

网络出版时间:2025-08-15 15:03:10 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20250815.1248.004

网络药理学视角下山奈酚靶向 BCL-2 抑制肺癌的机制研究

陈建栋¹, 吕盈盈², 徐正², 张苗², 刘路遥², 王鹏²

(¹ 上海中医药大学附属曙光医院检验科, 上海 200135; ² 上海市第七人民医院医学检验科, 上海 200135)

摘要 目的 利用网络药理学方法探究中药栀子中活性成分山奈酚对肺癌治疗的潜在作用机制。方法 通过中药系统药理学数据库及分析平台(TCMSP)获取栀子的主要活性成分及其潜在作用靶点,并结合 Gene Cards 和 OMIM 数据库收集的肺癌相关靶点信息,通过绘制韦恩图确定栀子与肺癌治疗相关的交集靶点。进一步通过蛋白质互作(PPI)网络分析筛选出核心靶点,并利用 Metascape 平台进行基因本体(GO)功能和京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。使用 Auto dock 软件评估栀子的有效成分与靶标蛋白的结合亲和力。实验方面,通过 CCK-8 实验评估细胞增殖能力,通过细胞划痕愈合实验和 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭能力,并通过 Western blot 和 RT-qPCR 检测上皮-间充质转化(EMT)蛋白及炎症因子的表达水平。结果 栀子中的活性成分山奈酚表现出显著的与肺癌关键靶标 B 淋巴细胞瘤-2(BCL-2)的结合能力,且能抑制肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。Western blot 和 RT-qPCR 的结果进一步证实山奈酚能够促进 E-钙黏蛋白(E-cadherin)增加, N-钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)降低,同时降低炎症因子表达。结论 栀子活性成分山奈酚在通过靶向 BCL-2 抑制肺癌细胞的增殖、迁移、侵袭等能力的同时,逆转了 EMT 进展同时抑制了肺癌细胞炎症因子的表达水平,从而阻止肺癌进展。

关键词 栀子;山奈酚;肺癌;BCL-2;网络药理学

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)08-1373-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.08.002

肺癌作为全球癌症死亡的首要原因,其主要诱因是吸烟^[1]。近年来,女性患者的数量不断攀升,肺癌成为了一个日益严重的公共卫生挑战^[2]。在中国,肺癌的发病率和病死率居高不下,部分原因是因为肺癌的早期症状不明显,且有较长的潜伏期,导致许多患者在确诊时已经处于疾病的中晚期^[3]。目前,肺癌的诊断技术已经非常精确。治疗手段包括手术、放化疗和免疫治疗等,但这些方法仍然存在一定的局限性^[4-5]。

栀子,茜草科植物栀子的干燥成熟果实,是药食两用资源^[6]。根据《神农本草经》的记载,栀子具有清热、解毒、利湿等功效,现代研究^[7]则更多地关注其抗炎和抗氧化作用。该研究采用网络药理学和分子对接技术^[8],对栀子的主要有效成分及其与肺癌靶点的相互作用进行了深入分析,旨在明确栀子的有效成分在肺癌治疗中的潜在有效性和作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验仪器及试剂 肺癌细胞(A549、H1975)均来自上海市第七人民医院检验科留存,培养于 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱;山奈酚购自上海 MCE 公司(#HY-14590);CCK-8 细胞活力检测试剂盒购自上海碧云天(#C0037);Transwell 小室购自美国 Coming 公司;凝胶成像分析系统购自上海培清科技有限公司;普通光学显微镜购自日本 Olympus 公司。

1.2 栀子作用靶点与肺癌相关靶点预测 在 TCMSP 中以“栀子”为关键词进行检索,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB)不低于 30% 和类药性(drug like, DL)不低于 0.18 为标准,筛选出栀子的有效成分及其潜在的作用靶标。此外,利用“Lung cancer”作为关键词,在 Gene Cards 和 OMIM 数据库中检索并收集与肺癌相关的靶点信息。将这些信息与栀子的有效成分靶点进行对比,绘制韦恩图,以识别两者之间的共同靶点。

1.3 蛋白质互作网络(protein-protein interaction networks, PPI)构建及关键靶点筛选 使用 string 数据库来获取蛋白质之间的相互作用网络,并利用 Cytoscape 3.9.0 软件来绘制 PPI 网络图。根据节点的 Degree 值(即每个节点与其他节点的连接数),筛

2025-02-27 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:82204845);上海市自然科学基金项目(编号:22ZR1447900)

作者简介:陈建栋,男,本科,主管技师;

王 鹏,男,本科,主管技师,通信作者,E-mail:wanghahapeng@sina.cn

选出网络中最关键的前 3 个核心靶点蛋白。

1.4 基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析与京都基因和基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomics, KEGG) 通路富集分析 将梔子的有效成分所作用的潜在靶点与肺癌相关靶点的交集基因作为研究对象。利用 Metascape 平台, 对这些交集基因进行 GO 功能富集分析, 该分析涵盖了生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 3 个维度。KEGG 通路富集分析以识别这些基因所涉及的生物学通路。

1.5 梔子有效成分与靶点分子对接验证 从 PubChem 数据库中检索并获取梔子有效成分的分子结构信息。为进一步研究这些有效成分与靶点之间的相互作用, 通过蛋白质数据银行 (protein data bank, PDB) 筛选并下载相应的蛋白结构。利用 Auto dock 软件进行分子对接实验, 分析小分子与蛋白之间的结合能量。使用 PyMOL 软件对分子对接结果进行可视化处理。

