

本文引用:朱可可,周蓉,王志豪,谭劲. 基于网络药理学和实验探讨丹玄口康治疗口腔黏膜下纤维化作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(9): 1485-1492.

基于网络药理学和实验探讨丹玄口康治疗 口腔黏膜下纤维化作用机制

朱可可¹,周蓉²,王志豪¹,谭劲^{1*}

(1.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙410007;2.长沙市妇幼保健院,湖南长沙410008)

〔摘要〕目的 探讨丹玄口康治疗口腔黏膜下纤维化(oral submucosal fibrosis, OSF)的作用网络和药效机制。方法 基于网络药理学的方法,结合TCMSP、UniProt、GeneCards等数据库联合分析丹玄口康的有效成分和OSF的作用靶点;通过Cytoscape构建有效成分与靶基因的网络,对靶基因进行GO富集分析和信号通路分析;依据网络药理学结果,设置每组10只共5组SD大鼠进行实验论证,包括正常对照组、模型组、丹玄口康低剂量组、丹玄口康中剂量组、丹玄口康高剂量组。除正常对照组外,其余组以槟榔碱对口腔黏膜机械刺激和注射造模。模型组和正常对照组予以生理盐水灌胃,丹玄口康低、中、高剂量组分别以4、8、12 mL/kg浓度的中药灌胃,每天灌胃1次,连续8周。HE观察大鼠口腔黏膜的病理变化,q-PCR检测HIF-1 α 的含量。结果 丹玄口康的主要活性成分93个,包括丹参酮、芍药苷、黄芩素等;治疗OSF的关键靶基因有48个,包括EGFR、JUN、HIF-1 α 等,通过参与氧化应激进程和HIF-1信号通路等,发挥治疗OSF的作用。动物实验结果显示:丹玄口康能改善OSF大鼠口腔黏膜上皮萎缩和胶原沉积,同时能下调HIF-1 α 的转录($P<0.01$)。结论 丹玄口康治疗OSF体现了中药多成分、多靶点和多通路的作用特点。

〔关键词〕丹玄口康;口腔黏膜下纤维化;网络药理学;靶点;通路

〔中图分类号〕R276.8

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.09.011

Mechanism of Danxuankoukang in treating oral submucosal fibrosis based on network pharmacology and experiment

ZHU Keke¹, ZHOU Rong², WANG Zhihao¹, TAN Jin^{1*}

(1. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China;

2. Changsha Maternal and Child Health Care Hospital, Changsha, Hunan 410008, China)

〔Abstract〕 Objective To investigate the network and pharmacodynamic mechanism of Danxuankoukang in treating oral submucosal fibrosis (OSF). Methods Based on network pharmacology, TCMSP, UniProt, Genecards and other databases were combined to analyze the effective components of Danxuankoukang and the action targets of OSF; a network of active ingredients and target genes was constructed through Cytoscape, and GO enrichment analysis and signaling pathway analysis on target genes were performed; according to the results of network pharmacology, a total of 5 groups with 10 SD rats in each group were set up for experimental demonstration, including control group, model group, Danxuankoukang low-dose group, Danxuankoukang medium-dose group and Danxuankoukang high-dose group. Except the control group, the other groups were made by mechanical stimulation and injection of arecoline to oral mucosa. The model group and the control group were given physiological saline by gavage, and the low-dose, medium-dose and high-dose groups of Danxuankoukang were given 4, 8 and 12 mL/kg concentrations of traditional Chinese medicine by gavage, once a day for 8 weeks. Pathological changes of rat oral mucosa were observed by HE, and the content of HIF-1 α was detected by q-PCR. Results There were 93 main active components in Danxuankoukang, including tanshinone, paeoniflorin and baicalin; there were 48 key target genes in the treatment of OSF, including EGFR, JUN, HIF-1 α and other targets, which play a role in the treatment of OSF through oxidative stress response and HIF-1 signaling pathway. The results

〔收稿日期〕2021-11-23

〔基金项目〕国家自然科学基金面上项目(NSFC81874496);湖南省中医药管理局重点项目(201808);湖南省中医药管理局优秀青年项目(2021240)。

〔第一作者〕朱可可,男,博士研究生,主治医师,研究方向:中医药防治口腔黏膜疾病。

〔通信作者〕*谭劲,男,教授,主任医师,博士研究生导师,E-mail:tanjinhn@aliyun.com。

of animal experiments showed that Danxuankoukang can improve oral mucosa epithelial atrophy and collagen fiber deposition in OSF rats, and regulate HIF-1 α transcription ($P<0.01$). **Conclusion** The study shows the characteristics of multi components, multi targets and multi pathways of traditional Chinese medicine.

