

基于网络药理学和实验探讨异甘草素治疗口腔黏膜下纤维化的作用机制



刘 根, 郭 盛, 彭佳梅, 李熠洁, 鲁汝清

长沙市口腔医院牙体美容科 (长沙 410004)

【摘要】目的 采用网络药理学、分子对接技术结合细胞实验验证的方式, 探讨异甘草素治疗口腔黏膜下纤维化的作用机制。**方法** 在 TCMSP、Comparative Toxicogenomics Database 和 PharmMapper 数据库中搜寻异甘草素的相关作用靶点; 通过 GeneCards、DisGeNet、OMIM 数据库查找口腔黏膜下纤维化的疾病靶点。借助 Venny 网站在线筛选二者的共同靶点, 利用 STRING 数据库对这些靶点开展蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络分析。将共同靶点输入 DAVID 数据库, 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) 生物信息学分析。使用 AutoDock Vina 1.2.x 软件对异甘草素与核心靶点进行分子对接验证。在体外培养人永生化角质形成细胞 (HaCaT 细胞系) 后, 运用 CCK-8 法研究不同浓度异甘草素对 HaCaT 细胞存活率的影响, 根据 CCK-8 结果选取 20 μ M、40 μ M、80 μ M 的异甘草素浓度用于后续实验。将细胞分为空白组、模型组、异甘草素低剂量组、异甘草素中剂量组、异甘草素高剂量组, 采用实时荧光定量聚合酶链式反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 法检测各组细胞中 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 的 mRNA 表达水平。**结果** 共筛选出异甘草素潜在作用靶点 391 个、口腔黏膜下纤维化相关靶点 969 个、二者交集靶点 65 个; 异甘草素作用靶点活性成分度 (degree) 值排名靠前的为 IL6、MMP9、TGFB1、TNF、AKT1 等; GO 分析显示, 生物学过程 (biological process, BP) 主要涉及胰岛素样生长因子受体信号通路、细胞对活性氧的反应、凋亡过程负调控、细胞对镉离子的反应、细胞外基质分解等, 细胞组分 (cellular component, CC) 主要涉及细胞质、受体复合体、细胞外基质、线粒体、局灶性粘连等, 分子功能 (molecular function, MF) 主要涉及同种蛋白结合、酶结合、内肽酶活性、蛋白质同源二聚化活性、蛋白激酶活性等; KEGG 分析结果表明, 异甘草素治疗口腔黏膜下纤维化与癌症的途径、FoxO 信号通路、HIF-1 信号通路、MAPK 信号通路、AGE-RAGE 信号通路等相关。分子对接结果显示, 异甘草素对 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 等靶点具有较强的结合能力。体外细胞实验结果表明, 与空白组相比, 模型组 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 的 mRNA 水平均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 异甘草素低、中、高剂量组 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 的 mRNA 水平均显著降低 ($P < 0.01$)。**结论** 异甘草素治疗口腔黏膜下纤维化的分子机制可能与抑制 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 等细胞因子的表达相关, 涉及细胞增殖分化进程、细胞外基质合成与沉积、上皮-间充质转化过程、炎症反应的启动、细胞内信号传导等过程。

【关键词】 异甘草素; 口腔黏膜下纤维化; 网络药理学; 分子对接; 信号通路; 细胞实验

【中图分类号】 R 781.5

【文献标识码】 A

DOI: 10.12173/j.issn.1004-4337.202503007

通信作者: 鲁汝清, Email: luruqing9866@126.com

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

Mechanism of isoliquiritigenin in the treatment of oral submucous fibrosis based on network pharmacology and experimental validation

LIU Gen, GUO Sheng, PENG Jiamei, LI Yijie, LU Ruqing

Department of Dental Cosmetology, Changsha Stomatological Hospital, Changsha 410004, China

Corresponding author: LU Ruqing, Email: luruqing9866@126.com

【Abstract】Objective To explore the mechanism of isoliquiritigenin in the treatment of oral submucosal fibrosis by network pharmacology, molecular docking technology and cell experiments. **Methods** The relevant action targets of isoliquiritigenin were searched in the TCMSP, Comparative Toxicogenomics Database and PharmMapper database; the disease targets of oral submucosal fibrosis were found in the GeneCards, DisGeNet and OMIM databases. The common targets of the two were screened by the Venny website and the protein-protein interaction (PPI) network analysis of these targets was carried out using the STRING database. The common targets were input into the DAVID database for Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) bioinformatics analysis. Molecular docking verification was performed on isoliquiritigenin and core targets using AutoDock Vina 1.2.x software. After culturing human immortalized keratinocytes (HaCaT cell line) in vitro, the effect of different concentrations of isoliquiritigenin on the survival rate of HaCaT cells was studied by the CCK-8 method. According to the CCK-8 results, 20 μM , 40 μM and 80 μM isoliquiritigenin concentrations were selected for subsequent experiments. The cells were divided into blank group, model group, low, medium and high dose isoliquiritigenin groups. The mRNA expression levels of MMP9, EGFR, TGFB1, TNF and MAPK3 in each group of cells were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). **Results** A total of 391 potential action targets of isoliquiritigenin, 969 related targets of oral submucous fibrosis, and 65 intersection targets of the two were screened out. The top-ranked active components of the isoliquiritigenin action targets in terms of degree value included IL6, MMP9, TGFB1, TNF, AKT1, etc. GO analysis indicated that the biological processes (BP) mainly involved the insulin-like growth factor receptor signaling pathway, the cellular response to reactive oxygen species, negative regulation of the apoptotic process, the cellular response to cadmium ions, extracellular matrix degradation, etc. The cellular components (CC) mainly involved the cytoplasm, receptor complex, extracellular matrix, mitochondria, focal adhesion, etc. The molecular functions (MF) mainly involved homotypic protein binding, enzyme binding, endopeptidase activity, protein homodimerization activity, protein kinase activity, etc. The KEGG analysis results demonstrated that the treatment of oral submucous fibrosis by isoliquiritigenin was related to pathways in cancer, the FoxO signaling pathway, the HIF-1 signaling pathway, the MAPK signaling pathway, the AGE-RAGE signaling pathway, etc. The molecular docking results showed that isoliquiritigenin had a strong binding ability to targets such as MMP9, EGFR, TGFB1, TNF and MAPK3. The in vitro cell experimental results showed that, compared with the blank group, the mRNA levels of MMP9, EGFR, TGFB1, TNF, and MAPK3 in the model group were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the mRNA levels of MMP9, EGFR, TGFB1, TNF, and MAPK3 in the low-dose, medium-dose, and high-dose isoliquiritigenin groups were significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** The molecular mechanism of isoliquiritigenin in the treatment of oral submucous fibrosis might be related to the inhibition of the expression of cytokines such as MMP9, EGFR, TGFB1, TNF, and MAPK3, involving processes such as cell proliferation and differentiation, extracellular matrix synthesis and deposition, epithelial-mesenchymal transition, the initiation of the inflammatory response and intracellular signal transduction.

【Keywords】 Isoliquiritigenin; Oral submucous fibrosis; Network pharmacology; Molecular docking; Signaling pathway; Cell experiment

口腔黏膜下纤维化 (oral submucous fibrosis, OSF) 是一种具有癌变倾向的慢性进行性口腔疾病, 严重影响患者的口腔功能和生活质量^[1]。目前, OSF 的发病机制尚未完全明确, 且缺乏有效的根治方法。其临床治疗手段有限, 以减轻症状、延缓疾病进展为主^[2]。因此, 深入研究 OSF 的发病机制, 寻找安全有效的治疗药物具有重要意义。异甘草素 (isoliquiritigenin, ISL) 是甘草中的一种重要活性成分, 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、调节免疫等多种药理活性^[3-5]。近年来, ISL 在多种疾病治疗中展现出潜在应用价值, 其对组织纤维化相关疾病的干预作用逐渐受到关注。研究表明, ISL 能够通过调节细胞因子的表达、抑制炎症反应和纤维化相关信号通路, 对肝纤维化、肺纤维化等疾病起到一定的抑制作用^[6-7]。ISL 能够显著抑制肝星状细胞的活化, 通过调控 TGF- β 1/Smad 信号通路减少细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 成分 (如 I 型胶原蛋白) 的合成与沉积, 从而有效减缓肝纤维化进程^[8]。在肺纤维化方面, ISL 通过抑制肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 等炎症因子的释放, 减轻肺部炎症反应, 进而发挥对肺纤维化的治疗作用。鉴于 ISL 在其他组织纤维化疾病中的治疗潜力, 同时组织纤维化疾病在发病机制上存在一定共性, 如炎症反应和纤维组织异常增生等, 推测 ISL 可能对 OSF 也具有治疗效果。但目前关于异甘草素在 OSF 治疗中的相关研究相对缺乏, 具体作用机制尚不明确。

