

基于网络拓扑学、Bulk转录组学和空间转录组学探究绿茶多酚抗胰腺癌的分子机制



杨 扬¹, 杨 洁², 郭保良³, 季纤慧¹, 代子璿¹, 张志睿⁴, 杜 娟⁵

1. 甘肃中医药大学针灸推拿学院 (兰州 730101)
2. 甘肃中医药大学第一临床医学院 (兰州 730000)
3. 甘肃中医药大学中医临床学院 (兰州 730101)
4. 湖北医药学院第一临床学院 (湖北十堰 442000)
5. 甘肃中医药大学护理学院 (兰州 730000)

【摘要】目的 基于网络拓扑学、Bulk 转录组学和空间转录组学探究绿茶多酚抗胰腺癌 (pancreatic adenocarcinoma, PAAD) 的分子机制。**方法** 利用网络拓扑学分析绿茶多酚抗 PAAD 的潜在作用靶点, 基于 BEST 平台和 GSCA 数据库评估靶基因的富集通路和肿瘤免疫微环境, 通过 SpatialTME 数据库探究靶基因的空间作用机制。**结果** 绿茶多酚能够通过多条通路和多靶点干预 PAAD 的发生发展。靶基因表达水平与受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinase, RTK) 信号通路呈显著正相关关系。此外, 靶基因表达与中性粒细胞 (neutrophil)、辅助性 T 细胞 2 型 (T helper 2 cell, Th2) 和初始 CD4 阳性 T 淋巴细胞 (naive CD4-positive T lymphocyte, CD4_naive) 浸润丰度呈显著负相关关系 ($P < 0.05$), 而与黏膜相关恒定 T 细胞 (mucosal-associated invariant T cells, MAIT)、CD4 阳性 T 淋巴细胞 (CD4-positive T lymphocyte, CD4_T) 和 1 型调节性 T 细胞 (type 1 regulatory T cell, Tr1) 等丰度呈显著正相关关系 ($P < 0.05$)。靶基因在免疫治疗抗程序性细胞死亡蛋白 1 (programmed cell death protein 1, PD-1) 和抗 PD-1/程序性死亡配体 1 (PD-1/programmed death-ligand 1, PD-1/PD-L1) 队列中能够显著区分有反应者和无反应者。**结论** 本研究揭示了绿茶多酚干预 PAAD 的组织定位机制, 提示靶基因有望作为 PAAD 的肿瘤标志物, 对其临床诊断和治疗具有重要意义。

【关键词】 绿茶多酚; 胰腺癌; 网络拓扑学; Bulk 转录组学; 空间转录组学; 免疫微环境

【中图分类号】 R 735.9 **【文献标识码】** A

Exploring the molecular mechanisms of green tea polyphenols against pancreatic adenocarcinoma based on network topology, Bulk transcriptomics and spatial transcriptomics

YANG Yang¹, YANG Jie², GUO Baoliang³, JI Xianhui¹, DAI Ziyun¹, ZHANG Zhirui⁴, DU Juan⁵

1. College of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730101, China

2. First School of Clinical Medical, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

DOI: 10.12173/j.issn.1004-4337.202505054

通信作者: 杜娟, 硕士研究生导师, Email: yy120051118@foxmail.com

<https://slyyx.whuznhmedj.com/>

3. School of Clinical Chinese Medicine, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730101, China

4. First School of Clinical Medicine, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, Hubei Province, China

5. School of Nursing, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Corresponding author: DU Juan, Email: yyl20051118@foxmail.com

【Abstract】Objective To explore the molecular mechanisms of green tea polyphenols against pancreatic adenocarcinoma (PAAD) based on network topology, Bulk transcriptomics and spatial transcriptomics. **Methods** Network topology was used to analyze the potential targets of green tea polyphenols against PAAD. The enrichment pathways of target genes and the tumor immune microenvironment were evaluated based on the BEST platform and the GSCA database. The spatial mechanism of target genes was explored through the SpatialTME database. **Results** Green tea polyphenols can intervene in the pathogenesis and progression of PAAD through multiple pathways and targets. The high expression of target genes showed a significant positive correlation with the receptor tyrosine kinase (RTK) signaling pathway. Target genes expression was significantly negatively correlated with the abundance of neutrophils, T helper 2 cells (Th2) and naive CD4-positive T lymphocytes (CD4_naive) ($P<0.05$), while showing a significant positive correlation with the abundance of mucosal-associated invariant T cells (MAIT), CD4-positive T lymphocytes (CD4_T) and type 1 regulatory T cells (Tr1), etc ($P<0.05$). The target genes could significantly distinguish responders and non-responders in immunotherapy cohorts receiving anti-programmed cell death protein 1 (PD-1) and anti-PD-1/programmed death-ligand 1 (PD-1/PD-L1) treatments. **Conclusion** This study revealed the tissue localization mechanism of green tea polyphenols' intervention in PAAD. The target genes are expected to serve as tumor markers for PAAD, which is of great significance for its clinical diagnosis and treatment.

【Keywords】 Green tea polyphenols; Pancreatic adenocarcinoma; Network topology; Bulk transcriptomics; Spatial transcriptomics; Immune microenvironment

胰腺癌 (pancreatic adenocarcinoma, PAAD) 是一种常见的消化系统恶性肿瘤, 发病率和死亡率在全球范围内呈上升趋势^[1-2]。由于 PAAD 早期诊断难、发展迅速且恶性程度高, 患者的预后较差, 其 5 年生存率低于 10%, 给全球公共卫生和经济带来了巨大的负担^[3-5]。临床上, 仅 15%~20% 的 PAAD 患者在诊断时满足手术指征, 且治疗获益有限^[6]。化疗是晚期 PAAD 患者首选的治疗方法, 主要是以吉西他滨为基础的方案和 FOLFIRINOX 方案 (奥沙利铂 + 伊立替康 + 亚叶酸钙 + 5-氟尿嘧啶)^[7]。尽管 PAAD 的生物学研究取得较大进展, 且在临床转化方面也取得了一定的成果, 如聚 ADP-核糖聚合酶抑制剂、KRAS 靶向疗法和免疫疗法已使一些患者群体获得益处^[8], 但仍存在疗效有限和耐药的问题。因此, 开发和验证更有效的个性化疗法以干预 PAAD 的发生发展具有重要意义。

绿茶多酚作为茶叶中的主要活性成分, 具有丰富的化学结构多样性, 包括表没食子儿茶素没

食子酸酯 (epigallocatechin gallate, EGCG)、表儿茶素没食子酸酯 (epicatechin gallate, ECG)、表没食子儿茶素 (epigallocatechin, EGC)、表儿茶素 (epicatechin, EC) 和儿茶素 (catechin) 等多种异构体形式^[9-11]。现代药理学研究表明, 这类化合物可以通过多途径发挥生物活性, 在疾病预防方面显示出显著的癌症预防作用和心血管保护效应^[12-13]; 在分子机制层面, 其强大的自由基清除能力和炎症因子调控特性构成了重要的细胞保护机制^[14-15]。近年来, 有研究进一步揭示了绿茶多酚在肿瘤治疗中的协同增效作用, 例如其可通过调节药物代谢酶活性增强传统化疗药物的疗效^[16]。基于其多重生物活性特征, 绿茶多酚已从传统饮品成分发展为功能性食品和膳食补充剂的重要原料, 并在营养健康领域被广泛应用^[17]。本研究基于网络拓扑学、混合细胞群体 (Bulk) 转录组学和空间转录组学, 并综合多个生物信息学数据库信息, 探究绿茶多酚与 PAAD 靶基因间的作用关系, 以为绿茶多酚的临床应用提供参考。

1 资料与方法

1.1 数据获取与标准化注释

基于文献系统检索,并参考已有相关研究^[18],本研究共整合了 5 种绿茶多酚及其调控的 56 种差异表达的肠道菌群代谢物。通过人类代谢数据库 (Human Metabolome Database, HMDB)^[19] (<https://hmdb.ca/>)、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 数据库^[20] (<https://www.genome.jp/kegg/>) 和 PubChem 数据库^[21] (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 对代谢物进行多维度标准化注释,从而建立完整的化合物特征数据库。

