

斑马鱼心血管疾病模型的建立及中药干预作用研究进展

李嘉欣¹, 白立鼎¹, 李琳^{1,2}, 王炎炎¹, 王婷¹, 潘桂湘^{1*}, 李玉红^{1,2*}

1. 天津中医药大学, 天津 301617

2. 天津中医药大学 中医药研究院组分中药国家重点实验室, 天津 301617

摘要: 斑马鱼作为一种新型的模式动物, 具有易饲养、繁殖发育迅速、实验周期短、与人类基因有高度同源性等特点。中药治疗心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 具有疗效好、活性强、不良反应小的优点, 但由于其有效成分复杂、作用机制和靶点多样, 斑马鱼胚胎透明便于观察、心脏功能易于量化, 在 CVD 的研究中取得了很大进展。通过对心肌损伤、脂质异常、心力衰竭、血栓等疾病中斑马鱼模型的研究进展及其中药的干预作用进行综述, 总结了运用斑马鱼模型评价中药心脏毒性的应用进展, 及斑马鱼模型在研究血管新生和淋巴管新生中的应用。

关键词: 斑马鱼模型; 心血管疾病; 心脏毒性; 血管新生; 淋巴管新生; 心肌损伤; 脂质异常; 心力衰竭

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)20-7122-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.20.027

Research progress on establishment of zebrafish cardiovascular disease model and intervention effect of traditional Chinese medicine

LI Jiixin¹, BAI Liding¹, LI Lin^{1,2}, WANG Yanyan¹, WANG Ting¹, PAN Guixiang¹, LI Yuhong^{1,2}

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. State Key Laboratory of Component-based Chinese Medicine, Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Zebrafish, as a new model animal, has the characteristics of easy breeding, rapid reproduction and development, short experimental period, and high homology with human genes. Traditional Chinese medicine (TCM) has the advantages of good efficacy, strong activity and small adverse reactions in treatment of cardiovascular disease (CVD). However, due to its complex effective ingredients, various mechanisms of action and targets, zebrafish embryos are transparent and easy to observe, and heart function is easy to quantify, have made great progress in the study of CVD. This paper reviews the research progress of zebrafish model and the intervention effect of TCM in myocardial injury, lipid abnormality, heart failure, thrombosis and other diseases, summarizes the application progress of zebrafish model in evaluating the cardiotoxicity of TCM, and the application of zebrafish model in studying angiogenesis and lymphangiogenesis.

Key words: zebrafish model; cardiovascular disease; cardiotoxicity; angiogenesis; lymphangiogenesis; myocardial injury; lipid abnormality; heart failure

斑马鱼具有体型小、易饲养、性成熟周期短、繁殖能力强、测试成本低等特点^[1-5], 可通过体内实验综合分析中药活性成分的生物活性和毒性, 也可进行器官、细胞和分子水平的研究^[6]; 斑马鱼是脊椎动物, 与人类基因有 87% 的同源性^[4,7-9]; 在

评估药效及药物不良反应等方面, 由于中药活性成分复杂, 体内作用多靶点, 需要在体内进行代谢转化后才能发挥作用, 使用哺乳动物模型进行研究耗时费力, 而斑马鱼具有样品使用量少、可以通过吞咽和皮肤扩散的方式吸收药物、实验操作周

收稿日期: 2024-05-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82204867); 国家自然科学基金资助项目 (82404901); 天津中医药大学新教师科研启动项目 (XJS2022209)

作者简介: 李嘉欣, 硕士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: ljx03122022@163.com

*通信作者: 潘桂湘, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事药物分析研究。E-mail: guixiangp@163.com

李玉红, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事中药心血管药理研究。E-mail: yhlcm@126.com

期短、准确率高的特点,被认为是药物研究的理想模型^[10]。

心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)严重威胁着人类生命健康,具有发病急、病死率高、复发率高等特点^[11]。中药在 CVD 的防治中具有重要作用,可以延缓 CVD 的进程^[6]。斑马鱼融合传统体内外模型的优势,在中药治疗 CVD 的研究中日益广泛。本文从心肌损伤、脂质异常、心力衰竭、血栓等方面介绍了斑马鱼模型的建立方法、优势及其在中药研究中的应用系统总结了斑马鱼模型在研究中药心脏毒性的研究进展,及斑马鱼模型在研究血管新生中的进展。此外,大量研究表明调节淋巴管生成可能成为治疗 CVD 的潜在途径,但对于中药调控淋巴管生成改善 CVD 的机制研究还未见详细的报道^[12],故本文也介绍了斑马鱼模型在研究淋巴管新生中的应用,为中药治疗 CVD 提供新思路及参考。

1 在心肌损伤中的应用

1.1 斑马鱼心肌损伤模型

斑马鱼胚胎期透明,可以清晰直观地观察到斑马鱼的心脏结构及药物对斑马鱼心脏产生的影响,其心脏的整个生长发育过程都可通过活体胚胎于高分辨成像系统下观测到,在受精后 24 h 可以检测到心脏跳动和血液循环。已有研究表明,大量药物均可造成斑马鱼心肌损伤。抗肿瘤药物阿霉素在应用时会导致心脏功能下降,进而导致心肌损伤。在阿霉素诱导的斑马鱼心肌损伤模型中,阿霉素通过影响氧化应激、细胞凋亡、线粒体功能造成斑马鱼心脏畸形,心率、每搏输出量、心输出量和收缩分数降低^[13-15]。乌头碱属于二萜类生物碱,不当或过量使用会导致严重的心脏毒性,Wang 等^[16]研究表明乌头碱可使斑马鱼心率降低、窦静脉和球动脉距离延长和心包水肿,其机制可能与核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2)/血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)和 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)/细胞外信号调节激酶(extracellular-signal regulated protein kinase, ERK)信号通路介导的活性氧的产生、氧化应激和线粒体凋亡有关^[17]。抗组胺药物特非那定^[18]和抗菌药硝唑尼特^[19]通过诱发细胞凋亡、激活氧化应激反应造成斑马鱼心肌损伤,其中特非那定还可用于斑马鱼心律失常模型的建立,其特征是心房和心室肿胀,血液循环和心率降低。此外,也可以通过心室切除术、心室冷冻损伤^[20-21]、低氧损伤、激

光诱发的损伤^[20]和心肌细胞的遗传消融^[20,22]来建立斑马鱼心肌损伤模型。由于斑马鱼心脏较哺乳动物具有强大的再生能力,因此可以用此模型开展心脏再生机制的研究^[23]。

