

基于基因表达综合数据库芯片挖掘结合网络药理学与分子对接探讨芒果苷治疗口腔黏膜下纤维化的机制研究

宋子毅¹ 杨超² 张云龙³ 张柱江³ 任天娇³ 张欣悦⁴ 李雪⁴

1. 齐齐哈尔医学院口腔医学院, 齐齐哈尔 161006;

2. 齐齐哈尔医学院医学技术学院, 齐齐哈尔 161006;

3. 齐齐哈尔医学院公共卫生学院, 齐齐哈尔 161006;

4. 齐齐哈尔医学院基础医学院, 齐齐哈尔 161006

[摘要] **目的** 基于基因表达综合(GEO)数据库芯片挖掘、网络药理学及分子对接技术探讨芒果苷(MF)治疗口腔黏膜下纤维化(OSF)的核心作用靶标及潜在作用机制。**方法** 基于GEO芯片挖掘OSF的潜在治疗靶点,利用数据库预测MF潜在作用靶标和收集OSF疾病靶标,使用EVENN平台绘制维恩图,STRING数据库绘制蛋白质互作(PPI)网络,DAVID平台进行基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析,Cytoscape 3.10.1软件绘制药物-靶标-通路-疾病网络图,AutoDocktools 1.5.6软件进行分子对接分析及可视化。**结果** 从多种数据库挖掘得到MF潜在靶标356个,OSF疾病靶标360个,选取PPI网络中排名前15个关键靶蛋白,GO功能及KEGG通路富集分析结果显示,MF治疗OSF主要涉及高级糖基化终末产物-受体(AGE-RAGE)、表皮生长因子受体(EGFR)等信号通路。分子对接显示,MF与丝氨酸蛋白激酶(AKT1)、肿瘤坏死因子(TNF)等核心靶点有较佳结合活性。**结论** MF可能通过多靶点、多途径的方式对OSF发挥治疗作用。

[关键词] 口腔黏膜下纤维化; 芒果苷; 基因表达综合数据库; 网络药理学; 分子对接

[中图分类号] R781.5 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2024.2024050



本文链接 开放科学标识码

Mechanism of mangiferin in the treatment of oral submucous fibrosis based on Gene Expression Omnibus database chip mining combined with network pharmacology and molecular docking

Song Ziyi¹, Yang Chao², Zhang Yunlong³, Zhang Zhujiang³, Ren Tianjiao³, Zhang Xinyue⁴, Li Xue⁴

1. School of Stomatology, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161006, China; 2. College of Medical Technology, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161006, China; 3. School of Public Health, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161006, China; 4. School of Basic Medicine, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161006, China

Supported by: National College Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program (202311230035); Heilongjiang Provincial Natural Science Foundation (LH2021H120); Qiqihar Municipal Science and Technology Bureau Joint Guidance Project (LSFGG-2023041); Doctoral Foundation of Qiqihar Academy of Medical Sciences (QMSI2022B-03; QMSI2023E-02)

Correspondence: Li Xue, E-mail: lixue_0720@163.com

[收稿日期] 2024-01-31; **[修回日期]** 2024-04-25

[基金项目] 国家级大学生创新创业训练计划项目(202311230035); 黑龙江省自然科学基金项目(LH2021H120); 齐齐哈尔市科技计划联合引导项目(LSFGG-2023041); 齐齐哈尔医学科学院青年博士项目(QMSI2022B-03; QMSI2023E-02)

[作者简介] 宋子毅, 学士, E-mail: m19845895120@163.com

[通信作者] 李雪, 讲师, 博士, E-mail: lixue_0720@163.com

[Abstract] **Objective** This study aims to investigate the primary target and potential mechanism of mangiferin (MF) in treating oral submucous fibrosis (OSF) through Gene Expression Omnibus (GEO) database chip mining, network pharmacology, and molecular docking techniques.

Methods Potential therapeutic targets for OSF were

identified using GEO chip data. The potential targets of MF were predicted, and disease-related targets for OSF were collected from databases. A Venn diagram was created using the EVenn platform to identify overlapping targets. The protein-protein interaction (PPI) network was constructed using the STRING database. Gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses were performed using the DAVID platform. Cytoscape 3.10.1 software was used to visualize a drug-target-pathway-disease network, while AutoDocktools 1.5.6 software was employed for molecular docking analysis. **Results** A total of 356 potential targets for MF and 360 disease-related targets for OSF were obtained from multiple databases. The top 15 key target proteins in the PPI network were selected as significant candidates. GO function and KEGG pathway enrichment analyses revealed that MF treatment primarily involved advanced glycation end products-receptor (AGE-RAGE), epidermal growth factor receptor (EGFR), and other signaling pathways associated with OSF pathogenesis. Molecular docking analysis demonstrated that MF exhibited a strong binding activity toward AKT serine kinase 1 (AKT1), tumor necrosis factor (TNF), and other core targets. **Conclusion** These findings suggest that MF may exert its therapeutic effects on OSF through a multitarget approach involving various signaling pathways.

