

尹娜,陈秋燕,王瑞芳,等. 模式生物斑马鱼在植物多糖生物活性评价中的应用进展[J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(5): 705-712.

Yin N, Chen QY, Wang RF, et al. Progress in the application of model organism zebrafish in the evaluation of plant polysaccharide bioactivity [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(5): 705-712.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.05.015

模式生物斑马鱼在植物多糖生物活性评价中的应用进展

尹娜,陈秋燕,王瑞芳,齐景伟,王园*

(1. 内蒙古农业大学动物科学学院,呼和浩特 010018;2. 内蒙古自治区草食家畜饲料工程技术研究中心,呼和浩特 010018)

【摘要】 斑马鱼作为一种新型的模式动物,因其个体小、发育周期短和透明易观察等优点,已在发育生物学、遗传学、基础医学、药理学、毒理学、药物研发以及生态环境评价等诸多领域得到了广泛应用,并且随着功能性食品、营养品和天然化妆产品的需求不断增加。斑马鱼已经是一种实用工具,可有效鉴别天然产品中的有效物质。近年来,作为国际公认的新型脊椎类模型动物,斑马鱼已用于多种植物多糖及产品的抗氧化、免疫调节及心脏保护等生物活性评价。本文将介绍近年来斑马鱼作为模式动物在多糖,特别是植物多糖生物活性研究的进展。

【关键词】 斑马鱼;植物多糖;生物活性

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 05-0705-08

Progress in the application of model organism zebrafish in the evaluation of plant polysaccharide bioactivity

YIN Na, CHEN Qiuyan, WANG Ruifang, QI Jingwei, WANG Yuan*

(1. College of Animal Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China. 2. Inner Mongolia Herbivorous Livestock Feed Engineering Technology Research Center, Hohhot 010018)

Corresponding author: WANG Yuan. E-mail: wangyuan.926@163.com

【Abstract】 Being a new model animal, zebrafish has been widely used in many fields such as developmental biology, genetics, basic medicine, pharmacology and toxicology, drug development, and ecological environment evaluation because of its small size, short developmental cycle and transparency for easy observation. And with the increasing demand for functional foods, nutritional products, and natural cosmetic products, zebrafish has been a practical tool to effectively identify the active substances in natural products. In recent years, as a new internationally recognized vertebrate model animal, zebrafish have been used for the evaluation of biological activities such as antioxidant, immunomodulation, and cardioprotection of various plant polysaccharides and products. In this paper, we will introduce the progress of zebrafish as a model animal in the study of polysaccharides, especially plant polysaccharide bioactivity in recent years.

【Keywords】 zebrafish; plant polysaccharides; bioactivity

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】 内蒙古自然科学基金项目(2020MS03041), 内蒙古自治区关键技术攻关计划项目(2020GG0030), 内蒙古农业大学科技成果转化专项资金(YZGC2017025), 内蒙古自治区科技重大专项(2020ZD0004)。

Founded by Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2020MS03041), Key Technology Project of Inner Mongolia Autonomous Region Funded by(2020GG0030), Scientific and Technological Achievements Transformation Project of IMAU (YZGC2017025), the Major Science and Technology Program of Inner Mongolia Autonomous Region (2020ZD0004).

【作者简介】 尹娜(1997—),女,博士,研究方向:生物饲料的研发与应用。Email:yinna0420@163.com

【通信作者】 王园(1986—),女,博士,副教授,研究方向:生物饲料的研发与应用。Email:wangyuan.926@163.com

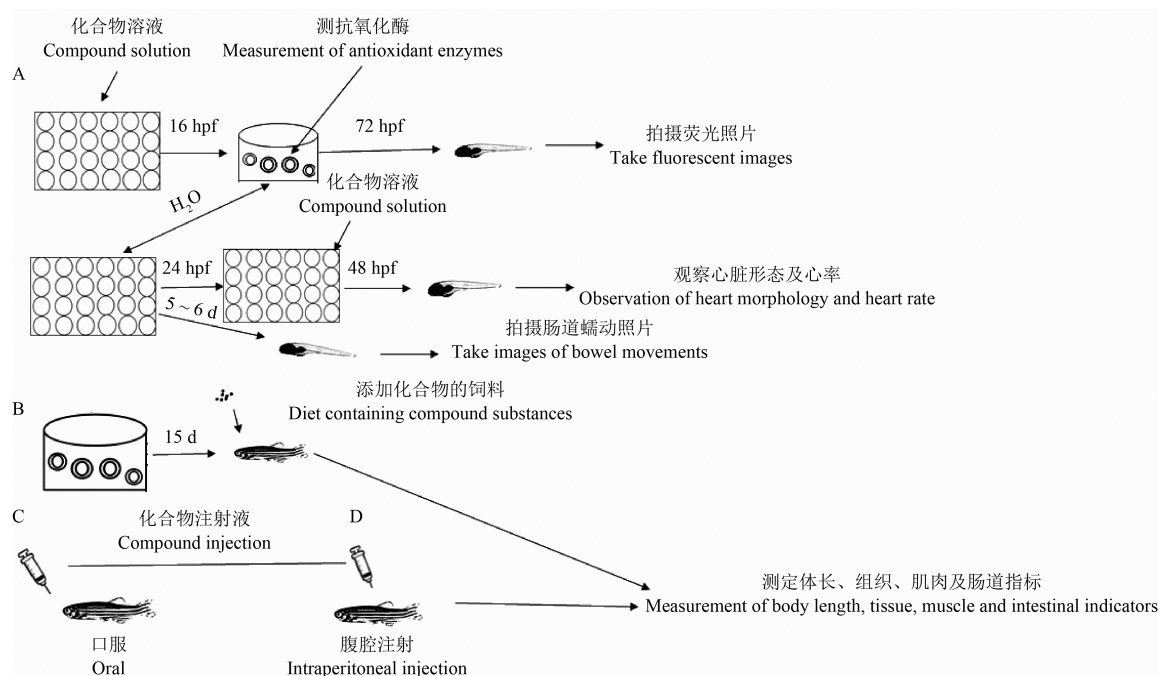
植物多糖 (plant polysaccharides, PP) 是由相同或者不同的单糖通过 α -或者 β -糖苷键组成的聚合度 10 以上的化合物^[1]。随着分子生物学的发展, 科学界逐渐认识到, 多糖与蛋白质、核酸并列为 3 大生物大分子, 在植物体的生长发育过程中发挥着重要作用^[2]。同时, 因其具有抗氧化、免疫调节、降血脂、降血糖、抗肿瘤等生物功能^[3-6], 被广泛应用于医药、食品、饲料、保健品和化妆品行业。我国中草药资源丰富, 越来越多来源于中草药的植物多糖被应用于食品行业, 但仍存在如何快捷有效鉴别其生物活性并评价安全性的问题。

