

斑马鱼肝损伤-肝纤维化-肝细胞癌模型的建立及中药干预作用研究进展

杨佳瑶^{1,2}, 王雪梅^{1,2}, 孙海龙^{3,4}, 姚娟^{1,5}, 靳晓杰^{1,2}, 罗慧英^{1*}, 刘雪枫^{1,2*}

1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000

2. 陇药产业创新研究院, 甘肃 兰州 730000

3. 甘肃中医药大学基础医学院, 甘肃 兰州 730000

4. 甘肃中医药大学 敦煌医学与转化教育部重点实验室, 甘肃 兰州 730000

5. 甘肃省中医药研究中心, 甘肃 兰州 730000

摘要: 斑马鱼凭借其胚胎透明性、遗传可操作性及与哺乳动物高度保守的肝脏结构与功能, 已成为肝脏疾病机制研究与药物开发的重要模式生物。通过系统综述斑马鱼在肝损伤、肝纤维化及肝细胞癌中的模型构建方法, 重点探讨中药组分在改善肝损伤、抗纤维化及抗肿瘤方面的治疗作用, 旨在为拓展斑马鱼模型在肝脏疾病研究中的应用及推动中药防治肝脏疾病的研究提供新思路与方法。

关键词: 斑马鱼; 肝损伤; 肝纤维化; 肝细胞癌; 中药

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)02-0749-18

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.02.032

Research progress on establishment of zebrafish liver injury-fibrosis-hepatocellular carcinoma model and intervention effects of traditional Chinese medicine

YANG Jiayao^{1, 2}, WANG Xuemei^{1, 2}, SUN Hailong^{3, 4}, YAO Juan^{1, 5}, JIN Xiaojie^{1, 2}, LUO Huiying¹, LIU Xuefeng^{1, 2}

1. School of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Long-Medicine Industrial Innovation Research Institute, Lanzhou 730000, China

3. School of Basic Medicine, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

4. Key Laboratory of Dunhuang Medicine and Transformation, Ministry of Education Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

5. Gansu Provincial Research Center for Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Abstract: Zebrafish are a critical model organism for investigating liver disease mechanisms and drug discovery because of their embryonic transparency and genetic manipulability, as well as their possession of a structurally and functionally conserved liver highly homologous to mammals. This review systematically summarizes methodologies for establishing zebrafish models of liver injury, hepatic fibrosis, and hepatocellular carcinoma, and focuses on exploring the therapeutic effects of traditional Chinese medicine (TCM) components in ameliorating liver injury, counteracting fibrogenesis, and inhibiting tumorigenesis, with the aims of providing novel perspectives and methodologies for advancing the application of zebrafish models in hepatopathology research and promoting TCM-based interventions for liver diseases.

Key words: zebrafish; liver injury; hepatic fibrosis; hepatocellular carcinoma; traditional Chinese medicine

收稿日期: 2025-07-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(82460841); 甘肃省重点人才(青年团队)项目(2024QNTD36); 甘肃省自然科学基金项目(22JR11RA114); 甘肃省高校产业支撑计划项目(2024CYZC-39); 甘肃省中医药研究中心开放课题(zyzx-2023-01); 甘肃中医药大学校级创新创业项目(2026CXCXY-319)

作者简介: 杨佳瑶, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: yangjiayao959@163.com

***通信作者:** 罗慧英, 教授, 硕士生导师, 从事中药药理与毒理研究。E-mail: louria@126.com

刘雪枫, 副教授, 硕士生导师, 从事中药药效物质基础研究。E-mail: askxf@163.com

肝病已成为全球范围内的重要公共卫生挑战,其防治形式日益严峻。流行病学数据显示,肝病位列全球第 10 大死因之一,每年约导致 200 万人死亡^[1],且全球发病率呈持续上升趋势。其中,代谢功能障碍相关脂肪性肝病的全球患病率已由 2006 年的 25.3% 增加至 38.2%^[2]。此外,酒精性肝病在美国肝脏疾病负担中占比高达 50%,预计 2019—2040 年将导致 100 万人死亡^[3-5]。全球肝脏疾病负担的持续加重凸显出对多病因、多机制干预策略以及创新药物研发的迫切需求。近年来,中药在肝脏疾病治疗方面显现出巨大潜力^[6-8]。然而,中药有效成分复杂、作用靶点及途径多样,采用传统单一靶点或简化模型的研究方法难以系统阐明其整体药效与作用机制。因此,在中药治疗肝脏疾病的研究中,亟需构建一种能在活体内精准模拟人类肝病、支持药效成分的动态监测并适用于大规模药物筛选的理想模型。

斑马鱼是继小鼠和大鼠之后应用最为广泛的第 3 类脊椎动物模式生物,同时也是目前唯一适用于高通量药物筛选的脊椎动物^[9-10]。其解剖学结构清晰,器官生理功能与人类高度相似^[11],且遗传同源性显著;其基因组与 71.4% 的人类基因存在明确的直系同源关系^[12]。在肝脏研究方面,斑马鱼虽缺乏典型哺乳动物肝小叶结构,但核心细胞类型(肝细胞、胆管细胞等)与哺乳动物保持一致^[13],加之其胚胎阶段具备光学透明特性,因此可通过活体显微成像技术对其肝脏发育、损伤及修复过程进行动态观测,并可对其肝脏形态、面积、颜色变化等指标进行量化分析^[14-15]。斑马鱼模型有效规避了传统肝活检的有创性局限^[16],在肝脏病理学研究中具有显著优势。通过综述斑马鱼肝脏疾病模型的构建方法及其在中药干预肝病研究中的应用进展,旨在为中药治疗肝病机制的深入探索及潜在药物开发提供理论依据和参考。

1 斑马鱼肝脏疾病模型

1.1 斑马鱼肝损伤模型的建立

肝损伤是指由多种致病因素(如药物、酒精、代谢性疾病等)引起的肝脏结构与功能异常,其主要病理表现包括肝细胞坏死、炎症浸润及纤维化形成等^[17]。斑马鱼的肝损伤模型主要基于化学物质暴露、饮食干预或中药毒性等方式构建。

1.1.1 化学诱导的斑马鱼肝损伤模型 化学诱导模型通过特定肝毒性化合物直接或间接干扰肝脏脂质代谢、引起异常代谢活化及诱发氧化应激和炎

症反应,从而快速诱导斑马鱼肝脏脂肪变性、结构损伤等病理表型^[18-20]。本文主要综述对乙酰氨基酚(*N*-acetyl-*p*-aminophenol, APAP)、异烟肼(isoniazid, INH)、乙醇和硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)引起的斑马鱼肝损伤。

解热镇痛药 APAP 主要经肝脏代谢,并表现为剂量相关的直接肝毒性,用药过量时会导致其毒性代谢产物 *N*-乙酰苯醌亚胺大量生成并蓄积,进而耗竭肝脏内的谷胱甘肽(glutathione, GSH)储备,最终诱发肝细胞损伤^[20-21]。APAP 诱导的斑马鱼肝损伤模型应用广泛,其肝毒性表型在不同发育阶段的个体间呈现良好一致性,模型成功率也较为理想。该模型常见表型包括肝脏面积缩小、荧光强度降低、肝细胞排列紊乱、空泡化及局灶性坏死等形态与组织病理异常,部分研究还伴有卵黄囊吸收延迟、心包水肿及肠道形态异常等发育障碍^[20,22-23]。尽管暴露浓度与处理时间在各研究中不尽相同,但该模型潜伏期短,且高浓度 APAP 干预即可快速诱导急性肝损伤的特性,尤其适用于研究急性、直接肝毒性及相关药物解毒机制。

抗结核药物 INH 所导致的肝损伤发生率可达 48%^[24],其损伤机制主要涉及线粒体功能障碍、内质网应激及细胞凋亡、免疫炎症反应等途径^[18,25-29]。该模型肝损伤表型包括肝脏结构渐进性破坏、肝侧叶减少或缺失、肝细胞空泡化、核萎缩及胞质稀疏等,并伴随肝脏面积缩小和荧光强度降低等表现^[18,30]。此外,部分研究还观察到鱼鳔缺失、卵黄囊吸收延迟以及躯干水肿等发育异常现象^[31]。值得注意的是,INH 的肝毒性在炎症背景下会显著增强,导致斑马鱼畸形率升高和肝损伤加剧^[26]。此类模型常用于高效、快速评估各种化合物在改善抗结核药所致肝损伤方面的潜力,为后续更深入的临床研究和转化提供强有力的前期证据。

乙醇诱导的斑马鱼肝损伤模型发病机制主要与免疫炎症、代谢紊乱及细胞凋亡等多种病理过程密切相关^[32]。该模型在不同研究中呈现较为一致的肝损伤表型,主要包括肝肿大、肝脏颜色变浅及脂质蓄积等形态学改变。组织病理学方面常见肝细胞空泡化、排列紊乱、细胞间隙增大以及脂滴积聚等特征,部分研究还观察到细胞凋亡现象^[33-36]。此外,模型鱼常伴随心率改变(降低或升高)、行为异常(如游泳距离和速度增加)以及腹腔充血(腹部发红)等肝外表现^[35-39]。以上结果表明,乙醇诱导的

斑马鱼模型能有效模拟从肝脂肪变性到细胞损伤的酒精性肝病进程，尤其在揭示脂代谢紊乱与免疫炎症相互作用方面具有独特优势。

有机硫化物 TAA 在成鱼和幼鱼中均能有效诱导肝细胞肿胀、脂肪变性等代谢性损伤的病理变化，部分模型还观察到腹腔白色脂肪增多的病理表现^[40-42]。TAA 诱导的肝损伤模型因其造模周期短、病理表型明确且重复性好，对于大规模药物筛选及急性肝损伤机制研究尤为适用。

1.1.2 饮食诱导的斑马鱼肝损伤模型 饮食诱导的斑马鱼肝损伤模型通过调控营养摄入，直接模拟人类营养过剩或代谢失衡等致病因素，已成为目前应用最为广泛的模型之一^[43]，常见的诱导方式包括高脂、高胆固醇、过量喂养及饥饿处理等。高脂饮食诱导方式多样，可直接增加斑马鱼饲料中脂肪含量^[44-45]，或给予卤虫^[46]、蛋黄粉^[47]和棕榈酸^[48]作为高脂饮食的补充剂。高脂饮食模型通常选择成鱼作为实验对象，并通过较长的饮食干预周期模拟慢性肝损伤，其病理表现为体质量增加、肝脏脂肪变性、脂滴增多、肝细胞结构异常（空泡化、气球样变、排列紊乱）等^[44-48]。胆固醇诱导的代谢性损伤与高脂饮食所诱导的模型病理表现相似，但所选实验对象为幼鱼，且成模周期大大缩短^[49-52]。过量喂养模型分别采用高脂饲料、胆固醇或卤虫作为单一因素进行造模，在成鱼中进行长期干预^[16,53]，此模型不仅导致了肝脏脂肪变性和脂质蓄积，更能诱导出接近于人类肝脏进展期病变的特征，如混合性大泡脂肪区域变性、炎性细胞浸润、纤维组织增生甚至假

小叶的形成^[54]。另外，不仅营养过剩可导致肝损伤，饥饿处理同样可扰乱肝脏脂质代谢稳态，提示代谢失衡是此类模型的核心特征^[55]。由于能够系统模拟从单纯脂肪变性到脂肪性肝炎等肝病进程，饮食诱导模型尤其适用于研究代谢性肝病的发病机制与干预策略。