网络药理学能够从系统生物学的角度, 整合药物成分、作用靶点和疾病相关信息, 构建药物-靶点-疾病网络, 从而全面、系统地揭示药物治疗疾病的潜在机制^[9]。分子对接技术可以在计算机水平上模拟药物小分子与靶蛋白的相互作用, 从原子层面阐述药物作用的分子机制, 为药物研发提供有力的理论依据^[10]。细胞实验能够在体外对药物的作用进行直接验证, 进一步明确药物对细胞生物学行为的影响。本研究采用上述方法, 对 ISL 治疗 OSF 的作用机制展开深入研究, 以期 OSF 的临床治疗提供新的策略和理论支持。

1 资料与方法

1.1 网络药理学及分子对接分析

1.1.1 异甘草素靶点筛选

在 TCMSPP 数据库 (https://www.tcmsp-e.com/load_intro.php?id=43) 中输入 “isoliquiritigenin” 进行靶点查找。通过 TCMSPP 数据库获取 ISL 的 mol2 格式文件, 随后将该文件导入 PharmMapper 数据库 (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)。在 PharmMapper 数据库操作时, 选择物种为人类 (Homo sapiens), 以筛选对应的基因靶点。在 Comparative Toxicogenomics Database 数据库 (<https://ctdbase.org/>) 中, 以 “isoliquiritigenin” 作为检索关键词, 获取与 ISL 相关的基因靶点。完成上述操作后, 对从这 3 个不同数据库中筛选得到的所有 ISL 相关基因靶点进行去重处理, 得到准确且无重复的 ISL 作用靶点集合。

1.1.2 口腔黏膜下纤维化疾病靶点筛选

以 “Oral Submucous Fibrosis” 作为检索关键词, 在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、DisGeNet 数据库 (<https://disgenet.com/>) 以及 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>) 中搜索 OSF 相关疾病靶点, 对重复靶点予以剔除。

1.1.3 异甘草素靶点与口腔黏膜下纤维化疾病相关靶点交集

使用 Venny 在线工具 (<https://www.bioinformatics.com.cn/static/others/jvenn/example.html>), 导入从网络数据库获取的 ISL 靶点和 OSF 相关靶点, 筛选出二者交集靶点并绘制韦恩图。

1.1.4 构建异甘草素-口腔黏膜下纤维化疾病靶点的蛋白质-蛋白质相互作用网络

将上述交集靶点信息上传至 STRING 12.0 数据库 (<https://cn.string-db.org/>), 构建蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络, 将物种设定为 “Homo sapiens”。完成网络构建后, 导出相应的 PPI 网络图, 并把相关结果以 TSV 格式文件的形式下载保存。

1.1.5 构建异甘草素-口腔黏膜下纤维化疾病靶点的核心网络图

将 PPI 网络图的 TSV 格式文件导入 Cytoscape 3.9.1 软件, 运用该软件的 CytoHubba

插件对关键核心靶点进行解析, 并通过 degree 拓扑算法分析 ISL 与 OSF 的共同靶点。基于分析结果, 绘制 ISL-OSF 疾病靶点的核心网络拓扑结构图谱, 依据分析数据筛选出排名前 10 的关键靶点。

1.1.6 基因本体论和京都基因与基因组百科全书通路富集分析

将 ISL 与 OSF 的交集靶点输入 DAVID 数据库 (<https://david.ncicfcrf.gov/>) 开展生物信息学分析, 明确 ISL 治疗 OSF 过程中的生物过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF)、细胞组成 (cellular component, CC) 及相关作用通路。以校正 $P < 0.05$ 为标准筛选结果, 按 P 值升序排序, 分别选取基因本体论 (Gene Ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 分析前 20 位结果, 使用微生物信平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 对富集分析结果进行可视化处理。

1.1.7 分子对接

从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 获取 10 个潜在共同靶标蛋白的三维结构, 修饰并添加氢键, 作为受体文件。同时, 从 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载 ISL 的二维结构, 经过能量最小化处理后, 将其作为配体文件。随后把受体文件和配体文件导入 AutoDock Vina 1.2.x 软件进行 10 次对接操作, 计算每次对接的结合能, 并选取最低结合能所对应的构象来报告对接结果。

1.2 实验细胞株和主要试剂

人永生角质形成细胞 HaCaT 购自武汉普诺赛生命科技有限公司, 批号 CL-0090。CCK-8 试剂盒由北京全式金生物提供, 货号 C0038。Trizol 试剂生产厂家为上海碧云天生物, 货号 R0016。Advanced qPCR SYBR Master Mix 来自翌圣生物科技 (上海) 股份有限公司, 货号 11185ES08。实时荧光定量聚合酶链式反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 所需引物由上海生工生物工程公司设计合成。

1.3 药品

ISL 购自 MedChemExpress 公司, 批号 HY-N0145, 其含量 $\geq 98.92\%$ 。

1.4 仪器

多功能酶标仪 (瑞士 Tecan 公司, 型号: Infinite M200 Pro); 高速冷冻离心机 (上海天美公司, 型号: Centrifuge5810R); 倒置显微镜 (德国 Carl · Zeiss 公司, 型号: Vert.A1); 荧光定量 PCR 仪 (宁波 SCIENTZ 新芝公司, 型号: Real-Time PCR System SQ510)。

1.5 实验验证

1.5.1 细胞培养

将 HaCaT 细胞置于含 DMEM 完全培养液的培养体系中, 在 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养箱内培养。当细胞生长至融合度达 $80\%\sim 90\%$ 时, 采用 0.25% 胰蛋白酶进行消化处理, 随后按 $1:3$ 的比例进行细胞传代操作。

1.5.2 不同浓度异甘草素对细胞存活率的影响

选取处于对数生长期的细胞, 以 6×10^3 /孔的密度接种于 96 孔板。设置 $0\ \mu\text{M}$ 、 $10\ \mu\text{M}$ 、 $20\ \mu\text{M}$ 、 $40\ \mu\text{M}$ 、 $80\ \mu\text{M}$ 、 $100\ \mu\text{M}$ 共 6 个 ISL 实验组^[11-12], 每组设 3 个复孔。待细胞贴壁后, 按分组加入含不同浓度 ISL 的细胞完全培养液。继续培养 24 h、48 h 和 72 h 后弃去原培养液, 加入 CCK-8 工作液, 置于细胞培养箱反应 2 h。随后使用酶标仪在 $450\ \text{nm}$ 波长下测定各孔吸光度 (optical density, OD) 值, 计算细胞存活率以选定实验药物浓度。

1.5.3 实验分组干预

依据 CCK-8 测得的细胞存活率, 选定 $20\ \mu\text{M}$ 、 $40\ \mu\text{M}$ 、 $80\ \mu\text{M}$ ISL 为后续实验给药浓度。实验分五组: 空白组, 模型组, ISL 低、中、高剂量组。空白组用不含 ISL 的完全培养液培养 24 h; 模型组用含 $50\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 槟榔碱 (areca nut extract, ANE) 的完全培养液培养 24 h; ISL 低、中、高剂量组分别用含 $20\ \mu\text{M}$ 、 $40\ \mu\text{M}$ 、 $80\ \mu\text{M}$ ISL 的完全培养液干预 24 h。

1.5.4 qRT-PCR 实验检测各组细胞中引物的 mRNA 表达水平

本实验用 Trizol 法提取细胞总 RNA, 提取后用分光光度计测得总 RNA 浓度。在逆转录酶作用下, 用寡聚 dT 引物合成 cDNA, 用 SYBR PCR master Mix 进行 qRT-PCR 扩增。SYBR Green 结合双链 DNA 监测扩增。扩增前先 95°C 预变性

3 min, 40 个循环 (95 °C 15 s、60 °C 30 s、72 °C 20 s), 最后 95 °C 15 s、60 °C 15 s 结束。以 GAPDH 为内参基因, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算得出目的基因相对表达量, 引物序列见表 1。

1.5.5 统计分析

采用 SPSS 26.0 软件分析数据, 符合正态分布的计量资料以均数和标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 并进行方差齐性检验。方差齐时, 采用单因素方差分析比较组间差异, LSD 法作两两比较; 方差不

齐则用 Dunnett's T3 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 网络药理学及分子对接结果

