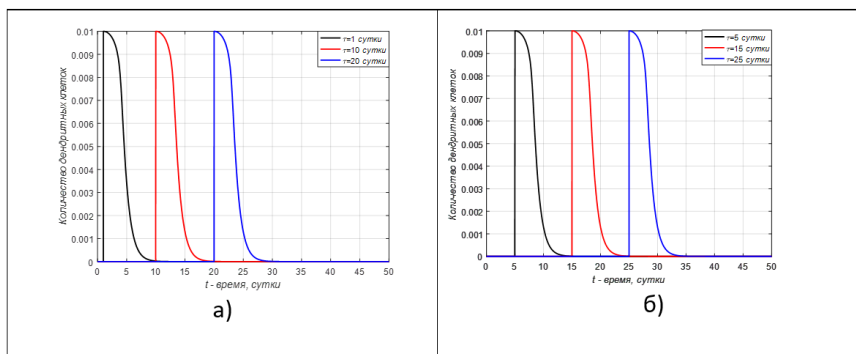


Рис. 1. Динамика дендритных клеток после однократного введения минимально эффективной дозы $DK_0^N = 0,01$ а) на $t_1 = 1, 10, 20$ сутки б) на $t_1 = 5, 15, 25$ сутки

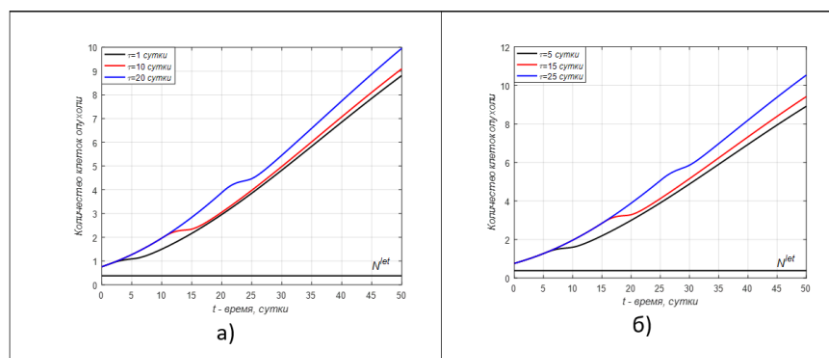


Рис. 2. Динамика клеток опухоли после однократного введения минимально эффективной дозы $DK_0^N = 0,01$ а) на $t_1 = 1, 10, 20$ сутки; б) на $t_1 = 5, 15, 25$ сутки

Максимально эффективная доза определялась как доза, приводящая к гибели опухолевых клеток до уровня ниже порога летальности $N^{let} = N_0/2 = 0,38$, где $N_0 = 0,76$ – начальное количество клеток роста опухоли в контроле [7,8].

В результате проведённых вычислительных экспериментов на модели был определён диапазон эффективных доз и построены графики зависимости минимально и максимально эффективных доз от размера опухоли в момент их введения (Рис. 3).

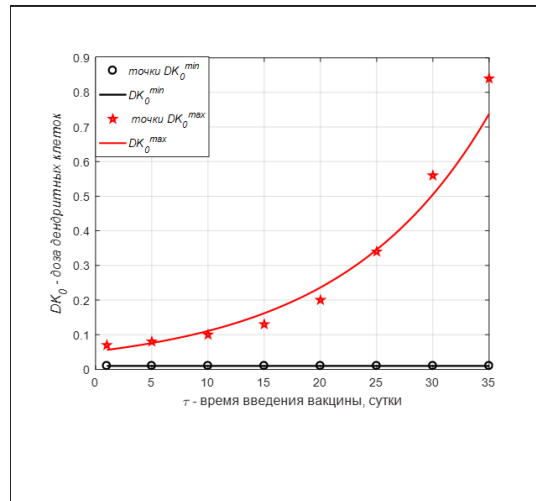


Рис. 3. Аппроксимация расчётного графика зависимости минимально и максимально эффективной дозы от размера опухоли при введении на $t_1 = 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35$ сутки
Проведённые исследования показали, что после однократного введения максимально эффективных доз дендритных клеток численность оставшихся в живых опухолевых клеток близка к пороговому значению, но при этом сохраняется способность к возобновлению роста опухоли (Рис. 4,5).

