

中图分类号: R932; R285 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)10-0042-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.10.011



丹参酮 II_A 对人肺腺癌细胞 A549 生物学行为的影响初探*

王 布, 邹 芳, 袁胜芳, 项保利, 张志华, 顾 鑫, 牛向欣, 赵建清[△]

(河北北方学院附属第一医院呼吸与危重症医学科, 河北 张家口 075000)

摘要:目的 探讨丹参酮 II_A 对人肺腺癌细胞 A549 增殖、迁移、侵袭、凋亡的影响。方法 实验分为空白对照组(A组, 等体积培养基), 顺铂组(B组, 10 μg/mL 顺铂), 丹参酮 II_A 低、中、高剂量组(C₁组、C₂组、C₃组, 5, 10, 20 μmol/L), 各组细胞以加入相应药物或培养基处理。采用 MTT 法检测细胞增殖情况, 划痕实验法观察细胞迁移情况, Transwell 法检测细胞侵袭力, 流式细胞术检测细胞凋亡情况, 实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)法及 Western blot 法检测细胞基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9、整合素(integrin)α₂、integrin β₁、细胞周期蛋白 B1(Cyclin B1)、半胱氨酸蛋白酶 3(Caspase-3) mRNA 和蛋白的表达水平。结果 与 A 组比较, B 组及 C₁组、C₂组、C₃组细胞处理 24, 48, 72 h 时的增殖率均显著降低, 24 h 时的迁移细胞数及侵袭细胞数均显著减少, 凋亡率均显著升高($P < 0.05$)。与 A 组比较, B 组及 C₁组、C₂组、C₃组细胞处理 24 h 的 G₀/G₁ 期细胞占比均显著升高, S 期、G₂/M 期细胞占比均显著降低($P < 0.05$)。与 A 组比较, B 组及 C₁组、C₂组、C₃组细胞处理 24 h 的 MMP-2, MMP-9, integrin α₂, integrin β₁, Cyclin B1 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著降低, Caspase-3 mRNA 和蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$)。结论 丹参酮 II_A 可抑制 A549 细胞的增殖、侵袭、迁移, 并促进其凋亡, 其作用机制可能与下调 MMP-2, MMP-9, integrin α₂, integrin β₁, Cyclin B1 的表达和上调 Caspase-3 的表达有关。

关键词: 丹参酮 II_A; 肺腺癌; A549 细胞; 增殖; 凋亡; 侵袭; 迁移

Preliminary Exploration of the Effect of Tanshinone II_A on the Biological Behavior of Human Lung Adenocarcinoma A549 Cells

WANG Bu, ZOU Fang, YUAN Shengfang, XIANG Baoli, ZHANG Zhihua, GU Xin, NIU Xiangxin, ZHAO Jianqing

(Department of Respiratory and Critical Care Medicine, The First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China 075000)

Abstract: Objective To investigate the effects of tanshinone II_A on the proliferation, migration, invasion and apoptosis of human lung adenocarcinoma A549 cells. **Methods** The A549 cells were divided into the blank control group (group A, equal volume of culture medium), the cisplatin group (group B, 10 μg/mL cisplatin), the tanshinone II_A low-, medium- and high-dose groups (groups C₁, C₂ and C₃, 5, 10, 20 μmol/L). Cells in each group were treated with the corresponding drug or culture medium. Cell proliferation was detected by the MTT method, cell migration was observed by the scratch assay, cell invasion was detected by the Transwell method, and apoptosis was detected by the flow cytometry. The expression levels of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, integrin α₂, integrin β₁, Cyclin B1 and Caspase-3 mRNA and proteins were detected by the real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and Western blot. **Results** Compared with those in the group A, the proliferation rate of cells in the groups B, C₁, C₂ and C₃ at 24, 48, and 72 h of treatment decreased significantly, the numbers of migrating cells and invading cells in the groups B, C₁, C₂ and C₃ at 24 h of treatment decreased significantly, and the apoptosis rate in the groups B, C₁, C₂ and C₃ at 24 h of treatment increased significantly ($P < 0.05$). Compared with those in the group A, the percentage of G₀/G₁-phase cells in the groups B, C₁, C₂ and C₃ at 24 h of treatment increased significantly, while the percentage of S-phase and G₂/M-phase cells in the groups B, C₁, C₂ and C₃ at 24 h of treatment decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with those in the group A, the expression levels of MMP-2, MMP-9, integrin α₂, integrin β₁ and Cyclin B1 mRNA and proteins in the groups B, C₁, C₂ and C₃ at 24 h of treatment decreased significantly, while the expression levels of Caspase-3 mRNA and protein in the groups B, C₁, C₂ and C₃ at 24 h of treatment increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** Tanshinone II_A can inhibit the proliferation, invasion, migration of A549 cells, and can promote the apoptosis. Its mechanism may be related to downregulating the expression levels of MMP-2, MMP-9, integrin α₂, integrin β₁, Cyclin B1 and upregulating the expression level of Caspase-3.