[**Keywords**] Danxuankoukang; oral submucosal fibrosis; network pharmacology; target; pathway

口腔黏膜下纤维化(oral submucosal fibrosis, OSF)是一种常见的慢性口腔黏膜病,好发于中国湖南、台湾,在印度、巴基斯坦、泰国、马来西亚等国家也有报道^[1-2],其主要表现为口腔黏膜下固有层的胶原纤维异常沉积和上皮萎缩,从而引起黏膜硬化,形成条索,临床上主要表现为进行性张口受限、长期口腔灼疼和口腔溃疡等^[3]。目前,OSF的发病机制尚不明确,主要与长期咀嚼槟榔、免疫功能失调等有关^[4]。OSF的治疗主要采用激素类药物,降低局部组织的免疫炎症反应,但长期服用该类药,会出现一系列不良反应,如库欣综合征、高脂血症、高血压、高血糖、动脉粥样硬化等^[5-7]。近年来,本课题组在桃红四物汤基础上创制丹玄口康,并观察其治疗 OSF 的临床疗效与实验机制^[8-10]。丹玄口康由丹参、玄参、当归、红花、生地黄、白花蛇舌草、黄芪、薄荷配伍而成,能够理气活血、化痰软坚,缓解患者张口受限和口腔黏膜疼痛的症状,同时较少出现药物的不良反应。但其在分子水平上的作用机制,还需进一步探索。因此,本文在分子层面,通过网络药理学方法探讨丹玄口康治疗 OSF 的作用机制,以期对未来进一步的药理研究提供依据和参考。

1 方法

1.1 丹玄口康的活性成分筛选

运用中药系统药理学数据库与分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSp, <http://tcmsp.com/tcmsp.php>),分别检索丹玄口康中的丹参、当归、红花、生地黄、白花蛇舌草、玄参、黄芪和薄荷,收集其化学成分信息,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 作为药物活性成分的筛选标准。得到结果为丹玄口康的活性成分。

1.2 丹玄口康作用靶点的预测

运用 TCMSp 数据库和 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>),对丹玄口康活性成分进行靶基因

的预测,预测条件限定为靶点人源性,将所有预测的靶基因进行转换,得到基因标准化名字。得到结果为丹玄口康作用靶基因的标准化名字。

1.3 OSF 的治疗靶点预测

运用 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)和 OMIM 数据库(<https://omim.org/>),以关键词“oral submucosal fibrosis”对疾病相关靶点分别进行检索,检索结果汇总后去除重复基因。得到结果为 OSF 的潜在治疗靶点。

1.4 构建“丹玄口康的活性成分-OSF 的作用靶点”网络

将上述结果导入 R 语言(V 3.7.0)中,绘制药物和疾病的韦恩图,并得到药物调控疾病靶基因的网络节点。将上述结果导入 Cytoscape 软件(V 3.8.0)中,进行网络拓扑结构分析,绘制“丹玄口康的活性成分-OSF 的作用靶点”网络图。其中,外围椭圆形代表丹玄口康的有效活性成分,中间的三角形代表 OSF 的关键靶基因,网络中有联系的节点通过连线链接。

1.5 作用靶点的功能和通路的生物信息学分析

将“1.4”项中获得的靶基因数据导入 David 数据库(DAVID,<https://david.ncifcrf.gov/>),物种限定“Homo sapiens”,对靶基因进行 GO 生物过程和 KEGG 通路生物信息学分析,筛选 $P<0.05$ 结果并保存。列出排名前 60 的 GO 富集结果,圆圈大小代表基因数目,参与该生物学进程靶基因的数目越多,圆圈直径越大;圆圈的颜色从蓝色到红色代表 P 值逐渐变小, P 值越小,说明参与该生物学进程的靶基因富集程度越高。列出排名前 20 的 KEGG 信号通路,圆圈大小代表基因数目,参与该信号通路靶基因的数目越多,圆圈直径越大;圆圈的颜色从蓝色到红色代表 P 值逐渐变小, P 值越小,说明参与该信号通路的靶基因富集程度越高。

1.6 动物实验验证

1.6.1 实验动物及药物 选取 8 周龄雄性 SD 大鼠 50 只,体质量(235 ± 15) g,由湖南斯莱克景达实验动

物有限公司提供,动物许可证号 SCXK(湘)2019-0004。于湖南中医药大学 SPF 级动物房饲养,温度(24±2)℃,相对湿度为 50%~60%,清洁饮水,自由摄食,24 h 光暗循环条件下饲养。严格遵循实验动物福利伦理原则,并经本单位实验动物伦理委员会审查,伦理审批编号为 LLBH-202103100002。

丹玄口康所用药物为颗粒剂,经广东三九制药有限公司生产,由湖南中医药大学第一附属医院药剂科提供。具体组方如下:丹参 10 g,玄参 10 g,当归 10 g,红花 5 g,生地黄 10 g,白花蛇舌草 10 g,黄芪 10 g,薄荷 10 g。

1.6.2 主要试剂及仪器 氢溴酸槟榔碱(德斯特生物公司,批号:300-08-03),HE 染色套装(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号:G1003),中性树胶(国药集团化学试剂有限公司,批号:10004160),病理切片机(德国莱卡,型号:RM2016),正置显微镜(日本尼康,型号:Nikon Eclipse E100),荧光定量 PCR 仪(赛默飞世尔科技有限公司,型号:QuantStudio 7 Flex)。

