



Modélisation de croissance de tumeurs : cas particulier des mélanomes

Thibaut Balois

► To cite this version:

Thibaut Balois. Modélisation de croissance de tumeurs : cas particulier des mélanomes. Biomécanique [physics.med-ph]. Université Paris sciences et lettres, 2016. Français. NNT : 2016PSLEE033 . tel-01735315

HAL Id: tel-01735315

<https://theses.hal.science/tel-01735315>

Submitted on 15 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE DE DOCTORAT

de l'Université de recherche Paris Sciences et Lettres
PSL Research University

Préparée au laboratoire de physique statistique de l'ENS

Modélisation de croissance de tumeurs :
Cas particulier des mélanomes

Ecole doctorale n°564

Physique en Ile-de-France

Spécialité Physique

Soutenue par Thibaut BALOIS
le 29 juin 2016

Dirigée par **Martine BEN AMAR**

COMPOSITION DU JURY :

Mme. BADOUAL Mathilde
Université Paris Diderot, Membre du jury

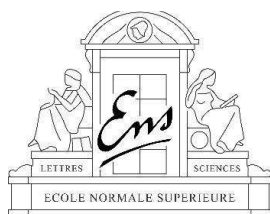
Mme. BEN AMAR Martine
ENS ULM, Directrice

M. MONASSON Rémi
ENS ULM, Membre du jury

M. MULLER Martin
Université de Lorraine, Rapporteur

M. NAPOLI Gaetano
Université del Salento, Rapporteur

M. PERTHAME Benoît
UPMC, Membre du jury



Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier profondément Gaetano Napoli et Martin Müller pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être les rapporteurs de cette thèse. J'espère qu'ils ont pris plaisir à la lire, et je les remercie de leur remarques qui m'ont permis d'améliorer mon manuscrit.

Un très grand merci à Rémi Monasson pour avoir accepté de présider la défense de cette thèse. Je remercie également Benoît Perthame et Mathilde Badoual d'avoir participé au jury.

Enfin, je veux tout particulièrement remercier Martine Ben Amar pour m'avoir supporté durant cette thèse. Je n'ai vraiment pas été un thésard facile et je te remercie tout particulièrement pour ta patience envers mes excentricités de semi ermite. Même si j'arrête la recherche, je n'oublierai jamais ce que j'ai appris grâce à toi. Un très grand merci Martine !

Je remercie également Jean-Marc Berroir pour avoir accepté de me réinscrire et de m'avoir encouragé à aller jusqu'au bout de l'exercice difficile de rédaction.

Je tiens également à remercier Eric Perez et Jorge Kuchan pour m'avoir accueilli au Laboratoire de Physique Statistique. Un grand merci à Marie Gefflot, Annie Ribaudeau, Nora Sadaoui et Zaïre Dissi pour leur aide inestimable dans les tempêtes administratives et logistiques. Un grand merci à Simon Saule pour avoir accepté un physicien dans un cours de biologie « from pigmented cells to melanoma ». Cette interaction m'a permis de mieux appréhender le fond de ma thèse et l'a grandement faite avancer. Un grand merci au Dr. Cyril Maire pour avoir pris du temps afin de se pencher avec curiosité et intérêt sur nos travaux.

Un très grand plaisir au cours de cette thèse aura été les moments du monitorat aux côtés de Léo, Wilfried et PF. Un grand merci à toute l'équipe de la prépa agreg de Montrouge, Eric, André et Nasser pour leur accueil chaleureux durant toute ces années (j'aurais quand même trainé six ans dans vos couloirs). Merci à Kenneth pour ces interminables discussions sur les montages, les leçons et autres découpages de cheveux en quatre.

Je remercie également l'Ecole Normale Supérieure de la rue d'Ulm, bien évidemment pour la bourse de thèse et les salaires, mais aussi pour m'avoir admis en son sein et permis d'avoir eu accès à l'une des plus solides formation scientifique et culturelle qui existe. Je pense que je n'ai pas toujours su en profiter au maximum, mais j'ai passé dix très bonnes années dans les couloirs de cette vieille école qui est la mienne. Je remercie tout particulièrement Stephan Fauve, Jean-François Allemand et Frédéric Chevy pour leur disponibilité et leur écoute lors de ces longues et souvent laborieuses études.

Je remercie aussi le département de chimie pour m'avoir poussé vers la physique.

A Clément Chatelain, cette thèse n'aura pas été la même sans toi. Merci pour tes conseils, ta patience, les discussions scientifiques et ton amitié qui ont éclairé ma thèse !

A mes grand-parents, vous êtes partis avant de nous avoir vu aller au bout et devenir docteurs. Toute ma vie je vous serais reconnaissant parce que je ne peux même pas faire la liste de tout ce que vous m'avez apporté.

A mes parents, merci pour votre amour et votre confiance en moi. Comme il est agréable de savoir derrière soi, votre infaillible soutien.

A mon frère, tu as toujours été là dans les bons comme dans les mauvais moments. On s'est tellement disputé dans notre vie que je pense qu'on ne pourra jamais se séparer, on s'aime beaucoup trop pour ça.

A mes oncles et tantes, parrain, marraine et aussi à mes cousins et cousines, merci à tous.

A Maxime, tu es un être extraordinaire, ton amitié illumine ma vie, au point où tu m'as même fait l'honneur et le plaisir de parrainer ton fils. Elijah maintenant c'est à toi ! Objectif : doctorat de sociologie du punk à chat. ^_^

A Poupou, tu es un ami tellement fidèle ! Je ne sais pas ce que je ferai sans toi, sans ton attention patiente et rassurante, ce manuscrit te doit tellement entre les après midi à l'IHP et la relecture. Merci aussi à Eloi et Nadine pour m'inviter avec toi au pique-nique et autres apéros du XIIème.

A Guilloume Mijaule : RIEN !

A Elon Cecaïgn : Non RIEN vraiment !

A Guillaume Mijoule, ton soutien discret m'a permis de continuer à avancer dans mes moments les plus embourbés. Ce manuscrit te doit aussi beaucoup ! Outre ta relecture patiente et scrupuleuse, je me demande encore si je serai aller au bout sans notre pari.

A Elen Cocaïgn, tu as su me soutenir, me porter presque à bout de bras dans la dernière ligne droite et m'aider à assommer tous les singes qui se sont mis sur mon parcours.

A tous mes castochoux pour les hugs revigorant, les soirées endiablées, les vacances au top. Ayé j'ai le droit à mon portrait à l'endroit maintenant ?

A Difred, un grand merci pour CuDa que ce soit pour la thèse ou SC2. Vraiment GG!!!

A Marlène, petit poisson des profondeurs, tu sais toujours émerger quand il faut et être là quand ça compte le plus ! Tu vois finalement la physique ne fait pas toujours sa BiH. ^_^

A Charline, tu sais toujours me faire rire et sourire, même dans les moments les plus durs. Quand j'y pense, il n'y a pas un moment où je n'ai pas envie de te remercier de m'avoir adopté.

A Betwo, un grand merci pour avoir su être là et aussi pour avoir réveillé mon humanisme et tout ce que ça entraîne, notamment cette envie de mieux.

A tous mes potes de prépa, Gaël, Pépé, Kerken, Stouf, Drale, Leeroy, Taï... et ma jet set Ajnal, Barzoun, Seb, Pattatte, Jamul, Bill, Tuan, Yannus, Driss... Bon les gars, on va fêter ça ?

A mes comparses chevelus, mes compagnons de l'orient, mes copains motards, nos escapades ont un goût de trop peu. On remet ça quand ?

A Camille, JV, Ménehould et Tancrède, les dîners chez vous ont souvent été un phare dans des semaines brumeuses. Merci pour votre amitié sans faille.

A Ali, Claire et Gus, je suis tellement content que Guillaume nous ait présentés. J'y ai gagné deux commensaux, un coloc mais surtout trois amis.

A Camille, merci pour tout ! Tu m'as permis de reprendre possession de la fierté que ma thèse devait me procurer, de la fêter et de la soutenir comme il se doit. Je sais que je ne parviens pas à le montrer mais tes conseils me sont précieux, et mon oreille sourde n'a toujours été qu'une maladroite façade. Merci pour me pousser à être meilleur. Je te dois tellement que tu ne pourras jamais en mesurer l'étendue. Tu es un joyau.

Table des matières

1	Physiologie de la peau et de ses cancers	9
1.1	La peau saine	9
1.1.1	Vue d'ensemble	9
1.1.2	L'hypoderme et le derme	10
1.1.3	L'épiderme	11
1.1.3.1	Structure	11
1.1.3.2	Les kératinocytes	12
1.1.3.3	Les mélanocytes	15
1.1.3.4	Les cellules immunocompétentes et cellules de Merkel	17
1.1.4	La jonction dermo-épidermique	18
1.1.4.1	Description de la jonction dermo-épidermique	18
1.1.4.2	La jonction dermo-épidermique et l'épiderme en peau épaisse	19
1.1.5	Microenvironnement et interactions cellulaires	20
1.1.5.1	Importance du microenvironnement	20
1.1.5.2	Interactions cellulaires	21
1.2	Les lésions cutanées	23
1.2.1	Bronzage et pigmentation : genèse des lésions cutanées	23
1.2.2	Les différents types de lésions	25
1.2.2.1	Les carcinomes	25
1.2.2.2	Les lésions mélanocytaires	26
1.2.2.3	Détection et diagnostique	27
1.2.3	La génétique	30
1.2.3.1	Les premiers événements génétiques du mélanome	30
1.2.3.2	Modification de l'interaction cellulaire	31
1.2.3.3	La sénescence	33
2	La modélisation mathématique du cancer	35
2.1	Aperçu global : les différents types de modèles continus	35
2.1.1	Un peu d'histoire	35
2.1.2	Les modèles hydrodynamiques	37
2.1.3	Les modèles élastiques	38
2.2	Les modèles multiphasés	39
2.2.1	Les phases	39
2.2.2	Bilan de masse	41
2.3	Le modèle 2D à deux phases	41

2.3.1	Un modèle à deux phases	41
2.3.2	Termes d'échange	44
2.3.2.1	Prolifération cellulaire	44
2.3.2.2	Consommation en nutriments	44
2.3.3	Un système 2D	45
2.3.4	Equations maîtresses adimensionnées et paramètres biophysiques	47
3	Analyse des équations du modèle à deux phases	49
3.1	Analyse dans l'espace : décomposition spinodale	49
3.1.1	La décomposition spinodale en physique	49
3.1.1.1	Diagramme binaire, séparation de phases et décomposition spinodale	49
3.1.1.2	L'équation de Cahn-Hilliard	51
3.1.1.3	Séparation de phases en biologie	52
3.1.2	La décomposition spinodale pour les lésions cutanées	53
3.2	Analyse dans le temps : modèle d'évolution	53
4	Effets de la troisième dimension	87
4.1	Le cas de la peau glabre	87
4.1.1	Observations cliniques	87
4.1.2	Possible effets des variations spatiales de la JDE et de l'épiderme	88
4.1.3	Propagation verticale de la mélanine	88
4.2	Mise en équation et résultats	89
	Annexes	103
	Table des figures	105
	Liste des tableaux	109
	Bibliographie	111

Chapitre 1

Physiologie de la peau et de ses cancers

Dans ce chapitre, nous allons présenter quelques éléments fondamentaux de biologie entrant en jeu dans le cancer de la peau. Nous allons d'abord décrire le fonctionnement biologique de la peau saine, puis nous décrirons les modifications intervenant dans le cas des lésions cutanées, notamment des mélanomes.

1.1 La peau saine

1.1.1 Vue d'ensemble

Malgré une impression de finesse, la peau est en fait le plus gros organe du corps. Elle représente un poids de 5Kg avec une surface totale d'environ 2m² [1, 2]. La peau joue un rôle de protection du corps contre les agressions extérieures non seulement mécaniques (barrière séparatrice), chimique (hydrophobie) mais aussi radiatives (protection contre les UV) [3]. Elle reçoit des informations sensibles, notamment la température et les sensations du toucher. Elle est aussi la première barrière de la réponse immunitaire [4, 5]. La structure de la peau est complexe et se divise en quatre différentes régions de l'intérieur du corps à l'extérieur (Figure 1.1) :

- l'hypoderme est une zone vascularisée stockant les graisses et les annexes de la peau ;
- le derme est moins riche en graisse, moins épais mais aussi bien vascularisé ;
- la jonction dermo-épidermique (JDE) est une zone très fine avec une épaisseur de 0,5 à 1μm, dont l'importance en fait une zone à part entière ;
- l'épiderme est un épithélium avasculaire qui est une véritable barrière du corps humain grâce à sa couche cornée, son épaisseur varie de 50μm à 1mm suivant les régions du corps.

La peau est aussi reliée à de nombreuses annexes : les poils, les ongles et les glandes sudorales. D'origine épidermique, ces annexes sont situées dans le derme et l'hypoderme. Cette structure de base de la peau est sensiblement identique sur tout le corps, néanmoins il existe de fortes variations suivant les différentes régions du corps. L'hypoderme est beaucoup plus fin sur les paupières, et plus épais sur les fesses. L'épaisseur de l'épiderme va être plus importante sur la paume des mains et

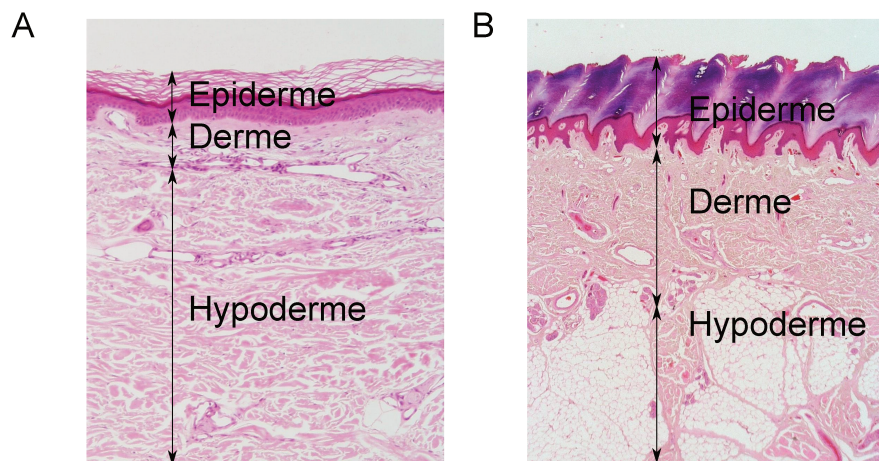


FIGURE 1.1 – Zones de la peau décrites sur une photographie issue d’analyses histopathologiques (A) en peau fine, image x10, et (B) en peau épaisse, image x2. Images tirées de <http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/corepages/integumentary/integum.htm>.

la palme des pieds (peau glabre ou épaisse) que sur le reste du corps (peau fine) [6]. Les variations géométriques de l’épiderme sont aussi beaucoup plus marquées au niveau des zones glabres, comme le montrent les ridules des empreintes digitales appelés dermoglyphes [7].

1.1.2 L’hypoderme et le derme

L’hypoderme et le derme sont des tissus conjonctifs innervés et vascularisés de la peau (Figure 1.2). Un tissu conjonctif est un tissu où les cellules ne sont pas jointives comme pour un épithélium mais séparées par de la matrice extracellulaire. Ce tissu est constitué d’un réseau élastique constitué de fibres (fibres oxytalanes, fibres d’élaunine et fibres élastiques matures), de cellules (principalement de fibroblastes et d’adipocytes) et de substance fondamentale (principalement des formes de sucres complexes, les mucopolysaccharides acides comme l’acide hyaluronique) [2, 6].

L’hypoderme est la couche la plus profonde de la peau. C’est le tissu graisseux de la peau. La plus grande population de cellules dans l’hypoderme est constituée d’adipocytes [6]. Les adipocytes sont des cellules de grande taille (environ $100\mu m$) spécialisées dans le stockage des graisses, et s’arrangent en lobules délimités par des septums conjonctivo-élastiques. Ces septums permettent le passage des nerfs et des vaisseaux, favorisant ainsi l’échange des graisses et aussi de l’énergie avec le reste du corps. L’hypoderme jouera donc un rôle de barrière thermique, la graisse étant un isolant thermique. L’abondance de l’hypoderme variera suivant les régions du corps et le sexe de l’individu. Ainsi l’hypoderme est plus abondant au niveau de l’abdomen

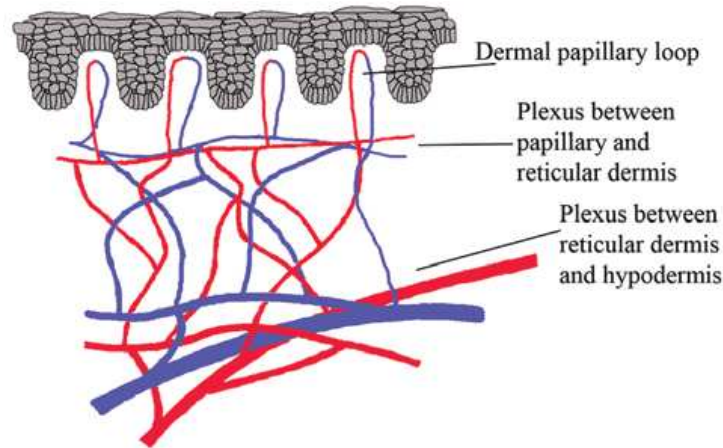


FIGURE 1.2 – Schéma de la vascularisation de la peau tiré de [7, 8]. On constate que le derme et l'hypoderme sont bien vascularisés jusqu'au niveau des papilles dermiques, alors que l'épiderme reste complètement avasculaire.

chez l'homme alors que chez la femme il est plus abondant au niveau des cuisses, des hanches et des fesses.

Sans qu'il n'y ait de limite nette, l'hypoderme se sépare ensuite du derme. Celui-ci est la partie centrale et la plus importante de la peau. Son épaisseur varie de 0,6 mm au niveau des paupières par exemple à 4 mm au niveau des paumes de la main et de la plante des pieds. On peut noter que 98% de sa masse sèche est constituée de collagène [6]. Le derme se divise en deux zones (Figure 1.2) :

- le derme réticulaire qui est la zone la plus importante et la plus en profondeur. Il est composé de fibres de collagène épaisses formant un tissu dense contenant aussi plusieurs annexes cutanées (follicules pileux, petits nerfs...)
- le derme papillaire qui est la zone la plus externe du derme se situant entre les crêtes épidermiques. Il est constitué de fibres de collagènes plus fines contenant les anses capillaires (Figure 1.2) et les liaisons nerveuses terminales.

Le derme s'ancre ensuite à l'épiderme grâce à la jonction dermo-épidermique.

1.1.3 L'épiderme

1.1.3.1 Structure

L'épiderme est un épithélium (tissu constitué de cellules jointives sans interposition de substance fondamentale ou de fibres) stratifié constitué de quatre types différents de cellules (Figure 1.3) :

- les kératinocytes,
- les mélanocytes,
- les cellules immunocompétentes,
- les cellules de Merkel.

Les kératinocytes représentent environ 80% de la population cellulaire de l'épiderme. En migrant progressivement vers l'extérieur, ils évoluent progressivement donnant

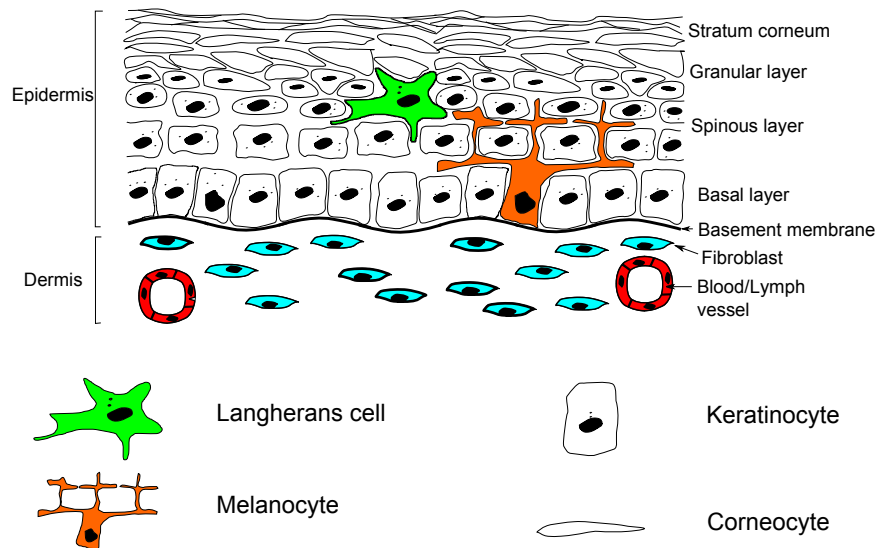


FIGURE 1.3 – Schéma de structure de l'épiderme, représentant ses différentes couches et leurs cellules.

à l'épiderme sa structure en différentes couches. Ainsi, on distingue quatre couches dans l'épiderme [9] (Figures 1.3 et 1.4) :

- la couche basale ou stratum basale (SB),
- la couche spinuse ou stratum spinosum (SS),
- la couche granuleuse ou stratum granulosum (SG),
- la couche cornée ou stratum corneum (SC).

Ces couches se caractérisent principalement par les différentes étapes par lesquelles passent les kératinocytes lors de leur migration de la couche basale à la couche cornée. Les 20% des cellules restant sont constitués de cellules dendritiques ayant différentes fonctions : les mélanocytes, les cellules de Merkel et les cellules immunocompétentes.

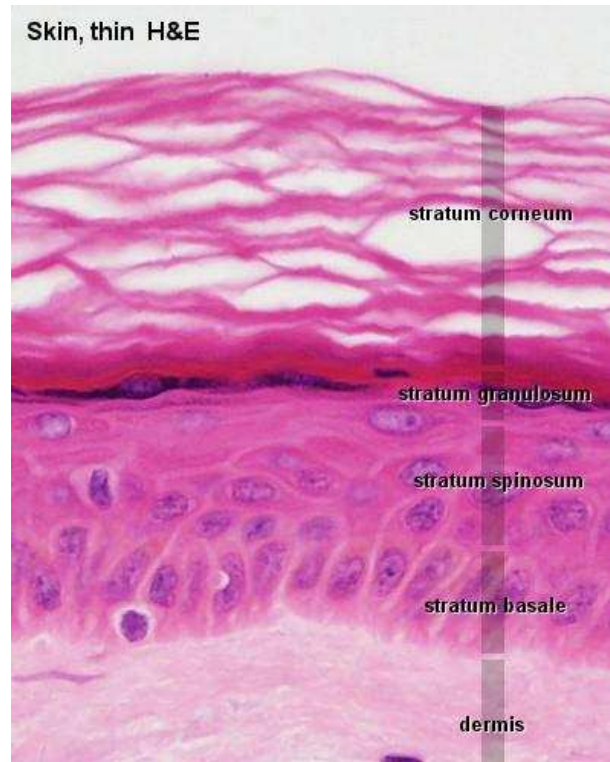
1.1.3.2 Les kératinocytes

Les kératinocytes majoritaires sont responsables des principales fonctions de l'épiderme :

- la cohésion de l'épiderme assuré par le cytosquelette des cellules et leurs jonctions,
- le rôle de barrière physique avec l'extérieur assuré par la transformation des kératinocytes en cornéocytes (ci-dessous),
- le rôle de protection contre les rayonnements lumineux grâce aux mélanosomes produits par les mélanocytes et phagocytés par les kératinocytes au cours de leur migration.

Les kératinocytes prennent naissance dans la couche basale de l'épiderme en étant accrochés à la JDE. Dans cette couche basale, ils présentent une forme cylindrique avec un axe de révolution perpendiculaire à la JDE et un noyau allongé. On y trouve donc les cellules souches de l'épiderme, mais aussi des cellules post-mitotiques restant

A



B

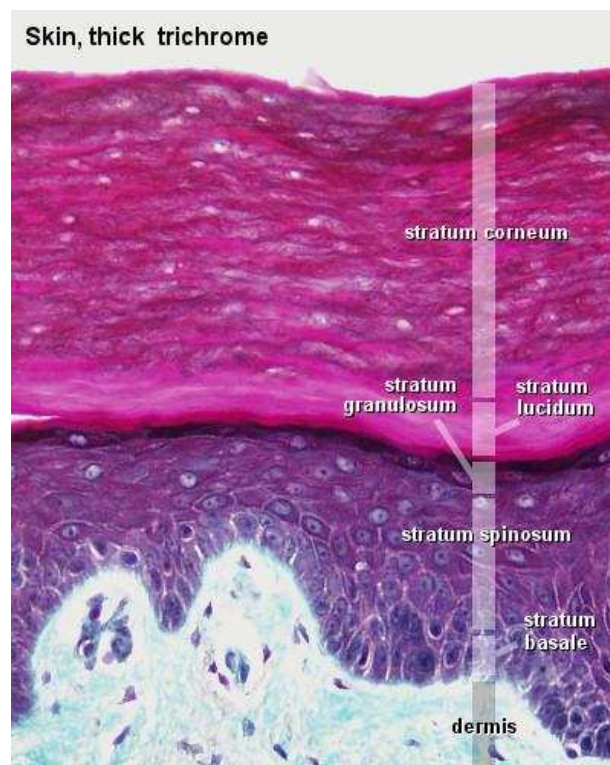


FIGURE 1.4 – Coupes histopathologiques (A) en peau fine x20 et (B) en peau épaisse x40, représentant les différentes zones de l'épiderme. On remarque la différence d'épaisseur entre les deux échantillons au vue des deux échelles choisies. Images tirées de <http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/corepages/integumentary/integum.htm>.

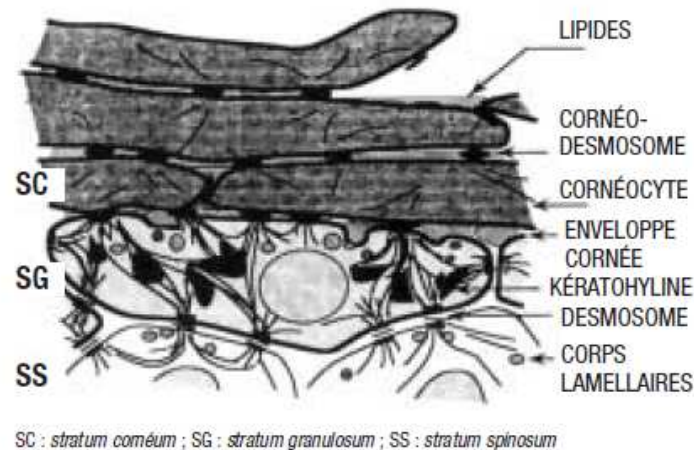


FIGURE 1.5 – Structure de la couche cornée. Lorsque le kératinocyte atteint le stratum spinosum, il entame une différenciation conduisant à son apoptose. Puis au niveau du stratum granulosum, le noyau et d'autres organites disparaissent. En contrepartie, des précurseurs de la couche cornée apparaissent comme les corps lamellaires et la kératohyaline. Ces corps lamellaires produisent dans l'espace interstiel un ciment lipidique conduisant à la formation de cornéocytes, soudés dans la couche corpar ce ciment et par des cornéodesmosomes. Schéma issu de [2].

en position basale.

Les kératinocytes quittant la couche basale prennent une forme plus polygonale. Cette forme est due aux desmosomes qui accrochent les kératinocytes entre eux, formant ainsi des épines. Cette zone s'appelle ainsi la couche spineuse de l'épiderme. Les kératinocytes y forment de plus en plus de filaments intermédiaires constitués de molécules de kératine. Ces filaments, appelés tonofilaments, sont rassemblés et assurent le cytosquelette de la cellule.

Puis, les cellules s'aplatissent progressivement pour devenir parallèles à la JDE. Leur noyau s'aplatit, lui aussi, et commence à disparaître, alors que des granulations apparaissent, d'où le nom de couche granuleuse donnée à cette zone. Il existe deux types de granulations.

- Les grains de kératohyaline remplie de molécules de profilagrine. Ces molécules se transformeront en filagrine dans la couche cornée pour former la matrice du cytoplasme des cornéocytes.
- Les kératinosomes migrent progressivement vers la membrane cytoplasmique et synthétisent le ciment intercellulaire qui sera déversé dans l'espace intercellulaire par exocytose [6, 10].

Finalement, le noyau des kératinocytes disparaît. Ils deviennent des cornéocytes, cellules complètement différenciées, anuclées et aplaties. Ils forment ainsi la couche cornée de l'épiderme. Leur diamètre est d'environ 30 à 40nm, alors que leur épaisseur n'est que de 20 à 500nm [11, 12]. Souvent décrites comme des "kératinocytes morts", ce sont bien des cellules à part entière. Ils restent fonctionnels même sans noyau. Ils sont fortement liés par des jonctions appelées cornéodesmosomes (Figure 1.5) et

l'espace intercellulaire est rempli du ciment formant une barrière imperméable. Ils donnent ainsi à l'épiderme sa fonction de barrière. Puis le cytosquelette se désagrège, le ciment intercellulaire et les cornéodesmosomes sont lysés, ce qui aboutit à la desquamation. La couche cornée a une épaisseur assez variable suivant les zones du corps, allant de 6 à 40 μ m sur la plupart du corps en zone de peau fine et pouvant atteindre 80 à 200 μ m sur la paume des mains et la plante des pieds en zone de peau glabre ou épaisse [1, 13, 14].

Chez un individu sain, ce processus de migration d'un kératinocyte à travers l'épiderme et toutes les modifications qu'il subit se fait en environ trois semaines [6].

1.1.3.3 Les mélanocytes

La deuxième population de l'épiderme est constituée de mélanocytes. Les mélanocytes sont des cellules provenant des crêtes neurales qui migrent au cours de l'embryogenèse vers la couche basale de l'épiderme où ils résideront. Les capacités de migration de ces cellules pourraient expliquer le danger que représente leur mutation en cellule cancéreuse. Ils sont situés entre les kératinocytes basaux de l'épiderme (environ 1 mélanocyte pour 10 kératinocytes basaux) mais leurs prolongements dendritiques pénètrent la couche spinieuse. La somme des contacts avec les kératinocytes basaux et supra-basaux forme une unité de mélanisation, constituée d'un mélanocyte pour 36 kératinocytes [2, 15]. Ces cellules ne contiennent pas beaucoup de tonofilaments et ne participent pas à la structure de l'épiderme ; leur rôle est de synthétiser la mélanine et de la transmettre aux kératinocytes, d'où les prolongements dendritiques qui permettent d'augmenter le nombre de kératinocytes en contact et d'améliorer sa fonction. Il existe deux types de mélanine :

- l'eumélanine, pigments brun-noirs,
- la phéomélanine, pigments jaune-rouges.

Elles sont produites à partir de la tyrosine (Figure 1.6) dans des organites spécialisés qui s'appellent les mélanosomes. Ces mélanosomes comprennent quatre stades de maturation. Les deux premiers stades correspondent à la création de l'organite cellulaire contenant de la tyrosinase non active. Les mélanosomes de stade I présentent une structure assez mal définie, alors qu'au stade II, ils développent une structure interne filamenteuse. Le stade III correspond à l'activation de la tyrosinase et à la synthèse de la mélanine. Le stade IV correspond au stade final du mélanosome qui est prêt à être délivré aux kératinocytes. Ils migrent le long des dendrites en 2 étapes : la kinésine les fait migrer le long des microtubules dans un processus analogue aux axones neuronaux, puis ils migrent le long de filaments d'actine [6, 2, 17, 18]. Les mélanosomes sont ensuite phagocytés par les kératinocytes et se placent au dessus du noyau du kératinocyte afin de le protéger du rayonnement UV. Les mélanosomes d'eumélanine sont ovoïdaux et contiennent des lamelles allongées, alors que les mélanosomes de phéomélanines sont arrondis et de plus petite taille.

La mélanine joue deux rôles liés, celui de donner à la peau sa couleur (du moins en partie) et de barrière photoprotectrice. Mais la résistance au soleil varie selon les individus. On distingue six phototypes cutanés répertoriés dans la Table 1.1. Paradoxalement, l'origine de ces phototypes ne se trouve pas dans la densité en mélanocytes. En effet, ceux-ci apparaissent avec une densité identique chez tous les

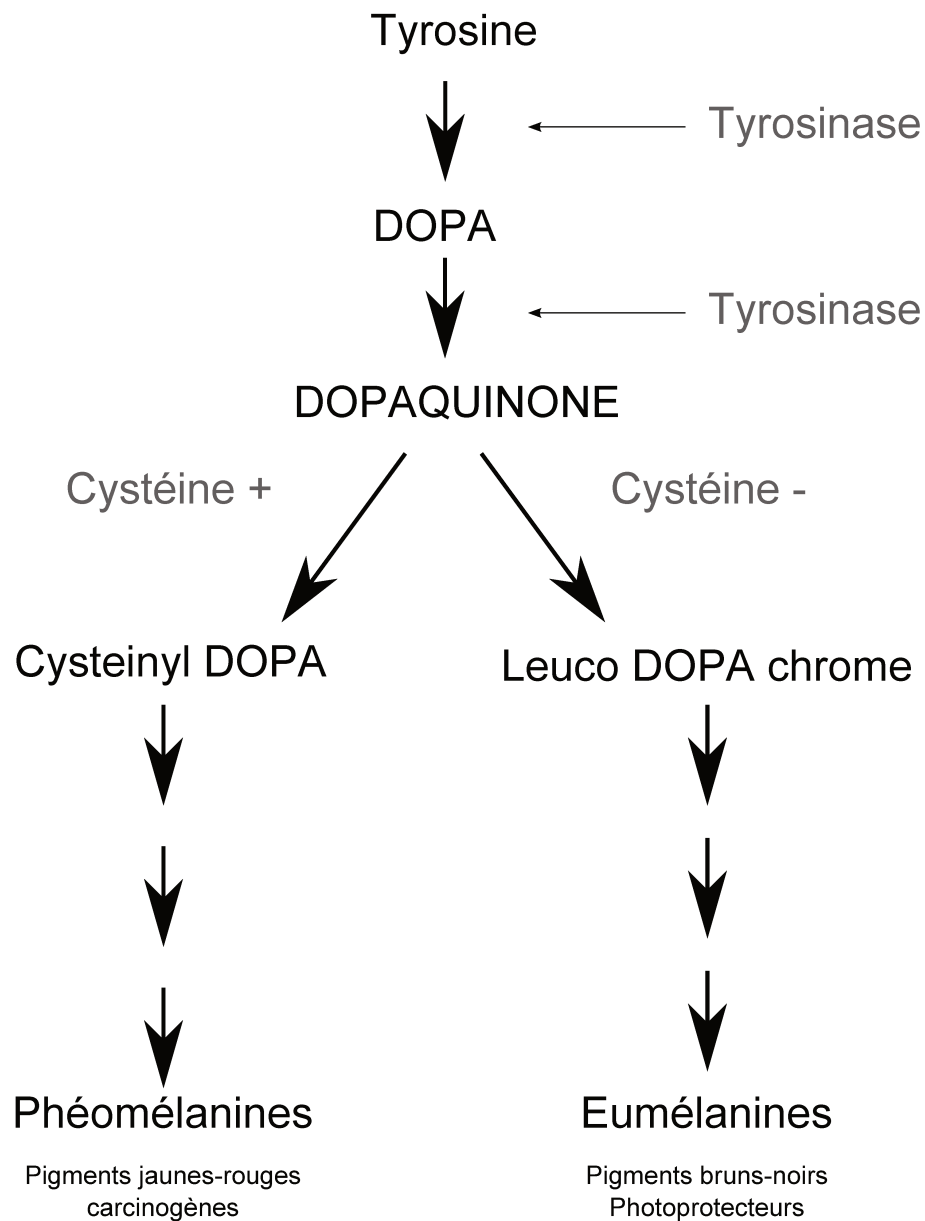


FIGURE 1.6 – Schéma de la synthèse de la mélanine. Celle-ci commence par une hydroxylation de la tyrosine en DOPA catalysée par la tyrosinase. Puis la DOPA est oxydée en dopaquinone grâce à cette même enzyme. La synthèse se poursuit en deux voies différentes. Si elle rencontre une grande quantité de cystéine, la dopaquinone produira une phéomélanine, sinon elle formera une molécule d'eumélanine [16]

Phototypes	Caractéristiques
Type I	-peau blanche -brûle toujours -ne bronze jamais
Type II	-peau blanche -brûle facilement -bronze peu et avec difficulté
Type III	-peau blanche -brûle peu -bronze progressivement
Type IV	-peau mate -brûle peu -bronze toujours bien
Type V	-peau brune -brûle rarement -bronze intensément
Type VI	-peau brun foncé à noire -ne brûle jamais -bronze intensément et profondément

TABLE 1.1 – Les six phototypes cutanés (tableau adapté de [2]).

individus mais qui dépend des zones de la peau considérées. La densité est plus forte au niveau du visage, du cuir chevelu et des zones génitales externes ($2000/mm^2$) qu'ailleurs ($1000/mm^2$) [6, 2]. L'origine génétique n'est pas parfaitement connue, mais la taille des mélanosomes et leur mode de captation varient. Dans les peaux blanches, les mélanosomes à phéomélanine sont prédominants, ils sont de petite taille et captés sous forme de complexes alors qu'ils sont gros, captés isolément et plutôt constitués d'eumélanine dans les peaux noires. Le bronzage ne correspond pas à une augmentation du nombre de mélanocytes mais de leur activité, i.e. une hausse de la synthèse des eumélanines. Cette augmentation se produit via une sécrétion d' α -MSH des kératinocytes qui est détectée par les mélanocytes, provoquant une activation de la voie des eumélanines. Chez les sujets de phototype I, une mutation du récepteur associé bloque l'activation de cette voie. Des phéomélanines sont produits par défaut alors que les phéomélanines se dégradent facilement en radicaux libres cancérigènes sous l'activation de radiations lumineuses [2]. Ceci fait que les sujets de phototype I sont des sujets à risque pour le cancer (section 1.2.1).

1.1.3.4 Les cellules immunocompétentes et cellules de Merkel

Les cellules immunocompétentes sont principalement composées de cellules de Langerhans (CL) qui portent le nom du premier médecin à les décrire en 1868. Ces cellules représentent la troisième population des cellules de l'épiderme (environ 3 à 8%). Elles naissent au niveau des organes hématopoïétiques. Elles migrent ensuite vers l'épiderme, le plus souvent vers la couche granulaire où elles acquièrent une forme dendritique. Leur rôle est alors de capturer des exoantigènes (des corps étran-

gers). Une fois un antigène capté, elles vont perdre leur morphologie dendritique en migrant vers le système lymphatique puis vers les ganglions lymphatiques. Elles peuvent alors présenter l'antigène aux lymphocytes T naïfs, activant ainsi la réponse immunitaire. Il faut noter qu'il existe une autre réponse immunitaire cutanée dans le derme mais celle-ci n'active pas les lymphocytes T [2, 19].

Le dernier type de cellules de l'épiderme correspond aux cellules du toucher. Elles s'appellent cellules de Merkel, du nom de leur découvreur [20]. Ce sont des cellules neuro-épithéliales qui jouent le rôle de mécanorécepteurs. Elles se trouvent dans la couche basale au contact d'une terminaison nerveuse [21], on les reconnaît par leur forme ovale avec un axe de révolution parallèle à la JDE. Elles sont particulièrement abondantes au niveau des lèvres, des paumes et des pieds [2].

1.1.4 La jonction dermo-épidermique

1.1.4.1 Description de la jonction dermo-épidermique

La jonction dermo-épidermique (JDE) est une structure très fine de 0.5 à $1\mu\text{m}$ qui sépare le derme de l'épiderme. Bien que très fine, la complexité de sa structure et surtout son importance dans la structure globale de la peau en font une zone primordiale pour comprendre la peau. Elle forme une ligne ondulée entre les kératinocytes basaux de l'épiderme et le derme dit papillaire. Les zones où l'épiderme rentrent dans le derme s'appellent des crêtes épidermiques alors que les zones où le derme semble s'enfoncer dans l'épiderme sont des papilles dermiques. Dans les zones de peau fine (où la couche cornée est fine), ces ondulations sont réparties de façon aléatoire. En revanche, au niveau des zones glabres de l'épiderme, caractérisées par une absence de système pileux et une cornée épaisse (paumes des mains et plantes des pieds), ces crêtes respectent une succession formant une structure déterminée que nous décrirons dans la suite.

La structure complexe de la JDE est de mieux en mieux comprise notamment grâce aux travaux sur les maladies auto-immunes [22]. On parvient à en distinguer plusieurs zones [2, 23] (Figure 1.7) :

- la membrane cytoplasmique des cellules basales de l'épiderme (kératinocytes, mélanocytes et cellules de Merkel),
- la lamina lucida d'environ 20 à 40nm d'épaisseur qui apparaît claire sous un microscope électronique,
- la lamina densa de 30 à 60nm d'épaisseur selon l'âge qui apparaît dense aux électrons [24].

Les kératinocytes basaux s'accrochent de l'épiderme au derme via la JDE par des complexes d'ancrage. Ces complexes sont constitués d'un hémidesmosome, de filaments et fibrilles d'ancrage et de plaques d'ancrage dermiques (Figure 1.7) [25, 26]. L'hémidesmosome possède deux plaques d'ancrage d'une longueur de 200nm : une à l'intérieur du cytoplasme de 15 à 25nm d'épaisseur dont la partie externe est collée à la membrane cytoplasmique, et une plaque à l'intérieur de la cellule sur laquelle se fixent les tonofilaments des kératinocytes basaux. Environ 10nm après le cytoplasme de la cellule, dans la lamina lucida, on trouve une ligne dense extracellulaire de 7 à 9nm d'épaisseur parallèle à la membrane cytoplasmique. Toute la lamina lucida est traversée perpendiculairement par des filaments d'ancrage de 5 à 7nm de diamètre

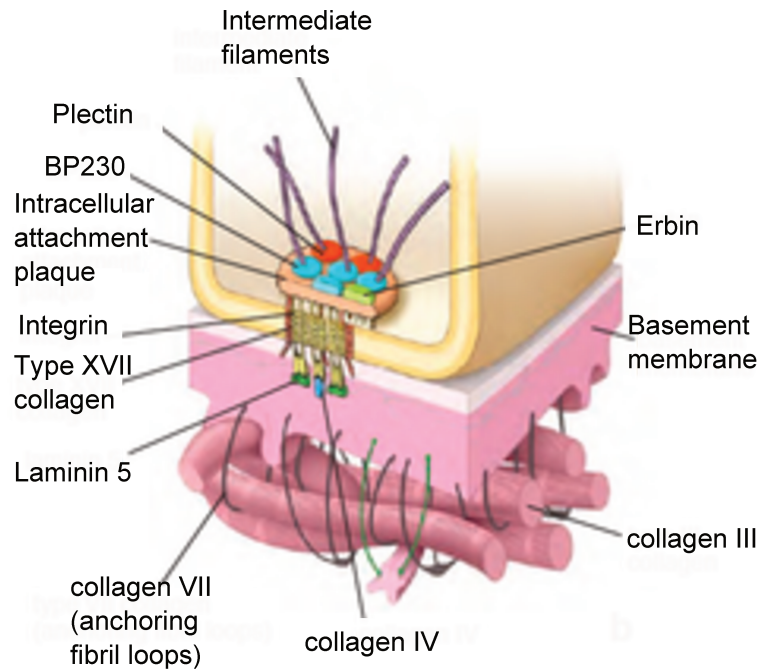


FIGURE 1.7 – Schéma représentant la JDE et les systèmes d'ancrage mises en jeu à travers celles-ci.

allant des hémidesmosomes à la lamina densa. La lamina densa est un réseau dense de protéines structurales d'où naissent les fibrilles d'ancrage. Ces fibrilles d'une longueur moyenne de 340nm pénètrent dans le derme perpendiculairement à la lamina densa. Puis elles finissent soit par former une boucle d'ancrage allant d'une partie à l'autre de la lamina densa entourant une fibre de collagène, soit par s'accrocher à des plaques d'ancrage dermique.

Précisons que les autres cellules de la couche basale de l'épiderme ne présentent pas une même structure d'ancrage via un hémidesmosome. Les mélanocytes ont des systèmes d'adhésion focale qui les lie à la JDE, alors qu'au niveau des cellules de Merkel la lamina densa fusionne avec les terminaisons nerveuses en regard de ces cellules.

1.1.4.2 La jonction dermo-épidermique et l'épiderme en peau épaisse

Nous avons évoqué section 1.1.1 et 1.1.3.2 la possibilité de ranger la peau en deux grandes catégories :

- La peau glabre ou épaisse se situe au niveau de la paume des mains ou de la plante des pieds. Elle se caractérise par une absence de poils, une abondance de glandes sudoripares, une absence de follicules pilo-sébacés (poils), et surtout une épaisseur d'épiderme et particulièrement de la couche cornée considérable. Elle présente des crêtes et des sillons à sa surface formant des dermatoglyphes ou empreintes digitales.
- La peau fine se situe sur le reste du corps. Elle possède un épiderme plus fin, des follicules pilo-sébacés et moins de glandes sudoripares, et ne présente pas de géométrie particulière à sa surface.

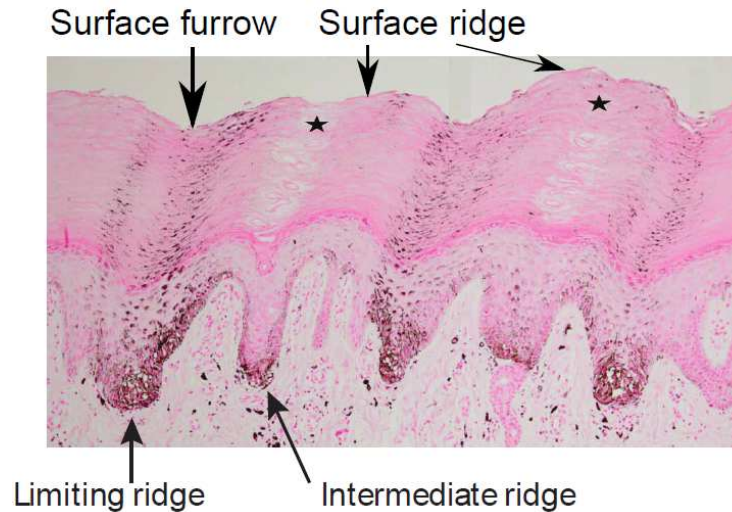


FIGURE 1.8 – Coupe Histopathologique d'un épiderme en peau épaisse au niveau d'un naevus acral. On peut observer l'existence de deux types de crêtes épidermiques : limitante et intermédiaire. Les crêtes épidermiques limitantes (limiting ridges) se situent sous les sillons superficiels (surface furrows), alors que les crêtes intermédiaires (intermediate ridges) se situent sous les crêtes superficielles (surface ridges). On peut noter la présence de colonnes de mélanine se formant sous les sillons superficiels caractéristique d'un naevus acral.

Au cours de l'embryogenèse, la JDE se déforme progressivement, faisant apparaître les premières crêtes épidermiques ("primary ridges" qui deviendront les crêtes épidermiques limitantes) de la onzième à la quinzième semaine de grossesse puis une seconde apparition de crêtes épidermiques ("secondary ridges" qui formeront les crêtes épidermiques intermédiaires) créant des crêtes à la surface de l'épiderme de la quinzième semaine jusqu'à la fin du second trimestre de la grossesse [27]. On peut noter que la formation des motifs créés par les crêtes et les sillons de l'épiderme, i.e. les dermatoglyphes ou empreintes digitales, a été expliquée par différents modèles de croissance élastique [28, 29].

Chez l'adulte, au niveau des zones de peau glabre, la JDE est ondulée formant une succession de crêtes épidermiques (zones où l'épiderme semble pénétrer dans le derme) et de papilles dermiques (zones où le derme semble rentrer dans l'épiderme). Ces ondulations se retrouvent au niveau de la couche cornée, formant une suite de crêtes et de sillons à la surface de l'épiderme avec une longueur d'onde spatiale dédoublée par rapport à la JDE. Sous les sillons de la surface de l'épiderme, on trouve les crêtes épidermiques limitantes alors que sous les crêtes surfaciques on trouve les crêtes épidermiques intermédiaires (Figure 1.8).

1.1.5 Microenvironnement et interactions cellulaires

1.1.5.1 Importance du microenvironnement

En 1889, le chirurgien Stephen Paget [30] fut le premier à proposer qu'il existe une interaction entre l'environnement d'une tumeur et sa progression. Il fait l'analogie

avec l'interaction existant entre le sol et une graine. La tumeur est une graine dont l'évolution dépendra des caractéristiques du sol, l'environnement de la tumeur.

Cette hypothèse a été délaissée à cause des progrès réalisés dans le domaine génétique. Aujourd'hui, ce concept revient au premier plan, et de nombreuses recherches soulignent l'importance du microenvironnement sur le développement cellulaire, notamment en oncologie [31, 32, 33]. L'importance de l'environnement mécanique sur les processus de croissance est aujourd'hui mieux connue et reconnue [34]. Les découvertes en épigénétique abondent en ce sens [35, 36], et particulièrement dans le cas du cancer [37, 38].

Cette importance a aussi été soulignée dans le cas des cellules épidermiques. Le comportement phénotypique des mélanocytes est étroitement lié à leur environnement extérieur. Cultivés seuls, ils se comportent en cellules mélanomales sans présenter de dendrites, alors qu'elles se comportent normalement en coculture avec les kératinocytes [39]. En coculture, le ratio kératinocytes/mélanocytes reste constant, prouvant l'importance du maintien d'un équilibre homéostatique de l'épiderme [40, 41]. Pulifiato *et al.* ont montré l'importance de l'environnement mécanique sur la prolifération et la migration des cellules de l'épiderme [42]. En section 1.1.3.3, nous avons aussi évoqué l'effet des signaux provenant des kératinocytes sur la production de mélanine (bronzage).

1.1.5.2 Interactions cellulaires

Les cellules de l'épiderme interagissent par l'intermédiaire de plusieurs types de liaisons qui dépendent de la nature des deux cellules concernées (Figure 1.9). Les contacts entre kératinocytes font intervenir quatre types de jonctions.

- Les desmosomes, peu nombreux au niveau de la couche basale, deviennent de plus en plus nombreux dans la couche spinieuse au niveau des interdigitations, donnant la forme d'épines aux kératinocytes de cette couche. Ils restent nombreux au niveau de la couche granuleuse, et se transforment en cornéodesmosome au niveau de la couche cornée. Ce sont les structures reliant les réseaux de tonofilaments de kératine des deux cellules. Les desmosomes sont constitués de deux plaques symétriques reliées par des molécules de cadhérine (Figure 1.10) [43].
- Les jonctions d'adhérence, *macula adhaerens*, se présentent comme une rigidité et un épaississement des membranes cytoplasmiques [44]. Elles sont constituées de cadhérine et lient les réseaux d'actine des deux kératinocytes.
- Les jonctions serrées, *zona occludens*, sont constituées de molécules d'occludines qui "cousent" les deux membranes cytoplasmiques produisant une barrière imperméable [45].
- Les jonctions Gap sont des canaux permettant le passage d'ions et de petites molécules entre les deux cytoplasmes cellulaires [46].

