

基于促斑马鱼血管生成的不同产地巴戟天比较分析

冉志芳^{1,2}, 杨小彤¹, 许子欣², 郝庆秀³, 周洁^{2,3*}, 郭兰萍³, 余意⁴

(1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355;

2. 济南大学生物科学与技术学院, 济南 250022;

3. 中国中医科学院中药资源中心无限极中草药品质研究联合实验室, 北京 100700;

4. 无限极(中国)有限公司, 广州 510627)

[摘要] **目的:**通过研究不同产地巴戟天提取物对斑马鱼破损节间血管生长的影响,探讨不同产地巴戟天的地域性差异。**方法:**建立 PTK787 诱导的节间血管损伤斑马鱼模型,研究来自广东、广西和福建等 12 个不同产地巴戟天提取物对斑马鱼节间血管生长的影响,检测给药组斑马鱼节间血管生成数、生成长度,计算血管相对生成率,并在主成分分析的基础上以血管相对生成率为指标,采用 SPSS 17.0 统计软件对实验数据进行聚类分析。**结果:**巴戟天提取物对斑马鱼破损节间血管的生长具有修复促进作用,且广东高要、广东郁南等地巴戟天提取物促斑马鱼血管生长效果明显优于其他产区,节间血管生成数平均达到 9 条,生成长度平均在 448 ~ 504 μm ,相对生成率达 7.9% ~ 8.86%。聚类分析结果显示,12 个不同产地巴戟天被聚为四大类,广东德庆与广东高要,广西苍梧与广西岑溪,广东郁南与广西苍梧等地理位置相近的产地均能较好的聚到一起。**结论:**不同产地巴戟天在促血管生成作用上存在明显的地域性差异,相关研究为巴戟天道地药材的质量评价提供基础数据。

[关键词] 不同产地; 巴戟天; 血管生成; 斑马鱼

[中图分类号] R284.1;R285.5;R289;R22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)04-0175-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190318

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181115.1022.030.html>

[网络出版时间] 2018-11-16 14:17

Angiogenesis Activity of Morindae Officinalis Radix from Different Origins Based on Zebrafish Model

RAN Zhi-fang^{1,2}, YANG Xiao-tong¹, XU Zi-xin², HAO Qing-xiu³, ZHOU Jie^{2,3*}, GUO Lan-ping³, YU Yi⁴

(1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;

2. School of Biological Sciences and Technology, University of Ji'nan, Ji'nan 250022, China;

3. Joint Laboratory of Infinitus (China) Herbs Quality Research, National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

4. Infinitus (China) Co. Ltd., Guangzhou 510627, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Morindae Officinalis Radix extract from different origins on the vascular growth of damaged internodes of zebra fish, so as to discuss regional differences of Morindae Officinalis Radix from different origins. **Method:** A zebra fish model of internode vascular injury induced by PTK787 was established to study the effect of Morindae Officinalis Radix extract from Guangdong, Guangxi and Fujian on the growth of internode vascular in zebra fish, and detect the number of internode angiogenesis in zebra fish treated with PTK787. On the basis of principal component analysis, relative angiogenesis rate was taken as the index, and the experimental data was analyzed by SPSS 17.0 statistical software. **Result:** The extract of Morindae Officinalis

[收稿日期] 20180607(006)

[基金项目] 中央本级重大增减支项目(2060302);中国中医科学院重点领域专项(ZZ10-027)

[第一作者] 冉志芳,在读硕士,从事中药资源与质量控制研究,E-mail:2579057443@qq.com

[通信作者] *周洁,副教授,硕士生导师,从事中药资源与质量控制研究,E-mail:zhoujie8761@163.com

Radix had a repairing effect on the growth of damaged internode blood vessels of zebra fish, and the extracts of *Morindae Officinalis Radix* from Guangdong Gaoyao, and Guangdong Yunan, were better than those from other producing areas. The average number of internode angiogenesis was 9, the average length of angiogenesis was 448-504 μm , and the relative rate of angiogenesis was between 7.9% and 8.86%. The results of cluster analysis showed that *Morindae Officinalis Radix* of 12 different origins were classified into four categories, Guangdong Deqing, and Guangdong Gaoyao, Guangxi Cangwu and Guangxi Cenxi, and Guangdong Yunan, and Guangxi Cangwu could be better clustered. **Conclusion:** There are obvious regional differences in the pro-angiogenic effect of *Morindae Officinalis Radix* from different origins. Relevant studies provide basic data for the quality assessment of *Morindae Officinalis Radix* medicinal materials.