1.2 网络拓扑学

利用 PubChem 和 ChemSpider 数据库^[22] (<https://www.chemspider.com/>) 获取目标化合物的 SMILES 结构式,并通过 Similarity ensemble approach (SEA) 数据库^[23] (<https://sea.bkslab.org>) 预测绿茶多酚的潜在作用靶点。在 GeneCards 数据库^[24] (<https://www.genecards.org/>) 中采用布尔逻辑检索 ("pancreatic cancer" OR "Cancer of the pancreas" OR "Pancreatic malignancy") 筛选 PAAD 相关靶点,同时参考相关文献^[25-26],综合考虑靶点的代表性与特异性,设定 Relevance score ≥ 50 为筛选阈值。经韦恩分析后获取绿茶多酚与 PAAD 的交集靶点,利用 STRING 数据库^[27] (<https://cn.string-db.org/>) 构建 Homo sapiens 物种的蛋白质互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络,设置置信度阈值为 0.400。进一步对目标基因集进行基因本体论 (Gene Ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析。GO 分析从生物过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF) 和细胞组分 (cellular component, CC) 三个层面阐释基因功能;KEGG 分析用于揭示基因参与的关键信号通路及代谢途径。采用超几何分布检验,以错误发现率 (FDR) < 0.05 为阈值筛选显著富集条目,从而系统解析其生物学意义。

1.3 Bulk转录组学

1.3.1 通路调控机制分析

基于 BEST 平台^[28] (https://github.com/ixxmu/mp_duty/issues/2408) 使用过表达分析法 (over

representation analysis, ORA) 对靶基因进行富集分析,并筛选显著通路。参照文献^[29-30]方法,通过 GSCA 数据库 (<https://guolab.wchscu.cn/GSCA/>) 选取其整合的 10 条核心肿瘤通路 (TSC/mTOR、RTK、RAS/MAPK、PI3K/AKT、Hormone ER、Hormone AR、EMT、DNA Damage Response、Cell Cycle 和 Apoptosis pathways),进行靶基因集的相关性分析。进一步采用基因集变异分析 (Gene Set Variation Analysis, GSVA) 分别量化靶基因集和 10 条核心肿瘤通路在癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) (<https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>) PAAD 样本中的富集分数,以评估靶基因集的活性与各核心肿瘤通路活性在样本间是否存在显著的关联模式。

1.3.2 临床差异表达分析

将编码蛋白及参与其代谢调控的基因集输入 BEST 平台,分析其在多个数据集中与年龄、性别和肿瘤分期的关联性。其中年龄分组以 65 岁为阈值,肿瘤进展分期采用肿瘤总体分期 (stage) 和转移分期 (M)。进一步使用 GSCA 平台评估 PAAD 不同分期阶段靶基因的 GSVA 分值及其变化趋势。

1.3.3 免疫微环境分析

基于 ImmuCellAI 方法量化 24 种免疫细胞的浸润水平,并建立其与靶基因 GSVA 评分的关联热图、与拷贝数变异 (copy number variation, CNV)/单核苷酸变异 (single nucleotide variation, SNV) 特征的火山图。

1.3.4 免疫治疗队列分析

通过 GSVA 算法评估免疫治疗队列的生物标志物潜力,采用受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线下面积 (area under the curve, AUC) 验证其预测效能。

1.3.5 药物敏感性分析

整合癌症药物敏感性基因组学数据库 (Genomics of Drug Sensitivity in Cancer, GDSC) (<https://www.cancerrxgene.org/>) 与癌症治疗反应门户数据库 (Cancer Therapeutics Response Portal, CTRP) (<https://portals.broadinstitute.org/ctrp/>) 资源,在 GSCA 数据库中构建靶基因表达谱与小分子化合物 IC₅₀ 值的剂量效应模型,以筛选具有显著相关性的候选药物。

1.4 空间转录组学

基于 SpatialTME 2.1.0 数据库^[31] (<https://www.spatialtme.yelab.site/>) 收集 PAAD 病理切片, 筛选原发性肿瘤且能够进行 Mal-Bdy-nMal 轴划分的样本进行后续分析。利用肿瘤空间微环境解析工具 Cottrazm 1.3.5 中的 STCNVScore 函数计算点位 CNV 评分, 以 CNV 评分 P_{90} 、 P_{75} 和 P_{25} 为阈值构建 Mal-Bdy-nMal 轴, 以划分肿瘤组织学区区(恶性区、侵袭前沿区及正常基质区)。最后利用 R 4.3.2 软件的 Seurat 5.0.1 包评估靶基因在 PAAD 恶性区和非恶性区中的表达差异。为进一步探究靶基因表达与肿瘤免疫微环境的关联, 选取两组具有靶基因表达差异的样本, 分别使用 CIBERSORTx 1.06 (<https://github.com/jmakings/CibersortX>) 和 CellChat 1.6.0 包进行免疫细胞相对丰度分析和细胞通讯分析。

2 结果

2.1 网络拓扑学分析结果

从 SEA 数据库获取 5 种绿茶多酚的 56 个候选靶标及 56 种肠道菌群代谢产物的 670 个潜在作用靶点, 并结合 GeneCards 数据库筛选的 226 个 PAAD 相关靶标。经韦恩分析确定了 5 个绿茶多酚与 PAAD 的交集靶点, 以及 10 个代谢产物与 PAAD 的交集靶点, 其中有 2 个重复靶点, 最终确定了绿茶多酚及其调控的肠道菌群代谢产物干预 PAAD 的 13 个靶基因(图 1-A)。利用 STRING 数据库成功构建了包含 13 个节点(*STK11*、*VHL*、*EP300*、*IL6*、*PPARG*、*IL1B*、*CASR*、

MITF、*ESR1*、*VEGFA*、*MET*、*TERT* 和 *BCL2*) 和 41 条边的 PPI 网络, 该网络具有显著生物学的关联性 ($P < 0.001$) (图 1-B)。网络拓扑学参数结果显示, 节点平均连接度达 6.31, 局部聚类系数均值为 0.834, 表明 PPI 网络具有高度模块化特征。

2.2 Bulk转录组学分析结果

2.2.1 通路调控机制

GO 和 KEGG 富集分析结果显示, BP 条目主要富集在免疫系统过程、白细胞激活、细胞迁移和酰胺生物合成过程等; CC 条目主要富集在细胞内外小泡、质膜、线粒体被膜和黏着斑等; MF 条目主要富集在细胞粘附分子结合、线性酰胺水解酶活性和 NADH 脱氢酶(醌)活性等(图 2-A); KEGG 主要富集在氨基酸代谢、脂质代谢、细胞粘附相关物质和信号传导、免疫趋化和迁移等(图 2-B)。基于 GSCA 数据库进行 GSVA 评分的肿瘤通路关联性分析结果显示, 在 PAAD 中, 靶基因表达水平与受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)信号通路活性呈显著正相关关系($r=0.19$, $P=0.04$), 结果见图 2-C 与图 2-D。

2.2.2 靶基因临床差异表达分析

在 BEST 平台中最终确定了 5 个年龄分组数据集、6 个性别分组数据集、5 个 Stage 分组数据集和 3 个 M 分组数据集。差异分析表达结果显示, 在年龄分组中, 靶基因表达水平仅在 ICGC_PAAD_AU_seq 数据集中存在显著差异(图 3-A); 在性别分组中, 靶基因表达水平仅在 GSE79668

