

斑马鱼在炎症性肠病机制及药物研究中的应用进展

赵 鑫, 王晨曦, 石文清, 娄月芬

(同济大学附属上海市第四人民医院药剂科, 上海 200434)

[摘要] 炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一类由遗传、免疫、环境等多因素共同驱动的慢性复发性肠道疾病, 主要包括溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis) 和克罗恩病 (Crohn's disease) 2 种类型。当前的 IBD 疾病研究中, 小鼠与斑马鱼是最常用的实验动物。其中, 斑马鱼凭借其独特优势成为理想模型。相较于啮齿类动物, 斑马鱼具有生长周期短、繁殖能力强、体型小巧及胚胎透明等特点, 不仅便于动态追踪连续性病理变化, 还能高效实现高通量药物筛选。斑马鱼的基因与人类同源性达 70% 以上, 肠道细胞组成及发育过程与人类高度相似, 且其肠道菌群与人类肠道微生态特征接近, 为研究肠道菌群与 IBD 的关联奠定了良好基础。随着生物技术的发展, 基于化学诱导和基因工程构建的斑马鱼 IBD 模型, 可精准模拟人类 IBD 的核心病理特征, 如肠壁增厚、炎性细胞浸润、促炎因子表达升高等, 该模型在揭示发病机制和开发靶向药物中发挥了关键作用。本文首先阐述斑马鱼的肠道特征及 IBD 模型特点, 进而从遗传、免疫、环境与饮食、感染等维度深入剖析其在 IBD 发病机制研究中的应用, 同时综述其在抗炎药物、益生菌、中药等治疗药物开发中的研究进展, 旨在为科研工作者在临床前研究的各阶段合理运用斑马鱼模型提供参考, 以推动 IBD 基础研究领域的深入发展, 并期望能加速该领域的突破。

[关键词] 斑马鱼; 炎症性肠病; 药物研究; 动物模型

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2025)04-0422-10



Advances in the Application of Zebrafish in the Research of Inflammatory Bowel Disease Mechanisms and Drug Development

ZHAO Xin, WANG Chenxi, SHI Wenqing, LOU Yuefen

(Department of Pharmacy, Shanghai Fourth People's Hospital, School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200434, China)

Correspondence to: LOU Yuefen (ORCID: 0009-0005-9622-6059), E-mail: louyuefen@tongji.edu.cn

[ABSTRACT] Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic, relapsing intestinal disorder driven by multiple factors including genetics, immunity, and environment, and is clinically classified into ulcerative colitis and Crohn's disease. Currently, mice and zebrafish are the primary experimental animals used in IBD research, among which zebrafish have emerged as an ideal model due to their unique advantages. Compared with rodent models, zebrafish serve as an effective and convenient model, offering advantages such as a short life cycle, robust reproductive capacity, small size, and transparent embryos. These characteristics make zebrafish highly suitable for dynamic tracking of continuous pathological progression and high-throughput drug screening. Zebrafish share over 70% genetic homology with humans, and their intestinal cellular composition and ontogeny closely resemble those of humans. Moreover, the structure and characteristics of their gut microbiota are similar to the human intestinal microbiome, providing a solid foundation for studying the relationship between gut microbiota and IBD. With advances in biotechnology, zebrafish IBD models generated by chemical induction or genetic engineering can accurately simulate the core pathological features of human IBD, such as intestinal wall thickening, inflammatory cell infiltration, and elevated expression of pro-inflammatory factors. These models have played a significant role in

[基金项目] 上海市第四人民医院科研启动项目“基于肠道菌群-炎症反应探讨‘黄芩-黄连’药对‘相须’干预溃疡性结肠炎的作用机制和药效物质研究”(sykyqd09601)

[第一作者] 赵 鑫 (1986—), 女, 博士, 主管药师, 研究方向: 药效物质基础与临床药学研究。E-mail: zhaoxin1@tongji.edu.cn

[通信作者] 娄月芬 (1974—), 女, 硕士, 主任药师, 研究方向: 药事管理与临床药学研究。E-mail: louyuefen@tongji.edu.cn. ORCID: 0009-0005-9622-6059

revealing the pathogenesis of IBD as well as the development of targeted therapeutic drugs. This article first outlines the intestinal characteristics of zebrafish and features of zebrafish IBD models, then provides an in-depth analysis of their application in IBD pathogenesis research from multiple aspects, including genetics, immunity, environment and diet, and infection. It also reviews research progress on the application of zebrafish in the development of anti-inflammatory drugs, probiotics, and traditional Chinese medicine therapies, aiming to provide researchers with references for the rational use of zebrafish models at all stages of preclinical research, to advance fundamental IBD research and accelerate breakthroughs in this field.

[Key words] Zebrafish; Inflammatory bowel disease; Drug research; Animal model

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一种慢性、特发性、炎症性肠道疾病, 具有终生复发的倾向, 属于自身免疫性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 和克罗恩病 (Crohn's disease, CD) 2 种类型。UC 主要发病于患者的结直肠部位, 而 CD 可损害从口腔到肛门的任意消化道部位, 临床症状主要表现为腹泻、腹痛、血便, 部分患者还可能出现严重的肠外并发症^[1]。IBD 患者以青壮年为主, 同时也涵盖一定比例的儿童和老年人。在中国, IBD 发病率呈现显著的地域性和城乡差异, 其中东部地区及城市的发病率已接近部分西方国家水平, 且随着城市化和工业化进程的加速, 环境及饮食因素对 IBD 发病的影响日益显著。从疾病亚型分布来看, 东西方国家在 UC 与 CD 的发病率上存在显著差异: 以中国为代表的亚洲国家的 UC 发病率显著高于 CD, 这与西方国家的疾病分布特征形成鲜明对比。这种差异提示, 遗传因素或遗传与环境间的复杂相互作用在东西方人群间可能存在显著不同。因此, 针对 IBD 的研究需要充分考虑地域特异性, 采取更科学合理的研究策略^[2-3]。

IBD 的病因和发病机制复杂, 感染、遗传、免疫、环境等因素在一定程度上均与疾病的发生、发展相关, 研究人员可通过动物模型研究疾病发生、发展的机制。动物模型在治疗药物的开发中发挥不可替代的作用。目前, 最成熟的 IBD 疾病模型是小鼠模型, 建立方法包括化学诱导、基因敲除等^[4]。然而, 对于这种慢性炎症性肠道黏膜损伤的疾病, 研究人员无法在小鼠上观察到连续性的病理变化。此外, 小鼠建模周期长、基因敲除操作困难及费用昂贵等因素, 也在一定程度上制约了研究进展。为寻找更高效的动物模型, 越来越多的研究将斑马鱼应用于 IBD 的研究中。斑马鱼属于脊椎动物, 其生长发育过程以及组织系统结构与人类有高度相似性, 与人类基因组的同源性达 70% 以