[**Key words**] different habitats; *Morindae Officinalis Radix*; angiogenesis; zebra fish

道地药材是世界所公认的来源于特定产地、质优效佳的名优正品药材,是历代医药防病治病之利器^[1],是中药材的精髓之一,也是重要的战略资源。用现代语言阐述道地药材的科学内涵,是道地药材可持续发展的迫切需求,也是中药资源领域研究的核心内容之一。巴戟天源于茜草科植物巴戟天的干燥根^[2],主产于广东、广西、福建等地,海南有零星分布,属我国著名“四大南药”之一,近年来,不少学者从巴戟天所含寡糖类、蒽醌类等化学成分及基于核糖体 rDNAITS 序列变异等分子机制方面探讨了不同产地巴戟天的地域性差异^[3-7],为巴戟天道地药材品质评价提供了数据基础,而从药理学角度来评价不同产地巴戟天道地性科学内涵鲜有报道。

历代本草记载巴戟天性甘、辛,微温,具有补肝肾、强筋骨、祛风湿之功效^[8],现代药理研究表明巴戟天具有改善心肌缺血、抗氧化等药理活性^[9-10],其中改善心肌缺血活性与促进血管生成机制紧密相关^[11],促进血管生成有助于减小心肌梗死范围,保护缺血心肌。斑马鱼具有简单、在体、高效等特点,能够全面检测与评估药物的活性和毒性,是一种理想的动物模型^[12]。因此,本研究以 PTK787 诱导的节间血管损伤斑马鱼为模型,比较不同产地巴戟天提取物对斑马鱼破损节间血管生成数、生成长度和相对生成率的影响,分析不同产地巴戟天在促血管生成上的差异性,旨在从改善心肌缺血等药理活性的角度探讨巴戟天药材的地域性差异,为揭示巴戟天道地药材的科学本质提供基础数据。

1 材料

1.1 样品 巴戟天样品于 2017 年 8 月至 9 月分别采自广西(苍梧、岑溪),广东(德庆、高要、郁南),福建(永定)等地,经中国中医科学院中药资源中心郭兰萍研究员鉴定为茜草科植物巴戟天 *Morinda officinalis* 的新鲜根。留样凭证存放于济南大学生物

科学与技术学院标本室。样品采集后,用去离子水清洗表面,45 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重,粉碎过 40 目筛,备用,样品编号及采样点信息见表 1。

表 1 巴戟天样品采集信息

Table 1 Sampling information of *Morindae Officinalis Radix*

编号	采样点	编号	采样点
MYD-1	福建永定龙潭镇	GYN-1	广东郁南千官镇
MYD-2	福建永定抚市镇	GYN-2	广东郁南大方镇
GDQ-1	广东德庆马圩镇	GCW-1	广西苍梧石桥镇
GDQ-2	广东德庆九市镇	GCW-2	广西苍梧六堡镇
GGY-1	广东高要乐城镇	G CX-1	广西岑溪大隆镇
GGY-2	广东高要河台镇	G CX-2	广西岑溪筋竹镇

1.2 受试动物 斑马鱼由山东省科学院生物研究所提供,养殖和培育过程参照何秋霞等^[13]报道。

1.3 仪器与试剂 BS224S 型 1/1 万电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);SZX16 型体视荧光显微,DP2-BSW 图像采集系统,X-51 倒置相差显微镜(日本奥林巴斯光学有限公司);斑马鱼养殖饲养系统(北京爱生科技有限公司)等。PTK787(山东省科学院生物研究所提供);二甲基亚砜(DMSO,国药集团化学试剂有限公司);Pronase E 链酶蛋白酶(*Streptomyces griseus*,批号 1016D041)。

2 方法

2.1 巴戟天提取物的制备 精密称取巴戟天药材粉末 500 mg,置于 25 mL 量瓶,加蒸馏水 20 mL,称质量,超声(100 W,40 kHz)提取 30 min,冷却,再称质量,加蒸馏水补足失重,静置 30 min,取上清液水浴蒸干,加适量蒸馏水溶解,分别配置成 25,50,75,100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 4 个质量浓度的样品溶液,备用。