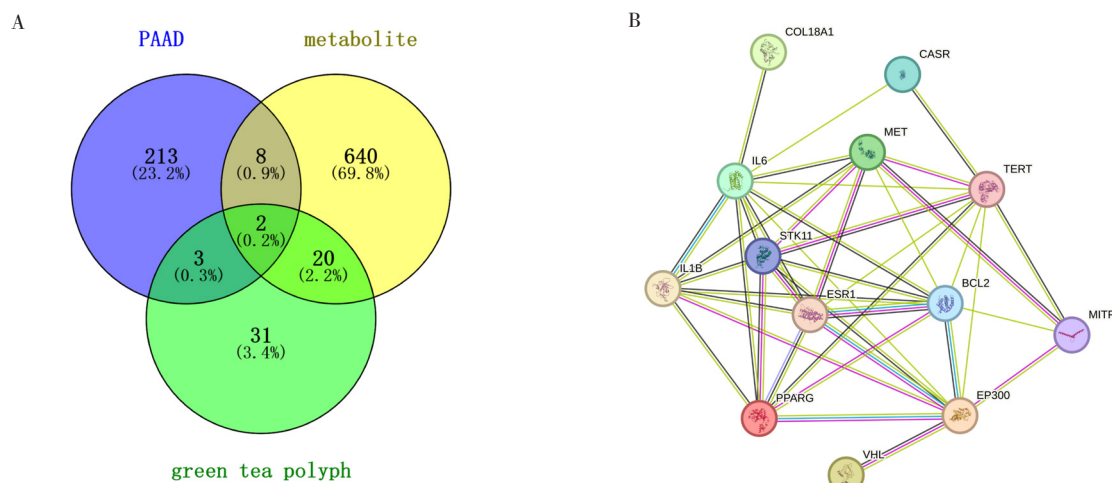


图1 靶点筛选韦恩图与蛋白质互作网络图

Figure 1. Venn diagram of target screening and protein-protein interaction network

注: A. 绿茶多酚、肠道菌群代谢产物和胰腺癌的靶点交集; B. 交集靶点的蛋白质互作网络。

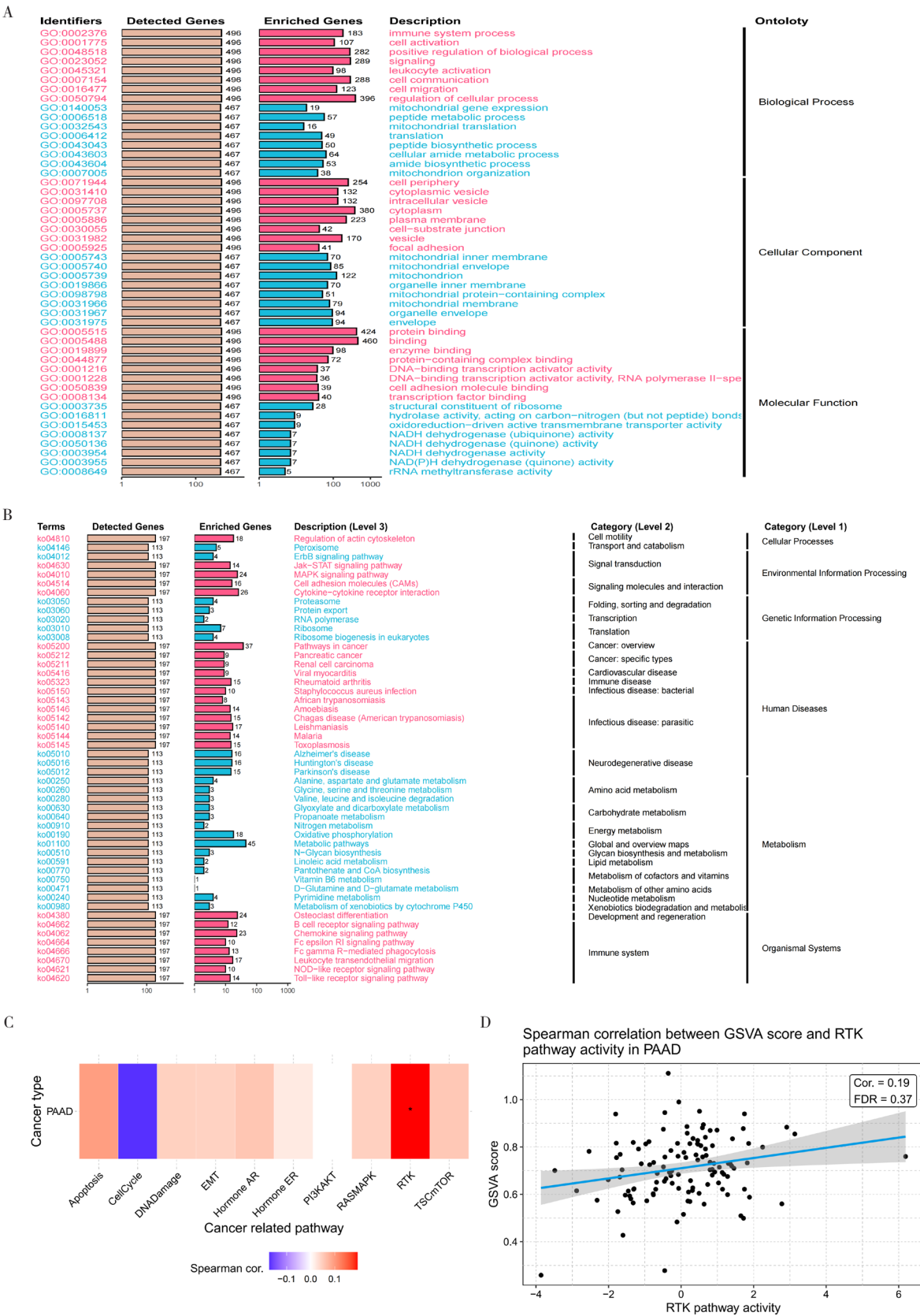


图2 基因集通路调控机制

Figure 2. Regulatory mechanisms of gene set pathway

注：A. 基因本体论富集分析柱状图，其中红色条目为正富集，蓝色条目为负富集；B. 京都基因与基因组百科全书富集分析柱状图，其中红色条目为正富集，蓝色条目为负富集；C. 肿瘤通路关联性柱状图；D. 受体酪氨酸激酶（receptor tyrosine kinase, RTK）信号通路关联散点图。

数据集中存在显著差异 (图 3-B)；在 Stage 分组中，靶基因表达水平仅在 TCGA_PAAD 数据集中存在显著差异 (图 3-C)；在 M 分组中，靶基因表达水平在所有数据集中均无显著差异

(图 3-D)。GSCA 数据分析结果与 BEST 平台分析结果一致，且进一步显示 PAAD 的 Stage 分组靶基因表达水平无显著差异 ($P=0.18$) (图 3-E)，趋势检验无显著差异 ($Z=1.02, P=1.02$) (图 3-F)。