1.6 CCK-8 细胞增殖实验 将 100 μL 含 2 000 个肺癌细胞的细胞悬液均匀地接种到 96 孔板中, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱内培养。待细胞贴壁后, 移除孔板中的原始培养基, 替换为含有 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度山奈酚药物的新鲜培养基, 然后分别培养 12、24、36 h。将 90 μL 无血清培养基与 10 μL CCK-8 检测试剂配制工作液 (9 : 1), 继续在培养箱中孵育 1 ~ 4 h。最后使用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔的吸光度 (optical density, OD) 值, 统计学分析以评估山奈酚对肺癌细胞增殖能力的潜在影响。

1.7 划痕愈合实验检测细胞迁移 将肺癌细胞接种在 6 孔板内, 等待细胞生长至覆盖整个孔板底部。使用 10 μL 的枪头和直尺在培养皿的底部轻轻划开, 制造一条直线划痕。用 PBS 轻柔吹洗培养皿, 去除划痕中的细胞碎片。在显微镜下记录 0 h 的细胞位置。随后向培养板中加入含有 50 $\mu\text{mol/L}$ 山奈酚药物的培养液, 并把培养板放回培养箱中继续培养 24 h。在显微镜下拍照记录细胞的迁移情况。

1.8 Transwell 实验检测细胞侵袭 使用无血清培养基将 Matrigel 基质胶稀释至工作浓度, 并将其均匀涂布于 Transwell 小室的上室。随后将处理好的 Transwell 小室置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中孵育 4 ~ 6 h, 以便 Matrigel 形成一层均匀的基质胶屏障。计数细胞后, 用无血清培养基将细胞浓度调整至 2×10^4 个/mL。将细胞悬液分为两组: 一组含有 50

$\mu\text{mol/L}$ 的山奈酚药物, 另一组作为对照不含药物。每组添加 100 μL 细胞悬液到 Transwell 上室的基质胶层上。将加好细胞的 Transwell 小室放回培养箱中, 继续培养 24 h。使用 PBS 缓冲液轻轻冲洗小室 2 次, 除去未侵袭通过基质胶的细胞。用甲醇固定处理小室 20 min 以保持细胞形态的完整性。使用结晶紫染料对侵袭通过基质胶的细胞进行染色, 染色时间为 15 min。染色后, 再次用 PBS 缓冲液冲洗小室 2 次, 去除多余的染料。显微镜下对每个小室进行拍照。使用 ImageJ 软件对拍摄的图片进行分析, 自动计数侵袭细胞的数量并进行统计学分析, 以评估山奈酚对肺癌细胞侵袭能力的影响。

1.9 RT-qPCR 检测炎症因子水平 分别收集山奈酚和对照处理 24 h 后的细胞, 用 TRIzol 提取总 RNA 检测浓度后使用逆转录试剂盒获得 cDNA 进行 RT-qPCR。以 GAPDH 的 mRNA 水平作为内参。引物设计如下: GAPDH 引物 (正义链 5'-GTGGGCTCACTGAGCACC-3', 反义链 5'-AAGTGGTCGTTGAGGGCAATG-3'); B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, BCL-2) 引物 (正义链 5'-GGTGGGGTTCATGTGTGTGG-3', 反义链 5'-CGGTTTCAGGTACTCAGTCATCC-3'); 白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 引物 (正义链 5'-ACTCACCTCTTCAGAACGAATTG-3', 反义链 5'-CCATCTTTGGAAGGTTTCAGGTTG-3'); IL-1 α 引物 (正义链 5'-TGGTAGTAGCAACCAACGGGA-3', 反义链 5'-ACTTTGATTGAGGGCGTCATTG-3'); IL-1 β 引物 (正义链 5'-ATGATGGCTTATTACACTGGCAA-3', 反义链 5'-GTCGGAGATTTCGTAGCTGGA-3'); 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 引物 (正义链 5'-GGCCAGATCCTGTC-CAAGC-3', 反义链 5'-GTGGGTTTCCACCATTAGCAC-3'); 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 引物 (正义链 5'-CCTCTCTCTAATCAGC-CCTCTG-3', 反义链 5'-GAGGACCTGGGAGTAGATGAGA-3')。反应条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 42 个循环, 实验重复 3 次。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算 mRNA 相对表达水平并进行统计学分析。

1.10 Western blot 检测蛋白表达 收集经过山奈酚和对照处理 48 h 后的肺癌细胞。将细胞加入 RIPA 裂解液中, 以提取细胞内的总蛋白。向样本中加入上样缓冲液, 并在沸水中煮 10 min 以变性蛋白, 为后续的电泳做准备。利用 60 V 的电压进行 SDS-PAGE 电泳, 直至样品条带迁移至与分子量标准 (Marker) 相对应的位置。随后, 将电压提高至 120