1.2 中药对斑马鱼心肌损伤的干预作用

基于阿霉素诱导的斑马鱼心肌损伤模型,Chen 等^[24]研究表明小檗碱 10 $\mu\text{mol/L}$ 通过增加抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤-xL(B-cell lymphoma-xL, Bcl-xL)水平减少细胞凋亡和促进自噬效应蛋白(Beclin 1)、Bcl-xL 的解离恢复心脏线粒体自噬间接降低活性氧水平,从而使斑马鱼的心脏表型和功能得到改善。甘草次酸^[7]通过上调 Nrf2/HO-1 信号通路抑制氧化应激、细胞凋亡和调节线粒体功能改善斑马鱼心功能。Li 等^[25]运用该模型评价了从沙棘中提取的香豆酸、绿原酸、咖啡酸和阿魏酸 4 种苯丙素单体对心脏的保护作用,结果表明 4 种苯丙素单体均可恢复斑马鱼心脏功能。Liu 等^[26]提出了可以自动定位斑马鱼心室并进行多重心脏功能分析的神经网络,证明了氯化花青素通过直接结合 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 增强 Nrf2/谷胱甘肽过氧化物酶 4 信号转导来减轻斑马鱼心肌损伤。Lu 等^[27]证明黄芪中主要化合物毛蕊异黄酮可以改善成年斑马鱼心脏功能损伤并恢复自噬。此外,木犀草素^[28]、丹参酮 II_A^[29]、二氢丹参酮 I^[30]均可以改善阿霉素导致的斑马鱼心肌损伤,提高阿霉素在癌症中的化疗效果,为开发中药联合化疗药物发挥抗肿瘤活性搭建了平台。

Hu 等^[18]运用特非那定诱导的斑马鱼心肌损伤模型研究脑心通对斑马鱼心脏的保护作用,结果表明脑心通可以通过具有表皮生长因子样结构域的心脏发育蛋白 1/脑海绵状血管畸形信号恢复心肌损伤和心功能不全,其主要活性成分是芍药素和丹参酸。李长健^[31]建立了乌头碱诱导的斑马鱼心肌损伤模型,发现参芎葡萄糖注射液可以拮抗乌头碱诱导的斑马鱼心肌损伤,缓解心包及卵黄囊肿大情况,改善心功能,其机制可能与抑制心肌肥厚与心肌细胞凋亡有关。

此外,由于中药在治疗 CVD 的同时也存在着一些潜在的心血管毒性而限制了其临床应用,而斑马鱼可作为评价中药毒性的一种高效便捷的模型,如已有研究用斑马鱼模型评价了交泰丸^[32]、巴豆^[33]、小檗碱^[34]等对斑马鱼胚胎的心脏毒性,为临床用药提供依据。

2 在脂质异常中的应用

2.1 斑马鱼脂质异常模型

脂质异常相关疾病如高脂血症和动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是引起 CVD 的重要原因^[2,8,35]。慢性高脂血症和高胆固醇血症已被证明易发展为 AS, 内皮功能障碍、炎症、胆固醇逐渐积聚在血管壁上形成斑块, 从而造成血管狭窄和硬化^[3-5,36], 本质上是一种进行性炎症性疾病。目前体内脂质异常研究大多使用哺乳动物模型, 需要完备的基础设施, 造模时间较长且成本相对较高, 难以获得大量的数据; 小鼠模型只可在取材后对相关组织进行分析, 无法实时观察疾病进展^[4-5]。与小鼠相比, 斑马鱼饲养成本低, 交配 1 次便可产生大量胚胎且发育迅速, 适合进行大规模药物筛选, 极大地提高了实验效率; 斑马鱼胚胎透明, 体内脂质积累可通过染色或荧光标记直接观察, 可进行实时成像。此外, 斑马鱼血脂组成、脂质代谢和人类基本一致, 分子机制也与人类有着很大的相似性, 被认为是研究脂质代谢和评价药物调脂作用的理想模式动物^[2,9,37]。

目前已经建立了许多用于脂质异常研究的斑马鱼模型。通过给斑马鱼喂食过量卤虫、高铁饮食会显著增加斑马鱼的体质量和血浆三酰甘油水平, 进而影响脂质代谢来建立斑马鱼脂质异常模型^[2,38-39], 模拟人类高脂血症。此外, 高脂饮食和高胆固醇饮食(high-cholesterol diet, HCD)可迅速促进成年斑马鱼和幼鱼的肥胖、高血糖和高脂血症^[2]。用 HCD 喂养 8~12 周成年斑马鱼, 即可引发高胆固醇血症^[4-5,40-41]; 用 HCD 喂养斑马鱼幼鱼 45 d, 通过诱导斑马鱼胆固醇积累、脂质代谢紊乱和氧化应激, 可导致巨噬细胞含量增加, 血管中出现斑块, 血管变得狭窄, 这与临床早期 AS 症状相似。高脂肪蛋黄粉也可诱导斑马鱼形成高脂血症, Morris 等^[42]观察到浸泡或注射补充外源性葡萄糖的斑马鱼幼鱼, 在高脂肪蛋黄粉喂养下可加速脂质积累。Garcia Campoy 等^[43]用葡萄糖先造成斑马鱼血管损伤, 然后通过增加血管脂质的累积, 建立了葡萄糖诱导的斑马鱼高脂血症模型。

此外, 采用基因编辑技术使斑马鱼基因组产生特定突变而建立的斑马鱼脂质异常模型, 为发现脂质异常的分子机制和治疗靶点提供新思路; 也可利用现有的斑马鱼突变体, 针对性地进行药物的筛选, 这比运用细胞进行筛选更具有优势。低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)受体缺乏会导致高

胆固醇血症, 有研究使用成簇的规律间隔的短回文重复序列系统(clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated system, CRISPR/Cas)技术敲除斑马鱼 LDL 受体, 表现出血管中脂质积累增加并加剧高胆固醇血症^[5,38,44-45]。载脂蛋白 E(apolipoprotein Eb, ApoEb)在极低密度脂蛋白、胆固醇和高密度脂蛋白的代谢中至关重要。Hu 等^[46]采用 CRISPR/Cas9 系统阻断斑马鱼 ApoEb 表达, 然后用 HCD 进行短时间喂养建立斑马鱼高脂血症模型。此外, 使用改良的反义寡核苷酸吗啉诺^[47]在斑马鱼中敲低影响脂质代谢关键调节因子核受体固受体(nuclear receptor subfamily 1 group H member 3, nr1h3)、腺苷三磷酸结合盒转运体 a1(ATP-binding cassette transporter a1, abca1)和 abcg1, 导致游离胆固醇水平升高^[2], 建立斑马鱼高脂血症模型。Apoc2 是脂蛋白脂肪酶的激活剂, 在脂代谢中具有重要作用。已有研究表明可使用基因编辑技术敲除斑马鱼的 Apoc2, 用来研究血管壁巨噬细胞浸润、氧化和吞噬作用的分子机制, 并作为筛选治疗高脂血症药物的模型^[5,38,44]。肝脏 X 受体(liver x receptor, LXR)在胆固醇分解代谢中具有重要作用, 向 LXR 缺失的斑马鱼喂食高胆固醇或高脂饮食, 会造成严重的高胆固醇血症和脂肪肝变性, 从而形成类似于人类的脂肪条纹^[38,44,48]。