国际上公认的植物多糖生物活性评价方法有体内、外两种。体外试验可以更经济且更快的得到结论, 但在不能确定植物多糖体内吸收、分布、代谢和排泄的规律时, 进行以模式动物开展的体内试验是非常有必要。斑马鱼具有遗传同源性强、繁殖力强、发育快及透明易观察等特点, 继大鼠和小鼠之后, 被美国国家卫生研究院 (National Institutes of Health, NIH) 列为第三大模式动物, 已在药物研发、药理毒理学领域得到了广泛应用。近年来, 植物多糖的研发和应用已成为食品领域研究的重点和热点, 模式生物斑马鱼在植物多糖生物活性评价方面得到了一定程度的应用。因此, 本文综述了

斑马鱼模型在植物多糖生物活性评价中的应用进展。

1 斑马鱼在植物多糖生物活性评价中的优势

斑马鱼作为一种脊椎动物模型, 已经被广泛应用于发育生物学、药物开发、安全药理学、毒理学及人类疾病模型的构建等研究领域^[7]。与其他哺乳类模式动物相比, 斑马鱼具有以下独特的生物学特性: 在实验室条件下斑马鱼可以实现全年产卵, 雌性斑马鱼每周可产数百枚卵, 具有很强的繁殖能力; 斑马鱼胚胎发育极快, 在受精后 13 hpf (hours post fertilization, hpf) 头部形成, 24 hpf 尾部形成, 在 36 hpf 时出现所有器官的前体, 并且 3 个月后成鱼就可以达到生殖成熟期^[8]; 斑马鱼与人类的遗传同源性高达 87%^[9], 并且具有遗传可操作与再生能力^[10], 这使得斑马鱼成为近年来研究脊椎动物胚胎发育及造血分化的动物模型^[11]; 斑马鱼胚胎及幼鱼透明便于观察; 给药方式多样, 最常见的方法是将化合物直接添加到培养斑马鱼胚胎、幼虫或成鱼的培养基或水中^[12]; 此外, 还可以将不溶性物质纳入饲料中, 以制备直径为 5 mm 的颗粒饲喂斑马鱼^[13]; 口服灌胃和注射可用于输送精确剂量的溶液 (图 1)^[14-15]。



注: A: 浸没在溶解了化合物的水中; B: 用添加化合物的饲料喂养; C: 麻醉后口服化合物溶液; D: 麻醉后腹腔注射化合物溶液。

图 1 斑马鱼给药方式及可测定指标

Note. A. Submerged in water with dissolved compounds. B. Feed with compound-added feed. C. Oral compound solution after anesthesia. D. Injection of compound solution after anesthesia.

Figure 1 Zebrafish administration method and measurable indicators

2 斑马鱼及其胚胎在植物多糖功能测定中的应用

在过去的 20 年里,斑马鱼因其生物学优势,逐渐成为生物和生物医学研究的最佳模式动物之一。虽然斑马鱼最初是作为发育遗传学的模型而被开发,但是它的用途已迅速扩展到植物多糖的多种生物活性研究中。

