王成,胡乃华,余琳媛,等. 降脂模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(4): 121-130.

Wang C, Hu NH, Yu LY, et al. Progress in lipid-lowering model research [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(4): 121-130.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.04.019

降脂模型研究进展

王成,胡乃华,余琳媛,龚莉虹,代旭阳,李芸霞*

(成都中医药大学药学院,教育部中药材标准化重点实验室,中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地,成都 611137)

【摘要】 高脂血症是一种脂质代谢紊乱性疾病,也是导致冠心病、脑梗死、动脉粥样硬化等心脑血管疾病的首要因素,已成为危害全人类身体健康的“第一杀手”。目前,研发高效低毒的新靶点降脂中药对改善高脂血症及其继发的心脑血管性疾病至关重要。但是,由于我国中药成分的复杂性和配伍的多样性,依靠单一的降脂模型很难对发挥疗效的有效成分和具体的降脂机制进行深层次的研究。因此,建立一个理想的高脂模型是筛选降脂中药和研究高脂血症中医发病机理的关键因素之一。本文从细胞模型、哺乳动物模型和斑马鱼模型三个方面对目前几种最常用的降脂模型进行了综述,总结归纳了各种模型的常用造模方法及各自的优缺点,以期为复制高脂血症的模型选择、高脂血症的机制研究以及筛选高效降脂中药提供参考和实验依据。

【关键词】 高脂血症;研究进展;细胞模型;哺乳动物模型;斑马鱼模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 04-0121-10

Progress in lipid-lowering model research

WANG Cheng, HU Naihua, YU Linyuan, GONG Lihong, DAI Xuyang, LI Yunxia*

(Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources Co-Founded by Sichuan Province and Ministry of Science and Technology, Chengdu 611137, China)

【Abstract】 Hyperlipidemia is a type of disease involving lipid metabolism disorders. It is also the leading cause of cardiovascular and cerebrovascular diseases, such as coronary heart disease, cerebral infarction and atherosclerosis, which have become one of the most harmful chronic diseases to human health in the world. At present, the development of new, high-efficiency and low-toxicity target, lipid-lowering, hypolipidemic, traditional Chinese medicines is essential for improving hyperlipidemia and its secondary cardiovascular and cerebrovascular diseases. However, because of the complexity and compatibility of traditional Chinese medicine ingredients, it is difficult to conduct in-depth research on the effective components of the therapeutic effect and the specific lipid-lowering mechanism by relying on a single lipid-lowering model. Therefore, the establishment of an ideal high-fat model is a key factor in screening lipid-lowering Chinese medicines and studying the pathogenesis of hyperlipidemia. In this paper, several of the most commonly used lipid-lowering models were reviewed from three aspects: cell models, mammalian models and zebrafish models, and the common modeling method of various models and their respective advantages and disadvantages were summarized. As a result, this work provides references and an experimental basis for selecting reproducible hyperlipidemia models for hyperlipidemia mechanism research and screening of effective lipid-lowering traditional Chinese medicines.

【Keywords】 hyperlipidemia; research progress; cell model; mammalian model; zebrafish model

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(8137394381, 573583);四川省科技厅省青年科技创新研究团队专项(2017TD0001, 2016TD007)。

【作者简介】 王成(1995—),男,硕士研究生,主要从事中药毒效物质基础及其作用研究。E-mail: 723443418@qq.com

【通信作者】 李芸霞(1979—),女,博士,教授,博士生导师,主要从事中药安全性及有效性研究。E-mail: lyxcdutcm@126.com

随着全球人民生活水平的提高和饮食习惯的改变,高脂血症(hyperlipidemia, HLP)已逐渐成为严重危害全人类身体健康的“第一杀手”,且发病率呈逐年上升趋势^[1]。目前, HLP 及其并发症占据了全球死亡率的 50%^[2]。在中医古籍中,虽然没有对“高脂血症”这病症的明确记载,但早在秦汉时期的《黄帝内经》中已有“脂者”、“油脂”、“脂膜”等关于脂的相关论述,且还用“膏人”、“肥人”等词来形容血浆脂质过高的人^[3]。古代中医认为, HLP 发生的原因是五脏六腑的气化、运输、疏泄、宣发等生理功能失调,致使体内津液集聚,痰湿化生,流注经脉,渗入血中^[4]。在现代医药领域, HLP 又称为脂质代谢紊乱,是血液中任何或所有血脂和/或脂蛋白水平异常升高,是一种最常见的血脂异常形式。有研究表明, HLP 是导致脂肪肝、动脉粥样硬化、冠心病、糖尿病、脑梗死等多种疾病的首要病因^[5]。

相比于降脂作用快速确切的西药,我国传统中药治疗 HLP 有着独特的优势和广阔的发展前景。据不完全统计,目前已知的具有降血脂功效的中草药有 100 多种,中医临床上用于治疗 HLP 的中成药有 200 余种^[6],由此可见,运用我国中医药理论对改善和治疗 HLP 有着广阔的前景。但是,因降脂单味中药、复方和中成药等具有分类庞杂、种类繁多和成分复杂的特点,依靠单一的降脂模型和研究技术很难对发挥作用的有效化学成分及具体降血脂的机制进行全方面、深层次的研究。HLP 的预防和治疗已成为亟待解决的难题之一,高脂模型对于脂代谢性疾病以及 HLP 继发的心脑血管性疾病的研究具有重大意义^[7]。因此,建立一个完美的、理想的高脂模型是筛选降脂中药和研究 HLP 中医发病机理的关键因素之一。目前国内外已建立了多种高脂模型,主要分为高脂细胞模型、高脂哺乳动物模型和高脂斑马鱼模型三种。本文就针对当今常用的三种高脂模型进行归纳总结,为今后进一步探索 HLP 的发病机制和筛选有效的降脂中药提供一定的选择依据。

1 高脂细胞模型

1.1 HepG2 细胞模型

人源性肝癌细胞系(human hepatocellular liver carcinoma cell line, HepG2)因其具有生长周期短、高分化性、分化稳定性和长生不老性等特点,被广泛应用于抗氧化、降脂保肝、抗肝癌和抗脂肪变性等

