

## 模式生物斑马鱼在心功能评价中的应用

冉凯凯<sup>1, 2, 3#</sup>, 郑瑞芳<sup>2#</sup>, 夏青<sup>1</sup>, 张长青<sup>1</sup>, 马瑞娇<sup>1</sup>, 刘可春<sup>1</sup>, 张云<sup>1\*</sup>, 邢建国<sup>2\*</sup>

1. 齐鲁工业大学(山东省科学院)生物研究所, 山东 济南 250103

2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830002

3. 新疆医科大学, 新疆 乌鲁木齐 830011

**摘要:** 斑马鱼繁殖力强、体积小、易饲养、发育快速、胚胎透明, 与人类基因组同源性高, 心脏结构和功能与哺乳类动物高度相似。基于斑马鱼模型的药物实验具有用量少、周期短、指标易观察等优势, 近年来斑马鱼模型在药物心血管安全性评价和心脏保护活性筛选领域得到了广泛应用。结合课题组前期研究及国内外文献, 综述斑马鱼心功能评价应用进展, 以为斑马鱼在心血管药物安全性和活性评价中的应用提供参考。

**关键词:** 斑马鱼; 心功能评价; 心脏毒性; 心脏保护活性

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)08-1581-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.08.002

## Application of model organism - zebrafish in cardiac function evaluation

RAN Kaikai<sup>1,2,3</sup>, ZHENG Ruifang<sup>2</sup>, XIA Qing<sup>1</sup>, ZHANG Changqing<sup>1</sup>, MA Ruijiao<sup>1</sup>, LIU Kechun<sup>1</sup>, ZHANG Yun<sup>1</sup>, XING Jianguo<sup>2</sup>

1. Biology Institute, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, China

2. Institute of Medicine, Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830002, China

3. Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

**Abstract:** As a model organism, zebrafish has many advantages such as high fecundity, small size, rapid development, transparency of embryos and high degree of genetic homology. Additionally, there is a high similarity of the heart structure and function between zebrafish and mammals. Recently, zebrafish has been widely used in the field of cardiovascular drug screening and cardioprotective activity tests, which is largely attributable to short period and low dosage of drug treatment. In this paper, we will review the progress of the heart function evaluation of zebrafish, based on the previous research and domestic and foreign literatures. In order to provide reference for the application of zebrafish in the evaluation of the cardiovascular safety and the activity of drugs.

**Key words:** zebrafish; cardiotoxicity; cardioprotective activity; evaluation of cardiac function

心功能是临床诊断、治疗心血管疾病的重要依据。如何准确预测药物对患者心功能的影响, 是降低临床心血管用药风险和提 高心血管新药研发效率的关键<sup>[1]</sup>。

斑马鱼 *Danio rerio* 是一种热带鱼, 原产于巴基斯坦、孟加拉国、印度东部。斑马鱼成年鱼个体小、易饲养, 繁殖力强、发育快速、性成熟期短, 胚胎体外发育且透明, 便于观察<sup>[2]</sup>。胚胎在受精后 72 h(hours

收稿日期: 2021-06-14

基金项目: 山东省优秀青年人才基金项目(ZR2020YQ60); 齐鲁工业大学(山东省科学院)科教产融合创新试点工程项目(2020KJC-ZD08); 齐鲁工业大学(山东省科学院)生物与生物化学ESI培育学科开放课题(ESIBBC202011); 济南市“高校20条”资助项目(2020GXRC053)

#共同第一作者: 冉凯凯(1994—), 女, 硕士, 研究方向为基于斑马鱼模型的药物活性筛选与安全性评价。Tel: (0531)82605331

E-mail: 18293113283@163.com

郑瑞芳(1992—), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向为中药民族药药理学。Tel: (0991)2828537 E-mail: 872780352@qq.com

\*共同通信作者: 张云(1982—), 女, 博士, 研究员, 主要从事基于斑马鱼模型的药物活性筛选与安全性评价。Tel: (0531)82605331

E-mail: xiaohan\_0818@163.com

邢建国(1968—), 男, 硕士, 研究员, 研究方向为中药民族药新制剂与新剂型。Tel: (0991)2828537 E-mail: xjguodd@163.com

post fertilization, hpf) 器官基本发育完成, 96 hpf 全部器官发育完成, 受精后3个月左右达到性成熟, 其生长发育周期比啮齿类动物短, 缩短了进行动物实验需要的时间和成本<sup>[3-4]</sup>。同时斑马鱼基因具有高度保守性, 与人类基因组约有87%的相似性<sup>[5]</sup>, 约70%的人类基因至少有1个明显的斑马鱼同源基因<sup>[6]</sup>。斑马鱼的心血管系统在解剖结构和生理功能方面与哺乳动物相似, 心脏由心房和心室构成, 房室之间存在瓣膜, 且其心脏的发育及基因调控机制等也与人类相似<sup>[7-8]</sup>。此外, 斑马鱼与人类心脏电生理非常相似, 相对于啮齿类动物, 斑马鱼的心电图形态更类似于人类<sup>[9]</sup>。研究表明, 导致人体QT间期延长的药物中, 超过95%的药物对斑马鱼有类似的作用<sup>[10]</sup>。基于以上特点, 近年来, 斑马鱼已被广泛应用于药物的心血管保护活性筛选与安全性评价。