上^[5], 且繁殖周期短、透明易观察, 是研究人类疾病强有力的临床前模式生物。因此, 本文将介绍斑马鱼的肠道特征、斑马鱼 IBD 模型的特点, 以及斑马鱼应用于 IBD 发病机制和药物疗效评估的研究进展, 以帮助科研人员在临床前研究的不同阶段合理选择斑马鱼模型, 从而推动 IBD 发病机制研究和治疗药物研发。

1 斑马鱼的肠道特征

斑马鱼的肠道位于腹腔底部, 呈“S”形排布, 分为前肠、中肠和后肠 3 段, 肠壁由内到外依次为黏膜层、肌层和浆膜层, 具有生物屏障、黏液屏障和上皮屏障^[6]。斑马鱼的肠壁结构与人类近似, 但是其肠道结构组成和生物学功能上仍然与人类存在一些差异。斑马鱼无真正的胃, 其前肠承担了食物存储和初步消化的功能。斑马鱼的前肠缺乏胃腺, 因此没有低 pH 值, 在稳态条件下, 其肠道的 pH 值不低于 7.5; 中肠是主要的消化和吸收部位, 能够分泌大量的消化酶参与蛋白质和脂质的消化吸收过程; 而后肠主要负责水分和离子的吸收^[7]。因此, 斑马鱼虽不具备人类的 5 段式肠道结构, 即十二指肠、空肠、回肠、盲肠 (阑尾) 和结肠, 但二者的肠道仍存在功能同源性。

与人类肠道上皮细胞类似, 斑马鱼的肠道上皮细胞在整个生命过程中也是持续更新的。斑马鱼的肠上皮细胞之间分布着数量众多的杯状细胞、肠内分泌细胞和肠干细胞。杯状细胞和肠内分泌细胞顶端开口于肠腔内, 杯状细胞分泌的糖胺聚糖与黏蛋白中包含有免疫球蛋白、溶菌酶、转移因子、几丁质、I 型干扰素及补体类物质等免疫相关因子, 构成了斑马鱼的肠黏膜免疫屏障; 肠内分泌细胞分泌的肠道激素能够调节肠道细胞的功能状态^[8]。与人类肠道上皮层不同的是, 斑马鱼的肠道上皮层缺乏肠隐窝结构 (人类的小肠腺)、隐窝结构特征性的潘氏细胞, 也没有淋巴滤泡组成的 Peyer 斑 (也叫潘氏斑), 但是在斑马鱼后肠的

肠道上皮层和固有层中分布着淋巴细胞、巨噬细胞、粒细胞、浆细胞等免疫细胞,这些免疫细胞在清除病菌以及参与自身免疫中发挥了重要作用。斑马鱼和人类之间的肠道细胞发育谱系有明显的重叠,且斑马鱼的肠上皮在生理、发育和遗传水平上与人类肠上皮存在广泛的相似性。因此,斑马鱼作为人类肠道系统疾病的研究模型具有重要的科学价值^[9]。

肠道微生物群是参与机体正常生理过程的重要组成部分,有研究表明其也参与IBD的发病机制调控^[10]。斑马鱼是一类杂食性淡水硬骨鱼,其肠道菌群中存在大量的变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门和放线菌门细菌^[11],这些细菌门类也是人类和小鼠肠道微生物群的主要门类,并且实验室饲养的斑马鱼和野生斑马鱼之间的肠道微生物群组成具有显著的相似性,二者的肠道微生物群均受饮食、喂养和环境的影响^[12]。因此,以斑马鱼肠道微生物作为IBD疾病模型的研究对象,也有助于研究肠道微生物与人类IBD之间的相互作用机制。

2 斑马鱼IBD模型的特点

斑马鱼产卵量高,在发育的早期通体透明,且肠道细胞组成和发育过程与人类相似,已成为IBD研究的一种优势模式生物。目前,斑马鱼的IBD模型主要分为化学药物诱导模型和基因工程模型。

化学药物诱导模型主要是利用噁唑酮(oxazolone, OXZ)、2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)或者葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)作为诱导剂,通过浸泡或肠道注射给药,使斑马鱼肠黏膜被破坏、杯状细胞发生变化、肠壁增厚、炎性细胞浸润、促炎细胞因子表达增加,从而产生IBD的相关疾病特征^[13-14]。其中, TNBS和DSS是常见的诱导斑马鱼IBD模型的化学药物。可通过在斑马鱼胚胎培养基中加入TNBS来诱导受精后3~8 d的斑马鱼幼鱼,也可通过直肠内给药诱导生长3个月左右的成年斑马鱼。TNBS作为半抗原进入肠道后,与大分子组织蛋白结合成为抗原,激活T淋巴细胞,引发机体免疫反应,促进炎症介质的释放,进而破坏斑马鱼肠道屏障,导致中肠缩短、肠蠕动丧失、肠绒毛缩短。与小鼠TNBS模型类似的是,在斑马鱼体内,这种疾病的变化也不局限于肠道特定区域,可发生在斑马鱼的前肠、中肠与后肠,产生的病理症状与在人类CD中观察到的情况相似^[15]。因此,斑马鱼可作为CD

模型用于研究IBD。TNBS诱导的斑马鱼肠道炎症反应依赖于Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)信号通路和肠道微生物,在抗炎药物和抗生素处理后能缓解相关症状^[16]。DSS的硫酸基团携带高负电荷,可直接破坏肠上皮屏障并增加黏膜通透性,其致病作用也依赖于肠道微生物,可通过激活宿主免疫信号,促使大量中性粒细胞浸润。斑马鱼经DSS处理后,肠道菌群呈现过度增殖,杯状细胞代偿性增生,黏液分泌显著增加,这些特征与TNBS诱导的病理模式明显不同^[17]。相比于化学诱导的小鼠IBD模型,斑马鱼的获得性免疫要在受精后3~4周才发挥作用。因此,斑马鱼在幼鱼阶段主要是由先天性免疫发挥作用。化学诱导斑马鱼与小鼠结肠炎模型的差异具体见表1。在小鼠模型中观测到的IBD特征可以在斑马鱼化学诱导模型中迅速重现,由此可见,化学诱导斑马鱼模型在IBD发病机制研究中具有极高的实用性。化学诱导的斑马鱼模型造模时间短、易诱导、可重复,已在研究药物治疗的作用机制、筛选和开发治疗药物方面发挥了重要作用。

