

· 实验研究 ·

# 黄芪注射液通过激活鸟氨酸脱羧酶促进 IEC-6 细胞分化的研究\*

张子理<sup>1△</sup> 陈蔚文<sup>2</sup>

**内容提要** 目的:观察黄芪注射液(Astragalus injection, AI)对小肠隐窝细胞株(IEC-6)增殖、分化、移行及其对细胞内鸟氨酸脱羧酶(ODC)和多胺含量的影响,探讨其粘膜修复的作用机理。方法:IEC-6细胞接种后24h加入AI。加药后12h收获细胞,分别检测ODC mRNA水平、ODC蛋白、ODC活性及细胞内腐胺含量;24h观察细胞增殖和细胞分化,细胞接种后72h损伤细胞,并加入AI,加药后24h、48h及72h观察细胞移行。结果:AI能明显抑制IEC-6细胞增殖,促进细胞分化,对细胞移行无明显影响。AI 62.5~250μg/ml各剂量组可明显增加ODC mRNA水平,与对照组比较差异有显著性( $P < 0.05 \sim 0.01$ )。AI各剂量组对ODC蛋白均无明显影响。AI随着剂量增加,逐渐升高IEC-6细胞ODC活性和腐胺含量,具有剂量依赖关系。结论:AI通过诱导IEC-6细胞ODC活性和多胺的生物合成促进细胞分化,而对细胞移行无明显作用。

**关键词** IEC-6细胞株 增殖 分化 移行 黄芪注射液

**Effect of Astragalus Injection in Promoting IEC-6 Cell Differentiation through Activating Ornithine Decarboxylase** ZHANG Zi-li, CHEN Wei-wen *Institute of Spleen and Stomach, Guangzhou University of TCM, Guangzhou (510405)*

**Objective:** To explore the mechanism of Astragalus injection (AI) in repairing mucous membrane by observing its effects on the proliferation, differentiation, migration as well as on intracellular content of ornithine decarboxylase (ODC) and polyamine in rat's small intestinal crypt-like cell line (IEC-6) in vitro. **Methods:** AI was added in the IEC-6 cells after they had been cultured for 24 hours. Twelve hours after adding AI, the cells were collected to test the ODC mRNA level, ODC protein, ODC activity and the intracellular content of putrescine. Twenty-four hours after adding AI, the condition of cell proliferation and differentiation was observed. Another group of IEC-6 cells were injured after being cultured for 72 hours, and AI was added, the cell migration was observed at 24 hours, 48 hours and 72 hours after medication. **Results:** AI could inhibit IEC-6 cell proliferation, promote the cell differentiation, but with no apparent effect on injured IEC-6 cell migration. AI of 62.5 - 250μg/ml concentration could increase the ODC mRNA level, as compared with control, the difference was significant ( $P < 0.05 - 0.01$ ). ODC activity and intracellular content of putrescine could be gradually increased by AI in a dose-dependant manner. No effect of AI was shown on ODC protein in various dosage of AI groups. **Conclusion:** AI could promote IEC-6 cell differentiation by means of inducing the ODC activity and biosynthesis of polyamine, but without significant effect on cell migration.

**Key words** IEC-6 cell line, proliferation, differentiation, migration, Astragalus injection

黄芪是常用的益气健脾中药之一。国内对其药理作用的研究较为深入,资料较多,涉及免疫、胃肠运动

等方面<sup>(1-3)</sup>。但有关其对胃肠粘膜的影响,未见文献报道。经动物实验表明黄芪注射液(Astragalus injection, AI)对消炎痛引起的胃肠粘膜损伤具有预防保护作用(另文报道)。为探讨其粘膜修复的细胞分子生物学机理,进一步观察了AI对正常大鼠小肠隐窝细胞株(IEC-6)增殖、分化、移行及其对细胞内鸟氨酸脱羧酶(ODC)和多胺含量的影响。