2.2 斑马鱼破损节间血管模型的建立 本研究选择特异性血管生长因子酪氨酸激酶抑制剂 PTK787 为工具,构建斑马鱼血管损伤模型。称取适量的

PTK787 粉末溶解在 DMSO 溶剂中配成所需 PTK787 母液,并稀释至不同的浓度。选择状态良好的受精卵,将其放入 24 孔培养板中,每孔 6~8 个胚胎,每孔加入蒸馏水 1 mL。设正常组,PTK787 0.01, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 5 个浓度的模型组,置 28 $^{\circ}\text{C}$ 光照培养箱控光培养 24, 48 h 后拍照,采用 Image Pro Plus 5.0 手动测量血管生长长度,计算相对抑制率 = (正常组血管总长 - PTK787 组血管总长) / 正常组血管总长 $\times 100\%$ 。

2.3 巴戟天提取物最适浓度的测定 取同一代斑马鱼,选择状态良好的受精卵放于 28 $^{\circ}\text{C}$ 光照培养箱中待发育 24 h,使用 1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 链酶蛋白酶 E 溶液脱去卵膜,胚胎脱膜处理后随机分组,置于 24 孔板中(8 枚/孔)^[14]。设正常组(0.2% DMSO),PTK787 模型组(0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和给药处理组(同时加入 PTK787 和不同浓度的巴戟天提取液),每组 2 个复孔,加入相应的试药,同 2.2 项培养。48 h 后荧光显微镜下观察拍照节间血管生长情况并计数有血流的斑马鱼节间血管生成数,采用 Image Pro Plus 5.0 手动测量血管生长长度,计算血管相对生成率 = (给药组血管总长 - PTK787 模型组血管总长) / 正常组血管总长 $\times 100\%$ 。

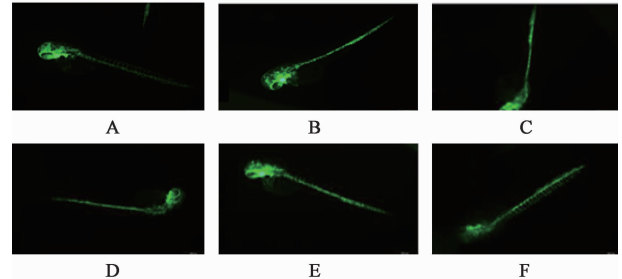
2.4 巴戟天提取物促斑马鱼节间血管生成数、生成长度及相对生成率的测定 斑马鱼胚胎培养同 2.2 项,对 12 个不同产地巴戟天进行促斑马鱼血管生长的试验。设正常组(0.2% DMSO),PTK787 模型组(0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$),丹红注射液组(添加 30 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,同时添加 0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PTK787)和巴戟天提取物给药处理组(加入 PTK787 和 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 巴戟天提取物)。置 28 $^{\circ}\text{C}$ 光照培养箱中控光培养,分别于 48 h 时通过荧光显微镜观察斑马鱼血管生长情况并计数有血流的斑马鱼节间血管数,同样采用 Image Pro Plus 5.0 软件测量血管生长长度,计算相对生成率。

2.5 数据处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析(ONE-WAY ANOVA),主成分分析及聚类分析,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为有显著性差异。

3 结果与分析

3.1 PTK787 抑制剂浓度的确定 不同浓度 PTK787 对斑马鱼节间血管的破损程度不同。正常组斑马鱼节间血管生长良好,完整无损伤,背部主动脉及躯干部节间血管生长明显,PTK787 模型组斑马鱼背部主动脉血管逐渐消失,躯干部大部分节间血管呈破损、断裂状态。同时,随着抑制剂 PTK787 浓

度升高,PTK787 对斑马鱼血管的抑制呈剂量依赖关系。当 PTK787 质量浓度为 0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,对斑马鱼血管的抑制率达到 94%。因此,选择质量浓度 0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 PTK787 建立斑马鱼节间血管破损模型进行试验。见图 1,2。



A. 0.01 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PTK787; B. 0.05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PTK787; C. 0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PTK787; D. 0.15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PTK787; E. 0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PTK787; F. 正常组
图 1 不同浓度 PTK787 对斑马鱼节间血管生长的影响

Fig.1 Effect of different concentrations of PTK787 on internode vascular growth in zebrafish