Key words: tanshinone II_A; lung adenocarcinoma; A549 cells; proliferation; apoptosis; invasion; migration

2020 年全球恶性肿瘤统计数据显示, 肺癌是恶性肿瘤患者的主要死因之一, 其发病率约为 11.4%, 仅次于乳腺癌^[1]。肺腺癌为非小细胞肺癌(约占肺癌的 80%)

最常见亚型(约占 50%)^[2-3]。非小细胞肺癌患者早期无特征性表现, 确诊时多处于中晚期, 且预后较差、生存时间一般较短。现有治疗手段常伴明显的副作用, 致

* 基金项目: 河北省科技计划项目[20377717D]。

第一作者: 王布, 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向为呼吸与危重症医学, (电子信箱) wangbu1989u@163.com。

[△] 通信作者: 赵建清, 女, 大学本科, 主任医师, 研究方向为肺癌的诊断与靶向治疗, (电子信箱) jq.zhao66@163.com。

使患者机能下降、生活受限。研究中医药的抗肿瘤机制对指导临床用药及开发新的抗肿瘤药物具有积极意义。丹参始载于《神农本草经》，具有活血、散瘀作用^[4]，其主要成分丹参酮Ⅱ_A可影响多种肿瘤细胞的生物学行为，抑制其增殖、推动程序性死亡^[5-8]。本研究中初步探讨了丹参酮Ⅱ_A对人肺腺癌细胞 A549 生物学行为的影响及其相关机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与细胞

仪器：Eculipse Ts2 型倒置显微镜（日本 Nikon 公司）；Spectra Max M5 型酶标仪（美国 MD 公司）；BBD6220 型 CO₂ 培养箱（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；Aria III 型流式细胞仪（美国 BD 公司）。

试剂：丹参酮Ⅱ_A（北京百灵威科技有限公司，批号为 LUC0Q43，含量 97%）；二甲基亚砜（DMSO，武汉赛奥斯生物科技有限公司，批号为 B326BA3887，含量 ≥ 99.5%）；磷酸盐缓冲液（PBS）、胰蛋白酶（美国 Hyclone 公司，批号分别为 B01124701，AD24221175）；Trizol 试剂盒（美国 Invitrogen 公司，批号为 15596-026）；Annexin V / 碘化丙啶（PI）双染试剂盒（美国 BD 公司，批号为 9312842）；胎牛血清（FBS）培养基（美国 Gibco 公司，批号为 42Q0682K）；实时荧光定量聚合酶链反应（RT-qPCR）试剂盒（美国 Promega 公司，批号为 0000497768）；Transwell 小室（美国 Corning 公司，批号为 3412）；四甲基偶氮唑蓝（MTT）溶液（美国 Sigma 公司，批号为 M2128，质量浓度为 5 mg / mL）；基质金属蛋白酶（MMP）-2、MMP-9、整合素（integrin）α₂、integrin β₁、细胞周期蛋白（Cyclin）B1、半胱氨酸蛋白酶 3（Caspase-3）的抗体（上海艾博抗有限公司，批号分别为 ab181286，ab137867，ab133557，ab136524，ab32072，ab4051）。