2.2 中药对斑马鱼脂质异常的干预作用

目前, 用于治疗 AS 的药物主要有他汀类、贝特类、烟酸类等调脂药物, 长期使用这些药物对肝脏会有一些的不良反应。越来越多的研究表明中药对 AS 具有确切的疗效且不良反应少。

基于 HCD 诱导的斑马鱼高脂血症模型, Li 等^[49]研究了人参皂苷 Rb₁ 的调脂作用, 结果表明人参皂苷 Rb₁ 通过下调胆固醇合成和脂蛋白的分泌及上调胆固醇转运和外排来减轻高胆固醇血症。Zheng 等^[50]研究表明小檗碱可通过调节氧化型 LDL/凝集素样氧化低密度脂蛋白受体 1/上皮细胞向间充质细胞转化自噬轴缓解斑马鱼脂质积累, 保护血管系统的完整性。

Chen 等^[36]使用 HCD 建立斑马鱼 AS 模型, 发现冬凌草甲素治疗后可显著减少 AS 模型早期斑块形成、脂质累积、氧化应激和炎症反应, 其机制可能是通过激活 Nrf2 来实现的。Fan 等^[40]研究表明石斛多糖具有抗 AS 活性, 可显著改善斑马鱼 AS 模型脂质沉积、氧化应激和炎症反应, 提高超氧化物

歧化酶活性,减少斑块形成。

Lin 等^[51]研究表明口服川陈皮素可显著缓解喂食高脂饮食的斑马鱼血浆中三酰甘油和胆固醇水平,降低斑马鱼血管生成素 3 (angiopoietin 3, Ang3) 的含量,其机制可能是通过调节 LXR α /Ang3/脂肪酸代谢信号轴发挥脂质调节作用的。Wang 等^[52]用高脂饮食造成斑马鱼脂质累积,当归芍药散治疗后可以显著减少斑马鱼体内脂质沉积并通过过氧化物酶体增植物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 信号通路加速脂质代谢。

3 在心力衰竭中的应用

3.1 斑马鱼心力衰竭模型

心力衰竭是 CVD 不断恶化发展的严重阶段。心力衰竭主要是以心室重构为特点,具体表现为心脏输出量降低、射血分数减少、心脏收缩和舒张出现障碍,心脏泵血功能下降^[8,53-55]。斑马鱼心脏结构、生理功能、信号通路和离子通道与人类高度相似^[56-59],可以直接、无创地观察整个心脏组织结构和血管系统^[11]。目前,斑马鱼模型在心力衰竭中的运用日益增多,可通过药物干预或基因编辑建立斑马鱼心力衰竭模型^[9]。有研究使用维拉帕米诱导斑马鱼心力衰竭^[60],维拉帕米是一种钙通道阻滞剂,过量服用可引起低血压、慢性心律失常和心脏骤停,给予维拉帕米可引起斑马鱼胚胎心包水肿和静脉淤血,心输出量和血流速度降低。化疗药物阿霉素^[29,61]可以呈剂量相关性的造成急性心力衰竭模型,表现为心肌细胞凋亡和收缩力下降^[62]。Huang 等^[63]发现阿霉素可以使斑马鱼心脏水肿、心脏扭曲,其机制是由炎症介导的,这与在哺乳动物上的作用相似。马兜铃酸广泛存在于马兜铃属植物中,长期使用会导致多器官功能衰竭,使用马兜铃酸诱导的斑马鱼心力衰竭模型表现为心脏肥大和心肌收缩力减弱并伴有炎症发生^[62,64-65],表型与人类心力衰竭非常相似。与阿霉素相比,马兜铃酸造模更快、更便宜。异丙肾上腺素 (isoprenaline, ISO) 是一种 β 受体激动剂,会导致心肌损伤、心脏功能障碍和心室重构,进而发展为心力衰竭。Kossack 等^[66]首次建立了 ISO 诱导的成年斑马鱼心力衰竭模型,成年斑马鱼在 ISO 处理 14 d 后出现严重的心功能障碍^[67],表现为心脏扩张和肥大、收缩功能下降、正性肌力减弱、炎症增加。此外,去氧肾上腺素^[68]、盐酸苯肼^[55,61]也可造成斑马鱼心脏肥大;特非那定^[55]、肾上腺素^[69]、托特罗定、链脲佐菌素^[55,70-71]、苯并 (a) 芘^[55,62]、舒尼

替尼^[65]、乙醇^[61]等均可诱导斑马鱼心力衰竭。在哺乳动物中,由于胚胎在雌性体内发育,因此采集胚胎进行基因编辑较为困难,而斑马鱼体外受精,可通过基因编辑建立心力衰竭模型。Lu 等^[58]通过 CRISPR/Cas9 技术建立斑马鱼 *heg1* 突变体,主要表现为心包肿胀、心包水肿和心率降低,并运用该模型测试了中药丹参、黄芪、水蛭和没药及 3 种中药单体成分丹酚酸 B、芍药苷、阿魏酸抗心力衰竭的活性,证明该模型适用于心血管疾病药物的筛选。Li 等^[72]向斑马鱼胚胎注射吗啉-发动蛋白 2 (dynamin 2, DNM2),发现 DNM2 缺乏会造成心力衰竭,表现为每搏输出量、心输出量减少和短轴缩短率降低。Jiménez-Amilburu 等^[73]用吗啉诺敲除葡萄糖转运蛋白 12 建立斑马鱼心力衰竭模型,表现出异常瓣膜形成和心动过缓。此外,通过敲除钙稳态、线粒体相关基因^[65]也可构建斑马鱼心力衰竭模型。