[Key words] oral submucous fibrosis; mangiferin; Gene Expression Omnibus database; network pharmacology; molecular docking

口腔黏膜下纤维化 (oral submucous fibrosis, OSF) 是一种由口腔黏膜炎症引起的具有复杂发病机制的慢性进行性疾病^[1]。其被广泛认为是口腔鳞状细胞癌 (oral squamous cell carcinoma, OSCC) 的癌前病变。据流行病学和临床研究^[2]报道,在我国 OSF 的总体恶性转化率为 1.2%~2.2%。咀嚼槟榔是 OSF 发病的主要原因之一。研究^[3]表明, 槟榔碱是引起 OSF 发病的主要生物碱, 其可通过刺激成纤维细胞生长因子和细胞因子的表达, 来增强胶原沉积并抑制胶原降解。此外, 炎症和自身免疫, 维生素 B、C 和铁、铜的缺乏, 酒精、辛辣食物的摄入, 表观遗传调控等因素均可诱发 OSF 的发生^[4-5]。OSF 临床上分为三期, 早期 OSF 患者表现为口腔炎和水泡; 中期 OSF 患者表现出苍白色病损, 触诊较硬, 可见网格状纤维条索; 晚期 OSF 患者可见癌前病变中的白斑和红斑^[6]。目前, OSF 的治疗大多侧重于减少炎症的发生和改善口腔张口运动, 尚缺乏理想的治疗药物。

目前 OSF 临床一线用药主要以曲安奈德等糖皮质激素类药物为主。中医学认为, OSF 多因湿热侵袭, 毒邪上串, 痹及脉络, 致血气不畅、经络不通而痰凝蕴毒所致^[7]。其治疗原则应是“益气活血, 软坚散结”。芒果苷 (mangiferin, MF) 是一种天然黄酮类化合物, 具有抗菌、降低胆固醇、抗过敏、抗肿瘤、抗氧化和免疫调节等多种生物活性^[8]。其可通过抑制炎症、氧化应激和纤维化来改善肾、肝等多种器官纤维化^[9-10]。而 OSF 与其他器官纤维化的发病机制极为相似^[11], 这提示 MF 也可能是治疗 OSF 的潜在有效药物。然而, 尚未见有关 MF 对 OSF 影响的相关报道, 其治疗机制亦不

明确。

网络药理学是从系统的角度对方剂中的活性成分进行分析并阐明其可能机制的研究领域。符合中医的整体观念和辨证论治的核心思想, 被证实是一种更适合分析中医药多种成分、靶标和通路的技术手段^[12]。本文基于基因表达综合 (Gene Expression Omnibus, GEO) 数据库芯片挖掘结合网络药理学与分子对接探讨 MF 治疗 OSF 核心作用靶标及潜在作用机制, 为新药研发及临床应用提供新的线索。

1 材料和方法

1.1 OSF 基因芯片数据获取

利用 GEO 数据库以“oral submucous fibrosis”为关键词, 获取 GSE64216 的人源芯片数据集, 芯片平台为 GPL10558。下载 OSF 与 Norml Control 组芯片数据, 对获取的 4 例 OSF 切检和 2 例正常组织切检进行分析处理, 以 $P < 0.05$ 且 $|\log_{2}FC| \geq 1$ 为条件筛选差异表达基因, 绘制火山图与热图。

1.2 MF 作用靶标收集

以“mangiferin”为关键词, 在 Pubchem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中获得 MF 的 3D 化学结构、Smile 号、InChIkey 号等相关信息, 通过 PharmMapper (<https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)、STITCH 数据库 (<http://stitch.embl.de/>)、TCMSP 数据库 (<https://www.tcm-sp.com/>)、Swiss Target Prediction 数据库 (<http://swisstargetprediction.ch/>) 进行药物活性分子靶标预测, 物种选择“HomoSapiens”。

1.3 OSF 疾病靶标收集

使用 OMIM (<http://www.omim.org/>)、STRING 数据库 (<http://string-db.org/>)、GENE CARDS (<https://www.genecards.org/>)、DisGeNET (<http://www.disgenet.org/>) 数据库，输入关键字“oral submucous fibrosis”，获取 OSF 相关靶标，结合 UniPort 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 确认并转换。整合剔除上述靶标。利用 EVen 平台 (<http://www.e-hbio.com/test/venn>)，将药物相关靶标及疾病相关靶标进行映射，获得 MF 治疗 OSF 的潜在关键作用靶标，并绘制维恩图。

1.4 靶标蛋白质互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络的构建

将关键靶标导入 STRING 数据库 v11.0 (<https://string-db.org/>)，构建 PPI 网络，物种限定为“Homo Sapiens”，置信度选择“High Confidence”，获得 PPI 关系。将所得数据导入 Cytoscape v3.10.1 进行可视化分析，绘制 PPI 网络图。网络中的节点大小和颜色深浅反映 Degree 的大小，边的粗细和颜色深浅反映 Combine score 的大小。

1.5 相关靶标功能及通路富集分析

将关键交集靶标上传至 DAVID 平台 (<https://david.ncifcrf.gov/>)，进行京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析和基因本体论 (gene ontology, GO) 功能富集分析，物种限定为“Homo sapiens”，GO 包括生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 三方面。通路分析选择 KEGG，结果设置为 FDR<0.1 和 P<0.05，选取排名前十分析结果，绘制条形图与弦图。