Dans un contexte de peau saine, les mélanocytes ne se rassemblent pas. Leur rôle étant de fournir la mélanine aux kératinocytes, ils ne forment des liaisons qu'avec des kératinocytes. Il en existe trois types (Figure 1.9) :

- les jonctions Gap de même nature et de même fonction que celles entre kératinocytes,

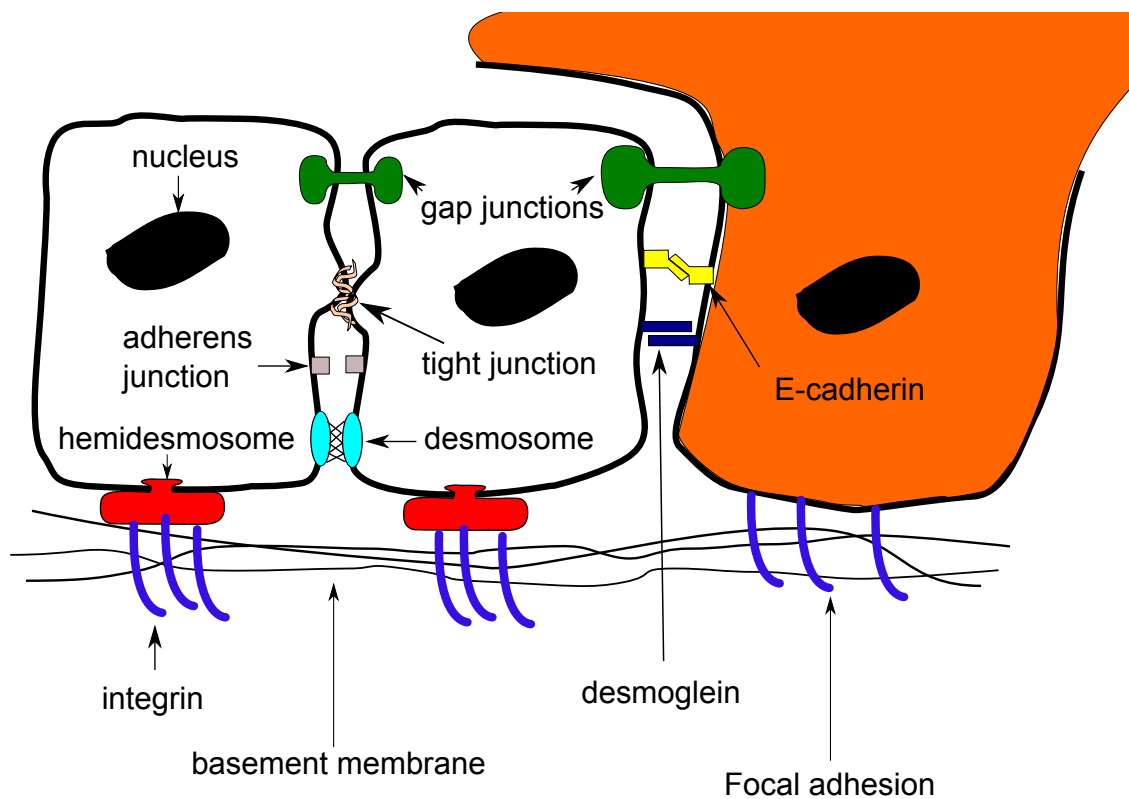


FIGURE 1.9 – Représentation schématique des différentes liaisons intercellulaires mises en jeu dans l'épiderme, ainsi que les contacts des cellules avec la JDE.

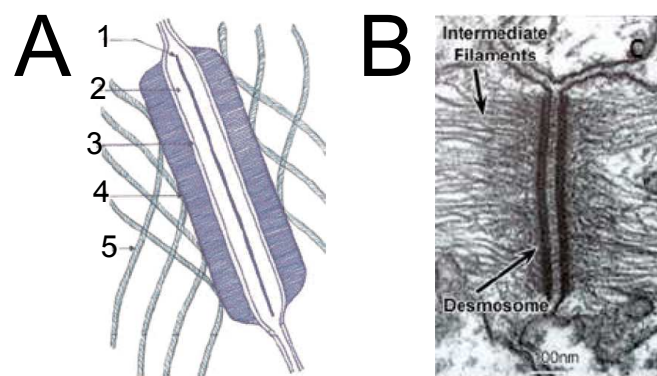


FIGURE 1.10 – A) Schéma desmosome extrait de [2]. Nous voyons en 1) ligne dense extracellulaire, 2) desmogleine, 3) membrane cytoplasmique, 4) plaques, et 5) tonofilaments. B) Photographie d'un desmosome entre deux cellules épithéliales prise en microscopie électronique, tirée de [47].

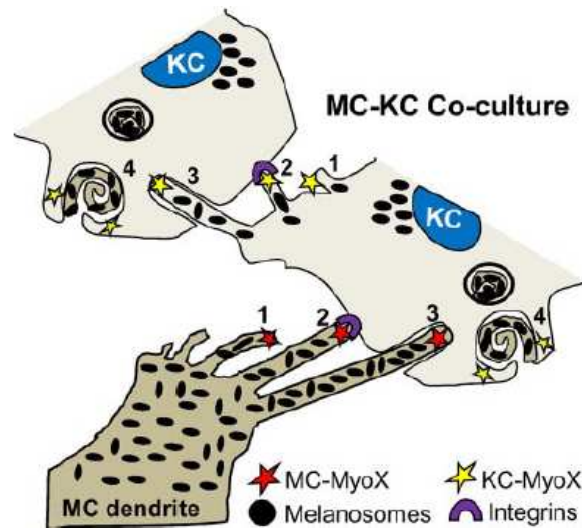


FIGURE 1.11 – Schéma représentant les différentes étapes du transfert des mélanosomes des mélanocytes vers les kératinocytes. Figure tirée de [17].

- les intégrines qui jouent un rôle de communication intercellulaire et d'adhésion des filopodes à la membrane du kératinocyte suprabasale lors du transfert de mélanine (Figure 1.11),
- les molécules d'E-cadhérine et de desmoglénines liant les mélanocytes aux kératinocytes basaux et à leur réseau d'actine.

Ces molécules d'adhésion vont permettre de propager les signaux mécaniques entre cellules [48, 49], et ainsi de contrôler leur comportement [39]. Elles sont donc des molécules centrales dans le microenvironnement cellulaire.

1.2 Les lésions cutanées

Il existe un grand nombre de lésions cutanées pouvant venir de différentes pathologies. Nous allons ici nous intéresser particulièrement aux lésions tumorales de l'épiderme, qui sont en grande majorité induites par le rayonnement UV mais aussi par des attaques virales (papillomavirus).

1.2.1 Bronzage et pigmentation : genèse des lésions cutanées

La coloration de la peau est la résultante de plusieurs molécules colorées : les mélanines, l'hémoglobine et le carotène. L'hémoglobine, que l'on retrouve dans le réseau vasculaire, donne une coloration rouge sous sa forme oxydée dans les capillaires dermiques et une coloration bleu dans les veinules [1]. La coloration rouge s'intensifie avec le débit sanguin cutané qui augmente sous l'effet d'un effort ou d'une température élevée.

La couleur de la peau varie beaucoup selon le phototype d'un individu et du type de mélanine qu'il produit. Le processus d'évolution a conduit à créer des populations

Type d'exposition	lumière visible et UVA	UVB
Type de bronzage	Bronzage immédiat, pendant l'exposition, disparaît rapidement	Bronzage retardé, 48 à 72H après l'exposition, disparaît en plusieurs semaines
Mélanine	Photo-oxydation de la mélanine présente	Nouvelle synthèse de mélanine
Mélanosomes	Nombre constant	Augmentation de leur nombre et de leur transfert
Mélanocytes	Nombre constant	Multiplification

TABLE 1.2 – Histologie des bronzages suivant le type de rayonnement résumant les effets sur les différents acteurs de la pigmentation.

humaines produisant les mélanines les plus adaptées au rayonnement UV de leur zone d'habitat [50]. Ainsi, les phototypes décrits section 1.1.3.3 sont associés à différentes zones géographiques. Mais l'être humain est capable de s'adapter au rayonnement UV à plus court terme que le processus d'évolution. En effet, le rayonnement UV induit chez chaque individu une réponse complexe, via une cascade d'hormones intercellulaires [2, 3, 51], que nous avons brièvement décrite section 1.1.3.3, et dont les conséquences suivant le type d'exposition ont été résumées dans la Table 1.2.

Le bronzage, tant recherché par les vacanciers sur les bords de plage, n'est cependant pas la seule conséquence du rayonnement UV sur le corps. En effet, les rayonnements ultraviolets sont absorbés par des chromophores qui s'activent et peuvent engendrer des altérations cellulaires. Il existe trois types de rayonnement UV, classés par énergie décroissante :

- UVC, de longueur d'onde $< 290\text{nm}$, complétement absorbé par l'ozone stratosphérique,
- UVB, de longueur d'onde allant de 290 à 320nm, comptant pour 2% des UV terrestres,
- UVA, de longueur d'onde allant de 320 à 400nm, comptant eux pour 98%.

Leur caractère énergétique est directement relié à leur dangerosité. Les UVC sont fortement absorbés par l'ADN et hautement cancérogènes. Bien qu'ils ne représentent qu'une faible partie des UV à la surface de la terre, les UVB sont les plus dangereux car ils agissent directement sur l'ADN, pouvant entraîner des mutations si les dommages ne sont pas réparés. Les UVA agissent indirectement. Ils pénètrent dans l'épiderme et dans le derme où ils engendrent des réactions photo-oxydatives dont les produits (le plus souvent des radicaux libres) peuvent endommager l'ADN. On estime qu'environ 25 000 à 100 000 bases sur les $3 \cdot 10^9$ sont endommagées chaque jour, et qu'une heure d'exposition au soleil peut entraîner la formation de 80 000 dimères de thymine (molécule formée par absorption d'un photon créant une liaison covalente au détriment des liaisons H qui assurent la forme et la stabilité de l'ADN) [52, 53, 54]. Heureusement, plusieurs mécanismes de "sécurité" existent pour que la cellule répare le brin d'ADN endommagé. Par exemple, le *nucleotide excision repair*, ou NER excise et répare les morceaux d'ADN les plus endommagés. Si les dommages sont trop importants, la cellule met en place des mécanismes aboutissant à son apoptose. Les mutations concernant ces mécanismes d'autodestruction de la

cellule sont particulièrement problématiques (section 1.2.3). Les UV ont aussi des effets immunosuppresseurs, ce qui peut aider à soigner des psoriasis, eczémas ou des problèmes d'acné [2]. Mais la diminution des cellules de Langherans peut aider l'expansion des cellules mutantes [55]. Rappelons aussi que, sous l'effet des rayons UV, les phéomélanines s'oxydent en produits carcinogènes, augmentant encore le risque de mutations chez les sujets de phototype I.

Les UV ne sont cependant pas les seuls éléments mutagènes qui peuvent provoquer des lésions cutanées cancéreuses. Les infections de papillomavirus sont connues pour perturber les mécanismes d'apoptose qui empêchent les formations de tumeurs [56]. En effet, dans 31% des cas, les carcinomes spinocellulaires contiennent de l'ADN de papillomavirus [57].

1.2.2 Les différents types de lésions

La très grande majorité des lésions tumorales de la peau ne concerne que deux types cellulaires ; les kératinocytes dont la mutation conduit à des carcinomes épidermoïdes, et les mélanocytes qui provoquent les mélanomes.

1.2.2.1 Les carcinomes

Les carcinomes cutanées sont des cancers assez fréquents. Ils constituent la plus occurrence des cancers chez l'homme et 90% des cancers de la peau [58]. Ils apparaissent principalement chez les personnes âgées. Il existe deux types de carcinomes de l'épiderme : les carcinomes basocellulaires (BCC) et les carcinomes spinocellulaires (SCC), aussi appelés carcinomes épidermoïdes cutanés.

Les BCC représentent la majorité des carcinomes de la peau, environ 80% [59]. Il y a environ 100 incidences par an pour 100 000 habitants dans le monde¹. Ce nombre peut varier suivant les régions du globe : il est par exemple huit fois plus important en Australie [60]. Les BCC concernent plutôt les populations âgées avec un âge moyen de diagnostic de 62 ans. Les BCC proviennent d'une prolifération anormale des kératinocytes basaux qui ont tendance à se regrouper en amas. Les interactions intercellulaires diminuent ce qui provoque une augmentation de l'espace intercellulaire et une friabilité des tissus accrue [61]. Ils apparaissent sur toutes les régions du corps, et se caractérisent à l'examen clinique par l'apparition d'une perle translucide qui permet de les diagnostiquer spécifiquement. Bien qu'invasives et créant des dommages (d'autres esthétiques notamment), ces lésions n'engagent que très rarement le pronostic vital car elles n'engagent que peu de risques de métastase [59]. Suivant une étude menée dans le canton de Vaud, sur 7 830 cas de BCC, seuls 31 cas ont été reliés aux carcinomes.

Les SCC comptent pour 20% des carcinomes épidermiques. Les SCC apparaissent préférentiellement sur les zones photo-exposées (visage, cou, mains, etc.). L'âge moyen au diagnostic est de 76 ans et concerne plutôt les populations ayant exercé une profession d'extérieur (marin, agriculteurs, etc.). L'occurrence moyenne est d'environ 30 cas par an pour 100 000 habitants. Bien que plus rares, ces lésions sont plus

1. http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_272312/fr/prise-en-charge-diagnostique-et-therapeutique-du-carcinome-basocellulaire-de-l-adulte

dangereuses ; on compte un risque de métastase de 2,3% à deux ans passant à 5,2% pour des périodes supérieures à cinq ans². Les cellules cancéreuses proviennent de kératinocytes de la couche spinieuse ; elles croissent plus facilement que dans le cas du BCC [57], meurent moins facilement [62] et traversent plus facilement la JDE [63].

1.2.2.2 Les lésions mélanocytaires

Il existe deux types de lésions mélanocytaires : les naevus (lésions bénignes) et les mélanomes (lésions malignes). Toutes deux proviennent d'un comportement anormal de cellules mélanocytiques (MC).

Les naevi, plus connus sous le nom de grains de beauté, proviennent d'une accumulation des MC dans la couche basale de l'épiderme. Ces cellules se comportent différemment des mélanocytes ; elles ne présentent pas de dendrites [64] et se regroupent en amas appelés thèques. Ces lésions peuvent se former *in utero* [65] durant l'embryogenèse, on parle alors de naevi congénitaux, ou elles peuvent apparaître durant les 20 premières années, elles sont décrites comme naevi acquis. Ces lésions peuvent afficher différentes couleurs suivant la profondeur à laquelle se trouvent les pigments, brun-noir en surface et bleu en profondeur (plus rare). Il existe différentes classes de naevi suivant la localisation de l'amas, l'aspect, la provenance etc. Nous nous contenterons de citer ici les naevi dysplasiques dont la morphologie les rend difficile à distinguer des mélanomes.

Les mélanomes sont des lésions malignes apparaissant généralement dans l'épiderme sans lésion antérieure, *de novo*, dans 70 à 80% des cas. L'âge médian de leur diagnostic est de 57 ans. Ils proviennent d'un ensemble de mutations de mélanocytes que nous décrirons plus précisément section 1.2.3. On distingue deux phases de croissance du mélanome.

- Une phase de croissance horizontale, durant laquelle le mélanome envahit l'épiderme, c'est la "radial growth phase" phase (RGP). Le mélanome est constrict à l'épiderme, il est dit *in situ*.
- Une phase de croissance verticale où il traverse la JDE, envahit le derme, se vascularise et métastase. C'est la "vertical growth phase" (VGP). Elle est critique puisqu'on la considère comme la phase à partir de laquelle la possibilité de métastase apparaît [66].

Il existe aussi une abondante zoologie des mélanomes, dont nous décrirons les quatre principales formes anatomo-cliniques rangées par ordre décroissant selon leur dangerosité [65, 67].

- Le mélanome nodulaire présente une très faible croissance latérale (pas plus de trois crêtes épidermiques) [68, 69]. Il forme la plupart du temps un nodule noir, parfois achromique, ferme et arrondi. Il croît rapidement en quelques semaines à quelques mois, et n'est en général détecté que lorsqu'il est palpable et que sa pénétration du derme est conséquente.
- Le mélanome acral-lentigineux se forme dans des zones non exposées au soleil, les paumes, les plantes et les ongles (on parle alors de mélanome acral-

2. <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Recommandations-et-outils-d-aide-a-la-pratique/Cancers-de-la-peau>

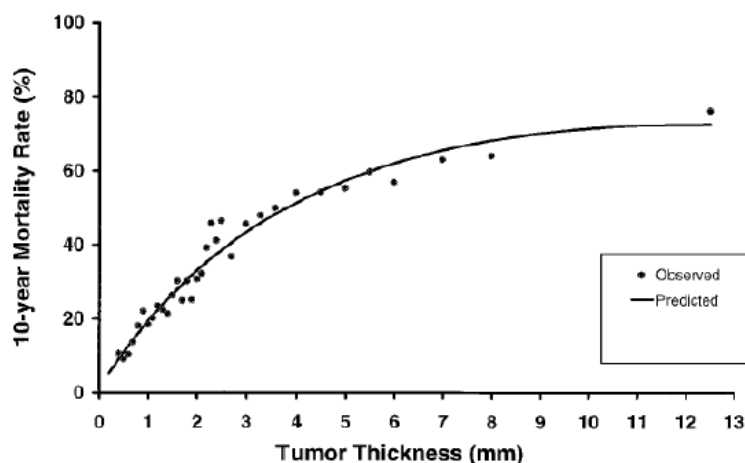


FIGURE 1.12 – Taux de mortalité à 10 ans en fonction de l'épaisseur du mélanome [72].

lentiginieux unguéal). Ce type de lésion est particulièrement importante chez les populations de phototype supérieur à IV. Il représente 50% des mélanomes dans la population japonaise. Il présente généralement une morphologie particulière reliée à la géométrie de la JDE de ces régions [70] que nous étudierons en détails au chapitre 4.

- Le mélanome à extension superficielle (SSM) croît en surface pendant plusieurs mois à plusieurs années avant de pénétrer la JDE. C'est la forme la plus fréquente de mélanomes chez les personnes de phototype inférieur à III, environ 60% des cas [71]. Lorsqu'il est *in situ*, il a l'aspect d'une tache noire aux contours irréguliers de couleurs inhomogènes sans relief au toucher. Lors de sa phase de croissance verticale, il devient palpable.
- Le mélanome de Dubreuilh ou *lentigo maligna* se trouve généralement dans des zones exposées au soleil, le visage et particulièrement les joues. Il touche particulièrement les personnes âgées avec un âge moyen de diagnostique de 65 ans. Sa phase de croissance horizontale est très longue et peut même prendre plusieurs années. Schiffner *et al.* en ont proposé un modèle morphologique basé sur le caractère très aplati de la JDE dans ces régions et une prolifération entre les follicules pileux.

1.2.2.3 Détection et diagnostique

Bien qu'il soit le cancer de la peau le plus rare avec moins de 5% des cas, il représente à lui seul plus de 75% des décès dû à ce type de cancer. Même si son taux de létalité (ratio mortalité/incidence) est bas par rapport au cancer du sein, du poumon ou du côlon, son taux d'incidence en France a été multiplié par 3, 2 entre 1980 et 2000 [68], et il devient un problème de santé majeure. Ce taux d'incidence est d'ailleurs beaucoup plus élevé dans les zones où il y a une forte concentration de population caucasienne et une forte exposition solaire : Australie, Hawaii, Californie, Floride, etc [73].

En 1970, le pathologiste Alexander Breslow fait le lien entre le taux de mortalité et l'épaisseur de la lésion (Figure 1.12) [74]. Depuis, l'American Joint Committee on Cancer utilise l'indice portant son nom ainsi que le nombre et la localisation des métastases pour définir le stade d'avancement du mélanome. A chaque stade correspond une prise en charge adaptée et un taux de survie qui décroît. On note qu'aucune prise en charge une fois atteint les stades métastatiques n'a d'incidence sur la mortalité. Les mélanomes *in situ* et d'indice de Breslow faible (inférieur à 1mm), où l'exérèse (ablation de la lésion et ses alentours) a rapidement été mise en place, donnent en revanche des pronostiques vitaux excellents. Un diagnostic précoce et une exérèse adaptée constitue les meilleures armes contre le mélanome.

Ce diagnostic nécessite des critères précis qui soient à la fois spécifiques (caractéristique du mélanome par rapport à une autre lésion cutanée) et sensible (détection du caractère tumoral de la lésion). Les critères, devenus les plus consensuels chez les dermatologues, sont sans doute ceux des règles ABCDE (Figure 1.13) élaborés par Friedman *et al.* en 1985 [76]. Ces critères, particulièrement simples à retenir de par leur caractère mnémotechnique, sont aussi très utiles pour l'auto-examen du patient. Ils s'énoncent comme suit :

- A pour Asymétrie : les lésions malignes ont tendance à présenter des asymétries de contour, de couleur, etc. ;
- B pour Bord : un mélanome adopte un bord irrégulier, encoché, et bien marqué, alors que le bord du naevus est plutôt diffus ;
- C pour Couleur : 85% des mélanomes possèdent au moins 3 couleurs alors que c'est le cas pour seulement 39% des naevi [75]. La couleur brun-noir provient de la mélanine située à une profondeur aux alentours de la JDE alors que le bleu-gris est attribué à la mélanine dans le derme. De plus, une inflammation ou une vascularisation de la lésion aboutissent à une coloration rouge. Enfin, une coloration blanche est caractéristique d'une réponse immunitaire et de régression de la lésion [77] ;
- D pour Diamètre : une lésion d'un diamètre supérieure à 6mm indique sa malignité ;
- E pour Évolution : toute évolution de la forme, taille, ou couleur caractérise fortement un mélanome. Ce critère ne faisait pas partie des travaux de Friedman *et al.*, mais il permet de détecter des mélanomes plus précoces [78].

Ces critères affichent une spécificité de 70 pour une sensibilité de 82,6 [80], ce qui en font des critères corrects. Des outils, comme le dermoscope (Figure 1.14), permettent aussi d'améliorer les performances du diagnostic [81]. Il existe aussi d'autres algorithmes de détection ; citons la méthode à 7 points [82] qui donne une place prépondérante à l'évolution ou la méthode cognitive visuelle qui distingue si une lésion est différente des autres (méthode du vilain petit canard). Tout cet arsenal permet de différencier efficacement une lésion pigmentée d'origine mélanocytaire ou non. Mais aucune n'apporte une certitude suffisante pour échapper à une exérèse de contrôle qui peut avoir de fortes conséquences esthétiques.

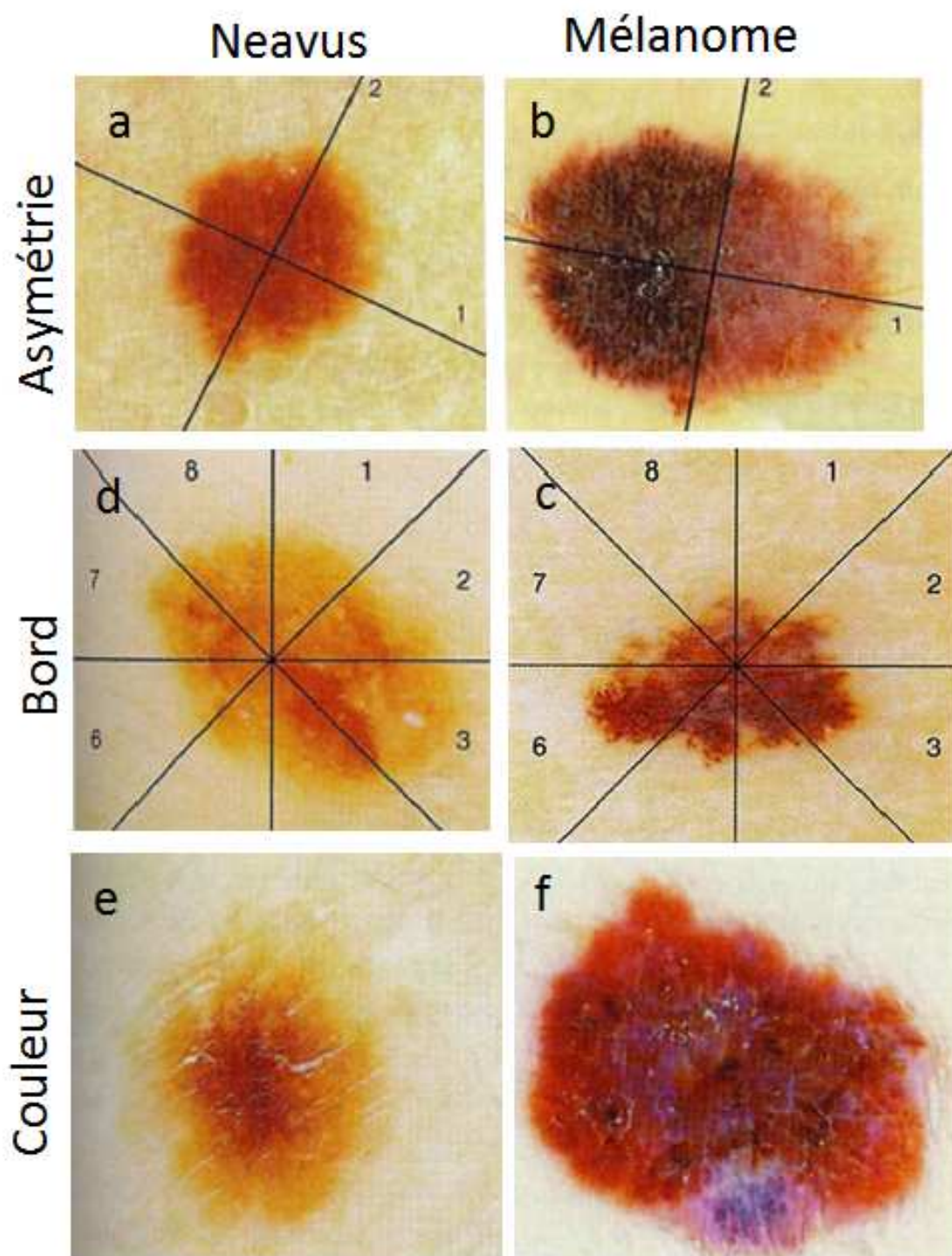


FIGURE 1.13 – Photographies illustrant les différences morphologiques entre naevus et mélanome suivant les règles ABCDE. Les lésions mélanocytaires bénignes (a,c,e) peuvent être distinguées des mélanomes (b,d,f) par leur asymétrie, la forme de leur contour et leur coloration. En plus de ces critères, une taille supérieure à 6 mm et une évolution de la lésion peuvent indiquer un mélanome. Photographies issues de [75]

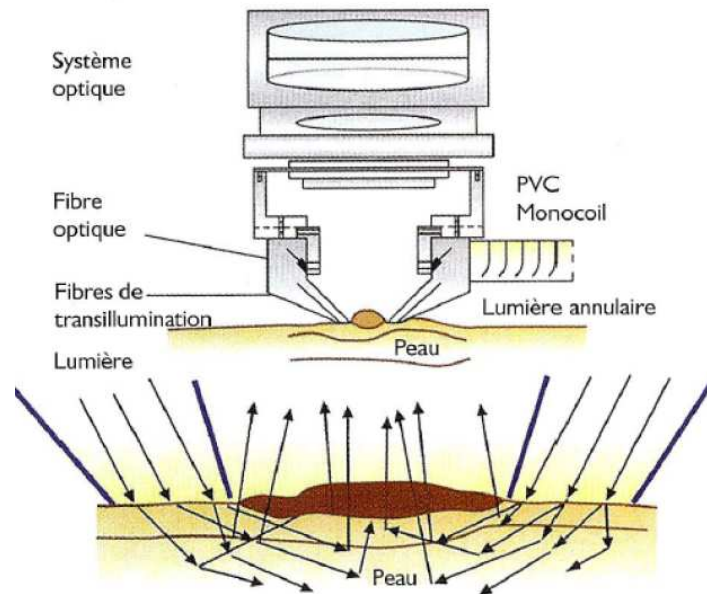


FIGURE 1.14 – Schéma de principe d'un dermoscope tiré de [79]. La peau est éclairée par une lumière intense dont les rayons seront grossis. Généralement un film liquide est utilisé entre la lésion et le dispositif afin de mieux étirer le stratum corneum et de s'affranchir des sillons et crêtes qu'il présente à sa surface.

1.2.3 La génétique

La génétique de la mélanogenèse reste un domaine de recherche très actif. Nous allons décrire les influences connues des mutations génétiques impliquées dans les mélanomes sur les expressions phénotypiques de ces cellules cancéreuses. Nous effectuerons une présentation globale et succincte des modifications génétiques dans l'oncogenèse du mélanome. Nous nous intéresserons ensuite aux conséquences mécaniques sur la cellule de façon plus détaillée, avant de présenter les notions connues sur la sénescence des cellules tumorales du mélanome.

1.2.3.1 Les premiers événements génétiques du mélanome

Il existe un grand nombre de changements moléculaires connus provoquant l'apparition de tumeurs. Plus de 200 gènes ont été répertoriés comme intervenant dans l'oncogenèse [84]. Les plus connus et les plus généraux dans le cas du mélanome sont sans doute la mutation de *BRAF* [85], le "cadherin switch" [86] et l'activation de télomerase [87, 88]. Cette liste est loin d'être exhaustive, citons qu'il existe aussi des mutations plus spécifiques aux mélanomes comme celles de *MITF* [83]. De plus, ces changements sont intriqués de façon complexe comme le montre la Figure 1.15. Retenons qu'au niveau de la cellule, ils vont se traduire par des effets sur :

- la prolifération de la cellule et son apoptose (sa mort),
- la sénescence cellulaire (vieillesse de la cellule),
- ses propriétés mécaniques, notamment ses interactions intercellulaires.

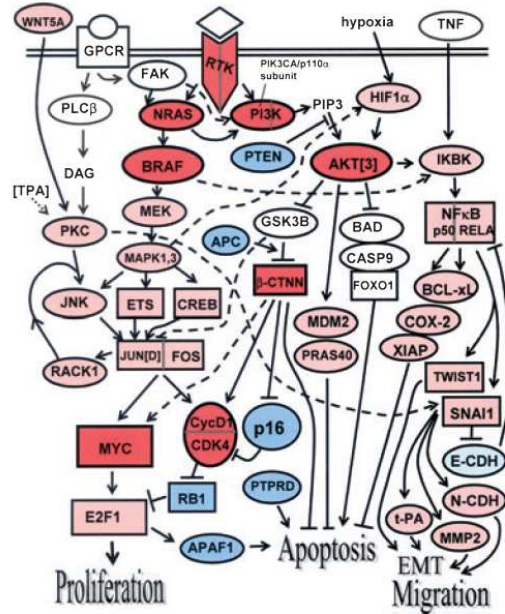


FIGURE 1.15 – Schéma représentant une partie des différents gènes touchés dans l'oncogenèse du mélanome. Bien que très complexe, ce schéma reste incomplet. Il existe toutefois une convergence sur quatre conséquences majeures pour la cellule : la prolifération, l'apoptose et les transitions d'ordre mécanique (Epithelial-mesenchymal transition et migration). Figure extraite de [83].

1.2.3.2 Modification de l'interaction cellulaire

Les transitions les plus significatives pour la construction d'un modèle physique du cancer sont sans doute celles qui concernent les interactions cellulaires et la mécanique. Dans le cas du mélanome, il s'agit d'une transition épithélio-mésenchymateuse (EMT). Les EMT décrivent le passage du comportement d'une cellule épithéliale au comportement d'un fibroblaste. Plusieurs EMT ont lieu lors de l'embryogenèse : la gastrulation ou l'agrégation des cellules de la crête neural. Cette transition n'est pas forcément définitive, nous avons vu que des mélanocytes pouvaient retrouver leur caractère épithélial une fois remis en coculture avec des kératinocytes [40, 41].

Dans le cas du mélanome, les interactions entre kératinocytes et mélanocytes diminuent au profit de celles existant entre cellules mélanomales. L'expression des E-cadhérines et autres molécules assurant liaison et communication entre mélanocytes et kératinocytes est réprimée au profit de celle des N-cadhérines et de Mel-CAM qui lient les cellules mélanomales entre elles ; on parle du "cadherin switch" [39, 89]. Cette différence d'adhésion peut se traduire d'un point de vue physique par une modification de l'énergie d'interaction. D'autres modifications des protéines d'adhésion vont se produire lors de la VGP, permettant la liaison avec les fibroblastes puis les cellules endothéliales des réseaux de vascularisation (Figure 1.16).

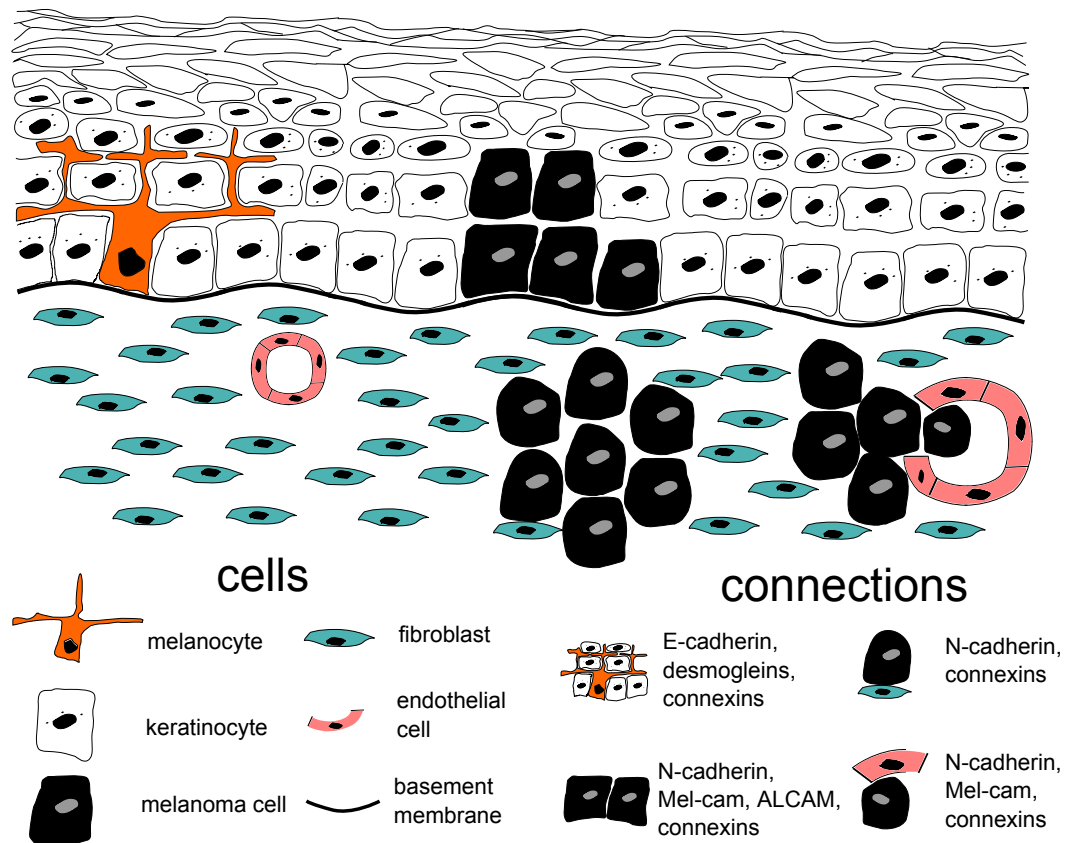


FIGURE 1.16 – Variations des interactions cellulaires lors de l'apparition d'un mélanome. Lors de la RGP, il y a un passage de l'expression de molécules d'E-cadhérine à la surface des mélanocytes les liant aux kératinocytes à l'expression de N-cadhérine pour les cellules mélanomales les liant entre elles. Puis, au moment de la VGP, ces connexions se font aussi avec les fibroblastes et les cellules endothéliales des réseaux vasculaires. Schéma inspiré de [39].

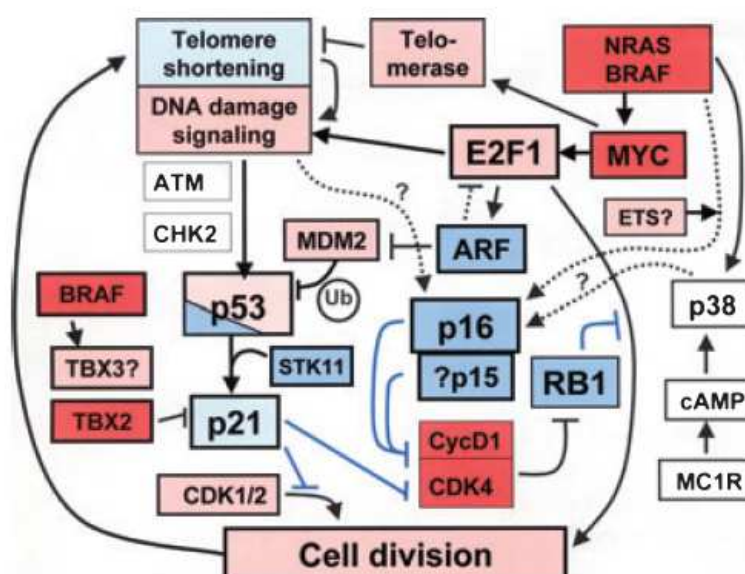


FIGURE 1.17 – Représentation schématique des différents chemins génétiques de la division cellulaires. Les chemins aboutissant à la sénescence ont été représenté en bleu. Figure issue de [83].

1.2.3.3 La sénescence

Le mécanisme de sécurité le plus efficace pour empêcher l'invasion des cellules tumorales est sans doute la sénescence. Lors de la division cellulaire, il se forme progressivement un mécanisme de vieillissement des cellules appelé sénescence. C'est un processus irréversible conduisant à l'arrêt de la prolifération des cellules. Il est lié à un rétrécissement des télomères provoquant l'arrêt de l'activité cellulaire. Ainsi, un mécanisme conduisant à la prolifération des cellules ne conduit pas automatiquement à la production d'une lésion maligne si les mécanismes de sénescence n'ont pas été altérés. Ce mécanisme joue donc le rôle d'une barrière majeure contre le cancer [83, 87, 90, 91]. Bien qu'intensivement étudiés, les mécanismes de la sénescence ne sont pas encore complètement compris, mais plusieurs chemins sont néanmoins bien identifiés (voir Figure 1.17).

Chapitre 2

La modélisation mathématique du cancer

Dans ce chapitre, nous allons décrire différents modèles développés pour décrire l'oncogenèse avasculaire. Nous allons notamment présenter plusieurs types de méthodes continues et les résultats auxquels elles aboutissent. Puis, nous décrirons comment nous avons développé notre modèle pour le cancer de la peau et donnerons les paramètres biophysiques dont il dépend.

2.1 Aperçu global : les différents types de modèles continus

Les modèles continus font l'hypothèse que l'on peut décrire le comportement cellulaire par des équations continues. Ils ne pourront pas décrire les phénomènes se produisant à l'échelle cellulaire, mais permettent d'obtenir de puissants outils analytiques pour décrire un ensemble de cellules constituant un tissu cellulaire. À ce titre, il existe des modèles discrets qui sont plus à même de décrire les spécificités de chaque cellule. Ces modèles ont successivement été revus par Drasdo [92], Roose *et al.* [93] et Lowengrub *et al.* [94]. Citons aussi les travaux de Zapperi *et al.* qui décrivent spécifiquement le comportement des mélanomes par des modèles discrets [95, 96, 97, 98, 99]. Mais au cours de ce travail, nous n'avons utilisé que des modèles continus dont nous faisons une rétrospective.

2.1.1 Un peu d'histoire

En 1932, Mayneord fut le premier à utiliser les idées issues des sciences physiques pour expliquer et modéliser des problèmes biologiques [102]. À l'époque, on s'étonnait que les tumeurs croissent linéairement alors que la multiplication cellulaire devrait produire une croissance exponentielle. Il propose alors un modèle simple où la croissance serait limitée à la partie périphérique de la tumeur. Puis, en 1955, un modèle de diffusion proposé par Thomlinson et Gray, basé sur la diffusion-consommation, explique la présence d'un coeur nécrotique dans une tumeur. Ils montrent que pour une tumeur de rayon R inférieur à un rayon critique,

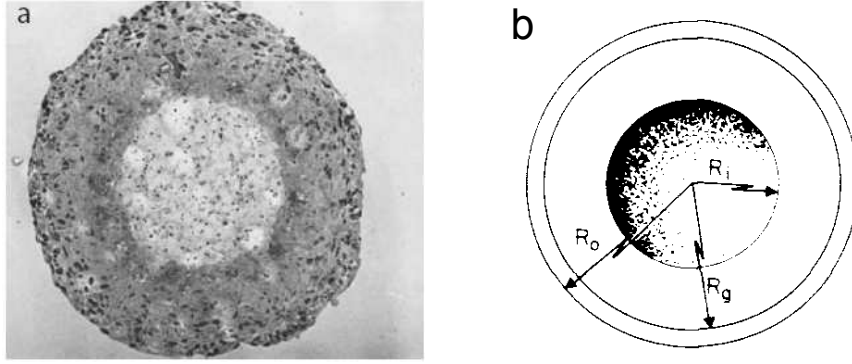


FIGURE 2.1 – A) Sphéroïde de cellules tumorales. On peut y observer la présence d'un coeur nécrotique au centre. Photographie extraite de [100]. B) Schéma représentant les différentes zones de la sphéroïdes défini par Greenspan. Figure extraite de [101]. R_i est le rayon du coeur nécrotique, R_g celui correspondant au cellules dormantes et R_o celui de la sphéroïde.

$R \leq R_{crit} = \sqrt{\frac{4DC_0}{M}}$ (où M est le taux de consommation de nutriments, D est le coefficient de diffusion, et C_0 la concentration en nutriments à l'extérieur de la tumeur), la concentration en nutriments au niveau du rayon r , $C(r)$, est donnée par :

$$C(r) = C_0 - \frac{M}{4D}(R^2 - r^2).$$

Au-delà, $R \geq R_{crit}$, la concentration devient nulle au centre de la tumeur ce qui ouvre la voie vers l'apparition d'un centre nécrotique pour la tumeur. Ce modèle a été repris par Burton [103] puis Greenspan [101]. Ils l'ont affiné en ajoutant la croissance des cellules à la diffusion de substances chimiques, nutriments dont la densité est notée n ou facteurs d'inhibition de concentration notée m , croissance qui dépendra de la concentration de ces espèces. Greenspan postule l'existence d'une couche de cellules dormantes de rayon R_g et d'une couche de rayon nécrotique de rayon R_i (Figure 2.1 b). Le volume de la tumeur augmente avec le volume se situant hors de la couche quiescente et diminue avec la couche nécrotique. Si la symétrie sphérique est conservée, la variation du rayon de la tumeur s'écrit :

$$3R^2 \frac{dR}{dt} = \Gamma(R^3 - R_g^3) - \delta R_i^2, \quad (2.1)$$

où Γ est une constante donnant le taux de prolifération et δ le taux de mort cellulaire dans le coeur nécrotique. Greenspan écrit ensuite l'évolution de n et m :

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} r^2 \frac{\partial}{\partial r} n = \frac{\delta_n}{D_n} H(r - R_i) H(R - r), \quad (2.2)$$

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} r^2 \frac{\partial}{\partial r} m = \frac{\gamma_i}{D_i} H(R_i - r), \quad (2.3)$$

où δ_n est le terme de consommation des nutriments, D_n le coefficient de diffusion, γ_i le taux de production des inhibiteurs, D_i le coefficient de diffusion des inhibiteurs, et H la fonction de Heaviside. On retrouve les équation régissant la diffusion avec une consommation dépendant de la zone considérée. Lorsque le terme de droite de l'équation (2.1) s'annule, on détermine la valeur du rayon de l'état stationnaire, où les cellules mourrant dans le coeur nécrotique sont exactement remplacées par celles naissant dans le volume non quiescent. Ce modèle a bénéficié d'un retentissement important grâce à sa vérification expérimentale apportée en 1973 par Folkman *et al.* (Figure 2.1), prouvant la migration des cellules vers le centre nécrotique.

2.1.2 Les modèles hydrodynamiques

Très rapidement, il n'échappe pas aux physiciens que ces processus de croissance peuvent être générateur d'instabilités qui font perdre la symétrie sphérique. De nombreux modèles hydrodynamiques sont alors développés pour décrire l'évolution de la tumeur en croissance avasculaire [104, 105, 106, 107], dont Lowengrub *et al.* ont fait la revue [94]. On définit une tumeur de volume V , de surface S et de vecteur normal à la surface $\mathbf{n}$. Le système à résoudre dépendra de la vitesse $\mathbf{v}$ du liquide cellulaire et de la pression hydrostatique p .

La première étape est de lier la vitesse de la tumeur à la mécanique locale, que l'on peut écrire comme une loi de Darcy [94] :

$$\mathbf{v} = -K\nabla p \quad (2.4)$$

où K est la mobilité cellulaire. La pression pouvant se calculer en prenant comme conditions aux limites une loi de Laplace à l'interface : $p = \gamma\kappa$ partout sur S , où κ est la courbure moyenne de l'interface S . D'autres modèles mécaniques peuvent être adaptés ; une loi de Darcy-Stokes [108] donnant : $\mathbf{v} - \epsilon\mathbf{v} = -K\nabla p$ (ϵ est une constante liée à la viscosité du fluide cellulaire) ou une loi de Stokes [109].

La deuxième équation décrira l'évolution du volume de la tumeur ainsi :

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = \Gamma, \quad (2.5)$$

où Γ correspond à la variation de volume due à la prolifération et la mort cellulaire. McElwain et Morris [110] proposent d'écrire la croissance proportionnellement à la concentration de nutriments et la mort constante : $\Gamma = an - \delta$, où a et δ sont des constantes.

En écrivant ensuite les équations de diffusion et consommation comme précédemment, on crée un système d'équations capable de décrire précisément le comportement des sphéroïdes tumorales, notamment l'apparition d'un régime conservant la symétrie sphérique lorsque la mort est compensée par la création dans la tumeur : $\int_V \Gamma dV = 0$ [111, 112].

Ce modèle a aussi permis de démontrer l'apparition des instabilités que nous évoquions au début de cette section. Ces instabilités ont ainsi été étudiées d'abord par une analyse de stabilité linéaire [113, 114] puis numériquement [115].

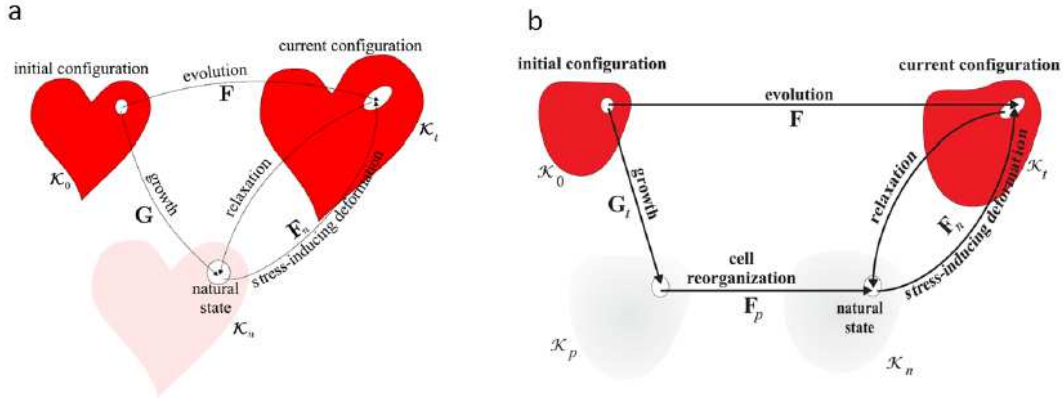


FIGURE 2.2 – A) Représentation schématique des trois différents états de la théorie de croissance élastique de Rodriguez *et al.* [116]. Figure tirée de [117]. B) Les quatre états dans la théorie de Ambrosi et Preziosi [118].

2.1.3 Les modèles élastiques

Les modèles hydrodynamiques ne peuvent malheureusement pas rendre compte de la complexité des interactions mécaniques intercellulaires que nous avons décrite section 1.1.5.2 pour les tissus sains et section 1.2.3.2 pour les tissus malins. Des expériences montrent l'existence d'importantes suppressions au centre des tumeurs [119, 120], qu'un modèle hydrodynamique ne peut expliquer. D'autres comparent la croissance sur différents substrats, et montrent que la taille des sphéroïdes dépend de la rigidité du matériau [121].

Rodriguez *et al.* proposent d'utiliser la théorie de croissance élastique de Kröner-Lee [116]. Cette méthode, formulée pour des problèmes de plasticité et de thermo-élasticité, propose d'exprimer simplement le tenseur des déformations $\mathbf{F}$. Par définition, $\mathbf{F}$ représente les variations de l'état actuel κ_t par rapport à l'état initial de référence κ_0 : $F_{ij} = \frac{\partial x_i}{\partial X_j}$, où $\mathbf{X} \in \kappa_0$ et $\mathbf{x} \in \kappa_t$. L'hypothèse se décompose en trois points (Figure 2.2.a) :

- il existe un état de référence non contraint κ_0 ;
- le tenseur des déformations $\mathbf{F}$ peut se décomposer en une multiplication d'un tenseur de croissance $\mathbf{G}$ vers un état agrandi sans contrainte κ_n avec un tenseur élastique $\mathbf{F}_n$ passant de l'état κ_n à κ_t ;
- la réponse du matériau ne dépend que de la partie élastique $\mathbf{F}_n$ de la déformation totale $\mathbf{F}$.

Ce modèle, permettant d'écrire les équations de mécanique, sera utilisé par Ambrosi *et al.* pour décrire la dynamique des sphéroïdes en ajoutant la diffusion de nutriment [122]. Puis, Dervaux et Ben Amar [123] l'utiliseront en géométrie contrainte pour décrire les mélanomes *in situ*, démontrant une instabilité de croissance produisant

une rupture de la symétrie circulaire. Ils rapprocheront leurs résultats à un modèle de tumeurs artificiel construit à partir du gonflage d'un gel.

Ces modèles, mathématiquement techniques, ne font pas consensus dans la communauté, car si l'existence de contraintes résiduelles est connue en morphogenèse ou dans le cas du fonctionnement des artères (système très dynamique), elle n'est pas clairement admise dans le cas de l'oncogenèse. Pour les tumeurs, il est généralement accepté que la phase cellulaire se comporte comme un liquide aux grandes échelles de temps, ce qui peut être attribué à la permanente destruction et reconstruction de la matrice extracellulaire. Pour répondre à cette problématique, Ambrosi et Preziosi [118] ajoutent une étape supplémentaire à la décomposition de Rodriguez, qui prendra en compte la déformation. Elle prendra la forme d'un tenseur de déformation plastique $\mathbf{F}_p$ donnant (Figure 2.2.b) :

$$\mathbf{F} = \mathbf{F}_n \mathbf{F}_p \mathbf{G}. \quad (2.6)$$

Cette nouvelle étape complexifie les équations, mais elle permet de décrire les tumeurs à toutes les échelles de temps puisqu'on retrouve un comportement fluide de la tumeur au temps long.

2.2 Les modèles multiphases

La théorie des mélanges a été créée dans les années soixante pour décrire la mécanique [124, 125] puis la thermodynamique [126] de mélanges fluides. Cette théorie offrant un cadre de modélisation très puissant a pu être appliquée à d'autres systèmes physiques, tels que les milieux granulaires [127], diélectriques [128], les systèmes météorologiques [129], etc. Nous allons ici voir comment elle décrit des processus biologiques tels que la croissance de tumeurs [130].

2.2.1 Les phases

Un tissu vivant est composé de plusieurs types de constituants : cellules de différents types, la matrice extracellulaire, les vaisseaux sanguins et lymphatiques, les liquides interstitiels ainsi que des composés chimiques interférant avec le fonctionnement cellulaire (Figure 2.3).