1.1.3 中药诱导的斑马鱼肝损伤模型 中药引发的肝脏损伤近年来也备受关注，客观、正确、系统地评价其肝毒性对推进中药发展具有重要意义。中药所致斑马鱼肝损伤常表现为肝组织结构紊乱、肝细胞空泡化及凋亡增加等病理特征^[56-61]，其中，重楼与何首乌的醇提物或有机溶剂萃取部位肝毒性较强，并常伴随明显肝肿大^[57-58]。重楼的主要毒性成分皂苷类（如重楼皂苷I、偏诺皂苷）可通过干扰能量代谢与细胞增殖引发肝损伤；而何首乌中的蒽醌类与二苯乙烯苷类成分则可能通过氧化应激和炎症反应途径导致肝细胞损伤。此外，补骨脂可导致卵黄囊吸收延迟和脊柱弯曲等发育异常，其毒性主要与补骨脂素和异补骨脂素含量相关，并能通过促进中性粒细胞聚集及炎症因子表达，进而加剧肝损伤^[60-61]。除评价单味药的肝毒性外，斑马鱼模型同样广泛应用于评价已上市中成药的肝毒性，如壮骨关节丸、益肾乌发口服液、牛黄解毒片等均在幼鱼中表现出不同程度的肝脏毒性^[62]。

综上，斑马鱼模型能有效模拟中药所致肝损伤的表型特征，在组织、细胞与分子水平系统阐释其毒性机制，为中药肝毒性的快速筛查与机制解析提供了有力工具（表 1）。

表 1 斑马鱼肝损伤模型的建立

Table 1 Establishment of liver injury model of zebrafish

诱导方式	诱导物	诱导剂量	斑马鱼发育阶段	诱导周期	症状	文献
化学诱导	对乙酰氨基酚	8 mmol·L ⁻¹	2 dpf	48 h	肝脏面积减小、局灶性坏死、组织结构排列紊乱及空泡化加重	23
		5.29 mmol·L ⁻¹	3 dpf	72 h	肝脏荧光强度和面积减小，肝细胞核萎缩、胞质肿胀、结构排列异常；随暴露时间延长出现肠道变型（12 h）、心包水肿（36 h）等现象	20
		6 mmol·L ⁻¹	3 dpf	72 h	肝脏面积及荧光强度显著减小，卵黄囊吸收延迟及游泳囊发育迟缓或缺失	22
		5、10、25 mmol·L ⁻¹	成鱼	10~48 h	5 mmol·L ⁻¹ 处理 48 h 出现肝细胞坏死和局灶性出血面积增加；10 mmol·L ⁻¹ 处理 12 h 后出现广泛肝细胞坏死和窦状隙出血；25 mmol·L ⁻¹ 处理 10 h 后斑马鱼迅速死亡	63
	异烟肼	2~6 mmol·L ⁻¹	3 dpf	72 h	肝面积指数减小，荧光强度显著降低，随异烟肼浓度升高肝脏出现渐进性结构破坏，表现为侧叶减少、部分缺失乃至完全消失；肝损伤在 4 mmol·L ⁻¹ 浓度时显现，表现为肝细胞胞质稀疏、核萎缩及空泡化	30

表1 (续)

诱导方式	诱导物	诱导剂量	斑马鱼发育阶段	诱导周期	症状	文献
化学诱导	异烟肼	4~6 mmol·L ⁻¹	3 dpf	72 h	肝脏荧光强度、面积减小,肝细胞核萎缩、畸形; 肝脏炎症模型中联合使用异烟肼,斑马鱼出现严重的躯干和腹部水肿,并伴有鱼鳔缺失、尾部畸形、唇/鳍发育不全及体节发育延迟	26
		4~16 mmol·L ⁻¹	3 dpf	72 h	游泳囊萎缩、鱼鳔缺失、卵黄囊吸收延迟及肝脏变性	31
		1%	4 dpf	48 h	肝肿大、颜色变浅,肝脏和肠道中脂质过度蓄积	31
		2%	3 dpf	32 h	肝脏荧光强度降低、形态损伤,脂质蓄积、脂肪变性	34
		2%	4 dpf	32 h	肝肿大,肝实质空泡化,脂质沉积,行为异常	14,36
		2%	5 dpf	32 h	脂质沉积,脂滴数量、大小增加,肝脂肪变性,肝脏微泡化	37
		2%	5 dpf	36 h	肝脏灰度值增加,脂质面积增大,行为异常(游泳距离和速度增加)	38
		2%	6 dpf	32 h	腹部发红,肝肿大,脂质蓄积,心率升高,肝细胞空泡化,排列紊乱,细胞间隙增加,脂滴积聚,肝脂肪变性	39
		0.5%~4%	6 dpf	32 h	肝肿大,肝脏灰度值升高,肝细胞边界模糊,间质细胞体积增加,细胞凋亡,肝脂肪空泡变性,心脏频率降低	35
	TAA	0.4~0.5 mg·L ⁻¹	3 dpf	72 h	肝细胞肿胀,脂肪变性,脂质积累,气球样变性,脂滴面积和数量增多;肝脏浅黄色,腹腔充满白色脂肪	40-41
		5 mg·mL ⁻¹	3 mpf	72 h	肝细胞呈现脂肪空泡化,脂滴沉积且数量增多	42
		2 mg·mL ⁻¹ 蛋黄粉	5 dpf	72 h	体长、体质量、BMI 升高,肝脏与血管油红染色变浅,脂质蓄积,肝细胞排列紊乱,出现大量空泡化及形态不规则	47
		30 mg 卤虫+70 mg 蛋黄粉	3 mpf	30 d	BMI 升高,肝脏明显黄色,出现大量细胞核聚集、气球样变性、大面积脂肪变性,脂质积累,细胞凋亡	46
		24%脂肪含量	6 mpf	12 周	BMI 升高,肝脏发生大泡性脂肪变性、小叶炎症,肝细胞气球样病变,脂滴增多,线粒体严重片段化,数量增加,平均直径、长度和面积减小	44-45
		8%棕榈酸	12 mpf	6 周	体质量增加,肝肿胀,肝细胞气球样变,嗜酸性小体及脂质积累	48
饮食诱导	高脂饮食	20 mg 5%胆固醇	5 dpf	10 d	体质量、体长、体宽增加,脂滴积累,肝细胞结构异常,空泡化、排列不规则	49
		20 mg 5%胆固醇	5 dpf	7~14 d	脂质荧光强度增加,脂质蓄积,大面积大泡性脂肪变性	50
		20 mg 5%胆固醇	5 dpf	17 d	脂质蓄积于腹部,肝脏脂肪变性,大泡性脂肪病变	52
		150~300 μmol·L ⁻¹ ; 1%~8%胆固醇	6 dpf	9 d	不透明的肝脏表型,脂滴积累,脂肪变性,发育出白色脂肪组织	51
	过量喂养	40 mg 5%胆固醇	3 mpf	1~24 周	脂肪变性,出现混合性大泡区域和炎性细胞浸润,纤维组织增生,部分肝组织出现假小叶,肝脏出现胶原沉积	54
		90 mg 高脂饲料	3 mpf	2 个月	肝脏脂肪变性,肝细胞空泡化	16
		60 mg 卤虫	3.5 mpf	8 周	BMI 升高,肝脏脂肪变性	53
		—	5 dpf	5 d	肝脏脂质积累,脂肪变性,脂滴增多	55
		600~840 μg·mL ⁻¹	4 dpf	24 h	肝脏组织结构紊乱,细胞质减少,排列松散,空泡化严重,肝细胞凋亡增多	56
		重楼	醇提物 1.1、1.76 μg·mL ⁻¹ ; 水提物 18、28.8 μg·mL ⁻¹	4 dpf	24 h	肝肿大,肝脏组织结构松散,肝细胞空泡化,出现组织结构降解
何首乌	3~60 μg·mL ⁻¹	4 dpf	24 h	肝肿大,透明度降低,肝细胞数量减少,出现空泡变性及排列不规则	58	
白鲜皮	100~500 μg·mL ⁻¹	4 dpf	24 h	肝组织结构紊乱,细胞质减少、排列松散、空泡化严重,细胞凋亡增多	59	
补骨脂	100~500 μg·mL ⁻¹	3 dpf	24~72 h	肝细胞空泡化,细胞核被挤向一侧伴随肝细胞水肿变性;卵黄囊吸收延迟、脊柱弯曲、鱼鳔缺失、心包水肿	60-61	

dpf-受精后天数; mpf-受精后月数; BMI-身体质量指数,下同。

dpf-day post fertilization; mpf-month post fertilization; BMI-body mass index, same as below.

1.2 斑马鱼肝纤维化模型的建立

肝纤维化是慢性肝损伤的重要进展阶段，其机制在斑马鱼中的表现与人类相似，主要是肝星状细胞（hepatic stellate cells, HSC）的活化，导致细胞外基质（extracellular matrix, ECM）过度积累，最终破坏肝脏正常结构、损害器官功能、引发肝内血

流动力学紊乱^[64-65]。目前，在斑马鱼中构建的肝纤维化模型主要通过 3 种方式诱导：TAA 诱导、甲硝唑/硝基还原酶（metronidazole/nitroreductase, MTZ/NTR）致肝细胞消融联合乙醇暴露、磷酸甘露糖异构酶（mannose phosphate isomerase, MPI）敲除联合乙醇暴露（表 2）。

表 2 斑马鱼肝纤维化模型的建立

Table 2 Establishment of liver fibrosis model of zebrafish

诱导方式	诱导剂量	斑马鱼发育阶段	诱导周期	症状	文献
TAA	0.06%	48 hpf	7 d	肝脏细胞间隙明显变薄、肝细胞肿胀、空泡化，HSC 被激活产生大量 ECM（如 Col I 和 α -SMA）	66-69
	0.06%	48 hpf	3 d	肝脏荧光信号相对较弱、较暗，肝脏面积明显减小	70
MTZ/NTR 联合乙醇暴露	1.5% 乙醇 + 15 mmol·L ⁻¹ MTZ	24~36 hpf	2 d	HSC 数量增加，形态从星形构型改变为具有丢失的胞质突起的肌纤维母细胞样形状，肝细胞再生效率较低；LN 与 Col I 水平显著升高	71
	1.5% 乙醇 + 15 mmol·L ⁻¹ MTZ	2.5 dpf	2 d	躯干和尾部向上弯曲、心包水肿及游泳囊萎缩，HSC 数量增加，形态从星形构型改变为肌纤维母细胞样形状，细胞质突起丢失，Col I 沉积增多	72
MPI 敲除联合乙醇暴露	2%乙醇	胚胎	5 d	肝脏发育缺陷（肝脏尺寸小，胆道发育异常），肝脏显示出嵌入纤维化基质内的异常胆管	65
	2%乙醇	4 dpf	24 h	纤维化基因表达升高	65
	—	成鱼	14~15 个月	MPI 酶活性降低、纤维化基因表达增加、胶原沉积增加、表现出类似于 MPI-CDG 个体的纤维化	73

1.2.1 TAA 诱导的斑马鱼肝纤维化模型 TAA 诱导属于化学诱导，主要通过 HSC 活化导致 ECM 积累而破坏肝脏结构引起肝纤维化，其特点是简便快捷、经济效益好，且成功率较高。采用 0.06% TAA 干预受精后 2 d（day post fertilization, dpf）的斑马鱼 3~7 d，可诱导肝脏出现面积减小、肝细胞肿胀、间隙增宽及空泡化等病理改变，指标检测发现 I 型胶原蛋白（collagen I, Col I）和 α 平滑肌肌动蛋白（ α -smooth muscle actin, α -SMA）水平升高^[66-70]，提示 HSC 激活且产生了大量 ECM。TAA 诱导是目前斑马鱼肝纤维化模型构建中应用最广泛且技术成熟的造模方式之一，能高度模拟人类病理进程，是中药及天然产物药效评价的可靠模型。