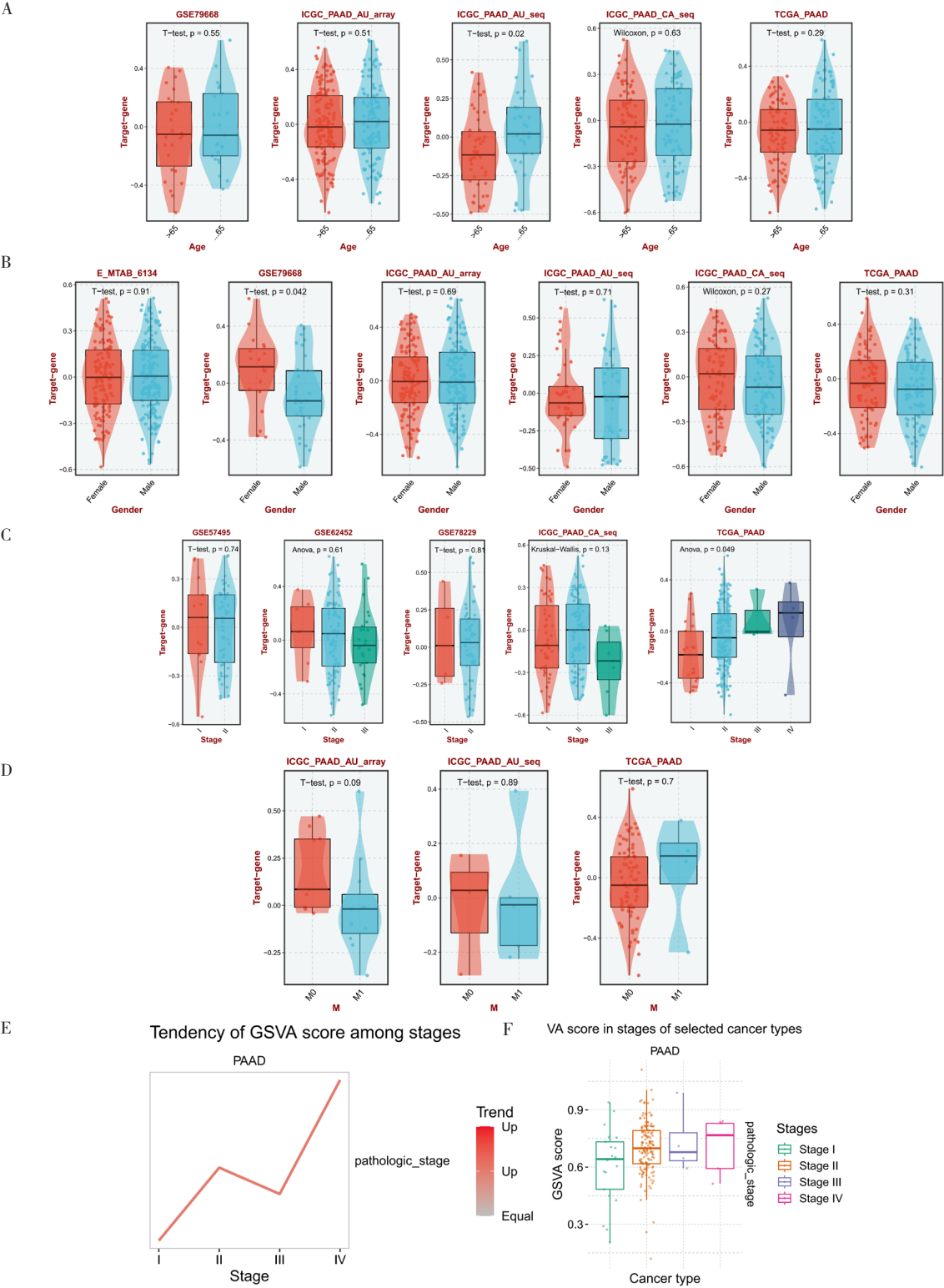


图3 基因集临床差异分析

Figure 3. Clinical differential analysis of gene sets

注：A. 年龄差异分析箱线图；B. 性别差异分析箱线图；C. Stage分组差异分析箱线图；D. M分组差异分析箱线图；E. 基因集癌症分析差异分析箱线图；F. Stage分组趋势折线图。

2.2.3 免疫微环境

GSVA 评分与免疫浸润的关联性分析结果显示,靶基因表达水平与中性粒细胞 (Neutrophil)、辅助性 T 细胞 2 型 (T helper 2 cell, Th2) 和初始 CD4 阳性 T 淋巴细胞 (naive CD4-positive T lymphocyte, CD4_naive) 丰度呈显著负相关关系 ($P < 0.05$), 与黏膜相关恒定 T 细胞 (mucosal-associated invariant T cells, MAIT)、CD4 阳性 T 淋

巴细胞 (CD4-positive T lymphocyte, CD4_T) 和 1 型调节性 T 细胞 (type 1 regulatory T cell, Tr1) 等丰度呈显著正相关关系 ($P < 0.05$) (图 4-A)。靶基因集 CNV 和 SNV 的免疫浸润分析结果显示, PAAD 的靶基因 CNV 突变体的 Monocyte 和 Neutrophil 丰度相较于正常体显著升高, 而 CD4_T、Tfh 和 Central_memory 等丰度显著降低 (图 4-B); 靶基因 SNV 突变体的 nTreg 丰度显著升高 (图 4-C)。

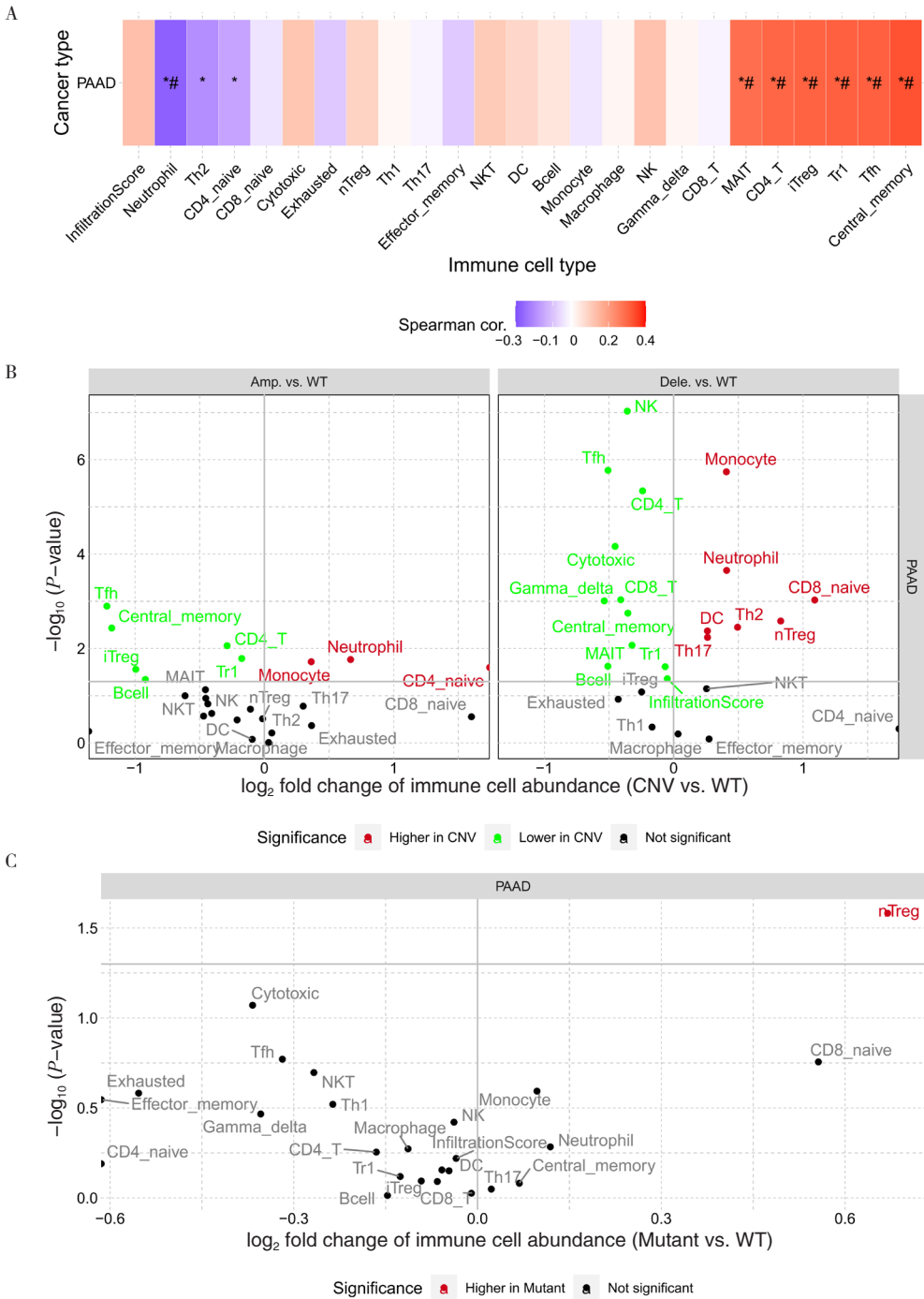


图4 免疫微环境分析

Figure 4. Immune microenvironment analysis

注: * $P < 0.05$; # $FDR < 0.05$; A. 免疫浸润关联性柱状图; B. 拷贝数变异差异浸润火山图; C. 单核苷酸变异差异浸润火山图。

2.2.4 免疫治疗

免疫治疗队列的差异基因表达分析结果显示，靶基因表达水平在 2018 年 IMvigor210 cohort 抗 PD-L1 免疫治疗队列和 Riaz cohort 抗 PD-1/CTLA-4 免疫治疗队列的有反应者和无反应者中有显著差异 ($P < 0.05$) (图 5-A)。AUC 曲线预测结果显示，靶基因能够较好地预测抗 PD-1 和抗 PD-L1 免疫疗法的有反应者 (图 5-B)。

2.2.5 药物敏感性

为评估靶基因的临床价值，本研究通过

GSCA 平台进行计算建模，以揭示基因表达与药物应答的关联。结果显示，靶基因表达水平与 Navitoclax、I-BET-762、PIK-93、TPCA-1、parbendazole、piperlongumine、BRD-K34222889 等药物反应显著相关 ($FDR < 0.05$)，见图 6。

