

# 基于网络药理学、分子对接与体外实验探讨表没食子儿茶素没食子酸酯抗小细胞肺癌的作用机制

龙其河<sup>1</sup>, 黄焕文<sup>2</sup>, 林炯<sup>1</sup>, 吴其标<sup>3,4\*</sup>, 苏文媚<sup>1,2\*</sup>

1. 澳门科技大学 中医药学院, 澳门 0999078
2. 广东医科大学附属医院 肺部肿瘤专科, 广东 湛江 524000
3. 澳门科技大学 中药机制与质量全国重点实验室, 澳门 0999078
4. 珠海澳门科技大学科技研究院, 广东 珠海 519000

**摘要:** **目的** 通过网络药理学和分子对接方法研究表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 抗小细胞肺癌的潜在作用机制, 并通过体外实验进一步验证。 **方法** 通过检索 PubChem、Swiss Target Prediction 和 Stitch 数据库预测 EGCG 的潜在作用靶点, 检索 DrugBank、GeneCards、TTD、Omin 和 Pharmgkb 数据库获得小细胞肺癌的相关靶点; 使用 R4.3.1 软件获取交集靶点。使用 STRING 数据库构建 EGCG 治疗小细胞肺癌潜在靶点的蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络; 使用 Cytoscape 软件对 STRING 数据库筛选得到的靶点进行 3 次核心靶点筛选; 使用 R4.3.1 软件中的“ClusterProfiler”对核心靶点进行基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 信号通路富集分析, 进一步通过分子对接和分子动力学模拟研究 EGCG 治疗 SCLC 的潜在作用机制。使用梯度浓度 EGCG 处理人小细胞肺癌 H82 和 H562 细胞, 通过 Western blotting 检测核心靶点蛋白的表达水平, 并通过流式细胞术分析 EGCG 对小细胞肺癌细胞凋亡和细胞周期的影响。 **结果** 预测到 779 个 EGCG 潜在作用靶点, 29 599 个小细胞肺癌相关靶点, 最终得到交集靶点 678 个, 进一步筛选得到 E1A 结合蛋白 p300 (EP300)、信号转导及转录激活因子 3 (STAT3)、Jun 和肿瘤蛋白 p53 (TP53) 4 个核心靶点。GO 和 KEGG 富集分析结果显示, EGCG 可能通过磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号通路、丝裂原激活蛋白激酶 (MAPK) 信号通路及蛋白多糖调节等机制发挥对小细胞肺癌的治疗作用。分子对接结果显示 EGCG 与 4 个核心靶点的对接结合能均小于-8.7 kcal/mol; 分子动力学模拟显示 EGCG 与 4 个核心靶点的结合稳定性均较强。体外实验中, EGCG 可显著降低 EP300、STAT3、Jun 蛋白的表达水平, 而不降低 TP53 蛋白的表达水平; 40 μmol/L EGCG 引起细胞周期阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期, 同时促进了细胞凋亡。 **结论** EGCG 对小细胞肺癌的治疗作用可能通过多种靶点和多个通路途径实现。

**关键词:** 表没食子儿茶素没食子酸酯; 小细胞肺癌; E1A 结合蛋白 p300; 信号转导及转录激活因子 3; Jun; 肿瘤蛋白 p53  
**中图分类号:** R285; R286.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2026)05-1227-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.05.004

## Mechanism of epigallocatechin gallate against small cell lung cancer based on network pharmacology, molecular docking, and *in vitro* experiments

LONG Qihe<sup>1</sup>, HUANG Huanwen<sup>2</sup>, LIN Jiong<sup>1</sup>, WU Qibiao<sup>3,4</sup>, SU Wenmei<sup>1,2</sup>

1. College of Traditional Chinese Medicine, Macau University of Science and Technology, Macau 0999078, China
2. Department of Pulmonary Oncology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524000, China
3. State Key Laboratory of Mechanism and Quality of Chinese Medicine, Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China
4. Zhuhai-M.U.S.T. Science and Technology Research Institute, Zhuhai 519000, China

**Abstract: Objective** To investigate the potential mechanism of epigallocatechin gallate (EGCG) against small cell lung cancer (SCLC) using network pharmacology and molecular docking methods, and to further validate the findings through *in vitro* experiments.

收稿日期: 2026-01-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82073388)

作者简介: 龙其河 (1996—), 男, 住院医师, 博士研究生, 研究方向为小细胞肺癌化疗耐药机制研究。E-mail: 792106428@qq.com

\*通信作者: 吴其标, 教授, 博士生导师, 研究方向为中医药抗肿瘤研究。E-mail: qbwu@must.edu.mo

苏文媚, 主任医师、研究员, 博士生导师, 研究方向为肺癌耐药机制研究。E-mail: suwenmei123@hotmail.com

**Methods** Potential targets of EGCG were predicted by searching the PubChem, Swiss Target Prediction, and Stitch databases. SCLC-related targets were obtained from the DrugBank, GeneCards, TTD, Omim, and PharmGkb databases. Intersection targets were identified using R4.3.1 software. A protein-protein interaction (PPI) network of potential targets of EGCG against SCLC was constructed using the STRING database. Three rounds of core target screening were performed using Cytoscape software. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analyses of the core targets were carried out using the “ClusterProfiler” package in R4.3.1 software. Molecular docking and molecular dynamics simulations were further employed to explore the potential mechanism of EGCG against SCLC. Human SCLC H82 and H562 cells were treated with gradient concentrations of EGCG. The expression levels of core target proteins were detected by Western blotting, and the effects of EGCG on apoptosis and cell cycle of SCLC cells were analyzed by flow cytometry. **Results** A total of 779 potential targets of EGCG and 29 599 SCLC-related targets were predicted, yielding 678 intersection targets. After further screening, four core targets were identified: E1A binding protein p300 (EP300), signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), Jun, and tumor protein p53 (TP53). GO and KEGG enrichment analyses indicated that EGCG may exert its therapeutic effects on SCLC through mechanisms such as the phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway, the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway, and proteoglycan regulation. Molecular docking results showed that the binding energies of EGCG with all four core targets were less than  $-8.7$  kcal/mol. Molecular dynamics simulations revealed that EGCG stably binds to all four core targets. In *in vitro* experiments, EGCG significantly reduced the expression levels of EP300, STAT3, and Jun proteins, but did not reduce the expression level of TP53 protein. Treatment with  $40 \mu\text{mol/L}$  EGCG induced cell cycle arrest at the G<sub>2</sub>/M phase and promoted apoptosis. **Conclusion** The therapeutic effect of EGCG on SCLC may be achieved through multiple targets and multiple pathways. **Key words:** epigallocatechin gallate; small cell lung cancer; E1A binding protein p300; signal transducer and activator of transcription 3; Jun; tumor protein p53

小细胞肺癌是一种生长迅速、早期易转移的侵袭性神经内分泌肿瘤，超过 2/3 的患者在确诊时已处于广泛期<sup>[1]</sup>。90% 的广泛期患者在初始治疗有效后一年内复发，对药物治疗产生耐药性，导致后续治疗手段匮乏，患者总体生存期较短<sup>[2]</sup>。