1.2.2 MTZ/NTR 联合乙醇暴露诱导的斑马鱼肝纤维化模型 转基因系斑马鱼（*fabp10a:CFP-NTR*）^{gt1}、（*fabp10a:mCherry-NTR*）^{gt2} 与 甲硝唑（metronidazole, MTZ）相互作用，硝基还原酶（nitroreductase, NTR）将无毒前药甲硝唑转化为 DNA 链间交联剂，诱导细胞死亡以消融肝细胞，主要通过激活肝驻留细胞源，如肝祖细胞再生肝细胞

在体内存在的纤维化损伤途径而造成肝纤维化^[71]。乙醇暴露 24 h 内即可诱导 HSC 活化，且活化状态持续 ≥ 3 d，肝细胞消融联合乙醇暴露可引起实质性肝损伤，并呈现持续性病理特征^[71]。1.5%乙醇处理后，HSC 数量增加且形态从星形构型转变为肌纤维母细胞样形状，并且可观察到细胞质突起丢失；乙醇/MTZ 处理的再生肝脏中，可见 Col I 沉积、层黏连蛋白（laminin, LN）表达上调及 ECM 蛋白积累，上述病理改变符合肝纤维化典型病理特征^[71-72]。MTZ/NTR 联用适用于深入研究肝损伤后再生与纤维化启动的精细分子机制，探索特定基因生理功能并进行相关药物的初步筛选。

1.2.3 MPI 敲除联合乙醇暴露诱导的斑马鱼肝纤维化模型 磷酸甘露糖异构酶（mannose phosphate isomerase, MPI）的功能缺失突变可激活纤维化反应，其机制与 MPI 缺失所诱导的 HSC 活化密切相关^[65]。研究通过构建 MPI 突变斑马鱼品系 *mpi^{miss7}* 进一步揭示，在幼鱼模型中，MPI 缺失 5 d 内即可引发肝脏发育障碍，具体表现为胆管结构异常并嵌入纤维化基质，同时 ECM 蛋白、肌动蛋白及胶原

蛋白等纤维化相关基因的表达显著上调^[65]。在联合干预实验中, 4 dpf 幼鱼经 2%乙醇处理 24 h 耗尽 MPI 后, 纤维化基因表达进一步升高, 表明 MPI 缺失可协同乙醇加剧纤维化进程^[65]。此外, MPI 突变斑马鱼成鱼模型成功模拟了先天性糖基化障碍 (congenital disorders of glycosylation, CDG) 的核心病理表型, 即由 MPI 缺乏介导的蛋白质糖基化异常, 该异常可促进早发性及进行性肝纤维化的发生^[73]。此模型将特定的遗传代谢缺陷与外部环境因素相结合, 更好地模拟了人类疾病中基因与环境交互作用的复杂情况, 适用于研究甘露糖代谢通路在肝纤维化中的作用。

1.3 斑马鱼肝细胞癌模型的建立

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的原发性肝脏恶性肿瘤, 其发生发展与慢性肝炎病毒感染、长期过量饮酒以及代谢相关肝病等因素密切相关^[74-75]。斑马鱼因其与人类肝脏在生理和分子层面的高度相似性, 已成为研究 HCC 的重要体内模型, 可再现人类 HCC 中的关键病理特征, 如肝细胞异常增殖、脂肪变性及肿瘤形成等。目前, 基于斑马鱼所构建的 HCC 模型主要包括化学诱导型、基因编辑型与异种移植型, 这些模型为深入研究 HCC 的发病机制提供了有力工具。

1.3.1 化学诱导的斑马鱼肝细胞癌模型 化学诱导法通过将斑马鱼暴露于特定致癌化合物引起肝细胞 DNA 直接损伤或诱发慢性炎症, 从而模拟人类因环境毒素暴露而引发 HCC 的过程。致癌化合物包括二乙基亚硝胺 (diethylnitrosamine, DEN)、7,12-二甲基[a]苯并蒽 (7,12-dimethylbenz[a]anthracene, DMBA)、N-甲基-N'-亚硝基胍 (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG) 等。DEN 处理对象多选择成年斑马鱼, 采用 0.01% DEN 干预 8~9 周即可出现腹部增大、腹水、原发性肿瘤充满腹腔、肝脏结节增多等病理表现^[76-78]。DMBA 与 MNNG 诱导多由胚胎或鱼苗阶段进行暴露, 2 种致癌物非靶向诱导斑马鱼多器官组织发生癌变, 但主要的靶器官均为肝脏, 造模成功率为 14%~30%^[79-80]。化学诱导其广泛性使得靶向肝组织的造模成功率较低, 在多种器官组织如平滑肌、骨骼肌、胃肠道、结缔组织、淋巴组织中也可见间质肿瘤的发生^[79], 若要对其定量判别较为困难, 但其操作简便、成本低特性, 也更适用于高通量药物筛选。

1.3.2 基因编辑诱导的斑马鱼肝细胞癌模型 基因

编辑是利用转基因技术过表达致癌基因或敲除抑癌基因, 模拟遗传性肝细胞癌。致癌基因过表达包括鼠类肉瘤病毒癌基因 (kirsten ratsarcoma viral oncogene, *kras*)、核糖-5-磷酸异构酶 A (ribose 5-phosphate isomerase A, *RPIA*)、扭转型螺旋-环-螺旋转录因子 1 α (t twist family bHLH transcription factor 1 α , *twist1a*)、Xiphophorus 黑色素瘤受体激酶 (xiphophorus melanoma receptor kinase, *xmrk*) 等^[81], 也包括肿瘤蛋白 p53 (tumor protein p53, *tp53*)、磷酸酶与张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homolog, *pten*) 等基因被抑制。*kras*^{V12} 转基因斑马鱼需要联合强力霉素 (doxycycline, Dox) 诱导以启动肝细胞癌发生^[82], 总实验周期约为 8 d, 大大缩短了癌症研究的耗时。*RPIA* 过表达导致肝脏脂肪变性和纤维化, 且其表达水平与 HCC 发生发展密切相关, *RPIA* 转基因鱼在 3~5 月龄间发生脂肪变性, 5~7 月龄时表现出显著纤维化, 出现增生和发育不良, 并在 9~11 月龄间出现 HCC 病理特征^[83]。*RPIA* 在肝脏中过表达可引起增生、异常增生和癌症, 与人类 HCC 进展大致相同, 可模拟人体癌症发病进程。Luo 等^[84]构建了 *tp53* 与 *pten* 单突变和双突变转基因斑马鱼, 发现 *pten* 单独缺失所诱导的肝细胞癌进展缓慢且效率较低, 而 *tp53* 单一突变无法诱导肿瘤形成; 与单突变斑马鱼相比, *tp53* 与 *pten* 双突变斑马鱼表现出更高的肿瘤发生率, 出现显著的 HCC 组织病理学特征。基因突变模型致癌效率高, 周期短, 并且可研究特定基因的驱动机制, 精准性好, 药物作用靶向性高, 是现代精准医学发展的重要一环。

1.3.3 异种移植诱导的斑马鱼肝细胞癌模型 异种移植模型通常采用显微注射技术, 将人类肝癌细胞系 (如 HepG2、Hep3B)、患者来源的肿瘤组织或小鼠肝癌细胞接种于斑马鱼胚胎的卵黄囊、腹腔或卵周间隙等部位。为规避免疫排斥反应, 一般选用孵化后 2~3 d 的胚胎进行操作, 此阶段斑马鱼先天性免疫系统尚未发育成熟, 处于天然免疫缺陷状态。在常见的移植位点中, 卵黄囊因体积较大、血管丰富, 兼具操作便捷性与移植后高存活率的优势, 成为多数研究的首选。研究表明, 该模型能够有效模拟体内肿瘤的生长与扩散进程。例如, Zhang 等^[85]将 HepG2 细胞注射至 2 dpf 斑马鱼卵黄囊内, 5 dpf 时即观察到肿瘤体积显著增大、病灶扩散及远处转移。同样, Huang 等^[86]在注射 Hep3B 与 HepJ5 细胞后 3~5 d 内, 也观察到肿瘤细胞迅速增殖; 而

在另一项研究中，该团队将 HepG2-HBx 细胞注射至斑马鱼卵周间隙，同样发现肿瘤细胞表现出快速生长与广泛侵袭的特征^[87]。异种移植模型具有所需细胞量少，成模周期短的特点，尤其在使用患者来源的肿瘤细胞时，其临床相关性可达 80%以上^[88]。

斑马鱼异种移植模型不仅广泛应用于肝细胞癌研究^[89]，在肺癌^[90]、结直肠癌^[91]、胶质母细胞瘤^[92]等多种肿瘤模型中也显示出良好的适用性，为抗肿瘤药物的筛选与临床研究提供了重要平台。

斑马鱼肝细胞癌模型的建立见表 3。

表 3 斑马鱼肝细胞癌模型的建立
Table 3 Establishment of hepatocellular carcinoma model of zebrafish

诱导方式	诱导剂量	斑马鱼发育阶段	诱导周期	症状	文献
化学诱导	0.005%~0.015% DEN	8 mpf	9 周	脊柱弯曲、肝脏膨大、腹腔腹水，肝脏结节数量增多、78 高度纤维化并出现点状、球状肿瘤组织，肝细胞排列紊乱，出现中性粒细胞浸润，胆管增生	
	0.01% DEN	2 mpf	8 周	腹前部增大、腹腔腹水、肝脏结节增多，产生血块并突 77 出到肝脏外，原发性肿瘤充满腹腔	
	0.01% DEN	2.5mpf	8 周	腹前部增大、腹腔腹水，原发性肿瘤充满腹腔，肝脏结 76 节增多	
	$2.5 \times 10^{-7} \sim 5 \times 10^{-6}$ 、 $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-3}$ DMBA	60 hpf 胚胎、鱼苗	7~12 个月	致癌反应主要靶组织为肝脏	79
	$0 \sim 1 \times 10^{-5}$ MNNG+含 $0 \sim 2 \times 10^{-3}$ MNNG 饲料	83 hpf 胚胎、鱼苗	6~12 个月	肝脏肿瘤发生明显，肝细胞形态结构改变，细胞空泡化 80	
基因编辑	<i>kras</i> ^{V12} 转基因+ $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Dox	胚胎	8 d	肝脏显著增大、纤维化增加，肝细胞、胆管细胞增殖，中 82,93 性粒细胞密度增加	
	<i>tp53/pten</i> 敲除	胚胎	1~6 个月	肝脏增生、硬化、肿胀，胆管消失，肝细胞增殖、出现 84 异常脂质积累，肿瘤细胞侵入血管	
	<i>RPIA</i> 过表达	胚胎	3~11 个月	肝脏硬化、纤维化、脂肪变性，增生组织细胞核增大、83 核仁突出，有丝分裂增多	
异种移植	注射 HepG2 细胞	2 dpf	3 d	可观察到肿瘤体积增大、肿瘤块扩散、病灶数量增加，85 肿瘤发生转移、远离原发部位	
	注射 Hep3B、HepJ5 细胞	2 dpf	1~3 d	肿瘤细胞明显增多，生长迅速	86
	注射 HepG2-HBx 细胞	2 dpf	1~2 d	肿瘤细胞生长迅速、快速扩散	87