1.6.3 实验分组、模型制备和给药 将造模大鼠分别放入麻醉造模装置中,待大鼠吸入异氟烷麻醉后,用止血钳和镊子张开大鼠口腔,充分暴露颊黏膜,注意从口角伸入皮肤褶皱与颊黏膜相接处进入黏膜下,朝内推进 0.5 cm 后,注入 10 mg/mL 槟榔碱 0.2 mL (2 d/次);注射后再用自制刷蘸槟榔碱在颊黏膜处刷 20 次(1 d/次,上下左右各 20 次),之后禁食、禁水 2 h^[11]。连续 8 周后,检查大鼠口腔情况:张口明显受限,颊黏膜苍白,扪之发硬,黏膜下有条索物形成,符合 OSF 临床表现。造模期间无大鼠死亡。随机将造模成功大鼠分为正常对照组、模型组、丹玄口康低剂量组、丹玄口康中剂量组、丹玄口康高剂量组,每组 10 只。正常对照组 10 只大鼠不予处理,正常饲养。模型组大鼠在正常饲养基础上,予以等量生理盐水灌胃;丹玄口康低、中、高剂量组大鼠,在正常饲养基础上予以低、中、高浓度丹玄口康灌胃。

丹玄口康低、中、高剂量组以组方 4、8、12 mL/kg (按照体表面积药物剂量换算公式计算,分别相当于 70 kg 成人剂量的 1、2、3 倍)^[11]灌胃 8 周,模型组以等量生理盐水灌胃,1 次/d。末次给药后,使用过量水合氯醛将大鼠处死,取大鼠口腔颊黏膜组织,部分固定于 10%甲醛中,部分冻存于-80℃冰箱。

1.6.4 口腔黏膜组织病理切片 将标本石蜡包埋后切片,依次将切片放入二甲苯 I 20 min、二甲苯 II 20 min、无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、75%乙醇 5 min,自来水洗;切片入苏木素染液染 3~5 min,自来水洗,分化液分化,自来水洗,返蓝液返蓝,流水冲洗;伊红染色:切片依次入 85%、95%乙醇脱水各 5 min,入伊红染液中染色 5 min;脱水封片:切片依次放入无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、无水乙醇 III 5 min、二甲苯 I 5 min、二甲苯 II 5 min 透明,中性树胶封片;显微镜镜检,图像采集分析。

1.6.5 q-PCR 检测口腔黏膜组织中 HIF-1 α 以 Trizol 提取细胞总 RNA,取保存在 Trizol 中的组织约 0.02 g,加入 1 mL Trizol 于匀浆器中充分研磨匀浆,混匀后室裂解 5 min;加入 200 μ L 三氯甲烷,混匀 15 s,室温静置 3 min;以离心半径 8 cm,12 000 r/min、4℃下离心 15 min;取上层液相,转移至新的 RNase-Free 离心管中;加入等体积的异丙醇,混匀,室温静置 10 min;以离心半径 8 cm,12 000 r/min、4℃下离心 10 min,去上清,加入 1 mL 75%乙醇(无菌 DEPC 处理水配制)洗涤沉淀;以 12 000 r/min、4℃下离心 3 min,去上清;空气干燥 5~10 min;加入 20~30 μ L 无菌无酶水溶解沉淀;紫外分光光度计测定浓度,在 260 nm 与 280 nm 处测其吸光度值,并计算其浓度、纯度;以组织总 mRNA 为模板,逆转录 cDNA,反应体系涡旋振荡混匀,短暂离心,使管壁上的溶液收集到管底,50℃孵育 50 min,85℃孵育 5 min;反应结束后,短暂离心,置于冰上冷却;以 β -actin 作为内参基因计算丹玄口康治疗 OSF 的关键靶基因 HIF-1 α 相对表达量,运用 primer5 软件设计引物,由北京擎科合成引物;根据引物的设计要求,PCR 扩增条件:95℃、10 min 预变性;95℃下 15 s,60℃下 20 s,持续 40 个循环。HIF-1 α mRNA 以 β -actin 为内参基因,采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 算法计算 HIF-1 α mRNA 相对表达水平。q-PCR 引物序列见表 1。

1.7 数据分析

使用 Graphpad Prism 软件,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用方差检验,比较各组间的显著性差异,其中方差齐性采用 LSD 检验,方差非齐性采用 Dunnett's T3 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 q-PCR 引物序列

基因名称	序列	产物大小/bp
HIF-1 α	上游引物:	380
	5'-GTCGGACAGCCT-CACCAAACAGAGC-3'	
	下游引物:	
	5'-GTTAACTT-GATCCAAAGCTCTGAG-3'	
β -actin	上游引物:	621
	5'-ATCGTGCCTGACATTA-AGGAGAAG-3	
	下游引物:	
	5'-ACGAAGGAAGCT-GGAAGAGTG-3'	

2 结果

2.1 丹玄口康的活性成分

通过 TCMSp 数据库共收集丹玄口康中化学成分 2456 个,依据 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 的筛选标准,去除重复的有效成分后,结果为 93 个,OB 值排名前 10 的活性成分见表 2。

表 2 丹玄口康 OB 前 10 位活性成分的基本信息

名称	OB/%	DL
populoside	108.89	0.20
gibberellin A44	101.61	0.54
gibberellin 17	94.64	0.49
4bbeta-gibbane-1alpha,10beta-dicarboxylic acid	88.60	0.46
2,3-didehydro GA77	88.08	0.53
paeoniflorgenone	87.59	0.37
gibberellin 7	73.80	0.50
GA121-isolactone	72.70	0.54
paeoniflorin	68.18	0.40
albiflorin	66.64	0.33