此外,采用基因敲除、敲入和转基因等方法构建的斑马鱼模型也广泛应用于IBD的研究。Zhao等^[18]利用基因编辑技术获得了磷酸肌醇-3-激酶3(class III PI3-kinase, *pik3c3*)基因敲除的突变品系斑马鱼,该突变体表现出了IBD的病理特征,如肠上皮组织结构的破坏,大量的中性粒细胞迁移到了肠上皮组织,炎症因子表达的显著升高等。*pik3c3*缺失导致的炎症反应不依赖于细胞自噬和内质网应激(endoplasmic reticulum stress),也不是由肠道微生物过度增殖引起的,而是肠道上皮细胞自主性损伤,从而招募大量的中性粒细胞所导致的。与化学诱导的斑马鱼模型相比,这种非感染性的肠道自发性IBD模型发病时间较晚,斑马鱼在摄食正常的情况下,逐渐出现肠上皮极性无法维持的现象,这能更好地模拟人类的IBD。Zhao等^[19]基于tRNA甲基转移酶5(tRNA methyltransferase 5, *TRMT5*)基因也构建了一种新的斑马鱼自发性IBD模型。该模型将斑马鱼*TRMT5*基因敲除,具有上皮破坏、杯状细胞减少和免疫系统过度激活等自发性发展的人类IBD病理特征,且该模型的肠道微生物多样性显著降低,有益菌减少。这些基因编辑得到的自主损伤的非感染性斑马鱼IBD模型与感染性模型有显著区别,能为IBD的发病机制提供新的视角,对自发性炎症治疗药物靶点的筛选具有推动作用,有望成为开发评估潜在IBD治疗干预措施的有效工具。

表1 化学诱导斑马鱼与小鼠结肠炎模型的比较

Table 1 Comparison of chemically induced colitis models in zebrafish and mice

比较维度	TNBS小鼠模型	DSS小鼠模型	TNBS斑马鱼模型	DSS斑马鱼模型
Comparison dimension	TNBS mouse model	DSS mouse model	TNBS zebrafish model	DSS zebrafish model
造模方式	直肠内给药	饮用水添加	培养液中添加(幼鱼,受精后3~8 d)或直肠内给药(成年鱼,受精后≥90 d)	培养液中添加(幼鱼,受精后3~8 d)
Modeling methods				
疾病类型	克罗恩病	溃疡性结肠炎	克罗恩病	溃疡性结肠炎
Disease type				
肠道组织病理损伤	肠壁全层炎症和溃疡,上皮细胞损伤,杯状细胞减少,隐窝破坏,可出现肠纤维化,见肠壁增厚,肉芽肿形成,浸润的炎性细胞以中性粒细胞为主	肠黏膜层炎症和溃疡,上皮细胞损伤,杯状细胞减少,隐窝破坏,浸润的炎性细胞以中性粒细胞为主	损伤不局限于肠道特定区域,可见中肠缩短、肠蠕动消失、肠道绒毛长度缩短、中性粒细胞浸润,杯状细胞变化不确定	中性粒细胞浸润,酸性黏液蛋白增多,肠壁增厚、肠黏膜结构破坏以及嗜酸性粒细胞浸润,杯状细胞减少
Intestinal histopathological damage				
肠道微生物依赖	是	是	是	是
Intestinal microbiota dependence				
先天免疫	有	有	有	有
Innate immunity				
适应性免疫	有	有	无(幼鱼,受精后3~8 d),有(成年鱼,受精后≥90 d)	无
Adaptive immunity				

注: TNBS, 2,4,6-三硝基苯磺酸; DSS, 葡聚糖硫酸钠。
Note: TNBS, 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid; DSS, dextran sulfate sodium.

3 斑马鱼在IBD病因与发病机制研究中的应用及局限性

IBD是感染、遗传、免疫、环境、微生物等多因素相互作用而产生的一种难治愈的慢性肠道疾病。斑马鱼作为一种低成本、生长周期短的实验动物,在IBD发病机制的遗传和环境方面具有突出的优势,它的光学透明性使其可直接、动态地跟踪疾病的发展状态,能为发病机制的了解提供有价值的信息。

3.1 遗传易感性因素研究

遗传因素在IBD的发病过程中起着重要作用。目前,已发现100多个IBD的致病基因,这对IBD的早期诊断和分类、预测治疗反应和药物毒性具有重要意义^[20]。斑马鱼基因与人类基因有高度的相似性,通过简单且有效的反向遗传学手段,可在斑马鱼基因组中实现特定基因的突变、过表达或缺失。因此,斑马鱼是研究IBD遗传易感基因的有力工具。

NOD样受体(NOD-like receptor, NLR)家族的2个重要受体蛋白NOD1和NOD2对维持肠道微生态和黏膜屏障作用至关重要,人类与斑马鱼的NOD信号具有高度的同源性。Oehlers等^[21]用斑马鱼研究NLR蛋白

家族在IBD发病机制中的作用,通过整体原位杂交技术分析了受精后4~5 d斑马鱼幼虫中NOD信号通路相关基因的表达,并采用Morpholino敲低技术探究了NOD1和NOD2在抗菌免疫中的功能。研究发现,NOD1、NOD2及其下游信号通路基因在斑马鱼的肠上皮细胞中表达,发挥抗病原菌的作用;敲低NOD1和NOD2虽不影响斑马鱼的胚胎发育,但是会降低肠上皮细胞双氧化酶的表达,削弱对细菌感染的抵抗力。该研究证实了斑马鱼NOD1和NOD2在抗菌免疫中的功能与哺乳动物具有高度保守性,这表明斑马鱼可作为研究哺乳动物IBD相关基因功能的有效模型。肠道内分泌细胞及肠道神经元产生的促分泌素(secretagoin, SCGN)可能是IBD的一个风险基因。Sifuentes-Dominguez等^[22]通过SCGN基因敲低的斑马鱼模型验证了SCGN的功能,SCGN的缺乏会异常激活炎症,加剧肠道炎症,同时影响神经元的发育。Kaya等^[23]利用CRISPR-Cas9基因编辑技术构建了斑马鱼G蛋白偶联受体35(G protein-coupled receptor 35, GPR35)基因突变体,通过TNBS诱导的炎症模型发现肠道炎症可上调菌群依赖性GPR35的表达,炎症期升高的溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid)通过激活

GPR35 信号通路, 诱导肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的产生, 从而在成年斑马鱼模型中发挥负反馈调节作用, 有助于维持 TNF- α 介导的肠道稳态。该研究揭示了 GPR35 在 IBD 中的关键作用, 表明其多态性与 IBD 的发生、发展密切相关。Lai 等^[24] 通过构建 ImiR-21 转基因斑马鱼模型, 诱导肠道中 miR-21 (microRNA-21) 的过表达, 进而激活磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B)、信号转导及转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3) 和程序性细胞死亡蛋白 4 (programmed cell death 4) /TNF- α 信号通路, 引发 IBD, 并促进了结直肠癌的发展。该研究表明, miR-21 在 IBD 引发的结直肠癌的发病机制中起关键作用, 这在分子机制上解释了为何 IBD 患者患结直肠癌的风险显著高于普通人群。Marjoram 等^[25] 通过正向遗传筛选技术, 鉴定出一种表现为肠上皮完整性缺陷的斑马鱼突变体。该突变体表观遗传调控因子泛素样含 PHD 和环指域蛋白 1 (RING finger domains 1, UHRF1) 的功能丧失, 导致斑马鱼肠上皮结构显著破坏。该研究团队进一步利用炎症反应转基因斑马鱼系 *TgBAC (tnfa : GFP)* 研究发现, UHRF1 蛋白功能失调会引起 TNF- α 启动子甲基化水平降低, 导致斑马鱼肠上皮细胞中 TNF- α 表达增加, 引发微生物依赖性的慢性炎症反应, 具体表现为上皮细胞脱落、凋亡、免疫细胞浸润以及屏障功能障碍。最终, 该团队研究证实 *UHRF1* 是一个潜在的 IBD 易感基因。总之, 通过合理利用斑马鱼模型研究 IBD 的易感基因, 将有助于揭示 IBD 的分子机制, 并为临床遗传性 IBD 的诊断提供潜在的生物标志物。