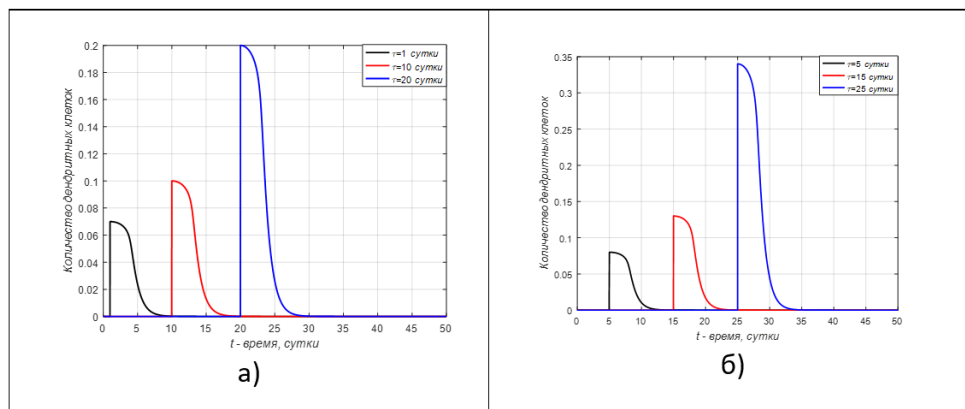


Рис. 4. Динамика дендритных клеток при введении максимально эффективных доз ДК-вакцины а) – на $t_1 = 1, 10, 20$ сутки; б) – на $t_1 = 5, 15, 25$ сутки

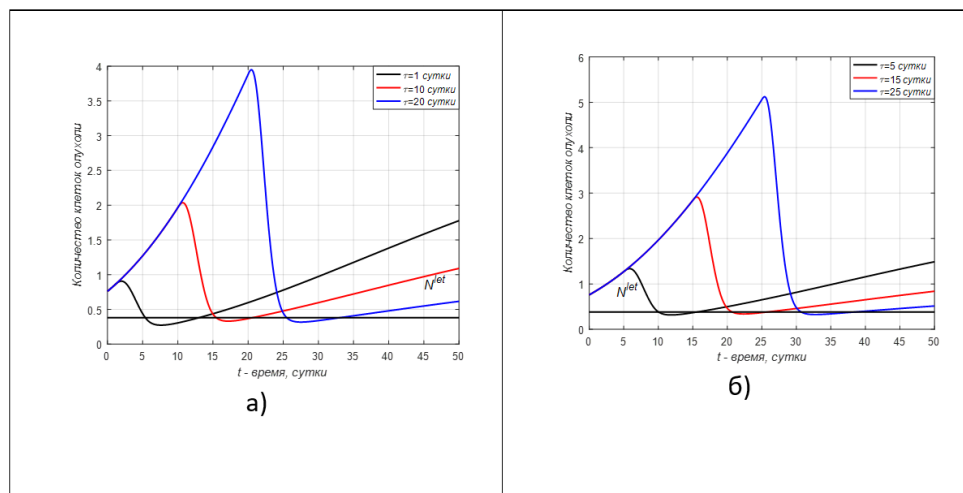


Рис. 5. Динамика клеток опухоли при введении максимально эффективных доз ДК-вакцины а) на $t_1 = 1, 10, 20$ сутки; б) на $t_1 = 5, 15, 25$ сутки

3 Результаты исследования эффективности вакцинотерапии на дендритных клетках при многократном введении вакцины

В связи с тем, что однократное введение максимально эффективных доз дендритных клеток не приводит к полному уничтожению опухолевых клеток, были исследованы различные схемы многократного введения дендритных клеток в различных сочетаниях доз и интервалов между введениями.

Критерием эффективности лечения при вакцинотерапии на дендритных клетках было принято считать достижение полного подавления роста опухоли, на периоде до 200 суток.

Результаты проведённых исследований при многократном введении различных доз дендритных клеток при варьировании интервалов между их введениями показали, что эффективность снижения численности опухолевых клеток в значительной степени зависит от длительности интервалов между введениями вакцины (Рис. 16). Показано, что введение минимально эффективной дозы дендритных клеток ежедневно или через 4 суток менее эффективно. Полученный результат согласуется с данными работы [4], в которой проводилось сравнение динамики роста опухоли при ежедневных введениях дендритных клеток в эксперименте на животных.