V,继续电泳直至蛋白条带迁移至合适的位置,然后停止电泳。使用 100 V 的电压进行 1 h 的电转移,将蛋白从凝胶转移到 PVDF 膜上。转膜完成后,使用 5 % 脱脂牛奶封闭 PVDF 膜 1 h,以减少非特异性结合。封闭后,将膜转移到含有一抗的稀释液中,并在 4 ℃ 下孵育过夜。第 2 天,使用 1 × TBST 缓冲液清洗膜 3 次,去除未结合的一抗。将膜与二抗孵育 1 h,再次使用 1 × TBST 清洗膜,去除未结合的二抗。使用化学发光凝胶成像仪对膜进行成像,检测目标蛋白的表达情况。利用 ImageJ 软件对条带的灰度值进行分析,评估山奈酚对蛋白表达的影响。抗体信息如下: BCL-2 (1 : 500, A19693), E-cadherin (1 : 500, A20798), N-cadherin (1 : 500, A0433), Vimentin (1 : 20 000, A19607), GAPDH (1 : 50 000, A19056), HRP-conjugated Goat anti-Rabbit IgG (H + L) (1 : 2 000, AS014), 均购自武汉 ABclonal 公司。

1.11 统计学处理 采用 GraphPad 对生成的数据进行分析,对应指标使用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间多节点检测采用重复测量资料的方差分析;两组间比较使用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 栀子活性成分及靶点预测 利用 TCMSP 进行检索,识别出栀子中具有潜在药用价值的活性成分。通过设定 OB 不低于 30% 和 DL 不低于 0.18 的严格筛选标准,成功筛选出 13 个活性成分。见表 1。随后,对这些活性成分进行靶点预测分析,收集它们可能影响的生物学靶标,最终得到了 98 个独特的靶点。

表 1 栀子活性成分

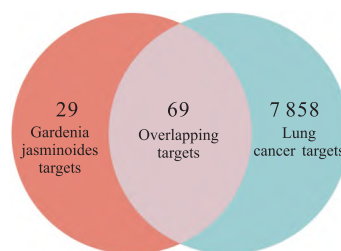
Tab.1 Active ingredients of Gardenia jasminoides

Mol ID	Molecule name	OB (%)	DL
MOL001406	Crocin	35.30	0.26
MOL001941	Ammidin	34.55	0.22
MOL004561	Sudan III	84.07	0.59
MOL000098	Quercetin	46.43	0.28
MOL000358	Beta-sitosterol	36.91	0.75
MOL000422	Kaempferol	41.88	0.24
MOL000449	Stingmasterol	43.83	0.76
MOL001494	Mandenol	42.00	0.19
MOL001506	Supraene	33.55	0.42
MOL001942	Isoimperatorin	45.46	0.23
MOL002883	Ethyl oleate	32.40	0.19
MOL007245	3-Methylkempferol	60.16	0.26
MOL009038	Gbgb	45.58	0.83

2.2 栀子治疗肺癌关键靶点筛选 通过在 Gene

Cards 和 DisGeNET 数据库中进行深入的文献检索,收集了大量与肺癌相关的基因信息,确定了 7 927 个独特的肺癌潜在靶点。随后,将这些肺癌潜在靶点与栀子的活性成分靶点进行对比分析。通过绘制韦恩图,成功地识别出了两者之间的共有靶点,共计 69 个。见图 1A。为了进一步探究这些共有靶点之间的相互作用和网络关系,利用 Cytoscape 软件构建 PPI 网络。对网络中的靶点进行度值排名,筛选出了前 3 个核心靶点及 MYC、ESR1 和 BCL-2 这 3 个与肺癌发生发展密切相关的基因。见图 1B。

A



B

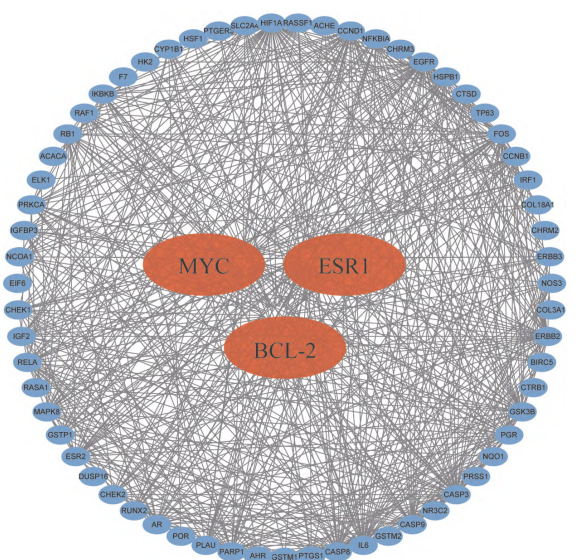


图 1 栀子治疗肺癌关键靶点筛选

Fig.1 Key target screening for the treatment of lung cancer with Gardenia jasminoides Ellis

A: Intersection Venn diagram of the target of Gardenia jasminoides and the target of lung cancer; B: The PPI network of intersection targets between Gardenia jasminoides and lung cancer.