2.3 空间转录组学分析结果

通过 SpatialTME 数据库共收集到 2 组空间转录组数据 (GSM6505134 和 GSM6505135)，均为原发性 PAAD，二者来自同一数据集。首先构建 Mal-Bdy-nMal 轴，并进行组织类型划分，随后进行基

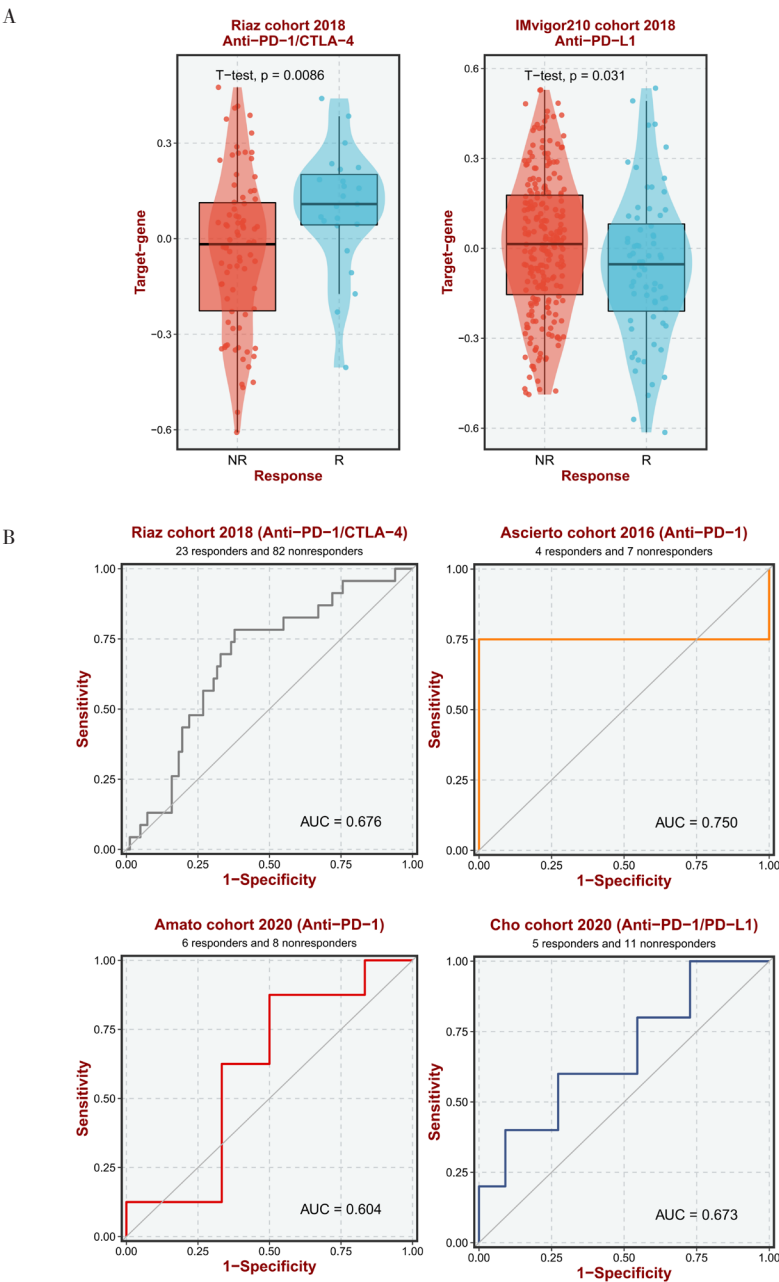


图5 免疫治疗分析

Figure 5. Immunotherapy analysis

注：A. 免疫治疗差异分析箱线图；B. 免疫治疗曲线下面积分析图。

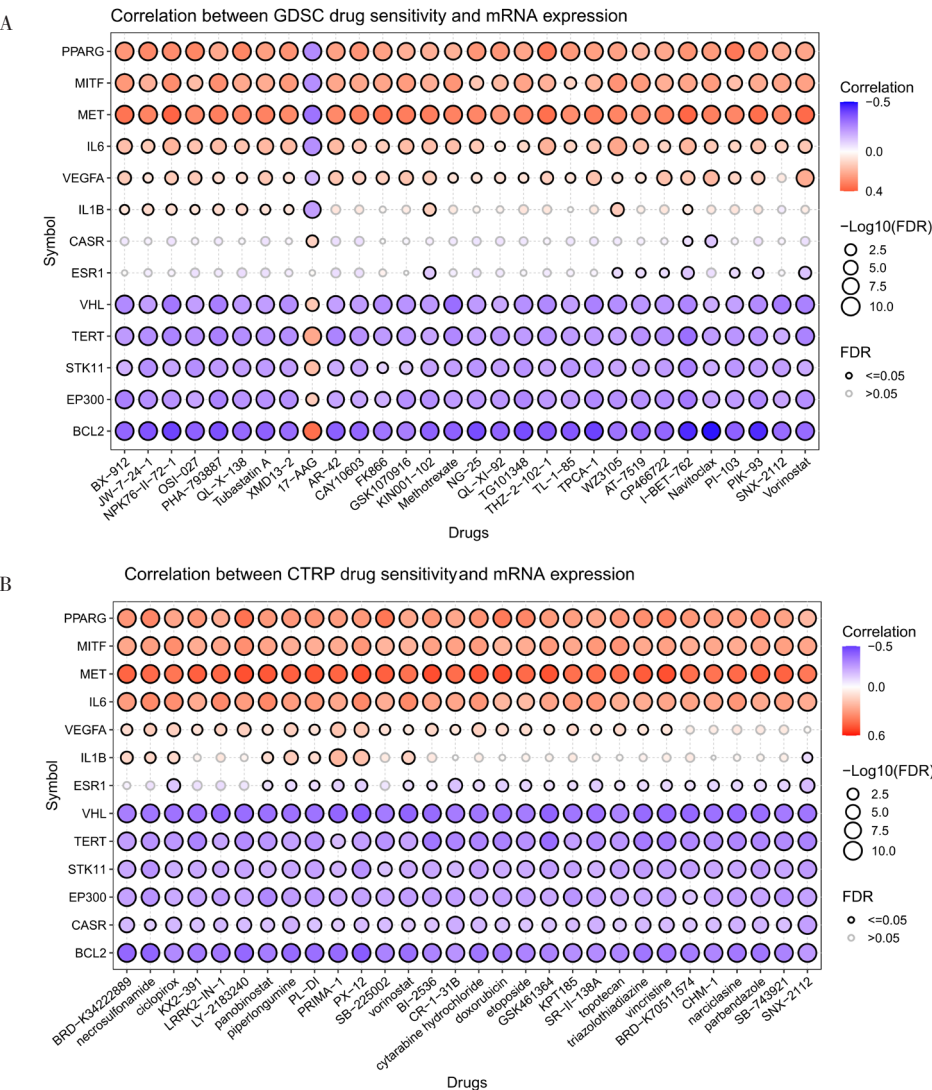


图6 药物敏感性分析热图
Figure 6. Heatmap of drug sensitivity analysis

注：A. 癌症治疗反应门户数据库（Cancer Therapeutics Response Portal, CTRP）药物数据库热图；B. 癌症药物敏感性基因组学数据库（Genomics of Drug Sensitivity in Cancer, GDSC）药物数据库热图。

因差异表达分析。结果显示，样本一恶性区的靶基因表达水平高于样本二，且恶性区的肿瘤细胞丰度多于样本二，样本二中的侵袭前沿区和正常基质区的肿瘤细胞丰度较多，同时 B 细胞、CD4 T 细胞和 CD8 T 细胞等免疫细胞的丰度有所增加。样本二中的 CD4 T 细胞、CD8 T 细胞与其他细胞间的细胞通讯强度增强，见图 7。

3 讨论

本研究运用网络拓扑学、Bulk 转录组学和空间转录组学方法，挖掘绿茶多酚及其所调节的肠道菌群代谢产物作用于 PAAD 的关键靶点，并探究了靶基因与 PAAD 的复杂作用网络。最终明确