1.6 “药物—靶标—通路—疾病”可视化网络构建

将映射得到的关键靶标与疾病相关靶标、相关通路富集进行匹配，运用 Cytoscape 3.10.1 软件 (<https://cytoscape.org/>) 将获得的相互关系进行可视化分析，绘制药—靶标—通路—疾病网络药理图。连线数越多的通路及靶点，在网络中越重要。

1.7 分子对接分析及可视化

将 PPI 网络中 Degree 排名前 4 的靶标进行分子对接分析。从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中下载相应靶标蛋白 3D 结构，上传至 Auto-Docktools 1.5.6 软件进一步计算、分析等模拟对接处理，得到对接数据。通过两者结合能来评价其结合活性；结合能小于 -5.0 kcal/mol 通常表明供体和受体之间具有良好的结合活性，而结合力小于

-7.0 kcal/mol 表明结合活性更强^[13]。最后在 PyMol 软件中将 MF-靶点的最佳对接数据可视化。

2 结果

2.1 OSF 差异基因分析

从 GEO 数据库下载 GSE64216 芯片与平台数据，共 6 个样本，得到差异基因共 945 个，其中上调基因 567 个，下调基因 378 个。分别绘制火山图 (图 1) 和前 20 个上调差异基因与前 20 个下调差异基因的热图 (图 2)。

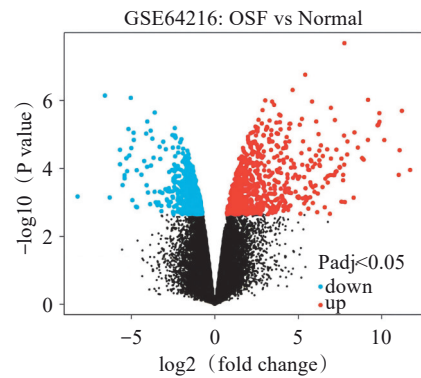


图 1 OSF 差异基因火山图

Fig 1 Volcano map of OSF differential gene

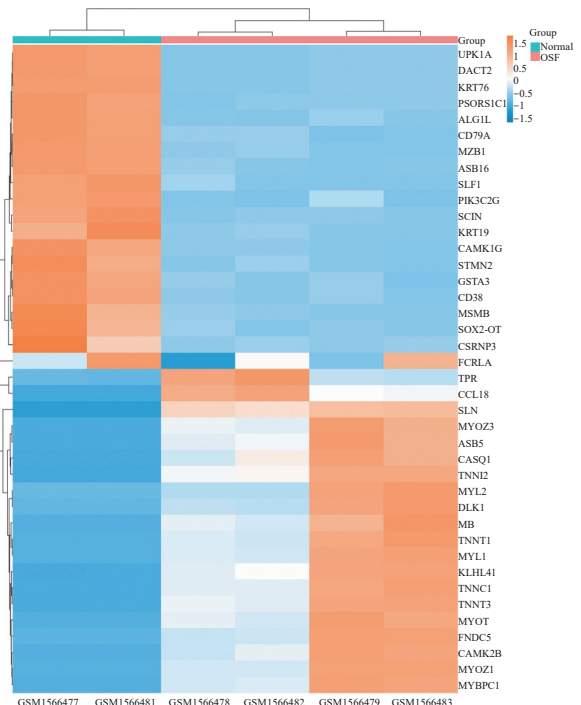


图 2 GSE64216 的基因芯片差异表达热图

Fig 2 Differential expression heat map of GSE64216 gene chip

2.2 MF 治疗 OSF 的潜在作用靶标预测

PharmMapper、STITCH、TCMSP、Swiss Target Prediction 四大数据库分别预测得到 MF 潜在作

用靶标 293、10、2、72 个, 合并去重得到 356 个潜在靶标。进入 OMIM、STRING、GENE CARDS 及 DisGeNET 数据库, 分别收集 OSF 靶标 20、25、290、106 个, 整合并剔除重复项后共获得疾病靶标 360 个。使用 Venn 平台绘制维恩图 (图 3), 获得共同靶标 40 个。

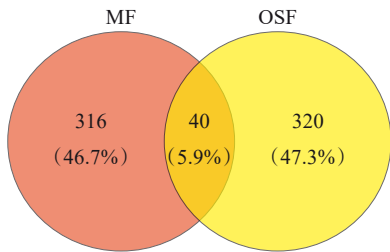


图 3 MF 治疗 OSF 潜在作用靶标 Venn 图

Fig 3 Venn diagram of potential target of MF for OSF treatment

2.3 MF-OSF 共同靶标的筛选

将 40 个关键靶标导入 STRING 数据库, 置信度选择 High Confidence, 设置节点、连线等信息, 获得 PPI 关系 (图 4), 导入 Cytoscape 进行可视化分析, 绘制 PPI 网络图 (图 5)。根据靶标 PPI 网络, 分析网络拓扑参数, 选择排名前 15 的靶标, 作为 PPI 网络中的潜在关键靶标 (表 1)。丝氨酸蛋白激酶 1 (AKT serine kinase 1, AKT1)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 是 PPI 网络中节点度排序前 3 位的核心靶标, 可能是 MF 治疗 OSF 的关键靶标。