## 1 斑马鱼心脏发育及生理结构

斑马鱼的心脏由静脉窦、心房、心室和动脉球组成, 位于胸膜和胸廓之间的中腔前腹<sup>[11]</sup>。在5 hpf时, 心脏祖细胞出现在卵裂期胚胎的外侧边缘区<sup>[12]</sup>。原肠胚期, 来自前外侧板中胚层的细胞向中线迁移, 分化为心室和心房心肌细胞<sup>[12]</sup>。24 hpf 心管形成, 拉长并弯曲, 使心室前倾, 心房后倾。在此阶段, 斑马鱼发育形成跳动的线性心脏管, 推动体循环, 其后心脏成圈、房室膨胀, 并形成房室管<sup>[12]</sup>。在48 hpf时, 静脉窦、心房、心室发育完成, 动脉球开始发育<sup>[13-14]</sup>, 心肌细胞重新排列, 心脏的发育基本完成, 心脏通过舒缩实现泵血功能<sup>[15]</sup>。实验中常选用发育至48 hpf的斑马鱼进行药物心脏毒性或心脏保护活性评价的研究。

## 2 斑马鱼心功能评价指标

斑马鱼心功能评价的指标包括心脏形态、心率、静脉窦-动脉球(SV-BA)距离、心室舒张末期体积、心室收缩末期体积、心室短轴缩短率、每搏输出量、射血分数等。除此之外, 还可以通过检测心电图、心功能相关基因和蛋白表达水平等评价心功能。

### 2.1 斑马鱼心脏形态

心脏形态是心功能评价的重要指标之一。在显微镜下调整斑马鱼的体位, 使其呈侧卧状态, 以便在显微镜下清晰观察斑马鱼的心脏形态。通过观察给药前后斑马鱼心脏形态的变化来判断药物对斑马鱼心脏的影响<sup>[16]</sup>。侧面观察发育正常的斑马鱼幼鱼时, 其心房与心室部分重叠, 而有心脏毒性的药物处理斑马鱼幼鱼后心脏形态通常发生以下变化: 心包水肿; 心房和心室位置发生变化, 不再

出现重叠现象; 心脏跳动缓慢或加速; 血流缓慢, 有的斑马鱼出现无血流现象等。

### 2.2 斑马鱼心率

斑马鱼的心率是指斑马鱼每分钟心脏跳动的次数<sup>[17]</sup>。心率的变化是心功能评价的重要指标。Ye等<sup>[18]</sup>评估了3种双酯二萜生物碱和3种单酯二萜生物碱对斑马鱼的心脏毒性。结果表明, 15.6、31.3  $\mu\text{mol/L}$  双酯二萜生物碱导致斑马鱼心率降低, 而在62.5、125.0、250.0  $\mu\text{mol/L}$  浓度下使斑马鱼心率增加。31.3~250.0  $\mu\text{mol/L}$  的3种单酯二萜生物碱降低斑马鱼心率, 但最高浓度(500  $\mu\text{mol/L}$ )的14- $\alpha$ -苯甲酰乌头碱和14- $\alpha$ -苯甲酰新乌头碱增加斑马鱼心率。

### 2.3 斑马鱼SV-BA距离

斑马鱼的SV-BA距离是指静脉窦(SV)和动脉球(BA)之间的距离。SV是血液进入心房的部位, BA是血液流出心室的部位。SV与BA之间的距离可反映心房和心室的位置变化。若心脏受到影响, 心房和心室的位置将发生改变, SV-BA距离相应发生改变, 通过显微镜下测量SV-BA距离可判断受试化合物对心脏的影响<sup>[19]</sup>。赖石凤<sup>[20]</sup>在丹参酮II<sub>A</sub>及衍生物安全性评价研究中发现, 将斑马鱼暴露于40  $\mu\text{mol/L}$  丹参酮II<sub>A</sub>中, 使SV-BA距离缩短, 开发丹参酮II<sub>A</sub>产品时应重视其心脏不良反应风险。