细胞：人肺腺癌 A549 细胞株（上海奥陆生物科技有限公司）。

1.2 方法

细胞培养与分组：将 A549 细胞置含 10%FBS 的 DMEM 培养基（简称培养基）中，在 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。以酶消化法（0.25% EDTA 胰蛋白酶溶液）传代，培养细胞至对数生长期。实验分为空白对照组（A 组，等体积培养基），顺铂组（B 组，10 μg / mL 顺铂），丹参酮Ⅱ_A（临用前以 DMSO 溶解）低、中、高剂量组（C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组，5、10、20 μmol / L）。

细胞增殖能力：取对数生长期的 A549 细胞，将细胞密度调整为 4 × 10³ 个 / 孔，置 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h，细胞贴壁后弃去培养液。各组细胞加入相应药物或培养基 10 μL 处理，均设 6 个复孔，继续培养 24、48、72 h，加入 20 μL MTT 溶液培养 4 h，弃去上清液，加入 100 μL DMSO，振荡 10 min，以酶标仪在 504 nm 波长处检测吸光度（OD），并计算增殖率。

细胞迁移能力：取对数生长期的 A549 细胞，将细胞密度调整为 3 × 10⁵ 个 / 孔，待细胞贴壁后在孔内划 3 条划痕，用 PBS 清洗并去除悬浮细胞，各组细胞加入相应药物或培养基处理，平行 3 次，用倒置显微镜于 0（给药即刻），24 h 时取样拍照，并计算迁移细胞数。

细胞侵袭能力：取对数生长期的 A549 细胞，用培养基洗涤，将细胞密度调整为 1 × 10⁵ 个 / 孔。取 200 μL 细胞悬液加入 Transwell 上室中，各组细胞加入相应药物或培养基处理，平行 3 次；取培养基加入 Transwell 下室。培养 24 h 后，上室内的细胞用棉签擦去，以甲醇固定下室细胞，再用 0.1% 结晶紫染色，显微镜下随机取 5 个视野统计并记录侵袭细胞数。

细胞凋亡及细胞周期：采用流式细胞术。各组细胞加入相应药物或培养基处理 24 h，取 100 μL 细胞悬液，加入 10 μL PI、5 μL Annexin V - FITC 混匀，室温下避光培养 30 min。加入 5 μL PI 后继续避光培养 10 min。以流式细胞仪检测细胞凋亡情况，并计算凋亡率。用乙醇固定细胞，PI 染色处理后的 RNA，再以流式细胞仪测定细胞 DNA 含量，统计各周期细胞占比。2 个实验均平行 3 次。

mRNA 和蛋白表达水平：取经药物或培养基处理后的各组 A549 细胞，提取 mRNA，严格按 RT-qPCR 试剂盒说明书操作。以 GAPDH 为内参，检测 mRNA 表达水平。采用 Western blot 法，取经相应药物或培养基处理后的各组 A549 细胞，接种于 6 孔板中，培养 24 h 后，收集细胞提取总蛋白，以 BCA 法检测蛋白浓度；电泳，转膜，封闭，加入 MMP-2（1:500，V / V），MMP-9（1:500，V / V），integrin α₂（1:200，V / V），integrin β₁（1:200，V / V），Cyclin B1（1:200，V / V），Caspase-3（1:200，V / V）的一抗，4℃ 孵育过夜；磷酸盐吐温缓冲液（PBST）洗膜，加入二抗继续孵育 2 h；ECL 发光液显色，以凝胶成像仪成像，以 β-肌动蛋白（β-actin）为内参检测蛋白表达水平。

2 结果

2.1 细胞增殖情况

与 A 组比较，B 组及 C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组细胞处理 24、48、72 h 时的增殖率均显著降低（P < 0.05），且增殖率随丹参酮Ⅱ_A 质量浓度的增加而降低。详见表 1。