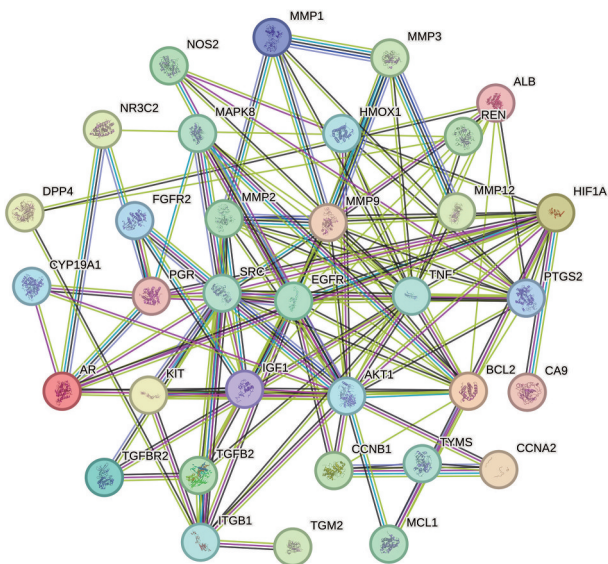


图 4 作用靶标基因 PPI 图

Fig 4 PPI map of targeted genes

2.4 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

利用 DAVID 数据库将获得的药物与疾病的交

集靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析, 并做可视化处理 ($P \leq 0.05$), 获得 BP、CC、MF 分别为 302、29 和 46 条, KEGG Pathway 97 条。GO 分析显示, MF 主要参与了细胞缺氧、细胞凋亡、平滑肌细胞增殖、细胞外基质聚集等相关的生物过程; 涉及到受体复合物、细胞间隙等细胞组分; 影响了酶活性、酶结合能力等分子功能 (图 6)。KEGG 分析结果显示, MF 主要可能通过癌症相关通路、高级糖基化终末产物-受体 (advanced glycation end products-receptor, AGE-RAGE)、缺氧诱导因子 1 (hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)、EGFR 等信号通路, 发挥抗 OSF 的作用 (图 7)。

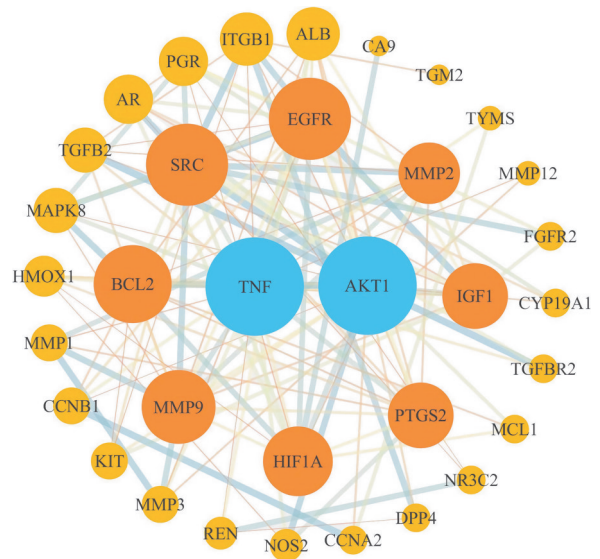


图 5 靶标蛋白 PPI 网络分析

Fig 5 Target protein PPI network analysis

表 1 PPI 网络中 MF 作用于 OSF 的前 15 个关键靶标

Tab 1 MF acts on the top 15 potential key targets of OSF in the PPI network

序号	蛋白名称	度值	接近中心性	中介中心性
1	AKT1	20	0.71	0.21
2	TNF	20	0.70	0.19
3	EGFR	16	0.66	0.09
4	SRC	16	0.65	0.08
5	BCL2	15	0.62	0.05
6	MMP9	14	0.60	0.03
7	HIF1A	13	0.59	0.09
8	PTGS2	12	0.58	0.02
9	IGF1	12	0.58	0.03
10	MMP2	11	0.58	0.02
11	ALB	9	0.55	0.04
12	ITGB1	9	0.55	0.09
13	AR	8	0.52	0.03
14	PGR	8	0.51	0.03
15	MAPK8	7	0.52	0.00