\* 国家自然科学基金(No. 39970906),广东省自然科学基金(No. 990354)及广东省千百十人才工程基金(No. 9953)资助项目

1. 广州中医药大学(广州 510405); 2. 广州中医药大学脾胃研究所

△ 博士研究生

## 材料和方法

1 材料 AI:每支含生药 20g/10ml,成都地奥九泓制药厂,批号 0005043。IEC-6 细胞株:购自美国 ATCC 公司,批号 CRL-1592。细胞培养液 DMEM、超滤胎牛血清(dFBS)、Dulbecco's 磷酸缓冲液(D-PBS)、胰岛素、庆大霉素、总 RNA 提取试剂盒(RNA TRIzol Reagent)、RT-PCR 试剂盒、辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠 IgG 均为 GIBCO 公司产品。ELISA 试剂盒为 KPL 产品。抗 ODC 单克隆抗体购自美国 Lab Vision 公司。L-[1-<sup>14</sup>C]鸟氨酸(比活性 52.10m Ci/mmol)购自 NEN 公司。上、下游引物由上海生物工程公司设计合成。培养瓶、培养板购自美国 Corning 公司,酶联免疫检测仪为日本三洋产品,PCR 仪为美国 PE 公司产品。噻唑蓝[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT],二甲基酰胺(DMF),十二烷基硫酸钠(SDS),五肽胃泌素,腐胺为美国 Sigma 公司产品。

2 溶液配制 完全培养液(cDMEM):由 95% DMEM,5% dFBS,胰岛素 10 $\mu$ g/ml 和庆大霉素 50 $\mu$ g/ml 组成。MTT 溶液:MTT 适量,37 $^{\circ}$ C 水浴中溶于 0.01mmol/L, pH7.4 的 D-PBS,浓度为 5mg/ml,过滤除菌,小量分装,置棕色瓶中 4 $^{\circ}$ C 保存。DMF 溶液:用蒸馏水稀释成 50% 应用液。甲胺溶解缓冲液:SDS 适量,以 50% DMF 配成 20% 的溶液。AI 溶液:AI 适量,用 D-PBS 稀释成 0.625mg/ml、1.25mg/ml、2.5mg/ml、5mg/ml、10mg/ml、20mg/ml 的溶液。胃泌素溶液:五肽胃泌素用 2~3 滴 30% 氢氧化铵溶解,调 pH 为 7.5,实验前用培养介质稀释到所需浓度。

### 3 方法

3.1 细胞培养 IEC-6 细胞到货后立即复苏。将细胞冻存管在 37 $^{\circ}$ C 水浴中轻轻摇动,细胞解冻后,迅速从水浴拿出,70% 酒精消毒,将细胞转入含 cDMEM 且预先孵育了 15min 的 25cm<sup>2</sup> 的组织培养瓶中,在 90% 空气-10% CO<sub>2</sub> 的潮湿环境中,37 $^{\circ}$ C 条件下培养。5 天传代 1 次,每周换液 3 次。传代 5 次后的细胞用于实验。

3.2 AI 对 IEC-6 细胞增殖的影响 对数生长期细胞以每孔 1 $\times$ 10<sup>4</sup>/200 $\mu$ l 的密度接种于 96 孔微量培养板,孵育 24h,加入不同剂量的 AI 10 $\mu$ l,使其终浓度分别为 62.5 $\mu$ g/ml、125 $\mu$ g/ml、250 $\mu$ g/ml、500 $\mu$ g/ml、1000 $\mu$ g/ml,空白组加等量 D-PBS,阳性对照组加胃泌素,终浓度为 250ng/ml。每组设 3 个复孔。24h 后每孔加入 MTT 溶液 10 $\mu$ l,继续孵育 4h,每孔吸去上清

120 $\mu$ l,加入 20% SDS 溶液 120 $\mu$ l,置微型混合器振荡 15min,室温过夜,次日用酶标仪在 570nm 处测定每孔 OD 值。