表 1 各组细胞增殖率比较（ $\bar{X} \pm s, \%, n = 6$ ）

Tab. 1 Comparison of proliferation rate in each group
($\bar{X} \pm s, \%, n = 6$)

组别	剂量(μg / mL)	24 h	48 h	72 h
A 组	0	0.95 ± 0.13	1.08 ± 0.14	1.35 ± 0.19
B 组	10	0.55 ± 0.04*	0.60 ± 0.04*	0.61 ± 0.03*
C ₁ 组	5	0.77 ± 0.10*	0.93 ± 0.07*	1.10 ± 0.19*
C ₂ 组	10	0.66 ± 0.06*	0.77 ± 0.05*	0.87 ± 0.04*
C ₃ 组	20	0.53 ± 0.03*	0.59 ± 0.05*	0.63 ± 0.02*
F 值		27.330	46.967	38.704
P 值		0.000	0.000	0.000

注：与 A 组比较，*P < 0.05。表 2 至表 5 同。

Note: Compared with those in the group A, *P < 0.05 (for Tab. 1 - 5).

2.2 细胞迁移及侵袭情况

与A组比较,B组及C₁组、C₂组、C₃组处理24 h的迁移细胞及侵袭细胞数量均显著减少($P < 0.05$),且两者数量随丹参酮 II_A质量浓度的升高而减少。详见表2。

表2 各组细胞迁移及侵袭数比较($\bar{X} \pm s$, 个, $n = 3$)

Tab. 2 Comparison of the numbers of migrating and invading cells in each group ($\bar{X} \pm s$, cell, $n = 3$)			
组别	剂量($\mu\text{g/mL}$)	迁移细胞数	侵袭细胞数
A组	0	134.50 $\pm$ 7.66	117.33 $\pm$ 6.41
B组	10	62.83 $\pm$ 3.19 [*]	50.17 $\pm$ 3.82 [*]
C ₁ 组	5	116.67 $\pm$ 5.47 [*]	95.83 $\pm$ 4.26 [*]
C ₂ 组	10	82.33 $\pm$ 5.28 [*]	67.67 $\pm$ 4.32 [*]
C ₃ 组	20	65.50 $\pm$ 3.45 [*]	48.83 $\pm$ 3.43 [*]
F值		219.878	257.353
P值		0.000	0.000

2.3 细胞凋亡情况

与A组比较,B组及C₁组、C₂组、C₃组细胞处理24 h时的凋亡率均显著升高($P < 0.05$),且凋亡率随丹参酮 II_A质量浓度的增加而升高。详见表3、图1。

2.4 细胞周期分布

与A组比较,B组及C₁组、C₂组、C₃组处理24 h时的G₀/G₁期细胞占比均显著升高($P < 0.05$),且细胞占比随丹参酮 II_A质量浓度的增加而增加;B组及C₁组、C₂组、C₃组的S期、G₂/M期细胞占比均显著减少($P < 0.05$),且随丹参酮 II_A质量浓度的增加而减少。详见表3、图2。

2.5 mRNA及蛋白表达水平

与A组比较,B组及C₁组、C₂组、C₃组的MMP-2,

表3 各组细胞凋亡率及细胞周期分布情况比较($\bar{X} \pm s$, %, $n = 3$)

Tab. 3 Comparison of apoptosis rate and cell cycle distribution in each group ($\bar{X} \pm s$, %, $n = 3$)					
组别	剂量($\mu\text{g/mL}$)	凋亡率	细胞周期		
			G ₀ /G ₁ 期	S期	G ₂ /M期
A组	0	3.63 $\pm$ 1.38	56.42 $\pm$ 2.13	26.48 $\pm$ 1.36	17.11 $\pm$ 1.18
B组	10	48.57 $\pm$ 4.50 [*]	83.28 $\pm$ 0.85 [*]	12.45 $\pm$ 0.86 [*]	4.27 $\pm$ 0.19 [*]
C ₁ 组	5	24.53 $\pm$ 3.45 [*]	67.77 $\pm$ 1.46 [*]	19.06 $\pm$ 1.32 [*]	13.17 $\pm$ 0.97 [*]
C ₂ 组	10	36.12 $\pm$ 4.78 [*]	75.54 $\pm$ 1.04 [*]	15.98 $\pm$ 0.96 [*]	8.48 $\pm$ 0.68 [*]
C ₃ 组	20	49.96 $\pm$ 4.48 [*]	84.01 $\pm$ 1.25 [*]	11.88 $\pm$ 1.21 [*]	4.12 $\pm$ 0.15 [*]
F值		143.522	398.523	158.429	338.795
P值		0.000	0.000	0.000	0.000