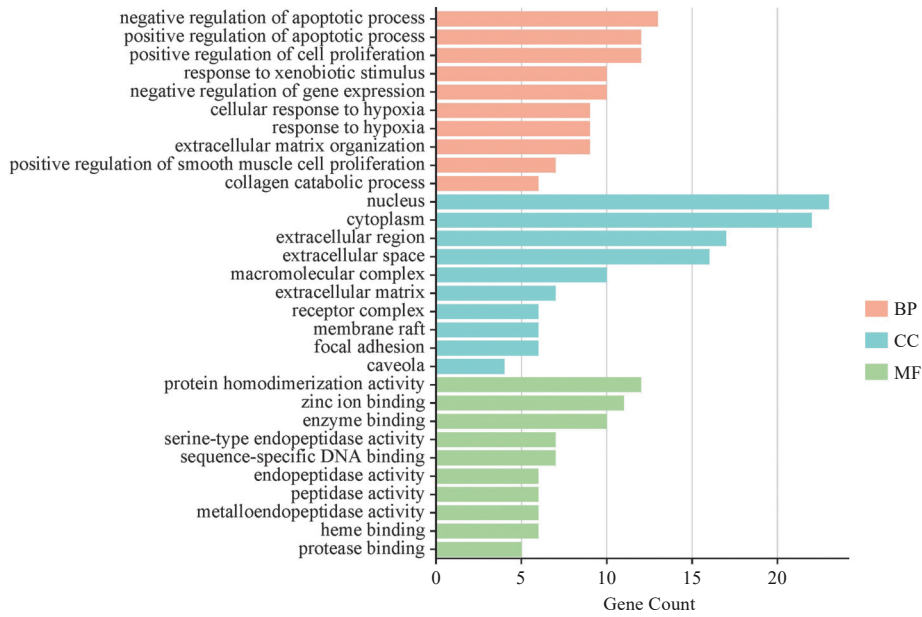


图 6 MF作用靶标的GO分析

Fig 6 GO analysis of MF action targets

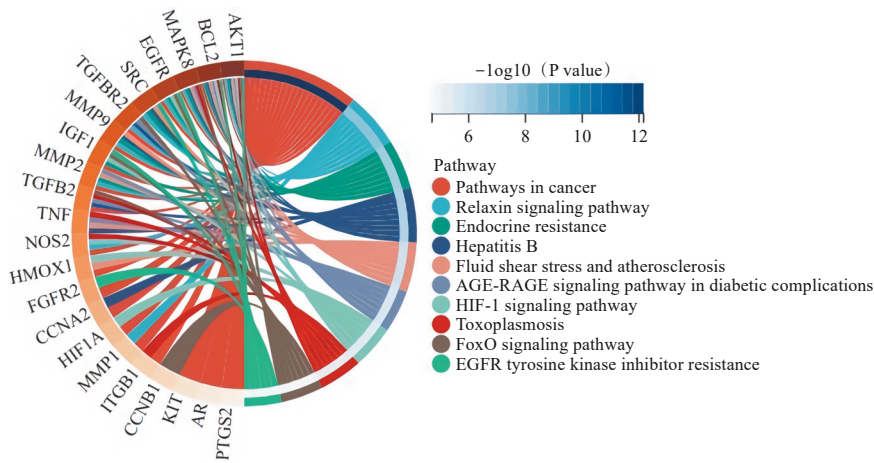


图 7 MF作用靶标的KEGG富集分析

Fig 7 KEGG enrichment analysis of MF action targets

2.5 “药物—靶标—通路—疾病”网络分析

将MF、靶标、富集通路、OSF四项相关数据相互匹配，构建其作用网络（图8）。图中蓝色菱形代表MF作用靶标、绿色菱形代表OSF作用靶标、红色菱形代表两者的交集靶标、碧蓝色倒三角形代表作用通路、黄色圆形代表MF、紫色菱形代表疾病OSF，其相互作用关系用连线所示。由网络图可见，AKT1、TNF、EGFR是连接度较高的靶点，Pathway in cancer、Relaxin是主要的通路途径。此图结果显示了药物—靶标—通路—疾病之间错综的交织关系，反映了药物在体内发挥作用的复杂的生物机制。

2.6 分子对接可视化

分子对接是一种预测配体化合物与已知三维

结构蛋白连接性的技术^[4]。将PPI网络中按Degree值排序前4的靶标AKT1、TNF、EGFR、Src酪氨酸激酶（Src tyrosine kinase, SRC）与MF进行分子对接，预测核心成分与靶点的结合能，分析结合能力（图9）。结果示，结合能均小于-5.0 kcal/mol，分别为-9.0、-8.2、-7.7、-7.8 kcal/mol，MF与靶标具有较强的同源性，与网络药理学平台分析预测的结果相符，进一步预测MF主要是依靠以上靶点来发挥作用。

3 讨论

OSF是一种慢性口腔黏膜性疾病，可以侵犯口腔三大黏膜的任意部位，能促进黏膜下层组织

生成硬化条索, 共同影响黏膜下肌肉、骨骼和关节运动, 最终造成张口受限、言语和吞咽困难等症状。目前 OSF 的治疗方法主要分为三类: 药物治疗、张口锻炼和择期手术。然而, 临床上并没有标准化的治疗方案。MF 作为天然药物的有效成分, 在治疗器官纤维化方面具有一定的研究基础。

体外实验表明, MF 对心脏肌成纤维细胞增殖和活化具有抑制作用^[15]。MF 也可通过抑制糖尿病小鼠肾小球胞外基质的发育、积聚, 降低肾小球基底膜厚度, 抑制肾小球系膜细胞的生长和肾纤维化的发展^[16]。而目前也尚未见 MF 对 OSF 具有治疗效果及潜在作用机制的报道。