3.3 AI 对 IEC-6 细胞分化的影响 6 孔培养板每孔加 1 滴 cDMEM,放置盖玻片使其与培养板底部粘帖牢固。对数生长期细胞每孔 2 $\times$ 10<sup>6</sup>/2000 $\mu$ l 的密度接种于 6 孔培养板,孵育 24h,加入不同剂量的 AI 各 100 $\mu$ l,使其终浓度分别为 100 $\mu$ g/ml、500 $\mu$ g/ml、1000 $\mu$ g/ml,阳性对照组加胃泌素,终浓度为 500ng/ml,空白组加等量 D-PBS,每组设 3 个复孔。24h 后取出盖玻片,10% 福尔马林固定 20min,常规 HE 染色,树胶封片,显微镜观察细胞分化的形态特征。

3.4 AI 对 IEC-6 细胞移行的影响 对数生长期细胞每孔 2 $\times$ 10<sup>6</sup>/2000 $\mu$ l 的密度接种于 6 孔培养板,72h 后,用 18mm 长的单面刀片轻刮单细胞层,产生约 18mm $\times$ (8~10)mm 的损伤区,立即更换培养液,并加入不同剂量 AI 溶液 100 $\mu$ l,使其终浓度分别为 62.5 $\mu$ g/ml、125 $\mu$ g/ml、250 $\mu$ g/ml、500 $\mu$ g/ml、1000 $\mu$ g/ml,阳性对照组加胃泌素,终浓度为 250ng/ml,空白组加等量 D-PBS,每组设 3 个复孔。加药后 24、48h 和 72h 倒置显微镜下放大 100 倍,检测移行到损伤部位的细胞数。从刮出细胞的标志线起,肉眼观察每 1mm<sup>2</sup> 范围内细胞数量,观察相邻的 6 个部位。

3.5 AI 对 IEC-6 细胞 ODC mRNA 水平、ODC 蛋白表达、ODC 活性及腐胺含量影响 细胞以每孔 2 $\times$ 10<sup>6</sup>/2000 $\mu$ l 的密度接种于 6 孔培养板,孵育 24h,加入不同剂量 AI 溶液 100 $\mu$ l,使其终浓度分别为 62.5 $\mu$ g/ml、125 $\mu$ g/ml、250 $\mu$ g/ml、500 $\mu$ g/ml、1000 $\mu$ g/ml,阳性对照组加胃泌素,终浓度为 250ng/ml,空白组加等量 D-PBS,每组设 4 个复孔。治疗后 12h,收获细胞,培养板放在冰上,用预冷的 D-PBS 洗细胞 3 次,加入不同溶液进行以下实验。

3.5.1 ODC mRNA 水平检测 用 RT-PCR 方法检测<sup>[4]</sup>。ODC cDNA 扩增产物长度为 300bp,用 1.8% 琼脂糖凝胶电泳,溴乙啶染色,紫外检测器显示 DNA 条带,测定光密度值,表示 ODC mRNA 的相对含量。

3.5.2 ODC 蛋白测定 用 KPL 公司 ELISA 试剂盒测定 ODC 蛋白。用 100 $\mu$ l 溶于碳酸盐缓冲液中的蛋白溶液包被酶标板,37 $^{\circ}$ C 孵育 3h,4 $^{\circ}$ C 过夜。次日倒掉包被液,用 200 $\mu$ l 洗涤液清洗酶标板 3 次,每次 2min。每孔加 200 $\mu$ l 封闭液,37 $^{\circ}$ C 孵育 30min 后,同上法洗涤酶标板。每孔中加入 100 $\mu$ l 稀释 500 倍的小鼠抗 ODC 单克隆抗体,37 $^{\circ}$ C 孵育 30min,洗涤酶标板。每孔加 100 $\mu$ l 稀释 1000 倍的辣根过氧化物酶标记的

羊抗小鼠免疫球蛋白 IgG 抗体 37℃ 孵育 30min 洗涤酶标板。每孔加入 100 $\mu$ l 酶反应底物, 盖上酶标板, 轻摇 15min, 可见孔中显示蓝色, 每孔中加入 50 $\mu$ l 终止液使反应停止, 在酶标仪 405nm 波长, 测定每孔光密度(OD)值。