3.2 中药对斑马鱼心力衰竭的干预作用

运用维拉帕米诱导的斑马鱼心力衰竭模型,Dong 等^[56]评价了西洋参抗心力衰竭活性,鉴定出人参皂苷 Rg₃、人参皂苷 Rg₅、人参皂苷 Rg₆、苹果酸、奎宁酸和假人参皂苷 F₁₁ 等药效指标成分,证明西洋参具有心脏保护作用。Li 等^[74]构建斑马鱼急性心力衰竭模型,测定不同配伍比例的人参-附子提取物的抗心力衰竭活性,结果表明人参-附子 1:2 的效果最好,可显著增加心输出量和血流速度,抑制心包扩大和静脉淤血。有研究表明一些中药复方例如防己黄芪汤^[54]、神元丹胶囊^[75]、活心丸^[76]等,可以通过调节氧化应激、炎症反应和细胞凋亡相关途径改善维拉帕米诱导的斑马鱼心力衰竭。Ye 等^[59,77]使用 ISO 诱导斑马鱼心力衰竭,对中华红桦根中 19 种三萜类化合物进行测试,结果表明三萜类化合物作为中华红桦治疗心力衰竭的活性成分,可明显减轻斑马鱼心包水肿。

4 在血栓中的应用

4.1 斑马鱼血栓模型

斑马鱼胚胎透明,可清晰地观察到斑马鱼体内血栓形成且模型稳定。一种多靶点小分子酪氨酸激酶抑制剂普纳替尼可诱导斑马鱼血栓,使其尾部形成严重血栓。Li 等^[78]使用 ISO 建立斑马鱼血栓模型并用于抗血栓药物研究。此外,花生四烯酸在环氧化的作用下生成血栓烷素诱导血小板聚集造成斑马鱼血栓,邻联茴香胺染色后心脏红细胞面积明显减少。有研究建立了苯肼诱导的斑马鱼血栓模型,并

伴有内皮功能障碍和尾动脉血管闭塞^[79-80]。苯肼可以引起血细胞聚集、氧化应激,进而导致血小板聚集、纤维蛋白原形成,在动物中已广泛用于血栓模型的建立。

4.2 中药对斑马鱼血栓的干预作用

斑马鱼的血栓形成和凝血机制与人类相似,目前已广泛用于抗血栓药物的筛选。基于普纳替尼诱导的斑马鱼血栓模型,有研究评估了三七和芪龙胶囊^[81]的抗血栓活性,二者可显著减少斑马鱼尾部血栓,增加血流速度。

Lin 等^[82]使用花生四烯酸诱导的斑马鱼血栓,证实瓜蒌及其主要活性成分通过抑制凝血级联反应、炎症反应和花生四烯酸代谢等发挥抗血栓作用。Huang 等^[83]使用该模型证实牡丹皮能改善斑马鱼尾部血栓,其机制可能与抑制凝血相关因子表达调节凝血和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 炎症级联反应有关,从而在促进血液循环和抑制炎症反应中发挥重要作用。

苯肼处理的斑马鱼已成为体内快速筛选和评估抗血栓药物的动物模型。Sheng 等^[84]用该模型发现通脉方可增加血栓斑马鱼心脏血流量,通过抑制氧化应激和凝血级联反应发挥抗血栓形成的作用,其主要活性成分是隐丹酚酮。此外, Fu 等^[85]运用 UHPLC-MS/MS 对丹七片成分进行定量分析,筛选出丹参酸 B 和人参皂苷 Rg₁ 作为质量标志物,并运用该模型证明丹参酸 B-人参皂苷 Rg₁ (2:5) 具有较好的抗血栓作用。

5 在研究血管新生和淋巴管新生中的应用

运用斑马鱼模型筛选具有促血管新生的中药,对治疗缺血性 CVD 具有很大意义。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 信号通路在血管的形成和生长过程中发挥重要作用。已有研究通过斑马鱼模型证明多种中药具有促进斑马鱼血管新生的作用,如丹酚酸 B、阿魏酸^[86]通过调节 VEGF 信号传导促进斑马鱼的血管生成;异甜菊醇^[87]、山参和园参^[88]的血管生成活性与缺氧诱导因子-1 α /VEGF 信号传导相关。

采用 VEGF 受体抑制剂诱导的血管功能不全斑马鱼模型中,一些皂苷类成分如三七皂苷^[89]通过激活 Ang2/酪氨酸激酶受体 2 信号通路促进血管生成;人参皂苷 F₁^[90]通过激活内皮细胞中的胰岛素样生长因子 1 受体/胰岛素样生长因子信号通路促进血管生成。Zhou 等^[91]运用该模型发现舒心饮可显著增

强斑马鱼的肠下血管丛生长,呈剂量相关性减弱 VEGF 受体抑制剂诱导的斑马鱼节间血管缺乏。同时, VEGF 下游通路磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 的激活对于维持表皮屏障功能也至关重要^[92]。有研究采用在血管内皮细胞中表达荧光蛋白的转基因斑马鱼证明复方丹参滴丸可显著促进肠下血管分支和萌芽,其机制可能通过激活 VEGF/VEGFR 和 PI3K/Akt 通路促进血管生成^[93]。

此外,淋巴管的形态和功能与心肌损伤、脂质异常和心力衰竭等疾病也有着密切联系。淋巴管新生通过促进心肌液重吸收、消除过多间质液、逆转胆固醇转运、减轻巨噬细胞浸润等方式,可缓解心脏和血管的病理变化,包括纤维化、水肿和斑块形成,从而在延缓 CVD 的进程中发挥重要作用^[12]。最近已有不少研究强调了中药具有通过促进淋巴管生成、淋巴生长和淋巴重塑刺激淋巴功能用于肥胖、心肌梗死、AS 和高血压治疗的潜力。在小鼠模型中过表达 VEGF-D,可促进淋巴管生成,减少心脏水肿、炎症和纤维化,进而改善心脏功能^[94]。但在哺乳动物中进行淋巴管成像,往往是有创的、静态的,难以评价淋巴功能,也对操作人员有较高要求且耗时费力。目前斑马鱼已被证明具有淋巴系统,与其他脊椎动物中发现的淋巴管具有许多相似之处^[95],并可以容易地运用转基因斑马鱼品系,通过对淋巴管的成像筛选出具有促进淋巴管生成的中药。