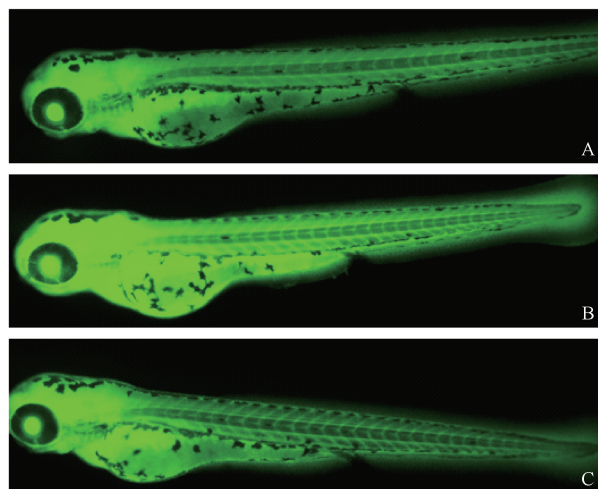
2.1 抗氧化活性

斑马鱼作为被广泛应用的抗氧化模型,通常采用偶氮二异丁脒盐酸盐(2, 2'-Azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride, AAPH)、 H_2O_2 、百草枯、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)等处理诱导产生氧化应激,并产生包括活性氧(reactive oxygen species, ROS)和 NO^- 在内的自由基。ROS 是斑马鱼体内代谢的产物,可以被特异性的染料检测,加上斑马鱼胚胎透明的特点使得检测结果更加明显,用斑马鱼体内 ROS 检测模型检测 ROS 水平具有可靠、快速、高效、经济和高通量等优点^[16]。植物多糖作为天然存在的有效成分,常被用作食品添加剂。多糖分子上存在的还原性半醛羟基,可以与超氧阴离子自由基发生氧化还原反应,去除脂质过氧化反应产生的多余 ROS。如图 2 所示,用 2', 7'-二氯荧光黄双乙酸(2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA)预处理斑马鱼幼鱼在荧光显微镜下为绿色,荧光强度弱说明斑马鱼体内 ROS 产生少。Wang 等^[17]利用柑橘果渣制备其水提物,并研究了其体内抗氧化活性,结果发现,柑橘果渣水提物可显著提高 AAPH 诱导的斑马鱼胚胎存活率并缓解心率,降低斑马鱼胚胎的 ROS 和细胞死亡水平。同样, Kang 等^[18]研究发现,与 AAPH 诱导的氧化应激模型组相比,芦荟多糖的预暴露可显著降低斑马鱼胚胎的 ROS 水平和细胞死亡率,且呈剂量依赖性。Jayawardena 等^[19]利用分离纯化后的岩藻多糖(F10)对 LPS 处理的斑马鱼模型进行研究,结果表明 F10 有效降低了 LPS 诱导产生的斑马鱼胚胎中的 NO^- 、ROS 和细胞死亡水平且呈现剂量依赖性,同时斑马鱼胚胎中的炎性介质一氧化氮合酶、诱生型环氧化酶均被下调。对于高离子辐射引起的斑马鱼氧化应激而言,植物多糖同样具有缓解作用。Lee 等^[20]研究发现铁钉菜多糖对 γ 射线诱导斑马鱼产生氧化应激的影响,研究显示铁钉菜多糖可以增加斑马鱼存活率,减少卵黄囊水肿

及尾巴弯曲等畸形,同时也减少了斑马鱼细胞死亡率、ROS 和 NO^- 产生率。

2.2 免疫调节活性

研究发现,斑马鱼尽管没有淋巴结但是却有丰富的淋巴和发达的胸导管,并且斑马鱼与哺乳动物的免疫系统有着极大的相似性^[21],同样具有天然免疫系统和获得性免疫系统。在出生后 2 周内建立和发育完全透明的斑马鱼胚胎,以及可用免疫细胞荧光标记的转基因斑马鱼系的发展,使得跟踪斑马鱼胚胎这一完整生物体的免疫反应成为可能^[22]。据报道,肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 是免疫系统中的一个重要媒介,通过激活巨噬细胞,刺激细胞因子的分泌来诱导先天免疫反应^[23]。先前研究发现,大多数来自植物、动物和真菌的多糖可与巨噬细胞表面受体结合,刺激 TNF- α 的分泌^[24-26]。Zhang 等^[27]利用斑马鱼证实了从芒果中分离出的 GMP90-1 按 50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 给药 24 h 后发现 TNF- α 的水平以剂量依赖的方式明显增加,分别比对照组高出 5.6%、41.7% 和 200.1%,其他关于免疫功能基因白介素-6 和白介素-1 β 的水平也成剂量依赖性增加。Udayangani 等^[28]将从燕麦中提取的纳米级 β -葡聚糖可以上调斑马鱼幼鱼的 TNF- α 、白介素-1、 β -防御素、溶菌酶、白介素-10 及白介素-12 等,发现其可能具有触



注:A:未经诱导的斑马鱼幼鱼;B:诱导后的斑马鱼幼鱼;C:添加植物多糖预保护的斑马鱼幼鱼。

图 2 斑马鱼 ROS 产生率变化

Note. A. Uninduced zebrafish larvae. B. Zebrafish larvae after induction. C. Zebrafish larvae pre-protected with added plant polysaccharides.

Figure 2 Changes in ROS production rate in zebrafish

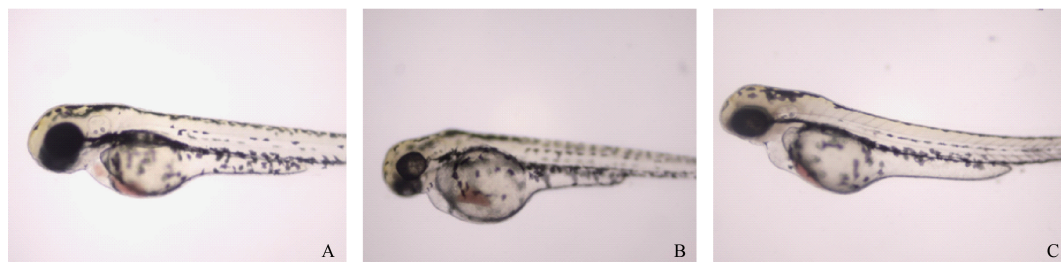
发先天性免疫的能力。同时还有其他研究证实从大冬青叶^[29]、金银花和山竹中分离出来的多糖同样也具有提高免疫调节的能力^[30-31]。