3.5.3 ODC 活性测定 用放射技术检测 L-[1-<sup>14</sup>C]鸟氨酸(52.1m Ci/mmoL)释放<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>的量<sup>(4)</sup>。

3.5.4 细胞内腐胺含量测定 用 HPLC 分析法检测细胞内腐胺含量<sup>(4,5)</sup>。

4 统计学方法 用 SPSS 统计软件包进行独立 t 检验。

### 结 果

1 AI 对 IEC-6 细胞增殖的影响 见表 1。AI 62.5 $\mu$ g/ml、125 $\mu$ g/ml、250 $\mu$ g/ml、500 $\mu$ g/ml、1000 $\mu$ g/ml 等剂量组均明显抑制 IEC-6 细胞增殖, 与对照组和胃泌素组比较差异有显著性( $P < 0.05 \sim 0.01$ )。AI 胃泌素可明显促进 IEC-6 细胞增殖, 与对照组比较差

异均有显著性( $P < 0.01$ )。

表 1 AI 对 IEC-6 细胞增殖的影响 (%  $\bar{x} \pm s$ )

组别	IEC-6 细胞增殖
对照	100
胃泌素	109.45 $\pm$ 0.99 **
AI 62.5 $\mu$ g/ml	81.57 $\pm$ 1.38 ** $\Delta$
125 $\mu$ g/ml	85.72 $\pm$ 3.99 * $\Delta$
250 $\mu$ g/ml	86.17 $\pm$ 4.39 $\Delta$
500 $\mu$ g/ml	82.49 $\pm$ 2.01 * $\Delta$
1000 $\mu$ g/ml	79.26 $\pm$ 0.46 ** $\Delta$

注: 与对照组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与胃泌素组比较,  $\Delta$   $P < 0.05$ ;  $n = 3$

2 AI 对 IEC-6 细胞分化的影响 空白对照组大部分为梭形细胞, 排列不规则, 无形成腺体的趋势(见图 1)。IEC-6 细胞在 AI 作用下, 分化程度明显增高, 低倍镜下细胞呈现典型的上皮细胞形态, 细胞排列呈条索状, 部分呈腺管状排列(见图 2)。高倍镜下可观察到隐约有细胞连接样结构, 上皮细胞似有微绒毛形成的趋势(见图 3)。胃泌素不但诱导细胞分化, 而且促进细胞增殖, 细胞为多角形, 呈条索状排列, 形成腺

