

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.28.016

丹参酮 IIA 调节 microRNA-1 保护缺氧心肌细胞的作用研究 *

李雪连^{1,2} 关会林³ 王璐¹ 郭瑞¹ 赵丹丹¹ 郭振丰¹ 张佳琳¹ 单宏丽^{1,2,△}

(1 哈尔滨医科大学药理学教研室 黑龙江 哈尔滨 150081; 2 心血管药物研究教育部重点实验室 黑龙江省生物医药工程重点实验室 - 省部共建国家重点实验室培育基地 黑龙江 哈尔滨 150081; 3 牡丹江医学院 黑龙江 牡丹江 157011)

摘要 目的:研究丹参酮 IIA(Tanshinone IIA)通过调节 microRNA-1 抗心肌细胞缺氧损伤的作用。**方法:**原代培养新生大鼠心肌细胞,建立心肌细胞缺氧模型。MTT 法检测心肌细胞存活率(%);TUNEL、流式细胞术测心肌细胞凋亡率;激光共聚焦检测心肌细胞内钙离子 $[Ca^{2+}]_i$ 浓度的变化情况。**结果:**MTT 结果显示丹参酮 IIA 对缺氧心肌细胞及过表达 miR-1 引起心肌细胞损伤具有保护作用。丹参酮 IIA 增加了缺氧心肌细胞的存活率($P<0.05$),同时给予丹参酮 IIA 和 miR-1 组与单独 miR-1 损伤组相比较,存活率也明显升高,呈现剂量依赖性。TUNEL 结果显示丹参酮 IIA 可以抑制缺氧诱导的细胞凋亡,丹参酮 IIA 可以明显降低由缺氧导致的细胞凋亡率($P<0.05$)。共聚焦检测结果显示,缺氧损伤的心肌细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 显著升高 1322.72 ± 5.16 (vs 正常对照组, $P<0.05$),丹参酮 IIA 则有效抑制由缺氧引起过高的 $[Ca^{2+}]_i$ 。miR-1 诱导的细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 升高至 1349.33 ± 62.63 ,约为正常对照组的 1.96 倍,而丹参酮 IIA 则有效抑制胞内过高的 $[Ca^{2+}]_i$,从而发挥心肌保护作用。**结论:**丹参酮 IIA 可能是通过抑制胞内 miR-1 的表达,参与对钙离子浓度的调控,发挥其对心肌细胞的保护作用。

关键词:丹参酮 IIA;缺氧;心肌细胞;miR-1;细胞内钙;细胞凋亡

中图分类号:R966 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)28-5463-05

Tanshinone IIA Protect Hypoxic Myocardial Cells Through Regulating MicroRNA-1 *

LI Xue-lian^{1,2}, GUAN Hui-lin³, WANG Lu¹, GUO Rui¹, ZHAO Dan-dan¹, GUO Zhen-feng¹, ZHANG Jia-lin¹, SHAN Hong-li^{1,2,△}

(1 Department of Pharmacology, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China;

2 State-Province Key Laboratories of Biomedicine-Pharmaceutics of China, Key Laboratory of Cardiovascular Research, Ministry of Education Heilongjiang, Harbin, Heilongjiang, 150081, China;

3 Mudanjiang Medical University, Heilongjiang, Mudanjiang, 157011, China)

ABSTRACT Objective: To study and explore the mechanism of Tanshinone IIA (Tan) protecting hypoxic myocardial cells by regulating microRNA-1. **Methods:** Primary cultured neonatal cardiomyocytes and established the model of myocardial hypoxia. Cell viability was detected by MTT assay, apoptosis of myocardial cells and apoptosis percentage were detected by TUNEL assay and flow cytometry. Intracellular calcium concentration ($[Ca^{2+}]_i$) was measured by Laser Scanning Confocal. **Results:** MTT results showed that the Tan IIA could alleviate cell death induced by hypoxia, with the trend of dose-dependence, ($P<0.05$). TUNEL results also showed that Tan IIA could significantly reduce the percentage of hypoxia-induced apoptosis ($P<0.05$). The $[Ca^{2+}]_i$ increased significantly under hypoxia, while the Tan IIA could effectively inhibit the $[Ca^{2+}]_i$ and thus play a protective role ($P<0.05$). **Conclusions:** Tanshinone IIA can alleviate the hypoxia-induced apoptosis, possibly through regulating miRNA-1 and $[Ca^{2+}]_i$, playing a protective effect on myocardial cells.