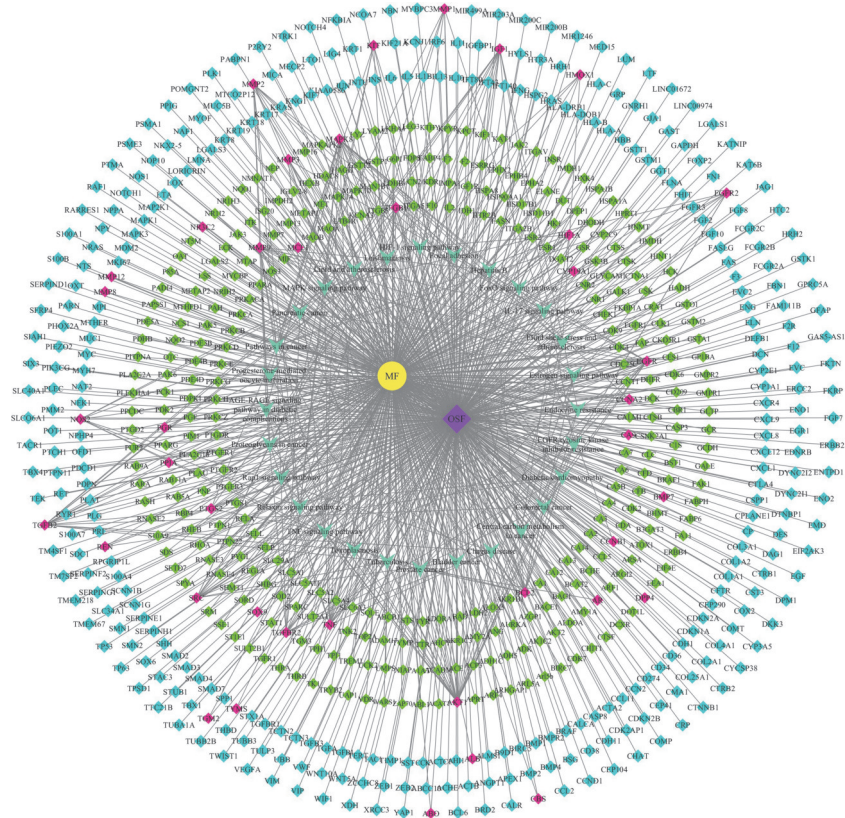
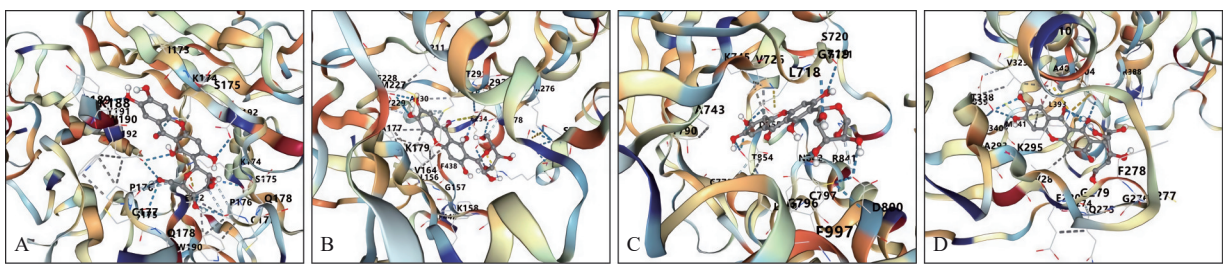


图 8 药物—靶标—通路—疾病可视化网络

Fig 8 Drug-target-pathway-disease visualization network



A: TNF; B: AKT1; C: EGFR; D: SRC。

图 9 MF 与前 4 核心靶标分子对接结果

Fig 9 Results of MF docking with the top 4 core target molecule

本研究利用 GEO 芯片挖掘结合网络药理学与分子对接技术, 通过 PharmMapper、STITCH、TCMSP、Swiss Target Prediction 数据库筛选出了 MF 的 356 个潜在靶标, 再通过 OMIM、GENE CARDS、STRING 及 DisGeNET 数据库筛选出 OSF 的 360 个靶标, 进行比对之后得到 40 个核心靶标基因。PPI 网络和分子对接分析结果表明, AKT1、

TNF、EGFR 等是 MF 治疗 OSF 的关键靶点。AKT1 是 3 种密切相关的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (AKT1、AKT2 和 AKT3) 之一, 它们都是 PI3K 蛋白下游相关蛋白, 参与生物体内细胞增殖、迁移、凋亡及糖代谢等多种信号转导过程^[17]。OSF 是典型的口腔癌前病变特征, 研究^[18]发现, AKT 和 P-AKT 在人 OSF 组织切检早期显著上调, 而后随着 OSF