MMP-9, integrin α_2 , integrin β_1 , Cyclin B1 mRNA和蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$),且随丹参酮 II_A质量浓度的增加而降低;B组及C₁组、C₂组、C₃组细胞Caspase-3的mRNA及蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$),且随丹参酮 II_A质量浓度的增加而升高。详见表4、表5、图3。

3 讨论

肺癌由支气管黏膜病变引发,其病因病机复杂。其中非小细胞肺腺癌特征为淋巴细胞浸润密集,且在早期易发生转移。化学药物治疗(简称化疗)、手术切除及放射治疗(简称放疗)是其常规治疗方法。但现有临床治疗方案无法显著改善肺癌患者的生存率,只能延缓病程发展。丹参酮 II_A作为丹参的活性成分之一,常用于保护心脑血管,近年来发现丹参及其活性成分具有抗肿瘤作用。本研究结果显示,C₁组、C₂组、C₃组A549细胞

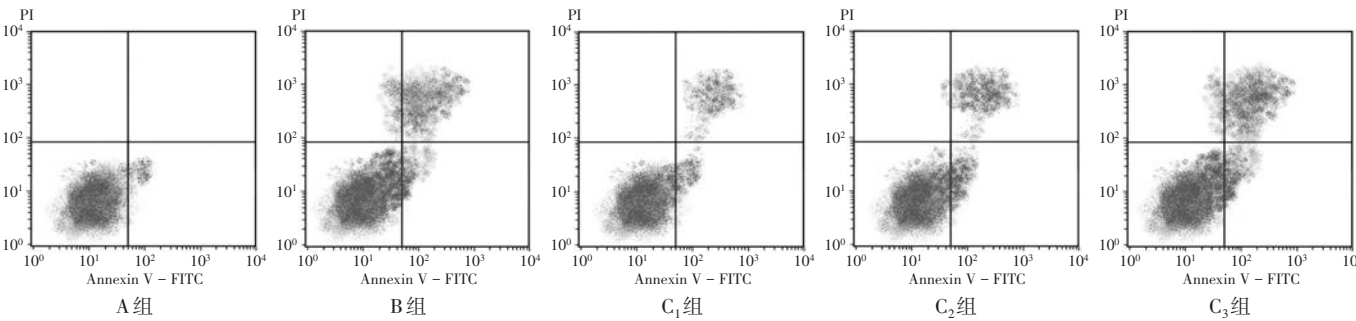


图1 流式细胞图

Fig. 1 Results of flow cytometry detection

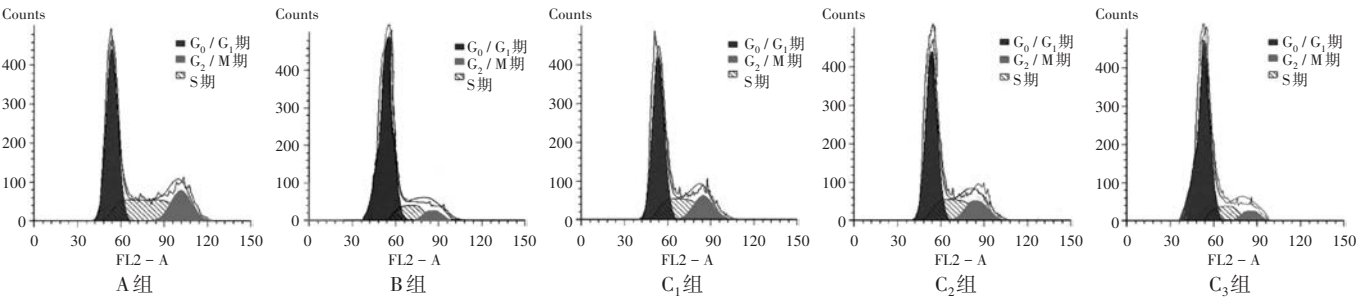


图2 细胞周期分布

Fig. 2 Distribution of cell cycles

表4 各组细胞 mRNA 表达水平比较($\bar{X} \pm s, n=3$)