2.2 共同作用靶点的预测

运用 TCMSp 数据库,对丹玄口康所包含的 8 味中药依次进行筛选,得到结果为潜在的治疗靶基因,去除重复靶基因,最后得到的靶基因数目为 260 个。通过检索 GeneCards 和 OMIM 数据库,两个数据库相结合后去除重复项,得到 459 个 OSF 的潜在治疗靶基因。将丹玄口康有效成分的靶点与 OSF 的靶点相匹配,得到丹玄口康治疗 OSF 的关键靶基因 48 个,根据结果绘制韦恩图。详见图 1。

2.3 丹玄口康活性成分-OSF 关键靶基因的网络构建和分析

将丹玄口康有效活性成分和 OSF 关键靶基因导入 Cytoscape 软件进行网络构建,得到“有效活性成分-关键靶基因”网络。结果表明,槲皮素、丹参酮

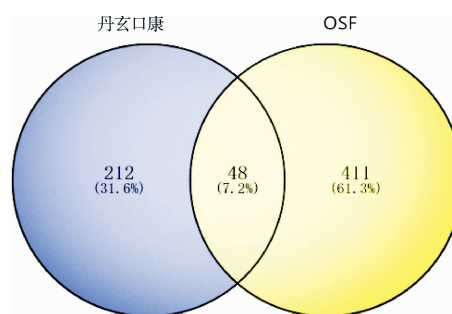


图 1 丹玄口康和 OSF 共同作用靶点的韦恩图

II A、阿魏酸、芍药苷、木犀草素、黄芩素能与 5 个以上的靶点相连接,推测这 6 个成分是丹玄口康中对 OSF 起治疗作用的主要活性成分;丹玄口康活性成分和 OSF 靶基因连线排在前 10 位的分别是: EGFR、JUN、HIF-1 α 、PGR、MMP9、MAPK1、PTGS2、MYC、VEGFA、CASP8。表明这些靶点在 OSF 的治疗中可能发挥重要的作用。详见图 2。

2.4 GO 生物学过程的生物信息学分析

GO 富集分析显示,丹玄口康治疗 OSF 的靶基因涉及氧活性反应(response to reactive oxygen species)、金属内肽酶活性(metalloendopeptidase activity)、丝氨酸内肽酶活性(serine-type endopeptidase activity)、血红素结合(heme binding)等多个生物进程,表明丹玄口康通过多生物学进程发挥治疗 OSF 的作用。详见图 3-5。

2.5 KEGG 信号通路的生物信息学分析

KEGG 信号通路富集结果显示,丹玄口康治疗 OSF 主要涉及的通路如下:肿瘤坏死因子信号通路、IL-17 信号通路、HIF-1 信号通路等多个通路。表明丹玄口康活性成分作用的靶基因,分布于不同的信号通路,通过多通路共同作用来发挥治疗 OSF 的作用。详见图 6。

2.6 丹玄口康对 OSF 大鼠口腔黏膜的影响

2.6.1 丹玄口康对 OSF 大鼠口腔黏膜的病理改变

通过 HE 染色发现,正常对照组黏膜上皮基本正常,钉突未出现变平或消失;与正常对照组相比,模型组黏膜上皮萎缩、变薄,部分钉突变短甚至消失,黏膜固有层出现大量粉红色丝状、网状胶原纤维沉积,固有层下肌纤维萎缩;丹玄口康低、中、高剂量组 HE 染色结果较为相似,黏膜上皮基本正常,黏膜固有层见少量丝状胶原纤维沉积,固有层肌纤维基本正常。详见图 7。