Mis à part les composés chimiques dont la taille est très petite devant les autres éléments du tissu biologique, ces différents constituants, notés i (i renvoyant soit à une cellule d'un certain type, au liquide interstitiel, à la matrice extracellulaire ou au réseau sanguin), occupent localement une fraction du volume qui va nous permettre de décrire la phase i correspondante. On définit ainsi la fraction volumique de i , $\phi_i(\mathbf{x})$, occupée par le constituant i , par :

$$\phi_i(\mathbf{x}) = \frac{1}{\tau} \int_{\tau(\mathbf{x})} \mathbb{1}_i(\mathbf{x}') d\mathbf{x}' \quad (2.7)$$

où $\mathbb{1}_i$ est la fonction indicatrice de i (définie comme $\mathbb{1}_i(\mathbf{x}) = 1$ si le constituant i se trouve en $\mathbf{x}$, $\mathbb{1}_i(\mathbf{x}) = 0$ sinon), $\tau(\mathbf{x})$ correspond à un volume τ centré en $\mathbf{x}$ sur lequel on fait la moyenne de la fraction volumique. Par exemple, $\tau(\mathbf{x})$ peut être une

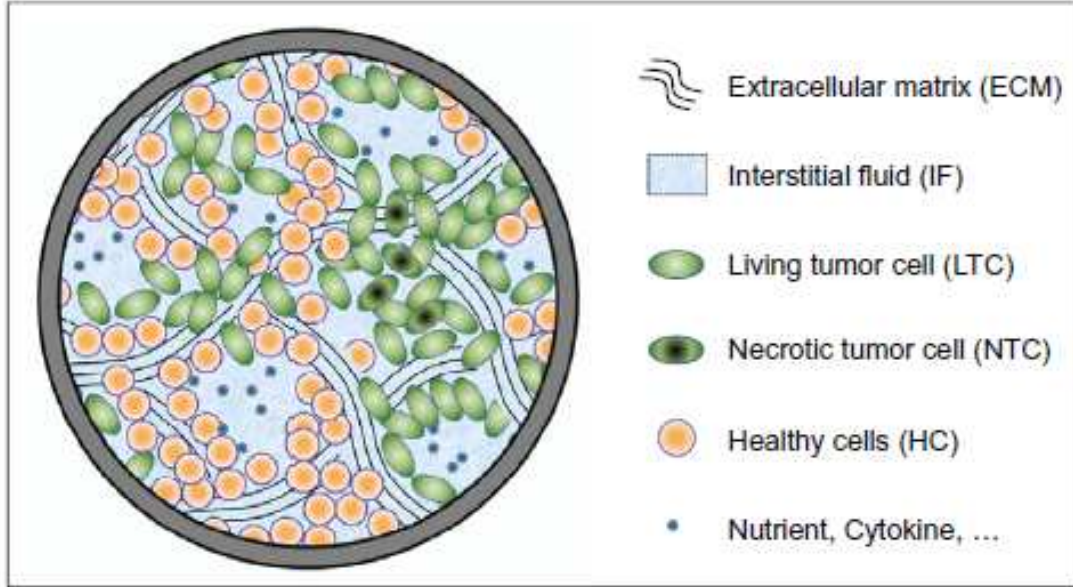


FIGURE 2.3 – Schéma représentant les différents constituants pouvant constituer les phases dans la théorie des mélanges. Schéma extrait de [131].

sphère de rayon R centré en $\mathbf{x}$ et de volume $\tau = \frac{4}{3}\pi R^3$. Le choix de τ représente une étape essentielle de l'hypothèse continue. Si ce volume est de l'ordre de grandeur d'une cellule, on constate une forte variabilité de ϕ_i (Figure 2.4). À l'inverse, il doit rester petit devant la taille du tissu biologique étudié. On retrouve ici les principes fondateurs du principe du volume mésoscopique défini en thermodynamique. Les cellules constituant de par leur taille un volume mésoscopique par rapport à l'échelle moléculaire, ce choix de τ est moins aisé qu'en thermodynamique classique mais reste néanmoins parfaitement possible. Cette méthode ne pourra donc pas décrire des phénomènes dont l'échelle spatiale est inférieure à τ , i.e. elle n'est pas adaptée à décrire les processus ayant lieu à l'échelle cellulaire.

Chaque phase sera décrite par sa fraction volumique en $\mathbf{x}$, $\phi_i(\mathbf{x})$, et sa vitesse

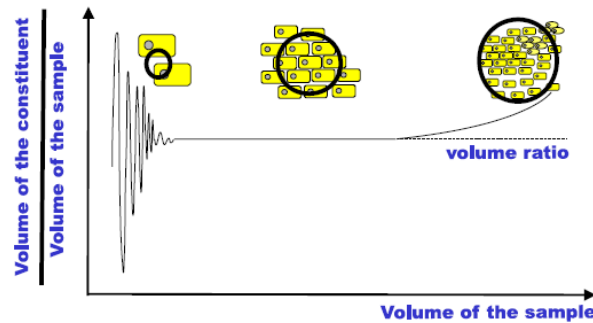


FIGURE 2.4 – Courbe représentant le rapport de volume d'un constituant, ϕ_i en fonction de la taille de l'échantillon pris pour faire la moyenne τ . Figure extraite de [132].

$\mathbf{v}_i(\mathbf{x})$. Ces phases occupent l'intégralité de l'espace imposant :

$$\sum_i \phi_i(\mathbf{x}) = 1, \quad (2.8)$$

pour tout $\mathbf{x}$. Les phases considérées sont constituées à grande majorité d'eau, et on prendra leur masse volumique toute égale à celle de l'eau ρ . Leur écoulement peut donc être considéré incompressible, ce qui s'écrit :

$$\nabla \cdot \left(\sum_i \phi_i \mathbf{v}_i \right) = 0. \quad (2.9)$$

2.2.2 Bilan de masse

L'équation du bilan de masse permet ensuite de lier l'évolution de la phase i avec sa vitesse $\mathbf{v}_i$. Considérons un volume V (supérieur à τ) et de surface de contrôle S , la masse de la phase i dans ce volume, M_i , est donnée par : $M_i = \int_V \rho \phi_i(\mathbf{x}) d\mathbf{x}$, et sa variation permet d'écrire l'équation :

$$\frac{dM_i}{dt} = - \oint_{\mathbf{x} \in S} \rho \phi_i \mathbf{v}_i \cdot \mathbf{n}_x d^2x + \int_{\mathbf{x} \in V} \rho \Gamma_i d\mathbf{x}, \quad (2.10)$$

où $\mathbf{n}_x$ est la normale locale à la surface S délimitant le volume V et Γ_i est un terme d'échange de volume dû à la mort, la croissance, etc. En utilisant le théorème de Green-Ostrogradski et en considérant n'importe quelle volume V , l'équation devient :

$$\frac{\partial \phi_i}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_i \mathbf{v}_i) = \Gamma_i. \quad (2.11)$$

Malheureusement, la contrainte d'incompressibilité n'est pas suffisante pour fixer complètement le système [133]. Il faut donc rajouter une hypothèse supplémentaire dans les vitesses comme par exemple considérer que la vitesse totale pour un mélange soumis à des forces négligeables est nulle [94, 134]. Ceci constitue en effet une solution particulière de l'écoulement incompressible, physiquement acceptable.

2.3 Le modèle 2D à deux phases

Nous avons adapté le cadre offert par la théorie des mélanges pour décrire les mélanomes. D'une part, nous simplifions les équations de bilan de masse vu section 2.2 ainsi que celles qui décrivent la mécanique en ne considérant que deux phases. Et d'autre part, nous montrons comment réduire le système 3D à des équations 2D.

2.3.1 Un modèle à deux phases

- Dans un souci de simplicité, nous ne considérons dans ce travail que deux phases :
- une phase cancéreuse, repérée par un indice c , correspondant aux cellules mélanocytaires du naevus ou du mélanome,
 - une phase saine, indiquée par h , regroupant tout le reste, le fluide interstitiel contenant les nutriments et les autres phases cellulaires.

Ciarletta *et al.* [23] ont développé un modèle plus complexe prenant en compte l'interaction avec la membrane basale et différenciant la phase du liquide interstitiel de celle constituée par les kératinocytes. Cependant, la complexité du système d'équations rend le travail analytique très difficile. De plus, des travaux ultérieurs [135, 134] ont montré que le modèle à deux phases suffisait à décrire les mécanismes de morphogénèse décrit dans le modèle de Ciarletta.

Les équations du bilan de masse s'écrivent donc comme :

$$\begin{cases} \partial_t \phi_c + \nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c) = \Gamma_c(\phi_c, n) \\ \partial_t \phi_h + \nabla \cdot (\phi_h \mathbf{v}_h) = \Gamma_h(\phi_h, n) \end{cases}, \quad (2.12)$$

où ϕ_c est la phase cancéreuse, ϕ_h celle liquide, $\mathbf{v}_i$ la vitesse de la phase $i = c, h$, n la concentration en nutriments et Γ_i le terme d'échange volumique dépendant de la concentration de la phase considérée ϕ_i et de n . Rappelons que la condition d'incompressibilité impose que $\Gamma_c = -\Gamma_h$.

Afin de déterminer la vitesse de la phase cancéreuse $\mathbf{v}_c$, nous allons utiliser une approche variationnelle développée par Doi et Onuki [136]. Cette approche permet de déterminer la dynamique hors équilibre du système par une approche énergétique. Nous prenons donc une forme simple pour l'énergie libre $\mathcal{F}_c$ sur le volume Ω :

$$\mathcal{F}_c = \int_{\Omega} [\Psi(\phi_c) + \epsilon^2 (\nabla \phi_c)^2] d\Omega$$

où $\Psi(\phi_c)$ correspond à l'énergie libre volumique et ϵ est une forme de tension de surface entre les deux phases pénalisant les forts gradients. On peut noter que certains modèles [137] ajoutent ici un terme dépendant des concentrations de substances chimiques, comme par exemple les nutriments n , pour prendre en compte des effets de chemotaxie.

Suivant Doi et Onuki, nous considérons un terme de friction visqueuse W entre les deux phases prenant la forme :

$$W = \int_{\Omega} \frac{M\phi_c}{2} (\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_h)^2 d\Omega,$$

où M est la constante de friction entre les phases. Par conséquent, la variation d'énergie par unité de temps appelée le Rayleighien, $\mathcal{Q}$, s'écrit :

$$\mathcal{Q} = \int_{\Omega} \underbrace{\left[\frac{M\phi_c}{2} (\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_h)^2 \right]}_{\text{dissipation}} + \underbrace{\left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right) (-\nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c) + \Gamma_c)}_{\text{variation de l'énergie libre}} - \underbrace{p \nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c + \phi_h \mathbf{v}_h)}_{\text{incompressibilité}} d\Omega,$$

où p est un multiplicateur de Lagrange qui peut s'interpréter comme un terme de pression assurant la condition d'incompressibilité. La minimalisation de $\mathcal{Q}$ par un principe variationnel correspond à "un principe de minimum de dissipation d'énergie", i.e. la dynamique du système minimise la dissipation d'énergie moins la variation d'entropie [136, 138]. Le minimum de $\mathcal{Q}$ par rapport aux deux vitesses, $\mathbf{v}_c$ et $\mathbf{v}_h$, nous donne un nouveau système d'équations qui peut s'interpréter comme un équilibre des forces pour chaque phase :

$$M\phi_c (\mathbf{v}_h - \mathbf{v}_c) + \phi_h \nabla p = 0 \quad (2.13)$$

$$\underbrace{M\phi_c (\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_h)}_{\text{friction}} + \underbrace{\phi_c \nabla \left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right)}_{\text{stress de la phase cancéreuse}} + \underbrace{\phi_c \nabla p}_{\text{pression hydrostatique}} = 0. \quad (2.14)$$

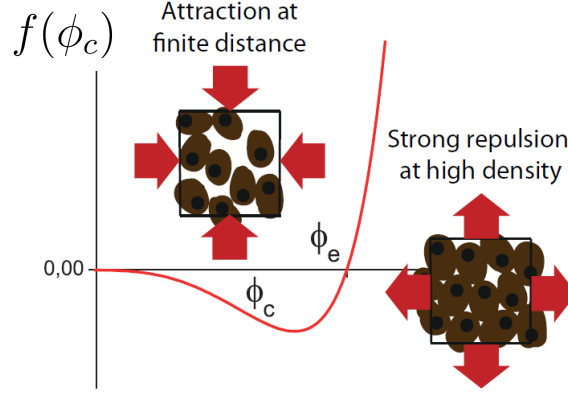


FIGURE 2.5 – Représentation de la surpression cellulaire $f(\phi_c)$. On voit qu'il existe une concentration d'équilibre ϕ_e pour laquelle cette surpression cellulaire est nulle. En dessous, les cellules s'attirent à cause de leur attraction, au-delà elles se repoussent à cause de la gêne stérique. La surpression est nulle à très faible densité, et infinie à très forte densité.

En éliminant la pression entre ces deux équations, on obtient le mouvement relatif entre les deux phases :

$$\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_h = -\frac{(1 - \phi_c)}{M} \nabla \left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right).$$

Si l'on considère que le centre de masse totale du système ne bouge pas, on ajoute une condition supplémentaire comme vu section 2.2, i.e. $\phi_c \mathbf{v}_c + \phi_h \mathbf{v}_h = 0$. Ceci aboutit à une loi de vitesse qui ressemble à une loi de Darcy :

$$\mathbf{v}_c = -\frac{(1 - \phi_c)^2}{M} \nabla \left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right). \quad (2.15)$$

Nous poserons $\Sigma = \frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c$ qui représentera l'interaction entre les cellules cancéreuses. Σ comprend un terme volumique $f(\phi_c) = \frac{\partial \psi}{\partial \phi_c}$ qui donne la pression supplémentaire entre les cellules cancéreuses due à leur attraction, et un terme surfacique $\epsilon^2 \Delta \phi_c$ qui donne la force surfacique minimisant l'interface.

Suivant Byrne et Preziosi [139], nous allons faire des hypothèses simples pour déterminer la fonction $f(\phi_c)$. La justification de ces suppositions vient du "cadherin switch" vu section 1.2.3.2. Nous considérons donc que :

- les cellules cancéreuses en contact s'adhèrent entre elles ;
- au delà d'une certaine valeur de concentration cellulaire, les cellules sont compressées ;
- les cellules n'occupent jamais la totalité de l'espace.

Ceci nous permet de décrire le comportement de $f(\phi_c)$:

1. $\exists \phi_e$ tq $f(\phi_e) = 0$;
2. si $\phi_c \leq \phi_e$, les cellules s'attirent donc $f(\phi_c) \leq 0$, sinon $f(\phi_c) \geq 0$;
3. à très faible densité, $\phi_c \rightarrow 0$, l'interaction est nulle, $f(\phi_c) \rightarrow 0$;

4. à très haute densité, $\phi_c \rightarrow 0$, les cellules se repoussent fortement, $f(\phi_c) \rightarrow \infty$. La forme générale de $f(\phi_c)$ peut donc se résumer sur une courbe, faisant penser à un potentiel de Lennard-Jones.

En posant $K = M^{-1}$, nous obtenons une équation maîtresse pour la phase cancéreuse :

$$\partial_t \phi_c + \nabla \cdot (-K \phi_c (1 - \phi_c)^2 \nabla (f(\phi_c) - \epsilon^2 \Delta \phi_c)) = \Gamma_c(\phi_c, n) , \quad (2.16)$$

où il ne reste plus qu'à exprimer le terme d'échange Γ_c qui dépend de la concentration en nutriments.

Les nutriments vont influencer sur la prolifération des cellules. On donne donc l'équation régissant l'évolution de la concentration en nutriments qui devrait à priori suivre une loi d'advection-diffusion-consommation du type :

$$\partial_t n + \nabla \cdot (n \mathbf{v}_n) = \nabla \cdot (D \nabla n) + S_n , \quad (2.17)$$

où D est le coefficient de diffusion du nutriment considéré et S_n un terme de production/consommation des nutriments.

Nous avons donc un système d'équations maîtresses dans lequel nous devons préciser les termes Γ_c et S_n qui correspondent respectivement à la prolifération/apoptose de la phase cellulaire et à la production/consommation des nutriments.

2.3.2 Termes d'échange

2.3.2.1 Prolifération cellulaire

Il semble assez intuitif de relier le terme d'échange Γ_c avec la prolifération locale des cellules cancéreuses qui devrait dépendre de la concentration en nutriments et de la concentration de la phase cancéreuse ϕ_c . Des expériences menées par Sutherland et Durand [142] permettent dès 1973 de constater, qu'il peut y avoir un mécanisme d'apoptose même dans des zones riches en nutriments et qu'une sphéroïde tumorale peut arrêter son expansion sans présenter de coeur nécrotique. Le modèle proposé par Greenspan dans la section 2.1.1 est donc mise en défaut. Ellem et Kay [141] ont ensuite montré une linéarité entre la prolifération des cellules avec la concentration en sérum (contenant les nutriments). Pour une concentration particulière des cellules raisonnable, la prolifération évolue linéairement avec celle-ci (Figure 2.6). Dans ce travail, nous avons adopté une équation simple, linéaire, compatible avec ces observations :

$$\Gamma_c = \gamma_c \left(\frac{n}{n_e} - \delta_c \right) \phi_c , \quad (2.18)$$

où $\gamma_c = 0.2 - 0.67 \text{ jour}^{-1}$ [141, 143, 144], n_e est une concentration en nutriments typique dans l'organe (si l'on considère l'oxygène dans la peau, $n_e = 25 - 78 \text{ mmHg}$ [145]), et $\delta_c = 0.05 - 1.65$ le taux d'apoptose de la phase cancéreuse [143, 144].

2.3.2.2 Consommation en nutriments

En 1989, Kallinowski *et al.* montrent que la consommation en oxygène de cellules cancéreuses, est approximativement linéaire pour de faibles concentrations en

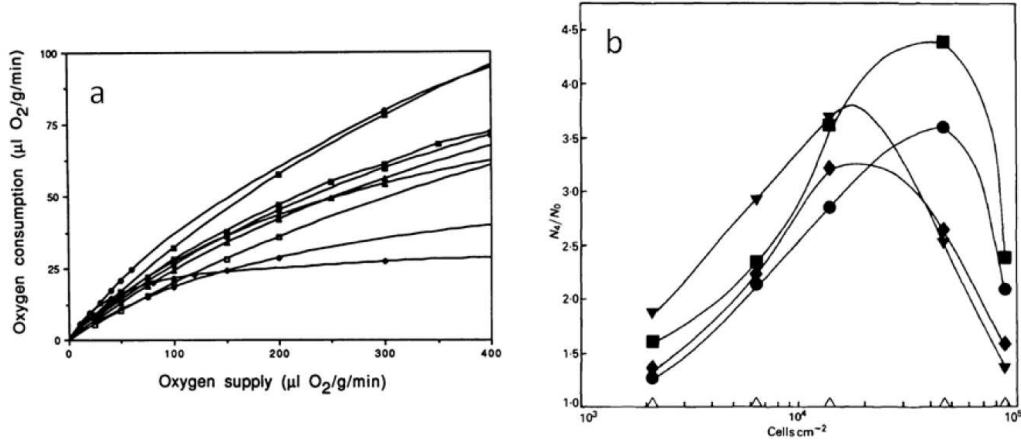


FIGURE 2.6 – a) Consommation en oxygène de tumeurs humaines en fonction de leur alimentation en oxygène. Ces expériences ont été réalisées par xénogreffes sur des souris. La seconde courbe en partant du haut correspond à des cellules d'origine mélanomale. Figure tirée de [140]. b) Taux de prolifération de cellules mélanomales en fonction de leur densité particulière. N_4 représente le nombre de cellules après quatre jours de culture, N_0 celui au début de la culture. Les différentes courbes correspondent aux différents mélanges de nutriments utilisés. Figure extraite de [141].

oxygène [140]. Il existe un plateau de saturation pour des fortes concentrations en oxygène (Figure 2.6). L'épiderme étant un milieu hypoxique, nous nous limiterons à prendre S_n de la forme :

$$S_n = -\delta_n \phi_c n - \delta_h (1 - \phi_c) n, \quad (2.19)$$

où δ_n représente le taux de consommation en nutriments de la phase cancéreuse ($\delta_n = 1190 - 3030 \text{ jour}^{-1}$ pour l'oxygène [145, 146]), et δ_h celui de la phase saine (des kératinocytes).

Notons que nous avons choisi une forme particulièrement simple pour le terme de prolifération cellulaire en n'ajoutant aucun élément d'inhibition. Nous aurions par exemple pu prendre un taux de prolifération cellulaire γ_c dépendant de l'interaction cellulaire Σ . En effet, si les cellules sont fortement comprimées, elles ne pourront augmenter leur volume pour donner lieu à la mitose comme le montre la Figure 2.6. Nous n'avons pas non plus pris en compte la présence de molécules inhibitrices de croissance dont nous avons brièvement parlé dans la partie génétique, section 1.2.3.

2.3.3 Un système 2D

Nous allons à présent montrer que nous pouvons encore simplifier les équations maîtresses décrites à la section précédente en les réduisant à un modèle à deux dimensions.

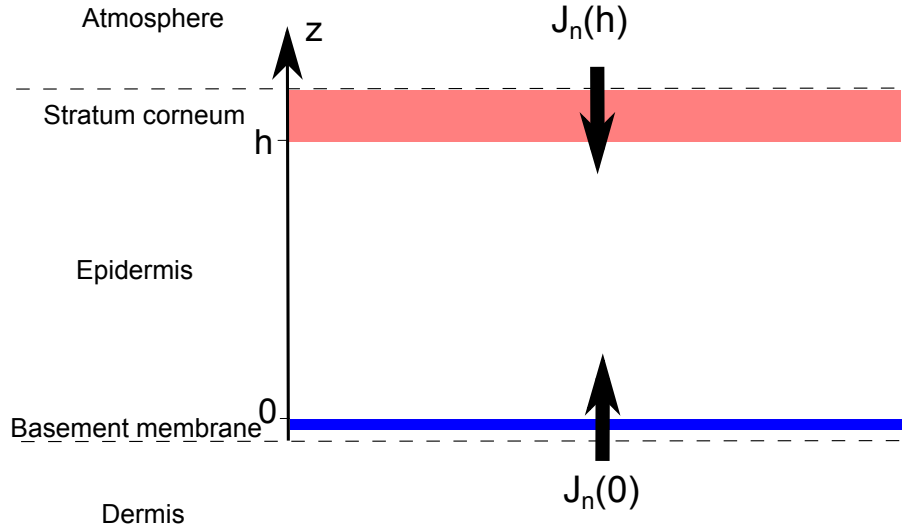


FIGURE 2.7 – Représentation schématique des apports de nutriments dans l'épiderme.

Chatelain *et al.* montrent que l'on peut appliquer une hypothèse de lubrification pour la phase cellulaire [134], et que l'équation maîtresse de la phase cellulaire peut s'appliquer naturellement en transformant les opérateurs différentiels à trois dimensions en leur correspondant à deux dimensions. La principale raison vient du fait que la vitesse de propagation verticale est faible devant les vitesses de propagation dans le plan. Nous pouvons ainsi réécrire l'équation (2.15) comme :

$$\mathbf{v}_{c, //} = -K(1 - \phi_c)^2 \nabla_{//} \Sigma(\phi_c)$$

$$\frac{\partial \Sigma}{\partial z} = 0$$

où l'indice $//$ désigne les composantes dans le plan (x, y) , et ϕ_c devient une fonction définie dans le plan.

Avant de réduire l'équation (2.17) dans le plan, nous allons d'abord la simplifier en comparant ses différents termes. Au vue de la taille de la tumeur et des temps des processus de croissance (approximativement 0.3mm par jour [147]), les termes diffusifs sont beaucoup plus rapides que les termes d'origine convective que l'on pourra négliger. Par conséquent, l'équation (2.17) se réécrit à l'équilibre de diffusion comme :

$$0 = \nabla \cdot (D_n \nabla n) + S_n(\phi_c, n). \quad (2.20)$$

En faisant la moyenne de cette équation le long de l'axe z , nous obtenons :

$$0 = \nabla_{//} \cdot (D_{n, //} \nabla_{//} \langle n \rangle) + \langle \Gamma_n(\phi, n) \rangle + \frac{1}{h} [J_n(h) + J_n(0)]_0^h \quad (2.21)$$

où $\nabla_{//} = (\partial_x, \partial_y)$ est l'opérateur différentiel dans le plan de l'épiderme, $\langle n \rangle = h^{-1} \int n dz$, $\langle S_n(\phi_c, n) \rangle = h^{-1} \int S_n(\phi_c, n) dz$, et $J_n(h)$ and $J_n(0)$ sont les flux de

nutriments en $z = h$ et $z = 0$ (Fig.2.7). Nous prenons des lois simples pour exprimer les flux aux interfaces [134] :

$$J_n = \alpha(n^0 - \langle n \rangle) , \text{ donc } \frac{1}{h} [J_n(h) + J_n(0)]_0^h = \beta_n(n_s - \langle n \rangle)$$

où α et n^0 peuvent dépendre de la position du flux et de la nature du nutriment choisi (l'oxygène provient principalement de la couche cornée [145], alors que le glucose provient principalement du derme). En enlevant les symboles de moyennage suivant z , $\langle \rangle$ et indiquant le symbole du plan $//$, l'équation maîtresse pour les nutriments en deux dimensions devient :

$$0 = D_n \Delta n - \delta_n \phi_c n - \delta_h (1 - \phi_c) n + \beta_n (n_s - n) \quad (2.22)$$

2.3.4 Equations maîtresses adimensionnées et paramètres biophysiques

Nous allons adimensionner les deux équations maîtresses qui régissent l'évolution de la phase cancéreuse ϕ_c et celle de la concentration en nutriments n :

$$\partial_t \phi_c + \nabla \cdot (-K \phi_c (1 - \phi_c)^2 \nabla (f(\phi_c) - \epsilon^2 \Delta \phi_c)) = \gamma_c \left(\frac{n}{n_e} - \delta_c \right) \phi_c , \quad (2.23)$$

$$0 = D_n \Delta n - \delta_n \phi_c n - \delta_h (1 - \phi_c) n + \beta_n (n_s - n). \quad (2.24)$$

On peut remarquer que l'existence d'une tension de surface ajoute une échelle d'espace que nous n'allons pas pouvoir faire disparaître. Nous allons choisir la longueur de pénétration des nutriments $l_n = \sqrt{\frac{D_n}{\delta_n}}$ comme échelle d'espace, i.e. nous posons $\hat{x} = x/l_n$. Pour le temps, nous allons choisir de normaliser l'échelle par le temps de prolifération en posant $\hat{t} = t\gamma_c n_s/n_e$. En posant $\hat{n} = n/n_s$, $\hat{\kappa} = \delta_h/\delta_n$, $\hat{\beta} = \beta_n/\delta_n$, $\hat{\delta} = \delta/(\gamma n_s)$, $\hat{f} = f/\chi$ où χ est une valeur typique de la surpression venant de l'interaction cellulaire (valeur typique de $f(\phi_c)$), $\hat{\epsilon}^2 = \epsilon^2/(\chi l_n^2)$ et $D = K n_e \chi / (n_s \gamma_c l_n^2)$, les équations (2.23) et (2.24) se réécrivent en faisant tomber les indices chapeaux comme :

$$\partial_t \phi_c + \nabla \cdot (-D \phi_c (1 - \phi_c)^2 \nabla (f(\phi_c) - \epsilon^2 \Delta \phi_c)) = \phi_c (n - \delta) , \quad (2.25)$$

$$0 = \Delta n - \phi_c n - \kappa (1 - \phi_c) n + \beta (1 - n). \quad (2.26)$$

La Table 2.1 reprend des valeurs de ces paramètres glanées dans la littérature expérimentale.

ϕ_e cell volume fraction at mechanical equilibrium	0.6 – 0.9	[148]
M interphase friction	963 – 11571 mm ⁻² Pa day	[149, 150]
χ interstitial fluid pressure in healthy skin	133 Pa	[148]
χ interstitial fluid pressure in skin carcinoma	1330 Pa	[148]
$(\epsilon/\sqrt{\chi})$ melanoma cell size	6 – 20 μ m	[67]
γ_c melanoma cell proliferation rate	0.2 day ⁻¹	[143]
δ_c threshold for cell death rate due to anoxia	0.1 – 0.33	[151]
D_n Oxygen diffusion coefficient in the skin	39.7 mm ² day ⁻¹	[152]
δ_n Oxygen consumption rate of the skin	1190 – 3310 day ⁻¹	[145, 153]
β_n	10 ⁴ day ⁻¹	[134]
n_s Oxygen partial pressure in the skin	3320 – 10400 Pa	[145, 153]
l_n nutrient penetration length	0.1 – 0.18 mm	
D	1.7 – 690	
ϵ	0.02 – 0.2	
δ	0.1 – 0.33	
β	0.1 – 8.4	
κ	0.1 – 10	

TABLE 2.1 – Estimation of the model parameters from experimental data on healthy and diseased skin.

Chapitre 3

Analyse des équations du modèle à deux phases

Dans ce chapitre, nous allons étudier les équations décrites en section 2.3. Nous procédons d'abord à une analyse des composantes spatiales des équations. Après avoir rappelé les processus de séparation de phases en physico-chimie puis en biologie, nous montrons qu'elles contiennent les ingrédients d'un processus de séparation de phases. Puis nous effectuons une analyse temporelle des équations correspondant au processus de croissance de tumeur.

3.1 Analyse dans l'espace : décomposition spinodale

3.1.1 La décomposition spinodale en physique

3.1.1.1 Diagramme binaire, séparation de phases et décomposition spinodale

La décomposition spinodale fait référence aux premiers instants d'un type particulier de phénomène de séparation de phase. Elle se distingue principalement de la nucléation par le fait que le système ne requiert aucune activation thermique pour se séparer.

Pour un diagramme binaire (Figure 3.1), mélange de deux constituants A et B, une séparation de phase se produit lorsque, sous l'effet d'un changement de température, l'expression de l'enthalpie libre en fonction de la fraction massique, $G[X]$ ne présente plus un minimum mais deux, $X_1(T)$ et $X_2(T)$. Si la fraction massique initiale se trouve entre ces deux minimums, c'est-à-dire, $X_1(T) < X_0 < X_2(T)$, le système minimise son énergie par une séparation de phase :

$$G[X_0] \geq \frac{1}{2}(G[X_1(T)] + G[X_2(T)]). \quad (3.1)$$

Le système se sépare en deux phases, une phase riche en A de fraction massique $X_1(T)$ et une autre phase riche en B de fraction massique $X_2(T)$. Néanmoins, il existe deux phénomènes distincts pouvant amener à cette séparation de phase. La

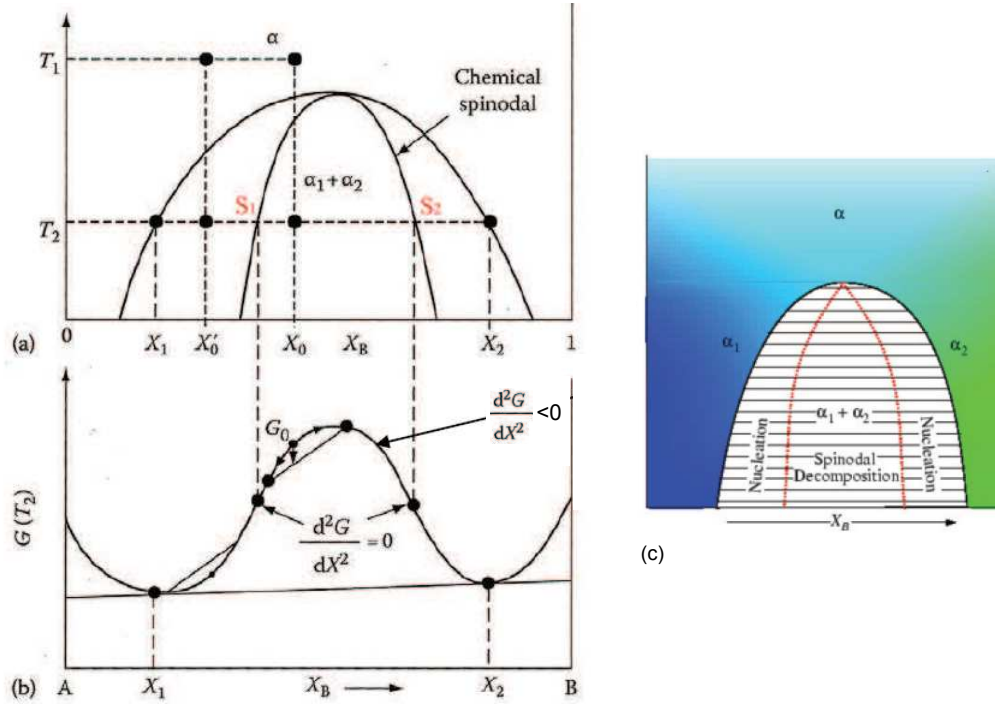


FIGURE 3.1 – a) et c) Diagramme binaire d'un mélange partiellement miscible. La température, T , est donnée en fonction de la fraction massique des constituants, X . Aux températures élevées et aux fraction massique proche de 0 ou de 1, les substances sont parfaitement miscibles et l'on se trouve en dehors de la cloche de démixion. On remarque qu'à la cloche de démixion peut se séparer en deux zones correspondant aux différents processus qui aboutissent à la séparation des deux phases : la nucléation et la décomposition spinodale. b) Diagramme de l'enthalpie libre à la température T_2 en fonction de la fraction massique X . X_1 et X_2 correspondent aux valeurs limites de démixion à la température T_2 pour la fraction massique. Ils correspondent donc à deux valeurs minimales de l'enthalpie libre G . Les zones où G est concave, entre $X = S_1$ et $X = S_2$ correspondent aux valeurs limites du processus de décomposition spinodale.

nucléation, phénomène le plus connu, correspond à un enrichissement local d'un des deux constituants dû aux perturbations thermiques. Si la perturbation thermique permet d'aboutir à une zone enrichie suffisamment grande alors un élargissement de la zone enrichie devient thermodynamiquement favorable, ce phénomène de nucléation est donc métastable. Cependant, si la fraction molaire initiale se trouve dans une zone concave de l'enthalpie libre, i.e. si $\frac{d^2G}{dX^2}[X_0] \leq 0$, alors toute perturbation de la fraction molaire initiale s'accroît immédiatement. En effet, dans ce cas :

$$G[X_0] \geq \frac{G[X_0 + \delta X] + G[X_0 - \delta X]}{2}. \quad (3.2)$$

Ce phénomène de séparation purement instable se produisant donc partout dans le système s'appelle la décomposition spinodale.

Ce phénomène fut d'abord découvert dans la métallurgie. Par exemple, un alliage

d'Aluminium et de Zinc trempé d'une température de 400 degrés Celsius à une température voisine de 100 degrés, se décompose en des zones riches en Aluminium ou en Zinc via ce processus de décomposition spinodale [154]. Depuis, on sait que ce processus ne se limite pas aux alliages de métaux, mais qu'on le retrouve dans les solutions de polymères [155], les mélanges liquides, les gels [156], etc. Du point de vue de la physique statistique, la décomposition spinodale a la particularité de conserver le paramètre d'ordre (ici la fraction massique), contrairement à une transition de phase correspondant à un changement d'état. On peut penser à un mélange de vinaigrette : lorsqu'on la mélange la concentration en huile et en vinaigre totale se conserve et on observe les zones riches en vinaigre grossir.

3.1.1.2 L'équation de Cahn-Hilliard

En 1958, Cahn et Hilliard vont réaliser la première mise en équation de ce phénomène [157]. Leur idée est simple : afin d'assurer la conservation de la fraction massique totale, on va régir ce phénomène par une équation de diffusion :

$$\partial_t X = -\nabla \cdot \mathbf{j}, \quad (3.3)$$

où X est la fraction massique, ∇ est l'opérateur différentiel d'espace et $\mathbf{j}$ est le vecteur densité de courant de particules. Ils ont ensuite exprimé $\mathbf{j}$ par une loi de Fick :

$$\mathbf{j} = -M(X) \nabla \mu(X), \quad (3.4)$$

où $M(X)$ est un coefficient de mobilité (qu'ils prendront constant) et μ est le potentiel chimique, qui est par définition la dérivée fonctionnelle de l'énergie libre $G[x]$:

$$\mu(X) = \frac{\delta G}{\delta X}. \quad (3.5)$$

Ils choisissent une expression simple pour l'énergie libre, à savoir celle de Ginzburg-Landau pour des transitions du deuxième ordre :

$$G[X] = \int \left(g[X] + \frac{\kappa}{2} (\nabla X)^2 \right) dV, \quad (3.6)$$

où $g[X]$ est le terme volumique de l'enthalpie libre et $\frac{\kappa}{2}(\nabla X)^2$ est le terme de tension de surface pénalisant les forts gradients de concentration. Tout ceci aboutit à l'équation maîtresse suivante :

$$\partial_t X = \nabla \cdot (M \nabla (g'(X) - \kappa \nabla^2 X)). \quad (3.7)$$

En effectuant un changement de variable,

$$X = \frac{X_2 - X_1}{2} \phi + \frac{X_1 + X_2}{2}, \quad (3.8)$$

pour faire apparaître le paramètre d'ordre ϕ du changement de phase et en prenant une expression simple de l'enthalpie libre volumique,

$$g[\phi] = -\frac{1}{2} \phi^2 + \frac{1}{4} \phi^4, \quad (3.9)$$

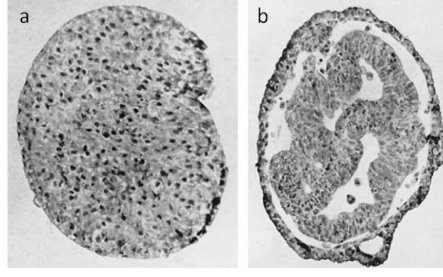


FIGURE 3.2 – Expérience de Townes et Holtfreter [158]. a) Des cellules d’embryon amphibien sont mélangées à l’instant initial. b) Au bout de 20H, ces cellules se sont réorganisées à cause de leur différence d’adhésion. Les cellules épidermales en noir se sont concentrés sur les bords et se sont séparés des cellules de la plaque médullaire en blanc.

on voit apparaître l’équation de Cahn-Hilliard :

$$\partial_t \phi = \nabla^2 (-\phi + \phi^3 - \kappa \nabla^2). \quad (3.10)$$

Une analyse de stabilité linéaire permet de justifier le caractère purement instable du phénomène dû à la concavité de l’enthalpie libre. Posons $\phi(M, t) = \phi_0 + \epsilon \exp(\lambda t) \cos(\mathbf{k} \cdot \mathbf{x})$, et injectons cette expression dans l’équation de Cahn-Hilliard. On obtient alors :

$$\lambda(k) = -M(g''(\phi_0)k^2 + \kappa k^4). \quad (3.11)$$

Une distribution homogène est donc toujours instable aux grandes longueurs d’ondes (faibles valeurs de k) si l’enthalpie libre volumique présente une forme concave, c’est-à-dire, $g''(\phi_0) \leq 0$.

3.1.1.3 Séparation de phases en biologie

Le phénomène de séparation de phases est aussi bien connu et décrit en biologie. L’expérience historique de Townes et Holtfreter [158] a montré que des cellules pouvait se réarranger suivant leur affinité. Des cellules d’embryon amphibien contenant des cellules de la plaque neurales et de l’épiderme sont mélangées *in vitro*, et elles se réorganisent en 20H pour former une sphère homogène entourée des cellules épidermiques (Figure 3.2). Cette expérience a ensuite été modélisée grâce à un modèle discret développé par Graner et Glazier [159]. Leur modèle se base sur une différenciation des énergies volumiques et surfaciques mises en jeu. Il existe ainsi beaucoup de similitudes avec les phénomènes de séparation de phases en physico-chimie décrits précédemment : agrégation des cellules de même type, coalescence et tension de surface [160]. Foty et Steinberg [161] ont d’ailleurs relié la tension de surface de la phase cellulaire au nombre de cadhérines à la surface des cellules responsable de leur adhésion. La différence d’adhésion joue un rôle majeur dans le développement des tissus biologiques mais aussi dans l’apparition de différentes maladies [162]. Il a

notamment été démontré que la diminution de la tension de surface provoque la miscibilité des cellules cancéreuses de la prostate [161] et du cerveau [163] et augmente leur potentiel métastatique.

Outre l'embryogenèse [164, 165], on retrouve des motifs caractéristiques dans les colonies de bactéries notamment *E. Coli* et *Salmonella typhimurium* [166, 167, 168]. Ces motifs ont été modélisés par des équations de chemoattraction et un phénomène de séparation de phases a aussi été montré dans ce cas [169, 170].

3.1.2 La décomposition spinodale pour les lésions cutanées

Dans le cas du mélanome, le "cadherin switch" décrit section 1.2.3 explique la différence d'adhésion entre la cellule mélanomale et les kératinocytes pouvant provoquer un phénomène de séparation de phase.

Dans cet article publié dans New Journal of Physics (édité à la fin de ce chapitre), nous rappelons d'abord le contexte biologique du cancer de la peau, puis nous proposons une mise en équation du système. Nous mettons ensuite en lumière un processus de décomposition spinodale pour les lésions cutanées de façon analytique et numérique et enfin nous comparons nos résultats aux observations biologiques.

3.2 Analyse dans le temps : modèle d'évolution

Dans cet article publié dans Scientific Reports (édité à la suite du premier article), nous avons cherché à savoir si ce processus de séparation de phase pouvait apparaître de façon dynamique. Nous démontrons l'importance des travaux faits dans l'article précédent. Nous y faisons une analyse des équations et faisons apparaître l'importance des solutions constantes et homogènes des équations $\phi_{c.s.h.}$. Nous démontrons que la concentration à l'intérieur de la tumeur doit tendre vers ces valeurs.

Afin de mieux décrire le grossissement des lésions, nous avons ajouté un terme de consommation des nutriments de la part des cellules saines (section 2.3).

Emergence of microstructural patterns in skin cancer: a phase separation analysis in a binary mixture

C Chatelain¹, T Balois¹, P Ciarletta² and M Ben Amar^{1,3}

¹ Laboratoire de Physique Statistique, Ecole Normale Supérieure, UPMC Univ Paris 06, Université Paris Diderot, UMR CNRS 8550, 24 rue Lhomond, 75005 Paris, France

² CNRS and Université Pierre et Marie Curie—Paris 6, Institut Jean le Rond d'Alembert, UMR CNRS 7190, 4 place Jussieu, Case 162, 75005 Paris, France
E-mail: benamar@lps.ens.fr

New Journal of Physics **13** (2011) 115013 (21pp)

Received 20 July 2011

Published 28 November 2011

Online at <http://www.njp.org/>

doi:10.1088/1367-2630/13/11/115013

Abstract. Clinical diagnosis of skin cancers is based on several morphological criteria, among which is the presence of microstructures (e.g. dots and nests) sparsely distributed within the tumour lesion. In this study, we demonstrate that these patterns might originate from a phase separation process. In the absence of cellular proliferation, in fact, a binary mixture model, which is used to represent the mechanical behaviour of skin cancers, contains a cell–cell adhesion parameter that leads to a governing equation of the Cahn–Hilliard type. Taking into account a reaction–diffusion coupling between nutrient consumption and cellular proliferation, we show, with both analytical and numerical investigations, that two-phase models may undergo a spinodal decomposition even when considering mass exchanges between the phases. The cell–nutrient interaction defines a typical diffusive length in the problem, which is found to control the saturation of a growing separated domain, thus stabilizing the microstructural pattern. The distribution and evolution of such emerging cluster morphologies, as predicted by our model, are successfully compared to the clinical observation of microstructural patterns in tumour lesions.

³ Author to whom any correspondence should be addressed.

Contents

1. Introduction	2
2. Multiphase modelling of cell–cell adhesion for skin cancer	4
2.1. Skin cancer biology	4
2.2. Binary mixture model of a skin tumour	6
2.3. Dimensionless equations	8
3. Linear stability analysis of the binary mixture and phase ordering	9
3.1. Linear stability analysis in the absence of mass exchanges	9
3.2. Linear stability analysis including cell death and proliferation	10
3.3. Numerical simulations neglecting mass exchanges between phases	12
3.4. Numerical simulations considering cell death and proliferation	14
4. Discussion and comparison with biological data	17
Acknowledgments	18
References	19

1. Introduction

The evolution of a tumour mass is often characterized by the emergence of inhomogeneous patterns or clusters of cancerous cells, such as the papillary or cribriform structures in ductal carcinoma [1]. This morphological feature has diagnostic relevance for skin cancers, where, for example, large (small) blue-grey nests (globules) and leaf-like structures are typically found in basal cell carcinoma [2], as shown in figure 1(A). Similarly, melanoma skin cancers often present black globules composed of pigmented cells (see figure 1(B)), which are key factors in the early detection criteria of malignant lesions [2, 3]. In recent decades, the continuous increase in the melanoma incidence rate [4], together with the decrease in survival rates after late detection [5], has led to extensive clinical studies for improving the diagnosis algorithms in clinical diagnosis [6, 7]. However, most of these efforts focused on empirical statistical studies [2] and machine learning approaches [8], and only a few of them focused on understanding the physical origin of the morphological patterns of tumour lesions. Recent works have given a first physical insight into contour irregularities in these lesions, demonstrating that the competition between cellular adhesion and nutrient diffusion can drive a boundary instability during tumour growth [9, 10]. The goal of this paper is to investigate the mechanisms responsible for the occurrence and evolution of cancer cell clusters during the early development of skin cancers.

The spontaneous sorting out and aggregation inside a mixture of different cell types has been observed since 1955, with the experience of Townes and Holtfreter [11] on mixtures of amphibian embryonic cells of different types. Starting from an initially random distribution, such cells were found to aggregate, forming an organized tissue with well-separated domains containing a specific cell type. The differential adhesion hypothesis is today a widely accepted explanation for this phenomenon, as discussed in the review by Steinberg [12]. Based on the analogy with the classical spontaneous phase separation in immiscible fluids [13], such a hypothesis assumes that the driving mechanism is the differential cell–cell adhesion between the various cell species, resulting in an effective surface tension between the cell type domains. Extensive experimental [14] and theoretical [15] investigations have highlighted the importance

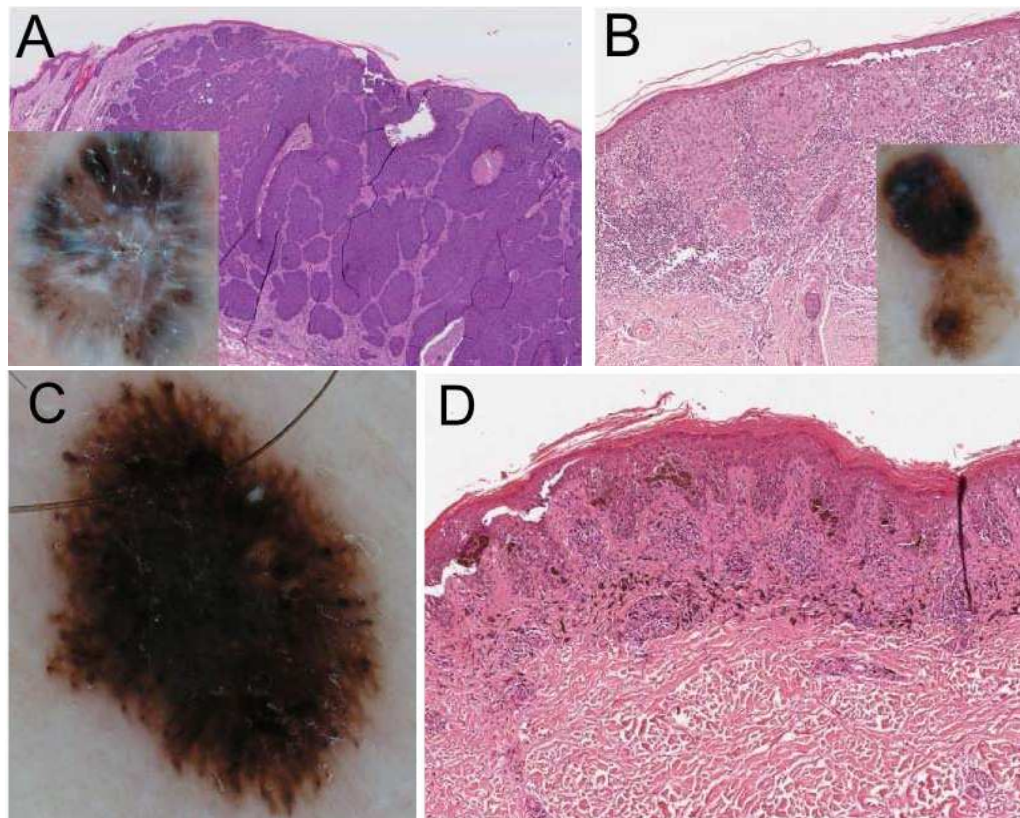


Figure 1. (A) Nodular basal cell carcinoma presenting a cluster of tumour cells. Inset: Dermoscopy image of a pigmented basal cell carcinoma. (B) Melanoma with nests of various sizes and shapes, irregularly distributed inside the lesion. Inset: dermoscopy image of melanoma. (C, D) Benign melanocytic lesion called Spitz nevus, presenting discrete melanocytic nests in dermoscopy (C) and histology (D). Courtesy of Professor Giovanni Pellacani, University of Modena and Reggio Emilia, Italy.

of cell sorting by cell–cell adhesion in embryogenesis [16, 17], in tissue homeostasis [18] and, more recently, in cancer progression [19–21], especially during metastasis [22].

In order to explain the formation of aggregated cellular clusters, many theoretical approaches have been performed using discrete models. Extended Potts models, for example, consider cells arranged on a grid and local rules for cell migration and replication [23]. Such models were used by Turner and Sherratt [24] to show numerically the influence of cell–matrix adhesion on tumour invasiveness, as well as the possible split of a tumour mass into two distinct clusters. Multiscale models often employ a discrete approach in which internal cell processes and diffusion on a continuous space can be taken into account, simulating a wide range of processes, as done by the software CellSys recently developed by Hoehme and Drasdo [25]. Ramis-Conde *et al* [21] used such a multiscale approach to show the influence of specific cell adhesion molecules (CAMs) in regulating the dynamics of cancer invasion. Nevertheless, discrete models are only adapted to relatively small systems due to long computational times, and the extent of their result is limited to numerical simulations. Although being simple, some

continuous models have been developed [26] in order to overcome this limitation, providing an analytical insight into the aggregation process. Recently, Klein *et al* [27] proposed a model based on the Cahn–Hilliard equation to explain both analytically and numerically the existence of clusters for stem cell repartition in the epidermis.

On the other hand, multiphase models provide a realistic framework based on the mixture theory and have been widely adopted for tumour growth modelling, as recently reviewed by Lowengrub *et al* [28] and Preziosi *et al* [29, 30]. These models describe biological tissues as a mixture of multiple phases (e.g. different cell types, extracellular matrix and interstitial fluid) and are potentially valuable in the medical context for simulating cancer growth inside various tissues on large scales. However, very few analytical studies have been performed to study the mathematical properties of these models, as most of the work has been focused on numerical simulations in specific geometries [28, 31, 32]. In particular, Lowengrub and coworkers reported that early multiphase models include a dependence of cell–cell adhesion on the local cell volume fraction, leading to backward parabolic equations [33] with features similar to a spinodal decomposition in classical phase separation theory [13, 34, 35]. Well-posed models with governing equations of the Cahn–Hilliard type have been developed in order to correct previous inconsistencies [36], but nothing is known about the dynamics of the spinodal decomposition and the phase ordering in such models. Recalling the importance of cell clustering in skin cancer diagnosis, we aim at analysing the occurrence of spinodal decomposition and cell aggregation in a multiphase model of tumour growth.