表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 作为绿茶多酚的主要活性成分，具有较强的抗氧化、抗炎和抗肿瘤活性。EGCG 可通过诱导细胞周期阻滞、促进凋亡，发挥抑制肿瘤细胞增殖的作用<sup>[3-4]</sup>；在抗血管生成中，EGCG 通过抑制肿瘤相关内皮细胞和内皮祖细胞的迁移，降低了黑色素瘤小鼠模型中的微血管密度<sup>[5]</sup>；还可抑制缺氧诱导因子-1 $\alpha$  和核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 的激活以及血管内皮生长因子 (VEGF) 表达来抑制小鼠乳腺肿瘤的血管生成和生长等<sup>[6]</sup>。EGCG 也参与了多种信号通路的调控，包括 EGFR/蛋白激酶 B (Akt) /胞外信号调节激酶 1/2 信号通路、NF- $\kappa$ B 和 VEGF 途径、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路等，从而调控细胞增殖与凋亡、发挥抗肿瘤血管形成等作用<sup>[3,7]</sup>。此外，EGCG 在增强化疗疗效和克服各种癌症的多重耐药性方面显示出巨大的潜力：EGCG 可提高多种化疗药物 (如阿霉素、顺铂和他莫昔芬) 在体内和体外对多种肿瘤的疗效<sup>[8]</sup>；同时，EGCG 可通过影响肿瘤微环境和改变信号转导途径来逆转耐药性；

在与化疗药物联合使用时，也体现出了协同效应，EGCG 通过抑制葡萄糖调节蛋白 78 表达、激活 NF- $\kappa$ B 通路和增加 miR-155-5p 水平来增强结直肠癌细胞对 5-氟尿嘧啶的敏感性，从而抑制多药耐药蛋白 1 表达并促进细胞凋亡<sup>[9]</sup>。研究显示，EGCG 可与 Ras-GTP 酶激活蛋白 SH3 结构域结合蛋白 1 (G3BP1) 以高亲和力结合从而抑制其功能；此外，EGCG 也可靶向 G3BP1 并通过 PI3K/Akt 信号通路下调 I 类主要组织相容性复合体阻碍免疫逃逸机制，促进对程序性死亡受体 1 治疗敏感性<sup>[10]</sup>。然而，EGCG 在小细胞肺癌中的作用尚未有报道。

网络药理学是从生物信息的角度研究药物、基因、靶点和疾病之间的相互作用，在中医药领域中应用较广，可为进一步的药理研究指明方向<sup>[11]</sup>。本研究结合网络药理学分析和分子对接的方法，分析 EGCG 在小细胞肺癌中的潜在治疗靶点及其机制，为小细胞肺癌治疗药物开发提供新思路。

## 1 材料

### 1.1 细胞与试剂

人小细胞肺癌 NCI-H82 和 NCI-H526 细胞获赠于西湖大学季红斌教授，RPMI 1640 培养基和胎牛血清购自美国 Gibico 公司；组织细胞裂解液 RIPA (货号 P0013B)、二喹啉甲酸 (BCA) 蛋白浓度测定试剂盒 (货号 P0012)、十二烷基硫酸钠 (SDS) -聚

丙酰胺凝胶电泳(PAGE)蛋白上样缓冲液 5×(货号 P0015)、细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒(货号 C1052)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗鼠免疫球蛋白 G(IgG, 货号 A0216)、HRP 标记的羊抗兔 IgG(货号 A0208)均购自碧云天生物技术有限公司; 免染 PAGE 凝胶快速制备试剂盒(货号 PG120、PG123)购自上海雅酶生物医药科技有限公司; Tris/甘氨酸/SDS 电泳缓冲液(10×)(TBST, 货号 T0040)、转膜缓冲液(10×)(货号 D1060)、聚山梨酯-20(货号 T8220)购自北京索莱宝科技有限公司; 聚偏二氟乙烯(PVDF)膜购自美国 Millipore 公司; Jun 鼠单抗(货号 63465)、信号转导及转录激活因子 3(STAT3)兔单抗(货号 69713)、p-STAT3 兔单抗(货号 4774)、p300 兔单抗(货号 52322)、p53 兔单抗(货号 71224)均购自合肥善本生物科技有限公司; EGCG(货号 HY-13653)购自美国 MCE 公司。

## 1.2 仪器

恒温二氧化碳细胞培养箱、3020-426 型多功能酶标仪(美国 Thermo 公司); Power Pac HC 电泳仪、Mini-PROTEAN® Tetra 电泳槽(美国 Bio-Rad 公司)、Tanon5200 成像系统(天能科技)、FongCyte™ S4 激光流式细胞仪(北京层浪生物科技有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 网络药理学

**2.1.1 药物有效成分 - 疾病靶点互作网络构建** 以“Epigallocatechin gallate”为关键词, 在 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) 中检索并获得其结构, 分别导入到 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 和 Stitch (<http://stitch.embl.de/>) 在线数据库, 得到 EGCG 作用靶点; 以“Epigallocatechin gallate”为关键词, 在 GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 中检索获得药物作用靶点<sup>[12]</sup>。通过 R4.3.1 整合以上 3 个数据库中的药物作用靶点, 取并集, 删除重复项, 得到 EGCG 作用靶点。

分别在 DrugBank (<https://go.drugbank.com/>)、GeneCards、TTD (<https://db.idrblab.net/ttd/>)、Ominn (<https://ominn.org/>) 和 Pharmgkb (<https://www.pharmgkb.org/>) 在线数据库中检索关键词“Small Cell Lung Cancer”, 获得小细胞肺癌潜在靶点, 通过 R4.3.1 整合以上 5 个数据库中的疾病靶点, 取并集, 删除重复项, 得到小细胞肺癌的相关靶点。

通过 R4.3.1 中 Venn 包整合上述获得的 EGCG 及小细胞肺癌靶点, 取交集, 获得 EGCG 治疗小细

胞肺癌的潜在靶点。

**2.1.2 蛋白质 - 蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建及核心靶点筛选** 在 STRING 数据库导入 2.1.1 项中得到的 EGCG 治疗小细胞肺癌的潜在靶点, 设置条件: “human”, 最低相互作用阈值“>0.9”; 导入 Cytoscape 3.8.2 构建 PPI 网络, 通过设置 CytoNCA 插件进行 3 次筛选, 前 2 次筛选设定中介中心性 > 74.579 572 440 065 7、接近性 > 0.016 832 889 707 954 5、度值 > 3、特征向量中心性 > 0.006 260 134 279 727 94、局部平均连通度 > 0.666 666 666 666 667、网络中心性 > 1.171 428 571 428 57 等, 第 3 次筛选提高参数阈值, 以中介中心性 > 60.433 075 886 410 8、接近性 > 0.251 989 389 920 424、度值 > 6、特征向量中心性 > 0.063 526 555 895 805 4、局部平均连通度 > 2.160 256 410 256 41、网络中心性 > 3.166 666 666 666 67 为筛选标准获得核心靶点, Cytoscape 3.8.2 软件将 PPI 网络可视化。