了 *STK11*、*VHL*、*EP300*、*IL6*、*PPARG*、*IL1B*、*CASR*、*MITF*、*ESR1*、*VEGFA*、*MET*、*TERT* 和 *BCL2* 共 13 个核心靶点，这些靶点的表达水平与 RTK 信号通路显著相关，与免疫微环境和免疫治疗抗 PD-1 疗法、抗 PD-L1 疗法有密切关联，具有良好的潜在应用前景。

本研究识别出 *STK11*、*EP300*、*MET* 和 *TERT* 等是绿茶多酚及其所调节的肠道菌群代谢产物作用于 PAAD 的关键靶点。*STK11* 体细胞突变参与了多种肿瘤的发病过程，且被初步验证与 PAAD 的转移进程及药物治疗反应密切相关。*STK11* 突变过表达会促进 PAAD 的细胞侵袭，尤其加剧了 PAAD 肝转移^[32]。结合其作为

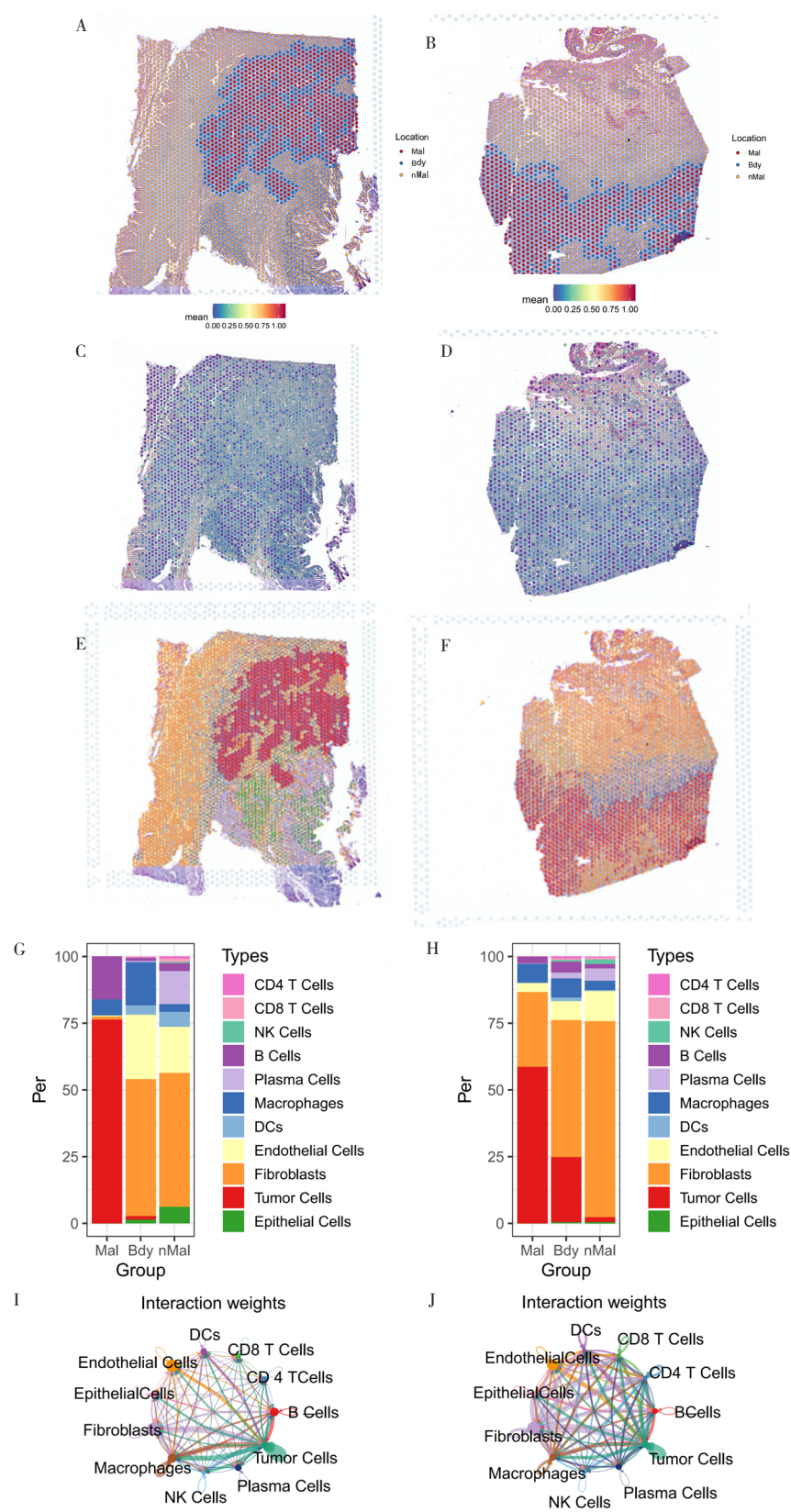


图7 空间转录组学分析
Figure 7. Spatial transcriptomics analysis

注：A. 样本一的Mal-Bdy-nMal轴划分图；B. 样本二的Mal-Bdy-nMal轴划分图；C. 样本一的靶基因表达热图；D. 样本二的靶基因表达热图；E. 样本一的免疫细胞分布图；F. 样本二的免疫细胞分布图；G. 样本一的M免疫细胞丰度柱状图；H. 样本二的M免疫细胞丰度柱状图；I. 样本一的细胞通讯强度网络图；J. 样本二的细胞通讯强度网络图。

抑癌基因的角色,推测 STK11 功能丧失可能解除对包括 RTK 信号通路在内的促癌信号通路的抑制,成为绿茶多酚干预的重要靶点。*EP300* 是一种抑癌基因,该基因的突变在 PAAD 等上皮细胞来源的恶性肿瘤发生发展中发挥着重要作用^[33]。*EP300* 也是一种关键的乳酸化酶,其过表达可能通过乳酸化维持烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD) 的支持途径,从而促进 PAAD 细胞在葡萄糖缺乏条件下的存活^[34]。核心靶点群的功能分析揭示了其与 RTK 信号通路活性的显著正相关性信号网络的传导,进而驱动 PAAD 的恶性进展。靶点 *MET* 被证实通过激活 C-X-C 模体趋化因子配体 8 (C-X-C motif chemokine ligand 8, CXCL8) 促进上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 并上调细胞间粘附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 介导的内皮粘附,是驱动 PAAD 肝转移的关键分子^[35]。*TERT* 基因上有多个可导致 PAAD 易感的突变点,主要为 rs2736100、rs4583925 和 rs2735948^[36]。研究发现,剪切因子 RBM10 能够选择性剪切 *TERT* 基因,从而抑制 PAAD 发展,提供了靶向剪切因子治疗的新见解^[37]。*CASR* 是 PAAD 的易感基因,其纯和突变会导致腺体功能亢进,可能诱发 PAAD^[38-39]。在靶基因中, *STK11* 已被证明在非小细胞肺癌的免疫治疗中具有潜在的应用价值^[40]。*STK11/LKB1* 缺乏可能导致肿瘤微环境中中性粒细胞募集和促炎因子产生,进而抑制 T 细胞活性^[41]。在基于雌激素的疗法中, *ESR1* 显示出了募集中性粒细胞增强机体免疫力的潜力^[42]。GO 和 KEGG 富集分析结果显示,绿茶多酚的关键靶点主要富集于细胞粘附相关物质与信号传导、细胞迁移等生物学过程。细胞粘附和迁移是肿瘤转移的重要支持机制^[43]。有研究表明,糖皮质激素能够通过增强细胞粘附和迁移促进 PAAD 细胞的肺转移^[44]。GSCA 通路关联性分析进一步发现,靶基因表达水平与 RTK 信号通路活性显著正相关。该结果与既往研究中 *ITIH5* 通过干预 RTK 信号通路、细胞粘附和迁移抑制 PAAD 转移的机制一致^[45]。*ITIH5* 启动子高甲基化可能导致 PAAD 患者的不良预后,提示绿茶多酚的靶基因可能出现同样的恶性突变。因此,未来可以考虑建立靶基因突变预后模型,以更好地预测 PAAD 患者的总生存期。