2.1.1 异甘草素与口腔黏膜下纤维化靶点交集分析

从 TCMS、PharmMapper、CTD 数据库分别获取 33、294、106 个靶点, 去重后得到 391 个

表1 实时荧光定量聚合酶链式反应基因引物信息

Table 1. Gene primer information of quantitative real-time polymerase chain reaction

引物名称	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')	产物长度 (bp)
MMP9	GGACCACCACCACAACATCCC	GGGCAAAGGCGTCGTCAATC	81
EGFR	ACAGCATAGACGACACCTTCCTC	TGGCCTTGGACACTGGAGACTG	115
TGFB1	GCAACAATTCTCTGGCGATACCTC	CCTCCACGGCTCAACCACTG	112
TNF	CTCATCTACTCCCAGGTCCTTTC	CGATGCGCTGATGCTGTG	82
MAPK3	GGACCTGATGGAGACTGACCTG	TGGCGGAGTGGATGTACTTGAG	116
GAPDH	CTTTGGATCGTGGAAGGACTC	CTAGAGGGCAGGATGATGTTTCT	150

相关基因靶点。分别在 GeneCards、DisGeNet、OMIM 数据库中检索得到 894、19、79 个 OSF 疾病靶点, 合并去重得到 969 个相关靶点。将 391 个 ISL 作用靶点与 969 个 OSF 疾病靶点输入 Venn 图网站, 得到药物与疾病共同靶基因 65 个, 见图 1。

2.1.2 异甘草素-口腔黏膜下纤维化疾病靶点的蛋白质-蛋白质相互作用网络

将 65 个 ISL 与 OSF 的交集靶点导入 STRING 12.0 数据库获得 PPI 网络, 共 65 个节点, 693 条边, 平均节点 degree 值为 21.3, 见图 2。

2.1.3 异甘草素-口腔黏膜下纤维化疾病靶点的核心网络图

将交集靶点导入 Cytoscape 软件, 利用 CytoHubba 插件开展关键核心靶点拓扑分析, 绘制 ISL-OSF 疾病靶点核心网络拓扑结构图, 筛选出前 10 位关键靶点, 即 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3、PTGS2、ALB、IL6、AKT1、BCL2, 见图 3。

2.1.4 基因本体论和京都基因与基因组百科全书富集分析结果

将 ISL 和 OSF 的交集靶点导入 DAVID 数据库, 得到 ISL 治疗 OSF 的生物信息分析结果。选取 GO、KEGG 分析前 20 位结果绘制气泡图, 图中气泡大小与富集基因数呈正相关关系, 颜色

深浅与 P 值呈负相关关系。结果表明, ISL 治疗 OSF 的靶点主要富集在胰岛素样生长因子受体信号通路、细胞对活性氧的反应、凋亡过程负调控、细胞对镉离子的反应、细胞外基质分解等 BP,

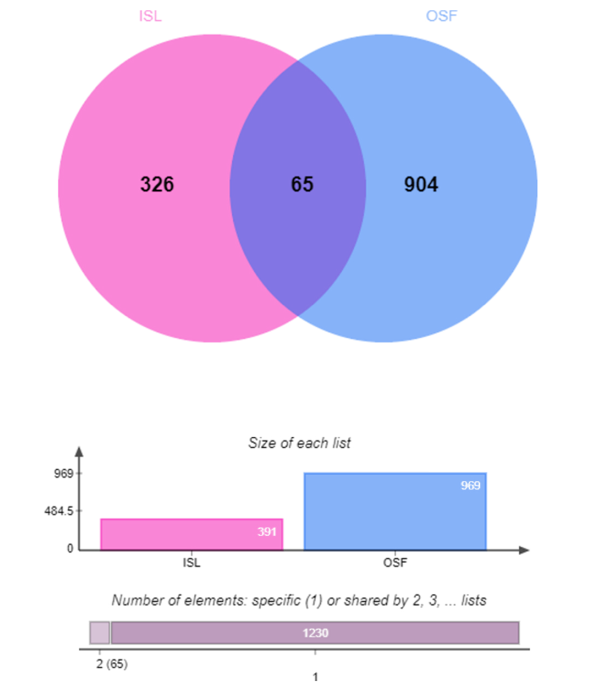


图1 异甘草素与口腔黏膜下纤维化交集靶点的Venn图
Figure 1. Venn diagram of the intersection target of isoliquiritigenin and oral submucous fibrosis

注: ISL, isoliquiritigenin, 异甘草素; OSF, oral submucous fibrosis, 口腔黏膜下纤维化。

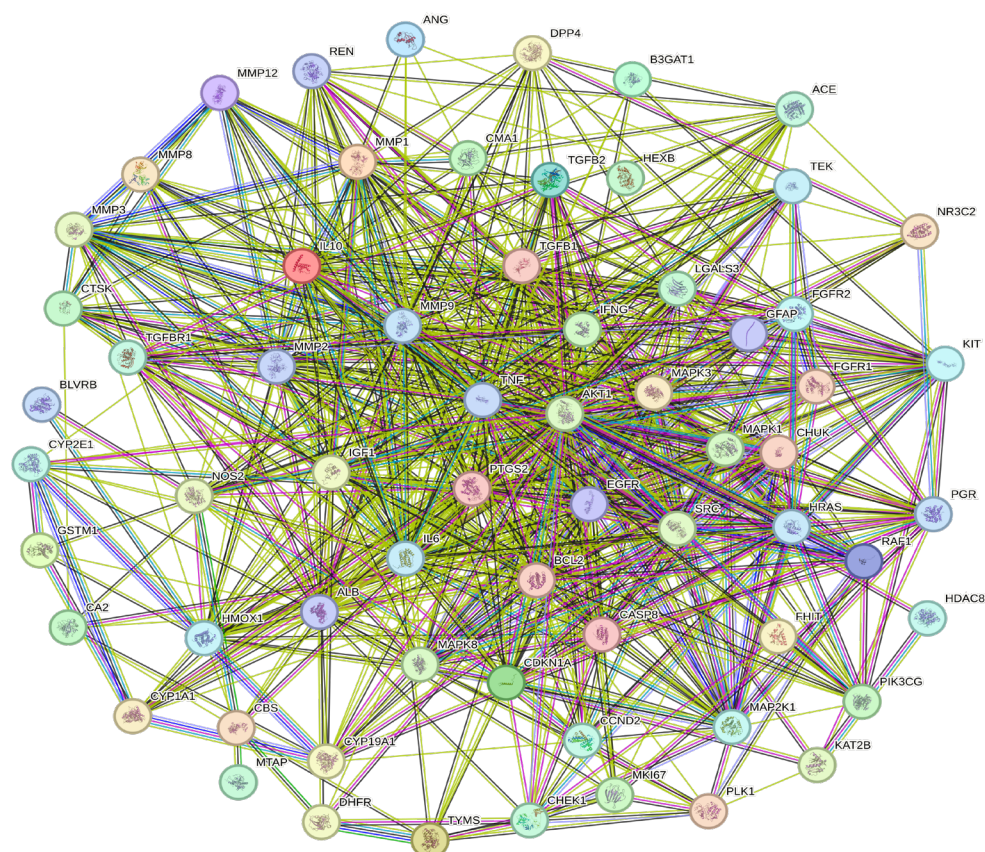


图2 异甘草素与口腔黏膜下纤维化交集靶点的蛋白质-蛋白质相互作用网络

Figure 2. Protein–protein interaction network of the intersection target of isoliquiritigenin and oral submucous fibrosis

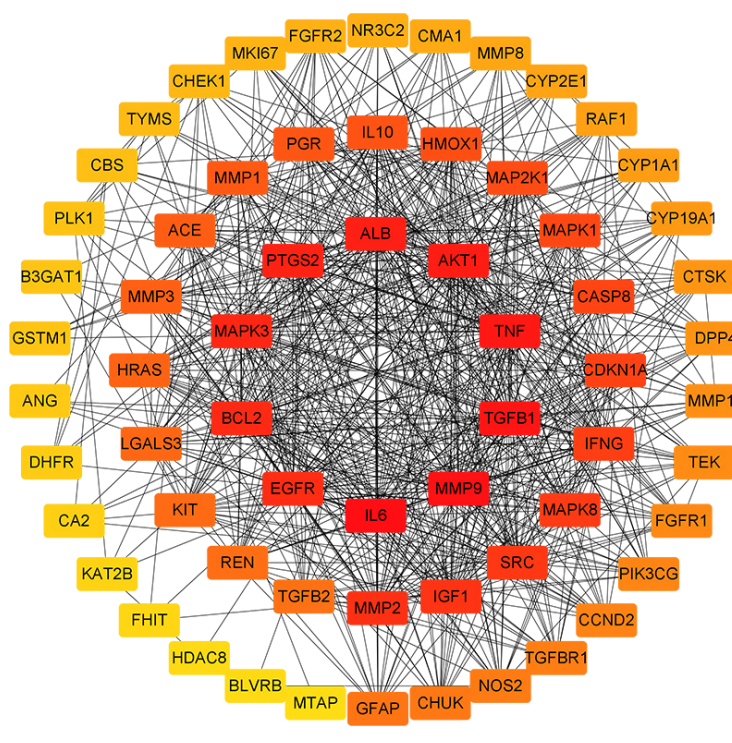


图3 异甘草素与口腔黏膜下纤维化交集靶点核心网络图

Figure 3. Core network diagram of the intersection target of isoliquiritigenin and oral submucous fibrosis