**2.1.3 富集分析** 利用 R4.3.1 中的“ClusterProfiler”软件包, 对上述核心靶点分别进行基因本体 (GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 信号通路富集分析。随后, 采用 R4.3.1 中“ggplot2”软件包对分析结果进行可视化处理, 分别将 GO 富集中生物过程 (BP)、细胞组分 (CC) 和分子功能 (MF) 最显著的前 10 个条目以及 KEGG 富集中最显著的前 30 条通路以气泡图形式呈现。最终, 通过 Cytoscape 3.8.2 构建“药物 - 疾病 - 靶点 - 通路”网络。

**2.1.4 分子对接** 从 PubChem 数据库获取 EGCG 的二维化学结构, 并利用 Chem3D 软件转化为三维结构; 核心靶点的三维晶体结构从 RCSB PDB 数据库中下载, 并通过 PyMol 2.5.7 进行预处理; 随后, 通过 Auto Dock Tools 1.5.6 进行分子对接, 利用 PyMol 2.5.7 软件将该最佳复合物构象进行三维可视化呈现。

**2.1.5 分子动力学模拟** 为进一步探究蛋白 - 配体相互作用的稳定性, 采用 CHARMM36 力场构建靶点蛋白的拓扑结构, 配体则使用 CHARMM 通用力场进行处理<sup>[13]</sup>。体系经过水化、氯离子中和后, 依次进行能量最小化、正则系综(恒定粒子数、体积和温度)平衡<sup>[14]</sup>与等温等压系综(恒定粒子数、压力和温度)平衡<sup>[15]</sup>, 随后进行分子动力学模拟。

轨迹分析聚焦于关键参数, 包括配体的均方根偏差 (RMSD)、蛋白残基的均方根涨落 (RMSF)、蛋白的回转半径 (Rg) 和溶剂可及表面积 (SASA)。

RMSD 值通常用于评估模拟体系是否达到稳定状态 (0.15~0.25 nm), RMSF 值反映体系的整体柔性, Rg 值反映分子的紧密度, 评估蛋白-配体结合的紧密程度, SASA 值反映蛋白质折叠特性与稳定性的重要参数<sup>[16]</sup>。轨迹可视化与数据计算通过 Chimera、Maestro、VMD 软件及 GROMACS 命令完成, 并绘制了残基 SASA 与 RMSF 分布图。

## 2.2 体外实验验证

**2.2.1 细胞培养** H82 和 H526 细胞生长于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养, 选取处于对数生长期的细胞进行实验。

**2.2.2 Western blotting** 以每孔 1×10<sup>6</sup> 细胞密度, 将 H82 和 H526 细胞接种至 6 孔板中, 次日予 0、10、20、40、60 μmol/L EGCG 溶液处理, 24 h 后收集细胞、提取细胞蛋白, 经 BCA 法标定蛋白浓度、100 °C 变性 10 min, 进行 SDS-PAGE 电泳 (80 V、40 min 后 120 V、60 min), 250 mA 冰浴转膜 90 min 至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉溶液室温封闭 1 h, 随后加入一抗 (1:1 000) 于 4 °C 冰箱孵育过夜, TBST 洗膜, 加入二抗 (1:5 000) 室温孵育 1 h, TBST 洗膜后显影成像。

**2.2.3 流式细胞术** 以每孔 1×10<sup>6</sup> 细胞密度, 将 H82 和 H526 细胞接种至 6 孔板中, 次日予 40 μmol/L EGCG 溶液处理, 24 h 后收集细胞, 进行细胞周期及细胞凋亡检测。

**2.2.4 统计学方法** 使用 Image J 软件处理蛋白条带图, 其灰度值及细胞周期和凋亡数据统计分析采用 Prism 8.1 软件处理, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 所有实验均重复 3 次以上, 两组间比较采用 *t* 检验, 以 *P*<0.05 为有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 药物有效成分-疾病靶点互作网络

从 Swiss Target Prediction 数据库获得 103 个靶点, Stitch 数据库仅识别出 1 个靶点, 而 GeneCards 数据库则包含 717 个相关靶点。在整合上述结果并进行去重处理后, 最终获得 779 个 EGCG 作用靶点, 见图 1A。从 DrugBank、GeneCards、OMIM、PharmGKB、TTD 数据库分别获得小细胞肺癌作用靶点 18、29 291、188、8、99 个, 整合上述结果并进行去重处理后, 共确定 29 599 个小细胞肺癌相关靶点 (图 1B)。对上述获得的靶点取交集, 共有 678 个共同靶点, 即 EGCG 治疗小细胞肺癌的潜在靶点 (图 1C)。

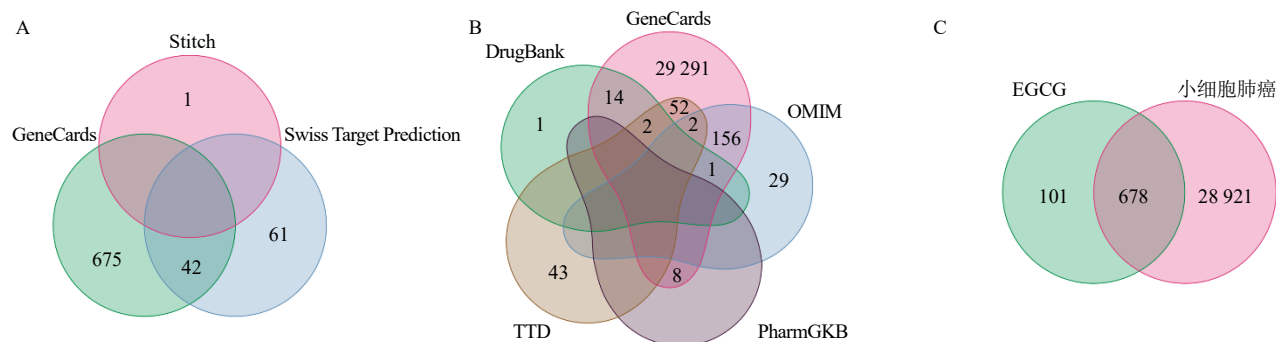


图 1 EGCG 作用靶点 (A)、小细胞肺癌相关靶点 (B) 和药物有效成分-疾病交集靶点 (C) 的韦恩图  
Fig. 1 Venn diagram of EGCG action targets (A), small cell lung cancer-related targets (B), and intersecting targets of active drug ingredients-disease (C)

### 3.2 PPI 网络构建及核心靶点筛选

PPI 网络包含 672 个节点和 779 条边, 平均节点度值为 2.32 (图 2A、2B)。进一步利用 Cytoscape 3.8.2 中的 CytoNCA 插件进行 3 次逐步筛选, 首次筛选获得 96 个靶点 (图 2C); 第 2 次筛选出 21 个靶点 (图 2D); 最后一次筛选提高参数阈值, 最终确定 4 个核心靶点, 分别为 E1A 结合蛋白 p300 (EP300)、STAT3、Jun 和肿瘤蛋白 p53 (TP53) (图 2E)。

### 3.3 富集分析

在 GO 富集分析中, 共得到与 BP 相关的条目 3 701 个, 主要包括氧化应激反应、外源刺激反应、腺体发育、上皮细胞增殖、细胞对化学应激的反应等; CC 相关的条目 173 个, 主要包括膜筏、膜微区、囊泡腔、脂质囊泡腔、分泌颗粒腔等; MF 相关的条目 314 个, 主要包括 DNA 结合转录因子结合、受体配体活性、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性、RNA