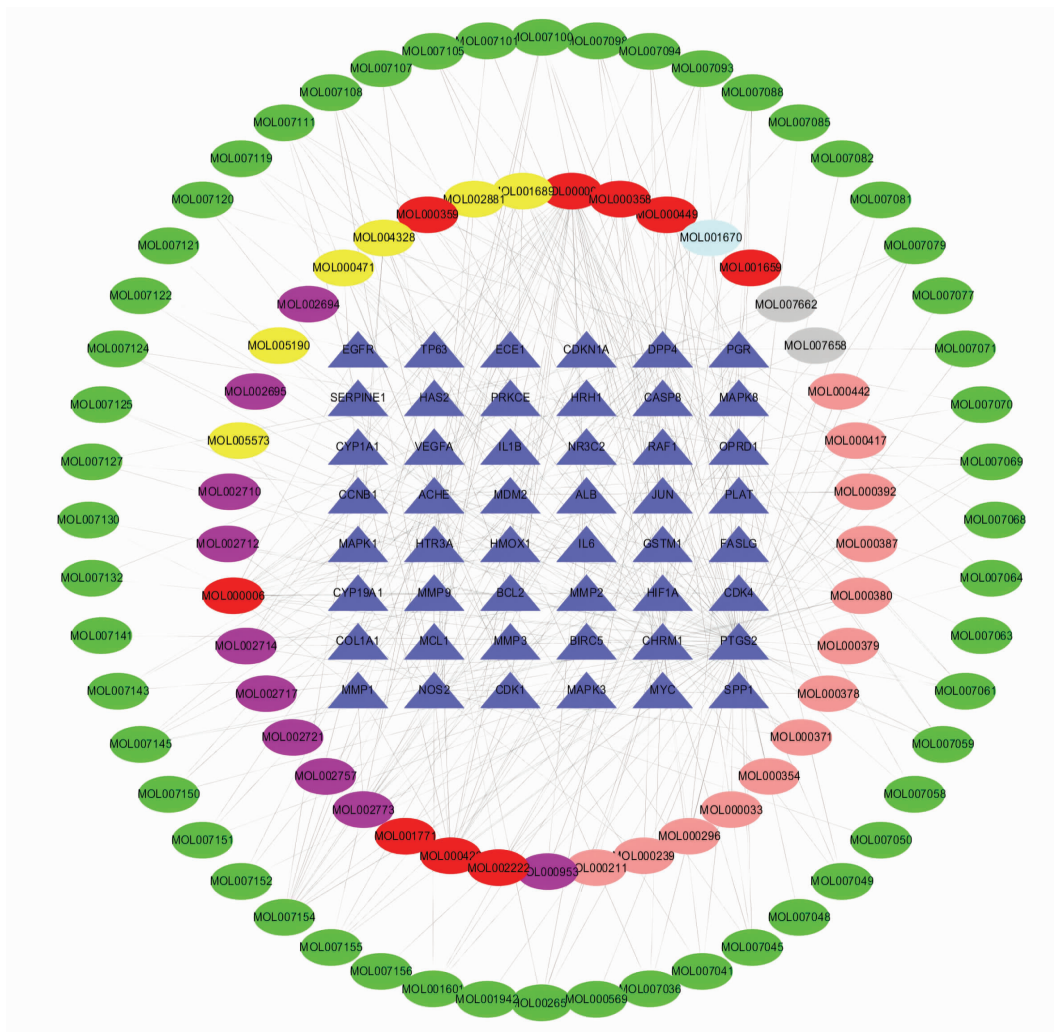


图2 丹玄口康的活性成分作用于OSF关键靶基因的网络图

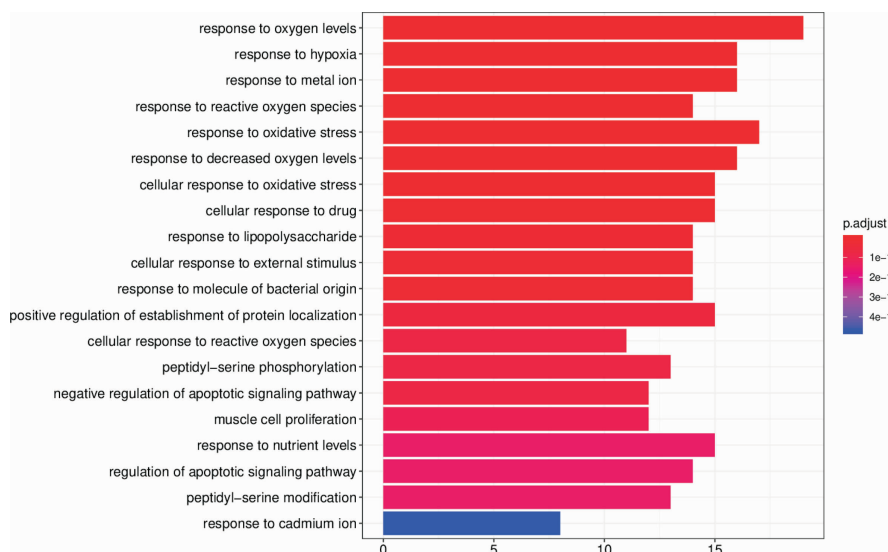


图3 GO的BP柱状图

2.6.2 丹玄口康对OSF大鼠HIF-1 α 转录的影响 与正常对照组比较,模型组大鼠口腔黏膜HIF-1 α mRNA表达水平明显上升($P < 0.01$)。与模型组比较,丹玄口康各剂量组大鼠HIF-1 α mRNA表达水平明

显下降($P < 0.01$),丹玄口康低剂量组和中剂量组相比,HIF-1 α mRNA的表达,差异无统计学意义,丹玄口康高剂量组较丹玄口康低、中剂量组HIF-1 α mRNA表达水平下降($P > 0.05$)。详见图8。