2.3 GO 富集分析与 KEGG 通路分析 利用 Metascape 对 69 个共有靶点进行基因富集分析,GO 富集分析分为 BP、CC、MF 3 个部分。见图 2。其中 BP 主要集中在对氧化应激、雌二醇的反应等生物过程,CC 主要集中在细胞周期蛋白依赖性激酶、转录调节复合体等细胞组分;MF 主要集中在细胞凋亡、类固醇激素受体等分子功能,推测栀子有效成分主

要通过以上途径对肺癌的治疗起作用。KEGG 富集获得 220 条相关信号通路,筛选出具有显著意义的 10 条富集通路,其中细胞凋亡、MAPK 信号通路等与肺癌进展密切相关^[9]。见图 3。

2.4 分子对接结果分析 通过 Autodock 软件对梔子的有效成分与关键靶点进行的分子对接分析显示,山奈酚与 BCL-2 蛋白之间的结合能力尤为突出。见表 2 和图 4。

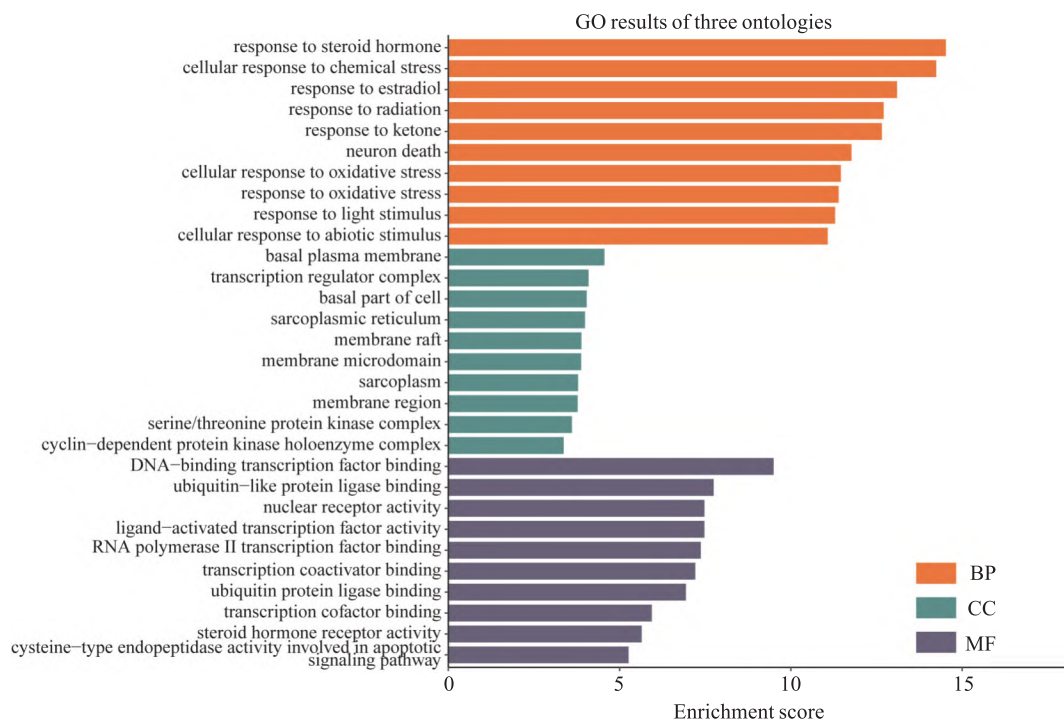


图2 梔子潜在靶标 GO 通路富集分析

Fig.2 Enrichment analysis of potential target GO pathway in *Garden jasminoides*

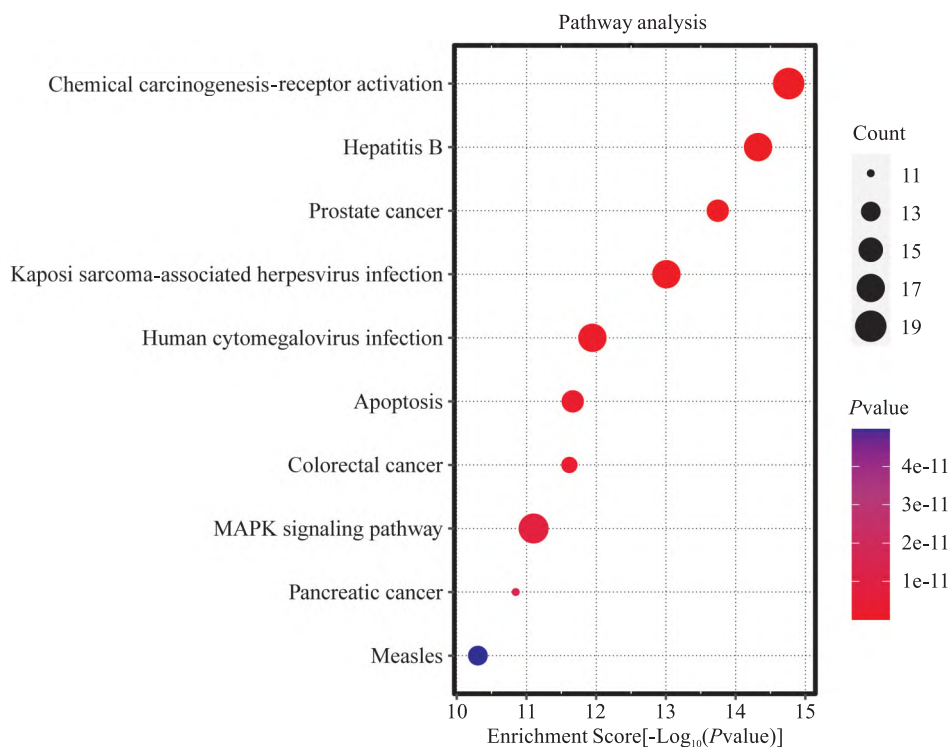


图3 梔子潜在靶标 KEGG 通路富集分析

Fig.3 Enrichment analysis of potential target KEGG pathway in *Gardenia jasminoides*