2 中药对斑马鱼肝脏疾病模型的干预作用

2.1 中药单体及有效部位在斑马鱼肝脏疾病研究中的应用

中药单体及有效部位因化学成分明确、作用机制清晰，已成为阐释中药药效物质基础的重要研究对象。在斑马鱼肝脏疾病模型中，多种中药单体成分表现出显著的肝脏保护作用，包括黄酮类（如柚皮苷、葛根素）、查耳酮苷类（如羟基红花黄色素 A、C）、三萜类（如柠檬苦素）、甾体类（如沙蟾毒精）以及皂苷类和酚类等。这些活性成分主要通过调控氧化应激、脂质代谢、炎症反应和细胞凋亡等关键病理过程发挥治疗作用。

黄酮类中药单体成分如柚皮苷在肝纤维化及酒精诱导的肝损伤模型中可通过改善脂代谢基因表达、抑制细胞凋亡以及调控核因子 E2 相关因子 2(nuclear

factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)/血红素氧合酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 等通路发挥保护作用^[14,69]；葛根素与葛根黄酮可调节腺苷酸激活蛋白激酶 α 催化亚基 (5'-AMP-activated protein kinase catalytic subunit α , AMPK α)-乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACC) 信号通路，减轻内质网应激和炎症反应治疗肝损伤^[37]。羟基红花黄色素 A、C 在化学诱导的肝损伤中表现出促进药物代谢和血液循环、抑制氧化应激和炎症因子释放的作用，并涉及高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1)/Toll-样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)/核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 等通路^[94-96]。此外，北桑寄生总黄酮^[97]可调控氧化应激相关基因表达及提升抗氧化酶活性改善化学诱导的肝损伤。部分成分如异甘草素^[68]和槲皮素-7-鼠李糖苷^[98]则在肝纤

维化和肝细胞癌模型中通过抑制 HSC 活化、降低胶原沉积或促进肿瘤细胞凋亡发挥作用。

萜类及苷类成分如柠檬苦素^[40]、chryindicolide O^[99]和天麻素^[100]在化学和饮食诱导的肝损伤中通过抑制氧化应激[降低活性氧(reactive oxygen species, ROS)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平, 升高 GSH、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等活性]、减轻炎症因子[如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1 β]表达以及调节脂代谢相关基因发挥肝保护作用; 其中柠檬苦素和天麻素还共同涉及 Nrf2/HO-1 通路的调控。胡黄连苷同样可改善饮食诱导的肝损伤, 下调脂质生成、炎症和氧化应激相关基因^[101]。在肝细胞癌模型中, 丹参酮 II_A 衍生物通过抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)信号通路和诱导细胞凋亡而抑制肿瘤增殖^[102], 而重楼皂苷 VII 也显示出抗肿瘤活性^[103]。连翘酯苷 A 在药物诱导的肝损伤中通过调控磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)介导的细胞凋亡通路改善肝损伤, 并在肝纤维化中抑制 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3, NLRP3)介导的焦亡途径发挥治疗作用^[23,70]。此外, 甘草次酸^[104]和玉叶金花三萜皂苷^[105]则分别通过降低丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶

(aspartate aminotransferase, AST)水平和炎症因子表达缓解化学诱导的肝损伤。

其他成分如甾体类成分沙蟾毒精及其衍生物 1 β -羟基-沙蟾毒精在肝细胞癌模型中通过抑制 Janus 激酶(Janus kinase, JAK)-信号转导和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)和雷帕霉素机制靶蛋白(mechanistic target of rapamycin, mTOR)信号通路, 调控脂质代谢并诱导线粒体凋亡对肿瘤产生抑制作用^[106-108]。多酚类成分如何首乌中的 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷和姜黄素在饮食及化学诱导的肝损伤中通过激活 Kelch 样 ECH 关联蛋白 1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)/Nrf2 等抗氧化通路、调节脂代谢基因及抑制 I κ B 激酶 β (I κ B kinase β , IKK β)/NF- κ B 炎症通路发挥改善作用^[49,109-110]。多糖类成分如茯苓多糖、灵芝粗多糖和白花蛇舌草多糖可减轻肝纤维化和药物诱导的肝损伤, 机制涉及改善肝脏形态、减少胶原沉积、下调氧化应激和脂质积累等^[25,41,111]。此外, 香豆素类的螳螂菊内酯^[112]、生物碱类的莲心季铵碱^[38]及鞣质类的柯里拉京^[66]也分别通过调节脂代谢、胆汁酸合成和纤维化核心蛋白表达等途径发挥肝保护效应。总体来看, 这些成分虽结构类型多样, 但均通过抗氧化、抗炎、调节代谢及抑制细胞凋亡等多靶点机制协同起效, 体现出中药复杂成分在肝病干预中的多通路整合潜力。中药有效组分对斑马鱼肝脏疾病模型的干预见表 4。

表 4 中药单体及有效部位对斑马鱼肝脏疾病模型的干预

Table 4 Intervention of traditional Chinese medicine monomers and effective fractions on zebrafish liver disease models

类别	活性成分	来源	疾病	斑马鱼发育阶段	作用机制	文献
黄酮	柚皮素-7-芸香糖苷	柑桔	肝损伤	4 dpf	逆转炎症与氧化应激相关基因异常表达, 改善脂质代谢, 抑制内质网应激与未折叠蛋白反应途径相关基因表达, 调节 MAPK14 信号通路	33
	柚皮苷	葡萄柚/柑橘	肝损伤	4 dpf	改善酒精和脂质代谢相关基因表达, 降低超氧化物自由基水平, 抑制细胞凋亡	14
	柚皮苷	葡萄柚/柑橘	肝纤维化	2 dpf	降低纤维化标志物(Col I、 α -SMA)水平, 上调脂肪酸代谢相关基因、抗氧化因子, 下调炎症因子(TGF- β 、NF- κ B)表达, 调节 Nrf2/HO-1 通路	69
	异甘草素	甘草	肝纤维化	2 dpf	降低纤维化标志物水平, 抑制 HSC 活化	68
	槲皮素-7-鼠李糖苷	珍珠梅	肝细胞癌	2 dpf	促进细胞凋亡, 抑制肝细胞癌扩散	98
	北桑寄生总黄酮	北桑寄生	肝损伤	3 dpf	下调 AST、ALT, 抑制氧化应激, 减少中性粒细胞聚集	97

表 4 (续)

类别	活性成分	来源	疾病	斑马鱼发育阶段	作用机制	文献
黄酮	葛根黄酮、葛根素	葛根	肝损伤	5 dpf	降低 TC、TG 水平,减轻肝脏脂肪变性,改善酒精代谢,抑制内质网应激,降低炎症因子水平,调节 AMPK α -ACC 信号通路	37
	羟基红花黄色素 A、C	红花	肝损伤	2~5 dpf	增加药物代谢速率,提高血液流速促进血液循环;抑制氧化应激,减少炎症因子(IL-6、IL-1 β 、TNF- α)释放,调节脂质代谢相关基因,促进乙醇代谢,调节 HMBG1/TLR4/NF- κ B 通路	94-96
萜类	柠檬苦素	柑橘	肝损伤	3 dpf	抑制巨噬细胞向肝脏迁移,降低炎症因子表达,抑制氧化应激(降低 ROS、GSH 水平),调节 Nrf2/HO-1 通路	40
	chryindicolide O	野菊花	肝损伤	8 dpf	降低 ALT、AST 水平,抑制氧化应激(下调 ROS、MDA;上调 GSH、SOD 表达)	99
	丹参酮 II _A 衍生物	丹参	肝细胞癌	2 dpf	诱导细胞凋亡而抑制 HepG2 细胞增殖,激活 VEGF 信号通路抑制肿瘤细胞迁移	102
	甘草次酸	甘草	肝损伤	3 dpf	降低 ALT、AST 水平,减少神经丘周围免疫细胞个数	104
苷类	胡黄连苷	胡黄连	肝损伤	5 dpf	改善脂质代谢,抑制炎症和氧化应激	101
	重楼皂苷 VII	重楼	肝细胞癌	2 dpf	抑制肿瘤增殖	101
	玉叶金花三萜皂苷	玉叶金花	肝损伤	3 dpf	降低 ALT、AST,减少炎症因子释放	105
	天麻素	天麻	肝损伤	5 dpf	改善脂质代谢,降低炎症因子水平,抑制氧化应激,抑制纤维化基因表达	100
	连翘酯苷 A	连翘	肝损伤	2 dpf	调节 ECM 重塑和 PI3K/Akt 介导的细胞凋亡	23
	连翘酯苷 A (纳米载体)	连翘	肝纤维化	2 dpf	降低纤维化标志物水平,调节 NLRP3 介导的焦亡途径	70
甾体	沙蟾毒精	蟾酥	肝细胞癌	2~3 dpf	下调细胞迁移、信号转导因子水平,抑制未成熟血管系统的早期 HCC 进展;调节脂质动态平衡,抑制细胞凋亡和自噬,抑制 JAK/STAT3 信号通路,调节甘油磷脂代谢	106-107
多酚	1 β -羟基-沙蟾毒精	蟾酥	肝细胞癌	2 dpf	抑制 mTOR 信号通路而诱导线粒体凋亡	108
	2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷	何首乌	肝损伤	5 dpf	改善脂质代谢,调节 IKK β /NF- κ B、Keap1/Nrf2 通路抑制炎症和氧化应激	49
	姜黄素	姜黄	肝损伤	3~4 dpf	调节谷胱甘肽代谢相关基因表达,促进谷胱甘肽合成;调节脂肪酸合成、抗氧化及能量代谢;调节 Keap1/Nrf2 信号通路,	109-110
多糖	茯苓多糖	茯苓	肝损伤	5 dpf	逆转肝脏脂肪变性,改善肠上皮细胞形态,减轻肠道刺激	41
	灵芝粗多糖	灵芝	肝纤维化	4~5 mpf	下调肝纤维化标志基因表达,调节脂质代谢,减少氧化应激及炎症反应	111
香豆素	白花蛇舌草多糖	白花蛇舌草	肝损伤	3 dpf	改善肝细胞核及线粒体形态结构	25
	蟛蜞菊内酯	墨旱莲	肝损伤	3 dpf	降低 AST、TG 水平,下调类固醇合成和脂肪酸延长的基因表达	112
生物碱	莲心季铵碱	莲心子	肝损伤	5 dpf	调节初级胆汁酸生物合成、核苷酸及谷胱甘肽代谢途径	38
没食子酸鞣质	柯里拉京	龙眼、叶下珠、藏余甘子	肝纤维化	2 dpf	降低纤维化标志物表达	66
酚酸	诃子酸	诃子	肝损伤	3 dpf	改善肝脏组织结构功能,减轻肝脏坏死,增加肝脏体积	113

MAPK-丝裂原活化蛋白激酶; TGF- β -转化生长因子- β ; TC-总胆固醇; TG-三酰甘油。MAPK-mitogen-activated protein kinase; TGF- β -transforming growth factor- β ; TC-total cholesterol; TG-triglycerides.