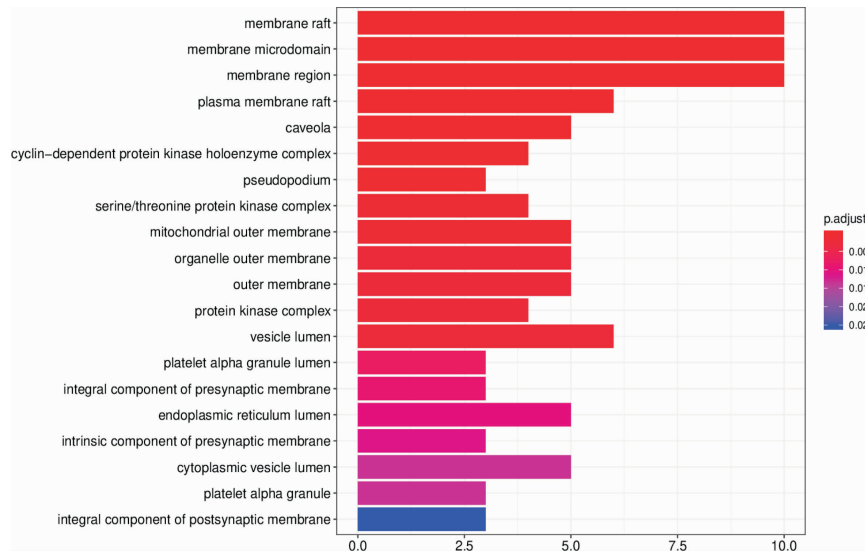


图 4 GO 的 CC 柱状图

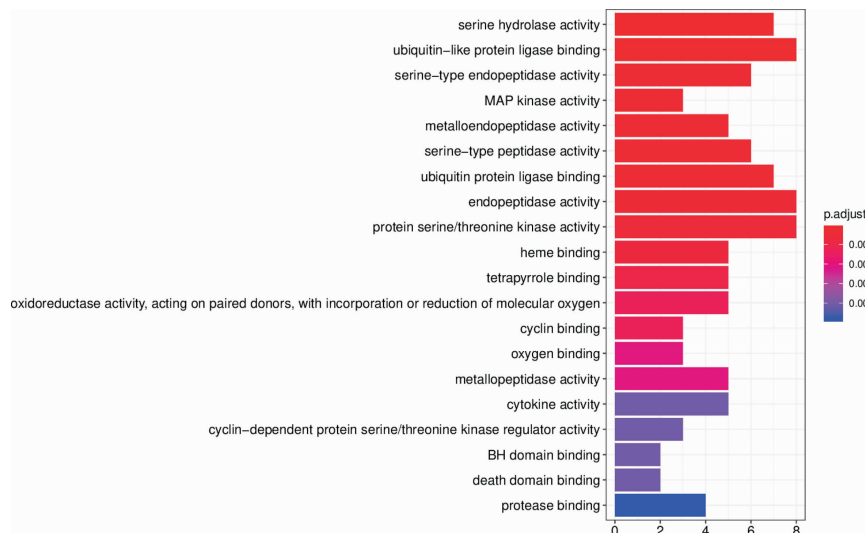


图 5 GO 的 MF 柱状图

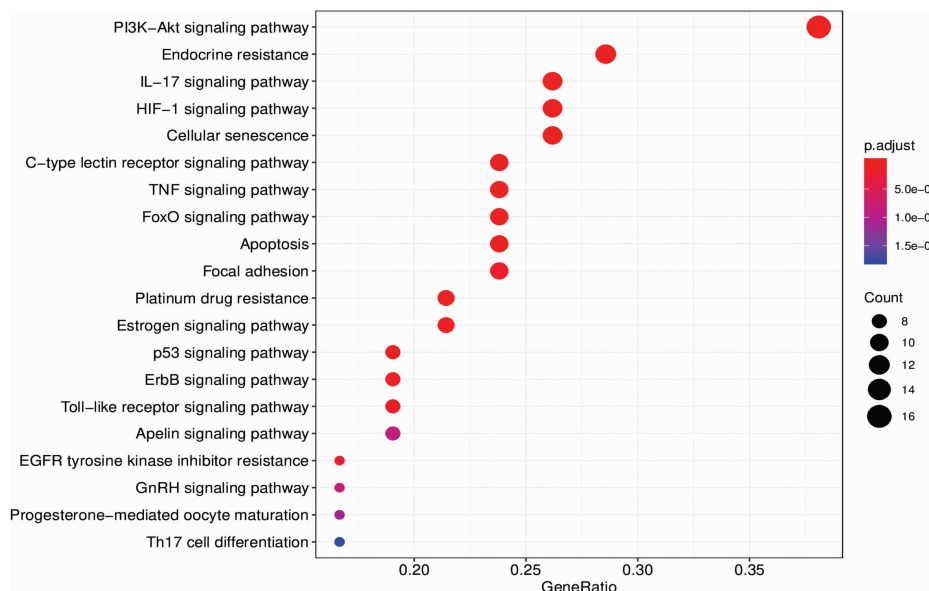


图 6 KEGG 通路的气泡图

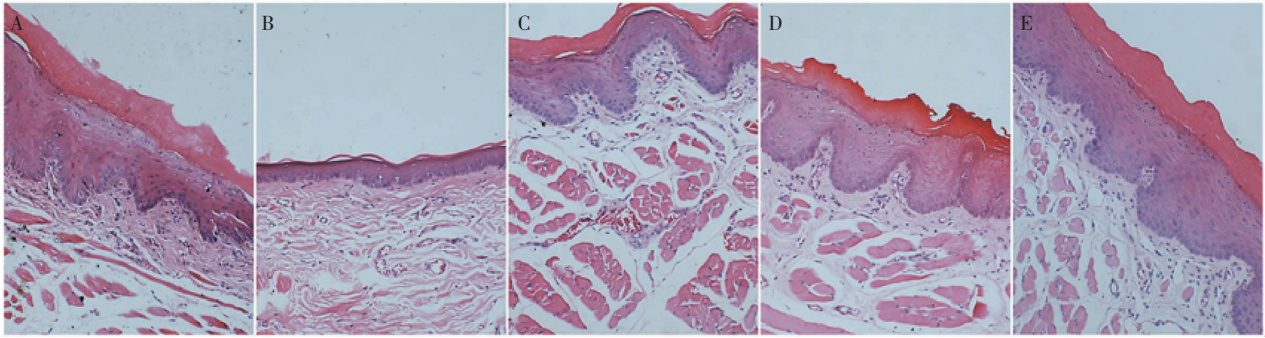


图7 丹玄口康对 OSF 大鼠口腔黏膜的病理改变(HE 染色, ×200)