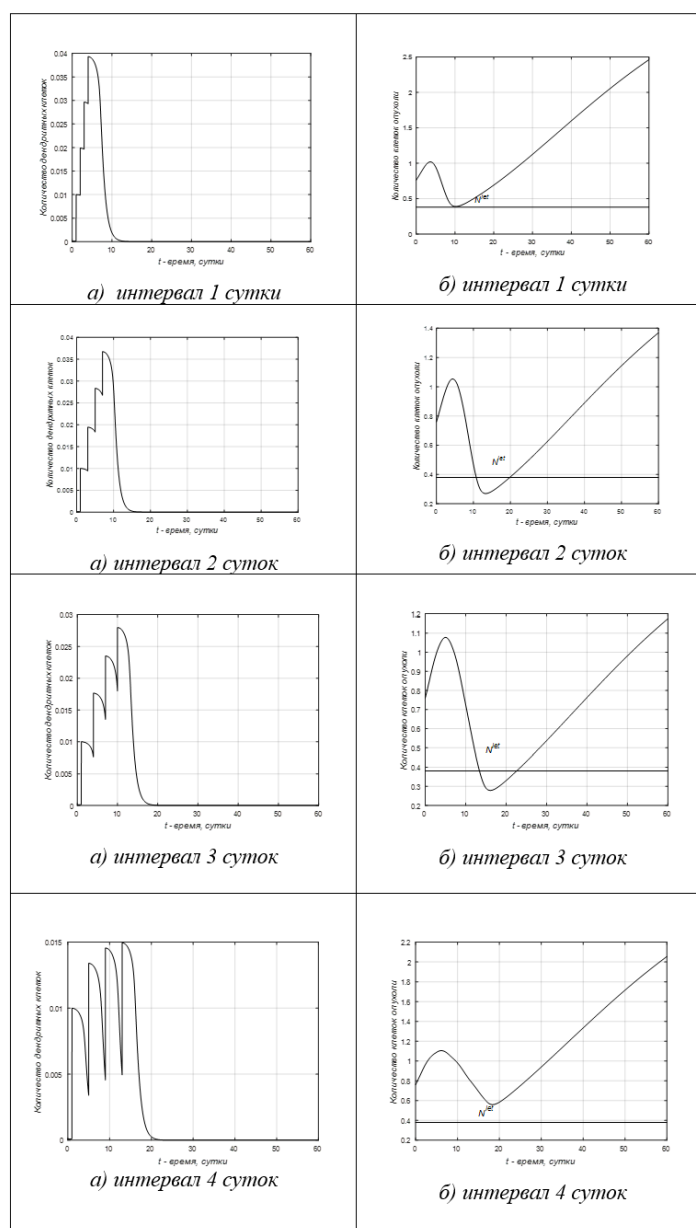


Рис. 6. Четырёхкратное введение минимально эффективной дозы $DK_0^N = 0,01$, начиная с 1 суток при различных интервалах между введениями: а) динамика дендритных клеток; б) динамика роста опухоли

Критерием для оценки эффективности различных интервалов между введениями вакцины была принята площадь под кривой динамики дендритных клеток (Рис.6а), которая является интегральным показателем влияния нескольких факторов – величины дозы, интервала между введениями и количества введений дендритных клеток.

Для расчёта площади под кривой динамики дендритных клеток использована встроенная функция MATLAB-trapz, которая рассчитывает площадь методом трапеций.

На основании полученных результатов построены графики зависимости площади под кривой динамики дендритных клеток $S(t)$ от длительности интервалов между введениями Δt для $\Delta t=1,2,3$, и 4 суток при первом введении дендритных клеток на 5 и 20 суток роста опухоли (рис.7).