见图 4-A; ISL 治疗 OSF 的靶点主要富集在细胞质、受体复合体、ECM、线粒体、局灶性粘连等 CC 中, 见图 4-B; ISL 治疗 OSF 的靶点主要富集在同种蛋白结合、酶结合、内肽酶活性、蛋白质同源二聚化活性、蛋白激酶活性等 MF 中, 见图 4-C。KEGG 分析结果显示, ISL 治疗 OSF 与癌症的途径、FoxO 信号通路、HIF-1 信号通路、MAPK 信号通路、AGE-RAGE 信号通路等有关, 见图 4-D。

2.1.5 分子对接结果

选取核心基因靶点前 10 位靶蛋白与 ISL 进行分子对接, 共得到 10 组结果, 见表 2。分子对接结果显示, ISL 与核心靶点的结合能均 ≤ -7.0 kJ/mol, 具有较高的结合活性, 并从一定程度上验证了预测结果的准确性。图 5 为用 Pymol 软件进行可视化的 ISL 与上述核心靶点对接的最终结果, 小分子 ISL 位于大分子蛋白质的口袋中, 形成多个氢键。

2.2 实验验证结果

2.2.1 不同浓度异甘草素对细胞存活率的影响

CCK-8 实验表明, 培养 24 h 时, 与 0 μ M ISL 相比, 10 μ M、20 μ M、40 μ M、80 μ M 浓度对细胞活力无显著影响 ($P > 0.05$), 浓度升至 100 μ M 时, 细胞活力显著下降 ($P < 0.01$); 随着培养时间延长至 48 h、72 h 时, 与 0 μ M ISL 相比, 细胞活力均显著下降 ($P < 0.01$), 见图 6。而 20 μ M、40 μ M、80 μ M ISL 组细胞活力仍保持相对稳定 (均 $> 75\%$), 表明该浓度下 ISL 在较长时间内对细胞活力无明显不良影响, 因此本研究选择 20 μ M、40 μ M、80 μ M 设置为 ISL 低、中、高剂量组浓度, 培养 24 h。倒置显微镜下 HaCaT 细胞形态显示, 各组细胞生长状态好, 为多角形铺路石样连接紧密, 成团生长, 呈典型上皮细胞样。

2.2.2 qRT-PCR 实验检测结果

qRT-PCR 法检测核心基因靶点前 10 位

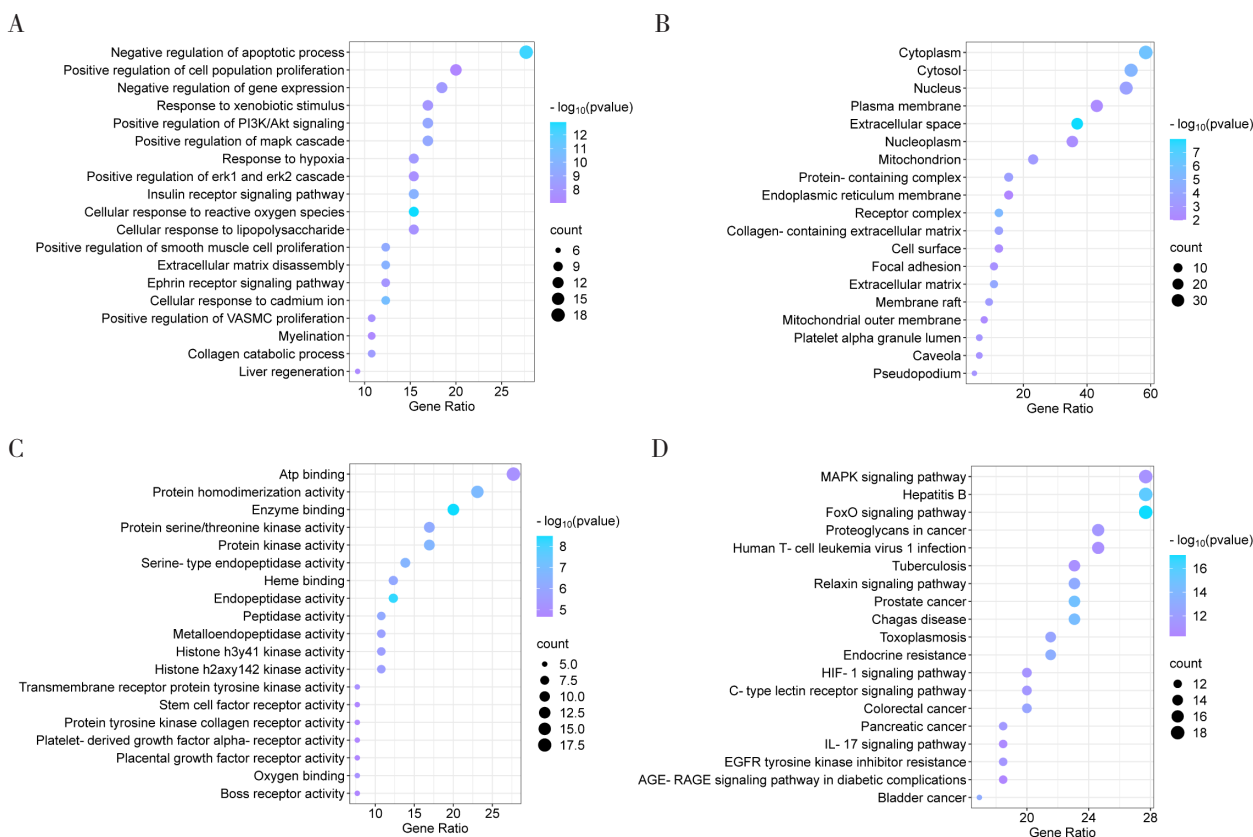


图4 异甘草素与口腔黏膜下纤维化交集靶点的基因本体论、京都基因与基因组百科全书富集分析结果气泡图
Figure 4. Bubble map of Gene Ontology and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes enrichment analysis results of the intersection target of isoliquiritigenin and oral submucous fibrosis

注: A. 基因本体论富集生物过程分析气泡图; B. 基因本体论富集细胞组成分析气泡图; C. 基因本体论富集分子功能分析气泡图; D. 京都基因与基因组百科全书富集分析气泡图。

表2 异甘草素与核心靶点的结合能
Table 2. Binding energy of isoliquiritigenin to core targets

核心靶点	结合能 (kJ/mol)	核心靶点	结合能 (kJ/mol)
MMP9	-13.1	PTGS2	-8.0
EGFR	-10.3	ALB	-8.0
TGFB1	-10.2	IL6	-7.6
TNF	-9.1	AKT1	-7.4
MAPK3	-9.0	BCL2	-7.0