Key words: Tanshinone IIA; Hypoxia; Cardiomyocytes; miRNA-1; $[Ca^{2+}]_i$; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R966 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)28-5463-05

前言

丹参酮 IIA(tanshinone IIA)是传统治疗冠心病,防治心源性猝死复方丹参滴丸的主要成分之一。在我国传统中药中丹参具有抗缺血缺氧、改善微循环、抑制血小板粘附聚集功能和抗血栓形成作用^[1-3],临床上主要用于冠心病的治疗。但丹参酮 IIA

如何发挥疗效保护心肌细胞的具体机制,有待进一步研究^[4]。microRNA (miRNA) 是一类长度约 22~25 nt 的非编码调控单链小分子 RNA,通过与核糖体核蛋白体复合物结合,识别目标 mRNA 并与其 3' 端非编码区域 (3'-untranslated region, 3' UTR) 互补匹配,起到多种调控作用。目前 miRNAs 参与调节多种心脏疾病,其中心肌组织特异的 microRNA-1 参与心肌缺血、心

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究面上项目(12521176)

作者简介:李雪连(1979-),女,博士,副教授,硕士生导师,主要研究方向:心血管药理学

△ 通讯作者:单宏丽,电话:0451-86671354, E-mail: eexueer@163.com

(收稿日期:2014-03-14 接受日期:2014-04-13)

肌细胞凋亡、心力衰竭、心肌肥厚、心肌梗死、心肌纤维化以及心律失常的发生发展^[1,46]。

本实验中我们以体外建立的心肌细胞缺氧模型为研究对象,分析和探讨丹参酮 IIA 对缺氧诱导大鼠乳鼠心肌细胞损伤的保护作用及参与调节 microRNA-1 其作用机制,发现丹参酮 IIA 通过下调胞内 miR-1 的表达,miR-1 的过表达可以引起细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 释放,丹参酮 IIA 通过 miR-1 降低 $[Ca^{2+}]_i$,降低细胞凋亡,发挥其对心肌细胞的保护作用。本研究为研究丹参酮 IIA 对冠心病的治疗作用奠定药理学研究基础。

1 材料与方法

1.1 原代乳鼠心肌细胞培养

出生后 1-3d 的 Wistar 大鼠,由哈尔滨医科大学附属二院实验动物中心提供。将心脏组织剪成 1-3 mm³ 大小的组织块。用 0.25%胰蛋白酶置于 37℃ 水浴消化成单细胞悬液。加入 10 %胎牛血清的 DMEM 于培养瓶内,37℃、5% CO₂ 孵箱中培养 2 h 后,采用差速贴壁的方法得到纯化的心肌细胞。差速贴壁法是利用成纤维细胞、心肌细胞的贴壁时间不同而将它们分离的方法。成纤维细胞的贴壁能力强,在细胞接种 1-2 h 就可直接贴壁,采用差速贴壁法分离成纤维细胞,弃去心肌细胞。体外心肌细胞缺氧模型的建立,缺氧条件:CO₂ 3%; O₂ 2%; N₂ 95 %^[7]。

1.2 MTT 测定心肌细胞存活率

待原代培养心肌细胞差速贴壁结束后,细胞计数并制成细胞悬液,适力吹打均匀,以 1×10^6 个/mL 密度接种于 96 孔培养板中,每孔 200 μ L。分组为对照组、缺氧组、丹参酮 IIA 组 (0.1 μ M, 1 μ M, 10 μ M) 处理;另外在转染 miR-1 组,转染 miR-1 同时给予不同浓度的丹参酮 IIA (0.1 μ M, 1 μ M, 10 μ M) 处理结束后,每孔加入 20 μ L MTT (5 mg/mL, Sigma 公司) 后继续避光 37℃ 培养 4 h,使之充分作用。然后洗净各孔内液体,每孔加入 150 μ L 二甲基亚砜 (DMSO),置摇床上缓慢震荡 10 min,使结晶物充分溶解。用 Tecan 酶标仪 490 nm 处测量各孔