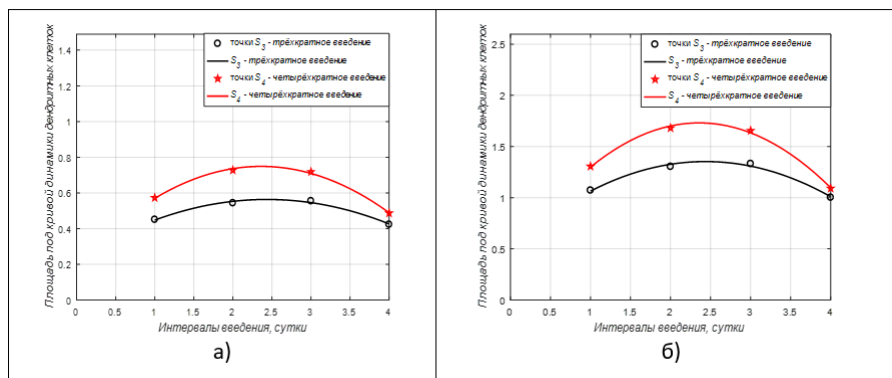


Рис. 7. Графики зависимости размера площади под кривой динамики дендритных клеток от длительности интервала между введениями для трёхкратных (чёрный) и четырёхкратных (красный) введений минимально эффективной дозы: а) на 5 сутки роста опухоли; б) на 20 сутки роста опухоли

Как видно из графиков, введение вакцины с интервалом в 2-е или 3-е суток является наиболее эффективным. Показано, что эта зависимость сохраняется для любого размера опухоли в момент начала лечения (рис. 7).

Следовательно, для полного уничтожения опухолевых клеток и достижения длительной ремиссии роста опухоли требуется такая стратегия введения антигенпрезентативных дендритных клеток, которая обеспечивает поддержание высокого уровня их присутствия в организме до полного подавления роста опухоли. Полученный результат согласуется с выводами о лечении хронических инфекционных заболеваний, при гуморальном иммунном ответе организма на вирусную инфекцию, которые были получены в работах под руководством Г.И. Марчука [10,11].

4 Максимально эффективная схема введения дендритных клеток

Проведённые исследования позволили выявить наиболее эффективный режим введения дендритных клеток, который приводит к полному уничтожению опухоли (рис. 15). Необходимым условием для достижения такой эффективности является первоначальное введение максимально эффективной дозы, которая выбирается в зависимости от размера опухоли в момент начала лечения. Затем повторные введения можно проводить, используя минимально эффективную дозу с интервалом в 2-е суток.

Количество повторных введений для минимально эффективной дозы может составлять не менее 2-х раз. Это позволяет поддержать необходимый эффективный уровень присутствия дендритных клеток в организме и образование достаточного количества цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров для достижения полного уничтожения опухолевых клеток (Рис.8).

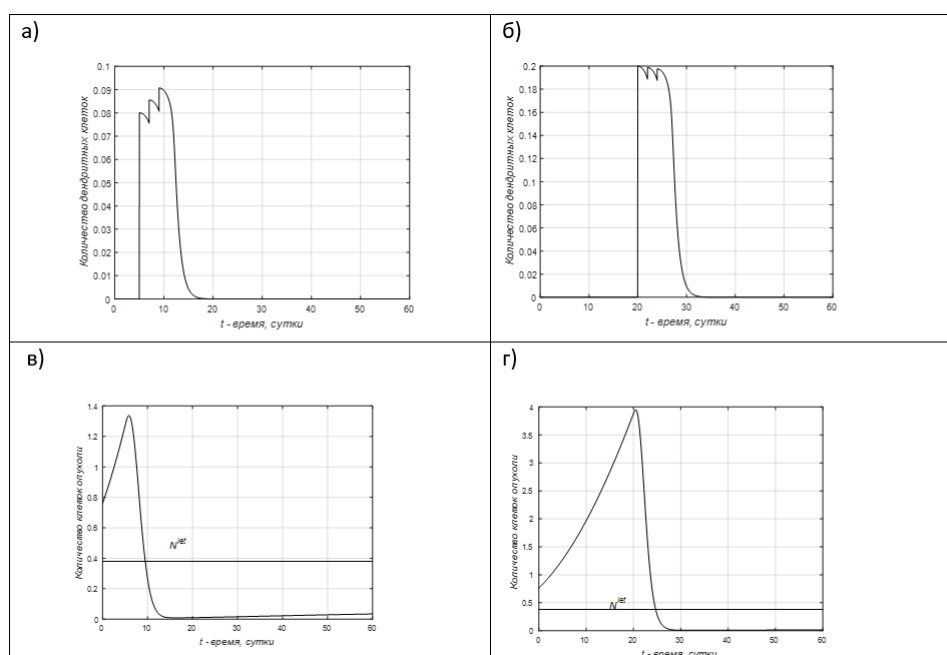


Рис.8. Динамика дендритных клеток и клеток опухоли при введении максимально эффективной дозы и двукратном введении минимально эффективной дозы с интервалом между введениями 2 суток: а) динамика дендритных клеток на 5 сутки роста опухоли; б) динамика дендритных клеток на 20 сутки роста опухоли; в) динамика опухоли на 5 сутки; г) динамика опухоли на 20 сутки

В рамках построенной модели предложенная схема введения дендритных клеток обеспечивает наибольшую вероятность полного уничтожения опухолевых клеток и длительную ремиссию роста опухоли на протяжении более 200 суток после начала лечения.