聚合酶 II 特异性 DNA 结合转录因子结合等，将排名前 10 位的通路进行可视化分析（图 3A）。

在 KEGG 富集分析中，共得到 206 条信号通路，主要包括脂质与动脉粥样硬化、PI3K/Akt 信号通路、丝裂原激活蛋白激酶（MAPK）信号通路、

癌症中蛋白聚糖等，将排名前 30 位的通路进行可视化分析（图 3B）。随后，通过 Cytoscape 3.8.2 软件将 4 个关键靶点和排名前 30 的 KEGG 信号通路进行可视化分析，绘制“EGCG - 小细胞肺癌 - 靶点 - 通路”网络图（图 3C）。

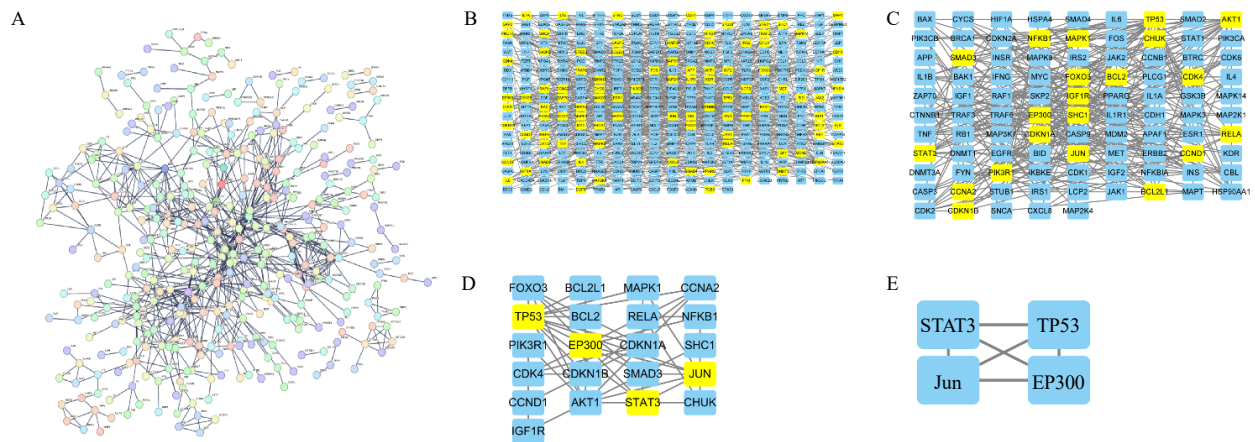


图 2 EGCG 治疗小细胞肺癌的作用机制网络分析 (A)、PPI 网络关联图 (B)、第 1 次筛选的 PPI 网络图 (C)、第 2 次筛选的 PPI 网络图 (D)、第 3 次筛选的核心靶点 (E)

Fig. 2 Network analysis of the mechanism underlying EGCG in treatment of small cell lung cancer (A), PPI network correlation diagram (B), PPI network after initial screening (C), PPI network after secondary screening (D), PPI network after secondary screening (E)

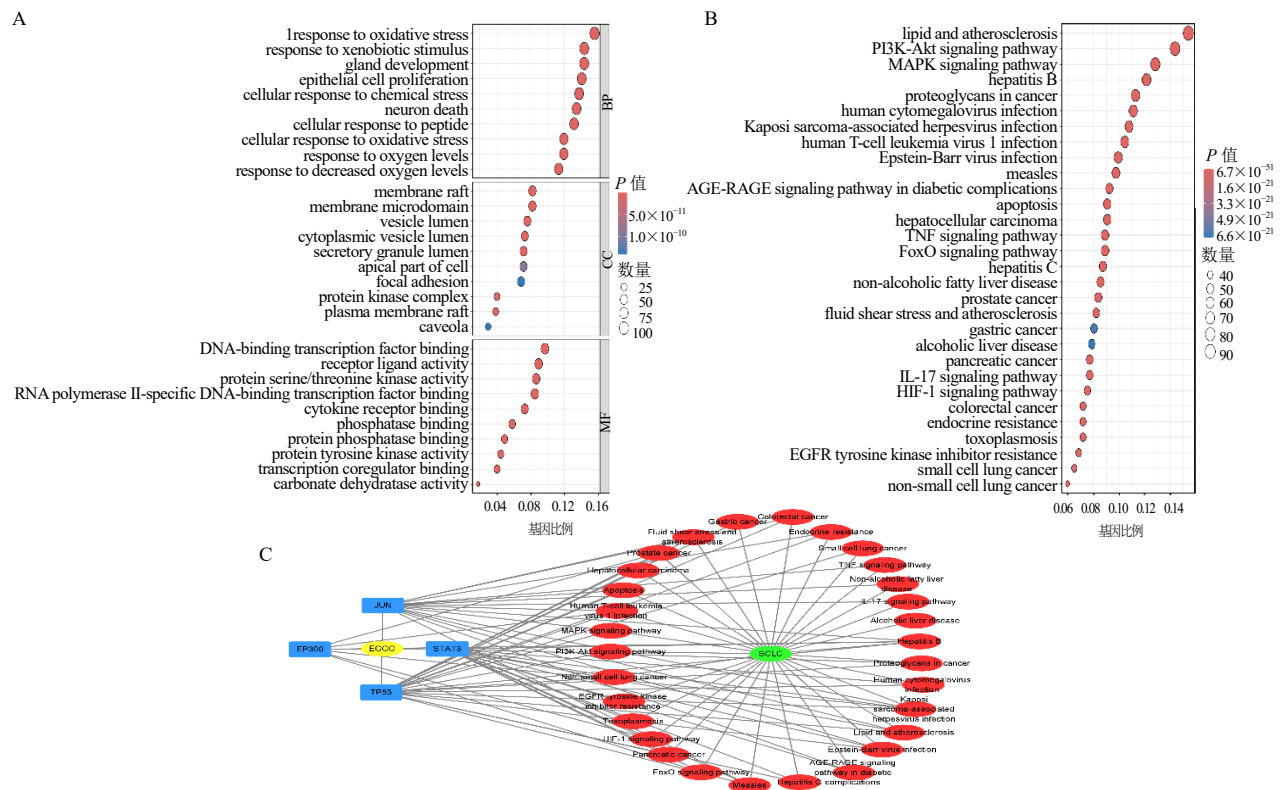


图 3 GO 富集分析 (A)、KEGG 信号通路富集分析 (B)、“EGCG - 小细胞肺癌 - 靶点 - 通路”网络图 (C)  
Fig. 3 GO enrichment analysis (A), KEGG signaling pathway enrichment analysis (B), “EGCG-SCLC-target-pathway” network diagram (C)

### 3.4 分子对接

分子对接结果显示, EGCG 与 4 个核心靶点 (EP300、STAT3、Jun、TP53) 均表现出较强的结合能力, 其结合自由能分别为-9.9、-9.7、-8.7、-9.2 kcal/mol (1 cal=4.2 J), 表明 EGCG 与 4 个核心靶点的相互作用比较稳定; 随后利用 PyMOL 软件对最低能量结合构象进行可视化分析 (图 4)。