免疫治疗分析结果显示,特定靶基因的表达水平在抗 PD-1 及抗 PD-1/PD-L1 免疫治疗中可作为预测治疗反应的重要生物标志物。EGCG 和 EGC 被认为是一种具有广阔前景的免疫检查点抑制剂,能够通过抑制 T 细胞 PD-1 表达,促进 T 细胞抗肿瘤作用^[46-47]。同时,EGCG 能够通过直接靶向 PD-L1 二聚化来抑制 PD-1/PD-L1 相互作用,进而发挥免疫治疗作用^[48]。空间转录组学分析结果进一步显示,靶基因可能通过调控免疫细胞间的通讯网络来提升免疫治疗效果。这提示绿茶多酚类物质或可作为辅助治疗药物,与现有抗 PD-1/PD-L1 疗法联用,能增强临床疗效,同时降低治疗耐药性。

本研究主要基于生物信息学方法进行分析,其结果虽具有统计学显著性,但生物学意义和具体的因果机制尚需深入的实验验证。未来研究需在细胞和动物模型中进一步证实绿茶多酚对核心靶点表达及活性的影响,验证其对 RTK 信号通路、细胞粘附迁移、代谢适应性及免疫细胞组成和功能的调控作用,并评估其与免疫检查点抑制剂联用的协同效果。同时,空间转录组学的分析结果需在更大规模和更具异质性的样本队列中进行验证,以构建更全面可靠的肿瘤微环境免疫互作图谱。此外,探索核心靶点(如受 *ITIH5* 甲基化启示)的突变或表观遗传修饰作为 PAAD 预后模型的可行性也是未来重要的研究方向。

参考文献

- 1 Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263. DOI: 10.3322/caac.21834.
- 2 易丽夏,方涵露,李婧怡,等. 2022 年全球和中国胰腺癌发病及死亡分析[J]. 海军军医大学学报, 2024, 45(12): 1470-1477. [Yi LX, Fang HL, Li JY, et al. Incidence and mortality of pancreatic cancer in the world and China in 2022[J]. Academic Journal of Naval Medical University, 2024, 45(12): 1470-1477.] DOI: 10.16781/j.cnki.21877.R.20240630.
- 3 Halbrook CJ, Lyssiotis CA, Pasca di Magliano M, et al. Pancreatic cancer: advances and challenges[J]. Cell, 2023, 186(8): 1729-1754. DOI: 10.1016/j.cell.2023.02.014.
- 4 Del Chiaro M, Sugawara T, Karam SD, et al. Advances in the management of pancreatic cancer[J]. BMJ, 2023, 383: e073995. DOI: 10.1136/bmj-2022-073995.
- 5 郭献铸,王馨慧,常雪婷,等. 中药治疗胰腺癌的基础和临床研究进展[J]. 实用肿瘤杂志, 2024, 39(6): 573-579. [Guo

- XZ, Wang XH, Chang XT, et al. Advances in basic and clinical research on traditional Chinese medicine for pancreatic cancer[J]. *Journal of Practical Oncology*, 2024, 39(6): 573–579. DOI: [10.13267/j.cnki.syzlzz.2024.085](https://doi.org/10.13267/j.cnki.syzlzz.2024.085).
- 6 朱小东, 成远, 李伟. 2023 年 ASCO 肝胆胰恶性肿瘤治疗进展[J]. *实用肿瘤杂志*, 2023, 38(4): 324–331. [Zhu XD, Cheng Y, Li W. Advances in treatment of hepatobiliary and pancreatic malignancies: highlights from 2023 ASCO annual meeting[J]. *Journal of Practical Oncology*, 2023, 38(4): 324–331.] DOI: [10.13267/j.cnki.syzlzz.2023.052](https://doi.org/10.13267/j.cnki.syzlzz.2023.052).
- 7 Wood LD, Canto MI, Jaffee EM, et al. Pancreatic cancer: pathogenesis, screening, diagnosis, and treatment[J]. *Gastroenterology*, 2022, 163(2): 386–402.e1. DOI: [10.1053/j.gastro.2022.03.056](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2022.03.056).
- 8 Hu ZI, O'Reilly EM. Therapeutic developments in pancreatic cancer[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2024, 21(1): 7–24. DOI: [10.1038/s41575-023-00840-w](https://doi.org/10.1038/s41575-023-00840-w).
- 9 Khan N, Mukhtar H. Cancer and metastasis: prevention and treatment by green tea[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2010, 29(3): 435–445. DOI: [10.1007/s10555-010-9236-1](https://doi.org/10.1007/s10555-010-9236-1).
- 10 Miyake T, Yasukawa K, Inouye K. Analysis of the mechanism of inhibition of human matrix metalloproteinase 7 (MMP-7) activity by green tea catechins[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2011, 75(8): 1564–1569. DOI: [10.1271/bbb.110257](https://doi.org/10.1271/bbb.110257).
- 11 Chen Z, Zhu QY, Tsang D, et al. Degradation of green tea catechins in tea drinks[J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49(1): 477–482. DOI: [10.1021/jf000877h](https://doi.org/10.1021/jf000877h).
- 12 Dou QP. Tea in health and disease[J]. *Nutrients*, 2019, 11(4): 929. DOI: [10.3390/nu11040929](https://doi.org/10.3390/nu11040929).
- 13 Ohishi T, Miyoshi N, Mori M, et al. Health effects of soy isoflavones and green tea catechins on cancer and cardiovascular diseases based on urinary biomarker levels[J]. *Molecules*, 2022, 27(24): 8899. DOI: [10.3390/molecules27248899](https://doi.org/10.3390/molecules27248899).
- 14 James A, Wang K, Wang Y. Therapeutic activity of green tea epigallocatechin-3-gallate on metabolic diseases and non-alcoholic fatty liver diseases: the current updates[J]. *Nutrients*, 2023, 15(13): 3022. DOI: [10.3390/nu15133022](https://doi.org/10.3390/nu15133022).
- 15 Luo Q, Luo L, Zhao J, et al. Biological potential and mechanisms of tea's bioactive compounds: an updated review[J]. *J Adv Res*, 2024, 65: 345–363. DOI: [10.1016/j.jare.2023.12.004](https://doi.org/10.1016/j.jare.2023.12.004).
- 16 Dekant W, Fujii K, Shibata E, et al. Safety assessment of green tea based beverages and dried green tea extracts as nutritional supplements[J]. *Toxicol Lett*, 2017, 277: 104–108. DOI: [10.1016/j.toxlet.2017.06.008](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.06.008).
- 17 Kolling GJ, Stivanin SCB, Gabbi AM, et al. Performance and methane emissions in dairy cows fed oregano and green tea extracts as feed additives[J]. *J Dairy Sci*, 2018, 101(5): 4221–4234. DOI: [10.3168/jds.2017-13841](https://doi.org/10.3168/jds.2017-13841).
- 18 Zhou J, Tang L, Shen CL, et al. Green tea polyphenols modify gut-microbiota dependent metabolisms of energy, bile constituents and micronutrients in female Sprague-Dawley rats[J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 61: 68–81. DOI: [10.1016/j.jnutbio.2018.07.018](https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.07.018).
- 19 Wishart DS, Guo A, Oler E, et al. HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D622–D631. DOI: [10.1093/nar/gkab1062](https://doi.org/10.1093/nar/gkab1062).
- 20 Kanehisa M, Furumichi M, Sato Y, et al. KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes[J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(D1): D587–D592. DOI: [10.1093/nar/gkac963](https://doi.org/10.1093/nar/gkac963).
- 21 Sayers EW, Bolton EE, Brister JR, et al. Database resources of the national center for biotechnology information[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D20–D26. DOI: [10.1093/nar/gkab1112](https://doi.org/10.1093/nar/gkab1112).
- 22 Little JL, Williams AJ, Pshenichnov A, et al. Identification of "known unknowns" utilizing accurate mass data and ChemSpider[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2012, 23(1): 179–185. DOI: [10.1007/s13361-011-0265-y](https://doi.org/10.1007/s13361-011-0265-y).
- 23 Keiser MJ, Roth BL, Armbruster BN, et al. Relating protein pharmacology by ligand chemistry[J]. *Nat Biotechnol*. 2007, 25(2): 197–206. DOI: [10.1038/nbt1284](https://doi.org/10.1038/nbt1284).
- 24 Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses[J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 54: 1.30.1–1.30.33. DOI: [10.1002/cpbi.5](https://doi.org/10.1002/cpbi.5).
- 25 Lin F, Zhang G, Yang X, et al. A network pharmacology approach and experimental validation to investigate the anticancer mechanism and potential active targets of ethanol extract of Wei-Tong-Xin against colorectal cancer through induction of apoptosis via PI3K/AKT signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 303: 115933. DOI: [10.1016/j.jep.2022.115933](https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115933).
- 26 Lu S, Sun X, Zhou Z, et al. Mechanism of Bazhen decoction in the treatment of colorectal cancer based on network pharmacology, molecular docking, and experimental validation[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1235575. DOI: [10.3389/fimmu.2023.1235575](https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1235575).
- 27 Szklarczyk D, Gable AL, Nastou KC, et al. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D605–D612. DOI: [10.1093/nar/gkaa1074](https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1074).
- 28 Liu Z, Liu L, Weng S, et al. BEST: a web application for comprehensive biomarker exploration on large-scale data in solid tumors[J]. *J Big Data*, 2023, 10: 165. <https://journalofbigdata.springeropen.com/articles/10.1186/s40537-023-00844-y>
- 29 Liu CJ, Hu FF, Xie GY, et al. GSCA: an integrated platform for gene set cancer analysis at genomic, pharmacogenomic and immunogenomic levels[J]. *Brief Bioinform*, 2023, 24(1): bbac558. DOI: [10.1093/bib/bbac558](https://doi.org/10.1093/bib/bbac558).
- 30 Tomczak K, Czerwińska P, Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge[J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2015, 19(1A): A68–A77. DOI: [10.5114/wo.2014.47136](https://doi.org/10.5114/wo.2014.47136).
- 31 Shi J, Wei X, Xun Z, et al. The web-based portal SpatialTME integrates histological images with single-cell and spatial transcriptomics to explore the tumor microenvironment[J]. *Cancer Res*, 2024, 84(8): 1210–1220. DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-24-0111](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-24-0111).