The paper is organized as follows. In section 2, we provide a brief review of skin cancer biology before introducing a two-phase model for a skin tumour with a general form of cell–cell interaction. In section 3, we study the stability of the mixture, both analytically and numerically, first neglecting mass exchanges between the phase and then accounting for cell proliferation in a reaction–diffusion process. The phase-ordering dynamics and the resulting patterns are compared to the results of earlier models of spinodal decomposition in other fields. Finally, in section 4, we discuss the extent to which our results have possible application in skin tumour diagnosis.

2. Multiphase modelling of cell–cell adhesion for skin cancer

2.1. Skin cancer biology

The skin is made of three main layers: the hypodermis, the dermis and the epidermis. In this work, we focus on the early stages of skin cancer development, occurring in the two upper layers. The dermis contains blood and lymphatic vasculature, hair follicles, glands and nerves. It is a very elastic tissue due to an extended network of collagen and elastin fibres. The epidermis is the outermost layer of the skin that acts as a protective barrier from the external environment. It is mainly constituted by a type of cells called keratinocytes (see figure 2). The keratinocytes proliferate on a basal membrane separating the dermis from the epidermis, and migrate to the skin surface while differentiating, ultimately creating a layer of dead cells and lipids, the stratum corneum. Keratinocytes adhere strongly to each other via desmosomes to provide impermeability to the tissue. Skin is protected from sun damage by another cell population, the melanocytes, which are located at the basal membrane, provide melanin to the surrounding cells and are responsible for skin pigmentation. Sun exposure [38] or virus infection [39] can cause deregulation of the epidermal cells that start proliferating

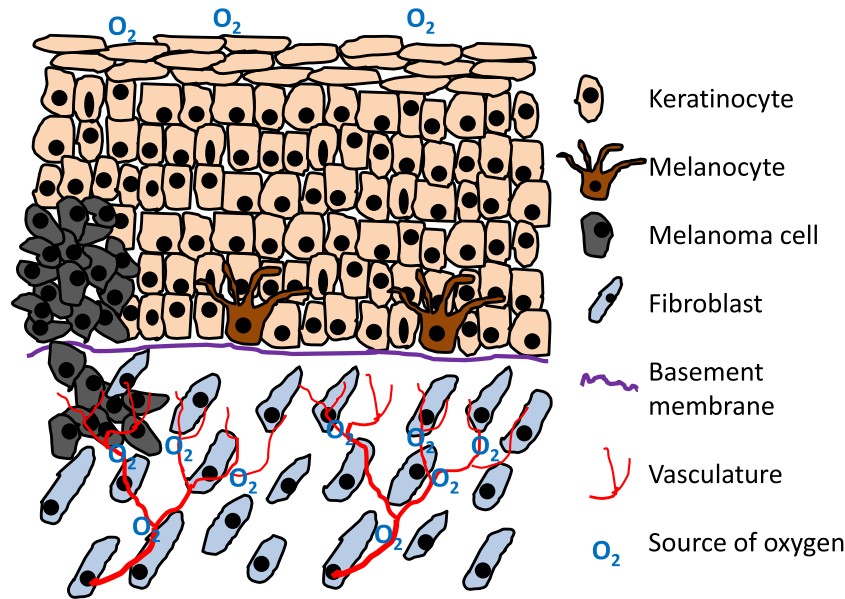


Figure 2. Schematic representation of the two first layers of the dermis. The epidermis is the outermost layer and is mainly composed of 90% keratinocytes and 5% melanocytes responsible for skin pigmentation. The epidermis is separated from the dermis by a basement membrane, a thin sheet of fibres. Nutrient supply to these two layers is provided by diffusion from the dermis vasculature and, in the case of oxygen, from the atmosphere [37]. Skin cancer originates, in particular, from keratinocytes (basal cell carcinoma) and melanocytes (cutaneous melanoma) that proliferate abnormally and invade the epidermis and the dermis after penetration through the basement membrane.

abnormally, leading to uncontrolled invasion of the surrounding tissue. Most of the resulting tumours are classified into two types: non-melanoma (NMSC) and melanoma skin cancer. Basal cell carcinoma (BCC) is the most common NMSC and originates from the stem cells of the epidermis, lying on the basal membrane [40]. It is often clinically characterized by a lesion with large blue-grey nests, small blue-grey globules and leaf-like structures [2]. Although it has a low probability of creating metastasis, its high incidence rate is a major problem for health care organizations [41]. Squamous cell carcinoma (SCC) is another NMSC that originates from the stratified epithelium over the basal cells. Although less common than BCC, it has a much larger metastasis rate. Finally, melanoma skin cancers originate from melanocytes, sometimes from pre-existing benign lesions called nevi (as depicted in figure 1(C, D)). Melanoma usually develop first in the epidermis, undergoing a radial growth phase before vertically invading the dermis. They represent less than 5% of skin cancers but are responsible for more than 75% of skin cancer-related deaths. Irregular patterns and a non-uniform distribution of globules or clusters of pigmented cells are key features for melanoma diagnosis [3].

We are interested in understanding the influence of specific cell-cell adhesion and the tumour microenvironment on the occurrence of such microstructural patterns resulting from cell aggregation. For this purpose, we provide in the following a theoretical investigation of phase ordering phenomena in a multiphase tumour model.

2.2. Binary mixture model of a skin tumour

For the sake of simplicity, we consider a simple multiphase model of the tumour lesion: a mixture of a cancerous cellular phase (arising from keratinocytes or melanocytes) with volume fraction ϕ_c and averaged local velocity $\mathbf{v}_c$, and a liquid phase (interstitial fluid) with volume fraction ϕ_l and velocity $\mathbf{v}_l$ also containing dead cells and eventually other cell types. These two phases fill all the available space imposing the saturation constraint $\phi_c + \phi_l = 1$. Assuming that the density of both phases is equal to the water density ρ , the mass conservation is given by the following equations:

$$\frac{\partial \phi_c}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c) = \Gamma_c, \quad (1)$$

$$\frac{\partial \phi_l}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_l \mathbf{v}_l) = \Gamma_l, \quad (2)$$

with $\rho \Gamma_c = -\rho \Gamma_l$ the mass transfer rate from the liquid phase to the cellular phase, resulting from cell proliferation and death (or shrinkage). The saturation constraint also imposes the following incompressibility condition:

$$\nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c + \phi_l \mathbf{v}_l) = 0. \quad (3)$$

Tissue reorganization is here only a result of tumour cell proliferation and mechanical interaction, under the saturation and incompressibility constraints.

Cells adhere to each other via cell adhesion molecules (CAMs) located at their plasma membrane. In particular, normal melanocytes express proteins for adhering and communicating with keratinocytes (E-cadherin, desmoglein and connexin). These proteins are down-regulated during melanomagenesis, while proteins for melanocyte–melanocyte communication and adhesion are up-regulated (N-cadherin, Mel-CAM, integrin, ALCAM and connexin) [42]. In contrast, healthy keratinocytes strongly adhere to each other via desmosomes, which become strongly down-regulated in BCC cells, resulting in a less dense tissue [40]. Following Wise *et al* [36], we take into account these interactions between cells into the free energy of the cellular phase, assuming a weakly nonlocal dependence on the cellular phase density ϕ_c

$$F_c = \int_{\Omega} \left(\psi(\phi_c) + \frac{\epsilon^2}{2} |\nabla \phi_c|^2 \right) d\Omega, \quad (4)$$

where ψ is the free energy per unit of volume for a homogeneous tissue and the term in ϵ^2 represents a surface energy penalizing large gradients of cellular concentration [36].

We assume that the viscous interactions between the cells and the liquid phase are the main source of energy dissipation in the system, which therefore reads

$$W = \int_{\Omega} \frac{M \phi_c}{2} (\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_l)^2 d\Omega, \quad (5)$$

where M is a constant friction parameter. Measurements of the Darcy law in rat skin allow us to estimate this parameter to be in the range of $M \sim 963\text{--}11571 \text{ mm}^{-2} \text{ Pa day}$ [43, 44]. Following Doi and Onuki [45], we use Rayleigh's variational principle indicating that the system dynamics can be obtained by minimizing the Rayleighian, defined by Doi and Onuki as $\mathcal{R} = W + dF_c/dt$, with respect to the velocities $\mathbf{v}_c$ and $\mathbf{v}_l$. In order to account for the incompressibility constraint

given in equation (3), we introduce a Lagrange multiplier p before minimizing the following functional:

$$\mathcal{R} = \int_{\Omega} \left[\underbrace{\frac{M\phi_c}{2} (\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_1)^2}_{\text{dissipation}} + \underbrace{\left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right) (-\nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c) + \Gamma_c)}_{\text{variation of free energy}} - \underbrace{p \nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c + \phi_1 \mathbf{v}_1)}_{\text{incompressibility}} \right] d\Omega. \quad (6)$$

When integrating by part the variation of free energy (the second term of equation (6)) border terms have to be considered at infinity. The governing equations are therefore written:

$$M\phi_c (\mathbf{v}_1 - \mathbf{v}_c) + \phi_1 \nabla p = 0, \quad (7)$$

$$\underbrace{M\phi_c (\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_1)}_{\text{friction}} + \underbrace{\phi_c \nabla \left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right)}_{\text{stress of the cellular phase}} + \underbrace{\phi_c \nabla p}_{\text{hydrostatic pressure}} = 0, \quad (8)$$

which can be interpreted as the force equilibrium in each phase, assuming a system with negligible inertia. Eliminating the pressure p in equations (8) and (7) the relative movement of the two phases is given by

$$\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_1 = -\frac{(1 - \phi_c)}{M} \nabla \left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right). \quad (9)$$

In the absence of external forces and considering a high viscosity for the mixture, symmetry requirements impose that the centre of mass of the mixture is not moving, i.e. $\phi_c \mathbf{v}_c + \phi_1 \mathbf{v}_1 = 0$, which is a particular incompressible motion. In this case, the velocity of the cell phase is given by a Darcy-like law, as follows:

$$\mathbf{v}_c = -K(\phi_c) \nabla \Sigma, \quad (10)$$

$$K(\phi_c) = \frac{(1 - \phi_c)^2}{M} \quad (11)$$

with the excess pressure exerted by the cells defined by

$$\Sigma = \frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c = f(\phi_c) - \epsilon^2 \Delta \phi_c. \quad (12)$$

In the following, $f(\phi_c) = \partial \psi / \partial \phi_c$ denotes the pressure in a homogeneous system. For physical consistency, cell-cell interactions should be attractive at a moderate cell volume fraction ($f(\phi_c) < 0$ for $\phi_c < \phi_e$), because of cell adhesion, and repulsive at a high volume fraction ($f(\phi_c) > 0$ for $\phi_c > \phi_e$), as depicted in figure 3. Jain [46] reviewed the cell volume fraction in human epidermis, giving $\phi_e = 0.63$ – 0.87 assuming that the tissue is close to mechanical equilibrium. Moreover, adding equations (7) and (8) gives $\nabla p = -\nabla \Sigma$, showing that the interstitial fluid pressure p and the excess pressure Σ generated by the cells have the same typical value χ . The review by Jain reports the interstitial fluid pressure in various tissues and tumours, giving the estimate $\chi \sim 133$ – 1330 Pa. The term $\epsilon / \sqrt{\chi}$ gives a characteristic distance of interaction between cells. An estimate of this interaction is given by the cell size, typically 6 – $20 \mu\text{m}$ for melanoma cells [47], but can eventually be larger when taking into account paracrine interactions. The dynamics of the cellular phase is given by

$$\frac{\partial \phi_c}{\partial t} = K(\phi_c) \nabla \cdot (f(\phi_c) - \epsilon^2 \Delta \phi_c) + \Gamma_c. \quad (13)$$

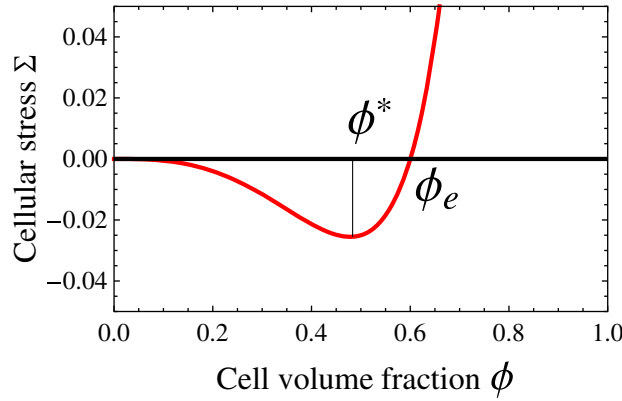


Figure 3. Excess stress Σ exerted by the cells in a homogeneous tissue (here $f = \Sigma$ as the gradient of ϕ is zero). For biological and physical consistency, this stress vanishes at $\phi = 0$ (absence of cells), is negative under an equilibrium volume fraction ϕ_e (cell attraction) and is positive at a high cell volume fraction (cell repulsion). If $\Gamma_c = 0$, such a cell–cell interaction triggers a spinodal decomposition for $\phi < \phi^*$, where $f'(\phi) < 0$.

Finally, we investigate the effect of nutrient limitation on cell growth in the system. In a first approximation, we assume that the cell proliferation Γ_c depends linearly on the concentration n of a diffusing nutrient (e.g. oxygen or glucose):

$$\Gamma_c = \gamma_c \phi_c (n/n_s - \delta_c), \quad (14)$$

where n_s is a typical nutrient concentration inside the tissue. In particular, Creasey *et al* [48] measured the doubling time of primary melanoma cells in culture giving $\gamma_c n = 0.2 \text{ day}^{-1}$, while Bedogni and Powell [49] have reported the behaviour of normal and tumour cells in various hypoxia conditions, leading to typical values of $\delta_c = 0.1\text{--}0.33$. Nutrients are delivered from the vasculature (and from the atmosphere in the case of oxygen), diffuse into the interstitial fluid with a diffusion constant D_n and are consumed by the cells at a constant rate, δ_n . In particular, Johnson *et al* [50] measured oxygen diffusion in the healthy epidermis with $D_n = 39.7 \text{ mm}^2 \text{ day}^{-1}$ and Stucker *et al* [37] have reported skin oxygen consumption in the range of $\delta_n = 1190\text{--}3310 \text{ day}^{-1}$. Due to the fast diffusion as compared to the growth velocity, we assume the following expression for the nutrient concentration at equilibrium:

$$D_n \Delta n - \delta_n \phi_c n + S_n (n_s - n) = 0, \quad (15)$$

where S_n is the diffusion constant from the source of nutrients, which can either be the blood supply or the atmosphere for an avascular skin tumour in the epidermis (e.g. radial growth phase of melanoma, see [51]), and n_s is the nutrient concentration at the source. Stucker *et al* [37] measured the variation of oxygen partial pressure in healthy skin, giving the estimate $n_s = 3320\text{--}10400 \text{ Pa}$.

2.3. Dimensionless equations

With the aim both to provide an analytical study of the governing equations and to perform numerical simulations, we define the dimensionless quantities:

$$\hat{x} = x/l_n, \quad \hat{n} = n/n_s, \quad \hat{t} = t\gamma, \quad (16)$$

Table 1. Estimation of the model parameters from the experimental data on healthy and diseased skin.

ϕ_e , cell volume fraction at mechanical equilibrium	0.64–0.87	Jain [46]
M , interphase friction	963–11571 mm ⁻² Pa day	van Kemenade <i>et al</i> [43] and Swabb <i>et al</i> [44]
χ , interstitial fluid pressure in healthy skin	133 Pa	Jain [46]
χ , interstitial fluid pressure in skin carcinoma	1330 Pa	Jain [46]
$(\epsilon/\sqrt{\chi})$, melanoma cell size	6–20 μ m	Clark <i>et al</i> [47]
γ_c , melanoma cell proliferation rate	0.2 day ⁻¹	Creasey <i>et al</i> [48]
δ_c , threshold for cell death rate due to anoxia	0.1–0.33	Bedogni and Powell [49]
D_n , oxygen diffusion coefficient in the skin	39.7 mm ² day ⁻¹	Johnson [50]
δ_n , oxygen consumption rate of the skin	1190–3310 day ⁻¹	Stucker <i>et al</i> [37]
S_n	10 ⁴ day ⁻¹	Chatelain <i>et al</i> [51]
n_s , oxygen partial pressure in the skin	3320–10400 Pa	Stucker <i>et al</i> [37]
l_n , nutrient penetration length	0.1–0.18 mm	Section 2.3
D	1.7–690	
ϵ	0.02–0.2	
δ	0.1–0.33	
β	0.1–8.4	

$$\hat{f} = f/\chi, \quad \hat{K}(\phi_c) = (1 - \phi_c)^2, \quad (17)$$

$$D = \chi/(M l_n^2 \gamma n_s), \quad \hat{\epsilon}^2 = \epsilon^2/(\chi l_n^2), \quad \beta = S_n/\delta_n, \quad (18)$$

where $l_n = \sqrt{D_n/\delta_n}$ is the nutrient penetration length. Dropping the hats and the index for the cell phase, the dimensionless governing equations can be written as

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D \nabla \cdot (\phi K(\phi) \nabla [f(\phi) - \epsilon^2 \Delta \phi]) + \phi(n - \delta), \quad (19)$$

$$\Delta n - \phi n + \beta(1 - n) = 0. \quad (20)$$

An estimation of such dimensionless parameters is given in table 1 from the experimental data in the biomedical literature.

3. Linear stability analysis of the binary mixture and phase ordering

In this section, we consider an initially homogeneous binary mixture, with cancer cell volume fraction ϕ_0 , and we investigate the occurrence of a spinodal decomposition (spontaneous phase separation). We perform a linear stability analysis on our multiphase tumour model for an infinite system. We then compare the results with simulations realized on a system with periodic boundaries.

3.1. Linear stability analysis in the absence of mass exchanges

In the absence of mass exchanges between the phases ($\Gamma_c = 0$), equation (19) can be simplified by re-scaling space and time by $\hat{x} = x/\epsilon$ and $\hat{t} = t D/\epsilon$, and dropping the hats, we obtain the

following relation:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \nabla \cdot (\phi K(\phi) \nabla [f(\phi) - \Delta \phi]). \quad (21)$$

We consider an initially spatially uniform cell density ϕ_0 and an infinitesimal perturbation given by

$$\phi = \phi_0 + \delta \phi \exp(\lambda t) \cos(kx). \quad (22)$$

Substituting this expression into equation (21), at the order ϵ we obtain the growth rate λ of the perturbation:

$$\lambda = -D\phi_0 K(\phi_0) [k^2 f'(\phi_0) + \epsilon^2 k^4]. \quad (23)$$

If $f'(\phi_0) < 0$ (i.e. for a cell volume fraction $\phi_0 < \phi^*$ as shown in figure 3), the binary mixture is always unstable in the long-wavelength domain $k < \sqrt{-f'(\phi_0)}/\epsilon$, and the system undergoes a spinodal decomposition for all values of parameters ϵ and D . Note that here the strength of the cell–cell interaction coefficient D plays a similar role as the temperature in the common phase separation models. In fact, the governing equation is equivalent to the phenomenological equation for phase-separating systems with an order-parameter-dependent mobility $M(\phi)$, which corresponds here to $\phi K(\phi)$, as described in [52, 53]. After a transitory regime of phase separation, these systems are composed of single-phase domains organized into self-similar patterns, which are characterized by a typical length $L(t)$ increasing with time. Given such a similarity with our multiphase tumour model, we expect to observe the same patterns and growth law in our system. However, we note that in our multiphase model the equivalent of the mobility, $\phi K(\phi)$, vanishes at $\phi = 0$ in an unstable domain ($f'(\phi) < 0$ for $\phi \ll 1$), which is not the situation studied in [52, 53], so that we might expect some differences in the dynamics of our system. We anticipate, as shown in figure 10, that the typical length distribution in our model is different from the one obtained from the Cahn–Hilliard equation.

3.2. Linear stability analysis including cell death and proliferation

When taking into account cell death and proliferation, the order parameter ϕ is not conserved anymore and therefore we expect a different phase ordering dynamics [35], arising from the presence of mass exchanges in equation (19). The homogeneous and stationary solution of equations (19) and (20) is given by

$$\phi_0 = \frac{\beta(1-\delta)}{\delta} \quad \text{and} \quad n_0 = \delta \quad (24)$$

and corresponds to a homeostatic state where cell division (resp. nutrient consumption) equilibrates cell death (resp. nutrient delivery). An infinitesimal perturbation of wavevector k around this solution can be written as follows:

$$\phi = \phi_0 + \delta \phi \exp(\lambda t) \cos(kx), \quad (25)$$

$$n = n_0 + \delta n \exp(\lambda t) \cos(kx). \quad (26)$$

Substituting this expression into equations (19) and (20), the growth rate of the perturbation is determined by the following relation:

$$\lambda = -\phi_0 \left[DK(\phi_0)(f'(\phi_0)k^2 + \epsilon^2 k^4) + \frac{\delta^2}{k^2 \delta + \beta} \right]. \quad (27)$$

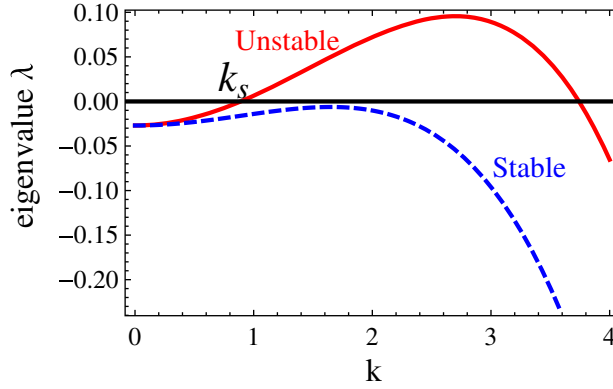


Figure 4. The eigenvalue λ as a function of the wavevector k of the perturbed field (see equation (27)) for our model with cell proliferation. The coupling of the diffusive nutrient stabilizes the long-wavelength domain $k < 1$, typically longer than the nutrient penetration length. The mixture is linearly unstable for $f'(\phi_0) = -0.1$ (continuous line), while it becomes stable for $f'(\phi_0) = -0.03$ (dashed line). Other material parameters are set at $\epsilon = 0.084$, $D = 2.0$, $\beta = 0.2$, $\phi_0 = 0.3$.

The coupling with the diffusing nutrients is responsible for the last term in equation (27), which stabilizes the mixture against long-wavelength perturbations, as depicted in figure 4. This term introduces a second typical length in the system, which has been identified as a typical mechanism of pattern selection in phase-ordering systems, such as block copolymers and reaction-controlled separating mixtures [54]. As it has been observed in those systems, a saturation of the domain growth at a finite size is expected, and the order parameter should be conserved at large scales. The dispersion relation depicted in figure 4 is indeed similar to that derived by Klein *et al* [27] for their Cahn–Hilliard model of stem cell clustering in the epidermis. In their case a second typical length is given through contact inhibition and stem cell differentiation. We find here similar properties in a different modelling framework and expect comparable behaviours. Assuming $\epsilon \ll 1$ in equation (27), the saturation length in our model is given by

$$l_s = 2\pi \sqrt{\frac{1 - \frac{D\phi_0 K(\phi_0) f'(\phi_0)(\phi_0 + \beta)^2}{\phi_0 n_0}}{\phi_0 + \beta}} = \frac{2\pi}{k_s}. \quad (28)$$

From equation (27), we can derive the value of the wavevector $k_{\max}$, which gives the maximum growth rate during phase separation, and define a function g relating all the parameters, whose sign controls the stability of the binary mixture. The domain where $g > 0$ indicates the occurrence of a phase separation (see diagram phases in figure 5), as follows:

$$g(\beta, \delta, D, f', \epsilon) = -2(\sqrt{(\beta\epsilon^2 - \delta f')^2 + \beta\epsilon^2 \delta f'} - (\epsilon^2 \beta + \delta f'))((\beta\epsilon^2 - \delta f')^2 + \beta\epsilon^2 \delta f') \\ - 3\beta\epsilon^2 \delta f'(\beta\epsilon^2 + \delta f') + \frac{(3\epsilon^2 \delta^2)^3}{D\epsilon^2(\delta(1 + \beta) - \beta)^2}. \quad (29)$$

The sign of g gives the phase diagram depicted in figure 5, where the unstable region (red domain) becomes less important here compared to the case without mass exchanges (outside of the grey domain). Interestingly, the stability of the mixture seems to depend mostly on the initial

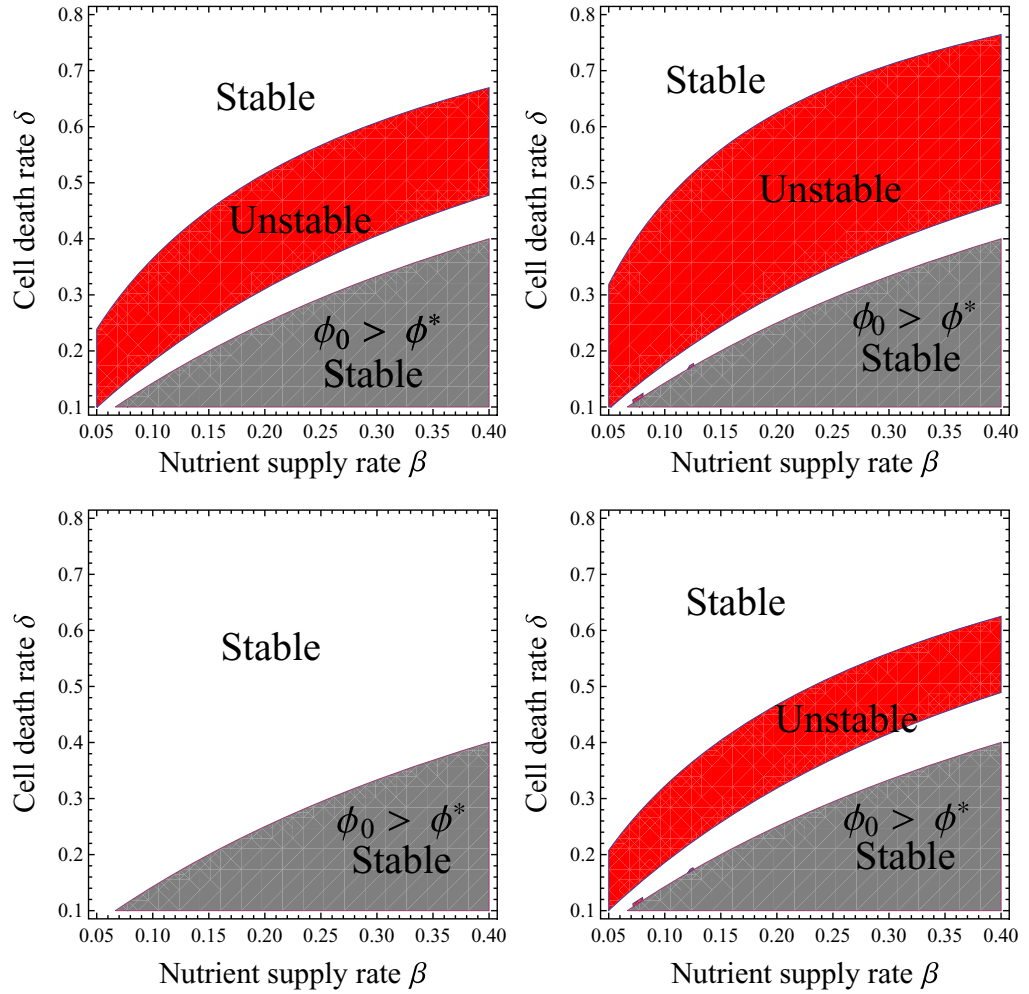


Figure 5. Phase diagrams for the stability of a homogeneous mixture with an initial equilibrium cancer cell volume fraction ϕ_0 and nutrient concentration n_0 , given as a function of the dimensionless parameters δ (cell death rate) and β (nutrient supply rate) for $\epsilon = 0.2$ (left) and $\epsilon = 0.084$ (right) and for $D = 2$ (top) and $D = 20$ (bottom). In the grey domains $\phi_0 > \phi^*$, and the mixture is stable as in the absence of cancer cell proliferation. The coupling with the diffusing nutrients has the tendency to stabilize the mixture and the unstable area is restricted to the red domain. Interestingly, the limit of this domain seems to correspond to surfaces of the constant ϕ_0 .

cell concentration ϕ_0 , as the limit of the unstable region corresponds numerically to a surface of constant ϕ_0 .

3.3. Numerical simulations neglecting mass exchanges between phases

Numerical simulations of equation (21) were performed in a two-dimensional $N \times N$ periodic lattice for different homogeneous distributions of ϕ_0 and an initially uncorrelated white noise with amplitude $0.01\phi_0$. We discretized the equations using centred second-order accurate

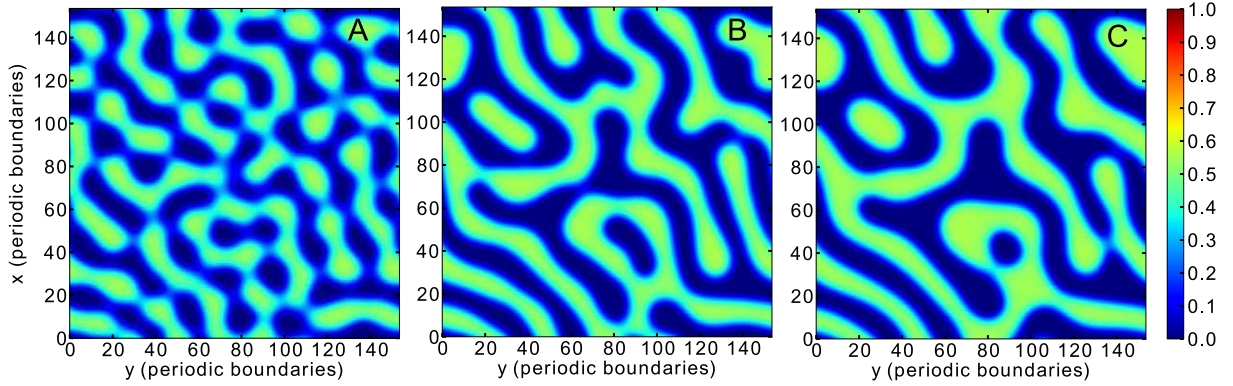


Figure 6. Spinodal decomposition of an initially homogeneous system with $\phi_0 = 0.25$ and without mass exchanges between the phases. Simulations are shown for $t = 1000$ (A), $t = 18\,000$ (B) and $t = 28\,000$ (C). The colourscale represents the cell volume fraction. Time and sizes are given in dimensionless units. Other parameters are set at $\phi_e = 0.6$, $\epsilon = 1$.

differencing schemes in space and explicit first-order accurate forward schemes in time. Moreover, we use a phenomenological form of f in Σ that respects the biological and physical constraints we discussed in section 2 (see figure 3)

$$f(\phi) = \frac{\phi^p(\phi - \phi_e)}{1 - \phi}, \quad (30)$$

where p must be strictly greater than one. We choose $p = 2$ in the simulations and $\phi_e = 0.6$. The order-parameter-dependent mobility $M(\phi) = \phi K(\phi)$ vanishes for $\phi \rightarrow 0$ such that the value of ϕ remains always positive, ensuring the physical consistency of our model [53]. However, numerical fluctuations introduced by the discretization of the equations in the simulations can lead to domains with negative ϕ . In order to solve this problem, we set ϕ to 0 whenever it becomes negative and we use a fine mesh ($\Delta x = 0.15$ and $\Delta t = 10^{-4}$) to ensure that the average value of ϕ is conserved. In order to improve the computational time, we implemented our program on a graphic processors unit, GPU, using the CUDA parallel programming language. We used a GTX-580 Nvidia graphic card, and our computational time was consistently reduced.

In figure 6, we depict the evolution of a system with an initial cell density $\phi_0 = 0.25$ and a small initial uncorrelated white noise. We can see that the system exhibits two kinds of domains after a transitory regime: one is empty of cells ($\phi = 0$) and the other rich in cells ($\phi = 0.54 \approx \phi_e$), forming maze-like patterns. Figure 7 shows the patterns obtained for a lower initial cell density $\phi = 0.15$ with the appearance of isolated clusters of cells. Considering that the total number of cells in the system is conserved, the dependance of the domain geometry on the initial concentration of cell ϕ_0 is predicted in the classical theory of spinodal decomposition in such systems [35, 52]: isolated circular clusters of cells for small ϕ_0 and isolated circular domains empty of cells for $\phi_0 \approx \phi^*$. Moreover, a critical concentration $\phi_t \approx \phi_e/2$ is defined as the concentration at which cell domains occupy half of the space. For an intermediate initial concentration $\phi_0 < \phi_t$ (resp. $\phi_0 > \phi_t$), maze-like patterns appear during a transitory regime, before reorganizing into isolated circular clusters of cells (resp. domains empty of cells) at long times. The duration of the maze-like pattern regime diverges as ϕ_0 gets closer to ϕ_t , explaining the structure observed in figure 6 with $\phi_0 = 0.25$ and $\phi_t \approx \phi_e/2 = 0.3$.

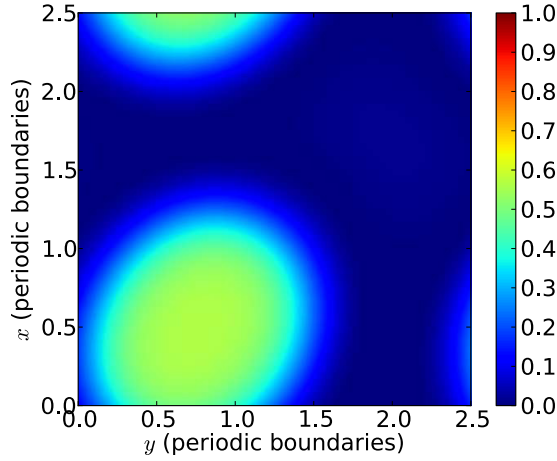


Figure 7. The formation of a cluster of cancer cells after spinodal decomposition of an initially homogeneous system with $\phi_0 = 0.15$ and without cell proliferation; note that $t = 201$, $\phi_e = 0.6$, $\epsilon = 1$.

In order to make a comparison with existing results on phase ordering, we calculate the spherically averaged time-dependent structure factor $S(k, t) = \langle \tilde{\phi}(\mathbf{k}, t) \tilde{\phi}(\mathbf{k}, t)^* \rangle$, where $\tilde{\phi}$ is the Fourier transform of ϕ and the average is taken on the angles of the wave vector, which gives access to the length distribution in the system. In particular, this distribution provides a definition of the typical length of the system at time t [52] (e.g. the width of the maze paths in figure 6 or the diameter of the clusters in figure 7)

$$L(t) = \left[\frac{\int_k k S(k, t)}{\int_k S(k, t)} \right]^{-1}. \quad (31)$$

As depicted in figure 8, the structure factor exhibits here a self-similar scaling [55], as in classical phase separation models, which reads

$$S(k, t) = L(t)^2 G(kL(t)), \quad (32)$$

where G is a master function. The interpretation of the dynamical scalings is as follows: the patterns maintain their morphology while their characteristic length $L(t)$ grows over time. Interestingly, our master curve seems to exhibit a much narrower peak compared to that described in [52] for phase separation with order-parameter-dependent mobility. This effect might be related either to a lack of data or to the mobility coefficient that vanishes in an unstable domain of ϕ for the binary mixture.

The time-dependent lengthscale $L(t)$ exhibits a power-law evolution, as shown in figure 8, with an exponent 0.37 close to the Lifshitz–Slvovzov growth law $L(t) \sim t^{1/3}$, which is found in late stage phase ordering in conserved order parameter systems [35]. Finally, these simulations show that multiphase models may undergo spinodal decompositions and that they share the same properties of well-known models as phase ordering.

3.4. Numerical simulations considering cell death and proliferation

Taking into account a binary mixture with cell death and proliferation, the linear perturbation analysis has shown that a homogeneous distribution of cells might be unstable given certain conditions. Numerical simulations have been performed in a two-dimensional $N \times N$ periodic

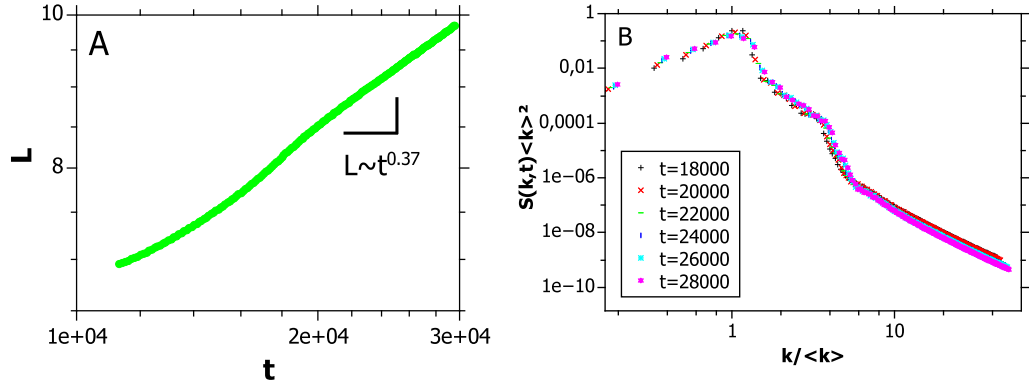


Figure 8. (A) Neglecting mass exchanges between the phases, the domain size defined in equation (31) follows a power growth law $L(t) \sim t^\alpha$ with an exponent $\alpha \approx 0.37$. (B) Superposition of scaled structure factor $S(k, t) \langle k \rangle^2$, giving the length distribution in the system, in a log scale as a function of $k/\langle k \rangle$ at different times: $t = 18\,000$, $t = 20\,000$, $t = 22\,000$, $t = 24\,000$, $t = 26\,000$ and $t = 28\,000$. The structure factors collapse on a master function showing the existence of a self-similar growth, as in standard spinodal decomposition. The corresponding system is shown in figure 6 with $\phi_0 = 0.25$, $\phi_e = 0.6$, $\epsilon = 1$ and $\Gamma_c = 0$.

lattice solving equations (19) and (20) with an initial uniformly distributed concentration of cancer cells and nutrient. The initial values of ϕ and n are set by the homogeneous and stationary solutions ϕ_0 and n_0 , defined in equation (24), with an initial uncorrelated white noise for ϕ of amplitude $0.01\phi_0$. In order to solve equation (20) numerically, we have rewritten it as follows:

$$\partial_t n = \bar{d}(\Delta n - \phi n + \beta(1 - n)) \quad (33)$$

using a very fast relaxation time $\bar{d} \gg 1$ (in the simulations $\bar{d}$ is set to 5).

Figure 9 shows the influence of the initial cell density ϕ_0 on the geometry of the system, as for the case with $\Gamma_c = 0$. In the first row, a system with a low initial density $\phi_0 = 0.05$ forms isolated circular clusters of cancer cells, while in the second row a high initial density $\phi_0 = 0.3$ gives rise to isolated circular domains empty of cancer cells. Dots and globular patterns described in figure 1 for skin tumours can therefore be reproduced by a spinodal decomposition in a multiphase model. Furthermore, we note that the existence of an additional typical length l_s stabilizes the phase-ordering pattern in a regular inhomogeneous distribution of cells (the left column of figure 9). The growth saturation of the domain can stabilize the pattern into isolated circular clusters, as shown in the first two rows of figure 9, or into a maze-like pattern if the saturation occurs in an earlier stage (l_s close to the typical length of the phase separation) or if the system is close to criticality, as depicted in the third row of figure 9. In particular, the last row of figure 9 shows an extreme case where the pattern is stabilized just after the phase separation without a transitory growth regime, due to a saturation length $l_s = 9.1$ (derived from equation (28)) close to the typical length of the phase separation $l_{\max} = 2\pi/k_{\max} = 6.89$ ($k_{\max}$ defined as the maximum of λ in equation (27)).

After phase separation, we observe a transitory regime where the domain grows as t^α with an exponent α that depends on the model parameters. We found that $\alpha = 0.38$ for the evolution depicted in the second row of figure 9 and $\alpha = 0.35$ in the third row for a different cell–cell

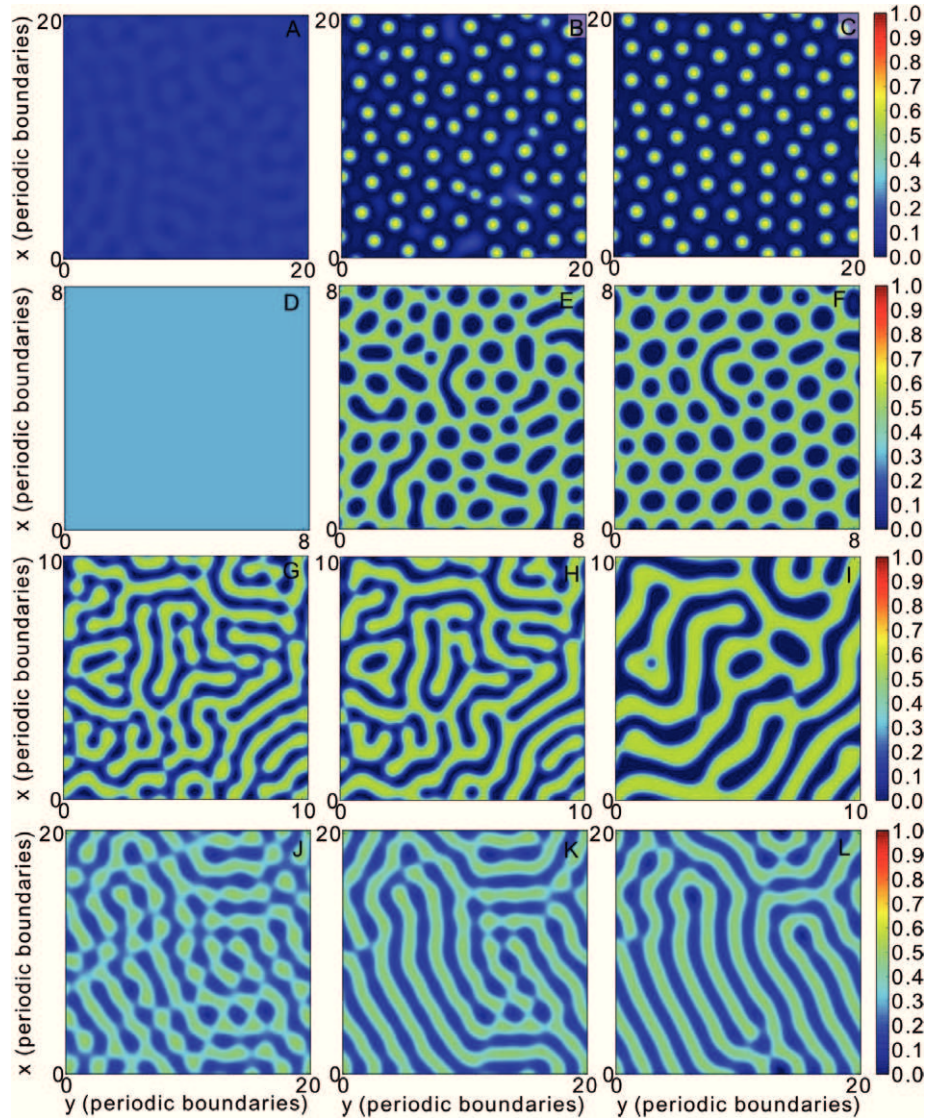


Figure 9. Spinodal decomposition with cell proliferation of an initially homogeneous system with equilibrium cell concentration ϕ_0 , during phase separation (the first line), during the transitory regime of domain growth and reorganization (the centre) and at long times showing saturation of the pattern size (left). (A)–(C) The formation of isolated circular clusters of cancer cells at low initial cell concentration $\phi_0 = 0.05$, $\epsilon = 0.1$, $\beta = 0.1$, $\delta = 0.5$, $D = 2$ ($t = 200$, $t = 250$, $t = 1500$). (D)–(F) The formation of isolated circular domains empty of cancer cells at a high initial cell concentration $\phi_0 = 0.3$, $\epsilon = 0.014$, $\beta = 1$, $\delta = 0.4$, $D = 2$ ($t = 500$, $t = 1000$, $t = 10\,000$). (G)–(I) Maze-like patterns during the transitory domain growth regime. Note that $\phi_0 = 0.3$, $\epsilon = 0.032$, $\beta = 0.2$, $\delta = 0.4$, $D = 2$ ($t = 1$, $t = 20$, $t = 200$). (J)–(L) Maze-like pattern stabilized just after phase separation without a transitory growth regime, due to saturation length l_f close to the typical wavelength of phase separation. Note that $\phi_0 = 0.3$, $\epsilon = 0.084$, $\beta = 0.2$, $\delta = 0.4$, $D = 2$ ($t = 30$, $t = 600$, $t = 3600$). For (G)–(L), $f(\phi) = \phi^3(\phi - \phi_c)/(1 - \phi)$.

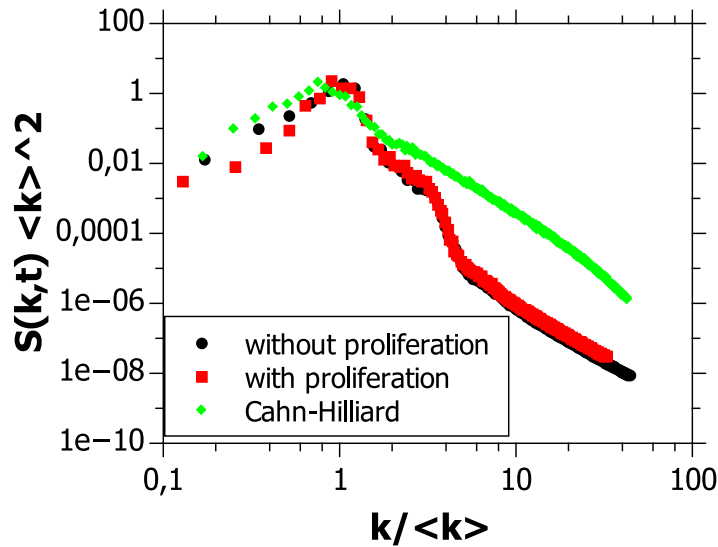


Figure 10. The re-scaled structure factors collapse on a similar master function for our model without cell proliferation and with cell proliferation before the domain size saturates. Note the difference with the re-scaled structure factors for the standard Cahn–Hilliard equation. The difference could be due to a lack of data for our model or to the effective mobility that vanishes in an unstable domain $\phi = 0$ in our multiphase model.

interaction ($p = 3$ and $p = 2$, respectively). However, we found that during the transitory growth regime the structure factor exhibits a self-similar behaviour with size distributions collapsing on a master curve, which is similar to that found for $\Gamma_c = 0$ (see figure 10). As predicted by the theoretical analysis, the domain growth saturates when reaching a size of the order of the nutrient penetration length, which is the dimensionless unit in our simulation. From a biological perspective, when the diameter of a cellular cluster reaches twice the nutrient penetration length, cell proliferation stops in the cluster core due to a lack of available nutrients.

4. Discussion and comparison with biological data

Skin cancers, both melanoma and non-melanoma, often present microstructural patterns such as clusters and dots (figure 1). Here we investigate the emergence of such patterns using a binary mixture model for the tumour, also accounting for a realistic cell–cell adhesion mechanism, and we explain them as a phase separation between two cellular types. Our theoretical model predicts the occurrence of structures with a typical size of $l_s \approx 2l_n = 0.2$ mm (see table 1), which are compatible with the size of tumour cell clusters observed clinically. Being much larger than a typical cell size of $6\text{--}20\ \mu\text{m}$ for melanoma cells [47], this characteristic length is therefore compatible with a multiphase modelling of the system. As classically found for binary fluid mixtures under a critical temperature, our model predicts that cell segregation occurs when adhesion between cells of the same type becomes large enough. This result corresponds to the cadherin switch clinically observed during melanomagenesis, where melanocyte–melanocyte interactions are up-regulated, while melanocyte–keratinocyte interactions are down-regulated [42].

Neglecting cell proliferation and death, our multiphase tumour model is very similar to the Cahn–Hilliard equation but leads to a different expression for the mobility [52, 53]. After the phase separation, due for example to a phenotypic change inducing stronger cell–cell interactions, tumour cells form cluster (maze-like) patterns for an initially low (high) density. We found that these microstructures enlarge with time according to the Lifshitz–Slvozov growth law $L(t) \sim t^{1/3}$. Cell proliferation, controlled here by the local nutrient concentration, introduces a second typical length in the system other than the nutrient penetration length, preventing long-lengthscale variation of the cell density. When reaching this typical size, the microstructure stops growing and we found numerically that the patterns stabilize into quite a symmetrical organization (circular clusters or holes). This is compatible with the observations of Xu *et al* [3], reporting that regularly distributed symmetric clusters are typical of benign nevi, which are non-evolving structures. In contrast, asymmetric clusters, such as those observed in our numerical simulations during the transitory growth regime, are typical of early melanoma development. Our theoretical model predicts that the presence of such microstructural patterns indicates that the lesion is evolving, probably due to a recent change in cell phenotype or stromal interactions. Furthermore, we found that the distribution of cluster sizes during the transitory growth regime (before saturation) is self-similar. We expect that the introduction of a cell proliferation regulation by contact inhibition might induce a similar effect as that found in models of reaction-controlled separating mixtures [54]. These systems have been shown to exhibit the same patterns and growth dynamics as those found in our binary mixture model. In a similar way the introduction of a paracrine regulation of cell proliferation might introduce a typical length, given by the diffusion of some paracrine factors, as investigated in [51]. Indeed Klein *et al* [27] used a model based on the Cahn–Hilliard equation to understand clustering of epidermal stem cells with contact inhibition. We found also cluster patterns (figure 9) for a different cell proliferation regulation mechanism and in a model taking explicitly into account mixture saturation. This confirms that phase separation models can be useful in understanding pattern formation in biological systems.

In conclusion, we analysed the properties of spinodal decomposition in a binary mixture model of skin tumours, showing the analogies existing between our results and the phase separation phenomena in block copolymers and in reaction-controlled separating mixtures. Our results relate changes in cell phenotype and stromal interaction to the spatial organization of tumour cells, the statistical distribution of shapes and sizes of cell clusters and their dynamics in a skin lesion. This study allows us to foster an understanding of the emergence of microstructural patterns in skin tumours and might ultimately help us to improve accuracy in early skin-cancer diagnosis.

Acknowledgments

We thank Pascale Guitera (Sidney Melanoma Diagnostic Centre) for critical comments and useful discussions on our work on melanoma. We are grateful to Giovanni Pellacani for providing us with unpublished dermoscopic images. We also thank John Lowengrub for pointing out the problem of spinodal decomposition in multiphase models, Ken Sekimoto and Lionel Foret for many helpful discussions on spinodal decomposition. TB thanks Frédéric Verpillat for his assistance with CUDA programming.