### 3.5 分子动力学模拟

如图 5A 所示, 所有复合物的 RMSD 值在 90 ns 后均进入稳定范围, 表明蛋白-配体相互作用在生理环境中保持相对稳定。图 5B 显示所有复合物的 RMSF 值均维持在 0.1~0.5 nm。图 5C 表明所有复合物的 Rg 值在模拟过程中保持稳定, 分布于 2.00~20.5 nm。所有复合物的 SASA 值同样呈现稳定状

态, 平均分别达到 190~210 nm<sup>2</sup> (图 5D)。表明 EGCG 与所有核心靶点均形成了稳定复合物。

### 3.6 体外实验验证

如图 6 所示, EGCG 处理可显著降低 EP300、STAT3 蛋白水平, 且呈剂量相关性; 高浓度 (40、60 μmol/L) EGCG 处理可显著降低 Jun 蛋白水平, 而低浓度 (10、20 μmol/L) EGCG 处理降低不显著; EGCG 处理对 Tp53 蛋白水平影响并不显著。因此, 本研究采用 40 μmol/L EGCG 探讨其对 H82 和 H526 细胞的细胞凋亡和细胞周期的影响。

如图 7 所示, 40 μmol/L EGCG 促进了小细胞肺癌细胞的凋亡; 处于 S 期的细胞比例显著降低, G<sub>2</sub>/M 期细胞显著增加, 说明 EGCG 处理可能引起 H82 和 H526 细胞周期阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期。

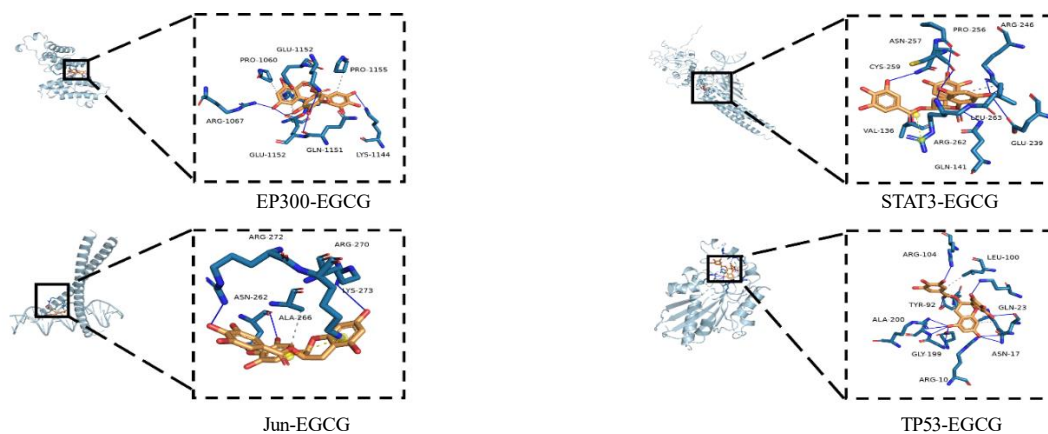


图 4 EGCG 与核心靶点的分子对接模式图

Fig. 4 Molecular docking pattern diagram of EGCG and core targets

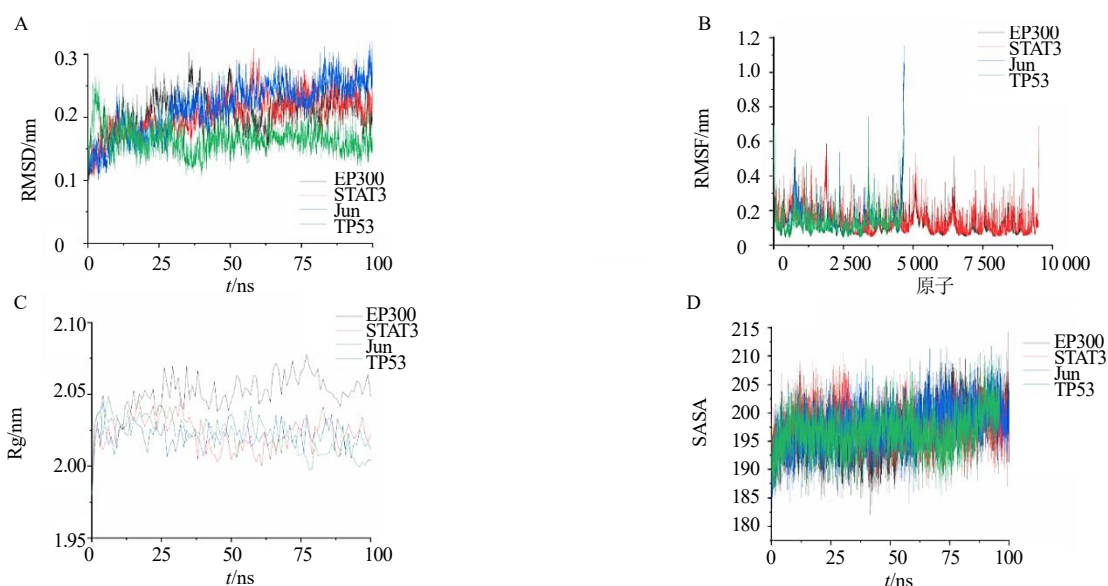


图 5 EGCG 与核心靶点形成复合物的 RMSD 值 (A)、RMSF 值 (B)、Rg 值 (C)、SASA 值 (D)

Fig. 5 RMSD values (A), RMSF values (B), Rg values (C), and SASA values (D) of the complexes formed by EGCG and core targets