总之,斑马鱼在为评价植物多糖的免疫能力和免疫活性物质的相关应用中提供了理想的模型,不仅可以确定植物多糖的适宜浓度,还可以确定添加的形式,因此斑马鱼在验证植物多糖免疫方面具有很广阔的开发前景。

2.3 心脏保护

斑马鱼的心脏是两腔的,但与人类有共通的基本特性,其心率、收缩力学与动作电位等与人类在

生理方面表现出相同的特征^[32-34]。斑马鱼的心脏由心房、心室、动脉球及静脉窦组成,位于鱼体头段与胸腹段交界处最后一对鳃丝的后下方。在 5 hpf 时,心脏祖细胞出现,于 16 ~ 22 hpf 分化为心室和心房的心肌细胞^[35];24 hpf 跳动的线性心脏血管发育形成;48 hpf 心肌细胞重新排列,心脏的发育基本完成,心脏通过舒张期实现泵血功能^[36]。同时斑马鱼在早期的发育阶段并不依赖心脏循环生存。因此,心脏的发育紊乱不会立即造成胚胎死亡。再加上斑马鱼全身透明的特点可以看到心脏,使得斑马鱼成为一个具有吸引力的心脏模型(图 3)。



注:A:正常斑马鱼心脏形态;B:特非那定处理后斑马鱼心脏形态;C:添加植物多糖预保护后斑马鱼心脏形态。

图 3 斑马鱼心脏形态变化

Note. A. Heart morphology of normal zebrafish. B. Heart morphology of zebrafish after terfenadine treatment. C. Heart morphology of zebrafish after pre-protection with plant polysaccharides.

Figure 3 Morphological changes in zebrafish heart

特非那定,是一种从抗精神病药物的筛选中发现用于治疗过敏性疾病,和可选择性阻断 H1 受体而产生抗组胺作用的药物,常被用来诱导斑马鱼的心脏损伤^[37]。研究发现许多植物提取物均可以缓解由特非那定所引起的斑马鱼心脏损伤。斑马鱼的心率是评价心功能的指标之一,记录每分钟的心跳次数可用来评价植物多糖对心脏毒性的影响。例如段文娟等^[38]研究了不同相对分子质量的瓜蒌多糖使特非那定诱导的斑马鱼心率上升、缓解了斑马鱼的心率异常活性,其中 100 $\mu\text{g/mL}$ 总样、1 $\mu\text{g/mL}$ 石油醚萃取物和 10 $\mu\text{g/mL}$ 石油醚萃取物具有显著的保护作用,乙酸乙酯萃取物和水层样品在 100 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度下表现出一定的改善心脏毒性作用。郑秀花等^[39]则探究了瓜蒌不同部位的多糖对于特非那定引起的血流的节间血管数量和心率下降具有缓解作用,且结果表明 60%醇沉的瓜蒌多糖对心脏的保护作用最好。何俊霖等^[40]利用斑马鱼模型研究发现中低剂量异甘草素具有良好的抗血管生成和减慢心率的作用,高剂量则会随着作用时间的延长起到抑制发育的作用。静脉窦(SV)是血液进入心房的部位,动脉球(BA)是血液流出心室的

部位。斑马鱼 SV-BA 的距离可反应心脏环化程度,心房和心室的位置发生改变,SV-BA 距离相应变化。通过在显微镜下测量 SV-BA 间距可判断植物多糖对斑马鱼心脏的影响^[41]。陈秋燕等^[42]研究证明添加不同浓度提纯后的麸皮多糖能够使受损伤后的斑马鱼心脏 SV-BA 间距缩小,同时在最优浓度时斑马鱼的心脏损伤修复率可达 82.19% (斑马鱼心脏损伤修复率;心脏损伤修复率(%) = (给药治疗组斑马鱼心脏 SV-BA 间距 - 特非那定组斑马鱼心脏 SV-BA 间距) / (正常对照组斑马鱼 SV-BA 间距 - 模型组斑马鱼 SV-BA 间距) $\times$ 100%)。此外原花青素和西洋参等的多糖提取物同样具有心脏保护作用^[43-44]。可见,以斑马鱼为模型探讨植物多糖对心脏的保护是切实可行的,同时也为各类植物中药的研发带来了新思路。

2.4 脂质代谢

斑马鱼的脂质分布及代谢与人类的非常相似,并且斑马鱼体内主要的载脂蛋白人类的载脂蛋白具有很高的同源性。迄今为止,关于高脂血症模型的大多数研究都集中在哺乳动物上,包括高脂饮食诱导的高脂血症的小鼠、大鼠、兔和仓鼠模型。但