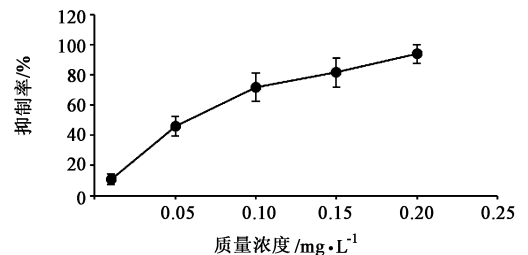


图 2 不同浓度 PTK787 与斑马鱼节间血管生长关系曲线
Fig.2 Relationship between different concentrations of PTK787 and internode vascular growth of zebrafish

3.2 巴戟天提取物最适浓度的确定 正常组与 PTK787 模型组之间具有显著性差异($P < 0.05$),不同浓度巴戟天处理组与正常组,PTK787 模型组之间均有显著性差异($P < 0.05$)。质量浓度在 25~75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,随着巴戟天提取物浓度的增大,斑马鱼血管生成数、血管生长长度和相对生成率均逐渐上升,表现出一定的促进斑马鱼血管生成的效果。在给药质量浓度为 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,斑马鱼血管的相对生成率达到峰值,为 9.65%,随后逐渐下降。当巴戟天药材提取物质量浓度 $\geq 100 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,斑马鱼幼鱼死亡。因此,选择 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的巴戟天提取物作为促血管生成的最适浓度。见表 2,图 3。

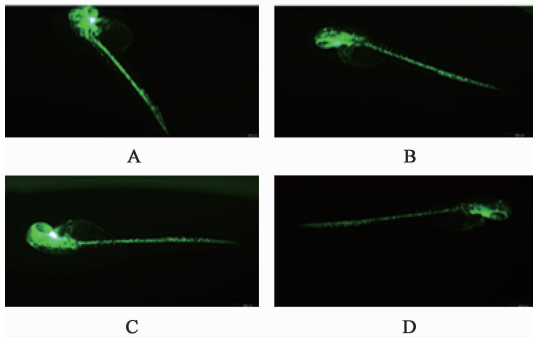
3.3 不同产地巴戟天对斑马鱼节间血管生成数、生成长度和相对生成率的影响 不同产地巴戟天促斑马鱼血管生长情况见图 3,表 3。结果显示,与 PTK787 模型组相比,不同产地巴戟天药材提取物对斑马鱼血管的生成均具有促进作用。以广东高要

表 2 不同浓度巴戟天提取物对斑马鱼节间血管生长的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of different concentrations of Morindae Officinalis Radix extract on internode vascular growth of zebrafish ($\bar{x} \pm s$)

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	血管生成数/条	血管生长长度/ μm	血管相对生成率/%
正常	-	28.00 \pm 0.27	2 885.70 \pm 413.35	93.43 \pm 13.35
PTK787 模型	0.2	2.22 \pm 0.32 ¹⁾	189.57 \pm 41.07 ¹⁾	9.90 $\times 10^{-7}$ \pm 5.74
巴戟天提取物	25	5.00 \pm 1.14	233.71 \pm 141.90	1.53 \pm 4.91
	50	9.67 \pm 1.01 ²⁾	468.14 \pm 172.96 ²⁾	9.65 \pm 5.99
	75	6.33 \pm 0.58 ²⁾	308.20 \pm 107.91 ²⁾	4.11 \pm 3.70
	100	0	0	0

注:PTK787 模型组与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;PTK787 模型组与加药处理组比较²⁾ $P < 0.05$ 。



A. 25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; B. 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; C. 75 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; D. 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

图 3 不同浓度巴戟天提取物对斑马鱼节间血管生长情况的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of Morindae Officinalis Radix extract on internode vascular growth of zebrafish

(GGY-1), 广东郁南(GYN-2), 广西岑溪(GCX-1)的巴戟天促血管生成效果较好,其血管生成数平均达 9 条,血管生长长度平均在 468 ~ 504 μm ,相对生成率达 7.9% ~ 8.86%,促血管生成效果明显优于其他产地。广东德庆(GDQ-2),福建永定(MYD-1)和广东郁南(GYN-1)等地巴戟天表现出较好的促血管生成效果,血管生成数平均 7 条,生长长度平均在 264 ~ 337 μm ,血管相对生成率达 1.29% ~ 2.38%。