中晚期进展呈下调趋势。此外, FAK/AKT 信号通路的激活, 会引起 OSF 上皮间质转化, 从而诱导 OSF 癌变。提示 AKT 及其相关通路的激活与 OSF 关系密切, 可为 OSF 的预防和治疗提供全新的思路与导向。TNF 是一种重要的多效性细胞因子, 可通过触发复杂的免疫调节回路, 在组织稳态以及许多炎症性疾病和病理状态中发挥至关重要的作用^[19]。研究^[20]表明, TNF 基因遗传多态性与 OSF 癌前病变和患癌风险密切相关。此外, 抑制 OSF 发生可同时降低 α -平滑肌肌动蛋白、I 型胶原的表达及肌成纤维细胞活性, 减少巨噬细胞中 TNF- α 等各种促炎细胞因子的表达^[21]。提示 TNF 不仅参与口腔黏膜炎症反应, 还可影响肌成纤维细胞的激活、增殖与分化, 在 OSF 的胶原沉积中发挥关键作用。EGFR 是一种重要的膜受体, 它将生长信号转导到细胞中, 维持细胞正常的增殖、分裂、存活和癌症发展^[22]。研究^[23]发现, 随着口腔颊黏膜脱落细胞异型增生, EGFR 的表达显著增加。提示 EGFR 与 OSF 发生发展密切相关, 其异常表达可能影响口腔组织的修复与再生, 可作为评估 OSF 高危患者的生物标志物。因此, 本研究预测的核心靶标与 OSF 的发生发展密切相关, 调控这些靶标有可能是干预 OSF 的潜在有效手段。

富集分析是对关键靶标生物功能的进一步阐明。本研究 GO 分析结果显示, MF 对 OSF 的治疗作用可能主要通过调控细胞缺氧、细胞凋亡、平滑肌细胞增殖等生物学过程实现。KEGG 功能富集和药物—靶标—通路—疾病网络分析结果显示, 核心靶标基因在癌症、内分泌拮抗、叉头框蛋白 (forkhead box protein, FoxO)、AGE-RAGE、HIF-1、EGFR 等信号通路中被富集, 提示 MF 可通过靶向以上信号通路, 发挥抗 OSF 作用。有研究^[24]表明, 靶向调控 AGE-RAGE 信号通路可以有效抑制肝、肾等纤维化, 提示, AGE-RAGE 信号通路可能在 OSF 发生发展中发挥重要作用, 靶向调控该信号通路, 可能是阻止 OSF 进展的新思路。另有研究^[25]表明, EGF/EGFR 信号通路参与咀嚼槟榔导致的 OSF 等相关疾病的发生发展。此外, 有学者^[26]通过对正常黏膜、OSF、OSCC 组织的长链非编码 RNA (lncRNA) 测序, 发现 lncRNA 参与了 OSF 不同发展阶段的调控。进一步的功能富集分析表明, 这些差异表达的 lncRNA 可能通过对 EGFR 相关信号通路的表达调控参与 OSF 炎症反应及病理改变。HIF-1 α 在 OSF 颊黏膜的成纤维细胞中显著上调, 其可作为 OSF 恶变的标志物^[27]。HIF-

1 α 相关信号通路的激活, 可能通过上调口腔黏膜下层细胞外基质的生成, 促进 OSF 的发生^[28]。此外, 学者^[29]使用 MF, 通过靶向干预 AMPK/FoxO3/SIRT3 轴抑制内皮—间质转化, 减轻糖尿病小鼠肺纤维化进展。因此, MF 具有成为 OSF 患者治疗药物的潜在可能。

综上所述, 本文基于 GEO 芯片挖掘结合网络药理学与分子对接技术, 预测了 MF 可通过 AKT-1、TNF、EGFR 等多靶点, 调控 FoxO、AGE-RAGE、HIF-1、EGFR 等多条信号转导通路, 介导细胞缺氧、凋亡等生物学功能, 抑制 OSF 进展。然而, 本项研究结果仅为分子机制的理论预测, 其作用机制的阐明还需要结合基础实验研究及临床数据分析, 以实现更深入的探索。

利益冲突声明: 作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

- [1] Gayathri K, Malathi N, Gayathri V, et al. Molecular pathways of oral submucous fibrosis and its progression to malignancy[J]. Arch Oral Biol, 2023, 148: 105644.
- [2] Liu B, Shen M, Xiong J, et al. Synergistic effects of betel quid chewing, tobacco use (in the form of cigarette smoking), and alcohol consumption on the risk of malignant transformation of oral submucous fibrosis (OSF): a case-control study in Hunan Province, China[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2015, 120(3): 337-345.
- [3] Das A, Giri S. A review on role of arecoline and its metabolites in the molecular pathogenesis of oral lesions with an insight into current status of its metabolomics [J]. Prague Med Rep, 2020, 121(4): 209-235.
- [4] Arakeri G, Rai KK, Hunasgi S, et al. Oral submucous fibrosis: an update on current theories of pathogenesis[J]. J Oral Pathol Med, 2017, 46(6): 406-412.
- [5] Tom A, Baghirath V, Krishna B, et al. Ultrastructural changes of collagen in different histopathological grades of oral submucous fibrosis[J]. J Pharm Bioallied Sci, 2019, 11(Suppl 2): S309-S313.
- [6] Shen YW, Shih YH, Fuh LJ, et al. Oral submucous fibrosis: a review on biomarkers, pathogenic mechanisms, and treatments[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(19): 7231.
- [7] 郭锦材, 谢辉. 中医药治疗口腔黏膜下纤维化的临床研究进展[J]. 口腔医学研究, 2019, 35(5): 423-426.
Guo JC, Xie H. Research progress of traditional chinese medicine in treatment of oral submucous fibrosis[J]. J