是,这些模型通常耗时且昂贵^[45-46]。用细胞模型进行药物筛选也是可行的,但是由于细胞模型缺乏器官结构,难以分析各组织器官中的脂质代谢情况。对比而言斑马鱼可以全程观察并研究其发育状况,方便分析饮食中的脂类分子在体内代谢的情况,为在斑马鱼幼虫中大规模筛选影响脂类代谢的小分子化合物提供了基础。例如,Wei 等^[47]利用固态发酵杏鲍菇产生的多糖(PESF)能够显著减少斑马鱼幼体高脂血症模型中的脂滴数量。在浓度为 200、400 和 600 $\mu\text{g/mL}$ 时,PESF 将脂质含量分别降低到 $(62\% \pm 20\%)$ 、 $(33\% \pm 9\%)$ 和 $(67\% \pm 15\%)$,结果表明,PESF 在斑马鱼幼体高脂血症模型中具有抑制脂质积累的生物活性。同时还有研究发现从菊苣中提取的多糖可以通过降低总胆固醇和甘油三酸酯的含量减少肝脂肪的变性,进而对高胆固醇诱导的斑马鱼幼鱼起到降脂作用,还可以减少脂质合成相关基因脂肪酸合成酶基因和固醇调节元件结合转录因子重组蛋白 1,并增加脂质氧化相关基因的表达^[48]。

除此之外,高胆固醇斑马鱼模型已运用于抗动脉粥样硬化植物化学物质的筛选和机理研究中。例如,姜黄和月桂树的水提取物已显示出可以减轻体重,并能够降低以高脂肪日粮(HCD)喂养的斑马鱼的总胆固醇和甘油三酯水平^[49]。该小组随后使用相同的 HCD 斑马鱼模型研究出 1,8-桉树脑(姜黄和月桂叶粉的亲水提取物的主要成分)可以通过提高抗氧化活性和增强的胆固醇逆向转运发挥抗炎和降脂作用^[50]。此外,使用高胆固醇斑马鱼模型还揭示了肉桂和丁香的水提取物以及葡萄皮^[51],枇杷叶和巴西莓的水提取物的抗动脉粥样硬化活性^[52]。

2.5 肠道蠕动

斑马鱼没有典型结构的胃,但消化管胃段在功能上与人类的胃高度同源。在细胞学和解剖学角度,斑马鱼的肠道结构与人类的相似,均由上皮细胞、结缔组织、环状肌及外纵肌组成^[53],并且在功能上也与人类高度同源。在 72 hpf 时斑马鱼胚胎发育成幼鱼,在摄食的情况下,首次出现不稳定的肠道自发性收缩。当斑马鱼幼鱼发育至 120 ~ 144 hpf 时,其肠道出现自发性的蠕动,这时便可以通过观察植物多糖对斑马鱼肠道蠕动次数的影响来评价植物多糖对斑马鱼肠道功能的作用。

尼罗红(9-二乙氨基-5 H-苯并[α]吩恶嗪-5-酮)是一种无毒,可用于标记活体细胞培养中的

巨噬细胞、平滑肌细胞中脂滴的荧光染料^[54]。当用尼罗红溶液处理斑马鱼卵时,可与含有丰富脂肪的卵黄囊结合。当斑马鱼成长到 5 ~ 6 d 时,大部分的卵黄囊被吸收,斑马鱼开始依靠自发的肠蠕动进食,在荧光显微镜下可以清晰的观察到斑马鱼肠道中尼罗红分布,同时尼罗红不会被其他组织所吸收^[55](图 4)。当斑马鱼肠道的荧光强度减弱时,说明给予的食品或药物有助于肠蠕动。研究发现,添加浓度为 125、250、500、1000 和 2000 $\mu\text{g/mL}$ 益身清(多种植物提取物的产物)时斑马鱼肠道内容物的荧光强度显著低于对照组,且促进肠蠕动的作用也从 0% 随着浓度的增加分别上升到 25%、45%、49%、62%、66%^[56]。杨胜杰等^[57]认为管花肉苁蓉提取物可以明显促进斑马鱼肠道蠕动,且呈剂量依赖性,并且在浓度 2000 $\mu\text{g/mL}$,促进率可达 23.26%,达到润肠通便的能力。低聚果糖是一类重要的功能性低聚糖,广泛存在于菊苣、菊芋、大蒜、洋葱及小麦等植物中^[58]。侯海荣等^[59]在研究过程中得出了随着低聚果糖溶液浓度在 125 ~ 500 mg/mL 浓度范围内增加时,斑马鱼的肠道蠕动次数也逐渐增加,并且在 500 mg/mL 的低聚果糖溶液处理 24 h 后,斑马鱼的肠道收缩强度与蠕动也更加明显。由上可知斑马鱼的肠道蠕动模型可以为之后植物多糖提取物在药品中的添加提供实验依据。

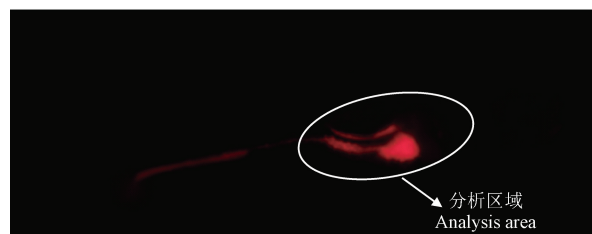


图 4 斑马鱼肠道内容物荧光染色图(尼罗红)

Figure 4 Fluorescent staining of zebrafish intestinal contents (Nile red)

3 结语

当前,关于植物多糖的生物活性研究主要集中于体外试验,缺乏体内试验研究。因此本文着重介绍了植物多糖评价中的斑马鱼模型,总结和讨论将斑马鱼作为一种工具,为快速、经济的筛选和评估对人类健康有潜在益处的植物多糖提供了一种可靠且易用的策略。同时为了使斑马鱼对人类健康更具指导意义,应进一步进行特定的基因敲除、过