2.2 中药单味药在斑马鱼肝脏疾病研究中的应用

单味药研究保留了中药整体性与多组分协同的特色，符合中医“药性理论”的整体调节原则，在斑马鱼肝脏疾病模型中展现出独特药理价值。通过醇提、水提等传统工艺制备的单味药提取物，保留了原药材“性味归经”的特征，本文按中药功

效分类列举了清热解毒类、活血化瘀类和补益类中药在斑马鱼肝脏疾病模型中的干预效应(表 5)。单味药研究体系克服了单一成分分析的局限性，同时降低了复方多组分相互作用的复杂性，延续了中医辨证施治的理念，为单味药的标准化研究奠定了基础。

表 5 中药单味药对斑马鱼肝脏疾病模型的干预
Table 5 Intervention of single traditional Chinese medicines on zebrafish liver disease models

分类	中药	提取形式	疾病	斑马鱼发育阶段	作用机制	文献
清热解毒药	白花蛇舌草	醇提物	肝损伤	3 dpf	降低 ALT、AST 水平，抑制氧化应激，调节 PI3K-Akt 通路	18
	荔枝草	醇提物	肝损伤	成鱼	调控脂质代谢相关基因，抑制炎症和氧化应激，促进 Nrf2 入核，下调调亡蛋白 Bcl-2、促炎因子 NF-κB 水平	42
	连翘	配方颗粒、饮片水提物冻干粉	肝细胞癌	2 dpf	抑制 Hep3B 细胞增殖	114
	鸦胆子	醇提物冻干粉	肝纤维化	3 dpf	减轻肝脏结构紊乱和胶原纤维形成	115
活血化瘀药	珍珠梅	水提物冻干粉	肝细胞癌	2 dpf	抑制 c-Met 和 VEGFR 激活，调控 c-Met 调亡途径（下调 Bax、Caspase-3、Caspase-9 蛋白表达）	116
	生、醋炙莪术	水煎液	肝损伤	3 dpf	减轻氧化应激，调节 TLR4/MyD88/NF-κB、Nrf2/HO-1 和 TGF-β/Smad3 信号通路	117-118
	白凤菜	水提物、醇提物	肝损伤	4 dpf、成鱼	改善脂质代谢水平，降低氧化应激，下调胆固醇代谢相关基因	119-120
补益药	人参	发酵液	肝损伤	4 dpf	降低氧化应激，降低 TC、TG 水平，上调 PI3K、Akt、Bcl-2 水平	121
	牛大力	水提物冻干粉	肝纤维化	3 mpf	降低纤维化基因 Col I、α-SMA 水平、降低 TNF-α、Bax 表达	122
	甘草	水提物干燥浸膏	肝损伤	3 dpf	降低神经丘周围免疫细胞个数，调节 FXR/SHP 通路	104

Bcl-2-B 细胞淋巴瘤-2; Bax-Bcl-2 关联 X 蛋白; Caspase-半胱天冬蛋白酶。
Bcl-2-B-cell lymphoma-2; Bax-Bcl-2-associated X protein; Caspase-cysteine-aspartic protease.

清热解毒药中，白花蛇舌草醇提物通过调控 PI3K/AKT 通路改善药物诱导的肝损伤^[18]；荔枝草醇提物在化学诱导的肝损伤中调控脂质代谢、氧化应激与炎症相关基因表达，并促进 Nrf2 入核^[42]；连翘和鸦胆子提取物则分别抑制肝癌细胞增殖和减轻肝纤维化^[114-115]。活血化瘀药如珍珠梅水提物通过调控细胞间质-上皮转化因子（cellular mesenchymal-epithelial transition factor, c-Met）调亡通路抑制肝细胞癌进展^[116]；生、醋炙莪术水煎液通过 TLR4/髓样分化初级反应蛋白 88（myeloid differentiation primary response 88, MyD88）/NF-κB、Nrf2/HO-1 及 TGF-β/母系抗基因突变 3（mothers against decapentaplegic homolog 3, Smad3）等多通

路改善急性肝损伤^[117-118]；白凤菜提取物可调节酒精诱导的肝损伤中脂代谢基因表达^[119-120]。补益药中，人参发酵液通过 PI3K/AKT 通路减轻酒精诱导的肝损伤^[121]；牛大力水提物和甘草水提物分别通过降低纤维化标志物和调节法尼醇 X 受体（farnesoid X receptor, FXR）/小异二聚体伴侣（small heterodimer partner, SHP）通路发挥肝脏保护作用^[104,122]。此外，甘草或其主要成分甘草次酸对何首乌或大黄素诱导的肝毒性有明显抑制作用^[104]。

2.3 中药配伍及复方在斑马鱼肝脏疾病研究中的应用

复方配伍作为中医“君、臣、佐、使”理论的核心实践形式，其整体药效评价在斑马鱼模型中展现

出显著优势。复方及配伍通过多成分、多靶点、多通路的整合调控实现系统性干预。基于斑马鱼模型探索了莪术-三棱药对、黄精复方制剂及芪归降脂方等在肝损伤防护与肝细胞癌治疗中的效应机制(表 6)。例如,莪术-三棱药对通过下调原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src (proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src, SRC)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1) 等基因表达抑制肝细胞癌进展^[123];黄精复方制剂(黄精、枸杞、白菊花、熟地黄)在糖尿病合并

肝损伤中通过 AMPK/去乙酰化酶 (sirtuin, Sirt) 通路改善氧化应激与炎症,并抑制 NLRP3/Caspase-1 焦亡途径^[124];芪归降脂方(含生黄芪、制白术等)可调节脂质代谢并改善血管状态和巨噬细胞浸润^[125]。在酒精诱导的肝损伤中,茯苓-山药-豆乳及茯苓-葛根-枳椇子均能改善肝脏形态与发育异常^[126-127];地五养肝胶囊(含熟地、茵陈等)可减轻化学诱导的肝损伤中的肝脏变性与脂质沉积^[128]。这些复方虽组方各异,但均以多靶点整合调控为共同策略,有效改善肝损伤并抑制肝细胞癌进展。

表 6 中药复方对斑马鱼肝脏疾病模型的干预

Table 6 Intervention of traditional Chinese medicine compound prescriptions on zebrafish liver disease models					
中药	组方	疾病	斑马鱼发育阶段	作用机制	文献
莪术-三棱	莪术、三棱	肝细胞癌	3 dpf	下调 SRC、EGFR、ESR1、PTGS2 和 APP 的表达	123
黄精复方制剂	黄精、枸杞、白菊花、熟地黄	糖尿病合并肝损伤	4~6 mpf	抑制炎症与氧化应激,抑制细胞凋亡(降低 NLRP3、Caspase-1 表达),上调 AMPK/Sirt 信号通路	124
芪归降脂方	生黄芪、制白术、泽泻、生山楂、肉桂、陈皮、绞股蓝、决明子	肝损伤	5 dpf	改善脂质代谢,改善血流速度和眼血管壁厚度,减少巨噬细胞数量	125
茯苓山药联合豆乳	茯苓、山药、豆乳	肝损伤	3 dpf	改善肝肿大、变性及卵黄囊吸收延迟状态	126
茯苓-葛根-枳椇子	茯苓、葛根、枳椇子	肝损伤	3 dpf	改善肝肿大、肝脏变性、运动距离提升,改善卵黄囊吸收延迟	127
地五养肝胶囊	熟地、茵陈、姜黄、五味子、甘草	肝损伤	5 hpf	增大肝脏面积、改善肝脏变性,减少脂质沉积	128

PTGS2-前列腺素内过氧化物合酶 2; APP-β-淀粉样前体蛋白。
PTGS2-prostaglandin-endoperoxide synthase 2; APP-amyloid β precursor protein.

3 结语与展望

斑马鱼凭借体积较小、发育周期短、体外受精、幼体通体透明、单次产卵量高及实验药物用量低等核心特性,且与人类基因组具有较高同源性,已发展为药物活性筛选、毒性测试及基因功能研究领域的重要模式生物^[78]。在药物高通量筛选应用中,斑马鱼表现出对药物反应高度预测性和实验结果的良好可比性。其胚胎发育迅速,48~72 hpf 内即可完成主要器官的发育,凭借其每周可产卵 200~300 枚的高繁殖能力,使其能在短时间内为大规模实验提供充足样本量,从而为高通量药物筛选构建了理想实验平台。此外,斑马鱼胚胎的光学透明特性,使其成为实时活体成像的优质模型;将该特性与自动化成像技术、高通量筛选优势相结合,可实现对

大量化合物样本药效作用与毒性特征的快速表型评估,进而在短时间内完成数千种化合物的多参数药效学评价,显著提升早期药物开发的筛选效率和可靠性。

在肝脏疾病研究领域,斑马鱼模型正得到日益广泛、深入和高效的应用。陈胜等^[129]利用 kras 转基因斑马鱼肝细胞癌诱导模型,系统评估了 32 种环境污染物对肝脏肿瘤的诱导效应,并成功建立了为期 7 d 的促肝细胞癌性化学品高通量筛选方法。此外,Qian 等^[130]通过化学诱导方法,构建了斑马鱼胆汁淤积性肝损伤模型,通过分析肝脏表型、胆汁流动抑制率以及胆汁酸分布等基础损伤特征,再进一步以 AST 水平、总胆汁酸 (total bile acids, TBA) 水平及单位胆管内胆汁酸节点数量为核心变

量,构建了列线图预测模型,最终建立了化合物胆汁淤积风险的高效预测体系。同时,Zhang 等^[13]开发了一种肝靶向一氧化氮(nitric oxide, NO)荧光探针,成功实现斑马鱼活体内肝脏 NO 的原位实时动态成像,为阐明 NO 在肝脏疾病发生与发展中的调控作用提供了关键技术支撑。上述研究表明,斑马鱼在肝脏疾病研究中的应用已逐步向广度拓展(覆盖肿瘤、胆汁淤积等多类疾病)、并从早期的表型评估逐渐深入到分子水平的机制探索。同时,在技术层面上也呈现出高效化趋势,使得斑马鱼在药物筛选、毒性风险评估及疾病机制解析等多个方面,逐渐成为一类多元化且高效的重要实验工具。

本文系统综述了斑马鱼肝损伤、肝纤维化及肝细胞癌模型的构建策略。在肝损伤模型中,通过药物、酒精、高脂饮食等方式诱导,可成功模拟人类肝病中的关键病理特征,包括肝细胞坏死、脂质蓄积及炎症反应等。在肝纤维化模型中,斑马鱼模型能再现 HSC 活化、ECM 过度沉积、胆管结构异常等核心病理过程;同样,在肝细胞癌模型构建中,

斑马鱼模型通过多种策略模拟人类 HCC 核心特征:化学诱导模型呈现腹水与肝内结节;基因编辑模型可模拟肝细胞异常增殖及癌变进程;而异种移植模型可用于研究肿瘤的转移性与异质性。斑马鱼模型通过多病理覆盖(损伤-纤维化-癌变)、多技术融合(基因编辑/活体成像/异种移植)、多维度解析(细胞-微环境-系统互作),已成为肝病研究中不可替代的平台。

在中药干预斑马鱼肝脏疾病的研究中,本文列举了 29 种单体或有效部位成分(如黄酮类、萜类、苷类等,图 1)、10 种单味药(如清热解毒药、活血化瘀药与补益药)以及 6 类复方及配伍组分,并系统总结了其肝保护机制(图 2)。值得注意的是,杨宇婷等^[60]以“相反相成”配伍为指导,将补阳药补骨脂分别与何首乌、熟地黄、五味子等补阴药配伍,发现此类配伍可显著减轻补骨脂所致肝毒性。此外,何首乌具有的肝毒性,在与补骨脂配伍后相互制约实现了减毒存效,体现了中药配伍“增效减毒”的核心价值。目前,中药配伍及复方机制研究仍相