的吸光度值。实验结果以细胞存活率表示,即:细胞存活率%=实验组光吸收值/对照组光吸收值 $\times$ 100%。缺氧损伤及药物作用 24 h 后,进行 MTT 检测。丹参酮 IIA 纯度为 99%,购于西安冠宇生物技术有限公司。

1.3 TUNEL 法观察细胞凋亡

采用 TUNEL detection kit (Roche 公司),在室温下固定原代细胞 30 分钟,然后用 PBS 冲洗细胞标本,再用通透液 (0.1% Triton X-100 溶于 0.1%枸橼酸钠溶液中) 4℃ 处理标本 2 min。用 PBS 冲洗细胞标本,待标本干燥后,加入 50 μ L 反应混合液 (酶浓缩溶液和标记液比例为 1:9),在湿盒中 37℃ 孵育 60 min。PBS 清洗标本,在荧光显微镜下观察结果。

1.4 流式细胞仪测凋亡

Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒购买于 Biosea Biotechnology 公司。以标记了 FITC 的 AnnexinV 作为荧光探针,利用流式细胞仪或荧光显微镜可检测细胞凋亡的发生。Propidium Iodide (PI) 是一种核酸染料,它不能透过完整的细胞膜,但在凋亡中晚期的细胞和死细胞,PI 能够透过细胞膜而使细胞核红染。将 AnnexinV 与 PI 配合使用,可以将凋亡早期的细胞和晚期的细胞以及死细胞区分开来。

1.5 激光共聚焦扫描显微镜测定心肌细胞内 $[Ca^{2+}]_i$

心肌细胞中加入适量的 Fluo-3/AM (终浓度为 4 μ M/L) 和 Pluronic-F127 (终浓度为 0.05 %),避光,37℃ 温箱孵育 40 min。Fluo-3/AM 被动扩散进入细胞后,被酯酶水解释出 Fluo-3。Fluo-3 与 Ca^{2+} 络合,激光共聚焦扫描显微镜下观察呈现绿色荧光。在激发波长为 488nm,发射波长为 526 nm,20 $\times$ 物镜下实时监测 $[Ca^{2+}]_i$ 的变化。在 Time series 程序下对细胞 XY 平面进行扫描,间隔时间为 10s,共扫描 10 次。计算细胞 XY 平面内平均荧光强度 (FI),以 FI 代表 $[Ca^{2+}]_i$ ^[8,9]。

1.6 统计分析

实验数据以均数 $\pm$ 标准误 (mean $\pm$ SEM) 来表示,组内两两配对比较采用双侧 t-test 进行结果统计。组间比较采用 ANOVA 进行统计分析。P<0.05 定为有统计学意义。

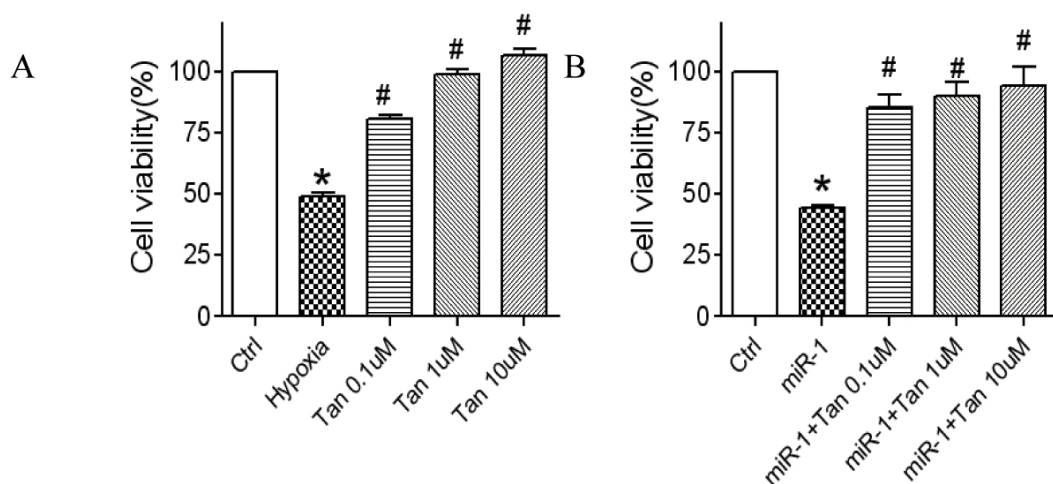


图 1 丹参酮 IIA 对缺氧心肌细胞和对过表达 miR-1 心肌细胞的保护作用

Fig.1 The protective effect of tanshinoneIIA on hypoxic and miR-1-overexpressed cardiomyocytes