Tab. 4 Comparison of mRNA expression levels in each group
($\bar{X} \pm s, n=3$)

组别	MMP-2	MMP-9	integrin α_2	integrin β_1	Cyclin B1	Caspase-3
A组	1	1	1	1	1	1
B组	0.66 ± 0.03*	0.48 ± 0.04*	0.39 ± 0.03*	0.56 ± 0.03*	0.36 ± 0.05*	4.87 ± 0.41*
C ₁ 组	0.92 ± 0.03*	0.93 ± 0.02*	0.65 ± 0.05*	0.94 ± 0.01*	0.71 ± 0.09*	1.87 ± 0.47*
C ₂ 组	0.73 ± 0.12*	0.64 ± 0.03*	0.61 ± 0.02*	0.62 ± 0.02*	0.48 ± 0.05*	3.30 ± 0.30*
C ₃ 组	0.65 ± 0.04*	0.46 ± 0.03*	0.37 ± 0.01*	0.55 ± 0.04*	0.36 ± 0.07*	5.03 ± 0.34*
F值	45.319	470.624	478.055	499.374	129.818	158.582
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表5 各组细胞蛋白表达水平比较($\bar{X} \pm s, n=3$)

Tab. 5 Comparison of protein expression levels in each group
($\bar{X} \pm s, n=3$)

组别	MMP-2	MMP-9	integrin α_2	integrin β_1	Cyclin B1	Caspase-3
A组	1.03 ± 0.02	1.02 ± 0.03	0.97 ± 0.03	1.02 ± 0.02	0.98 ± 0.02	1.02 ± 0.01
B组	0.61 ± 0.04*	0.40 ± 0.05*	0.37 ± 0.03*	0.49 ± 0.04*	0.34 ± 0.04*	4.97 ± 0.39*
C ₁ 组	0.87 ± 0.03*	0.89 ± 0.02*	0.62 ± 0.04*	0.88 ± 0.03*	0.67 ± 0.06*	1.74 ± 0.42*
C ₂ 组	0.69 ± 0.05*	0.60 ± 0.04*	0.57 ± 0.03*	0.59 ± 0.02*	0.46 ± 0.04*	3.18 ± 0.34*
C ₃ 组	0.63 ± 0.03*	0.41 ± 0.02*	0.34 ± 0.02*	0.48 ± 0.05*	0.33 ± 0.06*	5.12 ± 0.41*
F值	149.906	395.394	421.856	304.908	200.984	168.790
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

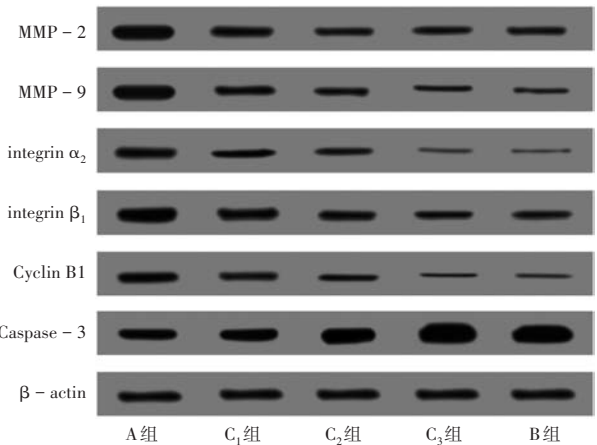


图3 蛋白表达印迹图

Fig. 3 Western blot of protein expression

的增殖率均明显降低,迁移和侵袭细胞数均明显减少,且与丹参酮Ⅱ_A的质量浓度呈负相关;C₁组、C₂组、C₃组A549细胞的凋亡率均明显升高,且与丹参酮Ⅱ_A的质量浓度呈正相关。在一定程度上证明了丹参酮Ⅱ_A的抗肿瘤作用。