Выводы

В работе представлена простейшая математическая модель, описывающая этапы развития иммунного ответа организма на введение антигенпрезентативных дендритных клеток. Вакцины данного типа разрабатываются для конкретного вида опухоли, которая развивается в организме пациента. В модели описан механизм взаимодействия популяций иммунных клеток с клетками опухоли, что позволяет решать задачу поиска эффективных стратегий лечения онкологических заболеваний.

В результате проведенных вычислительных экспериментов в рамках построенной модели вакцинотерапии на дендритных клетках были получены следующие результаты.

1. Определена максимально эффективная стратегия введения дендритных клеток, позволяющая достигать подавления роста опухоли на длительном периоде времени после лечения.
2. Показано, что необходимым условием для достижения полного уничтожения опухолевых клеток является многократное введение дендритных клеток, при первоначальном однократном введении максимально эффективной дозы, которая зависит от размера опухоли в момент начала лечения.
3. Определён наиболее эффективный интервал между повторными введениями антигенпрезентативных дендритных клеток.

Математическое моделирование предоставляет возможность для качественного и количественного анализа параметров зависимостей между количеством образующихся цитотоксических Т-лимфоцитов киллеров и введённой дозой дендритных клеток. Это важная информация для онкологов-экспериментаторов, которую можно использовать для сокращения сроков экспериментальных исследований и экономии экспериментальных животных, что сокращает время и стоимость поиска эффективных стратегий противоопухолевой вакцинотерапии на дендритных клетках.

Литература

1. Гриневич Ю. А., Храновская Н. Н. Вакцины на основе антигенпрезентирующих дендритных клеток в иммунотерапии больных со злокачественными опухолями // Онкология. Т. 9. 2007, № 4. – С.365-370.
2. DePillis L., Gallegos A., Radunskaya A. A model of dendritic cell therapy for melanoma // Molecular and cellular oncology. Vol. 3. 2013, № 56. – P.1-14.
3. Köse E., Moore S., Ofodile C., Radunskaya A., Swanson E. R., Zollinger E. Immuno-kinetics of immunotherapy: dosing with DCs // Letters in Biomathematics. Vol. 4. 2017, № 1. – P.39-58.
1. Ludewig B., Krebs P., Junt T., Metters H., Ford N. G., Anderson R. M., Bocharov G. Determining control parameters for dendritic cell – cytotoxic T lymphocyte interaction // European journal of immunology. Vol. 34. 2004, № 9. – P.2407-2418.
4. Lee T. H., Cho Y. H., Lee M. G. Larger numbers of immature dendritic cells augment an anti-tumor effect against established murine melanoma cells // Biotechnology Letters. Vol. 29. 2007, № 3. – P.351-357.
5. Kim R., Woods T., Radunskaya A. Mathematical modeling of tumor immune interactions: A closer look at the role of a PD-L1 inhibitor in cancer immunotherapy // Spora: A Journal of Biomathematics. Vol. 4. 2018, № 1. – P.25-41.
6. Бабушкина Н.А., Кузина Е.А., Лоос А.А., Беляева Е.В. Оценка эффективных стратегий применения противоопухолевой вакцинотерапии на основе математического моделирования // Математическая биология и биоинформатика. Т. 14. 2019, №1. – С.34-54. doi: 10.17537/2019.14.34
7. Бабушкина Н.А., Кузина Е.А., Лоос А.А., Беляева Е.В. Результаты исследования режимов применения противоопухолевых вирусных вакцин на основе математического моделирования // Проблемы управления. № 4. 2018. – С.61-70.
8. Моничев А.Я. Динамика кроветворения. – М.: Медицина, 1984. – 176с.
9. Марчук Г.И. Математические модели в иммунологии. Вычислительные методы и эксперименты. – М.: Наука, 1991. – 304с.
10. Романюха А.А. Математические модели в иммунологии и эпидемиологии инфекционных заболеваний. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 293с.