注:A.正常对照组;B.模型组;C.丹玄口康低剂量组;D.丹玄口康中剂量组;E.丹玄口康高剂量组。

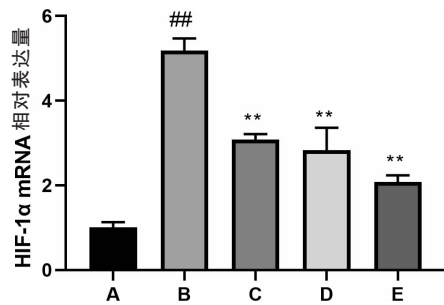


图8 丹玄口康对 OSF 大鼠 HIF-1 α 转录的影响

注:A.正常对照组;B.模型组;C.丹玄口康低剂量组;D.丹玄口康中剂量组;E.丹玄口康高剂量组。与正常对照组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$ 。

3 讨论

OSF 是一种以胶原纤维堆积为主要病变特征的慢性隐匿性疾病,以口腔硬化、张口受限为主要特征。中医学认为槟榔等辛燥之物致温热邪毒郁积于口腔黏膜局部,血运受阻,气血失和,瘀邪滞留,最终致 OSF 的发生^[12-14]。因此,在 OSF 的治疗中要以理气活血为主,同时兼顾化瘀软坚止痛。丹玄口康方中,丹参、玄参养神定志,通利血脉;当归、红花活血通经,散瘀止痛;生地黄、白花蛇舌草养阴生津,消痛散结;黄芪、薄荷固表止汗,利咽止痛。经过网络药理分析,方中的有效活性成分丹参酮、芍药苷、黄芩素等在治疗 OSF 中发挥着重要作用。其中丹参酮可下调 I 型和 III 型胶原蛋白的表达,同时能调节血管内皮细胞生长因子,改善血液循环,其和曲安奈德联合注射于口腔黏膜局部,对 OSF 的症状改善有着明显的作用^[15-17]。在 H₂O₂ 诱导的氧化细胞损伤 SH-SY5Y 系中,芍药苷能促进自噬小体与溶酶体结合,抑制细胞的氧化损伤^[18]。同时,有研究表明,芍药苷能升高血清和大脑皮质中 β -EP 的水平,减少 PGE₂ 生成,

发挥抗炎镇痛作用,同时能调节 IL-6、IL-8、TNF 等免疫因子,在口腔黏膜疾病中有着广泛的运用^[19-20]。黄芩素通过促进内皮依赖性血管舒张和静脉内皮细胞的凋亡,改善血管内皮受损功能,发挥着抗氧化作用^[21-22],同时,黄芩素通过抑制 TGF- β 1/ERK1/2 信号通路,降低下游蛋白 PCNA、Survivin 的表达,抑制鼻咽癌细胞增殖^[23]。以上研究表明,丹玄口康的有效成分能改善受损血管内皮、改善血液循环,从而发挥抗炎、镇痛和抗氧化作用。

多项研究表明,OSF 发病和 HIF-1 信号通路激活密切相关,在 OSF 发病过程中,血运受阻导致局部血供不足,而血供不足致使局部组织缺氧,从而激活氧化应激通路,诱导下游的细胞因子(PDGF、VEGF、TGF 等)转录^[24-25]。这些下游因子的转录,促进肌成纤维细胞的转化和增殖,使黏膜下胶原纤维的生成增多,降解减少,导致口腔下纤维化的形成。通过生物信息学进一步分析,结果显示丹玄口康治疗 OSF 的生物学过程中,涉及氧活性反应和血红素结合等进程;在 KEGG 信号通路富集显示,涉及 HIF-1 信号通路。由此推测,丹玄口康通过调节 HIF-1 信号通路,在治疗 OSF 中发挥着重要作用。

在网络药理学分析的基础上,进行实验论证,发现丹玄口康能够缓解槟榔碱诱导的大鼠口腔黏膜组织中的上皮萎缩和胶原沉积;q-PCR 检测显示,HIF-1 α 在模型组中的转录明显高于正常对照组($P<0.01$),丹玄口康各组 HIF-1 α 的转录明显低于模型组($P<0.01$),其中,丹玄口康高剂量组较丹玄口康低、中剂量组的转录下调更为明显。不仅如此,临床研究发现,丹玄口康能调节患者外周血中的 T 淋巴细胞亚群,改善 OSF 患者的免疫功能;同时可以调

节转化生长因子- β 的转录,起着治疗 OSF 的作用^[8]。说明丹玄口康通过多靶点、多通路治疗 OSF,并取得了良好的临床效果,也证实了本次网络药理学分析的结果可靠。