### 2.4 斑马鱼心室舒张末期体积、心室收缩末期体积、心室短轴缩短率、每搏输出量及射血分数

心室舒张末期充盈量最大, 此时心室的容积称为舒张末期容积。心室射血期末, 心室容积最小, 这时的心室容积称为收缩末期容积。心室短轴缩短率(FS)=[心室舒张末期内径( $D_d$ )-心室收缩末期内径( $D_s$ )]/ $D_d$ 。舒张末期容积与收缩末期容积之差, 即为搏出量。搏出量占心室舒张末期容积的百分比, 称为射血分数<sup>[1]</sup>。众多研究者利用这些指标进行了斑马鱼心功能评价研究。如程祖春<sup>[21]</sup>利用阿霉素诱导构建斑马鱼心脏毒性模型后, 给予STV-Na处理, 以心室容积、心室短轴缩短率、搏出量以及射血分数为指标评价胚胎的心脏功能。结果发现, 75  $\mu\text{mol/L}$  STV-Na显著改善了阿霉素导致的斑马鱼的心室容积、心室收缩分数、搏出量及射血分数的变化, 提示STV-Na具有缓解阿霉素心脏毒性的作用。

### 2.5 利用心电图、基因和蛋白表达来评价心功能

在斑马鱼实验模型中, 许多研究工作者还通过检测心电图、心脏功能相关的关键基因和蛋白变化

来进行心功能评价。Shang等<sup>[22]</sup>在考察 $\alpha$ -细辛酮对斑马鱼的心脏毒性中,选用不同浓度的 $\alpha$ -细辛酮(1、3、5、10、30  $\mu\text{mol/L}$ )处理斑马鱼后,与正常斑马鱼心电图相比,30  $\mu\text{mol/L}$   $\alpha$ -细辛酮可使斑马鱼的平均QTc持续时间显著上调, $t$ 波振幅更小,影响斑马鱼的心脏功能;NKX2.5和GATA5 mRNA表达显著增加,HAND2的mRNA表达均显著下调;此外,线粒体凋亡相关基因Puma、Cyto C、Afap1、Caspase 3和Caspase 9的表达升高,提示线粒体凋亡可能是 $\alpha$ -细辛酮引起心脏毒性的主要原因。

### 3 与心功能评价相关的转基因斑马鱼

通过基因编辑技术可以实现转基因斑马鱼的构建,目前已构建了涵盖心脏、血管、红细胞、血小板等特定器官或组织表达荧光的转基因斑马鱼品系,在荧光显微镜下可直接观察药物对心血管潜在药效或毒性的影响<sup>[23]</sup>。心脏表达荧光蛋白的转基因品系斑马鱼种类较多,科研工作中常用的与心功能评价相关的转基因斑马鱼主要有以下几种:

心脏特异性标记荧光蛋白的转基因品系Tg(my17:eGFP),心肌细胞特异性表达基因myosin light chain 7(my17)启动子调控绿色荧光蛋白(eGFP)在整个心脏肌肉细胞内表达<sup>[24]</sup>,被广泛应用于各种心脏疾病的研究。

Tg(-5.1my17:DsRed2-NLS)品系为my17启动子驱动红色荧光蛋白(DsRed2)在整个心脏肌肉细胞核内表达<sup>[25]</sup>。与Tg(my17:eGFP)相比,该品系表达荧光蛋白颜色不同且带有核定位信号。

TgBAC(-36nkx2.5:ZsYellow)品系为心脏前体细胞特化的关键转录因子nkx2.5启动子调控黄色荧光蛋白在心血管内表达<sup>[26]</sup>。nkx2.5基因是脊椎动物心肌发育中最早表达的转录因子,也是心脏祖细胞的进化保守标记基因,在心脏发育中发挥着重要作用<sup>[27]</sup>。该品系对研究心肌细胞分化,心血管细胞的形成及分化具有重要作用。

还有经典的绿色荧光标记心脏的转基因斑马鱼Tg(cmlc2:EGFP)品系等,广泛用于心脏安全性及心脏保护活性的评价研究。

### 4 斑马鱼在药物心脏安全性评价中的应用

药物心脏毒性是导致药物退市的主要原因之一,是临床前安全性评价重点关注的问题。基于斑马鱼模型的药物心脏安全性评价方法在科研工作中得到了广泛的应用,对于补充现有体内外心脏安全性评价方法,缩短我国新药研发周期,降低新药研发成本,提高新药研发的成功率具有重要