* 注: A. 丹参酮 IIA 对缺氧损伤的细胞的存活率的影响 B. 丹参酮 IIA 对 miR-1 诱导损伤的心肌细胞的存活率的影响。(n=8. *P<0.05 与正常对照组相比; # P<0.05 与缺氧损伤组或 miR-1 组相比。)

* Note: A. The effect of tanshinoneIIA on viability of hypoxic cardiomyocytes. B. The effect of tanshinoneIIA on viability of miR-1 overexpressed cardiomyocytes. (n=8 *P<0.05 compared with control group; # P<0.05 compared with hypoxic group or miR-1 group.)

2 结果

2.1 丹参酮 IIA 对缺氧心肌细胞及 miR-1 损伤的心肌细胞的保护作用

MTT 比色法检测心肌细胞存活率,结果显示缺氧组(Hypoxia, HY)与对照组(Control)相比,细胞存活率明显降低($P<0.05$)。丹参酮 IIA 治疗组是在缺氧细胞的培养液中加入不同浓度的丹参酮 IIA(Tan 0.1 μM , Tan 1 μM , Tan 10 μM),随着丹参酮 IIA 浓度的递增,治疗组与缺氧损伤组相比,细胞的存活率显著升高,均具有统计学意义(图 1A, $P<0.05$)。用 Lipofectamine[®] 2000 转染 miR-1 进入原代心肌细胞中,发现与正常对照组相

比较,miR-1 组细胞存活率明显降低($P<0.05$)。转染 miR-1 同时给予不同浓度的丹参酮 IIA(0.1 μM , 1 μM , 10 μM)改善并升高了细胞的存活率(图 1B, $P<0.05$)。

2.2 TUNEL 法检测丹参酮 IIA 对缺氧损伤引起的心肌细胞凋亡的作用

采用 TUNEL 法检测缺氧引起的心肌细胞凋亡。结果显示,对照组没有绿色荧光,缺氧损伤组中镜下可见多个细胞出现绿色荧光,显示缺氧引起原代心肌细胞凋亡(图 2 A,B)。丹参酮 IIA 治疗组浓度为 1 μM ,在缺氧同时孵育给予丹参酮 IIA 24 h 后,绿色荧光明显减少,说明丹参酮 IIA 减轻缺氧诱发的细胞凋亡(图 2 C)。

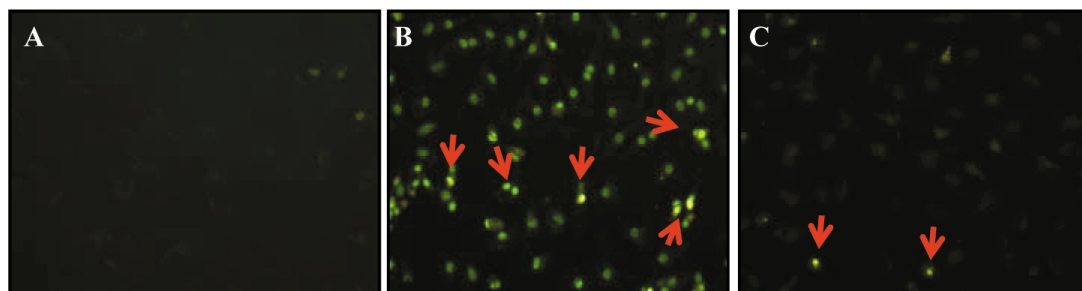


图 2 TUNEL 法检测丹参酮 IIA 对缺氧心肌细胞凋亡的保护作用($\times 20$)

Fig.2 TUNEL assay showed protective effect of tanshinone IIA on hypoxic cardiomyocytes against apoptosis ($\times 20$)

* 注:A.正常对照组 B.缺氧损伤 24h 组 C.缺氧损伤同时给予丹参酮 IIA 24h 组。

* Note: A. Control group. B. Hypoxic cardiomyocytes 24 h.C. Hypoxic cardiomyocytes with 24h Tan IIA treatment.