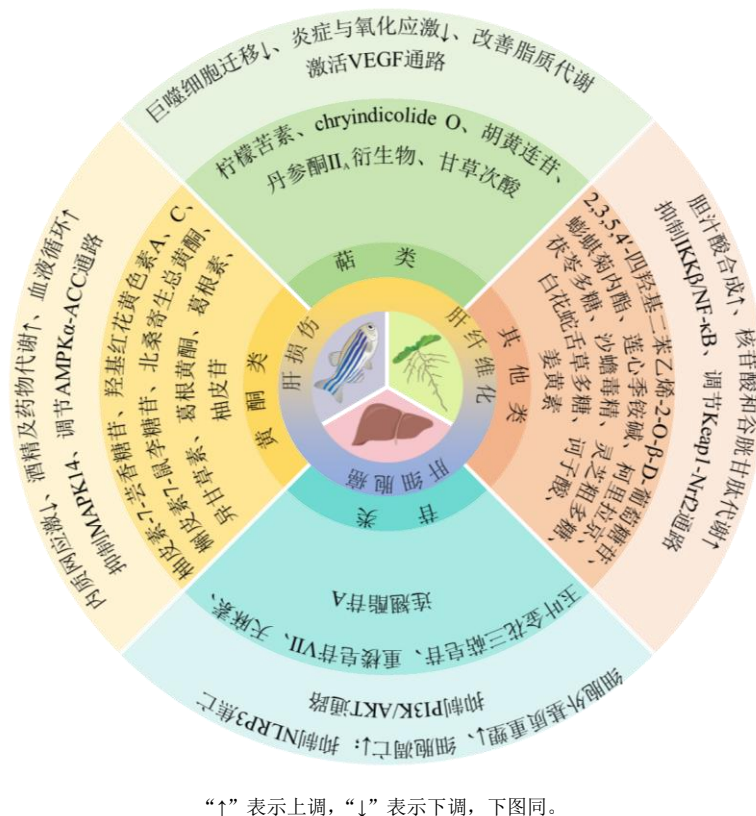


图 1 中药单体及有效部位对斑马鱼肝脏疾病模型的干预机制

Fig. 1 Mechanisms of intervention of monomers and effective components in traditional Chinese medicine on zebrafish liver disease models

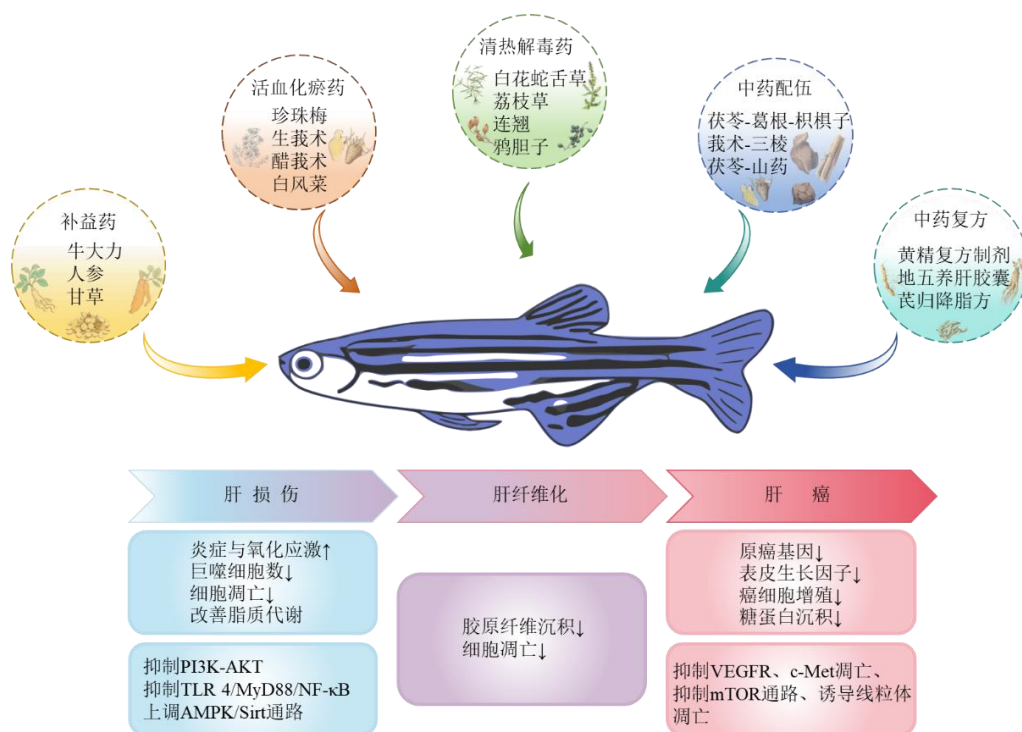


图 2 中药单味药及其复方对斑马鱼肝脏疾病模型的干预机制

Fig. 2 Mechanism of intervention of single traditional Chinese medicine and their compound prescriptions on zebrafish liver disease models

对薄弱, 未来可进一步利用斑马鱼模型, 结合组学技术, 从多靶点、多通路角度系统解析单味药、药对及复方在肝病中的协同调控网络, 并通过追踪活性成分在体内的分布与靶器官作用动态, 确立其药效物质基础, 从而为中药现代化研究提供新视角。

未来斑马鱼研究发展可将 AI 与大数据深度融合, 训练更先进的深度学习模型, 整合多组学数据 (如基因组、转录组、蛋白质组), 构建更全面的基因型-表型数据库。还可利用斑马鱼高通量筛选平台产生的大数据, 训练 AI 模型预测中药复方的协同效应与优化配伍, 推动中药智能组方。此外, 可建立斑马鱼中药筛选标准化操作规程, 涵盖模型构建、给药方式、评价指标等, 促进研究结果的可靠性与可比性, 并推动斑马鱼研究数据格式与共享平台的标准化, 便于数据整合与再分析。通过 AI 深度融入、更准确的数据预测以及标准化建设等的联用, 斑马鱼高通量筛选平台将在中药现代化、创新药物发现中发挥更为关键的作用, 助力突破中药“说不清、讲不明”的瓶颈, 加速精准药物的研发进程。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Devarbhavi H, Asrani S K, Arab J P, *et al.* Global burden

of liver disease: 2023 update [J]. *J Hepatol*, 2023, 79(2): 516-537.

- [2] Younossi Z M, Golabi P, Paik J M, *et al.* The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): A systematic review [J]. *Hepatology*, 2023, 77(4): 1335-1347.
- [3] Julien J, Ayer T, Bethea E D, *et al.* Projected prevalence and mortality associated with alcohol-related liver disease in the USA, 2019-40: A modelling study [J]. *Lancet Public Health*, 2020, 5(6): e316-e323.
- [4] Hirode G, Saab S, Wong R J. Trends in the burden of chronic liver disease among hospitalized US adults [J]. *JAMA Netw Open*, 2020, 3(4): e201997.
- [5] Ndugga N, Lightbourne T G, Javaherian K, *et al.* Disparities between research attention and burden in liver diseases: Implications on uneven advances in pharmacological therapies in Europe and the USA [J]. *BMJ Open*, 2017, 7(3): e013620.
- [6] Liu Y, Fan Y, Liu J, *et al.* Application and mechanism of Chinese herb medicine in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1499602.
- [7] Wu Y, Li W, Zhang J, *et al.* Shaoyao-Gancao Decoction, a famous Chinese medicine formula, protects against APAP-induced liver injury by promoting autophagy/mitophagy [J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 156053.

- [8] Xiao K, Li H, Li Y, *et al.* Protective effects and mechanism of Sangyu granule on acetaminophen-induced liver injury in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 331: 118282.
- [9] Oprea A M, Ryan F, Richmond C, *et al.* Drug screening in zebrafish larvae reveals inflammation-related modulators of secondary damage after spinal cord injury in mice [J]. *Theranostics*, 2023, 13(8): 2531-2551.
- [10] Erofeeva N, de Abreu M S, Cui J H, *et al.* Developing zebrafish models for the study of Wnt-related central nervous system pathologies [J]. *Neuroscience*, 2025, 579: 239-249.
- [11] MacRae C A, Peterson R T. Zebrafish as tools for drug discovery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14(10): 721-731.
- [12] 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.
- [13] Yao Y L, Lin J X, Yang P, *et al.* Fine structure, enzyme histochemistry, and immunohistochemistry of liver in zebrafish [J]. *Anat Rec*, 2012, 295(4): 567-576.
- [14] Zhou C Y, Lai Y L, Huang P, *et al.* Naringin attenuates alcoholic liver injury by reducing lipid accumulation and oxidative stress [J]. *Life Sci*, 2019, 216: 305-312.
- [15] Baranasic D, Hörtenhuber M, Balwiercz P J, *et al.* Multiomic atlas with functional stratification and developmental dynamics of zebrafish *Cis*-regulatory elements [J]. *Nat Genet*, 2022, 54(7): 1037-1050.
- [16] Grinberg L, Dabbah Assadi F, Baum G, *et al.* Beneficial effect of vitamin D on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) progression in the zebrafish model [J]. *Nutrients*, 2023, 15(6): 1362.
- [17] Gan C, Yuan Y, Shen H Y, *et al.* Liver diseases: Epidemiology, causes, trends and predictions [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2025, 10(1): 33.
- [18] Wang X, Zhao J, Zhang R, *et al.* Protective effect of *Hedyotis diffusa* Willd. ethanol extract on isoniazid-induced liver injury in the zebrafish model [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2022, 16: 1995-2015.
- [19] Garcia-Cortes M, Robles-Diaz M, Stephens C, *et al.* Drug induced liver injury: An update [J]. *Arch Toxicol*, 2020, 94(10): 3381-3407.
- [20] Chen Y J, Song W Y, Ge W, *et al.* Metabolic competency of larval zebrafish in drug-induced liver injury: A case study of acetaminophen poisoning [J]. *Toxicol Sci*, 2022, 189(2): 175-185.
- [21] Shehu A I, Ma X C, Venkataramanan R. Mechanisms of drug-induced hepatotoxicity [J]. *Clin Liver Dis*, 2017, 21(1): 35-54.
- [22] Zhu Z H, Zhang Y, Li J, *et al.* Mass spectrometry imaging-based metabolomics highlights spatial metabolic alterations in three types of liver injuries [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2024, 242: 116030.
- [23] Gong L H, Zhou H L, Wang C, *et al.* Hepatoprotective effect of forsythiaside against acetaminophen-induced liver injury in zebrafish: Coupling network pharmacology with biochemical pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 271: 113890.
- [24] Gabbi C, Bertolotti M. Drug-induced liver injury - types and phenotypes [J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(14): 1395-1396.
- [25] 庄秀萍, 李莉, 陈超, 等. 白花蛇舌草多糖对异烟肼致肝损伤的影响及机制 [J]. *中国药房*, 2024, 35(6): 665-670.
- [26] Zhang Y, Cen J, Jia Z L, *et al.* Hepatotoxicity induced by isoniazid-lipopolysaccharide through endoplasmic reticulum stress, autophagy, and apoptosis pathways in zebrafish [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(5): e01639-18.
- [27] Zhuang X P, Li L, Liu T Y, *et al.* Mechanisms of isoniazid and rifampicin-induced liver injury and the effects of natural medicinal ingredients: A review [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1037814.
- [28] 钟雅韵, 李滨, 曹永娜, 等. 基于斑马鱼模型的多肽 LLTRAGL 抗异烟肼致肝损伤活性评价及其机制研究 [J]. *中国抗生素杂志*, 2025, 50(1): 99-111.
- [29] Wakai E R, Shiromizu T, Otaki S, *et al.* Lansoprazole ameliorates isoniazid-induced liver injury [J]. *Pharmaceuticals*, 2024, 17(1): 82.
- [30] Jia Z L, Cen J, Wang J B, *et al.* Mechanism of isoniazid-induced hepatotoxicity in zebrafish larvae: Activation of ROS-mediated ERS, apoptosis and the Nrf2 pathway [J]. *Chemosphere*, 2019, 227: 541-550.
- [31] Zhang Y, Han L W, He Q X, *et al.* A rapid assessment for predicting drug-induced hepatotoxicity using zebrafish [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2017, 84: 102-110.
- [32] Raghu Kannan S, Latha Laxmi I P, Ahmad S F, *et al.* Embryonic ethanol exposure induces oxidative stress and inflammation in zebrafish model: A dose-dependent study [J]. *Toxicology*, 2024, 506: 153876.
- [33] Park K H, Makki H M M, Kim S H, *et al.* Narirutin ameliorates alcohol-induced liver injury by targeting MAPK14 in zebrafish larvae [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 166: 115350.
- [34] Zhao X T, Gong L H, Wang C, *et al.* Quercetin mitigates ethanol-induced hepatic steatosis in zebrafish via P2X7R-mediated PI3K/Keap1/Nrf2 signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 268: 113569.
- [35] Li Q, Pei R H, Chen E B, *et al.* Efficacy of *Jiuzao* polysaccharides in ameliorating alcoholic fatty liver disease and modulating gut microbiota [J]. *Heliyon*, 2024, 10(4): e26167.
- [36] Huang S, Zhou C Y, Zeng T, *et al.* *P*-hydroxyacetophenone