3.2 肠道免疫研究

斑马鱼的肠道结构与人类高度相似, 且其肠道功能与人类具有同源性。因此, 斑马鱼已成为研究人类肠黏膜免疫的常用模式生物。与哺乳动物相比, 斑马鱼在幼鱼阶段主要依赖先天免疫, 其获得性免疫在发育过程中逐步构建, 至成鱼阶段功能趋于成熟, 这种免疫系统的阶段性发育使其成为研究 IBD 肠道免疫机制的理想模型。

Brugman 等^[26] 通过直肠内注射噁唑酮诱导的斑马鱼模型, 分析了肠道炎症发生、发展过程, 以及肠道免疫反应的变化。研究结果显示, 模型斑马鱼肠道中与结肠炎相关的细胞因子, 包括促炎基因 [如白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、TNF- α] 和抗炎细

胞因子 (如 IL-10 等) 的基因表达都发生了显著上调。随着成像技术的发展, Kanther 等^[27] 构建了转基因斑马鱼 [*Tg (NF- κ B : EGFP)*], 利用增强绿色荧光蛋白 (enhanced green fluorescent protein, EGFP) 报告系统, 通过体内成像技术, 实时监测了 NF- κ B 的激活情况。研究人员将无菌斑马鱼分别与常规菌群和单一细菌 (铜绿假单胞菌) 进行定植, 探究了斑马鱼肠道中 NF- κ B 对共生微生物刺激的响应, 并揭示了 NF- κ B 在发育和微生物定植过程中的时空激活模式。该研究阐明了肠道微生物群通过 NF- κ B 信号通路调控先天免疫反应的分子机制。Thakur 等^[28] 构建了 CDP-二酰甘油-肌醇 3-磷脂酰转移酶基因 (CDP-diacylglycerol-inositol 3-phosphatidyltransferase) 缺陷的斑马鱼模型, 该模型由于缺乏磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol, PI) 合成, 表现出肠道菌群过度生长、免疫细胞侵袭肠道肌层、微绒毛萎缩、肠上皮细胞空泡化及增殖异常、杯状细胞凋亡等肠道损伤病理特征; 同时, 该模型的内质网应激标志物 *hspa5* 和 *xbp1* 的表达显著上调。通过使用抗生素和抗炎药物处理, 部分炎症症状得到缓解, 这表明 PI 信号在维持肠道黏膜完整性和调控炎症反应中具有关键作用, 且与 IBD 的发生、发展密切相关。TLR 是参与非特异性免疫 (天然免疫) 的一类重要蛋白质分子, 也是连接非特异性免疫和特异性免疫的桥梁。髓分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MYD88) 是 TLR 信号通路中的关键接头蛋白。van der Vaart 等^[29] 通过 N-乙基-N-亚硝基脲 (N-ethyl-N-nitrosourea) 诱变构建了 *MYD88* 突变的斑马鱼模型, 该突变体因 MYD88 蛋白截短而缺失与 TLRs 和 IRAKs 相互作用的关键结构域。研究发现, 突变体在感染病原体后, 免疫相关转录因子的基因表达水平显著降低, 死亡率增加, 且无法有效清除病原体, 这表明 *MYD88* 的缺失会导致先天肠道的免疫功能受损。

3.3 环境与饮食影响研究

环境与饮食因素也是 IBD 发病的重要危险因素, 用斑马鱼来鉴定促进肠道炎症的环境因素并研究其作用机制已成为研究 IBD 的一种有效的技术手段。Sanmarco 等^[30] 利用美国环境保护局 (Environmental Protection Agency) 的 ToxCast 数据库, 结合 TNBS 诱导的结肠炎斑马鱼模型, 对 111 种与肠道炎症有关的环境化学物质进行评估, 筛选出 4 种具有炎症抑制作用和 13 种具有炎症促进作用的化学物质。其中, 丙酰胺类除草剂被证实能显著加剧肠道炎症, 表现为肠道病

理损伤加重和炎症相关基因表达上调。该研究凸显了斑马鱼模型在高通量筛选环境因素对肠道炎症影响中的独特优势,该模型成为探索环境与IBD的关系的重要工具。全氟辛烷磺酸盐(perfluorooctanesulfonic acid, PFOS)是一种化学性质稳定、广泛应用于工业生产和生活消费领域的持久性有机污染物。Diaz等^[31]发现斑马鱼在TNBS诱导的肠道炎症期间暴露于PFOS后,促炎细胞因子的表达显著增强;同时,中性粒细胞向肠道的募集增加。这表明PFOS能够加剧炎症引起的肠道损伤,是一种可能引发IBD的环境毒性物质。

饮食是影响IBD发病和疾病严重程度的一种潜在且可调控的重要因素。Xiao等^[32]通过给斑马鱼喂食高胆固醇饮食及27-羟基胆固醇(27-hydroxy-cholesterol, 27HC),评估其对斑马鱼肠道纤维化的影响,发现高胆固醇饮食会导致斑马鱼肠道纤维化,且这一过程主要由胆固醇代谢物27HC介导。27HC通过增加氧化应激并激活p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase)、细胞外信号调控的激酶(extracellular signal-regulated kinase)、蛋白激酶B(protein kinase B)和 β -连环蛋白(β -catenin)信号通路,诱导上皮-间质转化(epithelia-mesenchymal transition),进而导致斑马鱼肠道纤维化。这一结果表明,高胆固醇饮食可能是IBD发生、发展的潜在危险因素。

3.4 感染因素研究

感染会引起异常的肠道免疫反应,导致肠道持续炎症和组织损伤。肠道共生菌群和病原微生物通过直接或间接机制参与了IBD的发生和发展。黏附侵袭性大肠埃希菌(adherent-invasive *Escherichia coli*, AIEC)是IBD患者活检中常见的病原体。Flores等^[33]利用DSS诱导的斑马鱼模型,通过食源性AIEC感染,研究了已存在的肠道炎症与AIEC定植之间的相互作用。结果表明,AIEC在炎症条件下定植更强,且加剧炎症反应,阻碍肠黏膜恢复。此外,还有一些研究表明,肠道寄生虫感染能调节肠道菌群的平衡。Ramanan等^[34]研究发现,肠道蠕虫感染后产生的分泌物可通过II型免疫反应抑制炎症性杆菌的定植,从而保护缺乏CD易感基因NOD2的小鼠免受肠道炎症和病理损伤。Haarder等^[35]通过研究暴露于Anisakis(一种分布广泛的鱼类线虫)排泄-分泌(excretory-secretory, ES)产物中的TNBS诱导结肠炎斑马鱼模型,发现ES产物显著提高了斑马鱼的存活率,并增强了免疫应答;同时,