3.4 不同产地巴戟天促斑马鱼血管生成的聚类分析 为探讨巴戟天的产地差异性,首先对斑马鱼节间血管生成数、生长长度及相对生成率 3 个变量进行主成分分析。Bartlett 球度检验给出的相伴概率为 0.00 ($P < 0.05$),适合做因子分析。由表 4 可见,第一个主成分的特征值 > 1 ,说明第一个因子在评价巴戟天促血管生成中起着主导作用,其累积贡献率达 99.049%,能够较为客观的评价巴戟天中微量元素含量情况,所以选取第一个主成分进行评价分析。

基于主成分分析数据,以 12 个不同产地巴戟天促血管生成的相对生成率为指标进行聚类分析,结果见图 4。12 个不同产地巴戟天主要被聚为四大类,福建永定(MYD-2)为一类;福建永定(MYD-1),

表 3 不同产地巴戟天提取物对斑马鱼节间血管生长的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 3 Effect of Morindae Officinalis Radix extract from different habitats on internode vascular growth of zebrafish ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

处理	血管生成数/条	相对生成率/%	血管长度/ μm
正常	27 \pm 7.98	93.43 \pm 14.32	2 885.70 \pm 387.89
PTK787 + 丹红	24 \pm 4.67	76.14 \pm 7.35	706.89 \pm 156.09
PTK787 模型	2 \pm 0.12	0.01 \pm 0.19	189.57 \pm 23.09
MYD-1	6 \pm 0.57	1.91 \pm 0.67	332.00 \pm 58.07
MYD-2	4 \pm 0.89	1.76 \pm 0.52	523.63 \pm 104.42
GDQ-1	3 \pm 0.13	0.48 \pm 0.09	458.57 \pm 64.60
GDQ-2	4 \pm 1.01	1.29 \pm 0.62	172.00 \pm 20.70
GGY-1	8 \pm 1.87	8.48 \pm 1.57	229.00 \pm 81.24
GGY-2	10 \pm 2.09	8.86 \pm 1.73	246.86 \pm 57.72
GYN-1	5 \pm 0.99	2.38 \pm 0.63	178.87 \pm 12.10
GYN-2	7 \pm 0.89	7.89 \pm 1.99	264.13 \pm 39.87
GCW-1	3 \pm 0.97	0.34 \pm 0.04	468.14 \pm 74.39
GCW-2	4 \pm 0.96	0.99 \pm 0.09	144.57 \pm 11.17
GCX-1	7 \pm 1.43	7.01 \pm 2.35	219.67 \pm 29.51
GCX-2	3 \pm 0.76	0.55 \pm 0.18	417.28 \pm 46.77

广西苍梧(GCW-1),广西岑溪(GCX-2)和广东德庆(GDQ-1)聚为一类;广东德庆(GDQ-2),广东高要(GGY-1),广东郁南(GYN-2)和广东高要(GGY-2)聚为一大类;广西苍梧(GCW-2),广西岑溪(GCX-1)和广东郁南(GYN-1)聚为一类。

4 讨论

本研究从巴戟天改善心肌缺血的药理学活性角度出发,以特异性血管生长因子酪氨酸激酶抑制剂 PTK787 诱导的血管损伤转基因斑马鱼为模型,研究了巴戟天提取物对斑马鱼破损节间血管生成数、生长长度和血管相对生成率的影响,比较了广东、广西和福建等不同产地巴戟天在促血管生成上的地域性差异。首先,研究发现巴戟天提取物可促进斑马鱼

表 4 主成分的特征值及方差贡献率

Table 4 Eigenvalues and total variance explained of extracted components

主成分	初始特征值及方差贡献率			旋转后的特征值及方差贡献率		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	1.981	99.041	99.041	1.981	99.041	99.041
2	0.019	0.959	100			