研究^[8]。又因其保留了完整的与人类生物代谢相关的酶,可以正常表达与脂质代谢相关的 mRNA 转录水平及蛋白水平,目前也被广泛用来评价中药的降脂活性。

郝正亮等^[9]利用 1.0×10^{-5} mol/L 的磷酸三苯酯(triphenyl phosphate, TPP)诱导 HepG2 细胞, TPP 作用于 HepG2 细胞 24 h 后用脂质分析试剂盒和油红 O 脂肪染色对其进行验证。结果显示,经 TPP 作用后,显著升高甘油三酯(triglyceride, TG)的含量,增加细胞中脂滴的堆积面积,成功诱导高脂 HepG2 细胞模型。还有研究表明^[10],氧化性低密度脂蛋白(oxidation low density lipoprotein, Ox-LDL)可以通过升高载脂蛋白 AI(apolipoprotein AI, apoAI)和降低载脂蛋白 B(apolipoprotein B, apoB)的表达而快速使 HepG2 细胞在 48 h 建立起高胆固醇模型,与正常组相比,模型组细胞内的裂解总胆固醇(total cholesterol, TC)、裂解游离胆固醇(free cholesterol, FC)、上清 TC 和上清 FC 均有显著性差异,表明成功建立高胆固醇 HepG2 细胞模型。此外,李玉平等^[11]对 Ox-LDL 诱导的高胆固醇 HepG2 细胞模型的最佳浓度和最佳诱导时间进行了摸索。结果表明,50 mg/mL 的 Ox-LDL 诱导 HepG2 细胞 48 h 是造高胆固醇模型的最佳条件。但是,由于 Ox-LDL 毒性较大,容易对细胞造成凋亡等不可逆转的损伤^[12],目前人们更多的选择游离脂肪酸中含量最多的油酸来诱导 HepG2 细胞脂肪堆积模型。在油酸的干预下, HepG2 细胞中 SREBP-1c 过度表达, p-AMPK 蛋白受到抑制,致使细胞内 TC 和 TG 显著性增加^[13],成功建立 HepG2 细胞脂肪堆积模型。

1.2 L02 细胞模型

因 HepG2 细胞来源于人肝胚胎肿瘤细胞,与正常人肝细胞有一定的差异,将其用于建立降脂中药筛选模型存在较大的分歧。与此同时,另一传代株人正常肝细胞进入人们的视野。L02 细胞是一种来自于正常人胚胎肝组织且能够贴壁生长的一种细胞,能完全模拟人类脂质代谢过程。因此,用其复制的高脂细胞模型较 HepG2 细胞更具可行性和说服力。

殷锦锦等^[14]探讨使用游离脂肪酸(free fatty acids, FFA, 棕榈酸和油酸混合物)来建立 L02 细胞脂肪变性模型。方法是往 1640 培养基中添加 FFA 共同培养 L02 细胞 24 h,后采用油红 O 染色对细胞内脂滴形态进行观察,同时检测 TG、丙二醛

(malondialdehyde, MDA) 以及细胞凋亡率来鉴定模型是否成功。结果显示,高脂模型组细胞内有大量脂滴形成, TG 显著性升高, MDA 含量和细胞凋亡率均没有明显增高, 成功诱导高脂 L02 细胞模型。还有学者对 FFA 里油酸和棕榈酸的比例及其它最佳条件进行了系统性研究。Gómez-Lechón 等^[15] 经全面研究发现, 当 FFA 中油酸和棕榈酸的比例为 2:1 时, 最适合用来建立高脂 L02 细胞模型。但是, 随着对 FFA 的深入研究, 一些学者发现 FFA 是一种毒性特别强的二性分子, 容易引起生物膜的损伤^[16], 后来有学者建议用毒性更小的脂肪乳剂来建立高脂 L02 细胞模型。此外, 袁勇等^[17] 还探索出当造模液中脂肪乳剂为 1.0 mL/L, 造模时间为 48 h 时, 是建立 L02 细胞非酒精性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 模型的最佳条件, 适用于更深入和更全面的探索 HLP 和 NAFLD 的发病机制, 筛选出防治 HLP 和 NAFLD 的有效中药。

1.3 3T3-L1 细胞模型

3T3-L1 前脂肪细胞是 G.J.Todaro 从 17~19 d Swiss 系小鼠胚胎里 3T3 细胞中分离得到。用该细胞进行脂质代谢方面的研究时, 需要利用适当的诱导剂对其进行刺激, 使其定向分化成充满脂滴的脂肪细胞才能进行下一步的实验探索。诱导分化前 3T3-L1 前脂肪细胞间质稀少, 体积小, 呈梭形, 包浆中不含有 TG 的油滴^[18]。诱导分化后则变成成熟的脂肪细胞, 贴壁完好, 楞角分明, 大量的 TG 脂滴积聚于细胞核的周围。3T3-L1 脂肪细胞是目前国际上公认的可用于研究 HLP、肥胖以及筛选降脂中药和抗肥胖药物的细胞模型^[19]。

肥胖是一个全球性的健康问题, 它被认为是 HLP、高血压和动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 等心血管疾病发生的危险因素。有研究发现, 与脂质代谢相关的基因为肥胖等代谢综合征的药物治疗提供了丰富的潜在靶点, Roh 等^[20] 通过在 DMEM 培养基中加入诱导剂 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 胰岛素, 2.5 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 地塞米松和 0.5 mmol/L 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤), 诱导 3T3-L1 细胞分化成脂肪细胞, 成功筛选出具有抗肥胖活性的植物提取物。此外, Lee 等^[21] 在含有高葡萄糖、10%胎牛血清和青霉素/链霉素等的 DMEM 培养基中, 加鸡尾酒培养 3T3-L1 细胞 48 h, 也使其成功诱导分化成脂肪细胞。

此外, 还有一些细胞也可以用来建立高脂细胞模型。如 1954 年从非恶性的人体组织中建立的具

有无限传代特点的人肝 Changliver 细胞、小鼠巨噬 RAW264.7 细胞株、来自大鼠肝的肝 BRL 细胞、人单核/巨噬细胞株 THP-1、奶牛肝细胞和草鱼肝细胞等。

常用高脂细胞建模方法的比较见表 1。

2 高脂哺乳动物模型

2.1 大鼠

因具有成本低、易于饲养、抗病力强、实验操作简单和模型稳定性好等优点, 大鼠已成为目前国内研究人体脂质代谢使用率最高的一种动物。此外, 大鼠所含血液丰富, 一次采血即可对多项指标进行检测, 可以较好的对脂质的吸收、合成和分解等代谢过程进行深入研究。