多个促炎因子的基因表达显著下降。这表明,ES产物可能通过调节免疫反应减轻肠道炎症。以上这些发现为IBD的治疗提供了新的思路。

3.5 局限性

在基因层面、生长发育过程以及组织系统结构方面,斑马鱼虽与人类具有高度相似性,但在生理和代谢方面仍然与哺乳动物存在差异。例如,人类肠隐窝中的肠道干细胞在肠上皮细胞的更新和恢复中起重要作用^[36],但斑马鱼缺少隐窝结构,无法在斑马鱼上探索肠隐窝干细胞在肠上皮损伤与修复过程中的作用。药物在斑马鱼体内的吸收、分布、代谢、排泄过程受斑马鱼的发育期、体重等综合因素的影响^[37],这会影响到某些药物或疾病模型的外推性,使斑马鱼的研究结果不能直接推导至人类。IBD是一个复杂的疾病,受遗传、环境、生活方式等多种因素的影响,斑马鱼在模拟这一类复杂的人类疾病时,可能无法完全复制疾病的复杂性。因此,利用斑马鱼研究IBD更倾向于相对独立因素的作用机制研究。此外,斑马鱼对环境条件敏感,水质、温度和光照等环境因素的变化都可能影响实验结果。因此,在利用斑马鱼模型进行科学研究时,仍需考虑是否需要在哺乳动物中进行结果验证。

4 斑马鱼应用于IBD治疗药物开发的研究进展

由于斑马鱼具有生长周期短、繁殖能力强、体型小等优势,研究人员可在短时间内用6~384孔板的高通量检测体系在斑马鱼上进行大规模药物筛选和药效评估。这种高通量实验平台显著提高了药物发现的效率。近年来,已有许多学者和科研人员利用斑马鱼模型成功筛选出具有抗炎和免疫调节作用的候选药物,斑马鱼模型为IBD治疗药物的开发提供了有力支持。

4.1 抗炎药物研究

在IBD抗炎药物研究中,Silva等^[38]利用转基因中性粒细胞荧光斑马鱼[*Tg(Lyz:NTR-mCherry)sh260*,中性粒细胞标记为红色荧光],通过高胆固醇饮食(high-cholesterol diet)诱导肠道炎症,构建了一个高胆固醇饮食肠道炎症(high-cholesterol diet gut inflammation)试验平台,采用半自动图像采集和处理相结合的定量图像分析方法测定中性粒细胞炎症指数,并根据炎症指数对抗炎或促炎化合物进行分类,建立了一个高效筛选IBD抗炎药物的斑马鱼体内实验平台。

超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 能够通过改善炎症过程中的氧化应激来缓解 IBD 的发病和进展, 但 SOD 较短的半衰期限制了它的临床应用。Sheng 等^[39] 通过 TNBS 诱导的荧光转基因斑马鱼研究了来自嗜热菌 *Thermus thermophilus* HB27 的超耐高温 SOD (TtSOD) 对 IBD 的治疗效果。结果显示, TtSOD 治疗显著减少了斑马鱼肠道中的中性粒细胞浸润, 并有效缓解了 TNBS 诱导的结肠炎症状。此外, TtSOD 在 DSS 诱导的小鼠结肠炎模型中也表现出类似的抗炎效果, 这表明 TtSOD 的治疗作用具有跨物种的普适性。托法替布 (tofacitinib) 是一种作用于 Janus 激酶-信号转导及转录激活因子 (Janus kinase-signal transduction and activator of transcription, JAK-STAT) 信号通路的小分子 JAK 抑制剂, 主要用于治疗中重度类风湿关节炎; 芬戈莫德 (fingolimod) 是一种免疫调节剂, 常用于治疗多发性硬化症。Mousavi 等^[40] 通过 TNBS 诱导的成年斑马鱼结肠炎模型, 比较了芬戈莫德与托法替布的治疗效果和急性毒性。结果显示, 托法替布和芬戈莫德均能剂量依赖性地改善结肠炎症状, 其中, 芬戈莫德在 0.45 mg/L 时表现出更强的抗炎效果。值得注意的是, 托法替布已被批准用于治疗中重度活动性 UC^[41]。

4.2 益生菌药物研究

在治疗 IBD 的过程中, 益生菌作为一种辅助治疗手段正逐渐受到关注, 而斑马鱼模型为益生菌的筛选提供了快速高效的技术手段。Huang 等^[42] 通过 DSS 诱导的斑马鱼模型, 结合溶血实验和急性毒性试验, 从 4 个不同来源的 40 个菌株中筛选出 8 个兼具安全性和有效性的益生菌菌株。其中, 史氏芽孢杆菌 XY1 (*Bacillus smithii* XY1) 在恢复肠上皮细胞完整性、调节炎症相关因子基因表达方面, 显示出与泼尼松龙相当的抗炎效果, 该研究为筛选能有效缓解 IBD 的益生菌提供了新的思路。AIEC 的定植与 CD 肠道炎症的发生密切相关, CD 患者常伴随肠道菌群的失调。因此, 清除或减少 AIEC 定植可能成为一种有效的治疗策略。Nag 等^[43] 通过将成年斑马鱼浸泡在含有 5×10^6 CFU/mL 的 AIEC 溶液中 6 h, 随后转移至无菌淡水中培养 18 h, 成功构建了 AIEC 感染的斑马鱼模型。该模型显示, AIEC 感染的斑马鱼肠道组织中促炎因子 (如 TNF- α 、IL-1 β 和 γ 干扰素) 的表达显著上调。为进一步验证大肠杆菌 Nissle 1917 (*Escherichia coli* Nissle 1917, EcN) 的作用, 研究人员设计了 3 种实验方案: EcN 与 AIEC 同时感染 (1:1 比例)、EcN 预防性使用 (先暴露于