综上所述,本研究采用网络药理学方法,对丹玄口康治疗 OSF 进行了网络关系的系统分析,推测丹玄口康中的活性成分能通过多项生物学进程和信号通路,改善了 OSF 的进程,充分体现了中医药治疗 OSF 的多成分、多靶点和多通路的作用特点;同时,通过实验论证丹玄口康能改善口腔黏膜上皮的病理学进程,调控 HIF-1 α 的转录。为后期进一步探索 OSF 的相关治疗方法提供有效依据。此外,本研究主要探讨丹玄口康的单种药方治疗,在临床中可根据情况与其他中药进行联合或加减,相互之间的机制作用与应用或将成为后期研究的方向。

参考文献

- [1] RAY J G, CHATTERJEE R, CHAUDHURI K. Oral submucous fibrosis: A global challenge, rising incidence, risk factors, management, and research priorities[J]. *Periodontology* 2000, 2019, 80 (1): 200-212.
- [2] SHEN Y W, SHIH Y H, FUH L J, et al. Oral submucous fibrosis: A review on biomarkers, pathogenic mechanisms, and treatments[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21 (19): 7231.
- [3] SHIH Y H, WANG T H, SHIEH T M, et al. Oral submucous fibrosis: A review on etiopathogenesis, diagnosis, and therapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(12): 2940.
- [4] 翦新春,高兴.口腔黏膜下纤维性变的病因、致病机理、诊断与治疗[J].*口腔疾病防治*,2021,29(4):217-225.
- [5] 李永清.糖皮质激素的药理作用及不良反应[J].*北方药学*,2013,10 (11):32-33.
- [6] 安浩宇.糖皮质激素药理作用及在临床应用过程中的不良反应分析[J].*世界最新医学信息文摘*,2019,19(75):51-52.
- [7] 温成平,谢志军.激素不同使用阶段的中医证候诊断和治疗指南[J].*中华中医药杂志*,2020,35(9):4536-4540.
- [8] 谭劲,李元聪,陈安,等.丹玄口康治疗口腔黏膜下纤维化的临床研究[J].*湖南中医药大学学报*,2006,26(5):41-43.
- [9] 伍春华,韦从云,王绍逊,等.丹玄口康注射液对大鼠口腔黏膜下纤维化成纤维细胞 Bcl-2 阳性细胞的影响[J].*湖南中医学院学报*, 2005,25(1):6-8.
- [10] 谭劲,岳金宝,罗玉姣,等.丹玄口康对 ANE 诱导的口腔黏膜下纤维化 TGF β 1/Smad 信号通路的影响[J].*中国医药科学*,2018,8 (5):27-31,71.
- [11] 谭劲,吴丹,罗玉姣,等.丹玄口康对 ANE 诱导的 OSF 大鼠的影响[J].*中医临床研究*,2018,10(1):1-4.
- [12] 隋嘉宁,陈世娟,李元聪.李元聪教授治疗口腔黏膜下纤维化临床经验[J].*湖南中医药大学学报*,2018,38(4):424-426.
- [13] 刘一平,文倩,谭劲.口腔黏膜下纤维性变的中医辨治经验[J].*湖南中医杂志*,2019,35(6):38-39,47.
- [14] 谭劲,周小青.口腔黏膜下纤维化中西医结合研究进展[J].*世界最新医学信息文摘*,2016,16(14):31-33.
- [15] 丁维,钟立仁,张海波,等.丹参酮 II A 磺酸钠对高脂血症勃起功能障碍大鼠 Nrf2/HO-1 通路及勃起功能的影响[J].*陕西中医*, 2020,41(11):1520-1523,1538.
- [16] 翦新春,郑廉,朱蓉,等.曲安奈德和丹参酮注射液治疗口腔黏膜下纤维化的效果评价[J].*中华口腔医学杂志*,2017,52(1):16-21.
- [17] 覃筱燕,严莉,唐丽,等.丹参酮 II A 对肝纤维化大鼠肝组织胶原表达的影响[J].*时珍国医国药*,2010,21(4):782-784.
- [18] 余婧萍,宋祯彦,李富周,等.芍药苷通过促进细胞自噬抑制 H₂O₂ 诱导的 SH-SY5Y 细胞的氧化损伤[J].*湖南中医药大学学报*, 2020,40(6):653-659.
- [19] 杨山景,封安杰,孙越,等.白芍总苷的药理作用及机制研究进展[J].*中国现代应用药学*,2021,38(13):1627-1633.
- [20] 孟胜喜,霍清萍.芍药苷对神经系统的作用及其机制的研究[J].*西部中医药*,2020,33(4):150-153.
- [21] 朱亚南,杨七妹,张硕,等.黄芩苷与黄芩素药理作用及机制研究进展[J].*时珍国医国药*,2020,31(4):921-925.
- [22] 郑勇凤,王佳婧,傅超美,等.黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J].*中成药*,2016,38(1):141-147.
- [23] 刘洁,史红健,熊雨,等.黄芩苷通过 TGF- β 1/ERK1/2 信号通路抑制鼻咽癌细胞增殖[J].*湖南中医药大学学报*,2021,41(8): 1154-1159.
- [24] 蔺琳,凌天旸.口腔黏膜下纤维化组织中缺氧诱导因子-1 α 的表达[J].*实用口腔医学杂志*,2015,31(2):230-232.
- [25] KALE A D, MANE D R, SHUKLA D. Expression of transforming growth factor β and its correlation with lipodystrophy in oral submucous fibrosis: An immunohistochemical study[J]. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 2013, 18(1): e12-e18.

(本文编辑 贺慧娥)