目前, 在诱导大鼠形成高脂模型来进行血脂代谢紊乱的实验中, 喂养高脂饲料或高脂高胆固醇饲料是普遍选取的方法。Moselhy 等^[22] 在普通饲料中添加了 2% 的胆固醇和 0.4% 的胆酸钠制作成高脂高胆固醇饲料, 用于评价麦角甾醇联合烟酸对高脂饮食 (high fat diet, HFD) 大鼠的潜在降脂和降胆固醇作用。结果显示, HFD 组大鼠 TC、TG、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-c)、极低密度脂蛋白胆固醇 (very low density lipoprotein cholesterol, VLDL-c) 以及致动脉粥样因子水平均明显高于正常组, 高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-c) 水平低于正常组。麦角甾醇或烟酸的灌胃组, TC、TG、LDL-c 均比模型组低。研究表明烟酸和麦角甾醇可以预防高胆固醇血症和冠心病。然而, 高 TC 的食物对大鼠并没有吸引力, 甚至还易出现“厌食”的情况, 以致于不能精确掌握每日进食量, 进而影响实验结果准确性。因此, 有的学者建议用灌胃高脂乳剂法替代高脂高胆固醇饲料饲养法, 这样既可以避免进食的不一致性, 还可以根据实际需求增减高脂成分的含量, 缩短造模时间。此外, 还有学者将与脂质代谢相关酶的活性物质作为复制高脂模型的材料。如灌胃铅可以显著性抑制细胞色素 P450 的活性, 进而影响甾醇独立基团调控肝酶对脂质的代谢^[23]。Liu 等^[24] 通过对大鼠进行为期 75 d 的醋酸铅水溶液灌胃, 成功研究了葛根素可以通过降低细胞在代谢过程中产生的活性氧簇, 更新抗氧化酶活性, 阐明葛根素对铅诱导的高脂血症和肝损伤的保护作用机制。

表 1 常用高脂细胞建模方法
Table 1 Common hyperlipidemia cell modeling method

细胞模型 Cell model	诱导药物 Inducing drug	造模时间 Modeling time	检测指标 Detection indicator	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
HepG2	1% 脂肪乳剂 1% fat emulsion	24 h		生长周期短; 高分化性; 长生不老性; 分化稳定性; 保留完整的转化代谢酶; 造模时间快	来源于人肝胚胎瘤细胞, 不能完全代替正常细胞; 病变仅仅为单纯脂肪变性, 脂质氧化不明显
	1 mmol/L 磷酸三苯酯 1 mmol/L ⁻¹ TPP	24 h	总胆固醇、甘油三酯、油红 O 染色、细胞活力、丙二醛、超氧化物歧化酶	Short growth cycle; High differentiation; Immortality; Stability of differentiation; Keep intact invertase; Fast modeling time	It is derived from human hepatoblastoma cells and can't completely replace normal human cell; The pathological changes were simple fatty degeneration and lipid oxidation was not obvious
	50 mg/L 氧化性低密度脂蛋白 50 mg/LOx-LDL	48 h	TC, TG, Oil red O staining, cell viability, MDA, SOD		
	脂质堆积诱导培养液 Lipid accumulation induction medium	48 h			
	0.2~1 mmol/L 油酸 0.2~1 mmol/Loleic acid	24~48 h			
	游离脂肪酸 Free fatty acids	24 h	总胆固醇、甘油三酯、细胞凋亡率、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、细胞活力、油红 O 染色、丙二醛、超氧化物歧化酶	能完全模拟人类脂质代谢过程; TC、TG 极显著性增加; 造模时间短	TC 升高不明显; 油酸浓度过高, 会加剧脂质积累和细胞代谢紊乱, 造成细胞损伤
L02	20% 脂肪乳剂 20% fat emulsion	48 h		It can completely simulate the process of human lipid metabolism; The level of TC and TG increased significantly; Short molding time	No significant increase in TC level; Too high concentration of oleic acid will aggravate the disorder of lipid accumulation and cell metabolism, resulting in cell damage
	50% 胎牛血清 50% fetal bovine serum	48 h	TC, TG, apoptosis rate, ALT, AST, cell viability, Oil red O staining, MDA, SOD		
	1 mol/L 油酸 1 mmol/L-oleic acid	24 h			
	0.5 mol/L 油酸 0.5 mmol/Loleic acid	48 h			
	诱导剂 (10 μg/mL 胰岛素, 2.5 μmol/L 地塞米松和 0.5 mmol/L 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤) Inducers (10 μg/mL insulin, 2.5 μmol/L dexamethasone and 0.5 mmol/L 3-isobutyl-1-methylxanthine)	48 h	总胆固醇、甘油三酯、甘油、细胞周期、油红 O 染色	观察明显, 细胞中出现大量融合脂滴; TG 显著性增加	细胞培养周期长, 造模慢; 分化条件不稳定, 有时诱导不成功
	鸡尾酒 Cocktail	48 h	TC, TG, glycerol, cell cycle, Oil red O staining	A large number of fusion lipid droplets were observed; The level of TG increased significantly	The cell culture cycle was long and the model was slow; Unstable differentiation conditions, sometimes unsuccessful induction

2.2 小鼠

小鼠因价格便宜、易于饲养、造模成本低、血脂稳定和采样方便等优点, 也被广泛运用于筛选降脂中药的实验研究中。但是, 小鼠能采集的血量少, 极大程度的限制了相关指标的检测。此外, 小鼠血浆中不含血浆胆固醇酯转移蛋白^[25] (cholesteryl ester transfer protein, CETP), 对饮食中的胆固醇和高糖无反应, 很难继续发展为 AS, 因此, 只能单纯的用于 HLP 研究。

近年来, C57BL 小鼠和敲除了与脂蛋白代谢相关蛋白的小鼠被大量应用于复制高脂模型。与建立高脂大鼠模型相似, 建立高脂小鼠模型时, 高脂饲料喂养法和灌胃法也是常用方法。此外, 自从第一个转基因小鼠制备成功, 转基因动物模型也被广泛用于 HLP 和 AS 的研究。长期用高脂饲料喂养转基因 C57BL/6J 小鼠, 可导致血脂异常、肥胖和 2 型