2.3 流式细胞术检测丹参酮 IIA 对缺氧心肌细胞凋亡率的影响

如表 1 所示,正常对照组的细胞早期凋亡率:1.39%,晚期凋亡率:2.44%;缺氧损伤组细胞的早期凋亡率:3.53%,晚期凋亡率:9.79%;丹参酮 IIA 给药组细胞的早期凋亡率:1.38%,晚

期凋亡率:2.04%。由此可见,缺氧损伤后细胞的凋亡、坏死率及总死亡率较正常对照组均显著升高($n=3$),而缺氧同时给丹参酮 IIA 组与对照组相比,差异无统计学意义。

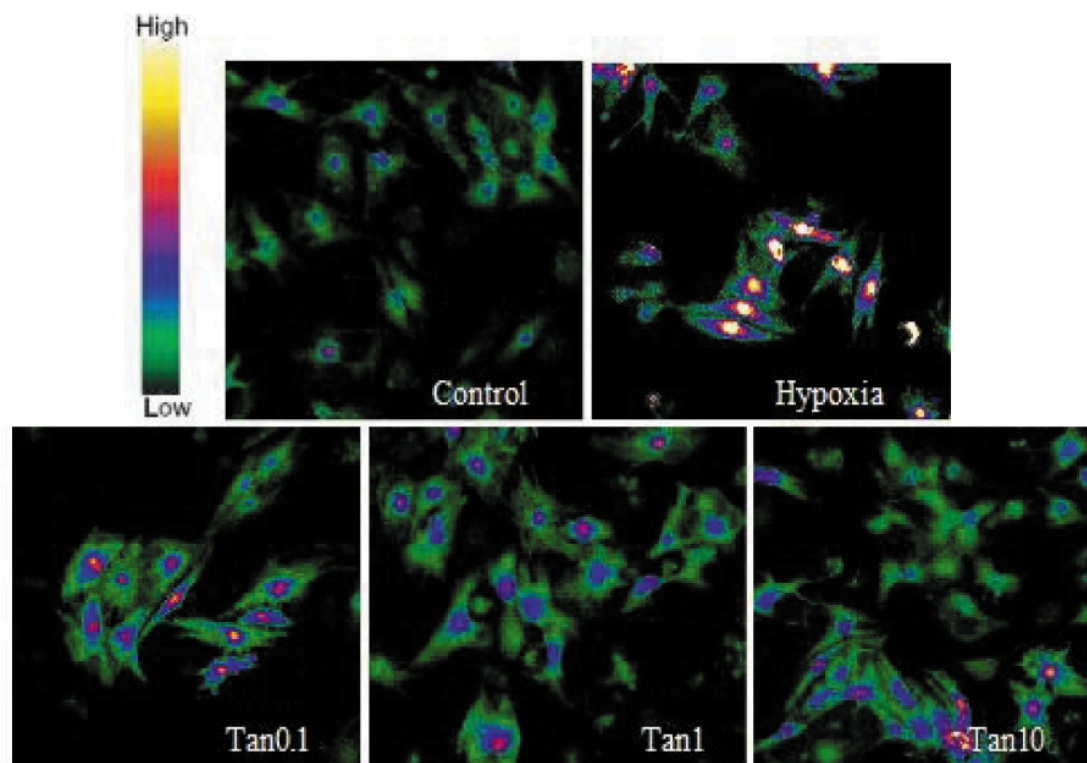


图 3 丹参酮 IIA 对缺氧损伤的心肌细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响

Fig.3 The effect of tanshinone IIA treatment on $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in hypoxic cardiomyocytes

表 1 AnnexinV-PI 染色测丹参酮 IIA 对心肌细胞凋亡的作用

Table 1 AnnexinV-PI staining was used to detect the protect effect of Tanshinone IIA on myocardial apoptosis