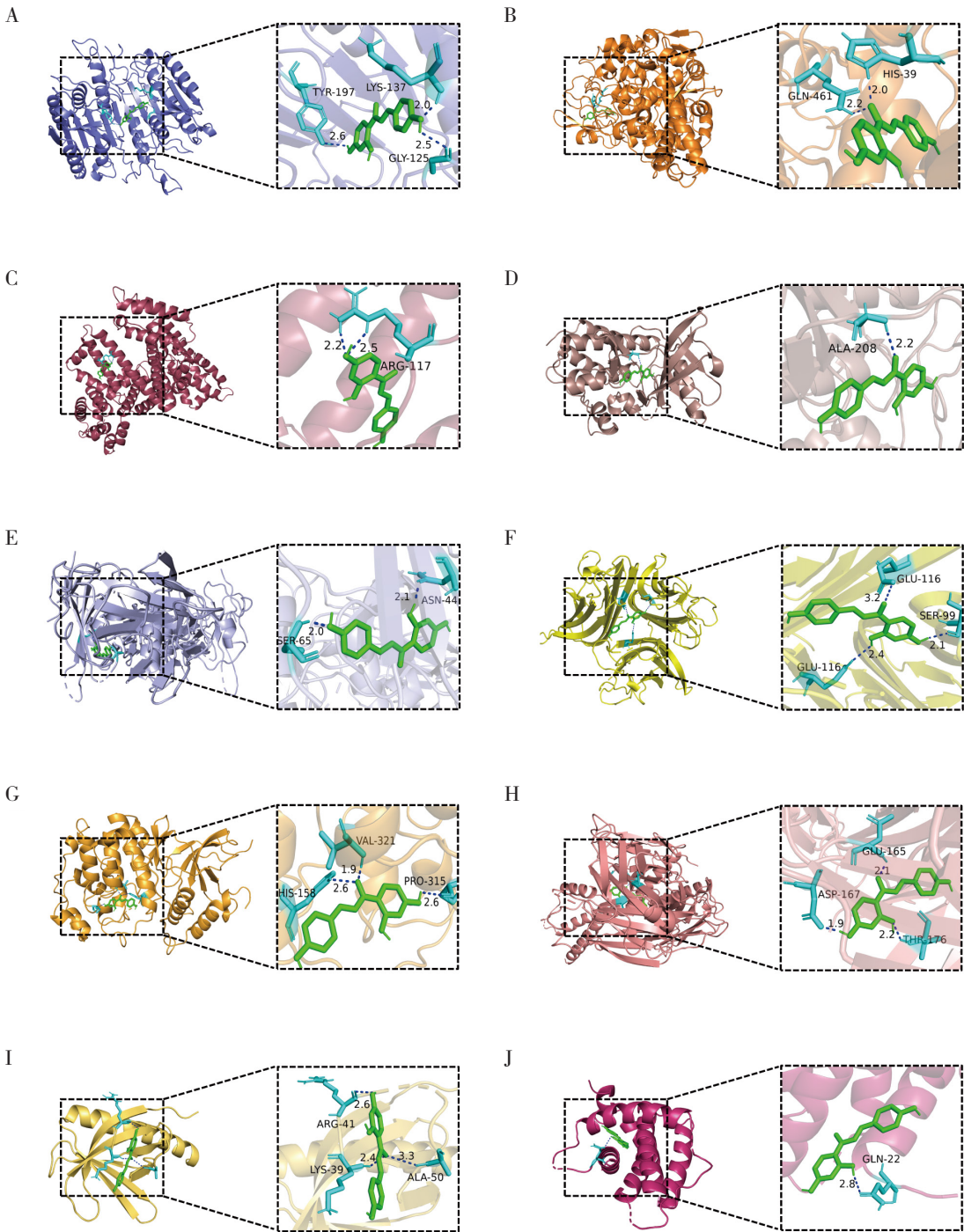


图5 异甘草素与核心靶点的分子对接可视化结果

Figure 5. Visualization results of molecular docking between isoliquiritigenin and core targets

注：A. 异甘草素与MMP9；B. 异甘草素与EGFR；C. 异甘草素与TGFB1；D. 异甘草素与TNF；E. 异甘草素与MAPK3；F. 异甘草素与PTGS2；G. 异甘草素与ALB；H. 异甘草素与IL6；I. 异甘草素与AKT1；J. 异甘草素与BCL2。

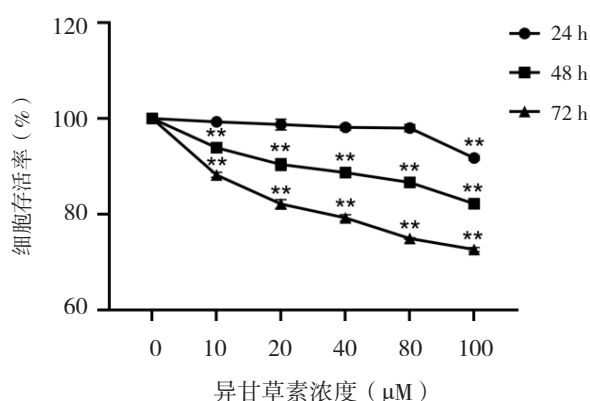


图6 不同浓度异甘草素对细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 6. Effects of different concentrations of isoliquiritigenin on cell viability ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

注: 与0 μM药物浓度组比较, ** $P < 0.01$ 。

靶蛋白与 ISL 进行分子对接结果中结合能最小的 5 个靶蛋白的 mRNA 相对含量。与空白组相比, 模型组 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 的 mRNA 水平均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, ISL 低、中、高剂量组 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 的 mRNA 水平均显著降低 ($P < 0.01$), 提示 ISL 可能通过下调 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 治疗 OSF, 见图 7。

3 讨论

OSF 作为一种口腔疾病, 不仅严重影响患者的口腔功能和生活质量, 还具有潜在的恶变风险。

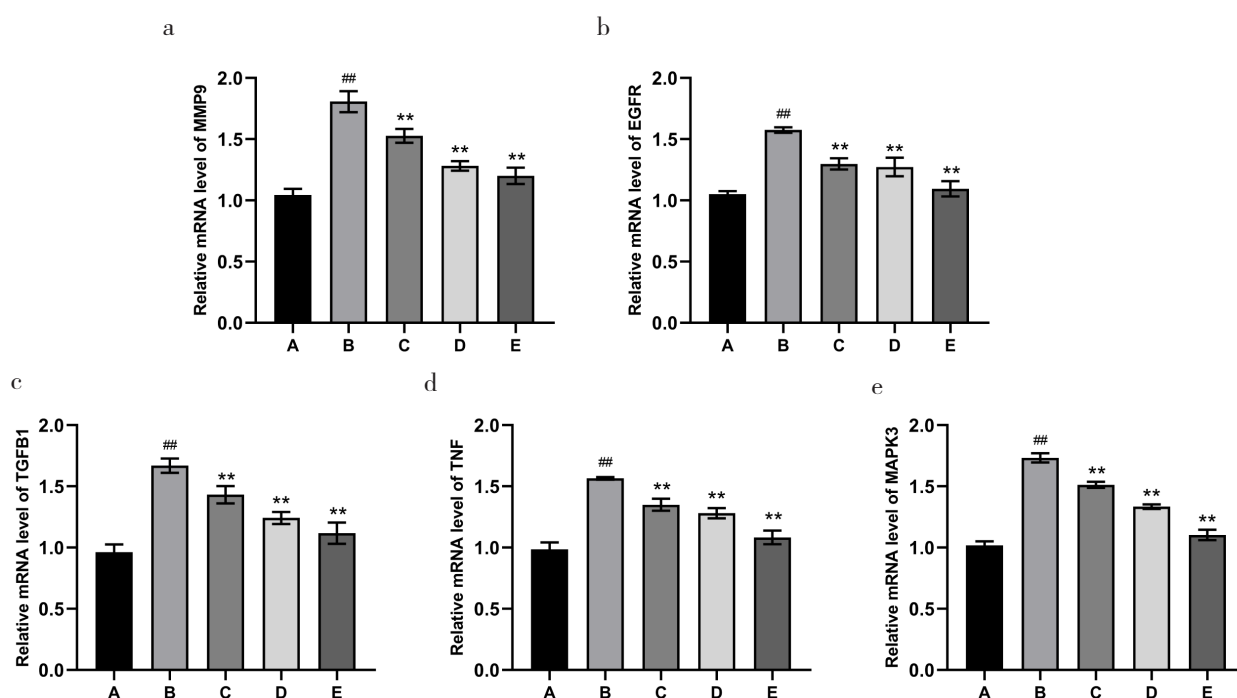


图7 qRT-PCR检测各组细胞MMP9、EGFR、TGFB1、TNF和MAPK3的mRNA表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 7. The mRNA expression levels of MMP9, EGFR, TGFB1, TNF and MAPK3 in each group of cells detected by qRT-PCR ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

注: a. MMP9 mRNA表达水平; b. EGFR mRNA表达水平; c. TGFB1 mRNA表达水平; d. TNF mRNA表达水平; e. MAPK3 mRNA表达水平。A. 空白组; B. 模型组; C. 异甘草素低剂量组; D. 异甘草素中剂量组; E. 异甘草素高剂量组。与空白组相比, ## $P < 0.01$; 与模型组相比, ** $P < 0.01$ 。

目前, OSF的发病机制尚未完全明确, 其临床治疗手段也较为有限。本研究综合运用网络药理学、分子对接和细胞实验, 对 ISL 治疗 OSF 的作用机制进行了多维度的探讨, 以期 OSF 的治疗提供了新的思路 and 理论依据。