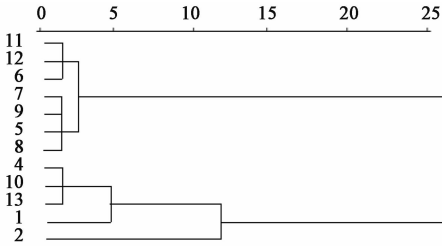


图 4 不同产地巴戟天聚类分析

Fig. 4 Cluster analysis of Morindae Officialis Radix from different habitats

节间血管生成,且对破损血管模型有明显的修复作用,这与冯国清等^[15]报道的巴戟天寡糖具有促进血管生成功能的结果一致。其次,实验结果表明不同产地巴戟天提取物对斑马鱼节间血管生成数、生成长度和相对生成率的作用明显不同,采用主成分分析,筛选对评价巴戟天促血管生成起主导作用的主成分因子,基于主导因子对 12 个不同产地巴戟天药材进行聚类分析。结果发现,地理位置相近的产地能聚到一起,例如广东德庆与高要,广西苍梧与岑溪,广东郁南与广西苍梧等,提示不同产地巴戟天在促血管生成上表现出明显的地域性差异,而且广东高要、广东郁南等地巴戟天促血管生成效果较为突出,为阐释巴戟天道地药材的科学本质提供了基础数据。目前斑马鱼模型在中药研究中的应用逐渐深入,尤其在中药靶器官毒性、中药代谢和中药成分活性筛选等研究方面发挥着重要作用^[16-20]。本研究首次以 PTK787 构建的节间血管损伤斑马鱼为模型,探讨了不同产地巴戟天在促血管生成方面的产地差异性,提示斑马鱼模型在道地药材相关研究方面具有重要的潜力。

[参考文献]

[1] 肖小河,陈士林,黄璐琦,等. 中国道地药材研究 20 年概论[J]. 中国中药杂志,2009,34(5):519-523.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M].

北京:中国医药科技出版社,2015:81-82.
[3] 史辑,刘梓晗,王玲,等. HPLC 测定不同产地巴戟天中 5 种茜草素型蒽醌的含量[J]. 中药材,2015,38(2):245-248.
[4] 章润菁,李倩,屈敏红,等. 不同产地、生长年限和种质的巴戟天药材寡糖含量分析[J]. 中国药学杂志,2016,51(4):315-320.
[5] 刘颖嘉,黄宇,荣俊冬,等. 巴戟天遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 福建林学院学报,2011,31(3):203-206.
[6] 黄琼林,郑夏生,蔡春. 基于 ITS2 条形码的南药巴戟天真伪鉴别[J]. 热带作物学报,2014,35(8):1571-1576.
[7] 丁平,刘瑾,邱金英,等. 基于核糖体 rDNAITS 序列变异探讨巴戟天道地性[J]. 药学学报,2012,47(4):535-540.
[8] 刘洋洋,冯剑,陈德力,等. 南药巴戟天本草考证[J]. 生物资源,2017,39(1):1-9.
[9] 苏现明,王洪庆,陈若芸,等. 巴戟天属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中药材,2017,40(4):986-991.
[10] 赖满香,阮志燕,许意平. 补肾中药巴戟天药理作用研究进展[J]. 亚太传统医药,2017,13(1):63-64.
[11] 田丽莉,朱国福. 斑马鱼在中药研究中的应用[J]. 中国中药杂志,2015,40(5):822-827.
[12] 赵崇军,田敬欢,王金凤,等. 斑马鱼在中药研究中的应用进展[J]. 中草药,2015,46(17):2635-2648.
[13] 何秋霞,刘可春,楚杰,等. 斑马鱼作为模式生物在心血管疾病研究中的应用[J]. 生命的化学,2009,29(5):721-726.
[14] 吴峰,王国坤,安丽娜,等. 丹参多酚酸盐对斑马鱼胚胎血管新生的影响及分子机制初步研究[J]. 现代生物医学进展,2012,12(36):7005-7007,7085.
[15] 冯国清,杨景柯,于爽,等. 巴戟天寡糖促鸡胚绒毛尿囊膜及大鼠心肌梗死模型血管生成的研究[J]. 中国药理学通讯,2007,24(3):26.
[16] 宁青,韦英杰,王丹丹,等. 斑马鱼药物代谢模型的适用性研究进展[J]. 中草药,2015,46(8):1231-1236.
[17] 陈志亮. 斑马鱼在药物筛选中的应用[J]. 中国中药杂志,2015,40(7):1235-1239.
[18] 张勇,郭胜亚,邓中平,等. 斑马鱼在中药毒性靶器官研究中的进展[J]. 中国新药杂志,2016,25(12):1343-1347.
[19] 张楷承,曹雨诞,姚芳,等. 京大戟醋制前后对斑马鱼胚胎的急性毒性研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(12):2291-2297.
[20] 田丽莉,董建勇,黄长江. 莪术醇对斑马鱼胚胎发育的影响[J]. 温州医学院学报,2010,40(6):557-559,563.

[责任编辑 顾雪竹]