- ameliorates alcohol-induced steatosis and oxidative stress via the NF- κ B signaling pathway in zebrafish and hepatocytes [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 10: 1594.
- [37] Liu Y S, Yuan M H, Zhang C Y, *et al.* Puerariae Lobatae Radix flavonoids and puerarin alleviate alcoholic liver injury in zebrafish by regulating alcohol and lipid metabolism [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 134: 111121.
- [38] Xu J Y, Zhang X Y, Yan L L, *et al.* Insight into lotusine and puerarin in repairing alcohol-induced metabolic disorder based on UPLC-MS/MS [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(18): 10385.
- [39] Li Q, Wu L L, Wang G N, *et al.* Inhibitory effects of Jiuzao polysaccharides on alcoholic fatty liver formation in zebrafish larvae and their regulatory impact on intestinal microbiota [J]. *Foods*, 2024, 13(2): 276.
- [40] Li Y J, Yang M H, Lin H Y, *et al.* Limonin alleviates non-alcoholic fatty liver disease by reducing lipid accumulation, suppressing inflammation and oxidative stress [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12: 801730.
- [41] Ye H X, Ma S Y, Qiu Z T, *et al.* Poria cocos polysaccharides rescue pyroptosis-driven gut vascular barrier disruption in order to alleviates non-alcoholic steatohepatitis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 296: 115457.
- [42] Xiong G H, Deng Y Y, Cao Z G, *et al.* The hepatoprotective effects of *Salvia plebeia* R. Br. extract in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2019, 95: 399-410.
- [43] Romero-Gómez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise [J]. *J Hepatol*, 2017, 67(4): 829-846.
- [44] Zou Y Y, Chen Z L, Sun C C, *et al.* Exercise intervention mitigates pathological liver changes in NAFLD zebrafish by activating SIRT1/AMPK/NRF2 signaling [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(20): 10940.
- [45] Zou Y Y, Tang X B, Chen Z L, *et al.* Exercise intervention improves mitochondrial quality in non-alcoholic fatty liver disease zebrafish [J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14: 1162485.
- [46] Li X, Zhou L, Zheng Y Y, *et al.* Establishment of a non-alcoholic fatty liver disease model by high fat diet in adult zebrafish [J]. *Animal Model Exp Med*, 2024, 7(6): 904-913.
- [47] Yu L Y, Gong L H, Wang C, *et al.* Radix polygoni multiflori and its main component emodin attenuate non-alcoholic fatty liver disease in zebrafish by regulation of AMPK signaling pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 1493-1506.
- [48] Park K H, Ye Z W, Zhang J, *et al.* Palmitic acid-enriched diet induces hepatic steatosis and injury in adult zebrafish [J]. *Zebrafish*, 2019, 16(6): 497-504.
- [49] Wang C, Hu N H, Yu L Y, *et al.* 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside attenuates hepatic steatosis via IKK β /NF- κ B and Keap1-Nrf2 pathways in larval zebrafish [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110138.
- [50] An J, Cheng L J, Yang L P, *et al.* P-hydroxybenzyl alcohol alleviates oxidative stress in a nonalcoholic fatty liver disease larval zebrafish model and a BRL-3A hepatocyte via the Nrf2 pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 646239.
- [51] Jin Y, Kozan D, Young E D, *et al.* A high-cholesterol zebrafish diet promotes hypercholesterolemia and fasting-associated liver steatosis [J]. *J Lipid Res*, 2024, 65(10): 100637.
- [52] Ma J, Deng Y, Yang T T, *et al.* Esculetin alleviates nonalcoholic fatty liver disease on high-cholesterol-diet-induced larval zebrafish and FFA-induced BRL-3A hepatocyte [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1593.
- [53] Oka T, Nishimura Y, Zang L Q, *et al.* Diet-induced obesity in zebrafish shares common pathophysiological pathways with mammalian obesity [J]. *BMC Physiol*, 2010, 10: 21.
- [54] Wang Y Q, Bo J Q, Zhao Z H, *et al.* Depletion of Igfbp7 alleviates zebrafish NAFLD progression through inhibiting hepatic ferroptosis [J]. *Life Sci*, 2023, 332: 122086.
- [55] Xu H, Jiang Y, Miao X M, *et al.* A model construction of starvation induces hepatic steatosis and transcriptome analysis in zebrafish larvae [J]. *Biology*, 2021, 10(2): 92.
- [56] 范琦琦, 李芝奇, 陈美琳, 等. 基于斑马鱼模型的吴茱萸提取物肝毒性评价 [J]. 中草药, 2022, 53(6): 1768-1775.
- [57] 李芝奇, 陈美琳, 郭思敏, 等. 基于斑马鱼模型结合网络药理学探究重楼肝毒性机制 [J]. 世界中医药, 2023, 18(6): 739-747.
- [58] 郑海洋, 杨晓歌, 赵崇军, 等. 何首乌不同萃取部位对斑马鱼幼鱼的肝脏毒性观察 [J]. 山东医药, 2019, 59(12): 5-9.
- [59] 沃佳美雪, 徐晓敏, 贾素霞, 等. 整合 16S rRNA 测序技术和代谢组学探究白鲢皮对斑马鱼幼鱼的肝毒性机制 [J]. 中草药, 2025, 56(1): 177-190.
- [60] 杨宇婷, 陈亮亮, 杨娟娟, 等. 基于斑马鱼模型探究补骨脂配伍何首乌、熟地黄及五味子调控 Nrf2/HO-1 信号通路缓解补骨脂肝毒性的作用机制 [J]. 中药药理与临床, 2025, 41(12): 38-45.
- [61] 赵竟成, 李治建, 霍仕霞, 等. 基于斑马鱼模型的补骨脂不同炮制品水提物急性毒性及肝毒性差异比较 [J]. 中草药, 2024, 55(1): 101-113.
- [62] 郭胜亚, 朱晓宇, 廖文瀚, 等. 斑马鱼模型评价 5 种中药肝毒性 [J]. 实验动物科学, 2016, 33(5): 21-27.
- [63] North T E, Ramesh Babu I, Vedder L M, *et al.* PGE2-regulated Wnt signaling and N-acetylcysteine are synergistically hepatoprotective in zebrafish acetaminophen injury [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010,

- 107(40): 17315-17320.
- [64] Hammerich L, Tacke F. Hepatic inflammatory responses in liver fibrosis [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2023, 20(10): 633-646.
- [65] DeRossi C, Bambino K, Morrison J, et al. Mannose phosphate isomerase and mannose regulate hepatic stellate cell activation and fibrosis in zebrafish and humans [J]. *Hepatology*, 2019, 70(6): 2107-2122.
- [66] Wang Y H, Huang S, Kong W, et al. Corilagin alleviates liver fibrosis in zebrafish and mice by repressing IDO1-mediated M2 macrophage repolarization [J]. *Phytomedicine*, 2023, 119: 155016.
- [67] van der Helm D, Groenewoud A, de Jonge-Muller E S M, et al. Mesenchymal stromal cells prevent progression of liver fibrosis in a novel zebrafish embryo model [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 16005.
- [68] Huang S, Wang Y H, Xie S W, et al. Isoliquiritigenin alleviates liver fibrosis through caveolin-1-mediated hepatic stellate cells ferroptosis in zebrafish and mice [J]. *Phytomedicine*, 2022, 101: 154117.
- [69] Qin M C, Li J J, Zheng Y T, et al. Naringin ameliorates liver fibrosis in zebrafish by modulating IDO1-mediated lipid metabolism and inflammatory infiltration [J]. *Food Funct*, 2023, 14(23): 10347-10361.
- [70] Gong L H, Zhou H L, Zhang S L, et al. CD44-targeting drug delivery system of exosomes loading forsythiaside A combats liver fibrosis via regulating NLRP3-mediated pyroptosis [J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(11): e2202228.
- [71] Huang M B, Chang A, Choi M, et al. Antagonistic interaction between Wnt and Notch activity modulates the regenerative capacity of a zebrafish fibrotic liver model [J]. *Hepatology*, 2014, 60(5): 1753-1766.
- [72] Nakayama J, Gong Z Y. Transgenic zebrafish for modeling hepatocellular carcinoma [J]. *Med Comm*, 2020, 1(2): 140-156.
- [73] Morrison J K, DeRossi C, Alter I L, et al. Single-cell transcriptomics reveals conserved cell identities and fibrogenic phenotypes in zebrafish and human liver [J]. *Hepatol Commun*, 2022, 6(7): 1711-1724.
- [74] Huang M B, Xu J, Shin C H. Development of an ethanol-induced fibrotic liver model in zebrafish to study progenitor cell-mediated hepatocyte regeneration [J]. *J Vis Exp*, 2016(111): 54002.
- [75] Mokdad A A, Singal A G, Yopp A C. Treatment of liver cancer [J]. *Jama*, 2016, 315(1): 100.
- [76] Mizgirev I V, Revskoy S Y. Transplantable tumor lines generated in clonal zebrafish [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(6): 3120-3125.
- [77] Mizgirev I, Revskoy S. Generation of clonal zebrafish lines and transplantable hepatic tumors [J]. *Nat Protoc*, 2010, 5(3): 383-394.
- [78] 胡光, 李丹, 陈阳, 等. 二乙基亚硝胺诱导斑马鱼肝癌模型的探索与优化 [J]. 重庆理工大学学报, 2022, 36(4): 262-267.
- [79] Spitsbergen J M, Tsai H W, Reddy A, et al. Neoplasia in zebrafish (*Danio rerio*) treated with 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene by two exposure routes at different developmental stages [J]. *Toxicol Pathol*, 2000, 28(5): 705-715.
- [80] Spitsbergen J M, Tsai H W, Reddy A, et al. Neoplasia in zebrafish (*Danio rerio*) treated with *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine by three exposure routes at different developmental stages [J]. *Toxicol Pathol*, 2000, 28(5): 716-725.
- [81] Lu J W, Sun Y X, Lin L I, et al. Exacerbation of liver tumor metastasis in *twist1a+/*xmrk** double transgenic zebrafish following lipopolysaccharide or dextran sulphate sodium exposure [J]. *Pharmaceuticals*, 2021, 14(9): 867.
- [82] Helal M, Yan C, Gong Z Y. Stimulation of hepatocarcinogenesis by activated cholangiocytes via *Il17a/f1* pathway in *Kras* transgenic zebrafish model [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1372.
- [83] Chou Y T, Chen L Y, Tsai S L, et al. Ribose-5-phosphate isomerase A overexpression promotes liver cancer development in transgenic zebrafish via activation of ERK and β -catenin pathways [J]. *Carcinogenesis*, 2019, 40(3): 461-473.
- [84] Luo J J, Lu C J, Feng M L, et al. Cooperation between liver-specific mutations of *pten* and *tp53* genetically induces hepatocarcinogenesis in zebrafish [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 262.
- [85] Zhang C, Li Q R, Qin G Z, et al. Anti-angiogenesis and anti-metastasis effects of Polyphyllin VII on Hepatocellular carcinoma cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Chin Med*, 2021, 16(1): 41.
- [86] Huang C Y, Chang Y J, Wei P L, et al. Methyl gallate, Gallic acid-derived compound, inhibit cell proliferation through increasing ROS production and apoptosis in hepatocellular carcinoma cells [J]. *PLoS One*, 2021, 16(3): e0248521.
- [87] Huang D P, Yang B W, Yao Y Y, et al. Autophagic inhibition of caveolin-1 by compound *Phyllanthus urinaria* L. activates ubiquitination and proteasome degradation of β -catenin to suppress metastasis of hepatitis B-associated hepatocellular carcinoma [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 659325.
- [88] Leslie M. Fish could personalize cancer treatments [J]. *Science*, 2025, 387(6730): 122-123.
- [89] Tonon F, Farra R, Zennaro C, et al. Xenograft zebrafish models for the development of novel anti-hepatocellular carcinoma molecules [J]. *Pharmaceuticals*, 2021, 14(8):