细胞周期分为分裂期和为细胞分裂做准备的分裂间期,分裂间期受基因表达控制可合成多种蛋白对细胞的代谢活动进行调控。在DNA合成的前中后3个阶段均有调控细胞周期的重要时间节点,且均配备严格的调控机制^[9]。其中Cyclin蛋白为调控细胞周期的关键机制之一,可通过促进G₂/M期转换,进而加快细胞周期的进展,其表达失控与细胞的恶性增殖关系密切^[10]。细胞发生程序性死亡(即凋亡)的过程有助于维持内环境稳定,是机体控制细胞数异常增多的理想方法。Caspase-3在细胞凋亡中起重要作用,是执行过程的关键酶,可被外源性或内源性路径激活,林晋等^[11]的研究发现,可通过升高Caspase-3的表达水平来推动人骨肉瘤细胞发生程序性死亡。提示Caspase-3的表达上调可诱导A549细胞凋亡增加,可能也是丹参酮Ⅱ_A发挥抗肿瘤作用的机制之一。肿瘤细胞的侵袭和转移能力使其能转移到除原发病灶外的其他脏器,在肿瘤转移过程中发挥重要作用。有研究显示,MMP-2和MMP-9水平升高的情况存在于多种肿瘤细胞侵袭转移过程中,且两者的水平变化可影响发生转移的肿瘤细胞数。黄敏等^[12]的研究发现,瘤易感性候选基因2(CASC2)可通过降低MMP-2蛋白表达而抑制甲状腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭,并促进细胞凋亡。左文娜等^[13]的研究发现,喉癌组织中MMP-9呈高表达状态,降低MMP-9表达水平可抑制喉癌细胞的增殖、迁移、侵袭,促进喉癌细胞的凋亡。熊涛等^[14]的研究证明,毛萆乙素可通过调控lncRNA CPS1-IT1表达,减少MMP-2和MMP-9蛋白表达量,抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移、侵袭。integrin作为黏附分子,存在于细胞表面。细胞的生物学行为可通过integrin传导的双向信号变化来调节。研究表明,integrin α_2 和integrin β_1 在前列腺癌^[15]、宫颈癌^[16]等不同肿瘤细胞株中呈高表达,促进肿瘤细胞生长和侵袭。本研究结果显示,与A组比较,C₁组、C₂组、C₃组A549细胞MMP-2,MMP-9,integrin α_2 ,integrin β_1 ,Cyclin B1 mRNA表达水平均明显降低,且与丹参酮Ⅱ_A质量浓度呈负相关;Caspase-3 mRNA表达水平明显升高,且与丹参酮Ⅱ_A质量浓度呈正相关。说明丹参酮Ⅱ_A对A549细胞的抗肿瘤作用可能通过调控上述mRNA表达水平实现。

综上所述,丹参酮Ⅱ_A可抑制A549细胞的侵袭、迁移、增殖,促进其凋亡,其机制可能与下调MMP-2,MMP-9,integrin α_2 ,integrin β_1 ,Cyclin B1的表达和上调Caspase-3的表达有关。

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] HUTCHINSON BD, SHROFF GS, TRUONG MT, et al. Spectrum of Lung Adenocarcinoma[J]. Semin Ultrasound CT MR, 2019, 40(3): 255-264.

[3] WEI X, ZHANG K, QIN H, et al. GMD5 knockdown impairs cell proliferation and survival in human lung adenocarcinoma[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 600.

[4] 万新焕,王瑜亮,周长征,等. 丹参化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中草药, 2020, 51(3): 788-798.

[5] REN X, WANG C, XIE B, et al. Tanshinone II_A induced cell