糖尿病等疾病^[26]。Saravanan 等^[27]连续用高脂饲料 (脂肪含量 35.8%) 对 C57BL/6J 小鼠进行为期 70 d 的造模饲养, 利用此模型评估一种单萜酚类化合物百里酚对高脂血症、2 型糖尿病的作用。结果表明, 40 mg/kg 的百里酚具有良好的抗高脂血症、高血糖的作用, 可保护 C57BL/6J 小鼠免受 HFD 的侵袭。还有学者发现连续 28 d 给小鼠灌胃 1,3-二氯丙醇, 可以通过调节腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 信号通路来诱发 HLP。Lu 等^[28]通过此种方法成功复制高脂小鼠模型, 且还发现 HDL-c 的降低程度与 1,3-二氯丙醇呈一定的剂量依耐性。载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 是一种多态性蛋白, 能调节脂代谢有关酶的活性, 参与脂蛋白的转化和代谢过程。ApoE 主要存在于乳糜颗粒、极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 和部分 HDL 中, 对 ApoE 基因多

态性的研究也是目前医学研究的热点之一。*ApoE* 变异或者缺失,会导致血脂代谢紊乱和 AS 等疾病。Patterson 等^[29]利用基因靶向技术,制备了 *ApoE*^{-/-} 转基因小鼠,用于研究瑞舒伐他汀对 *ApoE* 基因缺失小鼠高脂血症深静脉血栓的影响。与正常小鼠相比,*ApoE*^{-/-} 小鼠的 TC 升高 4 倍, TG 升高 2 倍。在正常饮食下,即可形成高胆固醇血症,在高脂高胆固醇饮食下,可加速 AS 的病变发生。由此可见,利用基因靶向技术所制备的转基因小鼠可大大节约造模时间。

2.3 家兔

家兔的脂蛋白代谢与人类相似,血浆中具有丰富的 CETP,不具有肝 *ApoB* mRNA 编辑活性^[30],对外源性胆固醇吸收率高,血中脂质清除率低,是研究人类脂质代谢和 AS 最常用的动物模型,同时也是最早被用于复制 HLP 和 AS 模型的动物。又因家兔肝脂酶活性较低,不需要格外添加任何诱导剂,单纯饲喂高胆固醇饲料即可快速发展成 HLP 和 AS,其 TC 在一个月可升高 11.8 倍,在两个月可升高 17.7 倍^[31]。因此,家兔提供了一个独特的系统来研究膳食胆固醇对高胆固醇血症、AS 和肝功能障碍的影响^[32]。

相比于大鼠和小鼠,家兔对高胆固醇食物显得尤为敏感。大多数 HLP 和 AS 兔模型都是通过高脂饲料喂养所得。Heikal 等^[33]采用 HFD(含 1%胆固醇)对雄性新西兰家兔喂养 8 周,成功造成高血脂家兔模型,用于研究非布索坦的抗高脂血症的作用及作用机制。基因敲除为研究脂质代谢提供了另一种制备兔模型的方法,但即便如此,*ApoE*^{-/-} 兔仍需要饲喂高胆固醇饲料才能诱导高脂血症。最近 Lu 等^[34]使用 CRISPR/Cas9 系统锚定低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)外显子 7,试图产生一种可自发形成 HLP 的 LDLR-KO 兔。结果显示,LDLR-KO 兔在正常的饮食下均可自发性诱导高胆固醇血症和 AS。提示 LDLR-KO 家兔可以作为研究高胆固醇血症和 AS 的模型,用于模拟人类原发性高胆固醇血症,使心脑血管病的研究更加精确。

2.4 豚鼠

有研究表明^[35],豚鼠的脂蛋白代谢与人类的代谢有显著的相似之处。与人类一样,豚鼠也是少数几种 LDL-c 含量最高的物种之一。其相似主要体现在

在 LDL/HDL 比值高、肝中游离胆固醇浓度高于酯化胆固醇、肝胆固醇合成、酯化和分解代谢很相似等^[36]。豚鼠性情温顺,采血量大,对 TC 的敏感性高于大鼠^[37]。此外,切除卵巢的豚鼠还可以较好地模拟绝经后女性的脂蛋白代谢^[38]。

豚鼠对高脂饲料、高胆固醇饲料显得尤为敏感,通常在普通饲料中添加少量的胆固醇便可造成高胆固醇血症。Yang 等^[39]采用高脂饲料(添加 5%的猪油和 0.3%的胆固醇)饲喂豚鼠,14 周后测定血脂、*ApoB*100、MDA、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、一氧化氮含量。对主动脉粥样硬化病变进行组织学检查,结果显示,模型组 TC、TG、LDL-c、*ApoB*100 水平是对照组的 9.45 倍、6.01 倍、12.72 倍、14 倍,模型组 HDL-c 相比与对照组显著降低 72%,出现严重血脂异常,且模型组 MDA 含量高于对照组 8.2 倍, SOD 活性降低 60.8%,并伴有组织学改变和内皮功能障碍。由此可见,豚鼠也是一种比较理想的研究脂代谢的模型动物。

此外,用来复制高脂模型的动物还有长爪沙鼠^[40]、金黄地鼠^[41]、食蟹猴^[42]、悬猴、鹌鹑、鸡、家鸭、beagle 犬、五指山小型猪和鸽子等,研究者应根据实验需求选择合适的动物模型进行研究。

常用高脂哺乳动物模型比较见表 2。

3 高脂斑马鱼模型

斑马鱼是一种原产于南非地区的热带硬骨鱼,因其基因组序列与人类有着 87% 的高度相似性^[43],体积小,胚胎透明,易于大规模饲养,繁殖能力强和实验周期短,被广泛作为高通量筛选药物的经典模型^[44-45]。又因其血脂构成、脂质吸收、脂质代谢、器官和组织与人类基本一致,近年来被大量应用在与脂质代谢和脂质异常相关的疾病研究中,如 HLP、糖尿病、脂肪肝、AS 等,是研究单体中药降血脂作用的理想模式生物^[46]。

3.1 斑马鱼幼鱼

Stoletov 等^[47]利用斑马鱼幼鱼身体透明、器官清晰可见和能够以高分辨率在体内对器官和生物过程进行非侵入性的可视化的特性,对活体高胆固醇血症斑马鱼幼鱼的血管脂质堆积、脂蛋白氧化和脂肪条纹的形成情况进行了实时的研究报道。该团队在高胆固醇饲料中添加一种红色的 Cholesteryl BODIPY 576 / 589 C11 活体荧光探针,用来牢固标