度表达或引入目标基因来探索斑马鱼与人类之间的机制关系,以及了解植物多糖对斑马鱼的调节机制,使植物多糖在未来的开发中发挥出精准作用。此外应多关注植物多糖在斑马鱼的添加形式及时间,研究植物多糖在斑马鱼中的生物利用度和生物可及性。总的来说,斑马鱼模型是评价植物多糖的有效工具,可以在功能食品、营养品和化妆品的开发中发挥重要作用。

参 考 文 献(References)

- [1] Delattre C, Fenoradosa TA, Michaud P. Galactans: an overview of their most important sourcing and applications as natural polysaccharides [J]. *Braz Arch Biol Technol*, 2011, 54 (6): 1075–1092.
- [2] Cosgrove DJ. Growth of the plant cell wall [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(11): 850–861.
- [3] Jin M, Huang Q, Zhao K, et al. Biological activities and potential health benefit effects of polysaccharides isolated from *Lycium barbarum* L [J]. *Int J Biol Macromol*, 2013, 54: 16–23.
- [4] Wasser SP. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, 60(3): 258–274.
- [5] Xie JH, Liu X, Shen MY, et al. Purification, physicochemical characterisation and anticancer activity of a polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* leaves [J]. *Food Chem*, 2013, 136(3–4): 1453–1460.
- [6] Xie JH, Wang ZJ, Shen MY, et al. Sulfated modification, characterization and antioxidant activities of polysaccharide from cyclocaryapaliurus [J]. *Food Hydrocolloid*, 2016, 53: 7–15.
- [7] Love DR, Pichler FB, Dodd A, et al. Technology for high-throughput screens; the present and future using zebrafish [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2004, 15(6): 564–571.
- [8] McGrath P, Li CQ. Zebrafish: a predictive model for assessing drug-induced toxicity [J]. *Drug Discov Today*, 2008, 13(9–10): 394–401.
- [9] Woo K, Shih J, Fraser SE. Fate maps of the zebrafish embryo [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 1995, 5(4): 439–443.
- [10] Brönnimann D, Annese T, Gorr TA, et al. Splitting of circulating red blood cells as an *in vivo* mechanism of erythrocyte maturation in developing zebrafish, chick and mouse embryos [J]. *J Exp Biol*, 2018, 221(15): jeb184564.
- [11] de Jong JL, Zon LI. Use of the zebrafish system to study primitive and definitive hematopoiesis [J]. *Annu Rev Genet*, 2005, 39: 481–501.
- [12] Caro M, Iturria I, Martinez-Santos M, et al. Zebrafish dives into food research: effectiveness assessment of bioactive compounds [J]. *Food Funct*, 2016, 7(6): 2615–23.
- [13] Dos Santos MM, de Macedo GT, Prestes AS, et al. Modulation of redox and insulin signaling underlie the anti-hyperglycemic and antioxidant effects of diphenyl diselenide in zebrafish [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 158: 20–31.
- [14] Collymore C, Rasmussen S, Tolwani RJ. Gavaging adult zebrafish [J]. *J Vis Exp*, 2013, 11(78): 50691.
- [15] Yan C, Do D, Yang Q, et al. Single-cell imaging of human cancer xenografts using adult immunodeficient zebrafish [J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(9): 3105–3128.
- [16] Casares L, García V, Garrido-Rodríguez M, et al. Cannabidiol induces antioxidant pathways in keratinocytes by targeting BACH1 [J]. *Redox Biol*, 2020, 28(10): 13–21.
- [17] Wang L, Lee WW, Yang HW, et al. Protective effect of water extract of citrus pomace against aaph-induced oxidative stress *in vitro* in vero cells and *in vivo* in zebrafish [J]. *Prev Nutr Food Sci*, 2018, 23(4): 301–308.
- [18] Kang MC, Kim SY, Kim YT, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activities of polysaccharide purified from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) gel [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 99: 365–371.
- [19] Jayawardena TU, Fernando IPS, Lee WW, et al. Isolation and purification of fucoidan fraction in turbinaria ornata from the maldives; inflammation inhibitory potential under LPS stimulated conditions in *in vitro* and *in vivo* models [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 131: 614–623.
- [20] Lee WW, Kang N, Kim AE, et al. Radioprotective effects of a polysaccharide purified from lactobacillus plantarum-fermented ishigeokamurae against oxidative stress caused by gamma ray-irradiation in zebrafish *in vivo* model [J]. *J Funct Foods*, 2017, 28: 83–89.
- [21] Pressley ME, Phelan PE 3rd, Witten PE, et al. Pathogenesis and inflammatory response to edwardsiella tarda infection in the zebrafish [J]. *Dev Comp Immunol*, 2005, 29(6): 501–513.
- [22] Zapata A, Diez B, Cejalvo T, et al. Ontogeny of the immune system of fish [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2006, 20(2): 126–136.
- [23] Tang S, Jiang M, Huang C, et al. Characterization of arabinogalactans from larix principis-rupprechtii and their effects on no production by macrophages [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 200: 408–415.
- [24] Lee SY, Zaske AM, Novellino T, et al. Probing the mechanical properties of TNF- α stimulated endothelial cell with atomic force microscopy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2011, 6: 179–195.
- [25] Feng J, Chang X, Zhang Y, et al. Characterization of a polysaccharide HP-02 from honeysuckle flowers and its immunoregulatory and anti-aeromonas hydrophila effects in *Cyprinus carpio* L [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 140: 477–483.
- [26] Wen Y, Peng D, Li C, et al. A new polysaccharide isolated from morchella importuna fruiting bodies and its immunoregulatory mechanism [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 137: 8–19.
- [27] Zhang S, Li Z, Wang X, et al. Isolation, structural elucidation, and immunoregulation properties of an arabinofuranan from the rinds of garcinia mangostana [J]. *Carbohydr Polym*. 2020, 246: 116567.