Harrison 等^[96]研究表明激活斑马鱼的 VEGFR-3 信号转导可促进心脏再生和炎症消退。有研究基于网络分析表明扩心方可以通过 VEGF 家族调节淋巴管生成,其主要成分丹酚酸 B 可以促进淋巴内皮细胞增殖,进一步运用斑马鱼模型证明扩心方及其主要成分通过上调 VEGF-C/VEGFR-3 的表达促进淋巴管生成来治疗扩张型心肌病^[97-98]。Li 等^[99]通过斑马鱼模型证明三七总皂苷可以通过 ERK、PI3K 和 p38 MAPK 信号通路上调 VEGF-C 表达,达到发挥促淋巴管生成的作用。Chen 等^[100]研究表明独活寄生汤可促进斑马鱼胸导管的形成,并且对损伤后的淋巴管具有良好的治疗效果,这表明独活寄生汤可以促进淋巴引流功能。

6 结语

中药对斑马鱼心血管疾病模型的干预作用及机制见图 1。斑马鱼作为研究 CVD 的模式动物,具有实验周期短、成本低、胚胎透明、心脏功能易于

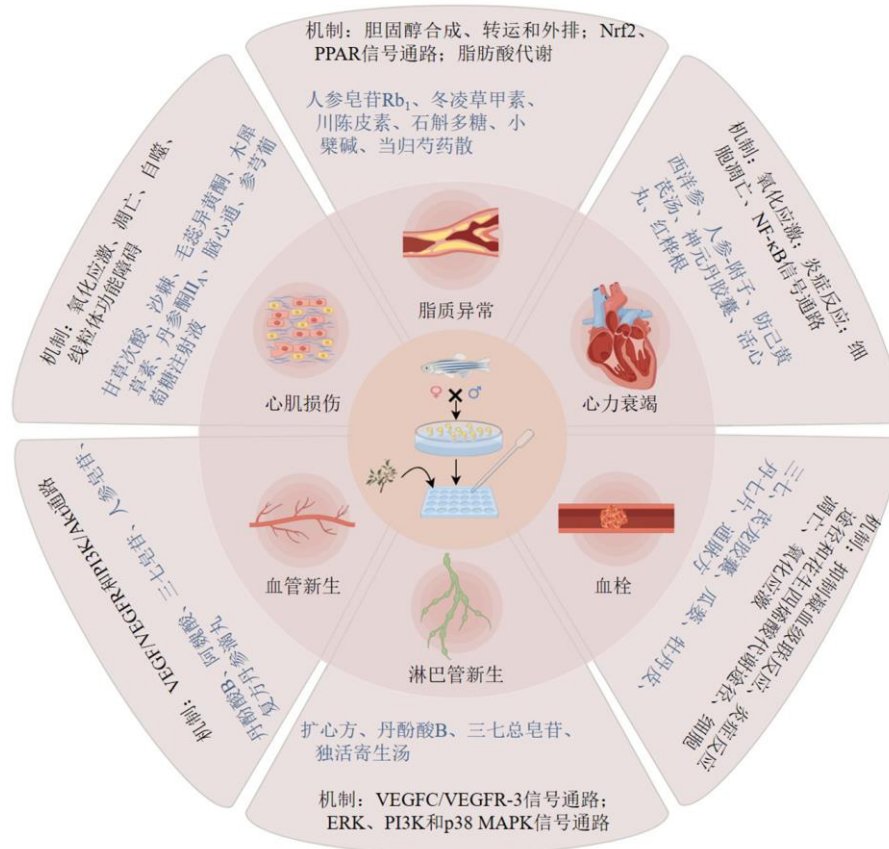


图1 中药对斑马鱼心血管疾病模型的干预作用及机制

Fig. 1 Intervention effect and mechanism of traditional Chinese medicine on zebrafish cardiovascular disease models

量化和观察的特点，可用于心血管药物筛选。但运用斑马鱼研究 CVD 也存在某些不足之处，如只有当待测化合物是水溶性或注射到鱼体内时，运用斑马鱼进行药物筛选才会成功。此外，药物在水中的剂量不易控制^[48]；斑马鱼 CVD 模型造模及药物作用时间短，无法观察药物时效和疗程作用^[9]；斑马鱼发育迅速，对一些慢性疾病模型无法复制；与哺乳动物相比，斑马鱼作为一种变温生物，其温度会影响斑马鱼的生长、代谢率和体脂组成，因此脂质代谢途径不能在体温调节的前提下讨论^[38]；鉴于斑马鱼心脏与人类具有极大的相似性，若从斑马鱼心脏再生这一角度进行深入研究，有望开发治疗 CVD 的新方法。目前对于中药通过调节淋巴管生成治疗 CVD 的研究相对较少，而对淋巴管的研究主要集中在淋巴管的数量和功能上，未来应注重对淋巴管结构和机制的研究，及探讨可进入淋巴液中的中药小分子，开发能够靶向淋巴管给药的药物，降低药物首过效应，从而提高其疗效^[12,101]。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ye Q, Liu H M, Fang C X, *et al.* Cardiotoxicity evaluation and comparison of diterpene alkaloids on zebrafish [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2021, 44(3): 294-301.
- [2] Ka J, Jin S W. Zebrafish as an emerging model for dyslipidemia and associated diseases [J]. *J Lipid Atheroscler*, 2021, 10(1): 42-56.
- [3] 王璇, 陈林珍, 林瑞超, 等. 基于斑马鱼模型的中药抗骨质疏松的研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(15): 5088-5100.
- [4] Han J C, Zhang R, Zhang X F, *et al.* Zebrafish model for screening antiatherosclerosis drugs [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 9995401.
- [5] 范琦琦, 李芝奇, 陈美琳, 等. 基于斑马鱼模型的中药安全性评价研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(1): 278-287.
- [6] 石亚楠. 化学药物诱导斑马鱼心脏损伤模型的探讨及升陷汤保护作用的研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2019.
- [7] Cheng Y F, Wu X P, Nie X, *et al.* Natural compound glycyrrhetic acid protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by activating the Nrf2/HO-1 signaling