表 2 常用高脂哺乳动物模型比较

Table 2 Comparison of commonly used hyperlipidemia mammal models

动物模型 Animal model	体重 Weight	价格 Price	造模方式 Modeling method	检测指标 Detection indicator
大鼠 Rat	220 克 220 g	40 元 40 yuan	高脂饲料、高胆固醇饲料、腹腔注射蛋黄乳液、灌胃高脂乳剂、灌胃醋酸铅 High fat diet, high cholesterol diet, intraperitoneal injection of yolk emulsion, intragastric high fat emulsion, lead acetate by gavage	总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、极低密度脂蛋白胆固醇、肝 HE 染色、肝指数、体重 TC, TG, LDL-c, HDL-c, VLDL-c, HE staining of liver, liver index, weight
小鼠 Mouse	30 克 30 g	20 元 20 yuan	高脂饲料、高胆固醇饲料、灌胃高脂乳剂、敲除 <i>ApoE</i> , 制备 <i>ApoE</i> ^{-/-} 小鼠、灌胃 1,3-二氯丙醇、腹腔注射蛋黄乳液 High fat diet, high cholesterol diet, high fat emulsion intragastric administration, knockout <i>ApoE</i> , <i>ApoE</i> ^{-/-} mice, intragastric administration of 1, 3-dichloropropanol intraperitoneal injection of yolk emulsion	总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、肝 HE 染色、体重、肝指数、丙二醛、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、油红 O 染色 TC, TG, LDL-c, HDL-c, HE staining of liver, weight, liver index, MDA, ALT, AST, Oil red O staining
兔 Rabbit	3 千克 3 kg	130 元 130 yuan	高脂饲料、高胆固醇饲料、静脉注射蛋黄乳液、利用基因敲除技术, 制备 <i>ApoE</i> ^{-/-} 兔、LDLR-KO 兔 High fat diet, high cholesterol diet, intravenous yolk emulsion, and gene knockout technology were used to prepare <i>ApoE</i> ^{-/-} rabbits and LDLR-KO rabbits	总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、油红 O 染色、体重、颈动脉 HE 染色 TC, TG, LDL-c, HDL-c, Oil red O staining, weight, HE staining of carotid artery
豚鼠 Guinea pig	600 克 600 g	100 元 100 yuan	高脂饲料、高胆固醇饲料 High fat diet, high cholesterol feed	总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、HE 染色、丙二醛、载脂蛋白 B、超氧化物歧化酶、一氧化氮 TC, TG, LDL-c, HDL-c, HE staining, MDA, ApoB100, SOD, NO
动物模型 Animal model	体重 Weight	价格 Price	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
大鼠 Rat	220 克 220 g	40 元 40 yuan	抗病力强; 稳定性好; 适用广泛; 模型稳定性好; 血液丰富; 影响因素易于控制; 重复效果好 Strong disease resistance; Good stability; Wide application; good model stability; Rich blood; Easy to control influencing factors; Good repetition effect	饲喂高胆固醇食物, 易出现“厌食”; 血浆胆固醇的主要载体是高密度脂蛋白胆固醇; 与人脂质代谢机制存在很大的差异 Feeding high cholesterol food, easy to appear “anorexia”; The main carrier of plasma cholesterol is HDL-c, which is different from the mechanism of human lipid metabolism
小鼠 Mouse	30 克 30 g	20 元 20 yuan	易饲养; 造模成本低; 血脂稳定; 采样方便; 实验操作简单 Easy to feed; Low cost of modeling; Stable blood lipid; Convenient sampling; Simple experimental operation	血量少, 限制了某些指标的检测; 不含血浆胆固醇酯转移蛋白; 不易形成动脉粥样硬化; 血浆清除率高, 与人类差异很大 Blood volume is small, which limits the detection of some indexes; CETP is not included; as is not easy to form; plasma clearance rate is high, which is very different from that of human
兔 Rabbit	3 千克 3 kg	130 元 130 yuan	脂蛋白代谢与人相似; 含有丰富的血浆胆固醇酯转移蛋白; 肝脂酶活性低; 成模快; 重复性好; 外源性胆固醇吸收率高; 血中脂质清除率低; 成本低 Lipoprotein metabolism is similar to that of human; it is rich in CETP; liver lipase activity is low; modeling is fast; repeatability is good; exogenous cholesterol absorption rate is high; blood lipid clearance rate is low; cost is low	草食性动物, 长期高脂饮食易出现腹泻、皮肤病等副作用 Herbivores are prone to diarrhea, skin diseases and other side effects due to long-term HFD
豚鼠 Guinea pig	600 克 600 g	100 元 100 yuan	低密度脂蛋白胆固醇含量高; 性情温顺; 脂蛋白代谢与人相似; 采血量大; 对高胆固醇饲料特别敏感; 指标稳定 LDL-c content is high; Temperament is gentle; Lipoprotein metabolism is similar to human; Blood volume is large; It is particularly sensitive to high cholesterol feed; Index is stable	造模时间长 Long molding time

记幼鱼体内的胆固醇,以便在激光共聚焦显微镜下对活体斑马鱼中的胆固醇走向以及在血管壁内的沉积进行实时的动态观察。结果显示,诱导出稳定的红色荧光磷脂堆积、血管脂质大量沉积、脂肪条纹形成,表明高胆固醇血症模型成功建立。但是,由于这种活体荧光探针价格昂贵,容易猝灭,对实验设备要求较高、结果不稳定和重现性差,后来 Zhou 等^[48]建立了一种可以快速高通量筛选降脂药物的斑马鱼高脂模型。该团队通过对 5 dpf (days post fertilization, dpf) 斑马鱼幼鱼喂养 0.1% 的蛋黄粉 24 h 和 48 h,对斑马鱼尾静脉油红 O 染色,对其在解剖立体显微镜下成像所得到的图片进行定量分析,发现斑马鱼的肠道和血管中的脂质会随着时间的增加而堆积,快速建立了斑马鱼 HLP 模型,并且该团队利用这模型对几种常见的不同作用机制的降血脂药物进行了筛选和疗效评价。后来,余琳媛等^[49]采用这种造模方法来筛选传统降脂中药制首乌中具有降脂保肝作用的有效化学成分。结果显示,大黄素能显著降低斑马鱼的死亡率,降低 TG 水平,可明显改善斑马鱼幼鱼肝脂质的沉积,由此推测制首乌中具有降脂作用的主要有效成分是大黄素。