意义<sup>[28]</sup>。

中药具有多成分、多靶点的特点,且多数中药潜在毒性靶器官和毒性物质基础不明确。天然产物的安全性评价研究若选用整体动物大小鼠为模型,所需样品量较大,实验成本高,而斑马鱼具有体积小、实验所需化合物量少的特点,可以对药物的心脏毒性进行准确、快速的高通量筛选<sup>[29]</sup>,解决了中药拆分样品数量庞杂、天然产物样品量不足难以进行毒性评价与预测的技术难题。

韩利文等<sup>[30]</sup>采用阿司咪唑处理发育48 hpf的斑马鱼幼鱼,以心率、SV-BA距离、心脏形态等为指标评价心脏毒性,低浓度0.1  $\mu\text{mol/L}$ 阿司咪唑导致斑马鱼幼鱼心率降低,到0.5  $\mu\text{mol/L}$ 浓度时,出现明显的房室传导阻滞,心脏形态改变,阿司咪唑表现出典型的心脏毒性,且呈浓度相关性。

赵慧等<sup>[31]</sup>利用心脏特异表达绿色荧光的转基因斑马鱼Tg(cmlc2:EGFP)系胚胎来评价阿霉素的毒性。实验分为对照组和阿霉素低、中、高浓度(20、30、40  $\mu\text{g/mL}$ )组,各浓度组阿霉素导致斑马鱼出现不同程度的心包水肿,SV-BA距离显著增大,阿霉素诱导的斑马鱼心脏毒性呈浓度和时间相关性。

Song等<sup>[32]</sup>评价了异甘草素对心脏发育的影响。利用1.24、4.12、12.37、16.31 mmol/L的异甘草素处理绿色荧光标记心脏的转基因斑马鱼,以心率、射血分数、每搏输出量、心包面积及SV-BA距离等为评价指标。结果发现异甘草素高浓度组导致斑马鱼胚胎出现心包水肿,其中12.37、16.31 mmol/L组最为严重。心率、心包面积和舒张末期SV-BA距离与对照组相比呈浓度相关性增加,射血分数和每搏输出量显著降低,说明了异甘草素对斑马鱼心脏发育的毒性。

Han等<sup>[33]</sup>在1~10  $\mu\text{mol/L}$  11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸(AKBA)诱导斑马鱼胚胎/幼鱼的发育毒性和心脏毒性的研究中发现,AKBA可引起斑马鱼心包水肿、SV-BA距离增加、心率降低、心包面积增加、血流速度降低。结果表明,AKBA可诱导斑马鱼发生发育毒性和心脏毒性。

史永平等<sup>[34]</sup>利用斑马鱼模型研究乳香的发育毒性及可能的毒性靶器官时,使用乳香甲醇提取物(0.48、0.96、1.59、2.39、4.78  $\mu\text{g/mL}$ )处理4 hpf AB系斑马鱼胚胎,发现1.59、2.39、4.78  $\mu\text{g/mL}$ 的乳香可引起斑马鱼孵化延迟、斑马鱼体长缩短,2.39、4.78  $\mu\text{g/mL}$ 的乳香引起心脏、鱼鳔、卵黄囊等器官组

织的发育畸形,还可造成斑马鱼胚胎心脏心率降低、心包水肿、SV-BA距离增加,心脏毒性可能与心肌细胞凋亡有关。

Li等<sup>[35]</sup>将斑马鱼胚胎用0.4、0.8、1.2、1.6 mg/mL消癌平注射液处理,发现浓度高于0.8 mg/mL时,斑马鱼的心率显著降低,SV-BA距离显著增加,并呈浓度相关性。消癌平在0.8、1.2、1.6 mg/mL浓度时,斑马鱼的心脏出现明显的心肌纤维紊乱。结果表明,消癌平能引起斑马鱼心脏毒性。

## 5 斑马鱼在药物心脏保护活性筛选中的应用

斑马鱼作为一种整体动物模型,能够全面地检测评估化合物的活性和毒副作用,实现高内涵筛选。利用斑马鱼进行药物心脏保护活性筛选已得到广泛的应用。

### 5.1 斑马鱼心衰模型在药物心脏保护活性筛选中的应用

心力衰竭是一种严重的心脏疾病,甚至会威胁到患者的生命。寻找能够有效治疗心衰的药物,控制患者症状,降低患者的死亡率为治疗心衰的目的。基于斑马鱼在实验研究中的优势,研究人员利用斑马鱼构建心衰模型,筛选具有心脏保护活性的药物,为其进一步临床应用提供依据。研究人员常利用维拉帕米、阿霉素等药物建立斑马鱼心力衰竭模型,以斑马鱼出现心脏增大、静脉淤血、与心功能相关指标(心输出量、血流速度、心率、SV-BA距离等)的变化为依据判断是否造模成功,进而筛选具有心脏保护的药物。