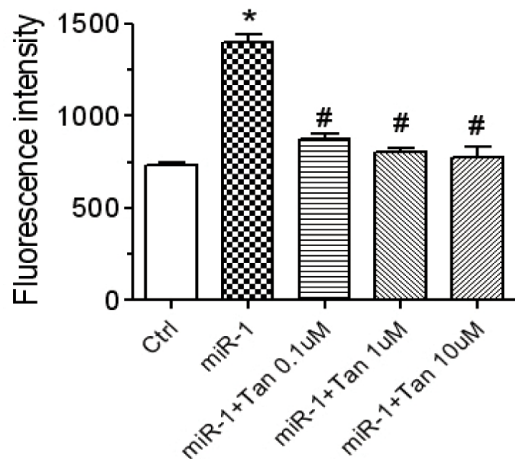
	早期凋亡 (%) Early apoptotic cells	晚期凋亡 (%) Late apoptotic cells	坏死细胞 (%) Necrotic cells	正常细胞 (%) Viable cells
正常细胞 Control group	1.39	2.44	0.48	95.69
缺氧组 Hypoxia group	3.53	9.79	7.49	79.19
丹参酮 IIA 组 TanIIA group	1.38	2.04	0.37	96.21

2.4 丹参酮 IIA 对缺氧后心肌细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响

采用 Fluo-3-AM 染色,通过激光共聚焦显微镜检测荧光染色的心肌细胞,测细胞内游离钙离子浓度 $[Ca^{2+}]_i$ 。在镜下随机选取 6 个细胞,以 FI 代表细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 。对正常对照组相比 (719.54 ± 21.67),缺氧组细胞荧光强度显著升高 (1322.72 ± 5.16 , $n=6$, $*P<0.05$ 与正常对照组相比),而丹参酮 IIA 组较缺氧组染色颗粒少,荧光强度也低。丹参酮 IIA 0.1 μM , 1 μM , 10 μM 组荧光强度分别为 689.35 ± 13.44 , 610.08 ± 34.44 和 514.98 ± 9.47 ,说明丹参酮 IIA 可在不同程度上降低缺氧所导致的 $[Ca^{2+}]_i$ 的升高,并且呈现一种剂量依赖性,以剂量组(10 μM)的作用最为明显。如图 3 所示。

2.5 丹参酮 IIA 对 miR-1 过表达后心肌细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响

转染 miR-1 进入原代心肌细胞中,发现与正常对照组相比较,miR-1 组细胞的 $[Ca^{2+}]_i$ 明显上升至 1349.33 ± 62.63 ,约为对照组的 1.96 倍。若同时孵育丹参酮 IIA 则有效抑制胞内过高的 $[Ca^{2+}]_i$ 。丹参酮 IIA 处理组之间没有发现对 $[Ca^{2+}]_i$ 的显著差别,无剂量依赖性。如图 4 所示, $n=6$, $*P<0.05$ 与正常对照组相比; $\#P<0.05$ 与 miR-1 过表达组相比。

图 4 丹参酮 IIA 对转染 miR-1 心肌细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响Fig.4 The effect of tanshinone IIA treatment on $[Ca^{2+}]_i$ in hypoxic cardiomyocytes with miR-1-overexpressed

3 讨论

丹参酮 IIA 对缺血缺氧性心肌细胞具有一定的保护作用,然而机制尚不明确。本项目组前期工作发现 microRNA-1 (miR-1)是缺血性心律失常发生的关键调控因子,并在急性心肌梗死患者的血浆中表达升高^[10-12]。随后研究发现丹参酮 IIA 能够显著降低由急性心肌缺血引起过度升高的 miR-1。缺血性心律失常大鼠心肌中 miR-1 异常升高导致 IK1/Kir2.1 下降,进

一步的研究发现丹参酮 IIA 可以通过调节血清反应因子 SRF 从而抑制 miR-1 的升高,阻止了过表达的 miR-1 对 IK1/Kir2.1 的下调作用,恢复膜电位去极化水平,揭示了丹参酮 IIA 抗心源性猝死的机制^[13]。有研究发现 miR-1 的过表达引起 Ca^{2+} 释放和诱发心律失常^[14]。进一步研究发现,丹参酮 IIA 保护心梗的机制主要是通过抑制 p38 MAPK 信号通路磷酸化水平,从而下调下游基因,如心肌特异性转录因子 SRF、MEF2 等,抑制 miR-1 表达的升高^[7]。在缺氧的心肌细胞质中,丹参酮 IIA 还可以通过调节 ERK1/2 改善 miR-133 表达而起到心肌保护作用^[15, 16]。本研究在细胞水平上进一步证实了 miR-1 的过度表达对于心肌细胞的损伤作用;丹参酮 IIA 可以保护缺氧损伤的心肌细胞及 miR-1 诱导损伤的心肌细胞。