表2 栀子治疗肺癌关键成分与靶点之间的分子对接结合能

Tab.2 Molecular docking binding energies between key components of Gardenia jasminoides and targets in the treatment of lung cancer

Ingredient	Target	Binding energy (kJ/mol)
Kaempferol	ESR1	-5.0
Kaempferol	BCL-2	-7.8
Kaempferol	MYC	-6.3
Quercetin	ESR1	-5.9
Quercetin	BCL-2	-6.7
Quercetin	MYC	-4.3

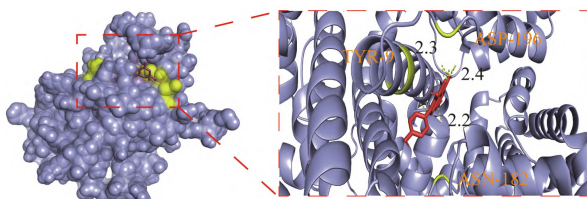


图4 山奈酚与BCL-2分子对接示意图

Fig.4 Schematic diagram of docking between kaempferol and BCL-2 molecules

2.5 CCK-8 检测细胞增殖结果 CCK-8 检测不同时间点肺癌细胞的吸光度。分析结果表明, 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的山奈酚显著抑制了肺癌细胞的增殖能力(均 $P < 0.001$)。见图5。

2.6 山奈酚抑制肺癌细胞的迁移能力 划痕实验结果显示, 加入 50 $\mu\text{mol/L}$ 山奈酚刺激 24 h 后, 细胞的划痕愈合率均小于对照组(均 $P < 0.001$), 表明山奈酚可以抑制肺癌细胞迁移的能力。见图6。

2.7 山奈酚抑制肺癌细胞的侵袭能力 Transwell 实验结果显示, 相对于对照组, 50 $\mu\text{mol/L}$ 的山奈酚刺激组肺癌细胞的穿膜数量均减少(均 $P < 0.05$), 说明山奈酚可以抑制肺癌细胞的侵袭能力。见图7。

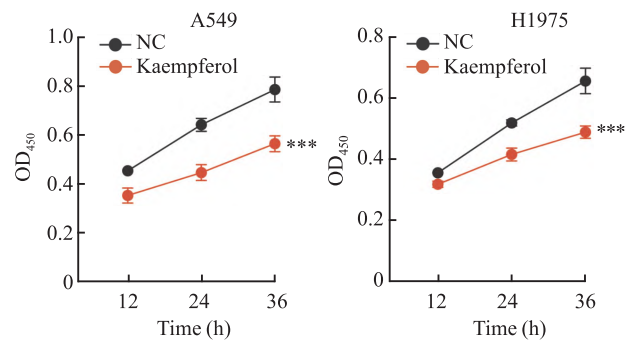
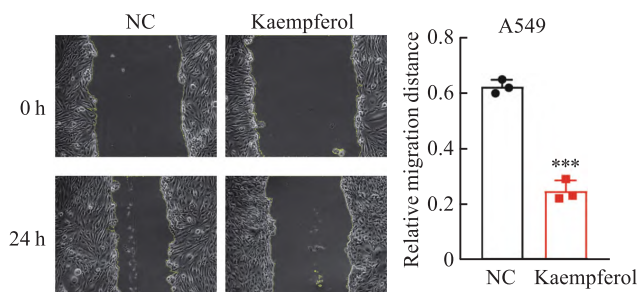


图5 山奈酚对肺癌细胞增殖能力的影响

Fig.5 The effects of kaempferol on the proliferation ability of lung cancer cells

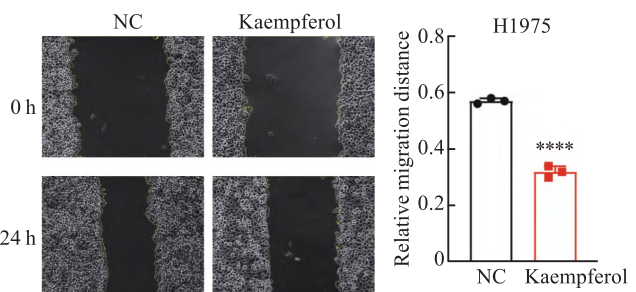
*** $P < 0.001$ vs NC group.

2.8 山奈酚通过 BCL-2 抑制肺癌细胞上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)

Western blot 检测肺癌细胞 BCL-2、EMT 指标蛋白 (E-cadherin、N-cadherin、Vimentin) 的表达水平, 结果显示山奈酚刺激肺癌细胞后, BCL-2 蛋白表达水平下降, 同时 E-cadherin 蛋白表达水平升高, N-cadherin、Vimentin 蛋白表达水平降低(均 $P < 0.05$), 逆转了肺癌细胞的 EMT 表征。见图8。同时收集细胞 RNA, RT-qPCR 检测 BCL-2、肿瘤细胞炎症因子 (IL-6、IL-1 β 、IL-1 α 、TNF- α 、TGF- β) 的表达水平, 结果显示山奈酚处理肺癌细胞后, BCL-2 与炎症因子指标均降低(均 $P < 0.05$)。见图9。

3 讨论

肺癌是目前全球致死率最高的恶性肿瘤, 尽管现有的免疫治疗手段在一定程度上延长了患者的生存期, 但伴随的强烈副作用限制了其应用范围^[10]。因此, 寻找新型、安全且有效的治疗药物显得尤为迫

图6 山奈酚对肺癌细胞迁移能力的影响 $\times 100$ Fig.6 The effects of kaempferol on the migration ability of lung cancer cells $\times 100$ *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs NC group.