References

- [1] Norton K-A, Wininger M, Bhanot G, Ganesan S, Barnard N and Shinbrot T 2010 A 2d mechanistic model of breast ductal carcinoma *in situ* (dcis) morphology and progression *J. Theor. Biol.* **263** 393–406
- [2] Argenziano G *et al* 2003 Dermoscopy of pigmented skin lesions: results of a consensus meeting via the internet *J. Am. Acad. Dermatol.* **48** 1211–2
- [3] Xu J *et al* 2009 Analysis of globule types in malignant melanoma *Arch. Dermatol.* **145** 1245–51
- [4] Linos E, Swetter S M, Cockburn M G, Colditz G A and Clarke C A 2009 Increasing burden of melanoma in the United States *J. Invest. Dermatol.* **129** 1666–74
- [5] Huang C L and Halpern A C 2005 Management of the patient with melanoma *Cancer of the Skin* ed D S Rigel, R J Friedman, L M Dzubow, D S Reintgen, J C Bystry and R Marks (New York: Elsevier) pp 265–75
- [6] Dancey A L, Mahon B S and Rayatt S S 2008 A review of diagnostic imaging in melanoma *J. Plast. Rec. Aesth. Surg.* **61** 1275–83
- [7] Rajpara S M, Botello A P, Townend J and Ormerod A D 2009 Systematic review of dermoscopy and digital dermoscopy/artificial intelligence for the diagnosis of melanoma *Br. J. Dermatol.* **161** 591–604
- [8] Dreiseitl S, Ohno-Machado L, Kittler H, Vinterbo S, Billhardt H and Binder M 2001 A comparison of machine learning methods for the diagnosis of pigmented skin lesions *J. Biomed. Inf.* **34** 28–36
- [9] Ciarletta P, L Foret and M Ben Amar 2011 The radial growth phase of malignant melanoma: multi-phase modelling, numerical simulations and linear stability analysis *J. R. Soc. Interface* **8** 345–68
- [10] Ben Amar M, Chatelain C and Ciarletta P 2011 Contour instabilities in early tumor growth models *Phys. Rev. Lett.* **106** 148101
- [11] Townes P L and Holtfreter J 1955 Directed movements and selective adhesion of embryonic amphibian cells *J. Exp. Zool.* **128** 53–120
- [12] Steinberg M S 2007 Differential adhesion in morphogenesis: a modern view *Curr. Opin. Gen. Dev.* **17** 281–6
- [13] Onuki A 2002 *Phase Transition Dynamics* (Cambridge: Cambridge University Press)
- [14] Foty R A and Steinberg M S 2005 The differential adhesion hypothesis: a direct evaluation *Dev. Biol.* **278** 255–63
- [15] Steinberg M S 1975 Adhesion-guided multicellular assembly: a commentary upon the postulates, real and imagined, of the differential adhesion hypothesis, with special attention to computer simulations of cell sorting *J. Theor. Biol.* **55** 431–43
- [16] Nose A, Nagafuchi A and Takeichi M 1988 Expressed recombinant cadherins mediate cell sorting in models systems *Cell* **54** 993–1001
- [17] Halbleib J M and Nelson W J 2006 Cadherins in development: cell adhesion, sorting, and tissue morphogenesis *Genes Dev.* **20** 3199–214
- [18] Gumbiner B M 1996 Cell adhesion basis of tissue architecture and morphogenesis *Cell* **84** 345–57
- [19] Winters B S, Shepard S R and Foty R A 2005 Biophysical measurement of brain tumor cohesion *Int. J. Cancer* **114** 371–9
- [20] Pérez-Pomarez J M and Foty R A 2006 Tissue fusion and cell sorting in embryonic development and disease: biomedical implications *BioEssays* **28** 809–21
- [21] Ramis-Conde I, Drasdo D, Anderson A R A and Chaplain M A J 2008 Modeling the influence of the E-cadherin-beta-catenin pathway in cancer cell invasion: a multiscale approach *Biophys. J.* **95** 155–65
- [22] Takeichi M 1991 Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator *Science* **251** 1451–5
- [23] Graner F and Glazier J A 1992 Simulation of biological cell sorting using a two-dimensional extended potts model *Phys. Rev. Lett.* **69** 2033–6
- [24] Turner S and Sherratt J A 2002 Intercellular adhesion and cancer invasion: a discrete simulation using the extended Potts model *J. Theor. Biol.* **216** 85–100
- [25] Hoehme S and Drasdo D 2010 A cell-based simulation software for multi-cellular systems *Bioinformatics* **26** 2641–2

- [26] Armstrong N J, Painter K J and Sherratt J A 2006 A continuum approach to modelling cell–cell adhesion *J. Theor. Biol.* **243** 98–113
- [27] Klein A M, Nikolaidou-Neokosmidou V, Doupé D P, Jones P H and Simons B D 2011 Patterning as a signature of human epidermal stem cell *J. R. Soc. Interface* doi:10.1098/rsfi.2011.0240
- [28] Lowengrub J S *et al* 2010 Nonlinear modelling of cancer: bridging the gap between cells and tumours *Nonlinearity* **23** 1–91
- [29] Preziosi L and Vitale G 2009 Mechanics of tumor growth: multiphase models, adhesion, and evolving configurations *New Trends in the Physics and Mechanics of Biological Systems* ed M Ben Amar, A Goriely, M M Muller and L F Cugliandolo (Oxford: Oxford University Press) pp 177–225
- [30] Graziano L and Preziosi L 2005 Mechanics in tumor growth *Modeling of Biological Materials* ed F Mollica, L Preziosi and K R Rajagopal (Basel: the Birkhauser) pp 267–328
- [31] Breward C J W, Byrne H M and Lewis C E 2003 A multiphase model describing vascular tumour growth *Bull. Math. Biol.* **65** 609–40
- [32] Preziosi L and Tosin A 2009 Multiphase modelling of tumour growth and extracellular matrix interaction: mathematical tools and applications *J. Math. Biol.* **58** 625–56
- [33] Cristini V, Li X, Lowengrub J S and Wise S M 2009 Nonlinear simulations of solid tumor growth using a mixture model: invasion and branching *J. Math. Biol.* **58** 723–63
- [34] Cahn J W and Hilliard J E 1959 Free energy of a nonuniform system. III. Nucleation in a two-component incompressible fluid *J. Chem. Phys.* **31** 688–99
- [35] Bray A J 1994 Theory of phase-ordering kinetics *Adv. Phys.* **43** 357–459
- [36] Wise S M, Lowengrub J S, Frieboes H B and Cristini V 2008 Three-dimensional multispecies nonlinear tumor growth. I. Model and numerical method *J. Theor. Biol.* **253** 524–43
- [37] Stucker M *et al* 2002 The cutaneous uptake of atmospheric oxygen contributes significantly to the oxygen supply of human dermis and epidermis *J. Physiol.* **538** 985–94
- [38] Armstrong B K and Kricker A 2001 The epidemiology of UV induced skin cancer *J. Photochem. Photobiol. B* **63** 8–18
- [39] zur Hausen H 1996 Papillomavirus infections—a major cause of human cancers *Biochim. Biophys. Acta* **1288** F55–78
- [40] Miller S J 1991 Biology of basal cell carcinoma *J. Am. Acad. Dermatol.* **24** 1–13
- [41] Wong C S M, Strange R C and Lear J T 2003 Basal cell carcinoma *Br. Med. J.* **327** 794–8
- [42] Haass N K and Herlyn M 2005 Normal human melanocyte homeostasis as a paradigm for understanding melanoma *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* **10** 153–63
- [43] van Kemenade P M, Huyghe J M and Douven L F A 2003 Triphasic fe modeling of skin water barrier *Transp. Porous Media* **50** 93–109
- [44] Swabb E A, Wei J and Gullino P M 1974 Diffusion and convection in normal and neoplastic tissues *Cancer Res.* **34** 2814–22
- [45] Doi M and Onuki A 1992 Dynamic coupling between stress and composition in polymer solutions and blends *J. Physique II* **2** 1631–56
- [46] Jain R K 1987 Transport of molecules in the tumor interstitium: a review *Cancer Res.* **47** 3039–51
- [47] Clark W H, From L, Bernardino E A and Mihm M C 1969 The histogenesis and biological behavior of primary human malignant melanoma of the skin *Cancer Res.* **29** 705–26
- [48] Creasey A A *et al* 1979 Biological properties of human melanoma cells in culture *In Vitro* **5** 342–50
- [49] Bedogni B and Powell M B 2009 Hypoxia, melanocytes and melanoma—survival and tumor development in the permissive microenvironment of the skin *Pigment Cell Melanoma Res.* **22** 166–74
- [50] Johnson M E, Blankschtein D and Langer R 1997 Evaluation of solute permeation through the stratum corneum: lateral bilayer diffusion as the primary transport mechanism *J. Pharm. Sci.* **86** 1162–72
- [51] Chatelain C, Ciarletta P and Ben Amar M 2011 Morphological changes in early melanoma development: influence of nutrients, growth inhibitors and cell-adhesion mechanisms *J. Theor. Biol.* **290** 46–59

- [52] Puri S, Bray A J and Lebowitz J L 1997 Phase-separation kinetics in a model with order-parameter-dependent mobility *Phys. Rev. E* **56** 758–65
- [53] Novick-Cohen A 2008 The Cahn–Hilliard equation *Handbook of Differential Equations: Evolutionary Equations* vol 4 ed C Dafermos and M Pokorný (Amsterdam: Elsevier) pp 201–28
- [54] Glotzer S C, Di Marzio E A and Muthukumar M 1995 Reaction-controlled morphology of phase-separating mixtures *Phys. Rev. Lett.* **74** 2034–7
- [55] Fratzl P, Lebowitz J L, Penrose O and Amar J 1991 Scaling functions, self similarity, and the morphology of phase separating systems *Phys. Rev. B* **44** 4794–811



OPEN

Morphology of melanocytic lesions *in situ*

Thibaut Balois^{1,2} & Martine Ben Amar^{1,2}

SUBJECT AREAS:

BIOLOGICAL PHYSICS
PHYSICS

¹Laboratoire de Physique Statistique, Ecole Normale Supérieure, UPMC Univ Paris 06, Université Paris Diderot, CNRS, 24 rue Lhomond, 75005 Paris, France, ²Institut Universitaire de Cancérologie, Faculté de médecine, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, 91 boulevard de l'hôpital, 75013 Paris, France.

Received
3 September 2013

Accepted
25 November 2013

Published
10 January 2014

Correspondence and
requests for materials
should be addressed to
M.B.A. (benamar@lps.
ens.fr)

Melanoma is a solid tumour with its own specificity from the biological and morphological viewpoint. On one hand, numerous mutations are already known affecting different pathways. They usually concern proliferation rate, apoptosis, cell senescence and cell behaviour. On the other hand, several visual criteria at the tissue level are used by physicians in order to diagnose skin lesions. Nevertheless, the mechanisms between the changes from the mutations at the cell level to the morphology exhibited at the tissue level are still not fully understood. Using physical tools, we develop a simple model. We demonstrate analytically that it contains the necessary ingredients to understand several specificities of melanoma such as the presence of microstructures inside a skin lesion or the absence of a necrotic core. We also explain the importance of senescence for growth arrest in benign skin lesions. Thanks to numerical simulations, we successfully compare this model to biological data.

Melanoma is a rare form of skin cancer, less than 5% of the cases, but the most lethal and more than 75% of deaths¹. However, recent drug discoveries and targeted therapies indicate evidence for durable remissions but no guaranty can be given yet on drug resistance². It is why early detection and diagnosis remain of utmost importance³ and the evolution of melanocytic lesion morphology remains an important diagnostic tool.

In order to distinguish benign lesions, *nevi*, from melanomas, physicians have several visual features at their disposal, the most famous one being the ABCDE criteria: Asymmetry, Border, Color, Diameter, Evolution³. They are based on medical statistical studies coupled to the malignancy probability of a skin lesion. Nevertheless, the mechanism of their apparition and evolution remains poorly understood.

Since the work of Greenspan in 1976⁴, several approaches have been developed to model tumour growth⁵, continuum models at the tissue scale⁶, discrete models at the cell scale^{7,8}, and hybrid continuum-discrete models⁹. But, in spite of their complexity, none of these models take into account the specificity of melanoma. Even in the avascular growth phase, most of them do not exhibit a necrotic core. Introducing only the minimal set of physical parameters, we develop a simple model that can explain how changes at the cell level result in melanoma morphology. We aim to justify the absence of a necrotic core despite the absence of angiogenesis. But first we need to recall briefly the bio-structure and the biology of the skin.

Skin is composed of three main layers, the hypodermis, the dermis and the epidermis. In this work, we focus on skin cancers located in the upper layer of the skin, the epidermis, where tumors can easily be seen and are well referenced. Beneath the epidermis, the dermis contains blood and lymphatic networks providing nutrient supply. It is separated from the epidermis by a basement membrane composed of fibers like collagen. This basement membrane plays the role of a barrier between the dermis and the epidermis, but also the support necessary for cell mitosis. The epidermis is mainly composed of keratinocytes (~90%). They proliferate on the basal layer, and progressively migrate to the skin surface creating a protective barrier called the stratum corneum (see Fig. 1). In order to protect the body from UV damages, melanocytes (~5–10% of epidermis cells), also located in the basal layer of the epidermis, strongly bind to several keratinocytes (~35¹⁰) delivering them melanin, an UV absorbing molecule. Melanocytes are bound to the basement membrane via collagen IV and laminin-mediated adhesion, and to keratinocytes via E-cadherin and Desmoglein (see the Supplementary). In order to divide, melanocytes need to decouple from the basement membrane and from the keratinocytes, and finally they retract their dendrites. After dividing, they migrate before re-binding to the matrix and to keratinocytes.

Through mutations, melanocytic cells change their behaviour resulting in different types of lesions. The most benign one is the nevus, also known as “regular mole”. On the contrary, the dysplastic nevus known as atypical mole display most of the visual characteristics of a melanoma (irregular border, asymmetry) but they are also benign, because of an extension arrest through a senescence process. When a lesion becomes malignant, it is called a melanoma. Usually melanomas undergo different phases. In the radial growth phase (RGP) melanomas grow

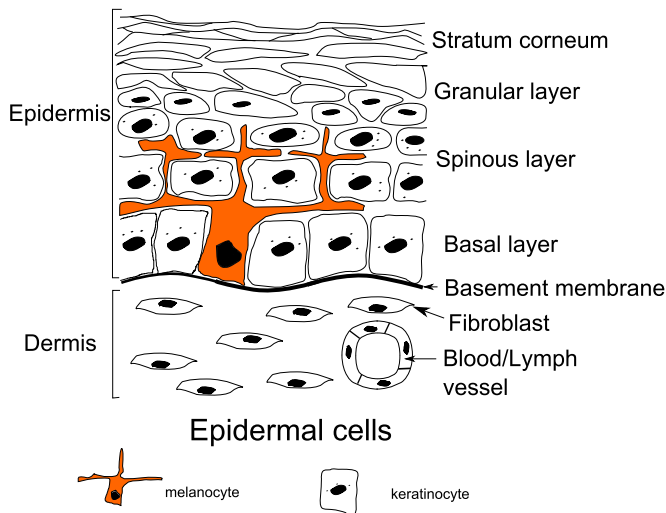


Figure 1 | Schematic representation of the two outmost layers of the skin, the dermis and the epidermis.

horizontally and are restricted to the epidermis, then in the vertical growth phase (VGP) melanomas invade the dermis rapidly and drastically lowering the survival rate¹¹. (see Fig. 2).

Here, we focus on growth restricted to the epidermis, nevi and *melanoma in situ* or RGP melanoma. In this phase, melanomas are treated by excision with a very good survival rate (more than 99% of cases¹¹), the metastasis spreading being unlikely. At this point, growth is avascular, and even though angiogenesis does not occur, the peculiarity of melanoma is the absence of necrotic core during the horizontal development: this is contrary to other solid tumours and to usual modelling of avascular tumour growth where a necrotic core is commonly found. Nonetheless, a necrotic core can appear during the vertical growth of the lesion. For instance, nodular melanomas (~15% of cutaneous melanoma) grow vertically from the beginning and present a necrotic core¹².

Focusing on these main differences and cell micro-environment, we now construct a model in order to explain the different features of melanoma, and its different stages of progression as seen in Fig. 2.

Results

Modeling the morphogenesis of melanocytic lesion at the tissue level. We present here a continuous model of melanoma growth as a two phase mixture, a cancerous phase, ϕ_c , containing the proliferating melanocytic cells and a second healthy phase containing the interstitial fluid and the keratinocytes, $\phi_h = 1 - \phi_c$. Both phases contain nutrients ensuring cell development. Hereafter, we explicit

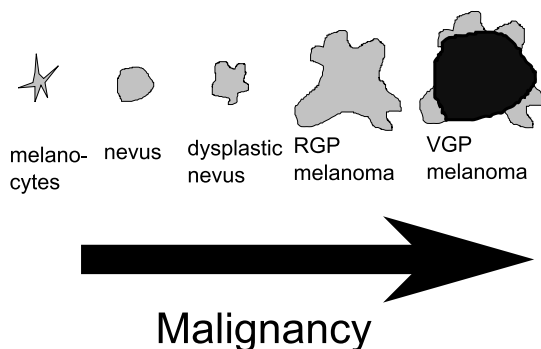


Figure 2 | Pigmented lesions given their malignancies. The nevi are senescent and benign. The RGP melanomas are immortal but restricted to the epidermis, and the VGP are invasive. This drawing was inspired by¹³.

the equations governing each population, beginning by the nutrient equations.

Nutrients are small molecules which diffuse inside the tissues and their concentration n satisfies a diffusion equation with consumption. Many kinds of nutrients intervene to maintain the homeostasis and growth of the tumour such as glucose³⁶, oxygen^{34,35} and growth factors. They satisfy the same equation with different biochemical factors. Only oxygen, the slowest one, that is the one with the longest consumption time will control the growth dynamic. Due to skin hypoxia (small concentration of oxygen in the skin), consumption is described by a linearized Michaelis-Menten law, and we get:

$$0 = D_n \Delta n - \delta_n \phi_c n - \kappa(1 - \phi_c)n + S_n(n_s - n) \quad (1)$$

where Δ is the 2D Laplacian (see the Supplementary), n and ϕ_c are now the concentration averaged along the epidermis depth, n_s is a typical nutrient concentration necessary to maintain the homeostatic state of the skin. $S_n(n_s - n)$ is the orthogonal flux of nutrients which is generated by the disequilibrium from the homeostatic state, coming from the dermis (see Fig. 3). This flux regulates the oxygen consumption insuring the nutrient provision and so the natural development of cells on the basement membrane in healthy tissue, including keratinocytes. It is mainly responsible for the absence of a necrotic core inside a growing *melanoma in situ*. Let us consider now the cancerous cell equation.

Assuming the same density for the two phases, ϕ_c and ϕ_h , the mass balance equation can be written for each phase:

$$\begin{cases} \partial_t \phi_c + \nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c) = \Gamma(\phi_c, n) \\ \partial_t \phi_h + \nabla \cdot (\phi_h \mathbf{v}_h) = \Gamma(\phi_h, n) \end{cases} \quad (2)$$

where Γ is the mass exchange rate between each phase, and $\Gamma(\phi_c, n) = -\Gamma(\phi_h, n)$. $\mathbf{v}_c$ and $\mathbf{v}_h$ are the velocities of the cancerous and healthy phase. The closure condition imposes the proliferation rate of each phase to be the opposite of each other. We choose the simplest form for the mass exchange between the two phases, $\Gamma(\phi_c, n)$. Cancerous cell death rate is taken constant, while the growth rate depends linearly on nutrient and cancer cell concentrations. Finally it reads:

$$\Gamma(\phi_c, n) = \gamma_c \phi_c (n/n_s - \delta_c) \quad (3)$$

In order to ascertain the velocity $\mathbf{v}$, mechanical ingredients are needed. A variational principle (see the Supplementary) in conjunction with the elimination of $\phi_h = 1 - \phi_c$ ^{14,15} leads to a Darcy law for the velocity of the cancerous phase $\mathbf{v}_c$:

$$\mathbf{v}_c = -K(1 - \phi_c)^2 \nabla \Sigma(\phi_c) = -K(1 - \phi_c)^2 \nabla (f(\phi_c) - \epsilon^2 \Delta \phi_c) \quad (4)$$

where $\Sigma(\phi_c)$ is the derivative of the free-energy of cancerous cell-cell interactions with respect to ϕ_c . As the cell-cell interaction is weak at low concentration, becoming repulsive at high concentration and attractive in between, $f(\phi_c)$ in Eq.(4) has a simple form reminding the Lennard-Jones potential (see Fig. 4). A surface term $\epsilon^2 \Delta \phi_c$ is

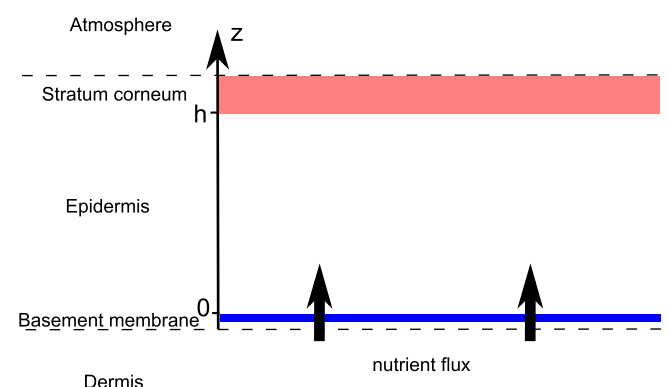


Figure 3 | Schematic representation of the epidermis.

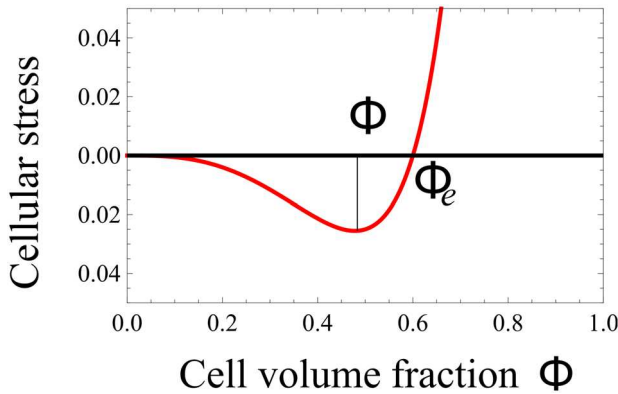


Figure 4 | Σ , derivative of the free-energy as a function of concentration, $f(\phi_c)$ representing the attraction between melanocytic cells. ϕ_c is the concentration at equilibrium with the surrounding tissue.

added to $\Sigma(\phi_c)$ penalizing large concentration gradients.

Gathering the former equations gives us a master equation for the cancerous phase ϕ_c :

$$\partial_t \phi_c + \nabla \cdot (-K \phi_c (1 - \phi_c)^2 \nabla (f(\phi_c) - \epsilon^2 \Delta \phi_c)) = \gamma \phi_c n - \delta \phi_c \quad (5)$$

This model takes into account most of the cellular pathways affected by melanoma: apoptosis in the term δ , proliferation in γ , and cell-cell interactions in $\Sigma(\phi)$.

The governing equations for the nutrient concentration and cancerous phase, (1) and (5) can be rewritten in terms of dimensionless quantities: $\hat{x} = x/l_n$, $\hat{t} = t/\gamma n_s$, $\hat{\delta} = \delta/(\gamma n_s)$, $\hat{n} = n/n_s$, $\hat{f} = f/\mathcal{X}$, $\hat{\epsilon}^2 = \epsilon^2/(\mathcal{X} l_n^2)$, $D = \mathcal{X}/(M l_n^2 \gamma n_s)$, $\beta = S_n/\delta_n$, $\hat{\kappa} = \kappa/\delta_n$ where $l_n = \sqrt{D_n/\delta_n}$ is the nutrient penetration length and $\mathcal{X}$ is the typical value of the excess pressure generated by the cell (typical value of Σ). Notice that uncertainties in the precise knowledge of biomechanical factors do not change our treatment and main results. As an example, different values of the oxygen diffusion coefficient can be found in the literature^{34,35} depending on the location inside the skin and on the orientation (see Table 1). These uncertainties in the oxygen diffusion coefficient (a factor two is commonly found) enter only in the pattern length-scale (by a factor 1.4) without changing the results drastically. Dropping the hats and the index for the cancerous phase for simplification, the dimensionless equations are restricted to:

$$\Delta n - \kappa(1 - \phi)n - \phi n + \beta(1 - n) = 0 \quad (6)$$

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D \nabla \cdot (\phi(1 - \phi)^2 \nabla (f(\phi) - \epsilon^2 \Delta \phi)) + \phi(n - \delta) \quad (7)$$

Analytical predictions. Although simplified in comparison with avascular tumour growth modeling⁵, these two equations remain difficult to solve explicitly and numerics is required. It is why we begin by an analysis of possible explicit cases.

One can grasp the main results of Eq. (6) and (7) by focusing on the simplest solutions compatible with these equations. Then, we study the dynamical stability of such solutions. We consider first the time evolution of the tumour concentration.

This set of Eq.(6,7) accepts obvious time and space independent solutions both for ϕ and n given by

$$\begin{cases} \phi_{c.s.h.} = \frac{\beta(1-\delta) - \kappa\delta}{\delta(1-\kappa)} \\ n_{c.s.h.} = \delta \end{cases} \quad \text{for the cancerous phase,} \quad (8)$$

$$\begin{cases} \phi_0 = 0 \\ n_0 = \frac{\beta}{\beta + \kappa} \end{cases} \quad \text{for the healthy phase.} \quad (9)$$

This set exists if and only if β does not vanish. Let us remind that β measures the strength of the vertical flux of nutrients, being a specificity of the melanoma geometry in the epidermis. It does not exist for spheroid as example. Let us consider now the possibility of small micro-structures and averaged quantities on a scale larger than their size but smaller than the tumour size. In this hypothesis, neglecting the mass creation at the interface and all border effects, integrating equations (6) and (7) on a surface immersed in the lesion, and taking nutrients at equilibrium give us:

$$\partial_t \langle \phi \rangle_x + \delta \langle \phi \rangle_x = \frac{\beta(1 - \langle n \rangle_x) - \kappa \langle n \rangle_x}{1 - \kappa}$$

This equation can be solved by an exponential law, whose decreasing time constant is $\tau = 1/\delta$. So, inside a wide enough tumour, after a typical time about 5 τ , the average concentrations $\langle \phi \rangle_x$ and $\langle n \rangle_x$ should be given by (8) and should be constant over time. As expected the nutrient diffusion from the dermis insures the existence of such homogeneous state for the cancer cell population which is in

Table 1 | Estimation of the model parameters from experimental data on healthy and diseased skin

ϕ_e cell volume fraction at mechanical equilibrium	0.6–0.9	28
M interphase friction	963–11571 mm ⁻² Pa day	29, 30
χ interstitial fluid pressure in healthy skin	133 Pa	28
χ interstitial fluid pressure in skin carcinoma	1330 Pa	28
$(\epsilon/\sqrt{\chi})$ melanoma cell size	6–20 μ m	31
γ_c melanoma cell proliferation rate	0.2 day ⁻¹	32
δ_c threshold for cell death rate due to anoxia	0.1–0.33	33
D_n Oxygen lateral diffusion coefficient in the stratum corneum	39.7 mm ² day ⁻¹	34
D_n Oxygen perpendicular diffusion coefficient	18.5–26.6 mm ² day ⁻¹	35
D_n Sugar diffusion coefficient	4.4–6.4 mm ² day ⁻¹	36
δ_n Oxygen consumption rate of the skin	1190–3310 day ⁻¹	35
S_n	10 ⁴ day ⁻¹	14
n_s Oxygen partial pressure in the skin	3320–10400 Pa	35
l_n nutrient penetration length	0.04–0.18 mm	
D	1.7–1725	
ϵ	0.02–0.5	
δ	0.1–0.33	
β	0.1–8.4	
κ	0.1–10	



contradiction with the existence of a stable necrotic core ($\Gamma = 0$ and $\phi_c \neq 0$ inside the tumor). However, our average does not consider the border, the tumour grows through the border, in analogy with epithelial cell colony experiments where mitosis is localised at the border¹⁶.

We show that the large scale concentration inside a lesion is given by (8), but the structure at small scale could be more complicated with emergence of microstructures.

Space distribution analysis. An exact solution of the concentration inside the tumour cannot be found analytically, a numerical simulation is needed. Nevertheless, it is possible to predict mathematically the existence of a phase separation. An homogeneous distribution inside the tumour with $\langle \phi \rangle_x = \phi_{c.s.h.}$ exists if this solution is stable when perturbations occur. It is why we perform a linear stability analysis in the vicinity of the stationary homogeneous solution. An infinitesimal perturbation of wavevector k can be written as:

$$\phi = \phi_{c.s.h.} + \tilde{\phi} \exp(\lambda t) \cos(kx) \quad (10)$$

$$n = n_{c.s.h.} + \tilde{n} \exp(\lambda t) \cos(kx) \quad (11)$$

The stability of the uniform concentration inside the tumour (8) is insured by a negative growth rate $\lambda < 0$ for all values of the spatial wavevector k . Therefore, substituting these expressions in equations (6) and (7), we obtain the growth rate of the perturbation:

$$\lambda = -\phi_{c.s.h.} \left[D(1 - \phi_{c.s.h.})^2 (f'(\phi_{c.s.h.})k^2 + \epsilon^2 k^4) + \frac{\delta(1 - \kappa)}{k^2 + \phi_{c.s.h.} + \beta + \kappa(1 - \phi_{c.s.h.})} \right]. \quad (12)$$

The diagram of $\lambda(k)$ displayed in Fig. 5 shows that the nutrient contribution in the last term of Eq. (12) stabilizes the long wavelength perturbations with small k . This insures that the average concentration inside the tumour $\langle \phi \rangle_x$ is given by (8)¹⁷. Because of this stabilization, an homogeneous distribution of the concentration inside the tumour may be stable at all wavelengths (dashed curve of Fig. 5) and microstructures may not automatically appear. The domain size of microstructures is determined by the nutrient penetration length, showing an effect of the micro-environment of the lesion.

Discussion

Our simulations (see Fig. 6 and Materials and Methods) exhibit several behaviours that are also seen in vivo. Microstructural patterns appear in the second and third simulations. Their origin is a phase

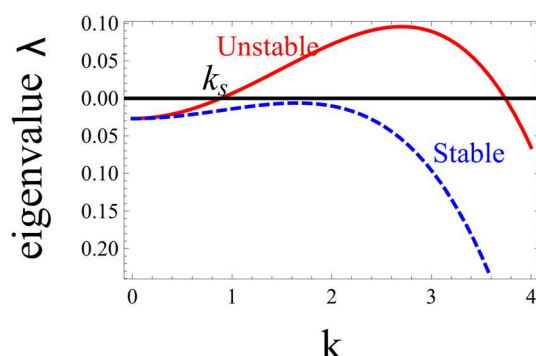


Figure 5 | Growth rate λ of a spatial instability inside the tumour versus the wavenumber k of a spatial perturbation. Long-wavelengths, small k are stabilized due to nutrients. The homogeneous distribution of the mixture is linearly unstable for $f'(\phi_0) = 0.1$ (continuous line), while it becomes stable for $f'(\phi_0) = -0.03$ (dashed line). Other material parameters are set at $\epsilon = 0.08$, $D = 2.0$, $\beta = 0.2$, $\phi_0 = 0.3$, $\kappa = 0$. The parameters taken for the continuous line lead to a phase separation then predicting micro-structures, whereas for the dashed line the concentration should remain uniform.

separation process. It corresponds to the dots observed in dermoscopy and to the nests seen in histopathology (see Fig. 7b and Fig. 7c). Since the concentration inside microstructures is close to the mechanical equilibrium concentration ϕ_e , the simulations show that with this separation process cells insure their mechanical equilibrium at small scales. In the same time, they insure their equilibrium at large scales, because the long-scale concentration is given by the interaction with nutrients and the difference between proliferation and death as predicted previously (see Analytical predictions).

Moreover, this phase separation leads to a growth asymmetry, whereas in the first picture the radial symmetry is preserved. Therefore, this model explains for the clinical differences between nevi and melanomas. In addition and especially a necrotic core is not found. But, the asymmetry and irregularity displayed in the simulation can be attributed to either a melanoma or a dysplastic nevus that actually show the same aspect at the tissue level. While the micro-environment can be responsible for the different characteristics between a nevus, a dysplastic nevus or a melanoma, the difference between dysplastic nevus and melanoma is the existence of growth arrest for the nevus which stops its final size.

For a range of biological parameters, this model leads to $\phi_{c.s.h.} > 1$ which seems to be inconsistent. The choice of Σ with a divergence as $\phi \rightarrow 1$, should prevent the concentration to exceed one. Nevertheless, because of the geometry chosen, restriction to a 2D model for the epidermis and a continuous flux of incoming nutrient, the concentration may diverge in the simulation. The growth of a circular tumour of size R is proportional to the size of the border:

$$\Phi_{growth} \approx 2\pi R \nabla \Sigma \leq \frac{2\pi R f'_{max}}{\epsilon}$$

whereas the development inside the tumour is proportional to the size of the tumour itself so to its surface:

$$\Phi_{reproduction} \approx \pi R^2 \Gamma.$$

As $\Phi_{growth} < \Phi_{reproduction}$, above a critical radius R_c , the geometry of the avascular growth can lead to a divergence of the cell concentration. This seems like a failure of the model, with no biological consistency. But, the system can either change its shape in order to increase the size border compared to the volume creating a shape instability^{18,19}, or grow in depth. A type of melanoma called *nodular melanoma* grows vertically from the first stages of its development. It invades the dermis quickly and keeps a round and symmetric border, and usually exhibits a exophytic nodule (small bump)²⁰ (see Fig. 7d). These findings are shown in the simulation of Fig. 6, where the cell concentration is really high and diverges. Taking into account the cellular repulsion that could break the basement membrane, it is clear that the model cannot be restricted to the epidermis and that a 3D model should be developed to investigate the vertical growth phase.

Melanogenesis cannot be restricted to a small number of mutations. Moreover, the nature and number of these mutations differ from a patient to another. Nevertheless, these mutations affect mainly 4 pathways: proliferative, anti-apoptotic, senescence, and cell interactions pathways. For instance, among the most common mutations (80–90% of cases), the p16 mutation leads to evade senescence^{13,21}, an irreversible arrest of proliferation. The most common trigger for senescence is the telomere shortening, limiting the number of population doubling (pd) from 2 to 40 pd for adult melanocytes²¹. This number can differ for dysplastic nevi if the senescence pathways are affected, how they are affected, or if their surrounding medium changes²². All cellular activities stop after the lesion reaches a certain size when senescence is triggered. Another switch is the shift from E-cadherin (a protein which links together the melanocytes to keratinocytes) to N-cadherin that insures cell-cell adhesion between melanoma cells with the production of melanoma cells adhesion molecules called Mel-CAM^{23,24}. This shift results in a radical change

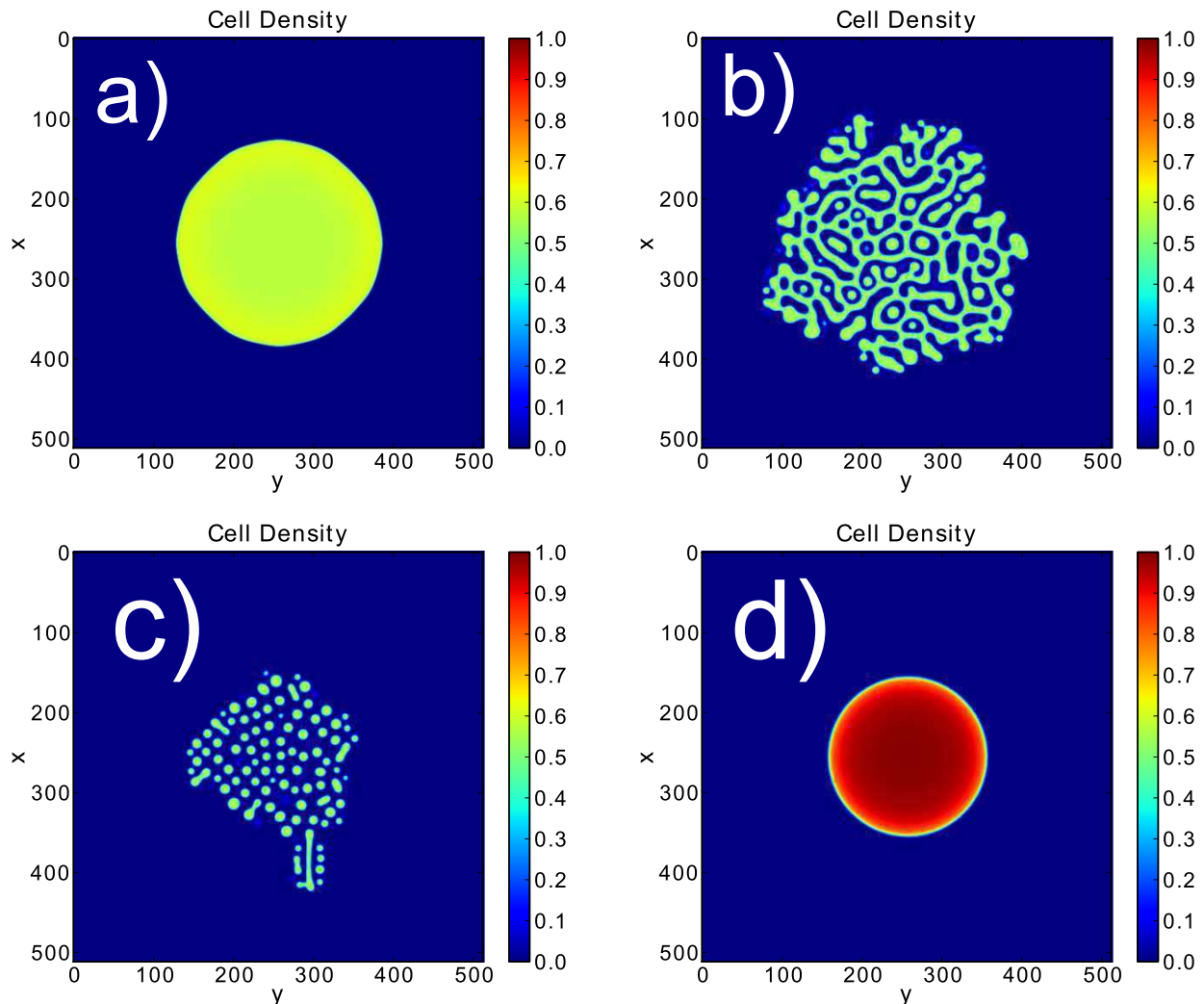


Figure 6 | Several behaviours shown in the simulations on a 512×512 grid. The stepsize dx is 0.12, the stepsize is 10^{-4} . The same expression for Σ is chosen for all pictures, $p = 2$ and $\phi_e = 0.6$. Different values of $\phi_{c.s.h}$ are taken 0.65 for (a), 0.33 for (b), 0.25 for (c) and 1.3 for (d).

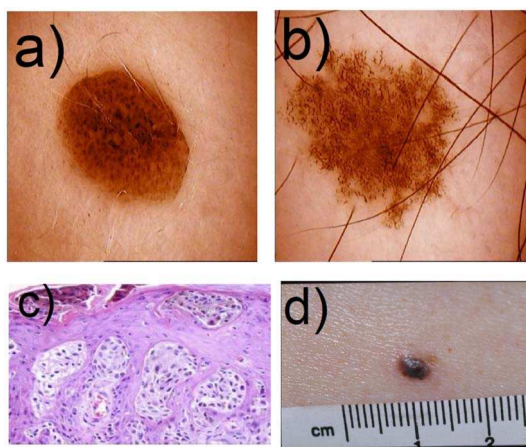


Figure 7 | a) Picture of a nevus presenting regular border. b) Picture of a dysplastic nevus presenting irregular border and microstructures. c) Histopathological cut of a melanoma presenting melanoma nests. d) Picture of a nodular melanoma. Figures a), b) and d) were kindly given by Dr. Pascale Guitera. Figure c) was taken from the work of Viros²⁵.

in cell interaction, favoring melanoma cell-melanoma cell contacts to melanoma cell-keratinocyte.

An important question remains unsolved by our model: the growth arrest which occurs for dysplastic nevi for example. This growth can be limited by senescence. In the model, senescence is responsible of the maximum tumour size corresponding to a threshold in population doublings (pd), after which there is no more exchange of mass between phases, $\Gamma(\phi_c, n) = 0$. The number of pd is not rigorously determined, varying from 2 up to 40^{13} . Moreover, it surely varies with the micro-environment and it differs in a tumour² from the one estimated *in vitro*. In the work of Zapperi⁸ a pd number is estimated to be 39 which is probably over-estimated. So considering a maximum pd of 32, the number of cells at the limit of senescence is then of order 10^9 . The cell size of a dysplastic melanocytic nevus has been measured with precision in the work of Rhodes^{26,27}: the height is $h_c \sim 6 \mu\text{m}$ while the average diameter is about $11 \mu\text{m}$ (a value bigger than for ordinary melanocyte cells) and we arrive to a volume per cell of $V \sim 570(\mu\text{m}^3)$. Taking an epithelium of order 1 mm thick we arrive to a maximum size for radius of order 1.6 cm if the nevus is entirely located above the basal membrane and if only one primitive melanoma cell is present in the lesion permanently. Otherwise the maximal nevus size varies as the square root of the number of primitive melanoma cells. In any case, senescence is consistent with the limiting size ($R_m \sim 2 \text{ cm}$) of a dysplastic nevus if we exclude giant congenital nevi.



We aim to construct a simple and unique model based on physical equations that could exhibit the different features specific to melanomas and nevi. Taking into account the changes at the cellular level due to mutations and the importance of the micro-environment, this model manages to display some of the observations usually used to distinguish nevi from melanomas. It also explains the absence of a necrotic core in melanoma, even in the avascular solid tumour phase. Melanoma differs from other solid tumors by many aspects during its evolution and metastasis but the absence of necrotic core is really its specificity. In this work this is explained by the growth confined in the epidermis which modifies the usual spheroid geometry and the nutrient distribution as well.

Methods

Derivation of the main equations. Eq.(6) is a modified diffusion equation in the static limit with a consumption term proportional to the cancerous cell concentration ϕ (according to the Michaelis-Merten law) and a source flux of nutrients. It results from an average of the 3-dimensional diffusion equation in the vertical direction, which is justified by the tiny thickness of the epidermis. It transforms the 3-dimensional diffusion equation into a simplified effective 2D diffusion equation (more details can be found in the Supplementary information). The velocity field of the cancerous cells Eq.(4) is derived from a variational principle of energy minimization including the cell-cell adhesion and the friction between phases. Elimination of the liquid phase is made possible due to conservation relations such as $\phi_e + \phi_l = 1$ (see the Supplementary) and the theoretical treatment requires only two coupled partial differential equations depending on (x,y,t) : Eq.(1) and Eq.(5), instead of the 3 expected. However remaining enough complicated, inspection of these equations is done first analytically and reveals the existence of a simple homogeneous solution which allows a linear perturbation analysis as commonly done in nonlinear physics. Depending on the range of parameters entering the model and according to the dispersion relation given the growth rate of a perturbation Eq.(12) with a wavenumber k (plotted in Fig. 6), one can expect or not a phase segregation inside the growing tumour.

Simulations. Numerical simulations of Eqs.(6,7) were performed in a two-dimensional $N \times N$ lattice, with $\phi \equiv 0$ and $n \equiv n_0$ at the lattice border. The initial conditions are taken as parabolic form for the concentration distribution and an initial white noise is added inside the parabola. The equations are discretized using centered second-order accurate differencing schemes in space, explicit first-order accurate in time. We use a FCTS (forward time centered space) scheme to represent Eq.(7). In order to express Eq.(6), we introduce a time dependence with a different time scale to insure that growth is slower than diffusion:

$$\frac{n_{ij}^{k+1} - n_{ij}^k}{\tilde{\Delta}t} = \frac{n_{i+1,j}^k + n_{i-1,j}^k + n_{i,j+1}^k + n_{i,j-1}^k - 4n_{ij}^k}{\Delta x} - \kappa \left(1 - \phi_{ij}^k\right) n_{ij}^k - n_{ij}^k \phi_{ij}^k + \beta \left(1 - n_{ij}^k\right)$$

where k is the time index, i and j are the grid position, and $\tilde{\Delta}t = 5\Delta t$.

The analytical form of f in Σ , (Eq.(4) in the simulations) is taken as:

$$f(\phi) = \frac{\phi^p(\phi - \phi_e)}{1 - \phi}$$

where $p > 1$, to satisfy the shape of Fig. 4. The results are not strongly dependent on the form taken for f . Here, we take $p = 2$ and $\phi_e = 0.6$, the other parameters being chosen in the range of skin biological data given in Table 1. The program was implemented on a graphic processor unit, a GTX-580 Nvidia graphic card, using the CUDA parallel programming language, in order to reduce the computational time.

Biological data. An estimation of these parameters has been gathered in Table 1. We also gave an estimation of the dimensionless parameters. These quantities are used in our simulations.

1. Stern, R. S. Prevalence of a history of skin cancer in 2007: results of an incidence based model. *Arch. Dermatol* **146**, 279–282 (2010).
2. Pimiento, J. M. *et al.* Melanoma genotypes and phenotypes get personal. *Nat. Commun.* **13**, 858–867 (2013) doi:10.1038/ncomms2013.84.
3. Weinstock, M. A. Cutaneous melanoma: public health approach to early detection. *Dermatol. Ther.* **19**, 26–31 (2006).
4. Greenspan, H. P. On the growth and stability of cell cultures and solid tumors. *J. Theor. Biol* **56**, 229–242 (1976).
5. Lowengrub, J. S. *et al.* Nonlinear modelling of cancer: Bridging the gap between cells and tumors. *Nonlinearity* **23**, 1–91 (2010).
6. Preziosi, L. & Vitale, G. A Multiphase model of tumor and tissue growth including cell adhesion and plastic reorganization. *Math.Mod. Meth. App.S.* **21**, 1901–1932 (2011).

7. Hoehme, S. & Drasdo, D. A cell-based simulation software for multi-cellular systems. *Bioinformatics* **26**, 2641–2642 (2010).
8. Zapperi, S., La Porta, C. A. & Sethna, J. P. Senescent cells in growing tumors: population dynamics and cancer stem cells. *PLoS Computational Biology* **57**, 1–13 (2012).
9. Bearer, E. L. *et al.* Multiparameter computational modeling of tumor invasion. *Cancer Res* **69**, 4493–4501 (2009).
10. Fitzpatrick, T. B. & Breathnach, A. S. Das epidermale Melanin-Einheit-System. *Dermatol. Wochenschr* **147**, 481–489 (1963).
11. Balch, C. M. *et al.* Final version of 2009 ajcc melanoma staging and classification. *J. Clin. Oncol.* **27**, 6199–6206 (2009).
12. Bachmann, I. M. *et al.* Tumor necrosis is associated with increased alphavbeta3 integrin expression and poor prognosis in nodular cutaneous melanomas. *BMC Cancer* **8**, 362 (2008).
13. Bennett, D. C. Human melanocyte senescence and melanoma susceptibility genes. *Oncogene* **22**, 3063–3069 (2003).
14. Chatelain, C., Ciarletta, P. & Ben Amar, M. Morphological changes in early melanoma development: Influence of nutrients, growth inhibitors and cell-adhesion mechanisms. *J. of Theoretical Biology* **290**, 46–59 (2011).
15. Doi, M. & Onuki, A. Dynamic coupling between stress and composition in polymer solutions and blends. *J. Physique II* **2**, 1631–1656 (1992).
16. Puliafito, A. *et al.* Collective and single cell behavior in epithelial contact inhibition. *PNAS* **109**, 739–744 (2012).
17. Chatelain, C., Balois, T., Ciarletta, P. & Ben Amar, M. Emergence of microstructural patterns in skin cancer: a phase separation analysis in a binary mixture. *New Journal of Physics* **13**, 115013 (2011).
18. Ciarletta, P., Foret, L. & Ben Amar, M. The radial growth phase of malignant melanoma. *J. Roy. Soc. Interface* **8**, 345–368 (2011).
19. Ben Amar, M., Chatelain, C. & Ciarletta, P. Contour instabilities in early tumor growth models. *Phys. Rev. Lett.* **106**, 148101 (2011).
20. Nordlund, J. J. Clinical appearance of cutaneous melanoma. *The Yale Journal of biology and medicine* **48**, 403–407 (1975).
21. Bennett, D. C. How to make a melanoma: what do we know of the primary clonal events? *Pigment Cell Melanoma Res.* **21**, 27–38 (2008).
22. Hsu, M. Y., Meier, F. & Herlyn, M. Melanoma development and progression: a conspiracy between tumor and host. *Differentiation* **70**, 522–536 (2002).
23. Haas, N. K. & Herlyn, M. Normal human melanocyte homeostasis as a paradigm for understanding melanoma. *J. Investg. Derm. Symp. Proc.* **10**, 153–163 (2005).
24. Haas, N. K. *et al.* Adhesion, migration and communication in melanoma and melanocytes. *Pigment Cell Res.* **18**, 150–159 (2005).
25. Viros, A. *et al.* Improving Melanoma Classification by integrating Genetic and Morphologic Features, *PLoS Med.* **5**, 941–952 (2008).
26. Rhodes, A. R. *et al.* Increased intraepidermal melanocyte frequency and size in dysplastic melanocytic nevi and cutaneous melanoma. A comparative quantitative study of dysplastic melanocytic nevi, superficial spreading melanoma, nevocellular nevi, and solar lentigines. *J Invest Dermatol.* **80**, 452–459 (1983).
27. Rhodes, A. R. Melanocytic precursors of cutaneous melanoma. Estimated risks and guidelines for management. *Med Clin North Am.* **70**, 3–37 (1986).
28. Jain, R. K. Transport of molecules in the tumor interstitium: a review. *Cancer Res.* **47**, 3039–3051 (1987).
29. van Kemenade, P. M., Huyghe, J. M. & Douven, L. F. A. Triphasic FE modeling of skin water barrier. *Transp. Porous Media* **50**, 93–109 (2003).
30. Swabb, E. A., Wei, J. & Gullino, P. M. Diffusion and convection in normal and neoplastic tissues. *Cancer Res.* **34**, 2814–2822 (1974).
31. Clark, W. H., From, L., Bernardino, E. A. & Mihm, M. C. The histogenesis and biological behavior of primary human malignant melanoma of the skin. *Cancer Res.* **29**, 705–726 (1969).
32. Creasey, A. A. *et al.* Biological properties of human melanoma cells in culture. *In Vitro* **5**, 342–350 (1979).
33. Bedogni, B. & Powell, M. B. Hypoxia, melanocytes and melanoma - survival and tumor development in the permissive microenvironment of the skin. *Pigment Cell Melanoma Res.* **22**, 166–174 (2009).
34. Johnson, M. E., Blankschtein, D. & Langer, R. Evaluation of solute permeation through the stratum corneum: lateral bilayer diffusion as the primary transport mechanism. *J. Pharm. Sc.* **86**, 1162–1172 (1997).
35. Stucker, M. *et al.* The cutaneous uptake of atmospheric oxygen contributes significantly to the oxygen supply of human dermis and epidermis. *J. Physiol.* **538**, 985–994 (2002).
36. Cornelissen, L. H. *et al.* Diffusion measurements in epidermal tissues with fluorescent recovery after photobleaching. *Skin Res. Technol.* **14**, 462–467 (2008).

Acknowledgments

This work was supported in part by AAP Physique Cancer 2012.

Author contributions

T.B. and M.B.A. have contributed equally to this work. They wrote the main manuscript text, prepared the figures. All authors reviewed the manuscript.



Additional information

Supplementary information accompanies this paper at <http://www.nature.com/scientificreports>

Competing financial interests: The authors declare no competing financial interests.

How to cite this article: Balois, T., Amar, M.B. & Amar, M.B. Morphology of melanocytic lesions *in situ*. *Sci. Rep.* 4, 3622; DOI:10.1038/srep03622 (2014).