本研究通过多个数据库筛选, 确定了 391 个 ISL 潜在作用靶点和 969 个 OSF 相关靶点, 进而得到 65 个交集靶点。在这些交集靶点构建的 PPI

网络中, MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 等关键靶点呈现出较高的节点度值、中介中心性及紧密中心性参数特征。MMP9 在 ECM 的降解过程中发挥着关键作用, 在 OSF 的发展过程中, MMP9 的异常高表达会导致 ECM 成分 (如胶原蛋白) 的过度降解, 破坏 ECM 的正常结构和功能, 进而引发口腔黏膜下层纤维组织的异常增生和胶原的过度沉积^[13]。ISL 可能通过作用于 MMP9 靶

点,调节 ECM 的代谢平衡,抑制纤维化进程^[14-15]。EGFR 作为细胞表面的重要受体,参与细胞的增殖、分化和存活等多个关键过程^[16]。在 OSF 患者体内,EGFR 的异常激活与上皮细胞和成纤维细胞的异常增殖密切相关^[17]。ISL 靶向 EGFR 可能调节细胞的增殖和分化信号通路,纠正细胞的异常行为,从而改善 OSF 的病理状态^[18]。TNF 作为一种重要的炎症细胞因子,在炎症反应的发生发展中起着关键作用。在 OSF 的病理过程中,TNF 的过度表达会引发炎症细胞的大量浸润,导致炎症级联反应,进一步加重组织损伤和纤维化程度^[19]。ISL 对 TNF 靶点的调控可能通过抑制炎症反应的强度^[20],减轻口腔黏膜的炎症状态,为缓解纤维化创造有利条件。TGFB1 是参与纤维化过程的关键细胞因子之一,它能够促进成纤维细胞的活化和增殖,刺激 ECM 成分的合成和分泌,导致胶原的过度沉积^[21]。ISL 作用于 TGFB1 靶点,可以抑制 TGFB1 介导的纤维化信号通路,减少 ECM 的合成^[7],从而缓解 OSF 的纤维化进程。MAPK3 则参与细胞内多种信号传导通路,与细胞的增殖、分化、凋亡和炎症反应密切相关。在 OSF 中,MAPK3 信号通路的异常激活可能导致细胞的异常增殖和炎症反应的加剧^[22]。异甘草素通过调节 MAPK3 靶点,从而调节相关信号传导,抑制细胞的异常增殖和炎症反应,对 OSF 的治疗发挥积极作用。

本研究对关键靶点之间的相互作用关系进行深入探讨。以 MMP9 和 TGFB1 为例,通过分析发现,它们之间存在直接的蛋白质-蛋白质相互作用。在 OSF 的病理过程中,TGFB1 过度表达促进 ECM 合成,MMP9 异常高表达导致 ECM 过度降解,进而引发口腔黏膜下层纤维组织的异常增生和胶原的过度沉积^[23]。ISL 可能通过同时调节 MMP9 和 TGFB1 的表达,重新平衡 ECM 的合成与降解,抑制纤维化进程。同时,通过进一步探讨关键靶点在信号通路中的协同作用,发现 TNF 和 MAPK3 在 OSF 的炎症反应和细胞增殖过程中发挥重要作用。TNF 能够激活 MAPK3 信号通路,当 TNF 与细胞表面受体结合后,通过一系列信号传导过程,激活 MAPK3,进而激活下游的 NF- κ B 信号通路,促进炎症细胞因子的表达和细胞增殖相关基因的转录^[24]。而 ISL 可能通过同时调节 TNF 和 MAPK3,抑制 NF- κ B 信号通路的过

度激活,减少炎症细胞因子的释放,抑制细胞的异常增殖,从而对 OSF 起到治疗作用。

GO 分析结果显示,ISL 治疗 OSF 的靶点主要富集在胰岛素样生长因子受体信号通路、细胞对活性氧的反应、凋亡过程负调控、细胞外基质分解等 BP 中。胰岛素样生长因子受体信号通路的异常与细胞的增殖、分化和代谢紊乱密切相关^[25],在 OSF 的发展过程中,该通路的异常激活可能促进上皮细胞和成纤维细胞的异常增殖^[26],从而引发一系列炎症反应和氧化应激反应,促进纤维化的发展。ISL 可能通过抑制 AGE-RAGE 信号通路的激活,减轻炎症反应和氧化应激,抑制纤维化进程^[27]。细胞对活性氧的反应与氧化应激密切相关,OSF 患者口腔黏膜组织中氧化应激水平升高,会导致细胞损伤和纤维化的发生^[28]。ISL 可能通过调节细胞对活性氧的反应,减轻氧化应激对细胞的损伤^[29],从而缓解 OSF 的病情。凋亡过程负调控在 OSF 中表现为细胞凋亡减少,导致纤维组织过度积累^[30]。ISL 影响凋亡过程负调控,可能促进细胞凋亡^[31],减少纤维组织的积累,改善口腔黏膜的纤维化状态。ECM 分解过程的异常与 OSF 中纤维组织的增生密切相关,ISL 对该过程的调节有助于维持 ECM 的正常代谢平衡,抑制纤维化的发展^[32]。

KEGG 通路富集分析表明,ISL 治疗 OSF 与癌症的途径、FoxO 信号通路、HIF-1 信号通路、MAPK 信号通路和 AGE-RAGE 信号通路等相关。其中,HIF-1 信号通路在 OSF 的缺氧微环境中起着重要作用^[33]。在缺氧条件下,HIF-1 α 会稳定表达并与 HIF-1 β 结合形成有活性的 HIF-1,进而激活一系列下游基因的表达。这些基因参与血管生成、细胞增殖和 ECM 代谢等过程,促进纤维化的发展^[34]。ISL 可能通过抑制 HIF-1 α 的表达或活性,干扰 HIF-1 与靶基因的结合,从而抑制相关下游基因的表达,减少血管生成异常和 ECM 的过度沉积^[35],缓解 OSF 的病情进展。FoxO 信号通路在细胞的增殖、凋亡和应激反应中发挥着重要的调节作用^[36]。在 OSF 中,FoxO 信号通路的异常可能导致细胞增殖和凋亡失衡,促进纤维化的发生。ISL 作用于该通路,可能调节细胞的增殖和凋亡过程^[37],恢复细胞的正常生理平衡,对 OSF 的治疗产生积极影响。AGE-RAGE 信号通路与氧化应激、炎症和纤维化密切相关^[38]。在

OSF 患者体内, 晚期糖基化终末产物 (AGEs) 的积累会激活 RAGE 受体, 引发一系列炎症反应和氧化应激反应, 促进纤维化的发展^[39]。与以往研究单一靶点或通路不同, 本研究构建了异甘草素-靶点-疾病网络, 从整体层面剖析其治疗 OSF 的潜在机制, 为中药活性成分治疗 OSF 提供了新的研究思路和方法。

分子对接结果显示, ISL 与 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 等核心靶点具有较强的结合能力, 结合能均 ≤ -7.0 kJ/mol。这从原子层面验证了 ISL 与这些靶点相互作用的可能性, 为 ISL 的作用机制提供了更直接的证据, 支持了网络药理学的预测结果。以 ISL 与 MMP9 的结合为例, 分子对接显示 ISL 与 MMP9 的 TYR-197、LYS-137、GLY-125 等氨基酸残基形成长度为 2.6 Å、2.0 Å、2.5 Å 的氢键。通过这些氢键参数可以看出, ISL 与 MMP9 的结合较为稳定, 从结构生物学角度为 ISL 对 MMP9 的作用提供了有力支持。同时, 文献研究表示 ISL 与靶点结合后可能影响其构象变化并调节下游信号通路^[40]。以 ISL 与 EGFR 结合为例, 有研究表明, ISL 与 EGFR 结合后可能导致 EGFR 受体的二聚化状态发生改变, 干扰 EGFR 的二聚化过程, 抑制其下游 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路的激活, 即 EGFR 二聚化受阻后, Ras 蛋白的激活受到抑制, 进而影响 Raf 激酶的磷酸化, 导致 MEK 和 ERK 的磷酸化水平降低, 阻断细胞增殖信号的传导, 最终发挥对纤维化疾病的治疗作用^[41]。体外细胞实验进一步验证了 ISL 的治疗作用。qRT-PCR 实验结果显示, 与空白组相比, 模型组 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 的 mRNA 水平显著升高, 这与 OSF 的病理过程中炎症反应增强、ECM 代谢紊乱等特征相符; 而与模型组相比, ISL 低、中、高剂量组中这些基因的 mRNA 水平显著降低, 说明 ISL 能够通过下调 MMP9、EGFR、TGFB1、TNF、MAPK3 的表达, 抑制炎症反应、调节 ECM 合成与沉积、抑制上皮-间充质转化过程等, 从而发挥对 OSF 的治疗作用。