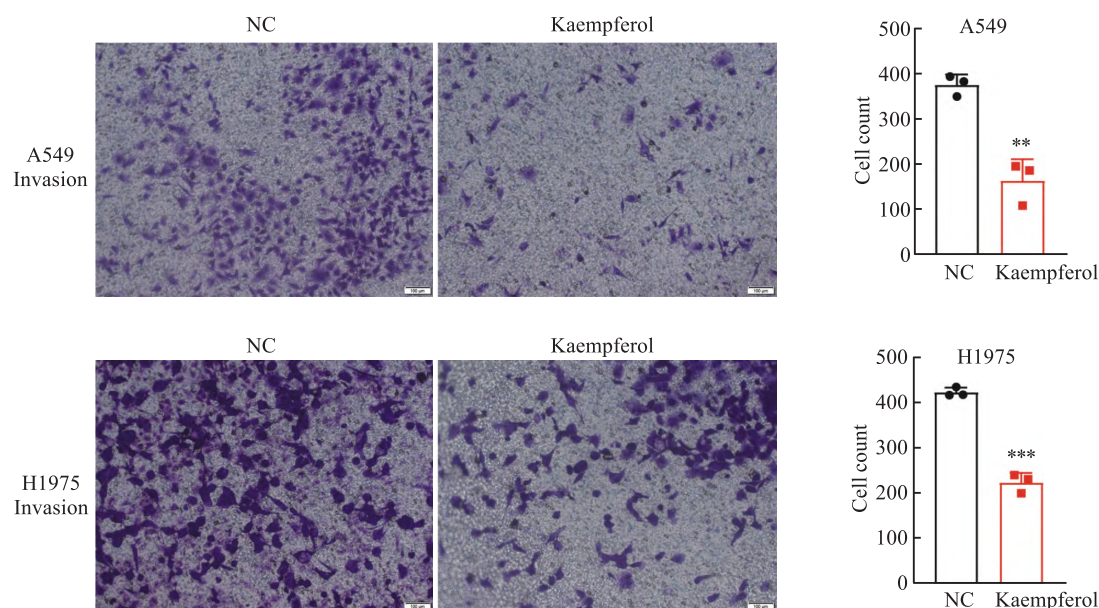


图7 山奈酚对肺癌细胞侵袭能力的影响 ×200

Fig.7 The effects of kaempferol on the invasion ability of lung cancer cells ×200

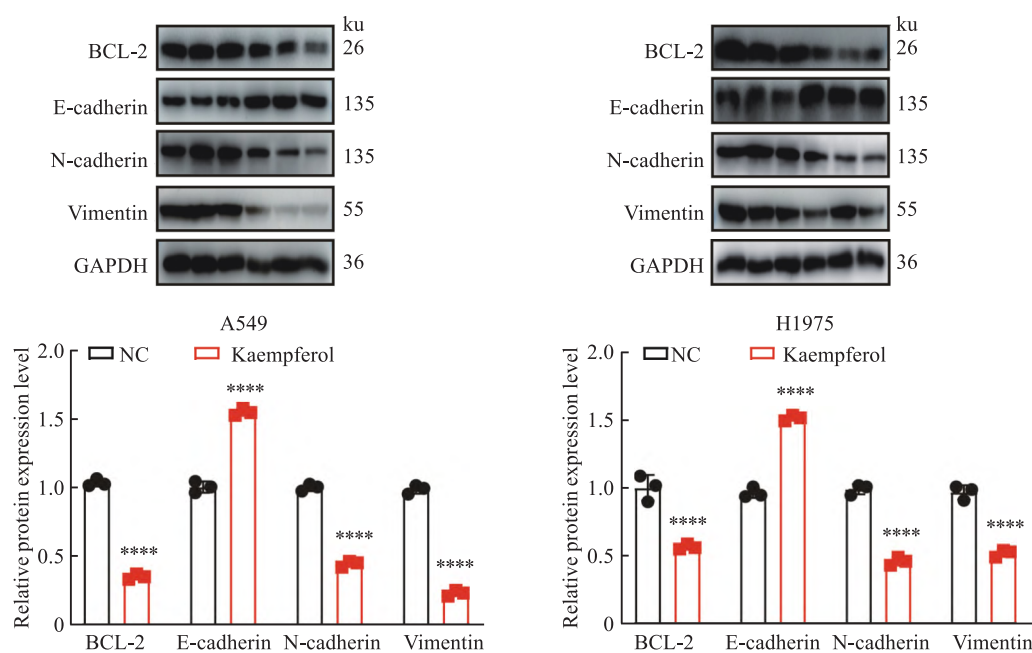
** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs NC group.