EcN 6 h, 再暴露于 AIEC 6 h), 以及 EcN 治疗性使用 (先暴露于 AIEC 6 h, 再暴露于 EcN 6 h)。结果显示, EcN 在 3 种方案中均显著减少了 AIEC 在斑马鱼肠道中的定植 (减少约 97%), 并缓解了组织损伤和促炎反应, 这表明 EcN 具有预防和治疗 AIEC 的双重作用。为了使 EcN 在肠道靶向定植以阻止病原菌对肠道黏膜侵袭, 同时, 避免活菌可能造成的基因毒性, Chen 等^[44] 通过基因改造获得了保留细菌表面结构的 EcN 空壳 (bacterial ghost, BGs), 且用 DSS 诱导的斑马鱼 IBD 模型验证了 BGs 的靶向性和治疗作用。结果显示, EcN BGs 能高度黏附于斑马鱼肠道, 且显著降低了肠道中的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平 and 中性粒细胞趋化, 抑制了促炎因子 TNF- α 和基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9) 的基因表达。此外, EcN BGs 还缓解了 DSS 诱导的肠道扩张和酸性黏蛋白的增加。这些结果表明, EcN BGs 不仅保留了 EcN 的肠道靶向性, 还避免了活菌的基因毒性, 能作为一种用于 IBD 治疗的安全有效的靶向药物递送系统。已有研究表明, 饮食中过量的糖摄取会影响肠道菌群的平衡, 继而增加肠道通透性, 诱发或加重肠道炎症。Chen 等^[45] 持续 14 d 给成年斑马鱼喂食 3% 葡萄糖, 使其肠道炎症因子基因表达升高, 成功诱发了斑马鱼的肠道炎症和功能障碍。随后, 研究人员使用乳双歧杆菌 BL-99 (*Bifidobacterium lactis* BL-99) 处理斑马鱼, 发现其 IL-1 β 的表达显著下调, 且 IL-10 和 IL-12 的表达上调, 同时改善了斑马鱼的肠道组织病理学, 增加了杯状细胞数量。这表明, BL-99 能够通过调节肠道免疫反应和代谢功能, 缓解由不规律高糖饮食引发的肠道炎症, 并改善肠道功能。上述这些研究表明, 利用斑马鱼模型研究益生菌与宿主的相互作用机制, 能为益生菌在 IBD 辅助治疗中的作用提供重要的理论依据和实践指导。

4.3 中药治疗药物研究

斑马鱼模型在天然产物或中药 IBD 治疗药物的筛选中也发挥了重要作用。Yu 等^[46] 通过整合文献数据挖掘与斑马鱼模型验证, 从 40 多本与仲景方有关的古籍, 以及美国国家生物技术信息中心的 PubMed 和中国知网的数据库中提取 IBD 疾病的相关信息来建立数据模型, 筛选出 10 个与胃肠道炎症疾病最密切相关的仲景方剂。随后, 研究人员选择了与 IBD 相关性最高的桃花汤、葛根芩连汤和白头翁汤, 分离制备了 74 个组分, 并利用 TNBS 诱导的斑马鱼模型进行活性组分的多

轮筛选, 最终筛选出6种具有显著抗炎作用的有效成分(大豆苷、巴马汀、千层纸苷、绿原酸、黄芩苷和七叶苷)。这些成分也能显著抑制斑马鱼肠道中性粒细胞的积累和ROS水平的升高。该研究为IBD中药治疗药物的筛选及其作用机制的研究提供了高效的研究策略和示范应用。桑叶中的黄酮类化合物具有显著的抗炎作用, 对IBD的治疗具有潜在的应用价值。已有研究表明, 酶解作用能够增强黄酮苷的生物利用度和活性。Jia等^[47]通过蜗牛酶水解桑叶黄酮(mulberry leaf flavonoids, MLF)成功制备了桑叶黄酮酶解产物(enzymatic hydrolysates of MLF, EMLF), 并利用TNBS诱导的斑马鱼模型评估了不同剂量MLF和EMLF对肠道炎症的改善作用。结果显示, EMLF显著改善了斑马鱼肠道形态, 减少了中性粒细胞聚集, 并降低了炎症因子(如TNF- α 、IL-1 β 等)的表达水平, 其效果优于未酶解的MLF。进一步通过网络药理学和代谢组学分析, 研究人员推测EMLF可通过调节嘌呤代谢途径发挥其抗炎作用。该研究为桑叶黄酮类化合物的深度开发及天然药物资源的利用提供了重要的理论依据。菊花具有显著的抗炎作用, 且能调节肠道功能。菊花茎和叶作为菊花非药用部分, 其化学成分与菊花相似。Li等^[48]通过DSS诱导的斑马鱼模型评估了不同浓度菊花茎叶水提物和醇提物的抗炎和抗氧化作用。结果显示, 菊花茎叶提取物显著抑制了炎症因子(如IL-1 β 、IL-8和MMP9)的表达, 减轻了肠道上皮损伤, 并提高了SOD活性, 其中醇提取物在中等浓度时表现出最佳效果。进一步分析表明, 黄酮类化合物和酚酸类化合物与抗炎和抗氧化活性密切相关, 而多糖也显示出一定的抗炎和抗氧化作用。利用斑马鱼模型对中药活性进行筛选与评价, 能够加速探索中药有效成分的组合配伍, 帮助传统中药与现代医药更好地融合。

5 总结与展望

斑马鱼个体小、繁殖能力强、发育快、生长周期短、光学透明度好、与人类基因同源性高, 这些独特的生物学特性以及与人类肠道的高度相似性, 使得斑马鱼已成为研究IBD发病机制和治疗的理想模型, 其在药物筛选、毒理学评估、疾病模型和基础生物学研究中有很高的应用价值。IBD是一种涉及多因素相互作用的复杂性疾病, 目前的药物研究可能更集中在抗炎以及微生物疗法上, 然而这些治疗药物在促进肠黏膜愈合方面的作用较为有限。斑马鱼是高通量药物筛

选的优势模式生物, 在日益成熟的斑马鱼细胞标记技术、组织移植技术、突变技术、转基因技术等先进技术手段的支持下, 这种高效便捷的筛选平台能为IBD寻找更多新的治疗方法、候选药物提供重要的参考。此外, 斑马鱼的多个器官在形态、基因表达及生理特性方面与哺乳动物高度相似, 也可作为评估临床前药物安全性和毒性研究的有效工具, 在心血管毒性、肝脏毒性、肾脏毒性、神经毒性、脾脏毒性等方面提供快速的、初步的安全性依据。

尽管斑马鱼是一种优势模式生物, 但是其与人类在生理、病理和免疫学方面的差异, 使斑马鱼在研究应用中依然存在一定的局限性。因此, 科研工作者在研究中, 也需充分考虑这些差异, 并结合不同种属的动物模型来验证研究结果的可靠性。此外, 在斑马鱼的生物医学研究中, 也需关注相关的伦理和法规。斑马鱼虽不是哺乳动物, 但研究人员在实验设计和执行中仍需考虑减少斑马鱼所受的痛苦和伤害, 在保证研究质量和进度的同时遵循伦理原则, 保护动物的福利权益。

[作者贡献 Author Contribution]