周明学等<sup>[36]</sup>利用维拉帕米(200 mmol/L)诱导建立斑马鱼心力衰竭模型,探讨泻肺利水方高、中、低浓度(106.25、53.125、26.562 5 mg/mL)对心力衰竭的干预作用,发现模型组斑马鱼出现明显的心脏增大和静脉淤血,心输出量、血流速度、心率均降低。泻肺利水方高浓度组斑马鱼心脏面积和静脉淤血面积明显变小,低、中、高浓度组心输出量、血流速度和心率均明显增加,说明泻肺利水方能改善维拉帕米诱导的斑马鱼心力衰竭。

徐卓然等<sup>[37]</sup>利用阿霉素(64.40  $\mu\text{mol/L}$ )诱导建立斑马鱼心力衰竭模型,探究右丙亚胺(130.47、260.93  $\mu\text{mol/L}$ )的心脏保护作用,发现阿霉素对斑马鱼胚胎的心脏毒性呈浓度相关性增加,随着阿霉素浓度的升高,斑马鱼出现了胚胎发育畸形、心包水肿等改变。右丙亚胺可有效减轻阿霉素导致的斑马鱼胚胎心脏毒性,可能与调节氧化及抗氧化通路有关。

### 5.2 斑马鱼心律失常模型在药物心脏保护活性筛选中的应用

多数心脏疾病均有心律失常的症状。研究发现很多在人体引起心肌病、QT间期延长、心律失常的药物,也能引起斑马鱼心动过缓、心律失常、循环减缓<sup>[38]</sup>。构建心律失常模型的药物通常有特非那定、乌头碱、阿司咪唑等,此类药物可使斑马鱼出现心包水肿、心脏周围血细胞堆积、心率、SV-BA间距改变等。近年来,利用斑马鱼构建心律失常模型,筛选具有心脏保护活性的化合物在科研工作中得到了广泛的应用。

吕婧等<sup>[39]</sup>利用2.5  $\mu\text{g/mL}$ 特非那定诱导建立斑马鱼心律失常模型,研究西洋参提取物(5、10、25  $\mu\text{g/mL}$ )的心脏保护作用。结果发现,与对照组比较,模型组斑马鱼心率显著降低,心脏SV-BA间距显著增大;与模型组比较,西洋参提取物各浓度组斑马鱼心率显著升高,心脏SV-BA间距显著缩短,其中5  $\mu\text{g/mL}$ 组斑马鱼的心脏损伤修复率达73.77%,提示西洋参提取物具有较好的心脏保护作用。

石亚楠等<sup>[40]</sup>选用30 mg/L乌头碱诱导建立斑马鱼心律失常模型,进行黄芪甲苷(10、25、40  $\mu\text{g/mL}$ )对乌头碱诱导的斑马鱼心脏损伤保护作用的研究。结果发现,乌头碱导致斑马鱼心率加快、心包水肿、SV-BA间距延长;25、40  $\mu\text{g/mL}$ 黄芪甲苷能降低斑马鱼的心率,减轻斑马鱼心包水肿的程度,表明黄芪甲苷对乌头碱诱导的斑马鱼心脏损伤具有一定的保护作用,且呈浓度相关性。

薛迪等<sup>[41]</sup>用阿司咪唑(4  $\mu\text{mol/L}$ )诱导建立斑马鱼心律失常模型,探讨浓度分别为5、20、60  $\mu\text{g/mL}$ 的白藜芦醇对阿司咪唑诱导的斑马鱼胚胎心脏损伤的保护作用。研究发现,阿司咪唑模型组斑马鱼在给药后出现心脏损伤现象,导致心包水肿、心脏周围血细胞堆积、心率减慢和SV-BA间距缩短,白藜芦醇能够有效改善上述损伤情况,并且呈浓度相关性。提示白藜芦醇对阿司咪唑诱导的斑马鱼心脏毒性有一定的保护作用。

## 6 结语

斑马鱼作为一种介于细胞与哺乳动物之间的新型脊椎动物模式生物,在药物心功能评价中的应用越来越受到重视。斑马鱼与体外细胞模型相比,可以反映药物代谢和体内环境对药物疗效或毒性的影响。与传统的大小鼠模型相比,斑马鱼模型具有用药量少、实验周期短、成本低等优势。斑马鱼

的心血管系统在解剖结构和生理功能方面与哺乳动物相似<sup>[6]</sup>。近年来斑马鱼相关实验技术发展迅速,通过基因编辑技术已构建了涵盖心脏、血管、红细胞、血小板等特定器官或组织表达荧光的转基因斑马鱼品系,在荧光显微镜下可直接观察药物对心血管相关潜在药效或毒性的影响<sup>[23]</sup>。