- 803.
- [90] Carra S, Gaudenzi G, Dicitore A, *et al.* Modeling lung carcinoids with zebrafish tumor xenograft [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(15): 8126.
- [91] Fontana C M, Van Doan H. Zebrafish xenograft as a tool for the study of colorectal cancer: A review [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(1): 23.
- [92] Alberti G, Amico M D, Caruso Bavisotto C, *et al.* Speeding up glioblastoma cancer research: Highlighting the zebrafish xenograft model [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(10): 5394.
- [93] Yang Q Q, Salim L, Yan C, *et al.* Rapid analysis of effects of environmental toxicants on tumorigenesis and inflammation using a transgenic zebrafish model for liver cancer [J]. *Mar Biotechnol*, 2019, 21(3): 396-405.
- [94] Wang L W, Cui X Y, He J F, *et al.* Hydroxysafflor yellows alleviate thrombosis and acetaminophen-induced toxicity *in vivo* by enhancing blood circulation and poison excretion [J]. *Phytomedicine*, 2021, 87: 153579.
- [95] Zhao Y Q, Wang R, Li A Q, *et al.* Protective effect of hydroxysafflor yellow a on thioacetamide-induced liver injury and osteopenia in zebrafish [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2024, 492: 117109.
- [96] Yu H C, Bai Q R, Guo J J, *et al.* Elucidating hydroxysafflor yellow a's multi-target mechanisms against alcoholic liver disease through integrative pharmacology [J]. *Phytomedicine*, 2024, 134: 155956.
- [97] 邓丹丹, 赵博荣, 颜丽涵, 等. 北桑寄生总黄酮对硫代乙酰胺诱导斑马鱼急性肝损伤的保护作用 [J]. *中草药*, 2024, 55(13): 4434-4444.
- [98] Xu Z H, Dang Y, Chen X, *et al.* Quercetin 7-rhamnoside from *Sorbaria sorbifolia* exerts anti-hepatocellular carcinoma effect via DHRS13/apoptotic pathway [J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 156031.
- [99] Liu Y, Zhou F, Zhao H Y, *et al.* Dimeric guaianolide sesquiterpenoids from the flowers of *Chrysanthemum indicum* ameliorate hepatic steatosis through mitigating SIRT1-mediated lipid accumulation and ferroptosis [J]. *J Adv Res*, 2025, 76: 345-370.
- [100] Ahmad O, Wang B, Ma K J, *et al.* Lipid modulating anti-oxidant stress activity of gastrodin on nonalcoholic fatty liver disease larval zebrafish model [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(8): 1984.
- [101] Katoch S, Chhimwal J, Singh D, *et al.* Picrosides-rich fraction from *Picrorhiza kurroa* attenuates steatohepatitis in zebrafish and mice by modulating lipid metabolism and inflammation [J]. *Phytomedicine*, 2025, 137: 156368.
- [102] 黄晓婷. 靶向 G-四链体的丹参酮 II_A 衍生物的合成及其抗肝癌作用机制研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2020.
- [103] 张超, 黄喜燕, 李祥, 等. 重楼皂苷 VII 对肝癌的体内抗肿瘤作用及机制研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2022, 33(1): 7-13.
- [104] 赵晓然, 陈微, 高杰, 等. 基于模式生物斑马鱼的甘草对何首乌致特异质肝损伤的保护作用研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(5): 2491-2497.
- [105] 罗金荣, 巫凯, 张颖. 基于斑马鱼模型的玉叶金花三萜皂苷的肝保护作用研究 [J]. *大众科技*, 2023, 25(10): 70-73.
- [106] Deng L J, Zou L F, Zhou C H, *et al.* Arenobufagin suppresses the progression of early-stage hepatocellular carcinoma by inhibiting EpCAM-mediated tumor stemness [J]. *Acta Mater Med*, 2025, 4(1): 82-98.
- [107] Zhao L J, Zhao H Y, Wei X L, *et al.* The lipid homeostasis regulation study of arenobufagin in zebrafish HepG2 xenograft model and HepG2 cells using integrated lipidomics-proteomics approach [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 260: 112943.
- [108] Deng L J, Lei Y H, Quan J Y, *et al.* 1 β -OH-arenobufagin induces mitochondrial apoptosis in hepatocellular carcinoma through the suppression of mTOR signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 266: 113443.
- [109] Song L, Li M, Feng C, *et al.* Protective effect of curcumin on zebrafish liver under ethanol-induced oxidative stress [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2022, 258: 109360.
- [110] 孟瑞媛, 卯明彩, 宋晓, 等. 姜黄素对黄曲霉毒素 B1 诱导的斑马鱼肝损伤的修复作用 [J]. *农产品质量与安全*, 2023, 2: 33-39.
- [111] 卢圣玉. 灵芝粗多糖对斑马鱼肝纤维化的干预作用及机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2024.
- [112] Chen P P, Zhu Z H, Geng H Y, *et al.* Integrated spatial metabolomics and transcriptomics decipher the hepatoprotection mechanisms of wedelolactone and demethylwedelolactone on non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Pharm Anal*, 2024, 14(4): 100910.
- [113] Feng X H, Xu H Y, Wang J Y, *et al.* *In vivo* hepatoprotective activity and the underlying mechanism of chebulinic acid from *Terminalia chebula* fruit [J]. *Phytomedicine*, 2021, 83: 153479.
- [114] 郭新邓, 郭卓琳, 孙冬梅, 等. 连翘配方颗粒与饮片的抗炎、抗肿瘤和抑菌效果的比较研究 [J]. *南方医科大学学报*, 2024, 44(3): 594-604.
- [115] Yan D, Qiao L S, Huang W T, *et al.* Identification of the fruit of *Brucea javanica* as an anti-liver fibrosis agent working via SMAD2/SMAD3 and JAK1/STAT3 signaling pathways [J]. *J Pharm Anal*, 2025, 15(2): 101047.
- [116] Xu Z H, Dang Y, Dong Y, *et al.* Anti-hepatocellular carcinoma activity of *Sorbaria sorbifolia* by regulating VEGFR and c-Met/apoptotic pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 324: 117758.
- [117] Gao T H, Lin L T, Yang Q S, *et al.* The raw and vinegar-processed *Curcuma phaeocaulis* Val. ameliorate TAA-

- induced zebrafish liver injury by inhibiting TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 319(Pt 2): 117246.
- [118] 林丽婷, 王继森, 高天慧, 等. 蓬莪术醋制前后改善斑马鱼急性肝损伤的作用机制研究 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2611-2619.
- [119] 陈灿滨. 酒精性脂肪肝斑马鱼模型的建立及白凤菜保肝护肝作用研究 [D]. 漳州: 闽南师范大学, 2016.
- [120] 陈灿滨, 陈志亮, 薛钰, 等. 白凤菜醇提物对斑马鱼酒精性脂肪肝损伤的修复 [J]. 牡丹江师范学院学报, 2016(1): 53-56.
- [121] Wu Y X, Liu S H, Ren T, *et al.* Ginseng fermentation solution affects the gut microbiota in zebrafish with alcoholic liver disease via PI3K/Akt pathway [J]. *Phytomedicine*, 2024, 128: 155495.
- [122] 周楚莹, 赖裕玲, 谢凌鹏, 等. 牛大力水提物对斑马鱼药物性肝纤维化损伤的保护作用 [J]. 新中医, 2018, 50(12): 12-16.
- [123] Wei J, Wang X P, Dong Y, *et al.* *Curcumae Rhizoma* - combined with *Sparganii Rhizoma* in the treatment of liver cancer: Chemical analysis using UPLC-LTQ-Orbitrap MSⁿ, network analysis, and experimental assessment [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1027687.
- [124] 王洁琼, 孟丽媛, 杨洪飞, 等. 基于斑马鱼糖尿病合并肝损伤模型评价黄精复方制剂作用及其机制 [J]. 湖北科技学院学报, 2024, 38(5): 389-393.
- [125] Zhang L L, Zheng Y, Shao M Y, *et al.* AlphaFold-based AI docking reveals AMPK/SIRT1-TFEB pathway modulation by traditional Chinese medicine in metabolic-associated fatty liver disease [J]. *Pharmacol Res*, 2025, 212: 107617.
- [126] 南新梅, 冯昊天, 李亚兰, 等. 茯苓山药联合豆乳对斑马鱼酒精性肝病的防护作用 [J]. 现代中医药, 2024, 44(3): 111-115.
- [127] 崔佳琦, 彭桂英, 冯昊天, 等. 茯苓-葛根-枳椇子混合药粉对斑马鱼解酒保肝作用研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2022, 36(6): 24-28.
- [128] 黄丹萍, 袁伟渠, 黎少东, 等. 地五养肝胶囊对二乙基亚硝胺诱导斑马鱼肝损伤的保护作用 [J]. 中成药, 2018, 40(7): 1468-1472.
- [129] 陈胜. 基于 *kras* 转基因斑马鱼的促肝癌性环境污染物高通量筛选及作用机制研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- [130] Qian S T, Chen L M, He M F, *et al.* Zebrafish larvae as a predictive model for the risk of chemical-induced cholestasis: Phenotypic evaluation and nomogram formation [J]. *Chem Res Toxicol*, 2024, 37(12): 1976-1988.
- [131] Zhang P S, Tian Y, Liu H, *et al.* *In vivo* imaging of hepatocellular nitric oxide using a hepatocyte-targeting fluorescent sensor [J]. *Chem Commun*, 2018, 54(52): 7231-7234.

[责任编辑 潘明佳]