- pathway [J]. *Phytomedicine*, 2022, 106: 154407.
- [8] 贾静, 章康威, 王敏娟, 等. 斑马鱼模型在心血管疾病中的应用研究 [J]. 湖北科技学院学报, 2023, 37(1): 70-73.
- [9] 秦小妹, 郭帅杰, 李悦, 等. 斑马鱼模型在中药心血管药理学研究中的应用 [J]. 世界中医药, 2021, 16(15): 2358-2362.
- [10] Sarasamma S, Varikkodan M M, Liang S T, *et al.* Zebrafish: A premier vertebrate model for biomedical research in Indian scenario [J]. *Zebrafish*, 2017, 14(6): 589-605.
- [11] 刘晓金, 李允江, 张晓明, 等. 基于斑马鱼模型的心血管疾病研究进展 [J]. 邵阳学院学报: 自然科学版, 2023, 20(5): 110-116.
- [12] Bai L D, Wang Y Y, Du S Q, *et al.* Lymphangiogenesis: A new strategy for heart disease treatment (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2024, 53(4): 35.
- [13] 赵慧. 扩心方及其主要成分对 Tnnt 突变斑马鱼心脏和 H9C2 细胞损伤模型的保护作用研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2019.
- [14] Duan F F, Li H, Lu H Q. *In vivo* and molecular docking studies of the pathological mechanism underlying adriamycin cardiotoxicity [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023, 256: 114778.
- [15] Moossavi M, Lu X G, Herrmann J, *et al.* Molecular mechanisms of anthracycline induced cardiotoxicity: Zebrafish come into play [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2023, 10: 1080299.
- [16] Wang M Z, Shi Y N, Yao L, *et al.* Potential molecular mechanisms and drugs for aconitine-induced cardiotoxicity in zebrafish through RNA sequencing and bioinformatics analysis [J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e924092.
- [17] Xia Q, Gao S, Rapael Gnanamuthu S R, *et al.* Involvement of Nrf2-HO-1/JNK-ERK signaling pathways in aconitine-induced developmental toxicity, oxidative stress, and ROS-mitochondrial apoptosis in zebrafish embryos [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 642480.
- [18] Hu M Y, Liu P R, Lu S X, *et al.* Myocardial protective effect and transcriptome profiling of Naoxintong on cardiomyopathy in zebrafish [J]. *Chin Med*, 2021, 16(1): 119.
- [19] Gong F H, Shen T Z, Zhang J N, *et al.* Nitazoxanide induced myocardial injury in zebrafish embryos by activating oxidative stress response [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(20): 9740-9752.
- [20] Ross Stewart K M, Walker S L, Baker A H, *et al.* Hooked on heart regeneration: The zebrafish guide to recovery [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(7): 1667-1679.
- [21] Tahara N, Akiyama R, Wang J, *et al.* The FGF-Akt pathway is necessary for cardiomyocyte survival for heart regeneration in zebrafish [J]. *Dev Biol*, 2021, 472: 30-37.
- [22] Botos M A, Arora P, Chouvardas P, *et al.* Transcriptomic data Meta-analysis reveals common and injury model specific gene expression changes in the regenerating zebrafish heart [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 5418.
- [23] Dyck P K V, Hockaden N, Nelson E C, *et al.* Cauterization as a simple method for regeneration studies in the zebrafish heart [J]. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2020, 7(4): 41.
- [24] Chen B, Zhang J P. Bcl-xL is required for the protective effects of low-dose berberine against doxorubicin-induced cardiotoxicity through blocking apoptosis and activating mitophagy-mediated ROS elimination [J]. *Phytomedicine*, 2022, 101: 154130.
- [25] Li G, Chu M, Tong Y Y, *et al.* Protective effects of *Hippophae rhamnoides* L. phenylpropanoids on doxorubicin-induced cardiotoxicity in zebrafish [J]. *Molecules*, 2022, 27(24): 8858.
- [26] Liu C T, Wang Y C, Zeng Y X, *et al.* Use of deep-learning assisted assessment of cardiac parameters in zebrafish to discover cyanidin chloride as a novel Keap1 inhibitor against doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. *Adv Sci*, 2023, 10(30): e2301136.
- [27] Lu X G, Lu L H, Gao L, *et al.* Calycosin attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity via autophagy regulation in zebrafish models [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137: 111375.
- [28] Shi Y Y, Li F F, Shen M, *et al.* Luteolin prevents cardiac dysfunction and improves the chemotherapeutic efficacy of doxorubicin in breast cancer [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 750186.
- [29] Wang X P, Li C, Wang Q Y, *et al.* Tanshinone II_A restores dynamic balance of autophagosome/autolysosome in doxorubicin-induced cardiotoxicity via targeting Beclin1/LAMP1 [J]. *Cancers*, 2019, 11(7): 910.
- [30] Wang X P, Wang Q Y, Li W L, *et al.* TFEB-NF- κ B inflammatory signaling axis: A novel therapeutic pathway of dihydrotanshinone I in doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 93.
- [31] 李长健. 基于体内外心肌损伤模型探究参芎葡萄糖注射液抗心肌损伤的作用及机制 [D]. 广州: 暨南大学, 2022.
- [32] 张明哲. 交泰丸抗老年性痴呆药效及其作用机制研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2020.
- [33] Yumnamcha T, Devi M D, Roy D, *et al.* Evaluation of developmental toxicity and genotoxicity of aqueous seed