丹参酮 IIA 能够抑制心肌缺氧后的钙超载,从而缩短动作电位时程(APD),减少心律失常的发生。缺氧对心肌、血管平滑肌的直接作用主要表现在增加肌膜对 Ca^{2+} 的通透性,使 Ca^{2+} 内流增多,加强了兴奋—收缩耦联过程,从而引起心肌、血管平滑肌收缩^[17, 18]。有实验证实丹参酮 IIA 对类异搏停样 L 型钙通道具有阻断作用^[19],使正常心肌 $[Ca^{2+}]_i$ 降低,明显抑制细胞内钙超载,具有钙通道阻滞作用。通过防止细胞内尤其是线粒体内的钙超载,可用于心肌缺血再灌注损伤和心律失常的防治。研究发现丹参酮 IIA 对心肌细胞膜电位的影响,认为丹参酮 IIA 可能引起心肌细胞膜电位正值减小^[20]。出现超极化的改变,使细胞外钙内流减少,通过防止心肌钙超载,减轻心肌缺氧损伤而产生心肌保护作用。

本实验将细胞分为正常对照组,缺氧损伤组及丹参酮给药组,从共聚焦检测的荧光强度上可以看到缺氧组的胞浆钙离子浓度显著升高,可能是缺氧使细胞膜电位降低,引起细胞膜对离子的通透性增高,导致离子顺离子浓度梯度透过细胞膜,而造成钙超载^[21]。而缺氧同时孵育丹参酮组,丹参酮 IIA 使正常心肌钙离子浓度降低,明显抑制缺氧引起的细胞内钙超载,具有钙通道阻滞作用,推测丹参酮 IIA 可能引起心肌细胞膜电位正值减少,出现超极化的改变,使细胞外钙内流减少,通过防止心肌钙超载,减轻心肌缺血损伤而产生心肌保护作用。本科室也已经证实过表达的 miR-1 会诱发缺血性心律失常,并促进心肌细胞的凋亡。因此共聚焦检测结果可以看到,转染 miR-1 组细胞的钙离子浓度显著升高,而转染 miR-1 同时孵育丹参酮的心肌细胞钙离子浓度得到抑制。

本研究从细胞水平上探讨丹参酮 IIA 对缺氧心肌细胞凋亡的抑制作用,具有显著的心肌保护作用。丹参酮 IIA 可以通过抑制细胞内 miR-1 的过表达,从而降低胞浆钙浓度发挥保护缺氧心肌细胞的作用。

参 考 文 献(References)