赵鑫负责撰写初稿、统稿及图表制作;
王晨曦负责文献检索、文献内容核对与文稿内容讨论;
石文清参与文献检索、全文校对与文稿内容讨论;
娄月芬负责选题提出、文稿终审与修订。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] ASHTON J J, BEATTIE R M. Inflammatory bowel disease: recent developments[J]. Arch Dis Child, 2024, 109(5): 370-376. DOI:10.1136/archdischild-2023-325668.
- [2] XU L, HE B J, SUN Y X, et al. Incidence of inflammatory bowel disease in urban China: a nationwide population-based study [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2023, 21(13): 3379-3386. e29. DOI:10.1016/j.cgh.2023.08.013.
- [3] SHAO B L, YANG W J, CAO Q. Landscape and predictions of inflammatory bowel disease in China: China will enter the Compounding Prevalence stage around 2030[J]. Front Public Health, 2022, 10:1032679. DOI:10.3389/fpubh.2022.1032679.
- [4] KATSANDEGWAZA B, HORSNELL W, SMITH K. Inflammatory bowel disease: a review of pre-clinical murine models of human disease[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(16): 9344. DOI: 10.3390/ijms23169344.
- [5] YANG H B, LUAN Y, LIU T T, et al. A map of *cis*-regulatory elements and 3D genome structures in zebrafish[J]. Nature, 2020, 588(7837): 337-343. DOI:10.1038/s41586-020-2962-9.
- [6] 章琳俐, 姚一琳, 初晓红, 等. 斑马鱼肠黏膜屏障的结构与组成[J].

- 实验动物与比较医学, 2013, 33(2):112-116. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2013.02.006.
- ZHANG L L, YAO Y L, CHU X H, et al. Structure and composition of intestinal mucosal barrier in zebrafish (*Brachydanio rerio*) [J]. Lab Anim Comp Med, 2013, 33(2): 112-116. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2013.02.006.
- [7] XIA H, CHEN H M, CHENG X, et al. Zebrafish: an efficient vertebrate model for understanding role of gut microbiota [J]. Mol Med, 2022, 28(1):161. DOI:10.1186/s10020-022-00579-1.
- [8] FERGUSON M, FOLEY E. Microbial recognition regulates intestinal epithelial growth in homeostasis and disease [J]. FEBS J, 2022, 289(13):3666-3691. DOI:10.1111/febs.15910.
- [9] WILLMS R J, FOLEY E. Mechanisms of epithelial growth and development in the zebrafish intestine [J]. Biochem Soc Trans, 2023, 51(3):1213-1224. DOI:10.1042/BST20221375.
- [10] SHAN Y, LEE M, CHANG E B. The gut microbiome and inflammatory bowel diseases [J]. Annu Rev Med, 2022, 73:455-468. DOI:10.1146/annurev-med-042320-021020.
- [11] CORNUAULT J K, BYATT G, PAQUET M E, et al. Zebrafish: a big fish in the study of the gut microbiota [J]. Curr Opin Biotechnol, 2022, 73:308-313. DOI:10.1016/j.copbio.2021.09.007.
- [12] ZHONG X T, LI J L, LU F R, et al. Application of zebrafish in the study of the gut microbiome [J]. Animal Model Exp Med, 2022, 5(4):323-336. DOI:10.1002/ame2.12227.
- [13] OEHLERS S H, FLORES M V, HALL C J, et al. Chemically induced intestinal damage models in zebrafish larvae [J]. Zebrafish, 2013, 10(2):184-193. DOI:10.1089/zeb.2012.0824.
- [14] BRUGMAN S, NIEUWENHUIS E E S. Oxazolone-induced intestinal inflammation in adult zebrafish [J]. Methods Mol Biol, 2017, 1559:311-318. DOI:10.1007/978-1-4939-6786-5_21.
- [15] FLEMING A, JANKOWSKI J, GOLDSMITH P. *In vivo* analysis of gut function and disease changes in a zebrafish larvae model of inflammatory bowel disease: a feasibility study [J]. Inflamm Bowel Dis, 2010, 16(7): 1162-1172. DOI: 10.1002/ibd.21200.
- [16] OEHLERS S H, FLORES M V, OKUDA K S, et al. A chemical enterocolitis model in zebrafish larvae that is dependent on microbiota and responsive to pharmacological agents [J]. Dev Dyn, 2011, 240(1):288-298. DOI:10.1002/dvdy.22519.
- [17] OEHLERS S H, FLORES M V, HALL C J, et al. Retinoic acid suppresses intestinal mucus production and exacerbates experimental enterocolitis [J]. Dis Model Mech, 2012, 5(4):457-467. DOI:10.1242/dmm.009365.
- [18] ZHAO S Y, XIA J H, WU X H, et al. Deficiency in class III PI3'kinase confers postnatal lethality with IBD-like features in zebrafish [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2639. DOI: 10.1038/s41467-018-05105-8.
- [19] ZHAO Q, CHANG H, ZHENG J, et al. A novel Trmt5-deficient zebrafish model with spontaneous inflammatory bowel disease-like phenotype [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 86. DOI:10.1038/s41392-023-01318-6.
- [20] PARK S C, JEEN Y T. Genetic studies of inflammatory bowel disease-focusing on Asian patients [J]. Cells, 2019, 8(5): 404. DOI:10.3390/cells8050404.
- [21] OEHLERS S H, FLORES M V, HALL C J, et al. The inflammatory bowel disease (IBD) susceptibility genes *NOD1* and *NOD2* have conserved anti-bacterial roles in zebrafish [J]. Dis Model Mech, 2011, 4(6):832-841. DOI:10.1242/dmm.006122.
- [22] SIFUENTES-DOMINGUEZ L F, LI H Y, LLANO E, et al. *SCGN* deficiency results in colitis susceptibility [J]. eLife, 2019, 8: e49910. DOI:10.7554/eLife.49910.
- [23] KAYA B, DOÑAS C, WUGGENIG P, et al. Lysophosphatidic acid-mediated GPR35 signaling in CX3CR1⁺ macrophages regulates intestinal homeostasis [J]. Cell Rep, 2020, 32(5): 107979. DOI:10.1016/j.celrep.2020.107979.
- [24] LAI C Y, YE H K Y, LIU B F, et al. microRNA-21 plays multiple oncometabolic roles in colitis-associated carcinoma and colorectal cancer via the PI3K/AKT, STAT3, and PDCD4/TNF- α signaling pathways in zebrafish [J]. Cancers, 2021, 13(21): 5565. DOI:10.3390/cancers13215565.
- [25] MARJORAM L, ALVERS A, ELIZABETH DEERHAKE M, et al. Epigenetic control of intestinal barrier function and inflammation in zebrafish [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(9):2770-2775. DOI:10.1073/pnas.1424089112.
- [26] BRUGMAN S, LIU K Y, LINDENBERGH-KORTLEVE D, et al. Oxazolone-induced enterocolitis in zebrafish depends on the composition of the intestinal microbiota [J]. Gastroenterology, 2009, 137(5):1757-1767.e1. DOI:10.1053/j.gastro.2009.07.069.
- [27] KANTHER M, SUN X L, MÜHLBAUER M, et al. Microbial colonization induces dynamic temporal and spatial patterns of NF- κ B activation in the zebrafish digestive tract [J]. Gastroenterology, 2011, 141(1): 197-207. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.03.042.
- [28] THAKUR P C, DAVISON J M, STUCKENHOLZ C, et al. Dysregulated phosphatidylinositol signaling promotes endoplasmic-reticulum-stress-mediated intestinal mucosal injury and inflammation in zebrafish [J]. Dis Model Mech, 2014, 7(1):93-106. DOI:10.1242/dmm.012864.
- [29] VAN DER VAART M, VAN SOEST J J, SPAINK H P, et al. Functional analysis of a zebrafish myd88 mutant identifies key transcriptional components of the innate immune system [J]. Dis Model Mech, 2013, 6(3):841-854. DOI:10.1242/dmm.010843.
- [30] SANMARCO L M, CHAO C C, WANG Y C, et al. Identification of environmental factors that promote intestinal inflammation [J]. Nature, 2022, 611(7937):801-809. DOI:10.1038/s41586-022-05308-6.
- [31] DIAZ O E, SORINI C, MORALES R A, et al. Perfluoro-octanesulfonic acid modulates barrier function and systemic T-cell homeostasis during intestinal inflammation [J]. Dis Model Mech, 2021, 14(12): dmm049104. DOI: 10.1242/dmm.049104.
- [32] XIAO W, HU C Y, NI Y F, et al. 27-Hydroxycholesterol activates the GSK-3 β / β -catenin signaling pathway resulting in intestinal fibrosis by inducing oxidative stress: effect of dietary interventions [J]. Inflamm Res, 2024, 73(2): 289-304. DOI: 10.1007/s00011-023-01835-8.
- [33] FLORES E, DUTTA S, BOSSERMAN R, et al. Colonization of