- extract of *Croton tiglium* L. using zebrafish [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2022, 45(1): 398-406.
- [34] Sun Q, Tao Q, Ming T Q, *et al.* Berberine is a suppressor of Hedgehog signaling cascade in colorectal cancer [J]. *Phytomedicine*, 2023, 114: 154792.
- [35] Dubińska-Magiera M, Migocka-Patrzałek M, Lewandowski D, *et al.* Zebrafish as a model for the study of lipid-lowering drug-induced myopathies [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5654.
- [36] Chen Z P, Liu H Q, Zhao X Q, *et al.* Oridonin attenuates low shear stress-induced endothelial cell dysfunction and oxidative stress by activating the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 pathway [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1): 180.
- [37] Balamurugan K, Medishetti R, Rao P, *et al.* Protocol to evaluate hyperlipidemia in zebrafish larvae [J]. *STAR Protoc*, 2022, 3(4): 101819.
- [38] Vasyutina M, Alieva A, Reutova O, *et al.* The zebrafish model system for dyslipidemia and atherosclerosis research: Focus on environmental/exposome factors and genetic mechanisms [J]. *Metabolism*, 2022, 129: 155138.
- [39] Kim S H, Yadav D, Kim S J, *et al.* High consumption of iron exacerbates hyperlipidemia, atherosclerosis, and female sterility in zebrafish via acceleration of glycation and degradation of serum lipoproteins [J]. *Nutrients*, 2017, 9(7): 690.
- [40] Fan X C, Han J C, Zhu L J, *et al.* Protective activities of *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng polysaccharide against high-cholesterol diet-induced atherosclerosis in zebrafish [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 8365056.
- [41] Verwilligen R A F, Bussmann J, van Eck M. Zebrafish atherosclerosis: Experimental definitions and difficulties [J]. *Atherosclerosis*, 2020, 302: 52-54.
- [42] Morris S, Cholan P M, Britton W J, *et al.* Glucose inhibits haemostasis and accelerates diet-induced hyperlipidaemia in zebrafish larvae [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 19049.
- [43] Garcia Campoy A H, Perez Gutierrez R M, Manriquez-Alvirde G, *et al.* Protection of silver nanoparticles using *Eysenhardtia polystachya* in peroxide-induced pancreatic β -cell damage and their antidiabetic properties in zebrafish [J]. *Int J Nanomed*, 2018, 13: 2601-2612.
- [44] Kamato D, Ilyas I, Xu S W, *et al.* Non-mouse models of atherosclerosis: Approaches to exploring the translational potential of new therapies [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21): 12964.
- [45] Liu C, Kim Y S, Kim J, *et al.* Modeling hypercholesterolemia and vascular lipid accumulation in LDL receptor mutant zebrafish [J]. *J Lipid Res*, 2018, 59(2): 391-399.
- [46] Hu Y X, You H M, Zhu R F, *et al.* Establishment of a lipid metabolism disorder model in ApoE^b mutant zebrafish [J]. *Atherosclerosis*, 2022, 361: 18-29.
- [47] Bowley G, Kugler E, Wilkinson R, *et al.* Zebrafish as a tractable model of human cardiovascular disease [J]. *Br J Pharmacol*, 2022, 179(5): 900-917.
- [48] Vedder V L, Aherrahrou Z, Erdmann J. Dare to compare. development of atherosclerotic lesions in human, mouse, and zebrafish [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2020, 7: 109.
- [49] Li F, Wu Z X, Sui X. Biotransformation of ginsenoside Rb₁ with wild *Cordyceps sinensis* and *Ascomycota* sp. and its antihyperlipidemic effects on the diet-induced cholesterol of zebrafish [J]. *J Food Biochem*, 2020, 44(6): e13192.
- [50] Zheng Y M, Chen B, Zhang M Q, *et al.* Autophagic degradation of LOX-1 is involved in the maintenance of vascular integrity injured by oxLDL and protected by Berberine [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(6): 1813-1830.
- [51] Lin C Y, Chen P Y, Hsu H J, *et al.* The Citrus flavonoid nobiletin downregulates angiotensin-like protein 3 (ANGPTL3) expression and exhibits lipid-modulating effects in hepatic cells and adult zebrafish models [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(20): 12485.
- [52] Wang Y K, Pan Y, Hou M R, *et al.* Danggui Shaoyao San ameliorates the lipid metabolism via the PPAR signaling pathway in a *Danio rerio* (zebrafish) model of hyperlipidemia [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 168: 115736.
- [53] 张汉源. 全新抗心肌损伤活性贝叶烷型二萜衍生物的设计合成及构效关系研究 [D]. 广州: 广东工业大学, 2021.
- [54] Li J, Zhu Y, Zhao X P, *et al.* Screening of anti-heart failure active compounds from Fangji Huangqi Decoction in verapamil-induced zebrafish model by anti-heart failure index approach [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 999950.
- [55] Narumanchi S, Wang H, Perttunen S, *et al.* Zebrafish heart failure models [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 662583.
- [56] Dong R, Zhang Y G, Chen S J, *et al.* Identification of key pharmacodynamic markers of American ginseng against heart failure based on metabolomics and zebrafish model [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 909084.
- [57] Li X M, Zeng L F, Qu Z X, *et al.* Huoxin Pill protects verapamil-induced zebrafish heart failure through inhibition of oxidative stress-triggered inflammation and apoptosis [J]. *Heliyon*, 2024, 10(1): e23402.
- [58] Lu S X, Hu M Y, Wang Z H, *et al.* Generation and application of the zebrafish *hegl* mutant as a

- cardiovascular disease model [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(11): 1542.
- [59] Ye M, Xu W, He D Q, *et al.* Dammarane-type triterpenoids from the roots of *Rhus chinensis* and their preventive effects on zebrafish heart failure and thrombosis [J]. *J Nat Prod*, 2020, 83(2): 362-373.
- [60] Zhu X Y, Wu S Q, Guo S Y, *et al.* A zebrafish heart failure model for assessing therapeutic agents [J]. *Zebrafish*, 2018, 15(3): 243-253.
- [61] Fang Y H, Sun Y Y, Luo C, *et al.* Evaluation of cardiac dysfunction in adult zebrafish using high frequency echocardiography [J]. *Life Sci*, 2020, 253: 117732.
- [62] 任哲卿, 谢雨瑶, 刘安琪. 药物诱导斑马鱼心力衰竭模型的研究进展 [J]. *实验动物科学*, 2022, 39(4): 74-78.
- [63] Huang C C, Chen P C, Huang C W, *et al.* Aristolochic acid induces heart failure in zebrafish embryos that is mediated by inflammation [J]. *Toxicol Sci*, 2007, 100(2): 486-494.
- [64] Huang C C, Monte A, Cook J M, *et al.* Zebrafish heart failure models for the evaluation of chemical probes and drugs [J]. *Assay Drug Dev Technol*, 2013, 11(9/10): 561-572.
- [65] Shi X J, Chen R, Zhang Y, *et al.* Zebrafish heart failure models: Opportunities and challenges [J]. *Amino Acids*, 2018, 50(7): 787-798.
- [66] Kossack M, Hein S, Juergensen L, *et al.* Induction of cardiac dysfunction in developing and adult zebrafish by chronic isoproterenol stimulation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, 108: 95-105.
- [67] Dvornikov A V, de Tombe P P, Xu X L. Phenotyping cardiomyopathy in adult zebrafish [J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2018, 138: 116-125.
- [68] Romano N, Ceci M. Are microRNAs responsible for cardiac hypertrophy in fish and mammals? What we can learn in the activation process in a zebrafish *ex vivo* model [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(11): 165896.
- [69] Maciag M, Wnorowski A, Bednars K, *et al.* Evaluation of β -adrenergic ligands for development of pharmacological heart failure and transparency models in zebrafish [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2022, 434: 115812.
- [70] Kim I, Seok S H, Lee H Y. Development of a zebrafish larvae model for diabetic heart failure with reduced ejection fraction [J]. *Korean Circ J*, 2023, 53(1): 34-46.
- [71] Wang Q Y, Luo C, Lu G P, *et al.* Effect of adenosine monophosphate-activated protein kinase-p53-Krüppel-like factor2a pathway in hyperglycemia-induced cardiac remodeling in adult zebrafish [J]. *J Diabetes Investig*, 2021, 12(3): 320-333.
- [72] Li J, Zhang D S, Ye J C, *et al.* Dynamin-2 mediates heart failure by modulating Ca^{2+} -dependent cardiomyocyte apoptosis [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(3): 2109-2119.
- [73] Jiménez-Amilburu V, Jong-Raadsen S, Bakkens J, *et al.* GLUT12 deficiency during early development results in heart failure and a diabetic phenotype in zebrafish [J]. *J Endocrinol*, 2015, 224(1): 1-15.
- [74] Li C J, Zhai R R, Zhu X Y, *et al.* Discovery of effective combination from Renshen-Fuzi herbal pair against heart failure by spectrum-effect relationship analysis and zebrafish models [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 317: 116832.
- [75] Li S N, Liu H X, Li Y, *et al.* Shen-Yuan-Dan Capsule attenuates verapamil-induced zebrafish heart failure and exerts antiapoptotic and anti-inflammatory effects via reactive oxygen species-induced NF- κ B pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 626515.
- [76] Ka J, Pak B, Han O, *et al.* Comparison of transcriptomic changes between zebrafish and mice upon high fat diet reveals evolutionary convergence in lipid metabolism [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 530(4): 638-643.
- [77] Ye M, Ruan L J, Huang L N, *et al.* Triterpenoids with diverse skeletons from the roots of *Rhus chinensis* and their protective effects on isoproterenol-induced heart failure in zebrafish [J]. *Phytochemistry*, 2023, 213: 113749.
- [78] Li M L, Gao W Y, Wang H J, *et al.* The grading quality markers identification of *Panax notoginseng* under the guidance of traditional experience using untargeted metabolomics and anti-myocardial ischemia evaluation of zebrafish [J]. *Phytomedicine*, 2023, 111: 154674.
- [79] Sheng J, Meng Q F, Yang Z Z, *et al.* Identification of cryptotanshinone from Tongmai to inhibit thrombosis in zebrafish via regulating oxidative stress and coagulation cascade [J]. *Phytomedicine*, 2020, 76: 153263.
- [80] Zuo H L, Linghu K G, Wang Y L, *et al.* Interactions of antithrombotic herbal medicines with Western cardiovascular drugs [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 159: 104963.
- [81] Lin S H, Liu X, Sun A N, *et al.* Qilong Capsule alleviates ponatinib-induced ischemic stroke in a zebrafish model by regulating coagulation, inflammation and apoptosis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 314: 116397.
- [82] Lin S H, Ma H L, Zhang S S, *et al.* The combination of paeonol, diosmetin-7-O- β -D-glucopyranoside, and 5-hydroxymethylfurfural from *Trichosanthis pericarpium* alleviates arachidonic acid-induced thrombosis in a zebrafish model [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1332468.