- [28] Udayangani RMC, Dananjaya SHS, Fronte B, et al. Feeding of nano scale oats β -glucan enhances the host resistance against *edwardsiella tarda* and protective immune modulation in zebrafish larvae [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2017, 60: 72–77.
- [29] Prata MNL, Charlie-Silva I, Gomes JMM, et al. Anti-inflammatory and immune properties of the peltatoside, isolated from the leaves of *annona crassiflora* mart., in a new experimental model zebrafish [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2020, 101: 234–243.
- [30] Zhang S, An L, Li Z, et al. An active heteropolysaccharide from the rinds of *garcinia mangostana* linn.: structural characterization and immunomodulation activity evaluation [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 235: 115929.
- [31] Poss KD. Advances in understanding tissue regenerative capacity and mechanisms in animals [J]. *Nat Rev Genet*, 2010, 11(10): 710–722.
- [32] Arnaout R, Ferrer T, Huiskens J, et al. Zebrafish model for human long QT syndrome [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(27): 11316–11321.
- [33] Leong IU, Skinner JR, Shelling AN, et al. Zebrafish as a model for long QT syndrome: the evidence and the means of manipulating zebrafish gene expression [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2010, 199(3): 257–276.
- [34] Yu F, Zhao Y, Gu J, et al. Flexible microelectrode arrays to interface epicardial electrical signals with intracardiac calcium transients in zebrafish hearts [J]. *Biomed Microdevices*, 2012, 14(2): 357–366.
- [35] Tu S, Chi NC. Zebrafish models in cardiac development and congenital heart birth defects [J]. *Differentiation*, 2012, 84(1): 4–16.
- [36] Zakaria ZZ, Benslimane FM, Nasrallah GK, et al. Using zebrafish for investigating the molecular mechanisms of drug-induced cardiotoxicity [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 1642684.
- [37] Vornanen M, Hassinen M. Zebrafish heart as a model for human cardiac electrophysiology [J]. *Channels (Austin)*, 2016, 10(2): 101–110.
- [38] 段文娟, 赵伟, 李月, 等. 瓜蒌不同部位对斑马鱼促血管生成及心脏保护作用 [J]. *中成药*, 2017, 39(6): 1261–1264. Duan WJ, Zhao W, Li Y et al. Angiogenic and cardioprotective effects of different parts of *trichosanthes kirilowii* on zebrafish [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2017, 39(6): 1261–1264.
- [39] 郑秀花, 郝翠, 王晓, 等. 瓜蒌多糖抗氧化及心脏保护活性研究 [J]. *食品科技*, 2017, 42(11): 222–226. Zheng XH, Hao C, Wang X, et al. Antioxidant and heart protection activities of polysaccharides from *trichosanthes kirilowii* maxim [J]. *Food Sci Technol*, 2017, 42(11): 222–226.
- [40] 何俊霖, 于思, 曹治兴, 等. 异甘草素对斑马鱼胚胎发育、血管生成和心脏的影响 [J]. *四川动物*, 2018, 37(6): 672–677. He JL, Yu S, Cao ZX, et al. Effects of Isoliquiritigenin on embryonic development, angiogenesis and heart in zebrafish embryos [J]. *SiChuan J Zool*, 2018, 37(6): 672–677.
- [41] 张利军. 斑马鱼心脏毒性评价模型的建立及美托洛尔心脏毒性作用机制研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院; 2012. Zhang LJ. Cardiotoxicity evaluation model of zebrafish and mechanism of metoprolol cardiotoxicity [D]. Beijing: Academy of Military Medical Sciences of the Liberation Army; 2012.
- [42] 陈秋燕, 王园, 尹娜, 等. 发酵麦麸阿魏酰低聚糖的纯化工艺及其心脏保护作用研究 [J]. *中国粮油学报*, 2021, 36(11): 21–28, 56. Chen QY, Wang Y, Yin N, et al. Study on purification technique of feruloylated oligosaccharides from fermented wheat bran and its heart protection activities [J]. *J Chin Cereals Oils Assoc*, 2021, 36(11): 21–28, 56.
- [43] 李智平, 韩利文, 何秋霞, 等. 原花青素对特非那定诱导的斑马鱼心脏损伤的保护作用 [J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(3): 54–57. Li ZP, Han LW, He QX, et al. Protective effect of procyanidins to terfenadine-induced cardiac injury on zebrafish embryos [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2017, 33(3): 54–57.
- [44] 吕婧, 李晨, 杨龙飞, 等. 基于斑马鱼模型的西洋参提取物心脏保护作用研究 [J]. *中国药房*, 2020, 31(3): 308–313. Lv J, Li C, Yang LF, et al. Study on the heart protective effect of panax quinquefolium extract based on zebra fish model [J]. *Chin Pharm*, 2020, 31(3): 308–313.
- [45] Chen L, Liu L, Li C, et al. A mix of apple pomace polysaccharide improves mitochondrial function and reduces oxidative stress in the liver of high-fat diet-induced obese mice [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2017, 61(3): 1–12.
- [46] Li J, Sapper TN, Mah E, et al. Green tea extract provides extensive Nrf2-independent protection against lipid accumulation and NF κ B pro-inflammatory responses during nonalcoholic steatohepatitis in mice fed a high-fat diet [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2016, 60(4): 858–870.
- [47] Wei H, Yue S, Zhang S, et al. Lipid-lowering effect of the pleurotus eryngii (king oyster mushroom) polysaccharide from solid-state fermentation on both macrophage-derived foam cells and zebrafish models [J]. *Polymers (Basel)*, 2018, 10(5): 492.
- [48] Li M, Ma J, Ahmad O, et al. Lipid-modulate activity of cichorium glandulosum boiss. et huet polysaccharide in nonalcoholic fatty liver disease larval zebrafish model [J]. *J Pharmacol Sci*, 2018, 138(4): 257–262.
- [49] Jin S, Hong JH, Jung SH, et al. Turmeric and laurel aqueous extracts exhibit *in vitro* anti-atherosclerotic activity and *in vivo* hypolipidemic effects in a zebrafish model [J]. *J Med Food*, 2011, 14(3): 247–256.
- [50] Cho KH. 1, 8-cineole protected human lipoproteins from modification by oxidation and glycation and exhibited serum lipid-lowering and anti-inflammatory activity in zebrafish [J]. *BMB Rep*, 2012, 45(10): 565–570.
- [51] Kim JY, Hong JH, Jung HK, et al. Grape skin and loquat leaf