3.2 斑马鱼成鱼

由于斑马鱼幼鱼 HLP 模型的检测指标大多都是通过油红 O 染色和活体荧光探针来反应,这些都是间接地反应血脂的相对变化,不能真实地反映出机体的脂质代谢情况,况且从斑马鱼幼鱼中提取血液也是不切实际的。但是,可以通过抽取斑马鱼成鱼的血浆来直接检测血脂的变化情况^[50]。韩冰等^[51]用含 4% 胆固醇饲料去喂养 3 月大的斑马鱼成鱼 20 d,通过对肝进行油红 O 染色和测定血清 TC、TG 和 LDL-c 含量与空白组相对比,其结果显示高胆固醇组的血清 TC、TG 和 LDL-c 含量均有显著性升高,肝中出现大量的脂肪滴累积,表明成功建立高脂斑马鱼成鱼模型,为下一步研究和开发新的降血脂中药奠定基础。

高脂斑马鱼幼鱼和成鱼造模方法的比较见表 3。

4 高脂模型在筛选降脂中药中的作用

长期高脂高胆固醇饮食会打破机体脂质吸收和消化之间的平衡关系,导致脂肪、胆固醇和复合糖类长期大量的在血管内壁上聚集和过度沉积,导

致动脉壁增厚变硬,血管腔变窄,致使动脉内膜形成粥样斑块,影响血流速度,进而产生一系列更为严重的心血管疾病。因此,及早进行预防和筛选有效的降脂药是降低患者心血管事件发生的有效控制手段。目前对于 HLP 的治疗首选他汀类药物,但是如果长期服用调血脂西药,其以转氨酶升高为特征的肝损害和以肌酸激酶升高为特征的横纹肌溶解等副作用会逐渐凸显出来。因此,一些天然产物,特别是我国具有悠久的历史 and 显著的疗效的传统降脂中药,因具有多靶点、多途径、多环节、疗效好、毒副作用小的优点,可以很好地与西药作用的单一性相弥补而受到了格外的关注。因此,建立可用于筛选和研究降血脂中药的脂质代谢紊乱动物模型显得尤为重要。

现代中医认为,HLP 的病因病机主要是恣食肥甘,痰浊淤阻引起。运用传统中药来预防和治疗 HLP,主要是依据中医基础理论中的辨证论治,故筛选和研究降脂中药时需要根据其病因病机及证候选择不同的实验方法来复制高脂模型^[52]。目前,已有很多学者通过不同的高脂模型筛选出具有调血脂作用的中药。如何首乌^[49]、柴胡^[53]、天麻^[54]、虎杖^[55]、决明子^[56]等,具有降血脂、降血压、抗脂肪肝、抗 AS 等功效,可用于治疗高血压、HLP、AS 等疾病。随着我国医疗技术的快速发展,我国对 HLP 的治疗不但可以从中医的证候表征入手,还可以结合现代中医药理论知识从基因蛋白水平治疗 HLP。

理想的降脂模型不单单有助于筛选降脂中药和其机制的研究,还应该有助于 HLP 中医发病机理的研究,只有明白机理才能准确的选择相应的治法和药物。但是,我国暂时还没有大规模、多中心、深层次的研究,以及我国中药成分的多样性和中医理论的复杂性,目前还未彻底了解其发挥疗效的具体机制和 HLP 的中医发病机理。因此,对于降血脂模型的建立,还需要我们不断改进、完善和创新,以寻求更完美的生物模型,更加深入全面地阐明 HLP 的发病机理和降血脂中药的治疗机制。

5 结语和展望

综上所述,目前有多种多样的方法来建立 HLP 模型,各种模型均有其优缺点。高脂细胞模型相对于其他模型,具有实验周期短、可控性强、成本低等优点,但生物体终究是一个有机整体,其各个组织器官之间都存在着联系,单纯用细胞模型来研究只

表 3 高脂斑马鱼造模方法比较

Table 3 Comparison of modeling methods for hyperlipidemia zebrafish

斑马鱼 Zebrafish	造模药物 Modeling drug	造模时间 Modeling time	检测指标 Detection indicator	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
斑马鱼幼鱼 Larval zebrafish	0.1% 蛋黄粉 0.1% yolk powder	24~48 h	血管和肝油红 O 染色 Oil red O staining of blood vessels and liver	与人类有着 87% 高度同源性; 体积小, 给药方便, 用量小, 操作简单; 胚胎透明, 添加荧光探针, 可活体实时观测动态病变; 繁殖周期和实验周期均较短; 样本量大, 可以进行高通量筛选; 成本低 It has 87% high homology with human beings; It is small in size, convenient in administration, small in dosage and simple in operation; The embryo is transparent, with fluorescent probe added, dynamic lesions can be observed in real time in vivo; The reproductive cycle and experimental cycle are short; The sample size is large, high-throughput screening can be carried out; Low cost	不能采集血液进行脂质分析 Unable to collect blood for lipid analysis
斑马鱼成鱼 Zebrafish	添加荧光探针的 4% 高胆固醇饲料 4% high cholesterol feed with fluorescent probe	10 d	红色荧光的堆积面积 Stacking area of red fluorescence	真实反映出机体的脂质代谢情况; 可以采集血浆对其进行脂质分析 It truly reflect the lipid metabolism of the body; Plasma can be collected for lipid analysis	添加的荧光探针, 容易猝灭, 且对实验设备要求较高 The added fluorescent probe is easy to be quenched and requires high experimental equipment
斑马鱼成鱼 Zebrafish	4% 高胆固醇饲料 4% high cholesterol feed	20 d	总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、肝油红 O 染色、肝和血管的切片 TC, TG, LDL-c, HDL-c, Oil red O staining of liver and sections of liver and blood vessels	造模时间较长; 不可以实时的活体病变观察 It takes a long time to establish the model, and it is not possible to observe the pathological changes in vivo in real time	

能说明药物是对这种细胞的作用效果, 无法代替整个有机体。而动物模型即可以用来探讨降脂中药对整个机体的作用机制, 特别其斑马鱼模型还可以高效、快速的进行高通量筛选。因此, 我们应该将细胞模型与动物模型紧密结合起来, 使两种模型相互补充, 共同促进对 HLP 发病机制及防治中药的研究。