图8 山奈酚对肺癌 EMT 与 BCL-2 蛋白水平的影响

Fig.8 The effects of kaempferol on EMT and BCL-2 protein levels in lung cancer

**** $P < 0.0001$ vs NC group.

切。中草药因其能够通过多靶点、多途径干预癌症治疗,已被多项研究^[11]证实在肺癌治疗中具有重要作用。栀子作为一种广泛使用的中药材和保健食品,已被用于治疗多种疾病,如发热性烦躁不安和湿热、黄疸等。研究^[12]表明,栀子提取物栀子苷对胃癌、口腔鳞状细胞癌、肝癌等具有抗肿瘤活性。然

而,栀子中主要活性成分对肺癌治疗的具体影响尚不明确。该研究采用数据挖掘和网络药理学的方法,探索栀子活性成分在肺癌治疗中的潜在作用。通过分子对接模型,明确了活性成分与靶点之间的结合能力,并进一步通过体外细胞实验验证了栀子活性成分对肺癌细胞增殖、迁移、侵袭以及炎症因子

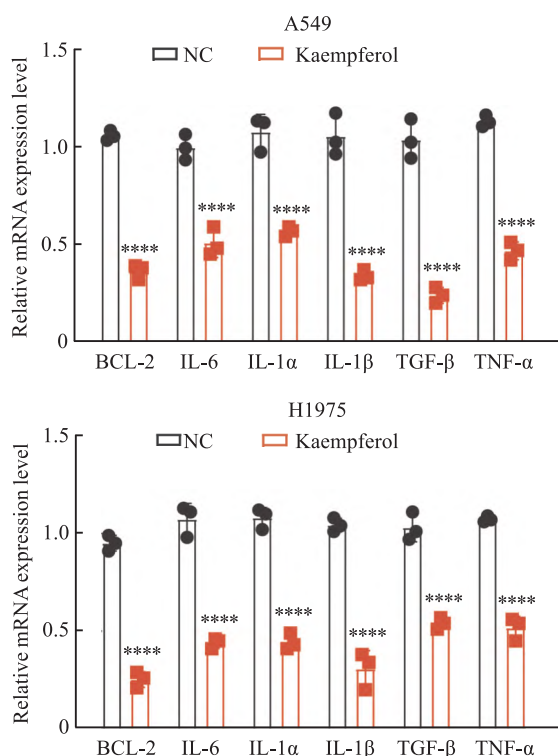


图9 山奈酚对肺癌炎症因子与 BCL-2 基因表达水平的影响

Fig.9 The effects of kaempferol on inflammatory factors and BCL-2 gene expression levels in lung cancer

**** $P < 0.0001$ vs NC group.

表达的抑制效果,从而为栀子作为中药治疗肺癌提供了实验依据。本研究结果表明,栀子中的活性成分山奈酚与肺癌关键靶标 BCL-2 展现出显著的结合能力,并能有效抑制肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。此外,山奈酚还能抑制肺癌细胞的 EMT 过程和炎症因子的表达。

通过网络药理学方法,深入分析栀子中的关键活性成分,包括槲皮素、异欧前胡素、山奈酚和 β -谷甾醇等^[13],显示槲皮素和山奈酚在降低疾病中的炎症因子表达方面具有显著的效果。通过分子对接技术,该研究进一步探索栀子活性成分与肺癌相关靶点 BCL-2、ESR1、MYC 的结合能力,结果表明山奈酚与 BCL-2 的结合效能最高。因此,选择山奈酚作为栀子治疗肺癌的主要活性成分,并对其抗癌效果进行深入研究。采用 CCK-8 实验检测山奈酚对肺癌细胞增殖能力的影响。结果显示,山奈酚在 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下能显著抑制肺癌细胞的增殖。此外,考虑到肺癌细胞容易迁移、侵袭至肝、脑等器官,该研究通过划痕愈合实验和 Transwell 实验评估了山奈酚对肺癌细胞迁移和侵袭能力的影响。实验结果表明,山奈酚能有效抑制肺癌细胞的迁移和侵袭。

EMT 是肿瘤迁移侵袭过程中的一个重要标志,Western blot 检测显示山奈酚能够逆转肺癌细胞的 EMT 进程,具体表现为 E-cadherin 蛋白表达水平的升高,而 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达水平的降低。此外,qRT-PCR 检测显示山奈酚处理后,BCL-2 以及多种炎症因子的表达水平都有所降低,进一步证实了山奈酚通过结合 BCL-2 蛋白抑制肺癌细胞 EMT 和分泌炎症因子的能力。

综上所述,该研究揭示了栀子中的关键活性成分山奈酚在治疗肺癌中的重要作用,它针对 BCL-2 这一关键靶点,有效抑制了肺癌细胞的增殖、迁移、侵袭以及 EMT 等关键生理过程。但山奈酚精确调控 BCL-2 以抑制肺癌细胞的具体分子机制仍需进一步探索。