- Oral Sci Res, 2019, 35(5): 423-426.
- [8] Dutta T, Das T, Gopalakrishnan AV, et al. Mangiferin: the miraculous xanthone with diverse pharmacological properties[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2023, 396(5): 851-863.
- [9] Zhang L, Huang C, Fan S. Mangiferin and organ fibrosis: a mini review[J]. Biofactors, 2021, 47(1): 59-68.
- [10] Zhang L, Liu C, Yin L, et al. Mangiferin relieves CCl₄-induced liver fibrosis in mice[J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 4172.
- [11] Chen J, Liu B, Xie X, et al. Comparative molecular analysis of oral submucous fibrosis and other organ fibrosis based on weighted gene co-expression network analysis[J]. J Cent South Univ (Med Sci), 2022, 47(12): 1663-1672.
- [12] Wang X, Wang ZY, Zheng JH, et al. TCM network pharmacology: a new trend towards combining computational, experimental and clinical approaches[J]. Chin J Nat Med, 2021, 19(1): 1-11.
- [13] Dong Y, Zhao Q, Wang Y. Network pharmacology-based investigation of potential targets of astragalus membranaceous-angelica sinensis compound acting on diabetic nephropathy[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 19496.
- [14] Wang N, Li Q. Simultaneous extraction and analysis of seven major saikosaponins from bupleuri radix and the exploration of antioxidant activity and its mechanism[J]. Molecules, 2023, 28(15): 5872.
- [15] Song J, Meng Y, Wang M, et al. Mangiferin activates Nrf2 to attenuate cardiac fibrosis via redistributing glutaminolysis-derived glutamate[J]. Pharmacol Res, 2020, 157: 104845.
- [16] Song Y, Liu W, Tang K, et al. Mangiferin alleviates renal interstitial fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice through regulating the PTEN/PI3K/Akt signaling pathway[J]. J Diabetes Res, 2020, 2020: 9481720.
- [17] Lan A, Du J. Potential role of Akt signaling in chronic kidney disease[J]. Nephrol Dial Transplant, 2015, 30(3): 385-394.
- [18] Lin Y, Jiang Y, Xian H, et al. Expression and correlation of the Pi3k/Akt pathway and VEGF in oral submucous fibrosis[J]. Cell Prolif, 2023, 56(11): e13491.
- [19] Siegmund D, Wajant H. TNF and TNF receptors as therapeutic targets for rheumatic diseases and beyond[J]. Nat Rev Rheumatol, 2023, 19(9): 576-591
- [20] Gupta S, Nigam K, Srivastav RK, et al. Genetic polymorphism of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and tumor necrosis factor beta (TNF- β) genes and risk of oral pre-cancer and cancer in North Indian population[J]. Oral Maxillofac Surg, 2022, 26(1): 33-43.
- [21] Guo ZX, Zhang Z, Yan JF, et al. A biomaterial-based therapy using a sodium hyaluronate/bioglass composite hydrogel for the treatment of oral submucous fibrosis[J]. Acta Biomater, 2023, 157: 639-654.
- [22] Wu L, Cheng Y, Geng D, et al. O-GlcNAcylation regulates epidermal growth factor receptor intracellular trafficking and signaling[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022, 119(10): e2107453119.
- [23] 郭锦材, 谢辉, 吴昊, 等. 姜黄素治疗口腔黏膜下纤维性变有效性的Meta分析[J]. 华西口腔医学杂志, 2021, 39(2): 195-202.
- Guo JC, Xie H, Wu H, et al. Efficacy of curcumin in the treatment of oral submucous fibrosis: a Meta-analysis [J]. West China J Stomatol, 2021, 39 (2): 195-202.
- [24] Parwani K, Patel F, Bhagwat P, et al. Swertiamarin mitigates nephropathy in high-fat diet/streptozotocin-induced diabetic rats by inhibiting the formation of advanced glycation end products[J]. Arch Physiol Biochem, 2024, 130 (2): 136-154.
- [25] Chang MC, Chan CP, Chen YJ, et al. Areca nut components stimulate ADAM17, IL-1 α , PGE2 and 8-isoprostane production in oral keratinocyte: role of reactive oxygen species, EGF and JAK signaling[J]. Oncotarget, 2016, 7(13): 16879-16894.
- [26] Zhou S, Zhu Y, He Z, et al. Long non-coding RNA expression profile associated with malignant progression of oral submucous fibrosis[J]. J Oncol, 2019, 2019: 6835176.
- [27] Ho YC, Yang SF, Lee SS, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor-1 α in human buccal mucosal fibroblasts stimulated with arecoline[J]. J Formos Med Assoc, 2017, 116(6): 484-487.
- [28] Tsai CH, Lee SS, Chang YC. Hypoxic regulation of plasminogen activator inhibitor-1 expression in human buccal mucosa fibroblasts stimulated with arecoline[J]. J Oral Pathol Med, 2015, 44(9): 669-673.
- [29] Fu TL, Li GR, Li DH, et al. Mangiferin alleviates diabetic pulmonary fibrosis in mice via inhibiting endothelial-mesenchymal transition through AMPK/FoxO3/SIRT3 axis[J]. Acta Pharmacol Sin, 2024, 45(5): 1002-1018.