复制的高脂模型成功与失败, 受到了多种因素的制约。饲喂方式的不同(饲喂法和灌胃法)、高脂饲料占比的不同以及脂肪乳剂配方的不同, 都会影响造模的成功率。此外, 影响造模效果的因素还有动物的品系、性别和年龄等。在建立高脂动物模型时, 一般多选用雄性动物。因 HLP 的发生与肾上腺素等激素有关, 而雄性动物较雌性动物竞争更为激烈, 所以雄性动物更易形成 HLP。所以应该根据具体的实验情况, 选择合适的 HLP 实验动物模型。

随着新理论、新技术和新概念的出现, 人们对

高脂模型的要求随之提高。研究人员在进行研究时必须谨慎, 因为某些模型的脂质代谢可能被证明与人类完全不同, 因此, 可能不适合研究降血脂中药的作用机制。笔者认为, 在众多的模型中挑选出适合于研究 HLP 的模型时, 需要结合自身实验的目的、指标和经费等客观条件, 特别要着重注意以下几点。第一, 选择建立的模型应尽可能与人类疾病相符合; 第二, 尽量选用自身影响因素小的模型, 实验结果最好是可以多次重现, 以避免实验结果的偶然性和不精确性; 第三, 应注意选择模型的实用性、经济型和可操作性。笔者相信, 结合现代医学的研究手段, 中医药治疗 HLP 将会有更加广阔的发展前景。

参考文献:

- [1] 张妮, 贾连群, 宋因, 等. 基于 PCRarray 技术探讨丹参酮 IIa 对高脂血症大鼠肝脏脂蛋白及胆固醇信号通路相关基因 mRNA 表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(2): 570

- 574.
- [2] Chen YL, Xiao CH, Hu ZX, et al. Dynamic lipid profile of hyperlipidemia mice [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2017, 1055-1056: 165-171.
- [3] 刘晶, 崔建华. 高脂血症的中药治疗进展 [J]. *天津药学*, 2017, 29(3): 70-74.
- [4] 杨敏春, 滕龙, 杨维佳, 等. 葛琳仪膏方辨治高脂血症经验撷菁 [J]. *浙江中医杂志*, 2016, 51(12): 876-877.
- [5] Milonas D, Tziomalos K. Experimental therapies targeting apolipoprotein C-III for the treatment of hyperlipidemia-spotlight on volanesorsen [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2019, 28(4): 389-394.
- [6] 李霜枫, 刘钰涵, 陈旭. 中药治疗高脂血症研究 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2013(6): 138-139.
- [7] 王燕萍, 彭丹虹, 刘晓琪, 等. 高脂饮食喂养建立高脂血症模型的验证及规律探讨 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(1): 5-10.
- [8] Kaur P, Robin, Mehta RG, et al. Progression of conventional hepatic cell culture models to bioengineered HepG2 cells for evaluation of herbal bioactivities [J]. *Biotechnol Lett*, 2018, 40(6): 881-893.
- [9] 郝正亮, 卢德赵, 杨贞, 等. 姜黄素及其衍生物对磷酸三苯酯引起 HepG-2 细胞脂质累积的保护作用 [J]. *中药材*, 2018, 41(11): 2690-2693.
- [10] Gao S, Zhao D, Wang M, et al. Association between circulating oxidized LDL and atherosclerotic cardiovascular disease: a meta-analysis of observational studies [J]. *Can J Cardiol*, 2017, 33(12): 1624-1632.
- [11] 李玉平, 齐建彤, 郑曙光, 等. 氧化性低密度脂蛋白诱导浓度和时间对肝癌 HepG2 细胞胆固醇积累的影响 [J]. *中国热带医学*, 2018, 18(2): 111-115.
- [12] Indermuehle A, Crake T, Meier P. Oxidized low-density lipoprotein cholesterol and coronary artery disease [J]. *Cardiology*, 2011, 119(2): 106-107.
- [13] Liu S, Jing F, Yu C, et al. Aicar-induced activation of AMPK inhibits TSH/SREBP-2/HMGR pathway in liver [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0124951.
- [14] 殷锦锦, 唐外姣, 曾璐, 等. 人肝细胞系 L-02 细胞单纯脂肪变性细胞模型的建立与应用 [J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(6): 837-842.
- [15] Gómez-Lechón MJ, Donato MT, Martínez-Romero A, et al. A human hepatocellular in vitro model to investigate steatosis [J]. *Chem Biol Interact*, 2007, 165(2): 106-116.
- [16] 于佳雪, 徐亚伟, 肖丹, 等. 游离脂肪酸与心血管疾病 [J]. *现代生物医学进展*, 2013, 13(10): 1979-1982.
- [17] 袁勇, 黄建安, 徐小江, 等. 茯茶中“金花”孢子粉提取物对体外诱导的非酒精性脂肪肝细胞内甘油三酯代谢的影响 [J]. *茶叶科学*, 2011, 31(2): 129-135.
- [18] 罗燕, 和兴萍, 李雪, 等. 几种细胞脂肪变性模型的建立与比较分析 [J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(8): 2074-2077.
- [19] Hengpratom T, Lowe GM, Thumanu K, et al. Oroxylin indicum (L.) Kurz extract inhibits adipogenesis and lipase activity in vitro [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2018, 18(1): 177.
- [20] Roh C, Jung U. Screening of crude plant extracts with anti-obesity activity [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(2): 1710-1719.
- [21] Lee KH, Song JL, Park ES, et al. Anti-obesity effects of starter fermented kimchi on 3T3-L1 adipocytes [J]. *Prev Nutr Food Sci*, 2015, 20(4): 298-302.
- [22] Moselhy SS, Kamal IH, Kumosani TA, et al. Possible inhibition of hydroxy methyl glutaryl CoA reductase activity by nicotinic acid and ergosterol: as targeting for hypocholesterolemic action [J]. *Afr Health Sci*, 2016, 16(1): 319-324.
- [23] Newairy AS, Abdou HM. Protective role of flax lignans against lead acetate induced oxidative damage and hyperlipidemia in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(4): 813-818.
- [24] Liu CM, Ma JQ, Sun YZ. Protective role of puerarin on lead-induced alterations of the hepatic glutathione antioxidant system and hyperlipidemia in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(12): 3119-3127.
- [25] Moghadasian MH, Frohlich JJ, Memanus BM. Advances in experimental dyslipidemia and atherosclerosis [J]. *Lab Invest*, 2001, 81(9): 1173-1183.
- [26] Cialdella-Kam L, Ghosh S, Meaney MP, et al. Quercetin and green tea extract supplementation downregulates genes related to tissue inflammatory responses to a 12-week high fat-diet in mice [J]. *Nutrients*, 2017, 9(7): E773.
- [27] Saravanan S, Pari L. Role of thymol on hyperglycemia and hyperlipidemia in high fat diet-induced type 2 diabetic C57BL/6J mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 761: 279-287.
- [28] Lu J, Huang G, Hu S, et al. 1,3-Dichloro-2-propanol induced hyperlipidemia in C57BL/6J mice via AMPK signaling pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 64(2): 403-409.
- [29] Patterson KA, Zhang X, Wroblewski SK, et al. Rosuvastatin reduced deep vein thrombosis in *ApoE* gene deleted mice with hyperlipidemia through non-lipid lowering effects [J]. *Thromb Res*, 2013, 131(3): 268-276.
- [30] Zhang J, Niimi M, Yang D, et al. Deficiency of cholesteryl ester transfer protein protects against atherosclerosis in rabbits [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(6): 1068-1075.
- [31] 陈凯, 张雁芳, 王倩, 等. 高胆固醇饲养兔鹌鹑和大鼠诱发高血脂和动脉粥样硬化的特征 [J]. *解放军药理学学报*, 2001, 17(3): 117-120, 124-175.
- [32] Fan J, Chen Y, Yan H, et al. Genomic and transcriptomic analysis of hypercholesterolemic rabbits: progress and perspectives [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): E3512.
- [33] Heikal MM, Shaaban AA, Elkashef WF, et al. Effect of febuxostat on biochemical parameters of hyperlipidemia induced by a high-fat diet in rabbits [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2019, 97(7): 611-622.
- [34] Lu R, Yuan T, Wang Y, et al. Spontaneous severe hypercholesterolemia and atherosclerosis lesions in rabbits with deficiency of low-density lipoprotein receptor (LDLR) on exon 7 [J]. *EBioMedicine*, 2018, 36: 29-38.
- [35] Yang R, Guo P, Song X, et al. Hyperlipidemic guinea pig