斑马鱼作为模式生物在药物毒性和活性评价中受到广大研究者的推崇<sup>[42]</sup>,但是也存在局限性。首先,斑马鱼大多采用浸泡给药的方式,适合水溶性好的药物进行活性筛选或安全性评价,不适合水溶性差的化合物的评价研究<sup>[43]</sup>。其次,目前国际上对斑马鱼的标准研究明显滞后。鱼类作为实验用动物尚未实现实验动物的标准化,斑马鱼实验相关技术标准较少<sup>[44]</sup>。

斑马鱼在心脏毒性和心脏保护活性研究领域拥有巨大的潜力。以其作为实验动物,有助于科研工作者对化合物的心脏毒性及心脏保护活性进行高通量的快速筛选评价。除此之外,科研人员还可借助斑马鱼模型,对心脏相关基因的功能进行深入研究,阐明药物心脏毒性或心脏保护活性的分子作用机制,有利于降低因心脏毒性导致的新药研发风险,加速心血管疾病治疗药物研发进程。随着斑马鱼基因组计划的进一步完善,以及转基因和基因编辑等分子生物学技术的不断涌现,斑马鱼模型在心脏功能评价研究领域的应用必将更为广泛。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 杨矗立,刘文林,张轶,等.斑马鱼心功能测量方法研究进展[J].南通大学学报:医学版,2017,37(1):53-57.  
Yang C L, Liu W L, Zhang Y, et al. Research progress in measuring heart function of zebrafish [J]. J Nantong Univ: Med Sci Edit, 2017, 37(1): 53-57.
- [2] 孙智慧,贾顺姬,孟安明.斑马鱼:在生命科学中畅游[J].生命科学,2006,18(5):431-436.  
Sun Z H, Jia S J, Meng A M. Zebrafish: swimming in life sciences [J]. Chin J Life Sci, 2006, 18(5): 431-436.
- [3] Peterson R T, Macrae C A. Systematic approaches to toxicology in the zebrafish [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2012, 52: 433-453.
- [4] Howe K, Clark M D, Torroja C F, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome [J]. Nature, 2013, 496(7446): 498-503.
- [5] Lieschke G J, Currie P D. Animal models of human disease: zebrafish swim into view [J]. Nat Rev Genet, 2007, 8(5): 353-367.
- [6] Howe K, Clark M D, Torroja C F, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome [J]. Nature, 2013, 496: 498-503.
- [7] Brown D R, Samsa L A, Qian L, et al. Advances in the study of heart development and disease using zebrafish [J]. J Cardiovasc Dev Dis, 2016, 3(2): 13.
- [8] 夏海雄,何志旭,舒莉萍.斑马鱼造血系统发育与人类血液系统疾病研究进展[J].贵阳医学院学报,2016,41(7):745-749.  
Xia H X, He Z X, Shu L P. Research progress on hematopoietic system development of zebrafish and human blood system disease [J]. J Guiyang Med Coll, 2016, 41(7): 745-749.
- [9] MacRae C A, Peterson R T. Zebrafish as tools for drug discovery [J]. Nat Rev Drug Discov, 2015, 14: 721-731.
- [10] Cassar S, Adatto I, Freeman J L, et al. Use of zebrafish in drug discovery toxicology [J]. Chem Res Toxicol, 2019, 33: 95-118.
- [11] Farrell A P, Pieperhoff S. DESIGN AND PHYSIOLOGY OF THE HEART I Cardiac Anatomy In Fishes [M]. Amsterdam: Elsevier, 2011: 998-1005.
- [12] Tu S, Chi N C. Zebrafish models in cardiac development and congenital heart birth defects [J]. Differentiation, 2012, 84(1): 4-16.
- [13] Grimes A C, Stadt H A, Shepherd I T, et al. Solving an enigma: arterial pole development in the zebrafish heart [J]. Dev Biol, 2006, 290(2): 265-76.
- [14] Singleman C, Holtzman N G. Analysis of postembryonic heart development and maturation in the zebrafish, *Danio rerio* [J]. Dev Dyn, 2012, 241(12): 1993-2004.
- [15] Zakaria Z Z, Benslimane F M, Nasrallah G K, et al. Using zebrafish for investigating the molecular mechanisms of drug-induced cardiotoxicity [J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 1642684.
- [16] 张利军,史慧勤,苑晓燕,等.多柔比星斑马鱼胚胎心脏发育毒性表现[J].中国药理学与毒理学杂志,2013,27(3):429-433.  
Zhang L J, Shi H Q, Yuan X Y, et al. The developmental cardiac toxicity of doxorubicin in zebrafish embryos [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2013, 27(3): 429-433.
- [17] 湛威.异丙肾上腺素诱导斑马鱼胚胎慢性心衰模型的建立[D].广州:广东医学院,2015.  
Zhan W. Establishment of a zebrafish embryo model of chronic heart failure induced by isoproterenol [D]. Guangzhou: Guangdong Medical College, 2015.
- [18] Ye Q, Liu H, Fang C, et al. Cardiotoxicity evaluation and comparison of diterpene alkaloids on zebrafish [J]. Drug Chem Toxicol, 2021, 44(3): 294-301.
- [19] 张利军.斑马鱼心脏毒性评价模型的建立及美托洛尔