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported license. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0>

Morphology of melanocytic lesions *in situ*: Supplementary

T. Balois and M. Ben Amar

Laboratoire de Physique Statistique, Ecole Normale Supérieure, UPMC Univ Paris 06, Université Paris Diderot, CNRS, 24 rue Lhomond, 75005 Paris, France
Institut Universitaire de Cancérologie, Faculté de médecine, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, 91 boulevard de l'hôpital, 75013 Paris, France

Some details of the article require more explanations. First, we will come back on the biological context seen in sec.2. especially the micro-environment, then we will describe more precisely the model in sec.3. and the range of parameters we used.

1 Biology of the skin

Here we will focus on the interactions between cells in the normal skin, then in a tumor.

1.1 Micro-environment in normal skin

The epidermis needs a more thorough description. First of all, keratinocytes and melanocytes are not the only cells found in the epidermis. A normal epidermis also exhibits Langerhans cells and Merkel cells. Langerhans cells ($\sim 2\%$ of epidermis cells [1]) are immune system cells. They detect antigens which penetrate the epidermis and present them to lymphocytes. The Merkel cells are pressure sensing cells. As those cells are scattered, they are not taken into account here.

The micro-environment of a cell is very important for its fate. For instance melanocytes cultivated without keratinocytes display some characteristics of melanoma cells that do not appear in their presence

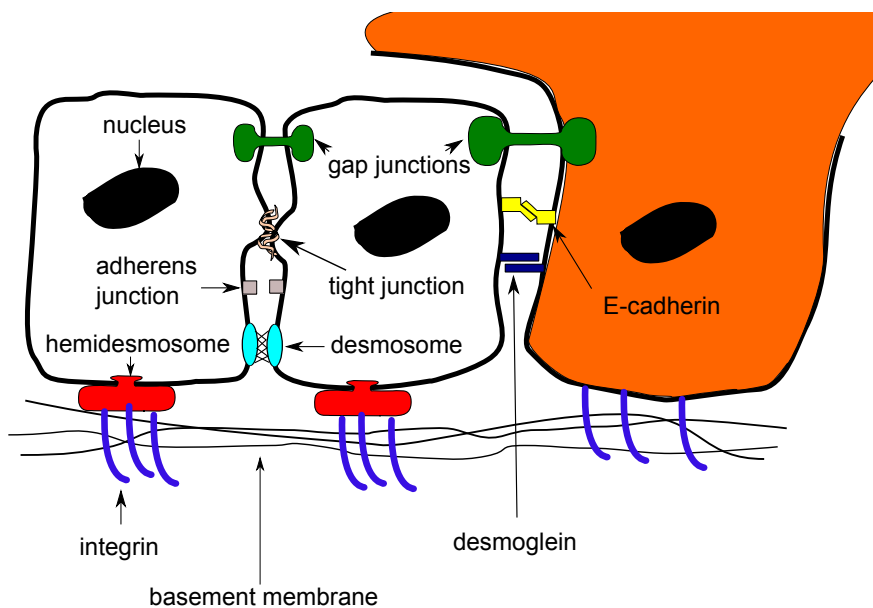


Figure1. Schematic representation of the adhesion mechanisms between healthy cells. On the left, in white keratinocytes, and on the right in brown melanocytes.

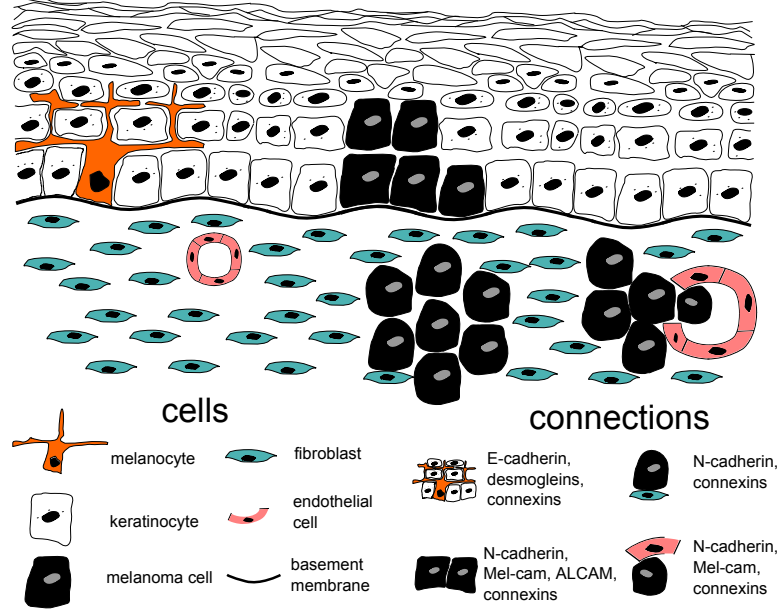


Figure 2. Representation of the skin with several type lesions adapted from [2]. The malignancy increase from left to right, with a loss of keratinocytes interactions and an increase of interactions between melanoma cells.

[2]. Therefore, the mechanisms of interactions between cells and their environment are of utmost importance (see Fig.1). Keratinocytes are strongly bound to the basement membrane through hemidesmosomes joining the intracellular keratin network to the collagen fibres of the basement membrane through integrins. Keratinocytes are linked by several types of junctions: desmosomes, tight junctions, adherens junctions and gap junctions (see Fig.1). Tight junctions are mainly constituted of occludins, proteins binding the membranes of neighbour cells. Desmosomes are connected through cadherins and link the keratin network of the keratinocytes. Adherens junctions are also made of cadherins linking the actin network. Gap junctions are communication channels allowing diffusion of small molecules. Melanocytes binds to the basement membrane through integrins linking the actine network of the cytoplasm to the basement membrane. In healthy skin melanocytes do not bind to each other, but they are strongly attached to keratinocytes through E-cadherins and desmogleins, and communicate through gap junctions with keratinocytes.

1.2 Micro-environment involved in tumors

During melanogenesis, the nature of the bounds change, this process is known as cadherin switch. Interactions with keratinocytes decrease via a diminution of E-cadherins, desmogleins and gap junctions, while the interactions with other melanoma cells increase via an augmentation of N-cadherins, melanoma cell adhesion proteins (Mel-CAM), and activated leukocyte (cell adhesion molecule ALCAM) [2,3]. Growth of melanoma cells relies less and less on the micro-environment, they evade control from the other cells. The new adhesion molecules (N-cadherins, Mel-CAM and integrins) allow a better interaction with fibroblasts and the other endothelial cells, and therefore the invasion of the dermis.

2 Model

First, we describe the equations for nutrients and explain the derivation of the 2D description. Secondly, we will focus on the method used to ascertain the velocity of the cancerous phase v_c .

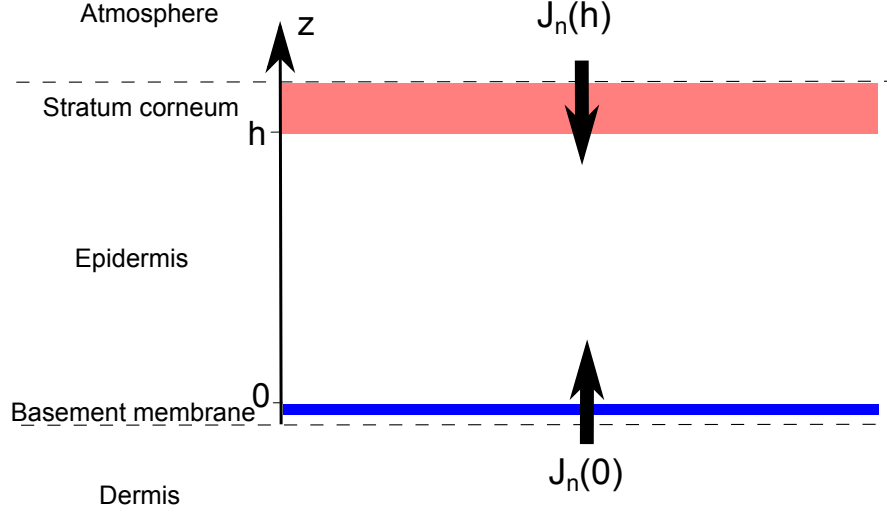


Figure3. Schematic representation of the epidermis.

2.1 Nutrients

Regardless of the kind of nutrients considered (oxygen or sugar), they are small molecules which diffuse in the epidermis while being consumed by the cells so the concentration n is given by:

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n\mathbf{v}) = \nabla \cdot (D_n \nabla n) + \Gamma_n(\phi, n)$$

where ∇ is the differential operator: $\nabla = (\partial_x, \partial_y, \partial_z)$, $\Gamma_n(\phi, n)$ represents the nutrient consumption. Considering the velocities involved (growth speed $\sim 0.3\text{mm}$ per day), the left term of the equation is negligible, so the nutrients are at diffusion equilibrium. Averaging along the z -axis, we get:

$$0 = \nabla_{//} \cdot (D_n' / \nabla_{//} \langle n \rangle) + \langle \Gamma_n(\phi, n) \rangle + \frac{1}{h} [J_n(h) + J_n(0)]_0^h$$

where $\nabla_{//} = (\partial_x, \partial_y)$ is the differential vector in the plane of the epidermis, $\langle n \rangle = h^{-1} \int n dz$, $\langle \Gamma_n(\phi, n) \rangle = h^{-1} \int \Gamma_n(\phi, n) dz$, $J_n(h)$ and $J_n(0)$ are the nutrients flux in $z = h$ and $z = 0$ (see Fig.3).

We assume a simple form for nutrient flux:

$$J_n = \alpha(n^0 - \langle n \rangle), \text{ so } \frac{1}{h} [J_n(h) + J_n(0)]_0^h = S_n(n_s - \langle n \rangle)$$

where α and n^0 depend on the position and on the nutrient (oxygen mostly diffuses from the stratum corneum [12], whereas the sugar comes obviously from the dermis). Because the epidermis is hypoxic and for simplicity, the nutrient consumption is taken linear in both ϕ and n :

$$\langle \Gamma_n(\phi, n) \rangle = -\delta_n \phi_c \langle n \rangle - \kappa(1 - \phi_c) \langle n \rangle$$

Dropping the average symbols $\langle \rangle$ and the plan symbol $//$, we get the governing equation for nutrients in 2D:

$$0 = D_n \Delta n - \delta_n \phi_c n - \kappa(1 - \phi_c) n + S_n(n_s - n) \quad (1)$$

2.2 Mechanical and thermodynamical aspects

The mass balance equation can be written for the cancerous phase, ϕ_c , and the healthy phase ϕ_h :

$$\begin{cases} \partial_t \phi_c + \nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c) = \Gamma(\phi_c, n) \\ \partial_t \phi_h + \nabla \cdot (\phi_h \mathbf{v}_h) = \Gamma(\phi_h, n) \end{cases} \quad (2)$$

In order to determine the velocity of the cancerous phase $\mathbf{v}_c$, we apply a variational principle. First, we take a simple form for the free energy $\mathcal{F}_s$:

$$\mathcal{F}_s = \int [\Psi(\phi_c) + \epsilon^2 (\nabla \phi_c)^2] dx dy$$

We add a viscous friction W between phases of the form:

$$W = \int_{\Omega} \frac{M\phi_c}{2} (\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_h)^2 d\Omega$$

So the variation of energy per time unit $\mathcal{Q}$ called the Rayleighian [4] is written as:

$$\mathcal{Q} = \int_{\Omega} \underbrace{\left[\frac{M\phi_c}{2} (\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_h)^2 \right]}_{\text{dissipation}} + \underbrace{\left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right) (-\nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c) + \Gamma_c)}_{\text{variation of free energy}} - \underbrace{p \nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_c + \phi_h \mathbf{v}_h)}_{\text{incompressibility}} d\Omega$$

where p is a Lagrange multiplier interpreted as the pressure that insure the incompressibility condition. Minimizing $\mathcal{Q}$ by a variational analysis with respect to both velocities $(\mathbf{v}_c, \mathbf{v}_h)$ gives us a new set of equations, that can be interpreted as the force equilibrium for each phase:

$$\begin{aligned} M\phi_c (\mathbf{v}_h - \mathbf{v}_c) + \phi_h \nabla p &= 0 \\ \underbrace{M\phi_c (\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_h)}_{\text{friction}} + \underbrace{\phi_c \nabla \left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right)}_{\text{stress of the cellular phase}} + \underbrace{\phi_c \nabla p}_{\text{hydrostatic pressure}} &= 0 \end{aligned}$$

Eliminating the pressure, gives us the relative motion between the two phases:

$$\mathbf{v}_c - \mathbf{v}_h = -\frac{(1 - \phi_c)}{M} \nabla \left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right)$$

Considering that the mass center is not moving, $\phi_c \mathbf{v}_c + \phi_h \mathbf{v}_h = 0$, is a particular solution for an incompressible flow. This allows to write a Darcy-like equation:

$$\mathbf{v}_c = -\frac{(1 - \phi_c)^2}{M} \nabla \left(\frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c \right)$$

Therefore, we have $\Sigma = \frac{\partial \psi}{\partial \phi_c} - \epsilon^2 \Delta \phi_c$ and $K = M^{-1}$, the same expression described in sec.3.2. for the cancerous phase:

$$\partial_t \phi_c + \nabla \cdot (-K \phi_c (1 - \phi_c)^2 \nabla (f(\phi_c) - \epsilon^2 \Delta \phi_c)) = \gamma \phi_c n - \delta \phi_c \quad (3)$$

where $f(\phi_c) = \frac{\partial \psi}{\partial \phi_c}$ and takes the form described in sec.3.2. Eq. 1 and 3 depends on several parameters that needs to be evaluated.

References

1. Bauer,J., Bahmer, F.A., Wörl, J., Neuhuber,W. , Schuler,G., & Fartasch,M. A Strikingly Constant Ratio Exists Between Langerhans Cells and Other Epidermal Cells in Human Skin. A Stereologic Study Using the Optical Disector Method and the Confocal Laser Scanning Microscope. *Journal of investigative dermatology*, **116**, (2001).
2. Haass,N.K. & Herlyn M. Normal human melanocyte homeostasis as a paradigm for understanding melanoma. *J. Investig. Dermatol. Symp Proc*, **10**, (2005).
3. NIKOLAS K. HAAS,N.K. KEIRAN S.M. SMALLEY, LING LI & MEENHARD HERLYN, Adhesion, migration and communication in melanoma and melanocytes, *Pigment Cell Res.*, **18**, 150-159 (2005).
4. Doi, M. & A. Onuki,A. Dynamic coupling between stress and composition in polymer solutions and blends. *J. Physique II*, **2**, 1631-1656 (1992).
5. R. K. Jain,R.K. Transport of molecules in the tumor interstitium: a review. *Cancer Res.*, **47**, 3039-3051 (1987).
6. van Kemenade, P.M, Huyghe, J.M. & DouvenL.F.A. Triphasic FE modeling of skin water barrier. *Transp. Porous Media*, **50**, 93-109 (2003).
7. E. A. SWABB & J. WEI & P. M. GULLINO,P.M. DIFFUSION AND CONVECTION IN NORMAL AND NEOPLASTIC TISSUES, *Cancer Res.*, **34**, 2814-2822 (1974).
8. CLARK,W.H., L FROM, L., BERNARDINO,E.A. & MIHM,M.C. THE HISTOGENESIS AND BIOLOGICAL BEHAVIOR OF PRIMARY HUMAN MALIGNANT MELANOMA OF THE SKIN. *Cancer Res.*, **29**, 705-726 (1969).
9. A. A. CREASEY, A.A. *et al* Biological properties of human melanoma cells in culture. *In Vitro*, **5**, 342-350 (1979).
10. B. Bedogni,B. & M. B. Powell,M.B. Hypoxia, melanocytes and melanoma - survival and tumor development in the permissive microenvironment of the skin. *Pigment Cell Melanoma Res.*, **22**, 166-174 (2009).
11. Johnson M. E., D. Blankschtein,D & Langer, R. Evaluation of solute permeation through the stratum corneum: lateral bilayer diffusion as the primary transport mechanism. *J. Pharm. Sc.*, **86**, 1162-1172 (1997).
12. Stucker,M. & al. The cutaneous uptake of atmospheric oxygen contributes significantly to the oxygen supply of human dermis and epidermis. *J. Physiol.*, **538**, 985-994 (2002).
13. Chatelain,C., Ciarletta,P. & Ben Amar, M. Morphological changes in early melanoma development: Influence of nutrients, growth inhibitors and cell-adhesion mechanisms. *J. of Theoretical Biology*, **290** , 46-59 (2011).
14. Chatelain, C. Balois, T., Ciarletta,C. & Ben Amar,M. Emergence of microstructural patterns in skin cancer: a phase separation analysis in a binary mixture. *New Journal of Physics*, **13** , 115013 (2011).

Chapitre 4

Effets de la troisième dimension

Dans ce chapitre nous allons nous intéresser aux effets liés à l'épaisseur de l'épiderme. Nous allons vérifier les hypothèses implicites du caractère plan de notre modèle à deux phases qui sont liées à des effets de variations suivant l'axe vertical de l'épiderme.

4.1 Le cas de la peau glabre

Lors de la mise en équation de la section 2.3, nous avons considéré que l'épiderme était une couche mince et plane, alors qu'en section 1.1.4.2 nous avons précisé que dans les zones de peau glabre l'épiderme était épais et que la JDE présentait des variations spatiales régulières. Nous allons donc présenter le problème dû aux variations de concavité de la JDE, puis celui de la propagation de la mélanine au sein de l'épiderme.

4.1.1 Observations cliniques

Il a été prouvé [172, 173, 174, 175] que les naevi et les mélanomes présentent des pigmentations en bandes parallèles (Figure 4.1). Il existe une différence pratique pour le diagnostic médical [175] : les bandes des naevi sont localisées le long des sillons de la surface cutanée alors qu'elles se trouvent sur les crêtes de la surface cutanée pour les mélanomes. Grâce à une étude par microscopie électronique de la JDE sur différents sites de la plante des pieds, Nagashima et Tsuchida [176] montrent que la pigmentation des naevi suit la structure des crêtes épidermiques. Il semble naturel de penser que ces formes de pigmentation trouvent leur cause dans la géométrie de l'épiderme qui influe sur la distribution des mélanocytes et de la basale comme suggéré par les observations cliniques [177, 176].

De plus, des examens histopathologiques de naevi montrent la présence de colonnes de mélanine dans les naevi acraux. Elles se situent sous les sillons de la surface cutanée au dessus des crêtes limitantes de l'épiderme (Figure 1.8). Kimoto *et al.* ont émis l'hypothèse que les cellules mélanomales des naevi proliféraient plus au niveau des crêtes limitantes, ce qui pourrait expliquer l'observation clinique [178]. Mais comme on peut le constater sur la Figure 1.8, certains naevi présentent des agrégats de cellules mélanomales au niveau des deux types de crêtes épidermiques

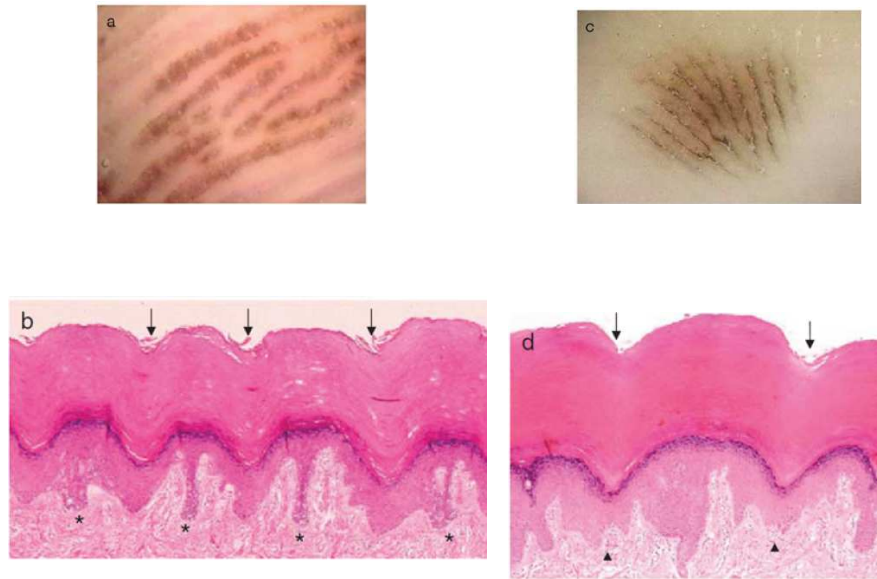


FIGURE 4.1 – Différence de répartition de la mélanine entre un naevus a) et b) et un mélanome acral *in situ* c) et d). Les images a) et c) correspondent à des photographies de dermoscopie. Les images b) et d) correspondent à des coupes histopathologiques des lésions correspondantes. Images extraites de [171].

[174, 179]. Nous émettons l'hypothèse qu'un effet géométrique de l'épiderme influe sur la propagation de la mélanine.

4.1.2 Possible effets des variations spatiales de la JDE et de l'épiderme

Le premier effet, auquel un physicien peut penser, est sans doute l'apport de la concavité sur la diffusion de nutriments venant de la basale. Le derme étant bien vascularisé, on peut considérer qu'il est une source constante de nutriments (Figure 1.2). Il devrait donc y avoir une confluence des nutriments au niveau des crêtes épidermiques. Afin de prendre en compte les effets de courbure dans leur ensemble, nous allons utiliser une représentation de Monge (Figure 4.2) pour modéliser correctement la membrane basale.

4.1.3 Propagation verticale de la mélanine

La propagation des kératinocytes doit se faire tangentielle à la JDE. On s'attend donc à ce que les lignes de courant des kératinocytes se resserrent au niveau des crêtes épidermiques, ce qui pourrait expliquer par des arguments physiques les observations cliniques réalisées.

4.2 Mise en équation et résultats

Dans cet article nous avons mis en équation ces deux problèmes de croissance des tumeurs sur surface courbe et de propagation de la mélanine dans l'épaisseur de l'épiderme. D'abord nous présentons le modèle à deux phases dans le cas d'une géométrie courbe, dont toute les étapes de développement sont donnés en annexe. Puis nous proposons deux modèles de propagation de la mélanine en colonnes, d'abord par un écoulement de Darcy puis par un écoulement de Stokes. Enfin, nous comparons les résultats de nos modèles physiques avec les observations cliniques.



Cite this article: Balois T, Chatelain C, Ben Amar M. 2014 Patterns in melanocytic lesions: impact of the geometry on growth and transport inside the epidermis. *J. R. Soc. Interface* **11**: 20140339.
<http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2014.0339>

Received: 2 April 2014

Accepted: 1 May 2014

Subject Areas:

biomechanics, biomathematics, medical physics

Keywords:

pattern formation, tumour multiphase model, skin cancer morphology, clinical dermatology, geometrical growth and transport

Author for correspondence:

Martine Ben Amar

e-mail: benamar@lps.ens.fr

Patterns in melanocytic lesions: impact of the geometry on growth and transport inside the epidermis

Thibaut Balois^{1,2}, Clément Chatelain^{1,2} and Martine Ben Amar^{1,2}

¹Laboratoire de Physique Statistique, Ecole Normale Supérieure, UPMC Univ Paris 06, Université Paris Diderot, CNRS, 24 rue Lhomond, Paris 75005, France

²Faculté de médecine, Institut Universitaire de Cancérologie, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, 91 Boulevard de l'hôpital, Paris 75013, France

In glabrous skin, nevi and melanomas exhibit pigmented stripes during clinical dermoscopic examination. They find their origin in the basal layer geometry which periodically exhibits ridges, alternatively large (limiting ridges) and thin (intermediate ridges). However, nevus and melanoma lesions differ by the localization of the pigmented stripes along furrows or ridges of the epidermis surface. Here, we propose a biomechanical model of avascular tumour growth which takes into account this specific geometry in the epidermis where both kinds of lesions first appear. Simulations show a periodic distribution of tumour cells inside the lesion, with a global contour stretched out along the ridges. In order to be as close as possible to clinical observations, we also consider the melanin transport by the keratinocytes. Our simulations show that reasonable assumptions on melanocytic cell repartition in the ridges favour the limiting ridges of the basal compared with the intermediate ones in agreement with nevus observations but not really with melanomas. It raises the question of cell aggregation and repartition of melanocytic cells in acral melanomas and requires further biological studies of these cells *in situ*.

1. Introduction

Melanomas are the most deadly skin cancer, being responsible for 75% of the mortality due to skin cancer according to the American Cancer Society.¹ Unlike cancers affecting other organs, these tumours are directly observable since the primary tumour appears as a pigmented lesion at the surface of the skin. Early detection is therefore made possible by simple skin examination, eventually performed by the patient himself. When a melanoma is detected at an early stage, it can be treated by simple excision and the 10 year survival rate is higher than 99%. However, the survival rate drops to less than 50% when it penetrates deeply into the dermis. In the last decades, many efforts have been made to improve the methods of differential diagnosis in order to classify malignant and benign melanocytic lesions based on morphological criteria. Empirical studies from collections of clinical cases have led to the identification of shapes and microstructures, especially thanks to more and more precise tools like dermoscopy [1,2]. But the mechanisms generating these structures as the morphological differences between malignant and benign tumours remain largely unknown. We recently proposed physical mechanisms controlling the contour regularity of melanocytic tumours [3–5] and explaining the apparition of microstructures such as pigmented dots and globules [6]. However, the models that have been developed until now suppose that the various layers of the skin are horizontal with the avascular growth occurring in a thin epidermis with a simple flat geometry. In certain regions of the body, the skin has a more pronounced geometry, often associated with specific microstructures, such as dermal papillae. We discuss here how the skin geometry can influence the pattern formation in melanocytic tumours. The effect of the geometry on

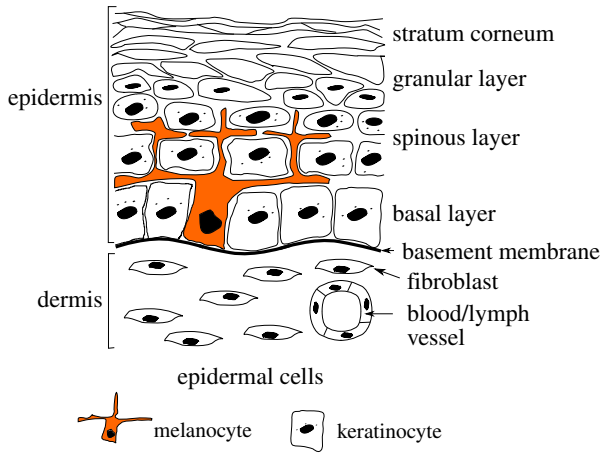


Figure 1. Schematic of the two outmost layers of the skin, the dermis and the epidermis.

growth has already been demonstrated for morphogenesis experimentally [7] and theoretically [8].

Human skin can be divided into three layers, epidermis, dermis and hypodermis. The epidermis is the superficial layer of the skin and is mainly composed of keratinocytes and to a less extent of melanocytes (figure 1). Keratinocytes proliferate in a basal monolayer attached to the basement membrane forming the dermal–epidermal junction, and migrate towards the skin surface during their differentiation. The stratum corneum is the outermost part of the epidermis and is made of fully differentiated keratinocytes and of non-living corneocytes, in a lipid-rich matrix regulating skin permeability. In healthy tissue, each melanocyte remains connected to neighbour keratinocytes and to the basement membrane. Its main role consists of producing the pigment of the skin called melanin. Melanin is enclosed in vesicles and is then transported by neighbour keratinocytes via endocytosis and exocytosis. Melanocytic lesions such as nevi and melanoma originate from a dysregulation of melanocytes leading to the invasion of the surrounding tissue. The structure of human skin varies significantly depending on the location on the body. We can define two main types of skin: non-glabrous and glabrous skin. Non-glabrous skin is characterized by the presence of hair follicles and a thin epidermis (100 μm thick typically) almost planar except near the hair follicles. Hairless skin, which is found on the palms and soles, is instead characterized by a thick epidermis (1 mm thick typically), including a dense and thick stratum corneum. At the skin surface, dermatoglyphs are formed by a periodic alternation of ridges and furrows [9]. At the dermal–epidermal junction, an epidermal ridge lies under each surface furrow and each surface ridge: the limiting ridges (*crista profunda limitans*) and intermediate ridges (*crista profunda intermedia*), respectively. Intermediate ridges are narrower than the limiting ridges [10] and host the eccrine sweat glands (*acrosyringium*) that appear by dermoscopy as white dots at the centre of each surface ridge [11]. This complex structure plays an important role in the perception of touch and induces a strong mechanical coupling between the dermis and epidermis in palms and soles allowing the skin to support high mechanical stresses [12]. Among non-white populations, glabrous skin is the most common location for melanoma. For instance, in Japanese population 50% of detected melanomas are found in these locations [13]. Clinical research has shown that nevi and melanomas developing on glabrous skin have specific shapes,

Table 1. Nomenclature.

n	nutrient concentration in three dimensions
ϵ	thickness of the thin layer of proliferation
N	nutrient concentration in two dimensions
ϕ_c	melanocytic cells concentration
ϕ_h	healthy phase concentration (keratinocytes)
κ	nutrient consumption of keratinocytes (ϕ_c)
v_c	velocity of ϕ_c
Γ	mass exchange rate between ϕ_c and ϕ_h
Ψ	free-energy between the melanocytic cells
$\sum$	derivative of the free-energy Ψ
$f(\phi_c)$	volumic term of $\sum$
$\mathcal{K}$	mobility constant of the melanocytic phase ϕ_c
g_{ij}	metric tensor of the surface S_B
$g = \det(g_{ij})$	basement membrane
H	mean radius of curvature S_B
S_B	proliferation surface corresponding to the basal layer
SC	epidermis outer surface (stratum corneum)
k	permeability of the keratinocytes phase
μ	viscosity of the keratinocytes phase
$K = k/\mu$	Darcy constant
p	hydrostatic pressure
v	local rate of migration of keratinocytes
V	migration rate from the basal layer (boundary condition)
c	melanin concentration
c_0	melanin concentration in the basal layer (boundary condition)
D	diffusion coefficient of melanin
δ_m	degradation rate of melanin
A	amplitude of the basal layer oscillation
Z_{nest}	height of the melanocytic cells nest
p_0	homeostatic pressure

certainly influenced by the geometry of the skin in these locations, and requiring appropriate diagnostic criteria.

On glabrous skin, nevi and melanomas *in situ* are generally associated with parallel pigmented stripes. For nevi, these stripes are usually located along the furrows of the skin surface, parallel furrow patterns (40–45% of acral nevi [14]), unlike melanomas which are associated with similar pigmented parallel patterns but located along the ridges of the skin surface, parallel ridge patterns (83% of melanoma *in situ*) [14–17]. Saida *et al.* [14] reported a sensitivity of 86% and a specificity of 99% for the early diagnosis of acral melanomas using an algorithm based on these parallel patterns. These shapes suggest a strong influence of the geometry of the epidermis on the distribution of melanocytes and melanin in agreement with clinical observations [10,18]. For instance, using electron microscopy, Nagashima & Tsuchida [10] have observed the geometry of the dermal–epidermal junction at different sites of the feet and have shown that on each site, the pigmentation pattern of nevi follows the structure of epidermal ridges.

A tissue section of acral nevus performed perpendicularly to skin fingerprints frequently shows the presence of melanin

columns extending from the limiting ridge of the dermal-epidermal junction towards the skin surface [19]. A preferential proliferation of nevus cells in the limiting ridges has been proposed to explain the presence of these columns. However, recent investigations by Palleschi *et al.* [20] and by Saida *et al.* [17] show that this explanation is not sufficient. In some acral nevi, these authors show that aggregates of nevus cells are present in both limiting and intermediate ridges, but columns of melanin are found only above limiting ridges. Inhibition of melanin synthesis in intermediate ridges could explain this phenomenon.

In this paper, we aim to model such clinical observations. As dermoscopes detect the melanin pigment and not the melanocytes, we consider the proliferation of tumour cells on a distorted basement membrane and also the transport of the originated melanin in the same geometry. For this purpose, we develop two mathematical models. Both models take into account the existence of epidermal ridges. These models provide a geometrical explanation for the apparition of parallel patterns in melanocytic lesions of glabrous skin and for the localization of melanin columns above limiting ridges. In §2, we revisit the avascular growth model for melanomas [3–6] taking into account the geometry of the epidermis. In §3, we propose a new model for melanin transport and melanin column distribution inside the epidermis. In §4, we discuss the physical results which correctly describe the nevi stripes, but not completely the pigmented stripes of acral melanoma. In appendix A, we give a more detailed description of the methods used in this study, a list of symbols is given in table 1 and a list of parameter values is given in table 2.

2. Model of melanoma cell proliferation on curved surfaces

In order to understand the clinical observations of melanocytic lesions on glabrous skin, we first focus on cell proliferation and tumour growth. Several approaches have been developed to model tumour growth [21–23]. We develop a continuous model based on the theory of mixtures [24,25]. Even though there have been studies of diffusion on a curved surface [26] and proliferation of curved epithelium [27], no cancer models take into account the curvature of the epithelium. For simplicity sake, this mixture model takes into account only two phases [4,6]: a cancerous proliferative phase with a concentration ϕ_c and a second healthy phase containing the interstitial fluid, the dead cells and the keratinocytes with a concentration $\phi_h = 1 - \phi_c$. The concentration represents the percentage of each kind of cell at a given point inside the lesion, but an average is achieved on a scale larger than the cell scale. Both phases need nutrients to ensure cell functions. In this section, we present briefly the chosen geometry of glabrous skin and we detail the governing equations induced by the curvature effects of the limiting basement membrane. These equations can be treated only numerically and the simulations will be compared to clinical observations.

2.1. Geometry and governing equations

We consider the growth of a thin layer with thickness ϵ on a curved surface S_B . S_B represents the basement membrane, and the layer is constituted of the proliferative zone containing melanocytes, so basically the spinous and basal layer of the

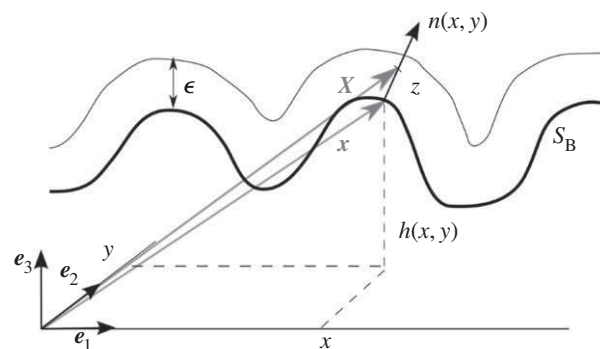


Figure 2. Monge representation of the surface S_B and representation of the thin layer of thickness ϵ . A point on the surface S_B is represented by $\mathbf{x} = x\mathbf{e}_1 + y\mathbf{e}_2 + h(x, y)\mathbf{e}_3$, and the normal vector to the surface S_B at $\mathbf{x}(x, y)$ is written as $\mathbf{n}(x, y)$. The thin layer is represented by the set of points $\mathbf{X} = \mathbf{x} + z\mathbf{n}$ with $z \in [0, \epsilon]$.

epidermis. Its order of magnitude is of a few cells size, so few times $6 \mu\text{m}$. Therefore, we can consider the layer as two dimensional and the fraction of cancerous phase $\phi_c(x, y)$ at the point of coordinates (x, y) , once averaged does not depend on z . In the following, we use the Monge representation of the surface S_B , which means that the vertical coordinate of one point of the surface is $z_B = h(x, y)$ (figure 2). The classical equations of tumour growth [3–5] are modified by this geometry. The induced modifications are rather technical requiring the tools of differential geometry. It turns out that it has never been treated before in the literature of tumour modelling perhaps because of its specificity to skin cancers. A complete description of curvature effects on differential mathematical operators is given in appendix A.

Inside the thin layer, the small nutrient molecules of concentration n diffuse and are consumed by the cells. The timescale for diffusion being much shorter than the uptake time, the diffusion is treated at equilibrium, and we derive the following three-dimensional equation:

$$\nabla \cdot D \nabla n - \delta_n \phi_c n - \kappa(1 - \phi_c)n = 0, \quad (2.1)$$

where D is the diffusion matrix, with coefficients $D = D_{\parallel}$ when the diffusion occurs along the surface S_B , and $D = D_{\perp}$ when the diffusion occurs perpendicularly. δ_n (resp. κ) is the nutrient consumption rate by the cancerous phase (resp. by the healthy phase). The thickness ϵ being small, an averaged description of all quantities is enough for our purpose restoring a two-dimensional description. It is why we integrate this equation along the z -axis giving

$$N(x, y) = \frac{1}{\epsilon} \int_0^{\epsilon} n(x, y, z) \left(\frac{G}{g} \right)^{1/2} dz \quad (2.2)$$

and

$$0 = D_{\parallel} \Delta' N - \delta_n \phi N - \kappa(1 - \phi_c)N + D_{z1}(n_1 - N) + \underbrace{HD_{z2}(n_2 - N)}_{\text{curvature effect}}, \quad (2.3)$$

where $N(x, y)$ is the surface concentration at (x, y) ; G, g and H are metric tensors given in appendix A. Δ' is the Laplace–Beltrami operator (see equation (A 15)); n_1 and n_2 are typical values of the nutrient concentration outside the thin layer (table 2). The first term of equation (2.3) represents the diffusion along the curved surface, whereas the second and third terms represent the orthogonal diffusion. Note that the third term due to the curvature will change sign along the surface. Although small, it is positive for ridges and increases the orthogonal flux

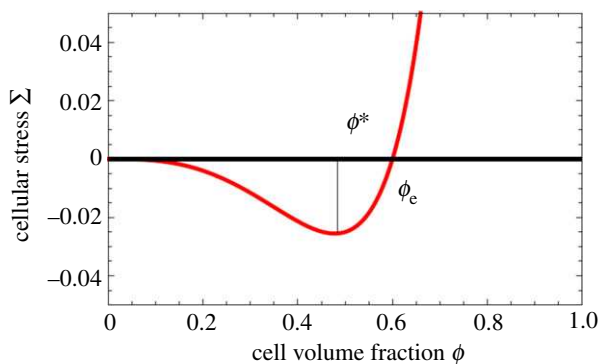


Figure 3. Σ , derivative of the free-energy as a function of concentration, $f(\phi_c)$ representing the attraction between melanocytic cells. ϕ_e is the concentration at equilibrium with the surrounding tissue.

and the local nutrient concentration as well. The two last terms represent nutrient consumption. Compared to previous works, the novelty of such equations concerns the real treatment of the basal geometry. Note that the averaging process allows recovery of a two-dimensional tractable equation, at least for simulations, without loss of pertinent information.

As we have assumed the same mass density for the two phases ϕ_c and ϕ_{lv} , the mass exchanges between them are the same, and we can focus on the mass balance equation for ϕ_c

$$\frac{\partial \phi_c}{\partial t} + \nabla' \cdot (\phi_c v_c) = \Gamma(\phi_c, N), \quad (2.4)$$

where v_c is the velocity of the cancerous phase, and $\Gamma(\phi_c, N)$ is the mass exchange rate. Using a variational principle, v_c is related to the derivative of the free-energy between cancer cells $\Sigma(\phi_c)$ [5,6]

$$v_c = -\mathcal{K}(1 - \phi_c)^2 \nabla' \Sigma(\phi_c), \quad (2.5)$$

with $\Sigma(\phi_c) = \partial \Psi / \partial \phi_c = f(\phi_c) - \epsilon_c^2 \Delta \phi_c$, $\Psi(\phi_c)$ being the free-energy between melanocytic cells. As expected for a cell–cell interaction, the volumic contribution $f(\phi_c)$ in Σ is weak at low concentration, attractive at intermediate concentration and becomes repulsive. Thus, it has a simple representation reminiscent of the Lennard–Jones potential (figure 3). A surface term $\epsilon_c^2 \Delta \phi_c$ is added to $\Sigma(\phi_c)$ penalizing large concentration gradients.

For the mass exchange rate $\Gamma(\phi_c, N)$, a simple linear law is assumed: $\Gamma(\phi_c, N) = \gamma_c \phi_c (N/n_s - \delta)$ with death and proliferation rate, δ and γ_c , being constant. Therefore, the final two-dimensional equation for the cell concentration is given by

$$\frac{\partial \phi_c}{\partial t} - \nabla' \cdot \left(\phi_c \mathcal{K}(1 - \phi_c)^2 \nabla' \Sigma(\phi_c) \right) = \gamma_c \phi_c \left(\frac{N}{n_s} - \delta \right), \quad (2.6)$$

with the Laplace–Beltrami operator (appendix A) noted with a superscript ' given by

$$\begin{aligned} \nabla' \cdot \mathcal{K}(1 - \phi_c)^2 \nabla' \Sigma(x) \\ = g^{-1/2} \left[\frac{\partial}{\partial x} \left(\phi_c \mathcal{K}(1 - \phi_c)^2 g^{1/2} \left(g^{xx} \frac{\partial \Sigma}{\partial x} + g^{xy} \frac{\partial \Sigma}{\partial y} \right) \right) \right. \\ \left. + \frac{\partial}{\partial y} \left(\phi_c \mathcal{K}(1 - \phi_c)^2 g^{1/2} \left(g^{xy} \frac{\partial \Sigma}{\partial x} + g^{yy} \frac{\partial \Sigma}{\partial y} \right) \right) \right]. \end{aligned} \quad (2.7)$$

We rewrite equations (2.3) and (2.6) with dimensionless quantities: $\hat{x} = x/l_n$ and $l_n = \sqrt{D_{||}/\delta_n}$ being the nutrient penetration length, $\hat{t} = t\gamma_c n_s$ and $\hat{N} = N/n_s$. Finally, dropping

hats and adapting all coefficients accordingly, we get the two coupled master equations to solve

$$\Delta' N - \phi_c n - \kappa(1 - \phi_c)N + \beta_1(N_1 - N) + \beta_2 H(N_2 - N) = 0 \quad (2.8)$$

and

$$\frac{\partial \phi_c}{\partial t} = D \nabla' \cdot (\phi_c(1 - \phi_c)^2 \nabla' (f(\phi_c) - \epsilon_c^2 \Delta' \phi_c) + \phi_c(N - \delta)). \quad (2.9)$$

The first mathematical symbol of equation (2.8) represents the lateral diffusion on a curved surface (equation (A 15)). The second (resp. the third) term accounts for the nutrient consumption of the melanocytic cells (resp. the healthy cells, mostly keratinocytes). The fourth term is the main term of the transversal diffusion, and the fifth term is the curvature contribution to the transversal diffusion. In equation (2.9), we recover the terms of the mass balance equation (equation (2.4)), the velocity in the convection term is calculated on a curved surface (equation (2.7)) and the third term expresses the cell proliferation and death. Only numerical simulations will allow recovery of some features of clinical observations. Note that table 2, which gives biomechanical quantities measured in the literature, makes the model quantitative as well.

2.2. Numerical results

Numerical simulations of equations (2.8) and (2.9) were performed in a two-dimensional $N \times N$ lattice, with $\phi_c \equiv 0$ and $n \equiv n_0$ at the lattice border. The initial conditions are chosen to follow parabolic distribution for the concentration with addition of an initial white noise. For the simulations, we choose f in Σ as

$$f(\phi_c) = \frac{\phi_c^p(\phi_c - \phi_e)}{1 - \phi_c}, \quad (2.10)$$

where $p > 1$, in order to represent the form of figure 3. Here, we fix $p = 2$ and $\phi_e = 0.6$. The simulations are executed in the following steps:

- calculate the value of Σ on the grid and
- implement the cell density (resp. the nutrient) value using a forward time centred space scheme to represent equation (2.9) (resp. equation (2.8)). A time dependence with a different timescale has been introduced in equation (2.8) to ensure that growth is slower than diffusion.

The program was implemented on a graphic processor unit, a GTX-580 NVIDIA graphic card, using the CUDA parallel programming language, in order to reduce computational time (appendix A.3.1). The value of parameters is chosen inside the range of biological values reported in table 2. The form of the basement membrane S_B is taken regular and sinusoidal (figure 4b) with $h(x, y) = h_0 \cos(kx) = h_0 \cos(k'i)$, where i is the line position on the grid.

An example of the simulations is given in figure 4. The simulated patterns follow the ridges of the basal pattern and are elongated along its direction although initial conditions are circular. The pattern of figure 4h resembles the pattern of the acral nevus shown by dermoscopy in figure 4a. As expected, the nutrient distribution plays an important role in this matter, as growth is driven by nutrient diffusion in the avascular phase and only N is modified by the concavity of the surface S_B . We focused on a small range of parameters in order to

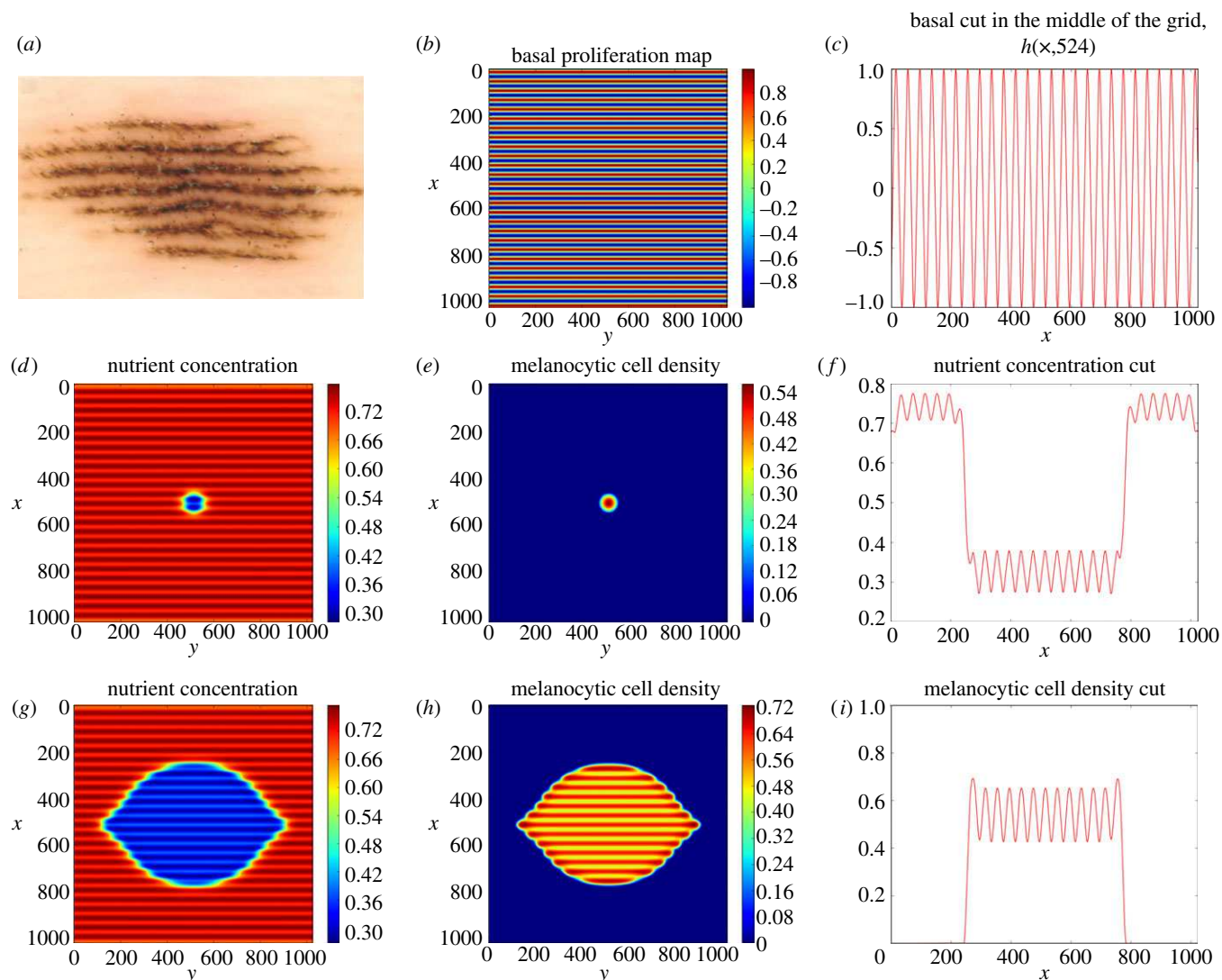


Figure 4. (a) Dermoscopy picture of an acral nevi taken from [14]. We estimate the lesion on the surface to be roughly 4.8 mm wide and 10 mm long. Pictures (b–i) come from a simulation made on a 1024×1024 lattice. The chosen parameters are: $\delta = 0.333333$, $D = 2.0$, $\beta_1 = 0.3$, $\beta_2 = 0.03$, $\kappa = 0.1$, $n_2 = 1.0$, $\epsilon_c = 0.4$, $h_0 = 1.0$, the time-step $\delta t = 0.00005$ and the size step $\delta x = 0.1$. (b) Pictures of the basal layer $h(x, y)$, which is the basal proliferation map. (e,h) Pictures of the cell distribution at time $t = 0$ and 200. (d,g) Pictures of the nutrient distribution at time $t = 5$ and $t = 200$. The x - and y -axes give the grid position. The wavelength of the basal perturbation is $4l_n$, approximately 0.4 mm. The size of the computed lesion on the basal represented in (h) is approximately 4 mm wide and 7 mm long. Pictures (c,f,i) are one-dimensional representation of, respectively, the basal proliferation map, the nutrient and the cell density, in the middle of the grid (the 524th column).

avoid the effect of a phase separation process [6], corresponding to a small value of D and an important value for ϵ_c . We chose a value of the height of the basal perturbation $h_0 = 1.0 l_n$ (roughly 100 μm which is around the *in vivo* value). The parameters δ , β_1 and κ regulate the concentration of the melanocytic cells inside the lesion [28].

In this section, we have proposed a model and simulations exhibiting the importance of the geometry of the wavy basement membrane. Considering the small thickness of the epidermis, a two-dimensional description remains valid when the geometry is accurately taken into account. The fact that the equations are written in two-dimensional space dimensions is of utmost importance for simulations. Indeed, the basal geometry modifies mostly the nutrient repartition and by consequence the cell proliferation, with a higher cell density in the epidermal ridges. The cancerous cell repartition follows the basement geometry as shown in our numerical study and also clinically. However, one needs to remember that the signal of the dermoscope used in clinical patient examination is not sensitive to the tumour cell concentration but to the melanin repartition in the whole depth of the epidermis. This melanin repartition

also results from the basement geometry, where it is initially produced. It is why we also consider the transport of melanin from the basement membrane up to the upper layers of the epidermis.

3. Melanin transport in the epidermis

Several models both experimental and mathematical have been developed to describe the transport of molecules through the skin. To our knowledge, nothing has been done for the transport of melanin. Our model is based on the transport of the melanin vesicles convected by the displacement of keratinocytes. It means that we need to consider the dynamics of keratinocytes first.