- model; mechanisms of triglyceride metabolism disorder and comparison to rat [J]. *Biol Pharm Bull*, 2011, 34(7): 1046-1051.
- [36] Podell BK, Ackart DF, Richardson MA, et al. A model of type 2 diabetes in the guinea pig using sequential diet-induced glucose intolerance and streptozotocin treatment [J]. *Dis Model Mech*, 2017, 10(2): 151-162.
- [37] Almatrafi MM, Vergara-Jimenez M, Murillo AG, et al. Moringa leaves prevent hepatic lipid accumulation and inflammation in guinea pigs by reducing the expression of genes involved in lipid metabolism [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7): E1330.
- [38] Rice BH, Kraft J, Destailats F, et al. Ruminant-produced trans-fatty acids raise plasma HDL particle concentrations in intact and ovariectomized female Hartley guinea pigs [J]. *J Nutr*, 2012, 142(9): 1679-1683.
- [39] Yang S, Liu L, Meng L, et al. Capsaicin is beneficial to hyperlipidemia, oxidative stress, endothelial dysfunction, and atherosclerosis in Guinea pigs fed on a high-fat diet [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 297: 1-7.
- [40] 刘月环, 毛栋森, 吴旧生, 等. 高脂血症长爪沙鼠模型的转录组检测和代谢性炎症通路的初步研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 24(4): 51-56, 4.
- [41] 俞建顺, 严茂祥, 王德军, 等. 高脂饮食对长爪沙鼠生化及主要脏器组织病理学的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(4): 38-43, 47.
- [42] 唐明甜, 肖百全, 徐世千, 等. 高脂血症食蟹猴模型的建立及初步分析 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(7): 61-66.
- [43] Torraca V, Mostowy S. Zebrafish infection: from pathogenesis to cell biology [J]. *Trends Cell Biol*, 2017, 28(2): 143-156.
- [44] Sæle Ø, Rød KEL, Quinlivan VH, et al. A novel system to quantify intestinal lipid digestion and transport [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2018, 1863(9): 948-957.
- [45] 王成, 龚莉虹, 郭朝成, 等. 模式生物斑马鱼在中药药效物质筛选中的应用进展 [J]. *中草药*, 2019, 50(24): 6125-6134.
- [46] Hölltä-Vuori M, Salo VT, Nyberg L, et al. Zebrafish: Gaining popularity in lipid research [J]. *Biochem J*, 2010, 429(2): 235-242.
- [47] Stoletov K, Fang L, Choi SH, et al. Vascular lipid accumulation, lipoprotein oxidation, and macrophage lipid uptake in hypercholesterolemic zebrafish [J]. *Circ Res*, 2009, 104(8): 952-960.
- [48] Zhou J, Xu YQ, Guo SY, et al. Rapid analysis of hypolipidemic drugs in a live zebrafish assay [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2015, 72: 47-52.
- [49] 余琳媛, 全云云, 龚莉虹, 等. 制首乌醇提物及其主要成分大黄素对斑马鱼非酒精性脂肪肝的治疗作用 [J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(5): 766-771.
- [50] 陈侃, 王长谦, 范虞琪, 等. 斑马鱼血管内脂代谢研究方法的构建 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(4): 398-403.
- [51] 韩冰, 寇淑鸣, 陈彪, 等. 高效快速降脂动物模型研究 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(22): 4446-4451.
- [52] 赵媛媛, 覃骊兰, 郝二伟. 高脂血症动物模型研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(18): 215-221.
- [53] 夏青, 韩利文, 张云, 等. 基于斑马鱼模型的柴胡皂苷 a 保肝作用与肝毒性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(13): 2662-2666.
- [54] Ahmad O, Wang B, Ma K, 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): E1984.
- [55] 赵圣剑, 田香霞. 虎杖提取物血脂调节作用及其机制研究 [J]. *中医药学报*, 2019, 47(3): 41-46.
- [56] 郭换, 李峰庆, 杨昌林, 等. 决明子水煎剂降低营养性高脂血症大鼠血脂量效关系研究 [J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(5): 94-98.

[收稿日期]2019-07-24