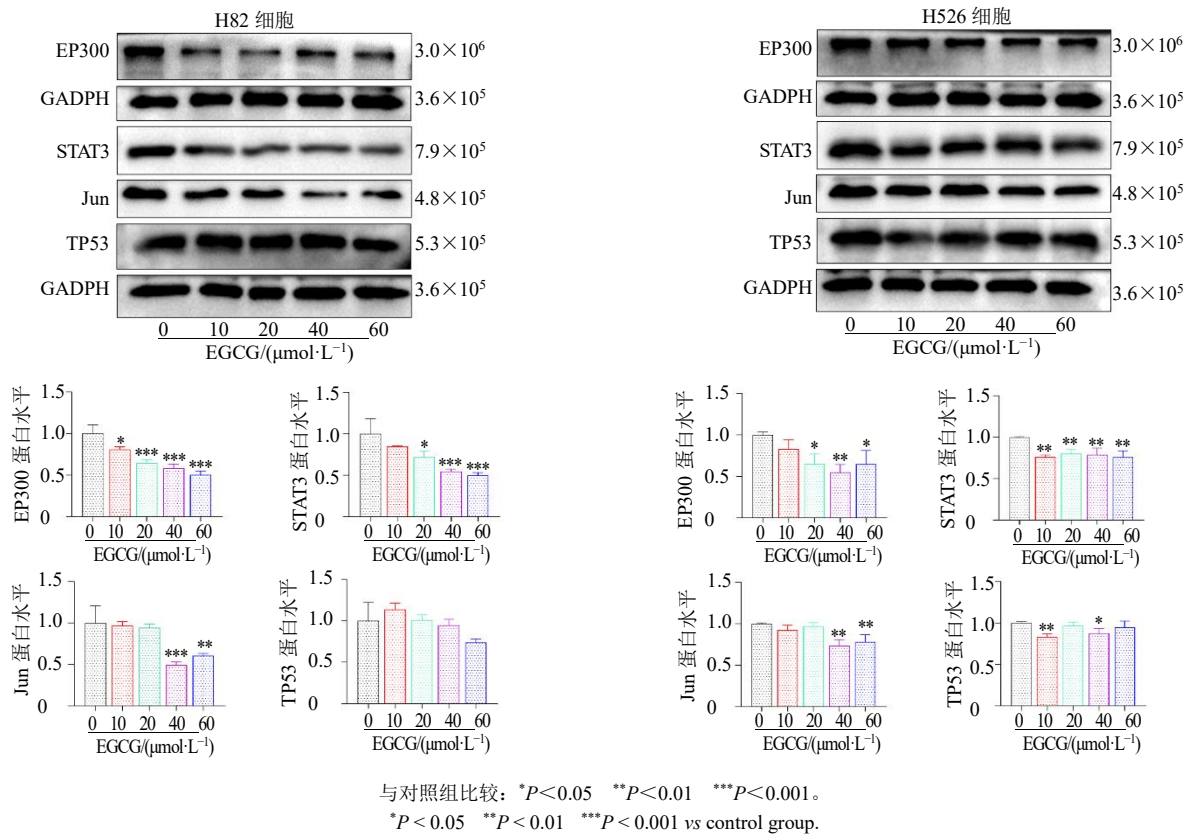


图 6 不同浓度 EGCG 对 H82 (A) 和 H526 (B) 细胞核心靶点的蛋白表达水平 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 6 Protein expression levels of core targets in H82 (A) and H526 (B) cells treated with different concentrations of EGCG ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

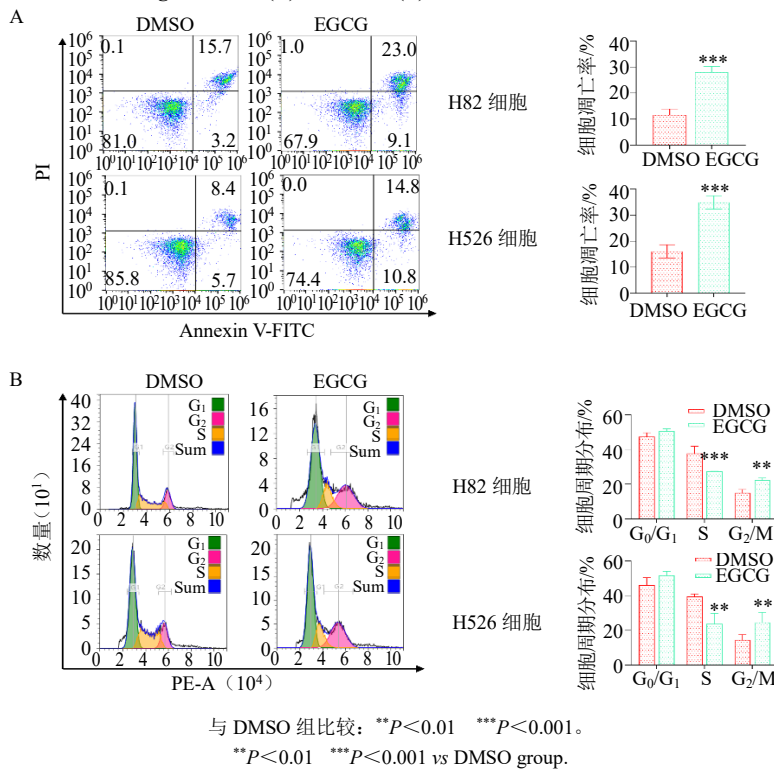


图 7 EGCG 对 H82 和 H526 细胞的细胞凋亡 (A) 和细胞周期 (B) 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 7 Effects of EGCG on cell apoptosis (A) and cell cycle (B) in H82 and H526 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

#### 4 讨论

本研究基于网络药理学方法，系统筛选了 EGCG 与小细胞肺癌的潜在作用靶点，并综合 PPI 网络构建、GO 和 KEGG 信号通路富集分析、“药物-疾病-靶点-通路”多层网络分析、分子对接以及分子动力学模拟，系统分析了 EGCG 干预小细胞肺癌的潜在分子机制。研究结果显示，共有 678 个 EGCG 可能作用于小细胞肺癌的潜在靶点，提示 EGCG 在小细胞肺癌中具有多靶点抗肿瘤潜力。通过 Cytoscape 网络拓扑分析，筛选出 EP300、STAT3、Jun 和 TP53 共 4 个核心靶点。进一步通过分子对接显示，EGCG 与 4 个核心靶点均表现出较强的结合活性，其结合能均低于  $-8.7 \text{ kcal/mol}$ ，表明 EGCG 能够稳定地与上述靶点结合；分子动力学模拟亦证实这一点。在体外实验中，EGCG 处理可显著降低 EP300、STAT3、Jun 在小细胞肺癌细胞中的蛋白表达水平；而高浓度的 EGCG 处理显著促进了小细胞肺癌细胞周期阻滞和细胞凋亡，体现了 EGCG 在治疗小细胞肺癌中的潜在能力。

TP53 在小细胞肺癌的发生、发展及治疗耐药中具有重要的作用。研究表明，中国小细胞肺癌患者 TP53 的突变率高达 93.4%~94.0%，小细胞肺癌遗传不稳定性和高突变负荷的特征之一，在小细胞肺癌神经内分泌分化和致癌过程中具有重要作用<sup>[17-18]</sup>；TP53 功能丧失可使细胞凋亡和细胞周期控制失调，致使细胞生长失去控制<sup>[19]</sup>；此外，TP53 突变也是小细胞肺癌对多种治疗耐药的重要原因<sup>[20]</sup>。在本研究中，EGCG 处理并未能显著调控小细胞肺癌细胞 TP53 蛋白表达水平，可能与其普遍突变或失活状态有关。

EP300 作为关键的转录共激活因子，已知广泛参与细胞增殖与分化调控。值得注意的是，EP300 基因突变率在小细胞肺癌等多种癌症中较高，其乙酰转移酶功能域的突变已被证实可在小鼠模型中促进肿瘤生长，提示该靶点在小细胞肺癌发病机制中具有重要功能。同时，EP300 的激酶诱导结构域相互作用 (KIX) 结构域与 MYB 等转录因子的相互作用，对促进小细胞肺癌的发展进程至关重要，而阻断这些相互作用可以有效抑制小细胞肺癌的生长，表明 KIX 结构域是治疗干预的潜在靶点<sup>[21]</sup>。新型 EP300 抑制剂 A485 可显著抑制多种细胞增殖，并促进其凋亡<sup>[22]</sup>。本研究中，EGCG 显著下调了小细胞肺癌细胞中 EP300 的蛋白表达水平，可能促进细胞凋亡。