3.1. Model of keratinocyte migration and melanin transport in the epidermis

We need to represent the migration of keratinocytes from the basal layer S_B , where they proliferate, towards the skin surface S_C , where they are removed by desquamation. The surfaces S_B

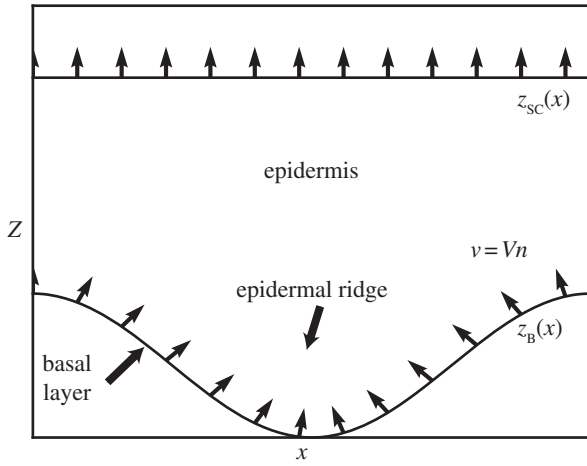


Figure 5. Schematic geometry of the epidermis and of our melanin transport model. The dermo-epidermal junction S_B supports the basal layer where keratinocytes proliferate and where melanocytes synthesize melanin. On glabrous skin, the structure of dermo-epidermal junction consists of an oscillating height $z_B(x)$. Keratinocytes migrate along the normal to the basal layer (apical migration) with a migration rate V towards the skin surface SC where they are eliminated by desquamation. Arrows represent migration rate of keratinocytes v .

and SC are described by the equations $z = z_B(x)$ and $z = z_{SC}(x)$ (respectively, taking an x -axis parallel to the skin surface and a vertical axis z , figure 5). Of course no physical model exists for the displacement of the cells inside the epidermis so we take constitutive equations commonly used in transport of viscous fluids. We discuss here two types of constitutive equations known as the Darcy and Stokes flow. The Darcy description allows analytical resolution, but is more restrictive. Whereas the Stokes flow can only be analysed through numerical solutions, but its applications are broader.

Assuming at first the migration inside a porous medium, the steady flow of keratinocytes is given by the Darcy equation

$$v = -K\nabla p \quad (3.1)$$

and

$$\nabla \cdot v = 0, \quad (3.2)$$

with p the hydrostatic pressure, v the local rate of migration of keratinocytes proportional to the pressure gradient ∇p , $K = k/\mu$, k the permeability μ the viscosity of the tissue.

To demonstrate the generality of the observed mechanisms, we have considered in a second step a migration process described by a Stokes flow, which is more adapted to highly viscous and incompressible flow, and is given by the equations

$$\nabla p - \mu \Delta v = 0 \quad (3.3)$$

and

$$\nabla \cdot v = 0. \quad (3.4)$$

From the basal layer S_B , keratinocytes migrate along the normal to this surface (apical migration) imposing the boundary conditions for the two different flow descriptions

$$v = Vn \quad \text{on } S_B, \quad (3.5)$$

where n is the normal to the surface of S_B , and V the migration rate from the basal layer.

The concentration of melanin in the basal layer $c = c_0$ depends on the rate of synthesis of the melanin by melanocytes

in this layer. It diffuses actively between the cells [29] and is convected with the migration of keratinocytes described by the velocity field v . Experimental studies suggest that melanin degradation occurs at a constant rate δ_m and is almost complete when reaching the skin surface SC [30,31]. The melanin concentration can therefore be described by a convection–diffusion equation

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\Delta c - v \cdot \nabla c - \delta_m c, \quad (3.6)$$

with the boundary conditions

$$c = c_0(x) \text{ on } S_B \quad \text{and} \quad c = 0 \text{ on } SC. \quad (3.7)$$

A typical value for the three terms of equation (3.6) can be estimated from the literature. Thingnes *et al.* [32] give an estimate of the degradation rate of melanin $\delta_m \sim 10^{-2} \text{ h}^{-1}$. Dover [33] reports the typical migration time of a keratinocyte from the basal layer to the skin surface $T_T = 154 - 641 \text{ h}$ which leads to an estimate of the convection term $|v \cdot \nabla| \sim V/H \sim 5 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, with $H \sim 1 \text{ mm}$ the thickness of the epidermis and $V \sim 37 - 155 \mu\text{m} \cdot \text{d}^{-1}$ the typical migration rate of keratinocytes. The transfer of melanin between keratinocytes has been investigated by Singh *et al.* [29] who have observed a transfer in 24 h through filopodia of typical length $20 \mu\text{m}$. We deduce from these experiments an estimate of the diffusion coefficient $D \sim 16 \mu\text{m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ and of the diffusion term in equation (3.6) $|D\Delta| \sim D/H^2 \sim 1.6 \times 10^{-5} \cdot \text{h}^{-1}$. The comparison of these experimental values shows that the diffusion term in equation (3.6) can be neglected and this equation can be rewritten simply as

$$v \cdot \nabla c + \delta_m c = 0. \quad (3.8)$$

3.2. Keratinocyte migration and melanin transport

3.2.1. Darcy flow

We first consider a keratinocyte migration represented by a Darcy flow and a simple geometry

$$z_B(x) = A \cos(kx) \quad \text{and} \quad z_{SC} = H. \quad (3.9)$$

This type of flow is well suited to the description of a viscous flow in a porous medium and has the advantage that it can be treated analytically [34]. The velocity field v can be represented by a velocity potential ϕ satisfying the following equations:

$$v = -K\nabla p = \nabla \phi \quad (3.10)$$

and

$$\nabla \cdot v = \Delta \phi = 0, \quad (3.11)$$

with the boundary conditions

$$t \cdot \nabla \phi = 0, \quad \text{on } S_B \quad (3.12)$$

and

$$n \cdot \nabla \phi = V, \quad \text{on } S_B, \quad (3.13)$$

with t the tangent to surface S_B . Assuming a uniform migration rate V in the basal layer, the problem can be solved analytically close to the surface S_B where we find the keratinocyte velocity

$$v_x = V A k \sin(kx) \cosh(kz) \quad (3.14)$$

and

$$v_z = V(1 - A k \cos(kx) \sinh(kz)), \quad (3.15)$$

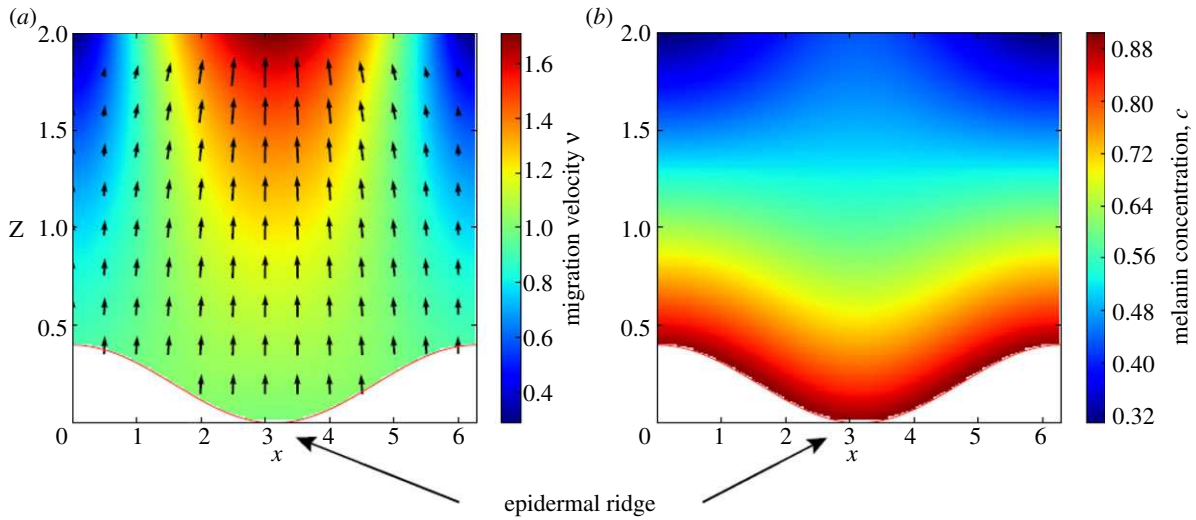


Figure 6. Effect of geometry on the migration of keratinocytes (a) and on the concentration of melanin c in the epidermis (b). The basal layer S_B , separating the dermis and the epidermis has an undulated geometry given by the equation $z = z_B(x) = A(1 + \cos(kx))$. Keratinocytes leave this layer with a constant velocity V along the normal to the layer. Representing the migration of keratinocytes by a Darcy flow, the stationary velocity v of these cells is given analytically to first order in A by equations (3.14) and (3.15) and are shown in (a). The concentration of melanin is $c_0 = 1.0$ in the basal layer S_B , where pigments are produced by melanocytes. Taking into account advection and degradation of melanin, the steady-state concentration is given analytically to first order in A by the equation (3.16) and is shown in figure (b). Approximate solutions to order A are shown for $A = 0.2$, $k = 1.0$, $V = 1.0$ and $\delta_m = 0.5$, and all quantities are dimensionless.

at the first order in A (figure 6). Assuming a uniform melanin concentration c_0 in S_B , the steady distribution of melanin advected by the keratinocyte migration is given at the order A

$$c(x, z) = c_0 e^{-(\delta_m/V)z} + \frac{A\delta_m c_0}{V} (2 - \cosh(kz)) \cos(kx) e^{-(\delta_m/V)z}. \quad (3.16)$$

As diffusion has been neglected in the transport equation, the concentration of melanin depends only on the concentration in the basal layer c_0 and the speed evolution v along the current lines. Assuming that melanin is rapidly degraded ($\delta_m/v > k$ and $\delta_m/v \gg 1/H$), the apparent skin pigmentation at first order A can be obtained by integrating this concentration along z between z_B and $+\infty$

$$C(x) = C^{(0)} - AC^{(1)} \cos(kx), \quad (3.17)$$

with $C^{(0)}$ the average pigmentation and $C^{(1)} > 0$ the amplitude of the corrections due to geometrical constraints on melanin transport. Equation (3.17) shows that $C(x)$ is in phase opposition with $z_B(x)$, indicating that even in the case where the production of melanin is uniform in the basal layer a parallel pigmented pattern appears with a stronger pigmentation above the epidermal ridges. This result shows that the patterns observed in melanocytic lesions of glabrous skin can be explained by geometric constraints on melanin transport. The keratinocyte migration is faster above the epidermal ridges due to the local pressure (figure 6), as a consequence the vertical advection and dispersion of melanin is therefore increased.

To demonstrate the generality of the mechanism for appearance of the pigmented parallel pattern illustrated above, we consider now a keratinocyte migration described by a Stokes flow.

3.2.2. Stokes flow

We assume a similar form for S_B and the same boundary as previously $\mathbf{v} = V\mathbf{n}$ on S_B , i.e. the same apical migration constant, and $\mathbf{v} = (v_x, v_z) = (0, V')$ on SC , where V' is chosen

such that the incompressibility constraint can be satisfied. A numerical simulation of discretized equations (3.3) and (3.4) has been performed in Python using a relaxation method (appendix A.3.2). The results are shown in figure 7. As in the case of Darcy flow, the keratinocyte velocity is more important above the epidermal ridges than above the furrows. This difference of velocity causes a faster advection of melanin above these regions and the emergence of parallel patterns in skin pigmentation, even for a uniform production of melanin in the basal layer. In the case of the thick skin of hairless areas, $H \gg V/\delta_m \sim 400 \mu\text{m}$, the concentration of intact melanin in the upper layers of the epidermis is negligible, the result presented here is independent of the form chosen for the interface SC and the results are qualitatively the same for other values of the parameters. The numerical studies confirm that the emergence of parallel grooves can be explained only by the geometric constraints imposed on the transport of melanin as shown in figure 7.

3.3. Localization of melanin column and stress inhibition of keratinocyte proliferation

The dermal–epidermal junction of the hairless skin consists of a periodic alternance of narrow ridges (intermediate ridges) and wide ridges (limiting ridges). Even if nevus cells tend to form aggregates in these two types of ridges, only the melanin produced in the limiting ridges is transported to the upper layers of the epidermis eventually making melanin columns (figure 8). We adapt here the geometry and the boundary conditions of our model to provide an explanation for this phenomenon.

To take into account the accumulation of melanocytes in epidermal ridges as suggested by the study of §2, the following boundary conditions on S_B is chosen for the concentration of melanin:

$$c(x, z_B(x)) = c_0, \quad z_B(x) < Z_{\text{nest}} \quad (3.18)$$

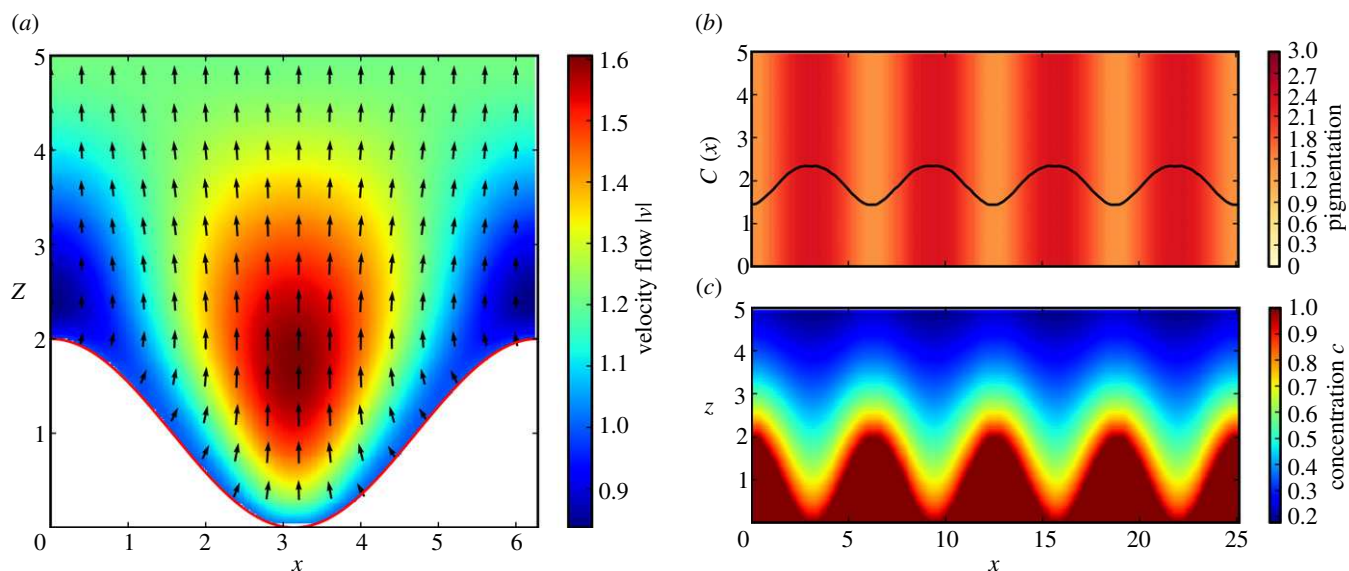


Figure 7. (a) Velocity field v for the migration of keratinocytes in the epidermis, assuming a stationary Stokes flow with a constant velocity V along the normal of the basal layer. The dermal–epidermal junction has an undulated geometry given by the equation $z_B(x) = A(1 + \cos(kx))$. As for the Darcy flow (figure 6), the keratinocyte migration is faster above the epidermal ridges than above the furrows. (c) Steady-state concentration of melanin $c(x, y)$. The pigment is produced in the basal layer, where $c = c_0$ and advected by the migration of keratinocytes as described by equation (3.18). Owing to the faster migration above epidermal ridges, melanin distribution is wider above these regions. (b) Resulting pigmentation observed on the surface of the skin and defined by $C(x) = \int_{y_B}^{y_{sc}} c(x, y) dy$. Even in the case of a uniform production of pigment in the basal layer, geometric constraints on melanin transport leads to the apparition of a parallel pattern with stronger pigmentation above epidermal ridges. Numerical solutions are shown for $A = k = \delta_m = V = 1.0$ and all quantities are dimensionless.

and

$$c(x, z_B(x)) = 0, \quad z_B(x) > Z_{\text{nest}}, \quad (3.19)$$

with Z_{nest} a constant describing the vertical extension of the melanocyte nest.

Many experiments have highlighted the important regulatory effect of mechanical stress on cell proliferation (see [35] for instance). We take now into account the inhibition of keratinocyte proliferation by the mechanical pressure assuming a homeostatic pressure p_0 in the basal layer. A local pressure $p > p_0$ leads to a decrease in proliferation and migration velocity, and a pressure $p < p_0$ stimulates proliferation and increases the rate of migration [36]. Boundary conditions on S_B for the Stokes flow are therefore modified as

$$p = p_0, \quad \mathbf{t} \cdot \mathbf{v} = 0, \quad \text{on } S_B, \quad (3.20)$$

and the boundary conditions on SC are unchanged.

The numerical solution for melanin concentration obtained in a realistic epidermis geometry is shown in figure 8. In the narrow ridges, fast keratinocyte migration induces a high pressure on the basal layer, due to the non-slip assumption on this layer, leading to an inhibition of the proliferation and a decrease of the migration rate. In a steady state, migration rates are therefore much lower in the narrow intermediate ridges, than in the wide limiting ridges. As discussed previously, the vertical dispersion of melanin increases with the migration rate of keratinocytes, which explains why our model predicts the apparition of melanin columns only above limiting ridges.

4. Discussion

In most cases, melanocytic lesions in hairless skin have a notable structure and exhibit pigmented parallel stripes, usually attributed to the specific geometry of the skin in

these areas. However, there are differences in the position of the stripe network between nevi and melanomas. In nevi, it is believed that the pigmented stripes coincide with the surface furrows while it would be the contrary for melanomas, giving perhaps a possible diagnosis. The mechanisms explaining the appearance of these structures, however, remain largely mysterious [20]. Here, we present two bio-mechanical models which explain physically such structures: one is based on tumour growth modelling, the other on melanin repartition inside the epidermis, both of them being strongly influenced by the basal geometry.

The first model considers the avascular growth of the lesion due to cancer cell proliferation in layers strongly distorted by the basal geometry. Focusing on a periodic undulated basal at the origin of fingerprints on soles and palms, we establish first a model able to accurately take into account such structure, then we perform simulations. It turns out that the nutrient concentration which decreases in the lesion due to consumption by the proliferative cells is more important in the valleys compared with the crests, increasing the proliferation in the ridges but also the activity of the tumour cells like perhaps melanin production. This effect is locally dependent on the curvature, so increases in narrow ridges compared with wide ridges.

Our second model focuses more on the transport of melanin in such glabrous areas of the skin. For that we take into account the specific transport of this pigment synthesized in the basal layer, advected to the upper layers of the epidermis by the apical migration of keratinocytes and degraded at a constant rate. The model has been solved analytically and numerically in the case of uniform melanin production on an undulated basal layer. It shows that the geometry of the basal surface influences the migration rate of keratinocytes which is predicted to be faster above epidermal ridges and leads to the apparition of a parallel pattern in the apparent skin pigmentation, with stronger pigmentation above the

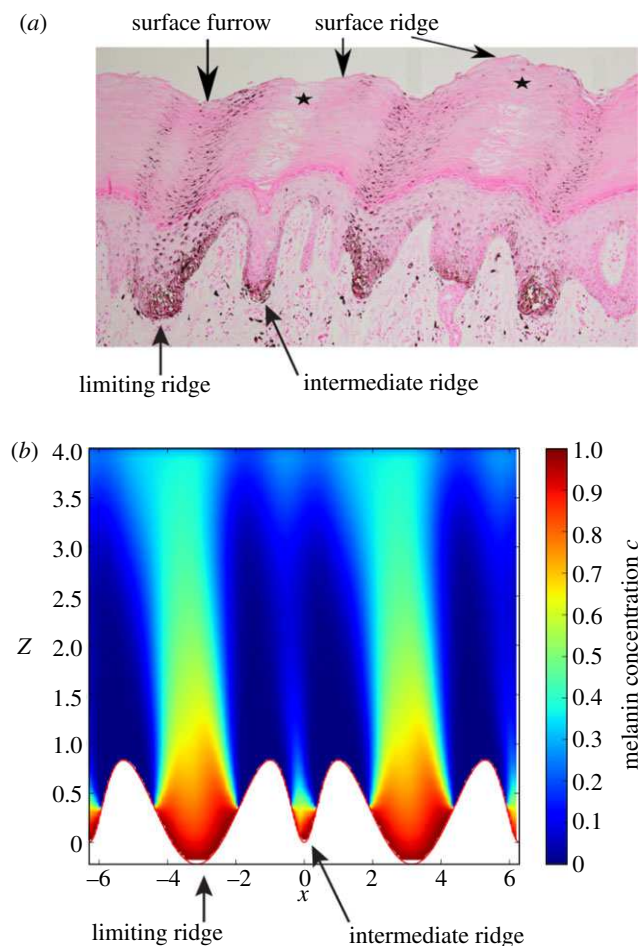


Figure 8. (a) Histopathological features of an acral nevi with Fontana-Masson staining showing the distribution of melanin granules in the epidermis. Clusters of melanocytic cells are present in the epidermal ridges. Columns of melanin appear only above limiting ridges, resulting in the parallel furrow pattern typical of nevi. Figure adapted from [17]. (b) Numerical simulations of the distribution of melanin given by equations (3.3), (3.4) and (3.8). Melanin is produced in the epidermal ridges ($z < Z_{\text{nest}}$), the concentration of melanin on S_B is $c = c_0$ in these areas and $c = 0$ outside. The pigments are advected by the migration of keratinocytes and degraded at a constant rate δ_c . Proliferation of keratinocytes in the basal layer S_B is regulated by the local pressure to maintain an homeostatic pressure p_0 . Keratinocytes migrate along the normal to the basal layer. This migration is described by a Stokes flow with a viscosity μ . The migration velocity v is lower above the intermediate ridges (narrower than the limiting ridges) due to the non-slip condition and the constant pressure imposed at the boundary S_B . The equation of the dermal–epidermal junction is $z_B(x) = A(1 + \cos(x) - 2/(1 + 8\sin(x/2)^2))$ and the model parameters are $Z_{\text{nest}} = A/3.0$, $A = 1.0$, $\delta_m = 0.5$, $\mu = 1.0$ and $p_0 = 1.0$. All quantities are dimensionless.

epidermal ridges. This corresponds to the clinical observation for nevi and shows that this pigmentation pattern can be explained only by the constraints imposed by the geometry of the epidermis on the keratinocyte migration. However, we note that histopathological studies show that melanocytes tend to aggregate and the assumption of uniform melanin synthesis is therefore probably not true as suggested by our first model. Parallel patterns along ridges are due to the combination of aggregation of melanocytic cells and melanin transport as suggested by our two models.

In nevi, nevus cells can be found in both intermediate and limiting ridges [17,20], but it was noted that only the melanin synthesized in limiting ridges is transported to the upper layers of the epidermis to form eventually a melanin column

forming parallel furrow pattern. Using our model of melanin transport, we have proposed an explanation of this phenomenon based on the inhibition of keratinocyte proliferation by mechanical stress. The epidermis being treated as a viscous medium for migration, keratinocyte migration in narrow ridges lead therefore to significant constraints in the basal layer, attached to the dermal–epidermal junction, which inhibits cell proliferation and reduces the cellular migration rate as well as the advection of melanin. This explanation has been validated numerically and the results correspond to the melanin distribution observed in histopathology. As for melanomas, melanin transport should obey the same rules as in our model and as for nevi.

Therefore, the position of parallel ridges for melanoma cannot be explained by physical reasons alone. Only biological facts can justify them and perhaps be included in our study in the future. However, they are still missing to our knowledge. For instance, one questionable hypothesis would be the boundary condition on melanin distribution in equations (3.18) and (3.19). We can argue that the increase of nutrients in intermediate ridges would result in a higher cell activity and melanin production, but it is not sure that this physical argument is enough to justify the dichotomy between melanomas and nevi. However, more research on the biology of melanocytes *in situ* is necessary. Indeed, the melanocytic precursor cells originate from the dermis [37,38]. A possibility would be a preference of melanoma stem cells to migrate in intermediate ridges. These models enlighten the dominating mechanisms behind the parallel patterns, but they need to be improved by more biological information on the location and activities of the different melanocytic cells in order to be able to accurately predict the behaviour of a lesion and fully explain the significance of the current diagnostic tools.

Funding statement. This work was supported in part by AAP Physique-Mathématique-Sciences de l'ingénieur appliqués au cancer 2012.

Endnote

¹American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2013. <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@epidemiologysurveillance/documents/document/acspc-036845.pdf>. (Accessed 31 January 2013.)

Appendix A

A.1. Differential geometry of the basement membrane

Using the same notations as in §2.1, we describe the metric allowing us to differentiate on a curved surface. Following Ogawa [26], we write (G_{ij}) the three-dimensional metric tensor at first order in ϵ

$$G_{xx} = \frac{\partial \mathbf{X}}{\partial x} \cdot \frac{\partial \mathbf{X}}{\partial x} = \frac{\partial x}{\partial x} \cdot \frac{\partial x}{\partial x} + 2z \frac{\partial x}{\partial x} \cdot \frac{\partial \mathbf{n}}{\partial x} + O(\epsilon^2),$$

$$G_{xy} = \frac{\partial \mathbf{X}}{\partial x} \cdot \frac{\partial \mathbf{X}}{\partial y} = \frac{\partial x}{\partial x} \cdot \frac{\partial x}{\partial y} + z \left(\frac{\partial x}{\partial x} \cdot \frac{\partial \mathbf{n}}{\partial y} + \frac{\partial x}{\partial y} \cdot \frac{\partial \mathbf{n}}{\partial x} \right),$$

$$G_{zz} = \frac{\partial \mathbf{X}}{\partial z} \cdot \frac{\partial \mathbf{X}}{\partial z} = \mathbf{n} \cdot \mathbf{n} = 1$$

$$\text{and } G_{zx} = \frac{\partial \mathbf{X}}{\partial z} \cdot \frac{\partial \mathbf{X}}{\partial x} = \mathbf{n} \cdot \left(\frac{\partial x}{\partial x} + z \frac{\partial \mathbf{n}}{\partial x} \right) = 0.$$

Therefore, we can write (G_{ij}) as

$$G_{ij} = g_{ij} + 2z\kappa_{ij} + O(\epsilon^2), \quad i, j \in \{x, y\} \quad (\text{A } 1)$$

and

$$G_{zx} = G_{zy} = 0 \quad \text{and} \quad G_{zz} = 1, \quad (\text{A } 2)$$

with g_{ij} is the metric tensor of the surface S_B as

$$(g_{ij}) = \left(\frac{\partial \mathbf{x}}{\partial i} \cdot \frac{\partial \mathbf{x}}{\partial j} \right) = \begin{pmatrix} 1 + h_x'^2 & h_x' h_y' \\ h_x' h_y' & 1 + h_y'^2 \end{pmatrix}, \quad (\text{A } 3)$$

and κ_{ij} is the second fundamental tensor,

$$(\kappa_{ij}) = \left(\frac{\partial \mathbf{x}}{\partial i} \cdot \frac{\partial \mathbf{n}}{\partial j} \right) = g^{-1/2} \begin{pmatrix} h_{xx}'' & h_{xy}'' \\ h_{yx}'' & h_{yy}'' \end{pmatrix}, \quad (\text{A } 4)$$

where $g = \det(g_{ij}) = 1 + h_x'^2 + h_y'^2$. At the first order in ϵ , we find

$$G = G = \det(G_{ij}) = g(1 + 4zH + O(\epsilon^2)), \quad (\text{A } 5)$$

with H the mean radius of curvature of S_B ,

$$H = \frac{1}{2g^{3/2}} [(1 + h_y'^2)h_{xx}'' - 2h_x' h_y' h_{xy}'' + (1 + h_x'^2)h_{yy}'']. \quad (\text{A } 6)$$

In our case, we only consider a dependence on x . So the expression of (g_{ij}) , g and H is as follows:

$$(g_{ij}) = \begin{pmatrix} 1 + h_x'^2 & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix}, \quad (\text{A } 7)$$

$$g = 1 + h_x'^2 \quad (\text{A } 8)$$

and

$$H = \frac{h_{xx}''}{2g^{3/2}}. \quad (\text{A } 9)$$

A.2. Nutrient diffusion

Here, we detail the integration along the z -axis that allows a two-dimensional description of nutrients diffusion. The amount of nutrient contained in a section of surface S' of the thin layer is written as

$$\int_{S'} \int_{-\epsilon/2}^{\epsilon/2} n G^{1/2} dz dx dy = \int_{S'} \left[\int_{-\epsilon/2}^{\epsilon/2} n \left(\frac{G}{g} \right)^{1/2} dz \right] g^{1/2} dx dy. \quad (\text{A } 10)$$

Therefore, we use the average nutrient concentration in two-dimensional $N(x, y)$ at (x, y)

$$N(x, y) = \frac{1}{\epsilon} \left(\int_0^\epsilon n(x, y, z) \left(\frac{G}{g} \right)^{1/2} dz \right). \quad (\text{A } 11)$$

We choose a nutrient concentration depending weakly on the z -axis but with sharp variations

$$n(x, y, z) = n_0(x, y) + \epsilon^2 n_1 \left(\frac{x, y, z}{\epsilon^2} \right) + O(\epsilon^4), \quad (\text{A } 12)$$

thus we have

$$N(x, y) = n_0(1 + \epsilon H + O(\epsilon^2)). \quad (\text{A } 13)$$

In order to find a two-dimensional description of equation (2.1), we multiply it by $(G/g)^{1/2}$ and integrate it over z

Table 2. List of symbols used in §2 and estimation of the model parameters from experimental data on healthy and diseased skin.

ϕ_c cell volume fraction at mechanical equilibrium	0.6–0.9	[39]
M interphase friction	963–11 571	[40,41]
χ interstitial fluid pressure in healthy skin	133 Pa	[39]
χ interstitial fluid pressure in skin carcinoma	1330 Pa	[39]
$(\epsilon_c/\sqrt{\chi})$ melanoma cell size	6–20 μm	[42]
γ_c melanoma cell proliferation rate	0.2 d^{-1}	[43]
δ_c threshold for cell death rate due to anoxia	0.1–0.33	[44]
D_n oxygen lateral diffusion coefficient	39.7 $\text{mm}^2 \text{d}^{-1}$	[45]
D_n oxygen perpendicular diffusion coefficient	18.5–26.6 $\text{mm}^2 \text{d}^{-1}$	[46]
D_n sugar diffusion coefficient	4.4–6.4 $\text{mm}^2 \text{d}^{-1}$	[47]
δ_n oxygen consumption rate of the skin	1190–3310 d^{-1}	[46]
D_z perpendicular diffusion constant	10^4d^{-1}	[5]
n_s, N_1, N_2 oxygen partial pressure in the skin	3320–10 400 Pa	[46]
l_n nutrient penetration length	0.04–0.18 mm	
D potential strength in equation (2.9)	1.7–1725	
ϵ_c surface tension in equation (2.9)	0.02–0.5	
δ death rate of ϕ_c in equation (2.9)	0.1–0.33	
β_1 perpendicular diffusion in equation (2.8)	0.1–8.4	
κ nutrient consumption of ϕ_n in equation (2.8)	0.1–10	
n_1, n_2 external nutrient concentration in equation (2.8)	0.25–4.	

between 0 and ϵ . The first term gives us

$$\begin{aligned} \int_0^\epsilon \left(\frac{G}{g} \right)^{1/2} \nabla \cdot D \nabla n dz &= \underbrace{\int_0^\epsilon D_\perp g^{-1/2} \frac{\partial}{\partial z} G^{1/2} \frac{\partial n}{\partial z} dz}_{\text{vertical diffusion}} \\ &+ \int_0^\epsilon D_\parallel g^{-1/2} \left[\frac{\partial}{\partial x} G^{1/2} \left(G^{xx} \frac{\partial n}{\partial x} + G^{xy} \frac{\partial n}{\partial y} \right) \right. \\ &\quad \left. + \frac{\partial}{\partial y} G^{1/2} \left(G^{yx} \frac{\partial n}{\partial x} + G^{yy} \frac{\partial n}{\partial y} \right) \right] dz, \\ &\quad \underbrace{\hspace{10em}}_{\text{horizontal diffusion}} \end{aligned} \quad (\text{A } 14)$$

where $(G^{ij}) = (G_{ij})^{-1}$. The horizontal diffusion is equal to $\Delta' n$, where Δ' is the standard Laplace–Beltrami operator.

$$\Delta' = g^{-1/2} \left[\frac{\partial}{\partial x} \left(g^{1/2} \left(g^{xx} \frac{\partial}{\partial x} + g^{xy} \frac{\partial}{\partial y} \right) \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(g^{1/2} \left(g^{yx} \frac{\partial}{\partial x} + g^{yy} \frac{\partial}{\partial y} \right) \right) \right], \quad (\text{A } 15)$$

with $(g^{ij}) = (g_{ij})^{-1}$

$$(g^{ij}) = \frac{1}{g} \begin{pmatrix} 1 + h_y'^2 & -h_x' h_y' \\ -h_x' h_y' & 1 + h_x'^2 \end{pmatrix}, \quad (\text{A } 16)$$

The vertical diffusion is integrated, and the flux at the border is supposed proportional to the difference between the concentration inside the layer $N(x, y)$ and the concentration outside n_d and n_e

$$\begin{aligned} \text{vertical diffusion} &= D_{\perp} \left[(1 + 2zH) \frac{\partial n}{\partial z} \right]_0^{\epsilon} + O(\epsilon^2) \\ &= \beta_1 (N_1 - N) + \underbrace{H \beta_2 (N_2 - N)}_{\text{curvature effect}} + O(\epsilon^2). \end{aligned}$$

The integration of the consumption term allows us to recover equation (2.8). As in our example, we have $h(x, y) = h(x)$, the derivation process is simplified and equations (2.8) and (2.9) become

$$\begin{aligned} 0 &= g^{-1/2} \frac{\partial}{\partial x} \left(g^{-1/2} \frac{\partial N}{\partial x} \right) + \frac{\partial^2 N}{\partial y^2} - \kappa(1 - \phi_c)N - \phi_c n \\ &\quad + \beta_1(n_1 - N) + \beta_2 \frac{h''(x)}{2g^{3/2}}(n_2 - N) \end{aligned} \quad (\text{A } 17)$$

and

$$\begin{aligned} \frac{\partial \phi_c}{\partial t} &= D \left[g^{-1/2} \frac{\partial}{\partial x} \left(\phi K(1 - \phi_c)^2 g^{-1/2} \frac{\partial \Sigma}{\partial x} \right) \right. \\ &\quad \left. + \frac{\partial}{\partial y} \left(\phi K(1 - \phi_c)^2 \frac{\partial \Sigma}{\partial y} \right) \right] + \phi_c(N - \delta). \end{aligned} \quad (\text{A } 18)$$

A.3. Numerical scheme

A.3.1. Scheme of melanocytic cells growth

The numerical simulation are done by discretizing equations (2.8) and (2.9) on a two-dimensional lattice. In the case of the simple form of the surface chosen ($h(x, y) = h(x)$), we consider the nutrient field n_{ij}^k , the cells field ϕ_{ij}^k , the interaction field Σ_{ij}^k and the derivation fields $\sqrt{g_{ij}^k}$ ($\sqrt{g} = \sqrt{\det(g_{ij})}$) and H_{ij}^k (the mean radius of S_B), where k is the time index, and i and j are the grid position. The first step of the simulation

is to calculate the value of Σ_{ij}^k , we use the following scheme for the Laplace–Beltrami operator:

$$\begin{aligned} \Delta' \phi_{ij}^k &= \frac{2(\phi_{i+1,j}^k - \phi_{ij}^k)/(\sqrt{g_{i+1,j}^k} + \sqrt{g_{ij}^k}) + 2(\phi_{ij}^k - \phi_{i-1,j}^k)/(\sqrt{g_{i-1,j}^k} + \sqrt{g_{ij}^k})}{\Delta x^2 \sqrt{g_{ij}^k}} \\ &\quad + \frac{\phi_{ij+1}^k - 2\phi_{ij}^k + \phi_{ij-1}^k}{\Delta y^2}. \end{aligned} \quad (\text{A } 19)$$

In order to express equation (2.8), we use the same scheme to express Δ' and we introduce a time dependence with a different timescale to ensure that growth is slower than diffusion

$$\begin{aligned} \frac{n_{ij}^{k+1} - n_{ij}^k}{\tilde{\Delta} t} &= \Delta' n_{ij}^k - \kappa(1 - \phi_{ij}^k)n_{ij}^k - n_{ij}^k \phi_{ij}^k \\ &\quad + \beta_1(n_1 - n_{ij}^k) + \beta_2 H_{ij}^k(n_2 - n_{ij}^k), \end{aligned} \quad (\text{A } 20)$$

we chose $\tilde{\Delta} t = 5\Delta t$. We use the same approach to implement ϕ_{ij}^{k+1} using Δt instead of $\tilde{\Delta} t$. These schemes were written in CUDA and the results were drawn using Python.

A.3.2. Scheme of the Stokes flow model

We use a relaxation method to solve the stationary Stokes equation on the domain Ω with the following algorithm written in Python:

- initialization of p_{ij} , $v_{x,ij}$ and $v_{y,ij}$ respecting the boundary conditions;
- p_{ij} is calculated to satisfy the Laplace equation $\Delta p = 0$ using the relaxation method;
- $v_{x,ij}$ and $v_{y,ij}$ are determined by solving $\Delta v_x = \partial_x p / \mu$ and $\Delta v_y = \partial_y p / \mu$ using the relaxation method and
- calculation of the incompressibility error $dp = \nabla \cdot v$ by finite differences. If the error does not satisfy the convergence criterium, i.e. $\Sigma_{\Omega} dp_{ij}^2 \leq \epsilon_{\text{incomp}}$, we implement p , $p_{ij}^* = p_{ij} + dp_{ij}$ and return to the third step. Otherwise the resolution is over.

A.4. Biological data and symbols

An estimation of the parameters has been gathered in table 2. We also give an estimation of the dimensionless parameters. These quantities are used in our simulations. A list of symbols of §§2 and 3 can be found in table 1.

References

1. Argenziano G *et al.* 2003 Dermoscopy of pigmented skin lesions: results of a consensus meeting via the internet. *J. Am. Acad. Dermatol.* **48**, 679–693. (doi:10.1067/mjd.2003.281)
2. Zalaudek I, Docimo G, Argenziano G. 2009 Using dermoscopic criteria and patient-related factors for the management of pigmented melanocytic nevi. *Arch. Dermatol.* **145**, 816–826. (doi:10.1001/archdermatol.2009.115)
3. Ciarletta P, Foret L, Ben Amar M. 2011 The radial growth phase of malignant melanoma: multi-phase modelling, numerical simulations and linear stability analysis. *J. R. Soc. Interface* **8**, 345–368. (doi:10.1098/rsif.2010.0285)
4. Ben Amar M, Chatelain C, Ciarletta P. 2011 Contour instabilities in early tumor growth models. *Phys. Rev. Lett.* **106**, 148101. (doi:10.1103/PhysRevLett.106.148101)
5. Chatelain C, Ciarletta P, Ben Amar M. 2011 Morphological changes in early melanoma development: influence of nutrients, growth inhibitors and cell-adhesion mechanisms. *J. Theor. Biol.* **290**, 46–59. (doi:10.1016/j.jtbi.2011.08.029)
6. Chatelain C, Balois T, Ciarletta P, Ben Amar M. 2011 Emergence of microstructural patterns in skin cancer: a phase separation analysis in a binary mixture. *New J. Phys.* **13**, 115013. (doi:10.1088/1367-2630/13/11/115013)
7. Nelson CM, Vanduijn MM, Inman JL, Fletcher DA, Bissell MJ. 2006 Tissue geometry determines sites of mammary branching morphogenesis in

- organotypic cultures. *Science* **314**, 298–300. (doi:10.1126/science.1131000)
8. Hartmann D, Miura T. 2006 Modelling *in vitro* lung branching morphogenesis during development. *J. Theor. Biol.* **242**, 862–872. (doi:10.1016/j.jtbi.2006.05.009)
 9. McGrath JA, Eady RAJ, Pope FM. 2008 Anatomy and organization of human skin. In *Rook's textbook of dermatology*, 7th edn (eds T Burns, S Breathnach, N Cox, C Griffiths). Malden, MA: Blackwell Publishing. (doi:10.1002/9780470750520.ch3)
 10. Nagashima Y, Tsuchida T. 2011 Correspondence between dermoscopic features and epidermal structures revealed by scanning electron microscope. *J. Dermatol.* **38**, 35–40. (doi:10.1111/j.1346-8138.2010.01152.x)
 11. Saida T, Miyazaki A, Grin CM. 2005 Acrolentiginous melanoma. In *Atlas of dermoscopy*, pp. 221–223. London, UK: Taylor & Francis.
 12. Christine L, MacKenzie L, Ilerall T. 1994 During contact. In *The grasping hand*, pp. 204–211. Amsterdam, The Netherlands: North-Holland/Elsevier Science Publishers.
 13. Saida T *et al.* 2004 Significance of dermoscopic patterns in detecting malignant melanoma on acral volar skin: results of a multicenter study in Japan. *Arch. Dermatol.* **140**, 1233–1238. (doi:10.1001/archderm.140.10.1233)
 14. Saida T, Koga H, Uhara H. 2011 Key points in dermoscopic differentiation between early acral melanoma and acral nevus. *J. Dermatol.* **38**, 25–34. (doi:10.1111/j.1346-8138.2010.01174.x)
 15. Oguchi S, Saida T, Koganehira Y, Ohkubo S, Ishihara Y, Kawachi S. 1998 Characteristic epiluminescent microscopic features of early malignant melanoma on glabrous skin. A videomicroscopic analysis. *Arch. Dermatol.* **134**, 563–568. (doi:10.1001/archderm.134.5.563)
 16. Altamura D, Altobelli E, Micantonio T, Piccolo D, Fargnoli MC, Peris K. 2006 Dermoscopic patterns of acral melanocytic nevi and melanomas in a white population in central Italy. *Arch. Dermatol.* **142**, 1123–1128. (doi:10.1001/archderm.142.9.1123)
 17. Saida T, Koga H, Goto Y, Uhara H. 2011 Characteristic distribution of melanin columns in the cornified layer of acquired acral nevus: an important clue for histopathologic differentiation from early acral melanoma. *Am. J. Dermatopathol.* **33**, 468–473. (doi:10.1097/DAD.0b013e318201ac8f)
 18. Signoretti S, Annessi G, Puddu P, Faraggiana T. 1999 Melanocytic nevi of palms and soles: a histological study according to the plane of section. *Am. J. Surg. Pathol.* **23**, 283–287. (doi:10.1097/0000478-199903000-00006)
 19. Kimoto M, Sakamoto M, Iyatomi H, Tanaka M. 2008 Three-dimensional melanin distribution of acral melanocytic nevi is reflected in dermoscopy features: analysis of the parallel pattern. *Dermatology* **216**, 205–212. (doi:10.1159/000112927)
 20. Palleschi GM, Urso C, Torre E, Torchia D. 2008 Histopathological correlates of the parallel-furrow pattern seen in acral melanocytic nevi at dermatoscopy. *Dermatology* **217**, 356–358; author reply 359. (doi:10.1159/000156085)
 21. Greenspan HP. 1976 On the growth and stability of cell cultures and solid tumors. *J. Theor. Biol.* **56**, 229–242. (doi:10.1016/S0022-5193(76)80054-9)
 22. Hoehme S, Drasdo D. 2010 A cell-based simulation software for multi-cellular systems. *Bioinformatics* **26**, 2641–2642. (doi:10.1093/bioinformatics/btq437)
 23. Tang M, Vauchet N, Cheddadi I, Vignon-Clementel I, Drasdo D, Perthame B. 2013 Composite waves for a cell population system modeling tumor growth and invasion. *Chin. Ann. Math. B* **34**, 295–318. (doi:10.1007/s11401-013-0761-4)
 24. Byrne H, Preziosi L. 2003 Modelling solid tumour growth using the theory of mixtures. *Math. Med. Biol.* **20**, 341–366. (doi:10.1093/imammb/20.4.341)
 25. Lowengrub JS, Frieboes HB, Jin F, Chuang Y-L, Li X, Macklin P, Wise SM, Cristini V. 2010 Nonlinear modelling of cancer: bridging the gap between cells and tumours. *Nonlinearity* **23**, R1–R9. (doi:10.1088/0951-7715/23/1/R01)
 26. Ogawa N. 2010 Curvature-dependent diffusion flow on a surface with thickness. *Phys. Rev. E* **81**(Pt 1), 061113. (doi:10.1103/PhysRevE.81.061113)
 27. Hannezo E, Prost J, Joanny JF. 2011 Instabilities of monolayered epithelia: shape and structure of villi and crypts. *Phys. Rev. Lett.* **107**, 078104. (doi:10.1103/PhysRevLett.107.078104)
 28. Balois T, Ben Amar M. 2014 Morphology of melanocytic lesions *in situ*. *Sci. Rep.* **4**, 3622. (doi:10.1038/srep03622)
 29. Singh SK, Kurfurst R, Nizard C, Schnebert S, Perrier E, Tobin DJ. 2010 Melanin transfer in human skin cells is mediated by filopodia: a model for homotypic and heterotypic lysosome-related organelle transfer. *FASEB J.* **24**, 3756–3769. (doi:10.1096/fj.10-159046)
 30. Nielsen KP, Lu Z, Juzenas P, Stamnes JJ, Stamnes K, Moan J. 2004 Reflectance spectra of pigmented and nonpigmented skin in the UV spectral region. *Photochem. Photobiol.* **80**, 450–455. (doi:10.1562/2004-02-10-RA-079.1)
 31. Tobin DJ. 2006 Biochemistry of human skin: our brain on the outside. *Chem. Soc. Rev.* **35**, 52–67. (doi:10.1039/b505793k)
 32. Thingnes J, Oyehaug L, Hovig E, Omholt SW. 2009 The mathematics of tanning. *BMC Syst. Biol.* **3**, 60. (doi:10.1186/1752-0509-3-60)
 33. Dover R. 1994 Cell kinetics of keratinocytes. In *The keratinocyte handbook*, pp. 203–234. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
 34. Ben Amar M, Cummings LJ, Pomeau Y. 2003 Transition of a moving contact line from smooth to angular. *Phys. Fluids* **15**, 2949–2961. (doi:10.1063/1.1604778)
 35. Puliafito A, Hufnagel L, Neveu P, Streichen S, Sigal A, Fygenon DK, Shraiman BI. 2012 Collective and single cell behavior in epithelial contact inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 739–744. (doi:10.1073/pnas.1007809109)
 36. Shraiman BI. 2005 Mechanical feedback as a possible regulator of tissue growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 3318–3323. (doi:10.1073/pnas.0404782102)
 37. Li L, Fukunaga-Kalabis M, Yu H, Xu X, Kong J, Lee JT, Herlyn M. 2010 Human dermal stem cells differentiate into functional epidermal melanocytes. *J. Cell Sci.* **123**, 853–860. (doi:10.1242/jcs.061598)
 38. Zabierowski SE, Fukunaga-Kalabis M, Li L, Herlyn M. 2011 Dermis-derived stem cells: a source of epidermal melanocytes and melanoma? *Pigment Cell Melanoma Res.* **24**, 422–429. (doi:10.1111/j.1755-148X.2011.00847.x)
 39. Jain RK. 1987 Transport of molecules in the tumor interstitium: a review. *Cancer Res.* **47**, 3039–3051.
 40. van Kemenade PM, Huyghe JM, Douven LFA. 2003 Triphasic FE modeling of skin water barrier. *Transp. Porous Media* **50**, 93–109. (doi:10.1023/A:1020680811437)
 41. Swabb EA, Wei J, Gullino PM. 1974 Diffusion and convection in normal and neoplastic tissues. *Cancer Res.* **34**, 2814–2822.
 42. Clark Jr WH, From L, Bernardino EA, Mihm MC. 1969 The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res.* **29**, 705–727.
 43. Creasey AA, Smith HS, Hackett AJ, Fukuyama K, Epstein WL, Madin SH. 1979 Biological properties of human melanoma cells in culture. *In Vitro* **15**, 342–350. (doi:10.1007/BF02616140)
 44. Bedogni B, Powell MB. 2009 Hypoxia, melanocytes and melanoma—survival and tumor development in the permissive microenvironment of the skin. *Pigment Cell Melanoma Res.* **22**, 166–174. (doi:10.1111/j.1755-148X.2009.00553.x)
 45. Johnson ME, Blankschtein D, Langer R. 1997 Evaluation of solute permeation through the stratum corneum: lateral bilayer diffusion as the primary transport mechanism. *J. Pharm. Sci.* **86**, 1162–1172. (doi:10.1021/js960198e)
 46. Stücker M, Struk A, Altmeyer P, Herde M, Baumgärtl H, Lbbers DW. 2002 The cutaneous uptake of atmospheric oxygen contributes significantly to the oxygen supply of human dermis and epidermis. *J. Physiol.* **538**, 985–994. (doi:10.1113/jphysiol.2001.013067)
 47. Cornelissen LH, Bronneberg D, Oomens CWJ, Baaijens FPT. 2008 Diffusion measurements in epidermal tissues with fluorescent recovery after photobleaching. *Skin Res. Technol.* **14**, 462–467. (doi:10.1111/j.1600-0846.2008.00313.x)

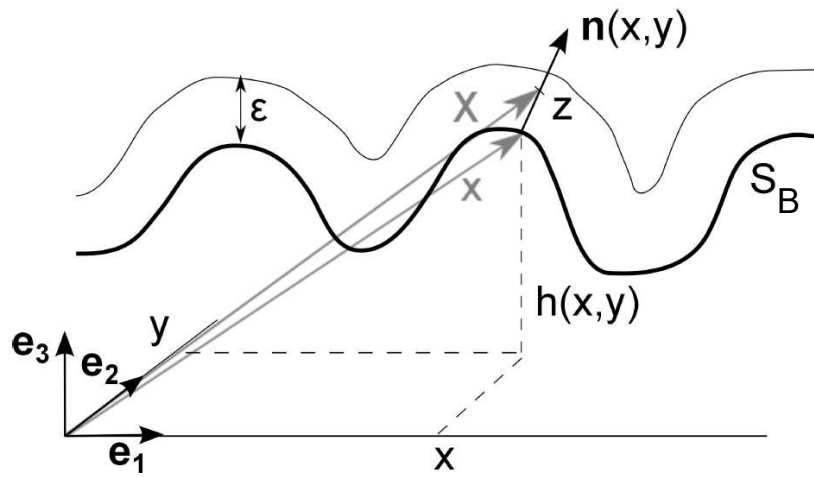


FIGURE 4.2 – Représentation de Monge de la surface S_B et représentation de la couche mince d'épaisseur ϵ correspondant à l'épaisseur de prolifération de la phase cancéreuse. Un point de S_B est représenté par $\mathbf{x} = x\mathbf{e}_1 + y\mathbf{e}_2 + h(x, y)\mathbf{e}_3$, et le vecteur normal à la surface S_B en $\mathbf{x}(x, y)$ est noté $\mathbf{n}(x, y)$. La couche mince est donc paramétrée par $\mathbf{X} = \mathbf{x} + z\mathbf{n}$ avec $z \in [0, \epsilon]$.