综上所述, 本研究整合网络药理学、分子对接技术和细胞实验, 系统探讨了 ISL 治疗 OSF 的潜在机制, 为理解 OSF 的发病与治疗机制提供了新视角, 为开发 OSF 的创新疗法和药物靶点奠定了理论基础。本研究也存在一定的局限性, 仅进

行细胞实验验证了 ISL 对相关细胞因子表达的影响, 聚焦于部分关键靶点和通路。后续研究可综合多组学技术和动物实验, 从病理学、药理学等多学科交叉视角深入剖析, 明确其体内作用机制, 进一步为 OSF 的精准防治提供策略。

参考文献

- 1 陈灵, 杜永秀, 徐普. 口腔黏膜下纤维性变的治疗研究进展[J]. 河北医药, 2024, 46(17): 2675-2679, 2685. [Chen L, Du YX, Xu P. Research progress of the treatment of oral submucosal fibrous[J]. Hebei Medical Journal, 2024, 46(17): 2675-2679, 2685.] DOI: [10.3969/j.issn.1002-7386.2024.17.026](https://doi.org/10.3969/j.issn.1002-7386.2024.17.026).
- 2 郭锦材, 谢辉. 口腔黏膜下纤维性变治疗的循证医学研究[J]. 口腔疾病防治, 2024, 32(12): 907-915. [Guo JC, Xie H. Evidence-based medicine research for the treatment of oral submucous fibrosis[J]. Journal of Prevention and Treatment for Stomatological Diseases, 2024, 32(12): 907-915.] DOI: [10.12016/j.issn.2096-1456.202440252](https://doi.org/10.12016/j.issn.2096-1456.202440252).
- 3 Yang L, Nie H, Du Y, et al. Isoliquiritigenin exhibits anti-inflammatory responses in acute lung injury by covalently binding to the myeloid differentiation protein-2 domain[J]. Phytother Res, 2025, 39(2): 922-937. DOI: [10.1002/ptr.8411](https://doi.org/10.1002/ptr.8411).
- 4 Yahya MA, Alshammari GM, Osman MA, et al. Isoliquiritigenin prevents the development of nephropathy by an HFD in rats through the induction of antioxidant production and inhibition of the MD-2/TLR4/NF- κ B pathway[J]. Biology (Basel), 2024, 13(12): 984. DOI: [10.3390/biology13120984](https://doi.org/10.3390/biology13120984).
- 5 Luo F, Tang Y, Zheng L, et al. Isoliquiritigenin inhibits the growth of colorectal cancer cells through the ESR2/PI3K/AKT signalling pathway[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2023, 17(1): 43. DOI: [10.3390/ph17010043](https://doi.org/10.3390/ph17010043).
- 6 Liu R, Zhang Y, Liu M, et al. Natural molecule isoliquiritigenin mitigates MASH and liver fibrosis in mice by promoting autophagy through the PI3K/Akt signaling pathway[J]. J Nutr Biochem, 2025, 136: 109808. DOI: [10.1016/j.jnutbio.2024.109808](https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2024.109808).
- 7 He J, Peng H, Wang M, et al. Isoliquiritigenin inhibits TGF- β 1-induced fibrogenesis through activating autophagy via PI3K/AKT/mTOR pathway in MRC-5 cells[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2020, 52(8): 810-820. DOI: [10.1093/abbs/gmaa067](https://doi.org/10.1093/abbs/gmaa067).
- 8 Liu N, Liu M, Jiang M, et al. Isoliquiritigenin alleviates the development of alcoholic liver fibrosis by inhibiting ANXA2[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 159: 114173. DOI: [10.1016/j.biopha.2022.114173](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.114173).
- 9 Zhang P, Zhang D, Zhou W, et al. Network pharmacology: towards the artificial intelligence-based precision traditional Chinese medicine[J]. Brief Bioinform, 2023, 25(1): bbad518. DOI: [10.1093/bib/bbad518](https://doi.org/10.1093/bib/bbad518).
- 10 Crampon K, Giorkallos A, Deldossi M, et al. Machine-learning methods for ligand-protein molecular docking[J]. Drug Discov Today, 2022, 27(1): 151-164. DOI: [10.1016/j.drudis.2021.09.007](https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.09.007).
- 11 Tang Y, Luo H, Xiao Q, et al. Isoliquiritigenin attenuates