STAT 是细胞质转录因子的一个家族，STAT3 的过表达在肿瘤细胞增殖、免疫逃逸、转移等进程中发挥重要作用。超过 50% 小细胞肺癌中存在 STAT3 过表达，在小鼠体内，STAT3 的缺失有效抑制了原发肿瘤的生长，但也会引起 STING 通路的失活，导致 I 型干扰素 (IFN) 分泌减少和 IFN 基因特征受损，小鼠抗肿瘤免疫力降低，促进转移扩散，体现了 STAT3 在促进小细胞肺癌原发性肿瘤生长和维持防止转移的免疫监视机制中发挥双重作用<sup>[23]</sup>。STAT3 可通过上调抗凋亡蛋白促进细胞存活，而抑制 STAT3 可通过线粒体途径诱导细胞凋亡；此外，STAT3 还可上调细胞周期蛋白 D1、c-Myc 及其他细胞周期基因，促进细胞 G<sub>1</sub>/S 期转换<sup>[24]</sup>。本研究中，EGCG 可显著下调小细胞肺癌细胞中 STAT3 蛋白水平，可能通过此作用调控细胞周期及细胞凋亡。

转录因子 Jun，特别是其家族成员 c-Jun、Jun B 和 Jun D 是激活蛋白 1 转录因子复合物的一部分，该复合物参与调节各种细胞过程，包括增殖、分化、细胞凋亡和血管生成，在肿瘤发生和肿瘤进展中起重要作用<sup>[25-26]</sup>，值得注意的是，即使在小细胞肺癌中激活蛋白 1 转录因子复合物活性较低，调控其组成成分仍可进一步调控小细胞肺癌细胞增殖和凋亡<sup>[27]</sup>。其中，c-Jun 是细胞凋亡和细胞周期基因的关键调节因子，其可通过诱导细胞周期蛋白 D1 转录和 G<sub>1</sub>/S 期进程，促进细胞增殖；而这些作用可被 Jun B 所抑制<sup>[25, 28]</sup>。本研究中，EGCG 下调了小细胞肺癌细胞中 Jun 蛋白表达；EGCG 处理也使细胞阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期，促进细胞凋亡，其机制是否通过下调 c-Jun 蛋白实现，仍有待探索。

综上所述，EP300、STAT3、Jun 和 TP53 这 4 个关键靶点可能在细胞增殖、凋亡、肿瘤血管生成以及免疫逃逸等多种生理与病理过程中共同调节小细胞肺癌的恶性进展。

GO 富集分析表明，EGCG 的作用位置可能广泛分布于细胞核与细胞质等不同亚细胞区域，其分子机制涉及 DNA 结合转录因子结合、受体配体活性、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性以及 RNA 聚合酶 II 特异性 DNA 结合转录因子结合等多种分子交互过程。同时，EGCG 还可能参与调控氧化应激反应、外界刺激应答、腺体发育、上皮细胞增殖以及细胞对化学应激的反应等多个关键生物学进程，提示 EGCG 可通过影响多种结合反应及细胞内信号转导过程，发挥抗肿瘤作用。KEGG 信号通路富集分析

结果显示, EGCG 的抗肿瘤机制与多种疾病相关通路密切相关, 主要包括脂质与动脉粥样硬化、PI3K/Akt 信号通路、MAPK 信号通路以及癌症中的蛋白聚糖调控等。其中, 脂质代谢重编程是恶性肿瘤的重要特征之一, 肿瘤细胞中脂质摄取、储存及合成过程的显著上调, 可进一步促进肿瘤的生长、侵袭与迁移行为<sup>[29-30]</sup>。甲羟戊酸通路是细胞中合成胆固醇和萜类化合物的关键代谢途径, 他汀类药物可通过靶向甲羟戊酸-香叶基香叶基二磷酸通路逆转小细胞肺癌化疗耐药性<sup>[31]</sup>。另一项研究显示, 抑制丝裂原活化蛋白激酶 5/细胞外调节蛋白激酶 5 轴可增强他汀类药物对甲羟戊酸途径的抑制作用, 发挥协同抗肿瘤作用<sup>[32]</sup>。PI3K/Akt 信号通路的异常激活与多种疾病的发生发展密切相关, 在耐药小细胞肺癌肿瘤样本及细胞株中, 检测到了 PI3K/Akt 信号通路的持续激活, 使用 PI3K 抑制剂能够有效杀伤化疗耐药小细胞肺癌细胞<sup>[33]</sup>。细胞内信号通路是一个复杂多样的系统, 存在相互串扰等情况, 并不是孤立地发挥作用。TP53 广泛参与了多种信号通路的调控, 而由于其在小细胞肺癌中广泛突变/失活, 且通过 EGCG 处理未能显著改变其蛋白表达水平, 因此, 本研究中, EGCG 治疗小细胞肺癌的机制可能通过其它途径实现。EP300、Jun 在上述途径中研究较少, 其具体机制仍需进一步探讨。STAT3 可持续激活 PI3K/Akt 信号通路、MAPK 信号通路等, 促进小细胞肺癌化疗耐药<sup>[24, 34]</sup>; 这两条通路相互关联, 并可能相互影响对方的活动。例如, PI3K/Akt 通路可以调节 MAPK 信号, 反之亦然; 同时, 它们调控癌症脂质代谢的重要途径<sup>[35-36]</sup>。说明 EGCG 治疗小细胞肺癌可能是多靶点、多通路的过程。

然而, 由于口服 EGCG 的生物利用度较低, 难以通过口服的方式达到有效血药浓度, 这也是制约 EGCG 临床使用的一大痛点<sup>[37]</sup>。值得一提的是, 目前已有多种药物改造方法应用于提高 EGCG 的生物利用度和靶向性上, 且获得了显著的效果<sup>[38-39]</sup>。

综上所述, EGCG 可能通过作用于 EP300、STAT3、Jun 和 TP53 这些关键靶点, 进而调控下游信号通路, 从而在治疗小细胞肺癌过程中发挥潜在药理作用。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

[1] Sabari J K, Lok B H, Laird J H, *et al.* Unravelling the

biology of SCLC: Implications for therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(9): 549-561.

[2] Keller L, Pantel K. Unravelling tumour heterogeneity by single-cell profiling of circulating tumour cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(10): 553-567.

[3] Cerezo-Guisado M I, Zur R, Lorenzo M J, *et al.* Implication of Akt, ERK1/2 and alternative p38 MAPK signalling pathways in human colon cancer cell apoptosis induced by green tea EGCG [J]. *Food Chem Toxicol*, 2015, 84: 125-132.

[4] Ma Y C, Li C, Gao F, *et al.* Epigallocatechin gallate inhibits the growth of human lung cancer by directly targeting the EGFR signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(3): 1343-1349.

[5] Ohga N, Hida K, Hida Y, *et al.* Inhibitory effects of epigallocatechin-3 gallate, a polyphenol in green tea, on tumor-associated endothelial cells and endothelial progenitor cells [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(10): 1963-1970.

[6] Gu J W, Makey K L, Tucker K B, *et al.* EGCG, a major green tea catechin suppresses breast tumor angiogenesis and growth via inhibiting the activation of HIF-1 $\alpha$  and NF $\kappa$ B, and VEGF expression [J]. *Vasc Cell*, 2013, 5(1): 9.