- [83] Huang Y T, Chen Q R, Pan W J, *et al.* Moutan Cortex exerts blood-activating and anti-inflammatory effects by regulating coagulation-inflammation cascades pathway in cells, rats and zebrafish [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 320: 117398.
- [84] Sheng J, Meng Q F, Yang Z Z, *et al.* Identification of cryptotanshinone from Tongmai to inhibit thrombosis in zebrafish via regulating oxidative stress and coagulation cascade [J]. *Phytomedicine*, 2020, 76: 153263.
- [85] Fu R J, Wang W X, Tao H J, *et al.* Quantitative evaluation of Danqi Tablet by ultra-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry integrated with bioassay [J]. *J Sep Sci*, 2021, 44(7): 1552-1563.
- [86] Chen J, Wang Y C, Wang S F, *et al.* Salvianolic acid B and ferulic acid synergistically promote angiogenesis in HUVECs and zebrafish via regulating VEGF signaling [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 283: 114667.
- [87] Liu F, Song L S, Lu Z Q, *et al.* Isosteviol improves cardiac function and promotes angiogenesis after myocardial infarction in rats [J]. *Cell Tissue Res*, 2022, 387(2): 275-285.
- [88] Yu T, Zhang Y X, Liu X J, *et al.* Investigation of the pharmacological effect and mechanism of mountain-cultivated ginseng and garden ginseng in cardiovascular diseases based on network pharmacology and zebrafish experiments [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 920979.
- [89] Zhong J C, Lu W J, Zhang J Y, *et al.* Notoginsenoside R₁ activates the Ang2/Tie2 pathway to promote angiogenesis [J]. *Phytomedicine*, 2020, 78: 153302.
- [90] Zhang J Y, Liu M Q, Huang M H, *et al.* Ginsenoside F₁ promotes angiogenesis by activating the IGF-1/IGF1R pathway [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 144: 292-305.
- [91] Zhou Z Y, Xiao Y, Zhao W R, *et al.* Pro-angiogenesis effect and transcriptome profile of Shuxinyin Formula in zebrafish [J]. *Phytomedicine*, 2019, 65: 153083.
- [92] Gao M L, Lan J S, Zha Y L, *et al.* Structural determination and pro-angiogenic effect of polysaccharide from the pollen of *Typha angustifolia* L. [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 222(Pt B): 2028-2040.
- [93] Hu Y X, You H M, Ren C Z, *et al.* Proangiogenesis effects of compound Danshen Dripping Pills in zebrafish [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1): 112.
- [94] Liu X L, Cui K, Wu H, *et al.* Promoting lymphangiogenesis and lymphatic growth and remodeling to treat cardiovascular and metabolic diseases [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2023, 43(1): e1-e10.
- [95] Nicenboim J, Malkinson G, Lupo T, *et al.* Lymphatic vessels arise from specialized angioblasts within a venous niche [J]. *Nature*, 2015, 522(7554): 56-61.
- [96] Harrison M R, Feng X D, Mo G Q, *et al.* Late developing cardiac lymphatic vasculature supports adult zebrafish heart function and regeneration [J]. *Elife*, 2019, 8: e42762.
- [97] Peng L P, Ma M J, Dong Y D, *et al.* Kuoxin Decoction promotes lymphangiogenesis in zebrafish and *in vitro* based on network analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 915161.
- [98] 彭珑萍. 扩心方及其主要成分黄芪多糖对斑马鱼模型淋巴管新生调控作用的研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.
- [99] Li J L, Chen Y, Zhang L, *et al.* Total saponins of panaxnotoginseng promotes lymphangiogenesis by activation VEGF-C expression of lymphatic endothelial cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 193: 293-302.
- [100] Chen Y, Li J L, Li Q, *et al.* Du-Huo-ji-Sheng-Tang attenuates inflammation of TNF-tg mice related to promoting lymphatic drainage function [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 7067691.
- [101] Tessier N, Moawad F, Amri N, *et al.* Focus on the lymphatic route to optimize drug delivery in cardiovascular medicine [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(8): 1200.

[责任编辑 赵慧亮]