- septic acute kidney injury by regulating ferritinophagy-mediated ferroptosis[J]. *Ren Fail*, 2021, 43(1): 1551–1560. DOI: [10.1080/0886022X.2021.2003208](https://doi.org/10.1080/0886022X.2021.2003208).
- 12 Jiao X, Zhang Y, Wang Z, et al. Isoliquiritigenin, an extract from licorice, attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy via Akt/mTOR pathway[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2025, 69(7): e70000. DOI: [10.1002/mnfr.70000](https://doi.org/10.1002/mnfr.70000).
 - 13 Choudhari S, Kulkarni D, Patankar S, et al. Linking inflammation and angiogenesis with fibrogenesis: expression of FXIIIa, MMP-9, and VEGF in oral submucous fibrosis[J]. *Rev Esp Patol*, 2024, 57(1): 15–26. DOI: [10.1016/j.patol.2023.11.005](https://doi.org/10.1016/j.patol.2023.11.005).
 - 14 Jian M, Sun X, Cheng G, et al. Discovery of phenolic matrix metalloproteinase inhibitors by peptide microarray for osteosarcoma treatment[J]. *J Nat Prod*, 2022, 85(10): 2424–2432. DOI: [10.1021/acs.jnatprod.2c00626](https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00626).
 - 15 Wang TT, Chen ZZ, Xie P, et al. Isoliquiritigenin suppresses the proliferation and induced apoptosis via miR-32/LATS2/Wnt in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 856: 172352. DOI: [10.1016/j.ejphar.2019.04.033](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.04.033).
 - 16 Talukdar S, Emdad L, Das SK, et al. EGFR: an essential receptor tyrosine kinase-regulator of cancer stem cells[J]. *Adv Cancer Res*, 2020, 147: 161–188. DOI: [10.1016/bs.acr.2020.04.003](https://doi.org/10.1016/bs.acr.2020.04.003).
 - 17 He C, Wang W, Wan W, et al. Tyrosine sulphation of CXCR4 induces the migration of fibroblast in OSF[J]. *Oral Dis*, 2023, 29(4): 1782–1790. DOI: [10.1111/odi.14150](https://doi.org/10.1111/odi.14150).
 - 18 Ye L, Zhang J, Zhang Y, et al. Isoliquiritigenin suppressed esophageal squamous carcinoma growth by blocking EGFR activation and inducing cell cycle arrest[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 9259852. DOI: [10.1155/2020/9259852](https://doi.org/10.1155/2020/9259852).
 - 19 曾繁佐, 欧阳银, 陈博威, 等. 基于网络毒理学及实验验证探讨槟榔对口腔黏膜下纤维化的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2024, 44(8): 1448–1458. [Zeng FZ, Ouyang Y, Chen BW, et al. Effects of betel nut on oral submucosal fibrosis based on network toxicology and experimental verification[J]. *Journal of Hunan University of Chinese Medicine*, 2024, 44(8): 1448–1458.] DOI: [10.3969/j.issn.1674-070X.2024.08.014](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-070X.2024.08.014).
 - 20 Zhang WF, Tao X, Chen C, et al. Isoliquiritigenin attenuates neuroinflammation after subarachnoid hemorrhage through inhibition of NF- κ B-mediated NLRP3 inflammasome activation[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2024, 103(2): e14436. DOI: [10.1111/cbdd.14436](https://doi.org/10.1111/cbdd.14436).
 - 21 Tarbit E, Singh I, Peart JN, et al. Biomarkers for the identification of cardiac fibroblast and myofibroblast cells[J]. *Heart Fail Rev*, 2019, 24(1): 1–15. DOI: [10.1007/s10741-018-9720-1](https://doi.org/10.1007/s10741-018-9720-1).
 - 22 唐智群, 鲍喆焯, 聂敏. 红花-牛膝治疗口腔黏膜下纤维化作用机制的网络药理学分析[J]. *药学研究*, 2024, 43(3): 220–226. [Tang ZQ, Bao ZX, Nie M. Analysis of the mechanism of safflower-achyranthes bidentata in treating oral submucous fibrosis based on network pharmacology[J]. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2024, 43(3): 220–226.] DOI: [10.13506/j.cnki.jpr.2024.03.003](https://doi.org/10.13506/j.cnki.jpr.2024.03.003).
 - 23 Huang Q, Chen J, Liao S, et al. The SGLT2 inhibitor empagliflozin inhibits skeletal muscle fibrosis in naturally aging male mice through the AMPK α /MMP9/TGF- β 1/Smad pathway[J]. *Biogerontology*, 2024, 25(3): 567–581. DOI: [10.1007/s10522-024-10093-y](https://doi.org/10.1007/s10522-024-10093-y).
 - 24 Cai Q, Wang Z, Zhang R, et al. Huangjia Ruangan granule inhibits inflammation in a rat model with liver fibrosis by regulating TNF/MAPK and NF- κ B signaling pathways[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 8105306. DOI: [10.1155/2022/8105306](https://doi.org/10.1155/2022/8105306).
 - 25 Hakuno F, Takahashi SI. IGF1 receptor signaling pathways[J]. *J Mol Endocrinol*, 2018, 61(1): T69–T86. DOI: [10.1530/JME-17-0311](https://doi.org/10.1530/JME-17-0311).
 - 26 Wang Y, Wang P, Yu Y, et al. Hepatocyte Ninjurin2 promotes hepatic stellate cell activation and liver fibrosis through the IGF1R/EGFR/PDGF-BB signaling pathway[J]. *Metabolism*, 2023, 140: 155380. DOI: [10.1016/j.metabol.2022.155380](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2022.155380).
 - 27 Lin CY, Lin YC, Paul CR, et al. Isoliquiritigenin ameliorates advanced glycation end-products toxicity on renal proximal tubular epithelial cells[J]. *Environ Toxicol*, 2022, 37(8): 2096–2102. DOI: [10.1002/tox.23553](https://doi.org/10.1002/tox.23553).
 - 28 邹红, 祁硕, 邓芳萍, 等. 三七总皂苷通过激活 Nrf2/GCLC 信号通路抑制槟榔碱诱导的 HaCaT 细胞氧化应激而缓解口腔黏膜下纤维化[J]. *中国病理生理杂志*, 2024, 40(5): 908–916. [Zou H, Qi S, Deng FP, et al. Panax notoginseng saponins alleviate oral submucous fibrosis by inhibiting arecoline-induced oxidative stress in HaCaT cells via activating Nrf2/GCLC signaling pathway[J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2024, 40(5): 908–916.] DOI: [10.3969/j.issn.1000-4718.2024.05.016](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-4718.2024.05.016).
 - 29 Lan X, Wang Q, Liu Y, et al. Isoliquiritigenin alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by reducing oxidative stress and ameliorating mitochondrial dysfunction via activating the Nrf2 pathway[J]. *Redox Biol*, 2024, 77: 103406. DOI: [10.1016/j.redox.2024.103406](https://doi.org/10.1016/j.redox.2024.103406).
 - 30 张锋娟, 李伟, 薛伟, 等. 口腔黏膜下纤维化和癌变患者口腔黏膜组织细胞凋亡指数及其对癌变发生发展的影响[J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(11): 1176–1179. [Zhang FJ, Li W, Xue W, et al. Measurement of apoptotic index of oral mucosal tissue in patients with oral submucosal fibrosis and carcinogenesis and its effect on carcinogenesis and development[J]. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2019, 18(11): 1176–1179.] DOI: [10.3969/j.issn.1671-4695.2019.11.016](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-4695.2019.11.016).
 - 31 Hung SY, Chen JL, Tu YK, et al. Isoliquiritigenin inhibits apoptosis and ameliorates oxidative stress in rheumatoid arthritis chondrocytes through the Nrf2/HO-1-mediated pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 170: 116006. DOI: [10.1016/j.biopha.2023.116006](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.116006).
 - 32 Zhao TT, Xu YQ, Hu HM, et al. Isoliquiritigenin (ISL) and its formulations: potential antitumor agents[J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(37): 6786–6796. DOI: [10.2174/0929867325666181112091700](https://doi.org/10.2174/0929867325666181112091700).
 - 33 Zhang L, Tan J, Liu Y, et al. Curcumin relieves arecoline-induced oral submucous fibrosis via inhibiting the LTBP2/NF- κ B axis[J]. *Oral Dis*, 2024, 30(4): 2314–2324. DOI: [10.1111/odi.14656](https://doi.org/10.1111/odi.14656).

- 34 Li HS, Zhou YN, Li L, et al. HIF-1 α protects against oxidative stress by directly targeting mitochondria[J]. Redox Biol, 2019, 25: 101109. DOI: [10.1016/j.redox.2019.101109](https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101109).
- 35 Yu M, Pan Q, Li W, et al. Isoliquiritigenin inhibits gastric cancer growth through suppressing GLUT4 mediated glucose uptake and inducing PDHK1/PGC-1 α mediated energy metabolic collapse[J]. Phytomedicine, 2023, 121: 155045. DOI: [10.1016/j.phymed.2023.155045](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.155045).
- 36 梁国新, 唐红悦, 郭畅, 等. miR-224-5p 调控 PI3K/Akt/FoxO1 轴抑制氧化应激减轻缺氧/复氧诱导的心肌细胞损伤[J]. 南方医科大学学报, 2024, 44(6): 1173-1181. [Liang GX, Tang HY, Guo C, et al. miR-224-5p regulates the PI3K/Akt/FoxO1 axis to inhibit oxidative stress and alleviate hypoxia/reoxygenation-induced cardiomyocyte injury[J]. Journal of Southern Medical University, 2024, 44(6): 1173-1181.] DOI: [10.12122/j.issn.1673-4254.2024.06.19](https://doi.org/10.12122/j.issn.1673-4254.2024.06.19).
- 37 Link P, Wink M. Isoliquiritigenin exerts antioxidant activity in Caenorhabditis elegans via insulin-like signaling pathway and SKN-1[J]. Phytomedicine, 2019, 55: 119-124. DOI: [10.1016/j.phymed.2018.07.004](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.07.004).
- 38 薛晓霞, 张丽丽, 张丽娟, 等. 健脾益肾活血方联合达格列净对糖尿病肾病患者炎症因子、氧化应激和血清 AGEs、NGAL、MCP-1 的影响[J]. 现代生物医学进展, 2024, 24(11): 2150-2154. [Xue XX, Zhang LL, Zhang LJ, et al. Effects of Jianpi Yishen Huoxue decoction combined with dapagliflozin on inflammatory factors, oxidative stress and serum AGEs, NGAL, MCP-1 in patients with diabetic nephropathy[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2024, 24(11): 2150-2154.] DOI: [10.13241/j.cnki.pmb.2024.11.028](https://doi.org/10.13241/j.cnki.pmb.2024.11.028).
- 39 宋子毅, 杨超, 张云龙, 等. 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[J]. 华西口腔医学杂志, 2024, 42(4): 444-451. [Song ZY, Yang C, Zhang YL, et al. Mechanism of mangiferin in the treatment of oral submucous fibrosis based on Gene Expression Omnibus data-base chip mining combined with network pharmacology and molecular docking[J]. West China Journal of Stomatology, 2024, 42(4): 444-451.] DOI: [10.7518/hxkq.2024.2024050](https://doi.org/10.7518/hxkq.2024.2024050).
- 40 Jian M, Sun X, Cheng G, et al. Discovery of phenolic matrix metalloproteinase inhibitors by peptide microarray for osteosarcoma treatment[J]. J Nat Prod, 2022, 85(10):2424-2432. DOI: [10.1021/acs.jnatprod.2c00626](https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00626).
- 41 Wang K, Chu Y, Zhang H, et al. FOXD3 suppresses the proliferation of CRC bone metastatic cells via the Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathway[J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2024, 27(3): 436-445. DOI: [10.2174/1386207326666230505111008](https://doi.org/10.2174/1386207326666230505111008).
- 收稿日期: 2025 年 03 月 04 日 修回日期: 2025 年 07 月 25 日
本文编辑: 张 苗 黄 笛

引用本文: 刘根, 郭盛, 彭佳梅, 等. 基于网络药理学和实验探讨异甘草素治疗口腔黏膜下纤维化的作用机制[J]. 数理医药学杂志, 2025, 38(9): 665-677. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202503007](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202503007).

Liu G, Guo S, Peng JM, et al. Mechanism of isoliquiritigenin in the treatment of oral submucous fibrosis based on network pharmacology and experimental validation[J]. Journal of Mathematical Medicine, 2025, 38(9): 665-677. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202503007](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202503007).