- 心脏毒性作用机制研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2012.
- Zhang L J. Cardiotoxicity evaluation model of zebrafish and mechanism of metoprolol cardiotoxicity [D]. Beijing: Academy of Military Medical Sciences of the People's Liberation Army, 2012.
- [20] 赖石凤. 基于斑马鱼模型进行丹参酮 IIA 及衍生物的安全性评价和菲并咪唑衍生物的功效性探索 [D]. 广州: 广东药科大学, 2020.
- Lai S F. Safety evaluation of tanshinone II A and its derivatives and efficacy exploration of phenimidazole derivatives based on zebrafish model [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2020.
- [21] 程祖春. STV-Na 及衍生物对阿霉素引起的心脏毒性的保护作用研究 [D]. 广州: 广东工业大学, 2019.
- Cheng Z C. The protective effect of STV-NA and its derivatives on cardiotoxicity induced by doxorubicin [D]. Guangzhou: Guangdong University of Technology, 2019.
- [22] Shang X L, Ji X N, Dang J, et al.  $\alpha$ -asarone induces cardiac defects and QT prolongation through mitochondrial apoptosis pathway in zebrafish [J]. Toxicol Lett, 2020, 324: 1-11.
- [23] Crawford A D, Esguerra C V, de Witte P A. Fishing for drugs from nature: zebrafish as a technology platform for natural product discovery [J]. Planta Med, 2008, 74(6): 624-32.
- [24] Burns C G, Milan D J, Grande E J, et al. High-throughput assay for small molecules that modulate zebrafish embryonic heart rate [J]. Nat Chem Biol, 2005, 1(5): 263-264.
- [25] Mably J D, Mohideen M A, Burns C G, et al. Heart of glass regulates the concentric growth of the heart in zebrafish [J]. Curr Biol, 2003, 13(24): 2138-2147.
- [26] Zhou Y, Cashman T J, Nevis K R, et al. Latent TGF- $\beta$  binding protein 3 identifies a second heart field in zebrafish [J]. Nature, 2011, 474(7353): 645-648.
- [27] Kim E Y, Chen L, Ma Y, et al. Expression of sumoylation deficient Nkx2.5 mutant in Nkx2.5 haploinsufficient mice leads to congenital heart defects [J]. PLoS One, 2011, 6(6): e20803.
- [28] 夏青, 张云, 王荣春, 等. 斑马鱼模型在药物心血管毒性初筛中的应用进展 [A] // 第九届药物毒理学年会——新时代·新技术·新策略·新健康论文集 [C]. 武汉: 中国药理学会, 2019.
- Xia Q, Zhang Y, Wang R C, et al. Progress in application of zebrafish model in preliminary screening of drug cardiovascular toxicity [A] // The 9th Annual Conference of pharmacotoxicology: new era, new technology, new strategy and new health [C]. Wuhan: Chinese Pharmacological Society, 2019.
- [29] 曾彬, 张存艳, 陈凯. 模式生物斑马鱼在药物毒性评价中的应用及研究现状 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(10): 1794-1801.
- Zeng B, Zhang C Y, Chen K. Application and research status of model biological zebrafish in drug toxicity evaluation [J]. Nat Prod Res Dev, 2020, 32(10): 1794-1801.
- [30] 韩利文, 赵亮, 楚杰, 等. 采用 GC-MS 代谢组学技术表征阿司咪唑诱导斑马鱼心脏毒性的内源性代谢物 [J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(1): 45-50.
- Han L W, Zhao L, Chu J, et al. GC-MS metabonomics for characterization of endogenous metabolites of asimadazol-induced cardiotoxicity in zebrafish [J]. Chin J Pharm, 2015, 50(1): 45-50.
- [31] 赵慧, 费飞, 丛丽焯, 等. 阿霉素诱导的斑马鱼心肌损伤模型研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2019, 33(1): 50-55.
- Zhao H, Fei F, Cong L Y, et al. Study on myocardial injury induced by adriamycin in zebrafish [J]. J Shanghai Univ Chin Med, 2019, 33(1): 50-55.
- [32] Song Z Z, Zhang Y, Zhang H, et al. Isoliquiritigenin triggers developmental toxicity and oxidative stress-mediated apoptosis in zebrafish embryos/larvae via Nrf2-HO1/JNK-ERK/mitochondrion pathway [J]. Chemosphere, 2020, 246: 125727.
- [33] Han L, Xia Q, Zhang L, et al. Induction of developmental toxicity and cardiotoxicity in zebrafish embryos/larvae by acetyl-11-keto- $\beta$ -boswellic acid (AKBA) through oxidative stress [J]. Drug Chem Toxicol, 2019, 28: 1-8.
- [34] 史永平, 张友刚, 孔浩天, 等. 中药乳香对斑马鱼胚胎发育毒性研究 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(9): 4606-4609.
- Shi Y P, Zang Y G, Kong H T, et al. Study on the toxicity of frankincense to zebrafish embryo development [J]. China J Tradit Chin Med, 2020, 35(9): 4606-4609.
- [35] Li J J, Zhang Y, Liu K C, et al. Xiaoaiping induces developmental toxicity in zebrafish embryos through activation of ER stress, apoptosis and the Wnt pathway [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 1250.
- [36] 周明学, 李悦, 李思耐, 等. 泻肺利水方对维拉帕米诱导的心力衰竭模型斑马鱼心脏功能的影响 [J]. 中医杂志, 2021, 62(10): 904-907.
- Zhou M X, Li Y, Li S N, et al. Effects of Xiefei Lishui Fang on the cardiac function of zebrafish with heart failure induced by verapamil [J]. J Tradit Chin Med, 2021, 62(10): 904-907.
- [37] 徐卓然, 陈芳源, 沈莉菁, 等. 阿霉素对斑马鱼心脏毒性的评估及机制探索 [J]. 诊断学理论与实践, 2016, 15(1): 30-36.