参考文献

- [1] Bade B C, Dela Cruz C S. Lung cancer 2020: epidemiology, etiology, and prevention[J]. Clin Chest Med, 2020, 41(1): 1 - 24. doi:10.1016/j.ccm.2019.10.001.
- [2] Nooreldeen R, Bach H. Current and future development in lung cancer diagnosis[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(16): 8661. doi:10.3390/ijms22168661.
- [3] Li Y, Wu X, Yang P, et al. Machine learning for lung cancer diagnosis, treatment, and prognosis [J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2022, 20(5): 850 - 66. doi:10.1016/j.gpb.2022.11.003.
- [4] Wu F, Wang L, Zhou C. Lung cancer in China: current and prospect[J]. Curr Opin Oncol, 2021, 33(1): 40 - 6. doi:10.1097/CCO.0000000000000703.
- [5] Jedlička V. Surgical treatment of lung cancer[J]. Klin Onkol, 2021, 34(Suppl 1): 35 - 42. doi:10.48095/cko2021s35
- [6] Huang S, Yang J, Shen N, et al. Artificial intelligence in lung cancer diagnosis and prognosis: current application and future perspective[J]. Semin Cancer Biol, 2023, 89: 30 - 7. doi:10.1016/j.semcancer.2023.01.006.
- [7] 李晓梅, 宋金艳, 陈芳, 等. 消消散结汤单药对人乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞耐药性影响的初步研究[J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(7): 1084 - 8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2020.07.019.
- [7] Li X M, Song J Y, Chen F, et al. Experimental study on the effect of single drugs of xiaorusanjietang on human breast cancer drug-resistance cell line MCF-7/ADR[J]. Acta Univ Med Anhui, 2020, 55(7): 1084 - 8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2020.07.019.
- [8] 刘苏, 陈洪晓, 金乐, 等. 整合网络药理学和体外实验探究夏枯草-半枝莲药对治疗乳腺癌的作用及机制[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(7): 1134 - 42. doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2024.07.005.
- [8] Liu S, Chen H X, Jin L, et al. The effect and mechanism of Pru-

- nella vulgaris-Scutellaria barbata herb pairs in the treatment of breast cancer by integrating network pharmacology and *in vitro* experiments[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59(7): 1134–42. doi:10.19405/j.cnki.issn1000–1492.2024.07.005.
- [9] Poulidakos P I, Sullivan R J, Yaeger R. Molecular pathways and mechanisms of BRAF in cancer therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(21): 4618–28. doi:10.1158/1078–0432.CCR–21–2138.
- [10] Jha S K, De Rubis G, Devkota S R, et al. Cellular senescence in lung cancer: molecular mechanisms and therapeutic interventions [J]. *Ageing Res Rev*, 2024, 97: 102315. doi:10.1016/j.arr.2024.102315.
- [11] Miao K, Liu W, Xu J, et al. Harnessing the power of traditional Chinese medicine monomers and compound prescriptions to boost cancer immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1277243. doi:10.3389/fimmu.2023.1277243.
- [12] Kim E S, Jeong C S, Moon A. Genipin, a constituent of *Gardenia jasminoides* Ellis, induces apoptosis and inhibits invasion in MDA-MB-231 breast cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(2): 567–72. doi:10.3892/or.2011.1508.
- [13] Hou Z, Sun L, Jiang Z, et al. Neuropharmacological insights into *Gardenia jasminoides* Ellis: harnessing therapeutic potential for central nervous system disorders[J]. *Phytomedicine*, 2024, 125: 155374. doi:10.1016/j.phymed.2024.155374.

Research on the mechanism of Kaempferol targeting BCL-2 to inhibit lung cancer from the perspective of network pharmacology

Chen Jiandong¹, Lv Yingying², Xu Zheng², Zhang Miao², Liu Luyao², Wang Peng²

(¹*Dept of Laboratory Medicine, Shu Guang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200135*; ²*Dept of Laboratory Medicine, Shanghai Seventh People's Hospital, Shanghai 200135*)

Abstract Objective To investigate the potential therapeutic mechanisms of kaempferol, an active component in the traditional Chinese medicine gardenia, for lung cancer treatment using a network pharmacology approach.

Methods The main active ingredients and potential targets of *Gardenia jasminoides* were obtained through the Traditional Chinese Medicine Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP), and combined with the lung cancer related target information collected from Gene Cards and OMIM databases, the intersection targets of *Gardenia jasminoides* and lung cancer treatment were determined by drawing Venn diagrams. Further screening of core targets was conducted through PPI network analysis, and gene ontology (GO) function and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed using the Metascape platform. Auto dock software was used to evaluate the binding affinity between the active ingredients of *Gardenia jasminoides* and target proteins. In terms of experiments, cell proliferation ability was evaluated through CCK-8 assay, cell migration and invasion ability were detected through cell scratch healing assay and Transwell assay, and the expression levels of epithelial mesenchymal transition (EMT) protein and inflammatory factors were detected by Western blot and RT-qPCR. **Results** The active ingredient kaempferol in *Gardenia jasminoides* exhibited significant binding ability to the key target of lung cancer, B-cell lymphoma-2 (BCL-2), and could inhibit the proliferation, migration, and invasion of lung cancer cells. The results of Western blot and RT-qPCR further confirmed that kaempferol could promote an increase in E-cadherin, a decrease in N-cadherin and Vimentin, and reduce the expression of inflammatory factors. **Conclusion** The active ingredient of *Gardenia jasminoides*, kaempferol, inhibits the proliferation, migration and invasion of lung cancer cells by targeting BCL-2, while reversing EMT progression and suppressing the expression levels of inflammatory cytokines in lung cancer cells, thus preventing lung cancer progression.

Key words gardenia jasminoides; kaempferol; lung cancer; BCL-2; network pharmacology

Fund programs National Natural Science Foundation of China(No. 82204845); Natural Science Foundation of Shanghai(No. 22ZR1447900)

Corresponding author Wang Peng, E-mail: wanghahapeng@sina.cn