- [1] Zhu H, Hao J, Chen H, et al. Nanovesicles system for rapid-onset sublingual delivery containing sodium tanshinone IIA sulfonate: in vitro and in vivo evaluation[J]. J Pharm Sci, 2013, 102(7):2332-2340
- [2] Wang P, Zhou S, Xu L, et al. Hydrogen peroxide-mediated oxidative stress and collagen synthesis in cardiac fibroblasts: blockade by tanshinone IIA[J]. J Ethnopharmacol, 2013, 145(1):152-161
- [3] Shang Q, Wang H, Li S, et al. The Effect of Sodium Tanshinone IIA Sulfate and Simvastatin on Elevated Serum Levels of Inflammatory Markers in Patients with Coronary Heart Disease: A Study Protocol for a Randomized Controlled Trial [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013:756519
- [4] Lu Y, Zhang Y, Shan H, et al. MicroRNA-1 downregulation by propranolol in a rat model of myocardial infarction: a new mechanism for ischaemic cardioprotection [J]. Cardiovasc Res, 2009, 84 (3): 434-441
- [5] Xu HF, Ding YJ, Shen YW, et al. MicroRNA-1 represses Cx43 expression in viral myocarditis [J]. Mol Cell Biochem, 2012, 36(1-2): 141-148
- [6] Tan X, Li J, Wang X, et al. Tanshinone IIA protects against cardiac hypertrophy via inhibiting calcineurin/NFATc3 pathway[J]. Int J Biol Sci, 2011, 7(3): 383-389
- [7] Zhang Y, Zhang L, Chu W, et al. Tanshinone IIA inhibits miR-1 expression through p38 MAPK signal pathway in post-infarction rat cardiomyocytes[J]. Cell Physiol Biochem, 2010, 26(6): 991-998
- [8] Li X, Chu W, Liu J, et al. Antiarrhythmic properties of long-term treatment with matrine in arrhythmic rat induced by coronary ligation [J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32(9):1521-1526
- [9] Miyata H, Silverman HS, Sollott SJ, et al. Measurement of mitochondrial free Ca^{2+} concentration in living single rat cardiac myocytes[J]. Am J Physiol, 1991, 261(4 Pt 2): H1123-1134
- [10] Yang B, Lin H, Xiao J, et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2[J]. Nat Med, 2007, 13(4): 486-491
- [11] Zhang R, Niu H, Ban T, et al. Elevated plasma microRNA-1 predicts heart failure after acute myocardial infarction[J]. Int J Cardiol, 2013, 166(1): 259-260
- [12] Zhang Y, Sun L, Liang H, et al. Overexpression of microRNA-1 causes atrioventricular block in rodents[J]. Int J Biol Sci, 2013, 9(5): 455-462
- [13] Shan H, Li X, Pan Z, et al. Tanshinone IIA protects against sudden cardiac death induced by lethal arrhythmias via repression of microRNA-1[J]. Br J Pharmacol, 2009, 158(5): 1227-1235
- [14] Terentyev D, Belevych AE, Terentyeva R, et al. miR-1 overexpression enhances Ca^{2+} release and promotes cardiac arrhythmogenesis by targeting PP2A regulatory subunit B56alpha and causing CaMKII-dependent hyperphosphorylation of RyR2[J]. Circ Res, 2009, 104(4): 514-521
- [15] Zhang L, Wu Y, Li Y, et al. Tanshinone IIA improves miR-133 expression through MAPK ERK1/2 pathway in hypoxic cardiac myocytes[J]. Cell Physiol Biochem, 2012, 30(4): 843-852
- [16] Yang L, Zou X, Liang Q, et al. Sodium tanshinone IIA sulfonate depresses angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy through MEK/ERK pathway[J]. Exp Mol Med, 2007, 39(1): 65-73
- [17] Herrera GM, Walker BR. Involvement of L-type calcium channels in hypoxic relaxation of vascular smooth muscle [J]. J Vasc Res, 1998, 35(4): 265-273
- [18] Bodi I, Mikala G, Koch SE, et al. The L-type calcium channel in the heart: the beat goes on[J]. J Clin Invest, 2005, 115(12): 3306-3317
- [19] 徐长庆, 郝雪梅. 丹参酮 II—A 对豚鼠单个心室肌细胞跨膜电位及 L—型钙电流的影响[J]. 中国病理生理杂志, 1997, 13(1):43-47
- Xu Chang-qing, Hao Xue-mei. Tanshinone II - A single ventricular myocyte transmembrane potential of guinea pigs and the effects of L-type calcium current [J]. Chinese journal of pathophysiology, 1997, 13(1): 43-47
- [20] 孙学刚, 贾玉华, 张丽华. 丹参酮 IIA 对大鼠缺氧及正常心肌细胞内钙, 膜电位和线粒体膜电位的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(9): 21-23
- Sun Xue-gang, Jia Yu-hua, Zhang Li-hua. Tanshinone II A to hypoxia in rats and normal myocardial calcium inside the cell, the influence of membrane potential and mitochondrial membrane potential [J]. Chinese journal of information of traditional Chinese medicine, 2002, 9(9): 21-23
- [21] Srisakuldee W, Makazan Z, Nickel BE, et al. The FGF-2-triggered protection of cardiac subsarcolemmal mitochondria from calcium overload is mitochondrial connexin43-dependent[J]. Cardiovasc Res, 2014