- Xu Z R, Chen F Y, Shen L J, et al. Evaluation and mechanism of cardiac toxicity of adriamycin in zebrafish [J]. *Diagnostics*, 2016, 15(1): 30-36.
- [38] 张廷芬, 夏静, 彭双清. 模式生物斑马鱼在药物安全性评价中的应用 [A]//实验动物与药理学、毒理学研究学术交流会议论文集 [C]. 合肥: 中国药理学会, 2009.
- Zhang T F, Xia J, Peng S Q. Application of model biological zebrafish in drug safety evaluation [A]// *Proceedings of the Symposium on laboratory animals, pharmacology and Toxicology* [C]. Hefei: Chinese Pharmacological Society, 2009.
- [39] 吕婧, 李晨, 杨龙飞, 等. 基于斑马鱼模型的西洋参提取物心脏保护作用研究 [J]. *中国药房*, 2020, 31(3): 308-313.
- Lv J, Li C, Yang L F, et al. Study on cardioprotective effect of American ginseng extract based on zebrafish model [J]. *China Pharm*, 2020, 31(3): 308-313.
- [40] 石亚楠, 王佑华, 李强, 等. 黄芪甲苷对乌头碱诱导的斑马鱼心脏损伤保护作用的研究 [J]. *中医药导报*, 2019, 25(07): 26-28.
- Shi Y N, Wang Y H, Li Q, et al. Effects of astragaloside IV on heart injury in zebrafish induced by aconitine [J]. *Rev Tradit Chin Med*, 2019, 25(7): 26-28.
- [41] 薛迪. 斑马鱼血管抑制和心脏损伤模型的构建及研究 [D]. 太原: 山西医科大学, 2016.
- Xue D. A new model of vascular inhibition and cardiac injury in zebrafish [D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2016.
- [42] 吕婧, 高燕, 李晨, 等. 基于斑马鱼模式生物的西洋参皂苷类成分增强免疫作用研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(14): 3728-3733.
- LV J, GAO Y, LI C, et al. Effect of American ginseng saponins on enhancing immunity based on zebrafish model organisms [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2020, 51(14): 3728-3733.
- [43] 赵崇军, 田敬欢, 王金凤, 等. 斑马鱼在中药研究中的应用进展 [J]. *中草药*, 2015, 46(17): 2635-2648.
- Zhao C J, Tian J H, Wang J F, et al. Progress in the application of zebrafish in the study of traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Herb Med*, 2015, 46(17): 2635-2648.
- [44] Benchoula K, Khatib A, Jaffar A, et al. The promise of zebrafish as a model of metabolic syndrome [J]. *Exp Anim*, 2019, 68(4): 407-416.

[责任编辑 兰新新]