Annexes

Liste des abréviations

JDE jonction dermo épidermique
SB couche basale ou stratum basale
SS couche spineuse ou stratum spinosum
SG couche granuleuse ou stratum granulosum
SC couche cornée ou stratum corneum
CL cellules de Langherans
NER nucleotide excision repair
BCC carcinome basocellulaire
SCC carcinome spinocellulaire
MC cellule mélanocytaire ou "Melanoma Cell"
CAM Cell Adhesion Marker
Mel-CAM Melanoma cell
SSM mélanome à extension superficielle ou "Superficial Spreading Melanoma"
NM mélanome nodulaire
RGP phase de croissance horizontale ou "Radial Growth Phase"
VGP phase de croissance verticale ou "Vertical Growth Phase"
EMT transition épithélio-mésenchymateuse ou "Epithelial-Mesenchymal Transition"

Liste des notations

ϕ_c : la phase cancéreuse
 ϕ_h (noté ϕ_l dans l'article NJP) : la phase saine
 n : la concentration en nutriment
 v_c : la vitesse de la phase cellulaire
 v_h : la vitesse de la phase saine
 Γ_c : le terme d'échange de la phase cancéreuse
 Γ_h : le terme d'échange de la phase saine
 $\mathcal{F}_c$: l'énergie libre de la phase cancéreuse
 $\Psi(\phi_c)$: l'énergie libre volumique
 ϵ : la constante de tension de surface
 W : l'énergie dissipée par le système
 M : la constante de friction entre les deux phases
 $K = 1/M$: la constante de mobilité

$\mathcal{Q}$: le Rayleighien

p : un multiplicateur de Lagrange jouant le rôle de la pression hydrostatique et assurant l'incompressibilité

Σ : le terme d'interaction cellulaire

$f(\phi_c)$: le terme de suppression cellulaire, la dérivée de l'énergie libre volumique

$f(\phi_c) = \frac{\partial \psi}{\partial \phi_c}$

γ_c : le taux de prolifération de la phase cancéreuse

n_e : une valeur typique de la concentration en nutriments dans l'épiderme

δ_c : le rapport du taux d'apoptose par rapport le taux de prolifération de la phase cancéreuse

S_n : le terme de consommation en nutriments

δ_n : le taux de consommation des nutriments de la phase cancéreuse

δ_h : le taux de consommation des nutriments de la phase saine

β_n : le taux d'apport en nutriments venant des flux de nutriments perpendiculaires à l'épiderme

n_s : une concentration typique des nutriments dans les zones externes à l'épiderme (derme ou atmosphère)

Table des figures

1.1	Zones de la peau décrites sur une photographie issue d'analyses histopathologiques (A) en peau fine, image x10, et (B) en peau épaisse, image x2. Images tirées de http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/corepages/integumentary/integum.htm	10
1.2	Schéma de la vascularisation de la peau tiré de [7, 8]. On constate que le derme et l'hypoderme sont bien vascularisée jusqu'au niveau des papilles dermiques, alors que l'épiderme reste complètement avasculaire.	11
1.3	Schéma de structure de l'épiderme, représentant ses différentes couches et leurs cellules.	12
1.4	Coupes histopathologiques (A) en peau fine x20 et (B) en peau épaisse x40, représentant les différentes zones de l'épiderme. On remarque la différence d'épaisseur entre les deux échantillons au vue des deux échelles choisies. Images tirées de http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/corepages/integumentary/integum.htm	13
1.5	Structure de la couche cornée. Lorsque le kératinocyte atteint le stratum spinosum, il entame une différenciation conduisant à son apoptose. Puis au niveau du stratum granulosum, le noyau et d'autres organites disparaissent. En contrepartie, des précurseurs de la couche cornée apparaissent comme les corps lamellaires et la kératohyaline. Ces corps lamellaires produisent dans l'espace interstiel un ciment lipidique conduisant à la formation de cornéocytes, soudés dans la couche corpar ce ciment et par des cornéodesmosomes. Schéma issu de [2].	14
1.6	Schéma de la synthèse de la mélanine. Celle-ci commence par une hydroxylation de la tyrosine en DOPA catalysée par la tyrosinase. Puis la DOPA est oxydée en dopaquinone grâce à cette même enzyme. La synthèse se poursuit en deux voies différentes. Si elle rencontre une grande quantité de cystéine, la dopaquinone produira une phéomélanine, sinon elle formera une molécule d'eumélanine [16]	16
1.7	Schéma représentant la JDE et les systèmes d'ancrage mises en jeu à travers celles-ci.	19

1.8	Coupe Histopathologique d'un épiderme en peau épaisse au niveau d'un naevus acral. On peut observer l'existence de deux types de crêtes épidermiques : limitante et intermédiaire. Les crêtes épidermiques limitantes (limiting ridges) se situent sous les sillons superficiels (surface furrows), alors que les crêtes intermédiaires (intermediate ridges) se situent sous les crêtes superficielles (surface ridges). On peut noter la présence de colonnes de mélanine se formant sous les sillons superficiels caractéristique d'un naevus acral.	20
1.9	Représentation schématique des différentes liaisons intercellulaires mises en jeu dans l'épiderme, ainsi que les contacts des cellules avec la JDE.	22
1.10	A) Schéma desmosome extrait de [2]. Nous voyons en 1) ligne dense extracellulaire, 2) desmoglée, 3) membrane cytoplasmique, 4) plaques, et 5) tonofilaments. B) Photographie d'un desmosome entre deux cellules épithéliales prise en microscopie électronique, tirée de [47].	22
1.11	Schéma représentant les différentes étapes du transfert des mélanosomes des mélanocytes vers les kératinocytes. Figure tirée de [17].	23
1.12	Taux de mortalité à 10 ans en fonction de l'épaisseur du mélanome [72].	27
1.13	Photographies illustrant les différences morphologiques entre naevus et mélanome suivant les règles ABCDE. Les lésions mélanocytaires bénignes (a,c,e) peuvent être distinguées des mélanomes (b,d,f) par leur asymétrie, la forme de leur contour et leur coloration. En plus de ces critères, une taille supérieure à 6 mm et une évolution de la lésion peuvent indiquer un mélanome. Photographies issues de [75]	29
1.14	Schéma de principe d'un dermoscope tiré de [79]. La peau est éclairée par une lumière intense dont les rayons seront grossis. Généralement un film liquide est utilisé entre la lésion et le dispositif afin de mieux étirer le stratum corneum et de s'affranchir des sillons et crêtes qu'il présente à sa surface.	30
1.15	Schéma représentant une partie des différents gènes touchés dans l'oncogenèse du mélanome. Bien que très complexe, ce schéma reste incomplet. Il existe toutefois une convergence sur quatre conséquences majeures pour la cellule : la prolifération, l'apoptose et les transitions d'ordre mécanique (Epithelial-mesenchymal transition et migration). Figure extraite de [83].	31
1.16	Variations des interactions cellulaires lors de l'apparition d'un mélanome. Lors de la RGP, il y a un passage de l'expression de molécules d'E-cadhérine à la surface des mélanocytes les liant aux kératinocytes à l'expression de N-cadhérine pour les cellules mélanomales les liant entre elles. Puis, au moment de la VGP, ces connexions se font aussi avec les fibroblastes et les cellules endothéliales des réseaux vasculaires. Schéma inspiré de [39].	32
1.17	Représentation schématique des différents chemins génétiques de la division cellulaires. Les chemins aboutissant à la sénescence ont été représenté en bleu. Figure issue de [83].	33

2.1	A) Sphéroïde de cellules tumorales. On peut y observer la présence d'un coeur nécrotique au centre. Photographie extraite de [100]. B) Schéma représentant les différentes zones de la sphéroïdes défini par Greenspan. Figure extraite de [101]. R_i est le rayon du coeur nécrotique, R_g celui correspondant au cellules dormantes et R_0 celui de la sphéroïde.	36
2.2	A) Représentation schématique des trois différents états de la théorie de croissance élastique de Rodriguez <i>et al.</i> [116]. Figure tirée de [117]. B) Les quatre états dans la théorie de Ambrosi et Preziosi [118]. . . .	38
2.3	Schéma représentant les différents constituants pouvant constituer les phases dans la théorie des mélanges. Schéma extrait de [131].	40
2.4	Courbe représentant le rapport de volume d'un constituant, ϕ_i en fonction de la taille de l'échantillon pris pour faire la moyenne τ . Figure extraite de [132].	40
2.5	Représentation de la surpression cellulaire $f(\phi_c)$. On voit qu'il existe une concentration d'équilibre ϕ_e pour laquelle cette surpression cellulaire est nulle. En dessous, les cellules s'attirent à cause de leur attraction, au-delà elles se repoussent à cause de la gêne stérique. La surpression est nulle à très faible densité, et infinie à très forte densité.	43
2.6	a) Consommation en oxygène de tumeurs humaines en fonction de leur alimentation en oxygène. Ces expérience ont été réalisées par xénogreffes sur des souris. La seconde courbe en partant du haut correspond à des cellules d'origine mélanomale. Figure tirée de [140]. b) Taux de prolifération de cellules mélanomales en fonction de leur densité particulière. N_4 représente le nombre de cellules après quatre jours de culture, N_0 celui au début de la culture. Les différentes courbes correspondent aux différents mélanges de nutriments utilisés. Figure extraite de [141].	45
2.7	Représentation schématique des apports de nutriments dans l'épiderme.	46
3.1	a) et c) Diagramme binaire d'un mélange partiellement miscible. La température, T , est donnée en fonction de la fraction massique des constituants, X . Aux températures élevées et aux fraction massique proche de 0 ou de 1, les substances sont parfaitement miscibles et l'on se trouve en dehors de la cloche de démixion. On remarque qu'à la cloche de démixion peut se séparer en deux zones correspondant aux différents processus qui aboutissent à la séparation des deux phases : la nucléation et la décomposition spinodale. b) Diagramme de l'enthalpie libre à la température T_2 en fonction de la fraction massique X . X_1 et X_2 correspondent aux valeurs limites de démixion à la température T_2 pour la fraction massique. Ils correspondent donc à deux valeurs minimales de l'enthalpie libre G . Les zones où G est concave, entre $X = S_1$ et $X = S_2$ correspondent aux valeurs limites du processus de décomposition spinodale.	50

3.2	Expérience de Townes et Holtfreter [158]. a) Des cellules d'embryon amphibien sont mélangés à l'instant initial. b) Au bout de 20H, ces cellules se sont réorganisées à cause de leur différence d'adhésion. Les cellules épidermales en noir se sont concentrés sur les bords et se sont séparés des cellules de la plaque médullaire en blanc.	52
4.1	Différence de répartition de la mélanine entre un naevus a) et b) et un mélanome acral <i>in situ</i> c) et d). Les images a) et c) correspondent à des photographies de dermoscopie. Les images b) et d) correspondent à des coupes histopathologiques des lésions correspondantes. Images extraites de [171].	88
4.2	Représentation de Monge de la surface S_B et représentation de la couche mince d'épaisseur ϵ correspondant à l'épaisseur de prolifération de la phase cancéreuse. Un point de S_B est représenté par $\mathbf{x} = x\mathbf{e}_1 + y\mathbf{e}_2 + h(x, y)\mathbf{e}_3$, et le vecteur normal à la surface S_B en $\mathbf{x}(x, y)$ est noté $\mathbf{n}(x, y)$. La couche mince est donc paramétrée par $\mathbf{X} = \mathbf{x} + z\mathbf{n}$ avec $z \in [0, \epsilon]$	102

Liste des tableaux

1.1	Les six phototypes cutanés (tableau adapté de [2]).	17
1.2	Histologie des bronzages suivant le type de rayonnement résumant les effets sur les différents acteurs de la pigmentation.	24
2.1	Estimation of the model parameters from experimental data on healthy and diseased skin.	48

Bibliographie

- [1] Pierre Agache. *Physiologie de la peau et explorations fonctionnelles cutanées*. EMI, 2000.
- [2] *Comprendre la peau*. Ann Dermatol Venereol, 2005.
- [3] Michel Démarchez. *Biologie de la peau*. 2016.
- [4] J. D. Bos and M. L. Kapsenberg. The skin immune system : progress in cutaneous biology. *Immunol Today*, 14(2) :75–78, Feb 1993.
- [5] Frank O. Nestle, Paola Di Meglio, Jian-Zhong Qin, and Brian J. Nickoloff. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 9(10) :679–691, Oct 2009.
- [6] J. Kanitis. *biologie de la peau humaine*, chapter Structure histologique de la peau humaine, pages 1–20. Les éditions INSERM, 1997.
- [7] Alice V Maceo. Anatomy and physiology of adult friction ridge skin. *The fingerprint sourcebook*, 2011.
- [8] Ruth K Freinkel and David T Woodley. *The biology of the skin*. 2001.
- [9] Desmond J. Tobin. Biochemistry of human skin—our brain on the outside. *Chem Soc Rev*, 35(1) :52–67, Jan 2006.
- [10] Manigé Fartasch. The epidermal lamellar body : a fascinating secretory organelle. *J Invest Dermatol*, 122(5) :XI–XII, May 2004.
- [11] G. Plewig and R. R. Marples. Regional differences of cell sizes in the human stratum corneum. i. *J Invest Dermatol*, 54(1) :13–18, Jan 1970.
- [12] G. Plewig, E. Scheuber, and W. Waidelich. *Stratum Corneum*, chapter Thickness of corneocytes, pages 171–174. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1983.
- [13] K. A. Holbrook and G. F. Odland. Regional differences in the thickness (cell layers) of the human stratum corneum : an ultrastructural analysis. *J Invest Dermatol*, 62(4) :415–422, Apr 1974.
- [14] F. Pirot, E. Berardesca, Y. N. Kalia, M. Singh, H. I. Maibach, and R. H. Guy. Stratum corneum thickness and apparent water diffusivity : facile and noninvasive quantitation in vivo. *Pharm Res*, 15(3) :492–494, Mar 1998.
- [15] T. B. Fitzpatrick and A. S. Breathnach. Das epidermale melanin-einheitssystem. *Dermatol. Wochschr.*, 147 :481–489, 1963.
- [16] Vincent J Hearing. Determination of melanin synthetic pathways. *Journal of Investigative Dermatology*, 131 :E8–E11, 2011.

- [17] Suman K. Singh, Robin Kurfurst, Carine Nizard, Sylvianne Schnebert, Eric Perrier, and Desmond J. Tobin. Melanin transfer in human skin cells is mediated by filopodia—a model for homotypic and heterotypic lysosome-related organelle transfer. *FASEB J*, 24(10) :3756–3769, Oct 2010.
- [18] Xufeng Wu and John A Hammer. Melanosome transfer : it is best to give and receive. *Current opinion in cell biology*, 29 :1–7, 2014.
- [19] Vincent Flacher, Christoph H. Tripp, Patrizia Stoitzner, Bernhard Haid, Susanne Ebner, Barbara Del Frari, Franz Koch, Chae Gyu Park, Ralph M. Steinman, Juliana Idoyaga, and Nikolaus Romani. Epidermal langerhans cells rapidly capture and present antigens from c-type lectin-targeting antibodies deposited in the dermis. *J Invest Dermatol*, 130(3) :755–762, Mar 2010.
- [20] Friedrich Merkel. Tastzellen und tastkörperchen bei den hausthieren und beim menschen. *Archiv fuer Mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik*, 11 :636–652, 1875.
- [21] Stephen M. Maricich, Scott A. Wellnitz, Aislyn M. Nelson, Daine R. Lesniak, Gregory J. Gerling, Ellen A. Lumpkin, and Huda Y. Zoghbi. Merkel cells are essential for light-touch responses. *Science*, 324(5934) :1580–1582, Jun 2009.
- [22] Lawrence S Chan. Human skin basement membrane in health and in autoimmune diseases. *Front Biosci*, 2 :d343–d352, 1997.
- [23] P. Ciarletta, L. Foret, and M. Ben Amar. The radial growth phase of malignant melanoma : multi-phase modelling, numerical simulations and linear stability analysis. *J R Soc Interface*, 8(56) :345–368, Mar 2011.
- [24] Takuji Masunaga. Epidermal basement membrane : its molecular organization and blistering disorders. *Connective tissue research*, 47(2) :55–66, 2006.
- [25] Luca Borradori and Arnoud Sonnenberg. Structure and function of hemidesmosomes : more than simple adhesion complexes. *Journal of Investigative Dermatology*, 112(4) :411–418, 1999.
- [26] Kim B Yancey. Adhesion molecules. ii : Interactions of keratinocytes with epidermal basement membrane. *Journal of Investigative Dermatology*, 104(6) :1008–1014, 1995.
- [27] Kasey Wertheim. Embryology and morphology of friction ridge skin. *The fingerprint sourcebook*, pages 3–3, 2011.
- [28] Michael Kücken and Alan C Newell. Fingerprint formation. *Journal of theoretical biology*, 235(1) :71–83, 2005.
- [29] Julien Dervaux and Martine Ben Amar. Localized growth of layered tissues. *IMA journal of applied mathematics*, 75(4) :571–580, 2010.
- [30] S. Paget. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet*, 1 :571–573, 1889.
- [31] Ezio Laconi. The evolving concept of tumor microenvironments. *Bioessays*, 29(8) :738–744, Aug 2007.
- [32] A. Albini, E. Magnani, and D. M. Noonan. The tumor microenvironment : biology of a complex cellular and tissue society. *Q J Nucl Med Mol Imaging*, 54(3) :244–248, Jun 2010.

- [33] Stephanie M. Cabarcas, Lesley A. Mathews, and William L. Farrar. The cancer stem cell niche—there goes the neighborhood? *Int J Cancer*, 129(10) :2315–2327, Nov 2011.
- [34] Barney F LeVeau and Donna B Bernhardt. Developmental biomechanics effect of forces on the growth, development, and maintenance of the human body. *Physical Therapy*, 64(12) :1874–1882, 1984.
- [35] Dana C Dolinoy, Jennifer R Weidman, and Randy L Jirtle. Epigenetic gene regulation : linking early developmental environment to adult disease. *Reproductive toxicology*, 23(3) :297–307, 2007.
- [36] Randy L Jirtle and Michael K Skinner. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nature reviews genetics*, 8(4) :253–262, 2007.
- [37] Manel Esteller. Epigenetics in cancer. *New England Journal of Medicine*, 358(11) :1148–1159, 2008.
- [38] Shami Virani, Justin A Colacino, Jung H Kim, and Laura S Rozek. Cancer epigenetics : a brief review. *ILAR Journal*, 53(3-4) :359–369, 2012.
- [39] Nikolas K. Haass and Meenhard Herlyn. Normal human melanocyte homeostasis as a paradigm for understanding melanoma. *J Investig Dermatol Symp Proc*, 10(2) :153–163, Nov 2005.
- [40] I. M. Shih, D. E. Elder, M. Y. Hsu, and M. Herlyn. Regulation of mel-cam/muc18 expression on melanocytes of different stages of tumor progression by normal keratinocytes. *Am J Pathol*, 145(4) :837–845, Oct 1994.
- [41] Mei-Yu Hsu, Friedegund E Meier, Mark Nesbit, Ju-Yu Hsu, Patricia Van Belle, David E Elder, and Meenhard Herlyn. E-cadherin expression in melanoma cells restores keratinocyte-mediated growth control and down-regulates expression of invasion-related adhesion receptors. *The American journal of pathology*, 156(5) :1515–1525, 2000.
- [42] Alberto Puliafito, Lars Hufnagel, Pierre Neveu, Sebastian Streichan, Alex Sigal, D Kuchnir Fygenon, and Boris I. Shraiman. Collective and single cell behavior in epithelial contact inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(3) :739–744, Jan 2012.
- [43] M. A. Schwarz, K. Owaribe, J. Kartenbeck, and W. W. Franke. Desmosomes and hemidesmosomes : constitutive molecular components. *Annu Rev Cell Biol*, 6 :461–491, 1990.
- [44] M. Takeichi. Morphogenetic roles of classic cadherins. *Curr Opin Cell Biol*, 7(5) :619–627, Oct 1995.
- [45] S. Tsukita, M. Furuse, and M. Itoh. Structural and signalling molecules come together at tight junctions. *Curr Opin Cell Biol*, 11(5) :628–633, Oct 1999.
- [46] N. M. Kumar and N. B. Gilula. The gap junction communication channel. *Cell*, 84(3) :381–388, Feb 1996.
- [47] Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, New York, 2002.

- [48] A. Huttenlocher, M. Lakonishok, M. Kinder, S. Wu, T. Truong, K. A. Knudsen, and A. F. Horwitz. Integrin and cadherin synergy regulates contact inhibition of migration and motile activity. *J Cell Biol*, 141(2) :515–526, Apr 1998.
- [49] Paul A. Janmey and Christopher A. McCulloch. Cell mechanics : integrating cell responses to mechanical stimuli. *Annu Rev Biomed Eng*, 9 :1–34, 2007.
- [50] Nina G Jablonski and George Chaplin. The evolution of human skin coloration. *Journal of human evolution*, 39(1) :57–106, 2000.
- [51] Yoshinori Miyamura, Sergio G Coelho, Rainer Wolber, Sharon A Miller, Kazumasa Wakamatsu, Barbara Z Zmudzka, Shosuke Ito, Christoph Smuda, Thierry Passeron, Wonseon Choi, et al. Regulation of human skin pigmentation and responses to ultraviolet radiation. *Pigment Cell Research*, 20(1) :2–13, 2007.
- [52] Caroline Robert, Bernard Muel, Annie Benoit, Louis Dubertret, Alain Sarasin, and Anne Stary. Cell survival and shuttle vector mutagenesis induced by ultraviolet a and ultraviolet b radiation in a human cell line. *Journal of investigative dermatology*, 106(4) :721–728, 1996.
- [53] E. Warrick. Effets des uv sur l’adn : lesions et mutations. 2012.
- [54] Patrick Varrendo and Jean-Jacques Grob. *Biologie de la peau humaine*, chapter Réparation d’ADN et canceers : incidences sur le mélanome, pages 151–169. Les éditions INSERM, 2000.
- [55] R. E. Kwa, K. Campana, and R. L. Moy. Biology of cutaneous squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*, 26(1) :1–26, Jan 1992.
- [56] M. L. Smith, I. T. Chen, Q. Zhan, I. Bae, C. Y. Chen, T. M. Gilmer, M. B. Kastan, P. M. O’Connor, and AJ Fornace, Jr. Interaction of the p53-regulated protein gadd45 with proliferating cell nuclear antigen. *Science*, 266(5189) :1376–1380, Nov 1994.
- [57] John P. Arlette and Martin J. Trotter. Squamous cell carcinoma in situ of the skin : history, presentation, biology and treatment. *Australas J Dermatol*, 45(1) :1–9 ; quiz 10, Feb 2004.
- [58] Collège des enseignants en dermatologie de France. *Dermatologie*. 2011.
- [59] M. Alam and D. Ratner. Cutaneous squamous-cell carcinoma. *N Engl J Med*, 344(13) :975–983, Mar 2001.
- [60] Margaret Staples, Robin Marks, and Graham Giles. Trends in the incidence of non-melanocytic skin cancer (nmesc) treated in australia 1985-1995 : are primary prevention programs starting to have an effect ? *International journal of cancer*, 78(2) :144–148, 1998.
- [61] S. J. Miller. Biology of basal cell carcinoma (part ii). *J Am Acad Dermatol*, 24(2 Pt 1) :161–175, Feb 1991.
- [62] Jorg Reichrath and Kerstin Querings. *Molecular Mechanisms of Basal Cell and Squamous Cell Carcinoma*, chapter Histology of Epithelial Sldn Tumors, pages 10–17. Landes Bioscience and Springer Science, 2006.
- [63] E. Epstein, N. N. Epstein, K. Bragg, and G. Linden. Metastases from squamous cell carcinomas of the skin. *Arch Dermatol*, 97(3) :245–251, Mar 1968.

- [64] Iris Zalaudek, Rainer Hofmann-Wellenhof, Harald Kittler, Giuseppe Argenziano, Gerardo Ferrara, Luca Petrillo, Helmut Kerl, and H Peter Soyer. A dual concept of nevogenesis : theoretical considerations based on dermoscopic features of melanocytic nevi. *J Dtsch Dermatol Ges*, 5(11) :985–992, Nov 2007.
- [65] Ashfaq A. Marghoob, Ralph-P. Braun, and Alfred W. Kopf. *Précis illustré de dermoscopie*. 2007.
- [66] Wallace H Clark, David E Elder, DuPont Guerry, Leonard E Braitman, Bruce J Trock, Delray Schultz, Marie Synnestvedt, and Allan C Halpern. Model predicting survival in stage i melanoma based on tumor progression. *Journal of the National Cancer Institute*, 81(24) :1893–1904, 1989.
- [67] WH Clark, Jr, L. From, E. A. Bernardino, and M. C. Mihm. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res*, 29(3) :705–727, Mar 1969.
- [68] Haute Autorité de Santé. Stratégie de diagnostic précoce du mélanome, recommandation en santé publique, 2006.
- [69] L Ollivaud, N Basset-Seguin, and A Archimbaud. Mélanome de dubreuilh. In *Annales de dermatologie et de vénéréologie*, volume 128, pages 172–176. Masson, 2001.
- [70] Atsushi Miyazaki, Toshiaki Saida, Hiroshi Koga, Shinji Oguchi, Tadashi Suzuki, and Tetsuya Tsuchida. Anatomical and histopathological correlates of the dermoscopic patterns seen in melanocytic nevi on the sole : a retrospective study. *J Am Acad Dermatol*, 53(2) :230–236, Aug 2005.
- [71] Alexander J. Chamberlain, Lin Fritschi, Graham G. Giles, John P. Dowling, and John W. Kelly. Nodular type and older age as the most significant associations of thick melanoma in victoria, australia. *Arch Dermatol*, 138(5) :609–614, May 2002.
- [72] C. M. Balch, S. J. Soong, J. E. Gershenwald, J. F. Thompson, D. S. Reintgen, N. Cascinelli, M. Urist, K. M. McMasters, M. I. Ross, J. M. Kirkwood, M. B. Atkins, J. A. Thompson, D. G. Coit, D. Byrd, R. Desmond, Y. Zhang, P. Y. Liu, G. H. Lyman, and A. Morabito. Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients : validation of the american joint committee on cancer melanoma staging system. *J Clin Oncol*, 19(16) :3622–3634, Aug 2001.
- [73] Robert S. Stern. Prevalence of a history of skin cancer in 2007 : results of an incidence-based model. *Arch Dermatol*, 146(3) :279–282, Mar 2010.
- [74] A. Breslow. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. *Ann Surg*, 172(5) :902–908, Nov 1970.
- [75] A. A. Marghoob, R.-P. Braun, and A. W. Kopf, editors. *Atlas of dermoscopy*. Taylor & Francis, 2004.
- [76] R. J. Friedman, D. S. Rigel, and A. W. Kopf. Early detection of malignant melanoma : the role of physician examination and self-examination of the skin. *CA Cancer J Clin*, 35(3) :130–151, 1985.
- [77] S. Bassoli, S. Borsari, C. Ferrari, F. Giusti, G. Pellacani, G. Ponti, and S. Seidenari. Grey-blue regression in melanoma in situ-evaluation on 111 cases. *J Skin Cancer*, 2011 :180980, 2011.

- [78] Scott W. Menzies. Cutaneous melanoma : making a clinical diagnosis, present and future. *Dermatol Ther*, 19(1) :32–39, 2006.
- [79] W. Stolz, O. Braun-Falco, U. Semmelmayer, and A. W. Kopf. *Précis illustré de dermoscopie*, chapter Histoire de la microscopie de la surface cutanée et de la dermoscopie, pages 1–6. Arnette Blackwell, 2007.
- [80] Giuseppe Argenziano, H Peter Soyer, Sergio Chimenti, Renato Talamini, Rosamaria Corona, Francesco Sera, Michael Binder, Lorenzo Cerroni, Gaetano De Rosa, Gerardo Ferrara, Rainer Hofmann-Wellenhof, Michael Landthaler, Scott W. Menzies, Hubert Pehamberger, Domenico Piccolo, Harold S. Rabinovitz, Roman Schiffner, Stefania Staibano, Wilhelm Stolz, Igor Bartenjev, Andreas Blum, Ralph Braun, Horacio Cabo, Paolo Carli, Vincenzo De Giorgi, Matthew G. Fleming, James M. Grichnik, Caron M. Grin, Allan C. Halpern, Robert Johr, Brian Katz, Robert O. Kenet, Harald Kittler, Jürgen Kreusch, Josep Malvehy, Giampiero Mazzocchetti, Margaret Oliviero, Fezal Ozdemir, Ketty Peris, Roberto Perotti, Ana Perusquia, Maria Antonietta Pizzichetta, Susana Puig, Babar Rao, Pietro Rubegni, Toshiaki Saida, Massimiliano Scalvenzi, Stefania Seidenari, Ignazio Stanganelli, Masaru Tanaka, Karin Westerhoff, Ingrid H. Wolf, Otto Braun-Falco, Helmut Kerl, Takeji Nishikawa, Klaus Wolff, and Alfred W. Kopf. Dermoscopy of pigmented skin lesions : results of a consensus meeting via the internet. *J Am Acad Dermatol*, 48(5) :679–693, May 2003.
- [81] Clément Chatelain and Martine Ben Amar. Morphogenesis of early stage melanoma. *The European Physical Journal Plus*, 130(8) :1–13, 2015.
- [82] H. Pehamberger, A. Steiner, and K. Wolff. In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. i. pattern analysis of pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol*, 17(4) :571–583, Oct 1987.
- [83] Dorothy C Bennett. How to make a melanoma : what do we know of the primary clonal events ? *Pigment cell & melanoma research*, 21(1) :27–38, 2008.
- [84] Robert A. Gatenby and Philip K. Maini. Mathematical oncology : cancer summed up. *Nature*, 421(6921) :321, Jan 2003.
- [85] Helen Davies, Graham R Bignell, Charles Cox, Philip Stephens, Sarah Edkins, Sheila Clegg, Jon Teague, Hayley Woffendin, Mathew J Garnett, William Bottomley, et al. Mutations of the braf gene in human cancer. *Nature*, 417(6892) :949–954, 2002.
- [86] S Kuphal and AK Bosserhoff. Influence of the cytoplasmic domain of e-cadherin on endogenous n-cadherin expression in malignant melanoma. *Oncogene*, 25(2) :248–259, 2006.
- [87] VC Gray-Schopfer, SC Cheong, H Chong, J Chow, T Moss, ZA Abdel-Malek, R Marais, D Wynford-Thomas, and DC Bennett. Cellular senescence in naevi and immortalisation in melanoma : a role for p16 ? *British Journal of Cancer*, 95(4) :496–505, 2006.
- [88] Vanessa C Gray-Schopfer and Dorothy C Bennett. The genetics of melanoma. *The Pigmentary System : Physiology and Pathophysiology, Second Edition*, pages 472–488, 2006.

- [89] Nikolas K. Haass, Keiran S M. Smalley, and Meenhard Herlyn. The role of altered cell-cell communication in melanoma progression. *J Mol Histol*, 35(3) :309–318, Mar 2004.
- [90] Manuel Collado, Jesús Gil, Alejo Efeyan, Carmen Guerra, Alberto J Schuhmacher, Marta Barradas, Alberto Benguría, Angel Zaballos, Juana M Flores, Mariano Barbacid, et al. Tumour biology : senescence in premalignant tumours. *Nature*, 436(7051) :642–642, 2005.
- [91] Chrysiis Michaloglou, Liesbeth CW Vredeveld, Maria S Soengas, Christophe Denoyelle, Thomas Kuilman, Chantal MAM van der Horst, Donné M Majoor, Jerry W Shay, Wolter J Mooi, and Daniel S Peeper. Braf600-associated senescence-like cell cycle arrest of human naevi. *Nature*, 436(7051) :720–724, 2005.
- [92] D. Drasdo. *Multiscale Modeling*, chapter On selected individual-based approaches to the dynamics of multicellular systems, pages 169–205. Alt, W. and Chaplain, M. and Griebel, M. and Lenz, J., 2003.
- [93] T. Roose, S. J. Chapman, and P. K. Maini. Mathematical models of avascular tumor growth. *SIAM Review*, 49 :179–208, 2007.
- [94] J. S. Lowengrub, H. B. Frieboes, F. Jin, Y-L. Chuang, X. Li, P. Macklin, S. M. Wise, and V. Cristini. Nonlinear modelling of cancer : bridging the gap between cells and tumours. *Nonlinearity*, 23(1) :R1–R9, 2010.
- [95] Alessandro Taloni, Alexander A Alemi, Emilio Ciusani, James P Sethna, Stefano Zapperi, and Caterina AM La Porta. Mechanical properties of growing melanocytic nevi and the progression to melanoma. *PloS one*, 9(4) :e94229, 2014.
- [96] Caterina AM La Porta, Stefano Zapperi, and James P Sethna. Senescent cells in growing tumors : population dynamics and cancer stem cells. *PLoS Comput Biol*, 8(1) :e1002316, 2012.
- [97] Massimiliano Maria Baraldi, Alexander A Alemi, James P Sethna, Sergio Carracciolo, Caterina AM La Porta, and Stefano Zapperi. Growth and form of melanoma cell colonies. *Journal of Statistical Mechanics : Theory and Experiment*, 2013(02) :P02032, 2013.
- [98] Stefano Zapperi and Caterina AM La Porta. Do cancer cells undergo phenotypic switching? the case for imperfect cancer stem cell markers. *Scientific reports*, 2, 2012.
- [99] Stefano Zapperi and Caterina Anna Maria Laporta. Do cancer cells undergo phenotypic switching? the case for imperfect cancer stem cell markers. *Cancer Research*, 73(8 Supplement) :5228–5228, 2013.
- [100] J. Folkman and M. Hochberg. Self-regulation of growth in three dimensions. *J Exp Med*, 138(4) :745–753, Oct 1973.
- [101] H. P. Greenspan. Models for the growth of a solid tumor by diffusion. *Studies in Appl. Math.*, LI :317–340, 1972.
- [102] W. V. Mayneord. On the law of growth of jensen’s rat sarcoma. *Am. J. Cancer*, 16 :841–846, 1932.

- [103] A. C. Burton. Rate of growth of solid tumours as a problem of diffusion. *Growth*, 30(2) :157–176, Jun 1966.
- [104] H. P. Greenspan. On the growth and stability of cell cultures and solid tumors. *J Theor Biol*, 56(1) :229–242, Jan 1976.
- [105] H. M. Byrne and M. A. Chaplain. Growth of nonnecrotic tumors in the presence and absence of inhibitors. *Math Biosci*, 130(2) :151–181, Dec 1995.
- [106] Vittorio Cristini, John Lowengrub, and Qing Nie. Nonlinear simulation of tumor growth. *J Math Biol*, 46(3) :191–224, Mar 2003.
- [107] Markus Basan, Thomas Risler, Jean-François Joanny, Xavier Sastre-Garau, and Jacques Prost. Homeostatic competition drives tumor growth and metastasis nucleation. *HFSP J*, 3(4) :265–272, Aug 2009.
- [108] X. Zheng, S. M. Wise, and V. Cristini. Nonlinear simulation of tumor necrosis, neo-vascularization and tissue invasion via an adaptive finite-element/level-set method. *Bull Math Biol*, 67(2) :211–259, Mar 2005.
- [109] A. Friedman and B. Hu. Bifurcation from stability to instability for a free boundary problem modeling tumor growth by stokes equation. *J. Math. Anal. Appl.*, 327 :643–664, 2007.
- [110] D. L. S. McElwain and L. E. Morris. Apoptosis as a volume loss mechanism in mathematical models of solid tumor growth. *Math. Biosci.*, 39 :147–157, 1978.
- [111] W. Mueller-Klieser. Multicellular spheroids. a review on cellular aggregates in cancer research. *J Cancer Res Clin Oncol*, 113(2) :101–122, 1987.
- [112] R. M. Sutherland. Cell and environment interactions in tumor microregions : the multicell spheroid model. *Science*, 240(4849) :177–184, Apr 1988.
- [113] J. Adam. A mathematical model of tumor growth. ii. effects of geometry and spatial nonuniformity on stability. *Math. Biosci.*, 86 :183–211, 1987.
- [114] H. M. Byrne and M. A. Chaplain. Free boundary value problems associated with the growth and development of multicellular spheroids. *Euro. J. of Appl. Math.*, 8 :639–658, 1997.
- [115] X. Li, V. Cristini, Q. Nie, and J. Lowengrub. Nonlinear three-dimensional simulation of solid tumor growth. *Discrete Dyn. Contin. Dyn. Syst. B*, 7 :581–604, 2007.
- [116] E. K. Rodriguez, A. Hoger, and A. D. McCulloch. Stress-dependent finite growth in soft elastic tissues. *J Biomech*, 27(4) :455–467, Apr 1994.
- [117] L. Graziano and L. Preziosi. *Modeling of Biological Materials*, chapter Mechanics in Tumor Growth, pages 267–328. Birkhäuser, 2007.
- [118] Davide Ambrosi and Luigi Preziosi. Cell adhesion mechanisms and stress relaxation in the mechanics of tumours. *Biomech Model Mechanobiol*, 8(5) :397–413, Oct 2009.
- [119] G. Griffon-Etienne, Y. Boucher, C. Brekken, H. D. Suit, and R. K. Jain. Taxane-induced apoptosis decompresses blood vessels and lowers interstitial fluid pressure in solid tumors : clinical implications. *Cancer Res*, 59(15) :3776–3782, Aug 1999.

- [120] M. Stohrer, Y. Boucher, M. Stangassinger, and R. K. Jain. Oncotic pressure in solid tumors is elevated. *Cancer Res*, 60(15) :4251–4255, Aug 2000.
- [121] G. Helmlinger, P. A. Netti, H. C. Lichtenbeld, R. J. Melder, and R. K. Jain. Solid stress inhibits the growth of multicellular tumor spheroids. *Nat Biotechnol*, 15(8) :778–783, Aug 1997.
- [122] D. Ambrosi and F. Mollica. The role of stress in the growth of a multicell spheroid. *J Math Biol*, 48(5) :477–499, May 2004.
- [123] J. Dervaux and M. Ben Amar. Buckling condensation in constrained growth. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 59 :538–560, 2011.
- [124] C. Truesdell and R. Toupin. *Handbuch der Physik*, chapter The classical field theory. Berlin : Springer, 1960.
- [125] C. Truesdell. *Rational Thermodynamics*. Springer, 1984.
- [126] T. Müller. A thermodynamic theory of mixtures of fluids. *Arch. Rational Mech. Anal.*, 28 :1–39, 1968.
- [127] M. R. Baer and J. W. Nunziato. A two-phase mixture theory for the deflagration-to-detonation transition (ddt) in reactive granular materials. *INT J MULTIPHASE FLOW*, 12 :861–889, 1986.
- [128] W. R. Tinga, W. A. G. Voss, and D. F. Blossey. Generalized approach to multiphase dielectric mixture theory. *J APPL PHYS*, 44 :3897–3902, 1973.
- [129] R. Decker and R. L. Brown. A turbulent mixture theory for the atmospheric mixture of snow and air. *ANN GLACIOL*, 4 :37–41, 1983.
- [130] C. P. Please, G. J. Pettet, and D. L. S. McElwain. A new approach to modelling the formation of necrotic regions in tumours. *Appl. Math. Lett.*, 11 :89–94, 1998.
- [131] G. Sciumè, S. Shelton, William G Gray, Cass T Miller, Fazle Hussain, Mauro Ferrari, P. Decuzzi, and BA Schrefler. A multiphase model for three-dimensional tumor growth. *New journal of physics*, 15(1) :015005, 2013.
- [132] L. Preziosi and G. Vitale. *Mechanical Aspects of Tumour Growth*, chapter Multiphase Modelling, Adhesion, and Evolving Natural Configurations. Oxford University Press, Oxford.
- [133] L. Ambrosi, D. and Preziosi. On the closure of mass balance models for tumour growth. *Math. Models Methods Appl. Sci.*, 12 :737–754, 2002.
- [134] Clément Chatelain, Pasquale Ciarletta, and Martine Ben Amar. Morphological changes in early melanoma development : influence of nutrients, growth inhibitors and cell-adhesion mechanisms. *J Theor Biol*, 290 :46–59, Dec 2011.
- [135] M. Ben Amar, C. Chatelain, and P. Ciarletta. Contour instabilities in early tumor growth models. *Phys Rev Lett*, 106(14) :148101, Apr 2011.
- [136] M. Doi and A. Onuki. Dynamic coupling between stress and composition in polymer solutions and blends. *J. Phys. II*, 2 :1631–1656, 1992.
- [137] Vittorio Cristini, Xiangrong Li, John S. Lowengrub, and Steven M. Wise. Nonlinear simulations of solid tumor growth using a mixture model : invasion and branching. *J Math Biol*, 58(4-5) :723–763, Apr 2009.

- [138] L. Onsager. Reciprocal relations in irreversible processes. *Phys. Rev.*, 37 :405–426, 1931.
- [139] Helen Byrne and Luigi Preziosi. Modelling solid tumour growth using the theory of mixtures. *Math Med Biol*, 20(4) :341–366, Dec 2003.
- [140] F. Kallinowski, K. H. Schlenger, S. Runkel, M. Kloes, M. Stohrer, P. Okunieff, and P. Vaupel. Blood flow, metabolism, cellular microenvironment, and growth rate of human tumor xenografts. *Cancer Res*, 49(14) :3759–3764, Jul 1989.
- [141] K. A. Ellem and G. F. Kay. The nature of conditioning nutrients for human malignant melanoma cultures. *J Cell Sci*, 62 :249–266, Jul 1983.
- [142] R. M. Sutherland and R. E. Durand. Hypoxic cells in an in vitro tumour model. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med*, 23(3) :235–246, Mar 1973.
- [143] A. A. Creasey, H. S. Smith, A. J. Hackett, K. Fukuyama, W. L. Epstein, and S. H. Madin. Biological properties of human melanoma cells in culture. *In Vitro*, 15(5) :342–350, May 1979.
- [144] L Isabel Cárdenas-Navia, Daohai Yu, Rod D. Braun, David M. Brizel, Timothy W. Secomb, and Mark W. Dewhirst. Tumor-dependent kinetics of partial pressure of oxygen fluctuations during air and oxygen breathing. *Cancer Res*, 64(17) :6010–6017, Sep 2004.
- [145] M. Stücker, A. Struk, P. Altmeyer, M. Herde, H. Baumgärtl, and D. W. Lübbers. The cutaneous uptake of atmospheric oxygen contributes significantly to the oxygen supply of human dermis and epidermis. *J Physiol*, 538(Pt 3) :985–994, Feb 2002.
- [146] M. E. Hystad and E. K. Rofstad. Oxygen consumption rate and mitochondrial density in human melanoma monolayer cultures and multicellular spheroids. *Int J Cancer*, 57(4) :532–537, May 1994.
- [147] Wendy Liu, John P. Dowling, William K. Murray, Grant A. McArthur, John F. Thompson, Rory Wolfe, and John W. Kelly. Rate of growth in melanomas : characteristics and associations of rapidly growing melanomas. *Arch Dermatol*, 142(12) :1551–1558, Dec 2006.
- [148] R. K. Jain. Transport of molecules in the tumor interstitium : a review. *Cancer Res*, 47(12) :3039–3051, Jun 1987.
- [149] P. M. van Kemenade, J. M. Huyghe, and L. F. A. Douven. Triphasic fe modeling of skin water barrier. *Transp. Porous Media*, 50 :93–109, 2003.
- [150] E. A. Swabb, J. Wei, and P. M. Gullino. Diffusion and convection in normal and neoplastic tissues. *Cancer Res*, 34(10) :2814–2822, Oct 1974.
- [151] Barbara Bedogni and Marianne Broome Powell. Hypoxia, melanocytes and melanoma - survival and tumor development in the permissive microenvironment of the skin. *Pigment Cell Melanoma Res*, 22(2) :166–174, Apr 2009.
- [152] M. E. Johnson, D. Blankschtein, and R. Langer. Evaluation of solute permeation through the stratum corneum : lateral bilayer diffusion as the primary transport mechanism. *J Pharm Sci*, 86(10) :1162–1172, Oct 1997.

- [153] M. Stücker, C. Moll, and P. Altmeyer. [cutaneous oxygen supply. with special consideration of skin uptake of oxygen from the atmosphere]. *Hautarzt*, 55(3) :273–279, Mar 2004.
- [154] JS Langer, M Bar-On, and Harold D Miller. New computational method in the theory of spinodal decomposition. *Physical Review A*, 11(4) :1417, 1975.
- [155] PG De Gennes. Dynamics of fluctuations and spinodal decomposition in polymer blends. *The Journal of Chemical Physics*, 72(9) :4756–4763, 1980.
- [156] A Onuki and S Puri. Spinodal decomposition in gels. *Physical Review E*, 59(2) :R1331, 1999.
- [157] John W Cahn and John E Hilliard. Free energy of a nonuniform system. i. interfacial free energy. *The Journal of chemical physics*, 28(2) :258–267, 1958.
- [158] PHILIP L. TOWNES and JOHANNES HOLTFRETER. Directed movements and selective adhesion of embryonic amphibian cells. *Journal of Experimental Zoology*, 128 :53–120, 1955.
- [159] Glazier and Graner. Simulation of the differential adhesion driven rearrangement of biological cells. *Phys Rev E Stat Phys Plasmas Fluids Relat Interdiscip Topics*, 47(3) :2128–2154, Mar 1993.
- [160] Malcolm S. Steinberg. Differential adhesion in morphogenesis : a modern view. *Curr Opin Genet Dev*, 17(4) :281–286, Aug 2007.
- [161] Ramsey A. Foty and Malcolm S. Steinberg. The differential adhesion hypothesis : a direct evaluation. *Dev Biol*, 278(1) :255–263, Feb 2005.
- [162] B. M. Gumbiner. Cell adhesion : the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell*, 84(3) :345–357, Feb 1996.
- [163] Brian S Winters, Scott R Shepard, and Ramsey A Foty. Biophysical measurement of brain tumor cohesion. *International journal of cancer*, 114(3) :371–379, 2005.
- [164] A. Nose, A. Nagafuchi, and M. Takeichi. Expressed recombinant cadherins mediate cell sorting in model systems. *Cell*, 54(7) :993–1001, Sep 1988.
- [165] Jennifer M. Halbleib and W James Nelson. Cadherins in development : cell adhesion, sorting, and tissue morphogenesis. *Genes Dev*, 20(23) :3199–3214, Dec 2006.
- [166] James A Shapiro. The significances of bacterial colony patterns. *Bioessays*, 17(7) :597–607, 1995.
- [167] Elena O Budrene and Howard C Berg. Complex patterns formed by motile cells of escherichia coli. 1991.
- [168] DE Woodward, R Tyson, MR Myerscough, JD Murray, EO Budrene, and HC Berg. Spatio-temporal patterns generated by salmonella typhimurium. *Biophysical journal*, 68(5) :2181, 1995.
- [169] Americo Marrocco, H Henry, IB Holland, M Plapp, SJ Séror, and Benoît Perthame. Models of self-organizing bacterial communities and comparisons with experimental observations. *Mathematical Modelling of Natural Phenomena*, 5(01) :148–162, 2010.

- [170] ME Cates, D Marenduzzo, I Pagonabarraga, and J Tailleur. Arrested phase separation in reproducing bacteria creates a generic route to pattern formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(26) :11715–11720, 2010.
- [171] Toshiaki Saida. Lessons learned from studies of the development of early melanoma. *Int J Clin Oncol*, 10(6) :371–374, Dec 2005.
- [172] S. Oguchi, T. Saida, Y. Koganehira, S. Ohkubo, Y. Ishihara, and S. Kawachi. Characteristic epiluminescent microscopic features of early malignant melanoma on glabrous skin. a videomicroscopic analysis. *Arch Dermatol*, 134(5) :563–568, May 1998.
- [173] D. Altamura, E Altobelli, T. Micantonio, D. Piccolo, M.C. Fagnoli, and K. Peris. Dermoscopic patterns of acral melanocytic nevi and melanomas in a white population in central italy. *Arch Dermatol*, 142 :1123–1128, 2006.
- [174] Toshiaki Saida, Hiroshi Koga, Yasufumi Goto, and Hisashi Uhara. Characteristic distribution of melanin columns in the cornified layer of acquired acral nevus : an important clue for histopathologic differentiation from early acral melanoma. *Am J Dermatopathol*, 33(5) :468–473, Jul 2011.
- [175] Toshiaki Saida, Hiroshi Koga, and Hisashi Uhara. Key points in dermoscopic differentiation between early acral melanoma and acral nevus. *J Dermatol*, 38(1) :25–34, Jan 2011.
- [176] Yoko Nagashima and Tetsuya Tsuchida. Correspondence between dermoscopic features and epidermal structures revealed by scanning electron microscope. *J Dermatol*, 38(1) :35–40, Jan 2011.
- [177] S. Signoretti, G. Annessi, P. Puddu, and T. Faraggiana. Melanocytic nevi of palms and soles : a histological study according to the plane of section. *Am J Surg Pathol*, 23(3) :283–287, Mar 1999.
- [178] M. Kimoto, M. Sakamoto, H. Iyatomi, and M. Tanaka. Three-dimensional melanin distribution of acral melanocytic nevi is reflected in dermoscopy features : analysis of the parallel pattern. *Dermatology*, 216(3) :205–212, 2008.
- [179] Giovanni Maria Palleschi, Carmelo Urso, Eugenio Torre, and Daniele Torchia. Histopathological correlates of the parallel-furrow pattern seen in acral melanocytic nevi at dermatoscopy. *Dermatology*, 217(4) :356–8; author reply 359, 2008.

Résumé

Le mélanome est un cancer dont la mortalité augmente rapidement avec le temps. Afin d'assurer une détection précoce, des campagnes de sensibilisation ont été menées donnant des critères morphologiques pour le distinguer des grains de beauté. Mais, l'origine des différences d'aspects entre lésions bénignes et malignes reste inconnue. L'objectif est ici de relier les effets des modifications génétiques à l'aspect des tumeurs, en utilisant des outils venus de la physique macroscopique. Les mélanomes ont l'avantage d'être facilement observables et fins, ce qui en font un système idéal. Ce travail commence par rappeler les aspects physiologiques des cancers de la peau. On explique le fonctionnement de la peau saine, puis nous décrivons les différents types de lésions cutanées, et enfin nous donnons un bref aperçu des différents chemins génétiques connus menant au mélanome.

Ensuite, nous faisons un rappel des différents modèles mathématiques du cancer. Nous nous attardons sur l'utilisation de la théorie des mélanges comme base théorique de mise en équation des tumeurs. Nous l'appliquons ensuite dans un modèle simplifié à deux phases en deux dimensions.

Puis, nous analysons ces équations. Une étude des composantes spatiales montre la possibilité d'un processus de séparation de phases: la décomposition spinodale. L'étude temporelle permet de montrer que ces équations contiennent les ingrédients nécessaires à décrire plusieurs types de mélanomes observés in vivo.

Nous terminons par l'étude des effets de la troisième dimension jusqu'alors mis de côté dans le modèle. Nous mettons en équation des mélanomes évoluant sur un épiderme ondulé, au niveau des mains et des pieds.

Mots Clés

Cancer, peau, biophysique, théorie des mélanges, décomposition spinodale, mélanome, instabilité, biomécanique.

Abstract

Melanoma is a cancer whose mortality grows rapidly with time. In order to insure an early diagnosis, advertising campaigns have emphasized the importance of morphological criteria in order to distinguish moles from melanoma. But, the origins of those criteria are still poorly understood. Our goal is to understand the link between genetic modifications and melanoma patterns using physical tools. As melanoma is easily observable and thin, this makes it an ideal system. This work begins by recalling the physiological aspects of skin cancer. Healthy skin is thoroughly described, then cancerous lesions are depicted, and melanoma genetic pathways are briefly discussed.

Then, continuous mathematical models of cancer are reviewed. We show how mixture theory is used to put cancer into equations. Then, this framework is simplified in a simplified two phases 2D model.

Those equations are analysed. The spatial study shows the possibility of a phase separation process: the spinodal decomposition. And, the time study shows that this model contains the ingredients necessary to describe several melanoma types seen in vivo.

Focusing finally on the third dimension. Melanoma evolving on a wavy epidermis (hands and feet skin) are studied. We explain how melanoma patterns should follow the skin ridges (fingerprints).

Keywords

Cancer, skin, biophysics, mixture theory, spinodal decomposition, melanoma, instability, biomechanics.