[7] Gao F, Li M, Liu W B, *et al.* Epigallocatechin gallate inhibits human tongue carcinoma cells via HK2-mediated glycolysis [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(3): 1533-1539.

[8] Zhang T Y, Li N N, Wang R, *et al.* Enhanced therapeutic efficacy of doxorubicin against multidrug-resistant breast cancer with reduced cardiotoxicity [J]. *Drug Deliv*, 2023, 30: 2189118.

[9] La X Q, Zhang L C, Li Z Y, *et al.* (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) enhances the sensitivity of colorectal cancer cells to 5-FU by inhibiting GRP78/NF- $\kappa$ B/miR-155-5p/MDR1 pathway [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(9): 2510-2518.

[10] Zheng X C, Chen J W, Deng M H, *et al.* G3BP1 and SLU7 jointly promote immune evasion by downregulating MHC-I via PI3K/Akt activation in bladder cancer [J]. *Adv Sci*, 2024, 11(7): 2305922.

[11] 廖韵诺, 赵凯丽, 郭宏伟. 中药网络药理学的应用与挑战 [J]. *中草药*, 2024, 55(12): 4204-4213.

[12] 林炯, 刘燊, 于丽丽, 等. 基于网络药理学及分子对接探讨柴胡皂苷 d 治疗鼻咽癌的作用机制 [J]. *现代药物与临床*, 2025, 40(6): 1355-1362.

[13] Croitoru A, Park S J, Kumar A, *et al.* Additive CHARMM36 force field for nonstandard amino acids [J]. *J Chem Theory Comput*, 2021, 17(6): 3554-3570.

[14] Lamas C P, Sanz E, Vega C, *et al.* Estimation of bubble cavitation rates in a symmetrical Lennard-Jones mixture by NVT seeding simulations [J]. *J Chem Phys*, 2023, 158(12):

- 124109.
- [15] Khoiroh I, Lee S Y, Pirdashti M, *et al.* Insight into structural properties of polyethylene glycol monolaurate in water and alcohols from molecular dynamics studies [J]. *RSC Adv*, 2020, 10(37): 21760-21771.
- [16] Tranchant E E, Pesce F, Jacobsen N L, *et al.* On the use of dioxane as reference for determination of the hydrodynamic radius by NMR spectroscopy [J]. *Biophys J*, 2024, 123(21): 3759-3770.
- [17] Hu J, Wang Y, Zhang Y, *et al.* Comprehensive genomic profiling of small cell lung cancer in Chinese patients and the implications for therapeutic potential [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(9): 4338-4347.
- [18] Keogh A, Finn S, Radonic T. Emerging biomarkers and the changing landscape of small cell lung cancer [J]. *Cancers*, 2022, 14(15): 3772.
- [19] Megyesfalvi Z, Gay C M, Popper H, *et al.* Clinical insights into small cell lung cancer: Tumor heterogeneity, diagnosis, therapy, and future directions [J]. *CA Cancer J Clin*, 2023, 73(6): 620-652.
- [20] Jeong M, Kim K B. Recent research on role of p53 family in small-cell lung cancer [J]. *Cancers*, 2025, 17(7): 1110.
- [21] Kim K B, Kabra A, Kim D W, *et al.* KIX domain determines a selective tumor-promoting role for EP300 and its vulnerability in small cell lung cancer [J]. *Sci Adv*, 2022, 8(7): eab14618.
- [22] Zhang B J, Chen D, Liu B, *et al.* A novel histone acetyltransferase inhibitor A485 improves sensitivity of non-small-cell lung carcinoma cells to TRAIL [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 175: 113914.
- [23] Guanizo A C, Luong Q, Jayasekara W S N, *et al.* A STAT3-STING-IFN axis controls the metastatic spread of small cell lung cancer [J]. *Nat Immunol*, 2024, 25(12): 2259-2269.
- [24] Hu Y M, Dong Z G, Liu K D. Unraveling the complexity of STAT3 in cancer: Molecular understanding and drug discovery [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43(1): 23.
- [25] Jafri Z, Li Y, Zhang J W, *et al.* Jun, an oncological foe or friend [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(2): 555.
- [26] Gurzov E N, Bakiri L, Alfaro J M, *et al.* Targeting c-Jun and Jun B proteins as potential anticancer cell therapy [J]. *Oncogene*, 2008, 27(5): 641-652.
- [27] Risse-Hackl G, Adamkiewicz J, Wimmel A, *et al.* Transition from SCLC to NSCLC phenotype is accompanied by an increased TRE-binding activity and recruitment of specific AP-1 proteins [J]. *Oncogene*, 1998, 16(23): 3057-3068.
- [28] Leaner V D, Kinoshita I, Birrer M J. AP-1 complexes containing c-Jun and Jun B cause cellular transformation of Rat1a fibroblasts and share transcriptional targets [J]. *Oncogene*, 2003, 22(36): 5619-5629.
- [29] Glaysher J. Lipid metabolism and cancer [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2013, 24(6): 530-531.
- [30] Cheng C M, Geng F, Cheng X, *et al.* Lipid metabolism reprogramming and its potential targets in cancer [J]. *Cancer Commun*, 2018, 38(1): 27.
- [31] Guo C C, Wan R J, He Y Y, *et al.* Therapeutic targeting of the mevalonate-geranylgeranyl diphosphate pathway with statins overcomes chemotherapy resistance in small cell lung cancer [J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(5): 614-628.
- [32] Cristea S, Coles G L, Hornburg D, *et al.* The MEK5-ERK5 kinase axis controls lipid metabolism in small-cell lung cancer [J]. *Cancer Res*, 2020, 80(6): 1293-1303.
- [33] Jin Y, Chen Y M, Tang H R, *et al.* Activation of PI3K/Akt pathway is a potential mechanism of treatment resistance in small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(3): 526-539.
- [34] Park E, Park J, Han S W, *et al.* NVP-BKM120, a novel PI3K inhibitor, shows synergism with a STAT3 inhibitor in human gastric cancer cells harboring KRAS mutations [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(4): 1259-1266.
- [35] Jiang M Y, Zhang K, Zhang Z W, *et al.* PI3K/Akt/mTOR axis in cancer: From pathogenesis to treatment [J]. *MedComm*, 2025, 6(8): e70295.
- [36] Yuan X H, Yu S L, Lin L, *et al.* Brusatol inhibits malignant phenotypes and lipid metabolism of osteosarcoma cells by regulating PI3K/Akt and MAPK pathways [J]. *Phytomedicine*, 2025, 139: 156464.
- [37] Zhang S, Mao B, Cui S, *et al.* Absorption, metabolism, bioactivity, and biotransformation of epigallocatechin gallate [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2024, 64(19): 6546-6566.
- [38] Zhang M Y, Su Y J, Li J H, *et al.* Fabrication of phosphatidylcholine-EGCG nanoparticles with sustained release in simulated gastrointestinal digestion and their transcellular permeability in a Caco-2 monolayer model [J]. *Food Chem*, 2023, 437(Pt 1): 137580.
- [39] Wang L, Huang X, Jing H J, *et al.* Bilosomes as effective delivery systems to improve the gastrointestinal stability and bioavailability of epigallocatechin gallate (EGCG) [J]. *Food Res Int*, 2021, 149: 110631.