- larval zebrafish (*Danio rerio*) with adherent-invasive *Escherichia coli* prevents recovery of the intestinal mucosa from drug-induced enterocolitis[J]. mSphere, 2023, 8(6): e0051223. DOI:10.1128/msphere.00512-23.
- [34] RAMANAN D, BOWCUTT R, LEE S C, et al. Helminth infection promotes colonization resistance via type 2 immunity[J]. Science, 2016, 352(6285): 608-612. DOI: 10.1126/science.aaf3229.
- [35] HAARDER S, KANIA P W, HOLM T L, et al. Effect of ES products from *Anisakis* (Nematoda: Anisakidae) on experimentally induced colitis in adult zebrafish[J]. Parasite Immunol, 2017, 39(10):e12456. DOI:10.1111/pim.12456.
- [36] REN X X, LIU Q Y, ZHOU P R, et al. DHX9 maintains epithelial homeostasis by restraining R-loop-mediated genomic instability in intestinal stem cells[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 3080. DOI:10.1038/s41467-024-47235-2.
- [37] HABJAN E, SCHOUTEN G K, SPEER A, et al. Diving into drug-screening: zebrafish embryos as an *in vivo* platform for antimicrobial drug discovery and assessment[J]. FEMS Microbiol Rev, 2024, 48(3): fuae011. DOI: 10.1093/femsre/fuae011.
- [38] SILVA N V, CARREGOSA D, GONÇALVES C, et al. A dietary cholesterol-based intestinal inflammation assay for improving drug-discovery on inflammatory bowel diseases[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 674749. DOI: 10.3389/fcell.2021.674749.
- [39] SHENG Y, LI H L, LIU M J, et al. A manganese-superoxide dismutase from *Thermus thermophilus* HB27 suppresses inflammatory responses and alleviates experimentally induced colitis[J]. Inflamm Bowel Dis, 2019, 25(10):1644-1655. DOI:10.1093/ibd/izz097.
- [40] MOUSAVI T, HASSANI S, BAEERI M, et al. Comparison of the safety and efficacy of fingolimod and tofacitinib in the zebrafish model of colitis[J]. Food Chem Toxicol, 2022, 170: 113509. DOI:10.1016/j.fct.2022.113509.
- [41] JEFREMOW A, NEURATH M F. Novel small molecules in IBD: current state and future perspectives[J]. Cells, 2023, 12(13): 1730. DOI:10.3390/cells12131730.
- [42] HUANG X D, AI F, JI C, et al. A rapid screening method of candidate probiotics for inflammatory bowel diseases and the anti-inflammatory effect of the selected strain *Bacillus smithii* XY1[J]. Front Microbiol, 2021, 12:760385. DOI:10.3389/fmicb.2021.760385.
- [43] NAG D, FARR D, RAYCHAUDHURI S, et al. An adult zebrafish model for adherent-invasive *Escherichia coli* indicates protection from AIEC infection by probiotic *E. coli* Nissle[J]. iScience, 2022, 25(7):104572. DOI:10.1016/j.isci.2022.104572.
- [44] CHEN H J, LEI P Y, JI H, et al. *Escherichia coli* Nissle 1917 ghosts alleviate inflammatory bowel disease in zebrafish[J]. Life Sci, 2023, 329:121956. DOI:10.1016/j.lfs.2023.121956.
- [45] CHEN M, LIU C, DAI M Z, et al. *Bifidobacterium lactis* BL-99 modulates intestinal inflammation and functions in zebrafish models[J]. PLoS One, 2022, 17(2): e0262942. DOI: 10.1371/journal.pone.0262942.
- [46] YU Y R, CHEN J, ZHANG X H, et al. Identification of anti-inflammatory compounds from Zhongjing formulae by knowledge mining and high-content screening in a zebrafish model of inflammatory bowel diseases[J]. Chin Med, 2021, 16(1):42. DOI:10.1186/s13020-021-00452-z.
- [47] JIA D S, TIAN X, CHEN Y T, et al. Preparation of enzymatic hydrolysates of mulberry leaf flavonoids and investigation into its treatment and mechanism for zebrafish inflammatory bowel disease[J]. Fish Shellfish Immunol, 2024, 154: 109960. DOI:10.1016/j.fsi.2024.109960.
- [48] LI Y, LIU X J, SU S L, et al. Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant effects of *Chrysanthemum* stem and leaf extract on zebrafish inflammatory bowel disease model[J]. Molecules, 2022, 27(7):2114. DOI:10.3390/molecules27072114.

(收稿日期:2024-11-13 修回日期:2025-02-04)

(本文编辑:丁宇菁)

[引用本文]

赵鑫, 王晨曦, 石文清, 等. 斑马鱼在炎症性肠病机制及药物研究中的应用进展[J]. 实验动物与比较医学, 2025, 45(4): 422-431. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.170.

ZHAO X, WANG C X, SHI W Q, et al. Advances in the application of zebrafish in the research of inflammatory bowel disease mechanisms and drug development[J]. Lab Anim Comp Med, 2025, 45(4): 422-431. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.170.