- extracts and acai puree have potent anti-atherosclerotic and anti-diabetic activity *in vitro* and *in vivo* in hypercholesterolemic zebrafish [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 30(3): 606-614.
- [52] Rich A. A new high-content model system for studies of gastrointestinal transit: the zebrafish [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2009, 21(3): 225-228.
- [53] Flores E, Thompson L, Sirisaengtaksin N, et al. Using the protozoan *paramecium caudatum* as a vehicle for food-borne infections in zebrafish larvae [J]. *J Vis Exp*, 2019, 143: 10.
- [54] 石玉新, 穆迪, 武洪庆, 等. 微藻油脂含量的几种快速测定方法 [J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(21): 11067-11069.
- Shi YX, Mu Di, Wu HQ, et al. Several methods for rapid determination of lipid from algal culture [J]. *Anhui Agric Sci*, 2012, 40(21): 11067-11069.
- [55] 周娟, 郭胜亚, 李春启. 建立斑马鱼肠蠕动模型及筛选促胃肠动力药物的方法: CN103301480A [P]. 2019-11-08.
- Zhou J, Guo SY, Li CQ. Establishment of a zebrafish intestinal motility model and screening of pro-gastrointestinal motility drugs: CN103301480A [P]. 2019-11-08.
- [56] 钱星文, 谭转换, 朱晨, 等. 益身清对斑马鱼的肠道蠕动促进作用研究 [J]. *中医药导报*, 2020, 26(15): 22-24.
- Qian XW, Tan ZH, Zhu C et al. Study on the promoting effect of yishenqing on intestinal peristalsis of zebrafish [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharm*, 2020, 26(15): 22-24.
- [57] 杨胜杰, 刘明川, 杨进平, 等. 管花肉苁蓉提取物通便作用的实验研究 [J]. *北方药学*, 2019, 16(8): 128-130.
- Yang SJ, Liu MC, Yang JP, et al. The effect of *cistanche tubulosa* extract on intestinal peristalsis of zebrafish [J]. *J North Pharm*, 2019, 16(8): 128-130.
- [58] 丁晓雯, 周才琼. 保健食品原理 [M]. 重庆: 西南师范大学出版社; 2008.
- Din XW, Zhou CQ. Principles of health food [M]. Chongqing: Southwest Chin Normal Univer Press; 2008.
- [59] 侯海荣, 张姗姗, 孙晨, 等. 低聚果糖和低聚异麦芽糖促进斑马鱼肠道蠕动作用的研究 [J]. *山东科学*, 2016, 29(6): 56-61.
- Hou HR, Zhang SS, Sun C, et al. The effect of fructo oligosaccharides and isomalto-oligosaccharide on the intestinal peristalsis of zebrafish [J]. *Shandong Sci*, 2016, 29(6): 56-61.

[收稿日期] 2021-10-18

《中国比较医学杂志》稿约

国内刊号 CN 11-4822/R 国际刊号 ISSN 1671-7856 邮局代号 82-917

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊)。征稿的范围是与人类生命与健康密切相关的实验动物与动物实验等生命科学各分支学科,重点刊载比较医学成果和进展。栏目设置包括研究报告、综述与专论、研究快报、研究简讯、技术与方法、经验交流、学术动态、国外研究进展、学术信息、简讯等栏目。要求来稿数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、被《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》、中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、中国生物医学期刊数据库等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章正文字数在 5000 字左右。

投稿网址: <http://zgswdw.cnjournals.com/zgbjyxxz/ch/index.aspx>

期待您的来稿!