- 23–2650.
- 32 Zhang S, Yun D, Yang H, et al. Roflumilast inhibits tumor growth and migration in STK11/LKB1 deficient pancreatic cancer[J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 124. DOI: [10.1038/s41420-024-01890-y](https://doi.org/10.1038/s41420-024-01890-y).
 - 33 马丁, 林大伟, 杨卫平, 等. 以 EP300 为中心的胰腺癌相关蛋白质相互作用网络特征分析[J]. *外科理论与实践*, 2015, 20(5): 429–433. [Ma D, Lin DW, Yang WP, et al. Analysis of protein interaction networks related to core protein EP300 of pancreatic cancer[J]. *Journal of Surgery Concepts & Practice*, 2015, 20(5): 429–433.] DOI: [10.16139/j.1007-9610.2015.05.015](https://doi.org/10.16139/j.1007-9610.2015.05.015).
 - 34 Huang H, Wang S, Xia H, et al. Lactate enhances NMNAT1 lactylation to sustain nuclear NAD⁺ salvage pathway and promote survival of pancreatic adenocarcinoma cells under glucose-deprived conditions[J]. *Cancer Lett*, 2024, 588: 216806. DOI: [10.1016/j.canlet.2024.216806](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2024.216806).
 - 35 Liao CY, Li G, Kang FP, et al. Necroptosis enhances 'don't eat me' signal and induces macrophage extracellular traps to promote pancreatic cancer liver metastasis[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 6043. DOI: [10.1038/s41467-024-50450-6](https://doi.org/10.1038/s41467-024-50450-6).
 - 36 Campa D, Rizzato C, Stolzenberg-Solomon R, et al. TERT gene harbors multiple variants associated with pancreatic cancer susceptibility[J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(9): 2175–2183. DOI: [10.1002/ijc.29590](https://doi.org/10.1002/ijc.29590).
 - 37 Xiao W, Chen X, Li X, et al. RBM10 regulates human TERT gene splicing and inhibits pancreatic cancer progression[J]. *Am J Cancer Res*, 2021, 11(1): 157–170. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33520366/>
 - 38 Ramsey ML, Heald B, Gokun Y, et al. Germline multigene panel testing in acute and chronic pancreatitis[J]. *PLoS One*, 2024, 19(8): e0307076. DOI: [10.1371/journal.pone.0307076](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0307076).
 - 39 Marx SJ. Hyperplasia in glands with hormone excess[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2016, 23(1): R1–R14. DOI: [10.1530/ERC-15-0171](https://doi.org/10.1530/ERC-15-0171).
 - 40 Mazzaschi G, Leonetti A, Minari R, et al. Modulating tumor microenvironment: a review on STK11 immune properties and predictive vs prognostic role for non-small-cell lung cancer immunotherapy[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2021, 22(11): 96. DOI: [10.1007/s11864-021-00891-8](https://doi.org/10.1007/s11864-021-00891-8).
 - 41 Koyama S, Akbay EA, Li YY, et al. STK11/LKB1 deficiency promotes neutrophil recruitment and proinflammatory cytokine production to suppress T-cell activity in the lung tumor microenvironment[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(5): 999–1008. DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-15-1439](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-1439).
 - 42 Salinas-Muñoz L, Campos-Fernández R, Mercader E, et al. Estrogen receptor- α (ESR1) governs the lower female reproductive tract vulnerability to *Candida albicans*[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1033. DOI: [10.3389/fimmu.2018.01033](https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01033).
 - 43 Silva PM, da Silva IV, Sarmiento MJ, et al. Aquaporin-3 and aquaporin-5 facilitate migration and cell-cell adhesion in pancreatic cancer by modulating cell biomechanical properties[J]. *Cells*, 2022, 11(8): 1308. DOI: [10.3390/cells11081308](https://doi.org/10.3390/cells11081308).
 - 44 Wang Y, Su J, Zhou P, et al. Glucocorticoids promote lung metastasis of pancreatic cancer cells through enhancing cell adhesion, migration and invasion[J]. *Endocr J*, 2023, 70(7): 731–743. DOI: [10.1507/endocrj.EJ21-0787](https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ21-0787).
 - 45 Kosinski J, Sechi A, Hain J, et al. ITIH5 as a multifaceted player in pancreatic cancer suppression, impairing tyrosine kinase signaling, cell adhesion and migration[J]. *Mol Oncol*, 2024, 18(6): 1486–1509. DOI: [10.1002/1878-0261.13609](https://doi.org/10.1002/1878-0261.13609).
 - 46 Li ZD, Liu F, Zeng Y, et al. EGCG suppresses PD-1 expression of T cells via inhibiting NF- κ B phosphorylation and nuclear translocation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 133: 112069. DOI: [10.1016/j.intimp.2024.112069](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112069).
 - 47 Zhang X, Cui X, Li P, et al. EGC enhances tumor antigen presentation and CD8⁺ T cell-mediated antitumor immunity via targeting oncoprotein SND1[J]. *Cancer Lett*, 2024, 592: 216934. DOI: [10.1016/j.canlet.2024.216934](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2024.216934).
 - 48 Guo Y, Liang J, Liu B, et al. Molecular mechanism of food-derived polyphenols on PD-L1 dimerization: a molecular dynamics simulation study[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(20): 10924. DOI: [10.3390/ijms222010924](https://doi.org/10.3390/ijms222010924).
- 收稿日期: 2025 年 05 月 20 日 修回日期: 2025 年 11 月 15 日
 本文编辑: 张 苗 黄 笛

引用本文: 杨扬, 杨洁, 郭保良, 等. 基于网络拓扑学、Bulk转录组学和空间转录组学探究绿茶多酚抗胰腺癌的分子机制[J]. 数理医药学杂志, 2025, 38(12): 923–935. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202505054](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202505054).
 Yang Y, Yang J, Guo BL, et al. Exploring the molecular mechanisms of green tea polyphenols against pancreatic adenocarcinoma based on network topology, Bulk transcriptomics and spatial transcriptomics[J]. *Journal of Mathematical Medicine*, 2025, 38(12): 923–935. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202505054](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202505054).