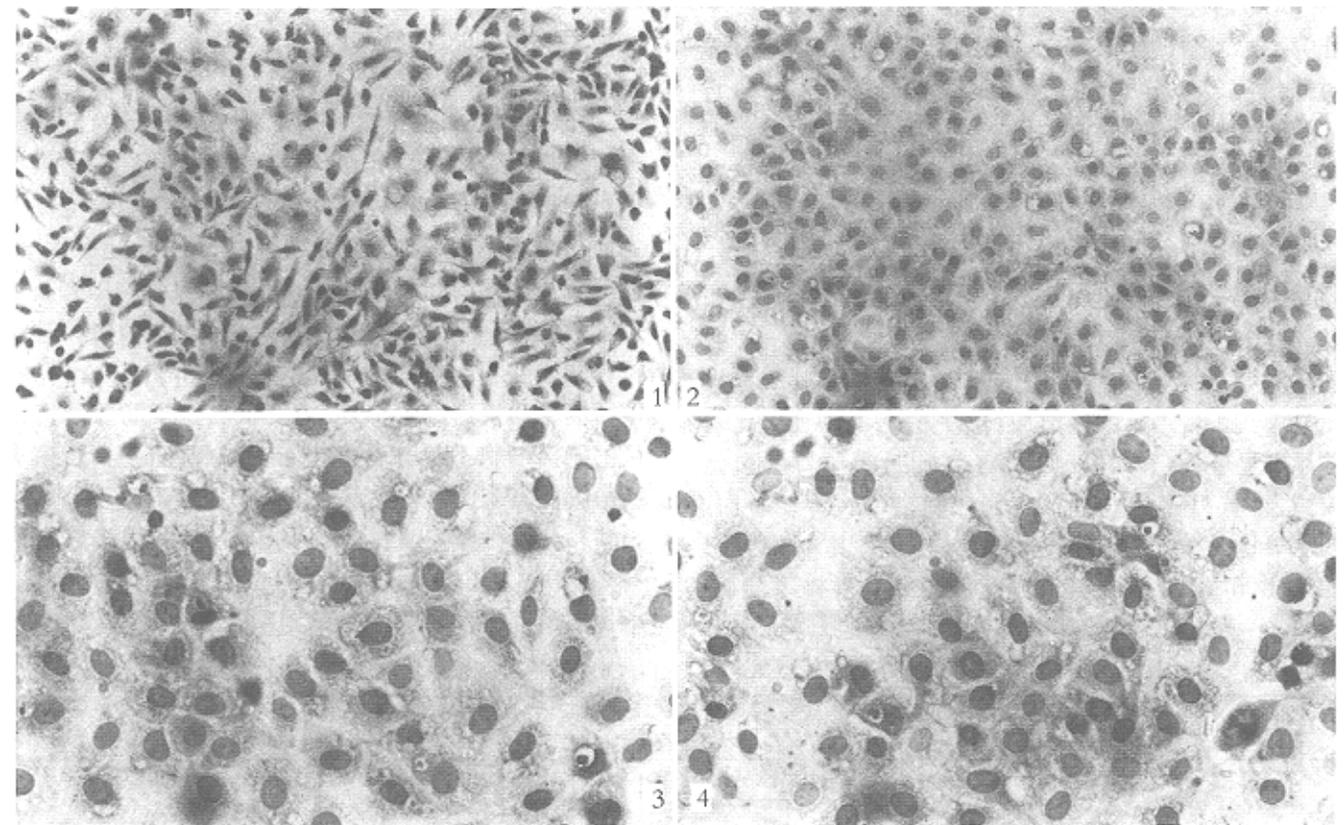


图 1 空白对照组, 大部分为梭形细胞, 细胞排列不规则, 无形成腺体的趋势。HE $\times$ 100 图 2 AI 组, 细胞胞浆丰富, 透亮, 呈多边形或楔形, 为典型上皮细胞形态, 细胞排列呈条索状, 部分排列呈腺管状。HE $\times$ 200 图 3 AI 组, 上皮细胞胞浆丰富而透亮, 排列呈索状, 并有形成腺管趋势, 细胞间隐约见细胞连接样结构, 上皮细胞似有形成微绒毛趋势。HE $\times$ 400 图 4 胃泌素组, 上皮细胞为多角形, 胞浆丰富而透亮, 呈条索状排列, 形成腺管的趋势明显, 可见有丝分裂相, 细胞连接。HE $\times$ 100

管的趋势明显,可见有丝分裂相,细胞连接(见图4)。

3 AI对 IEC-6 细胞移行的影响 见表2。结果显示 IEC-6 细胞损伤后出现细胞移行,24h 细胞移行数量最多,48h 和 72h 移行数量减少。胃泌素明显促进细胞移行,与对照组比较 24~72h 差异均有显著性( $P < 0.01$ )。AI 对细胞移行无明显促进作用,与对照组比较差异无显著性( $P > 0.05$ ),与胃泌素组比较,24~72h 差异均有显著性( $P < 0.01$ )。

表2 AI对 IEC-6 细胞移行作用的时间和剂量反应(细胞数量,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	IEC-6 细胞移行		
	24h	48h	72h
对照	46.0 ± 4.5 <sup>△</sup>	14.7 ± 1.4 <sup>△</sup>	15.3 ± 1.4 <sup>△</sup>
胃泌素	71.8 ± 3.5*	23.8 ± 1.0*	24.2 ± 1.2*
AI 62.5μg/ml	41.5 ± 2.4 <sup>△</sup>	13.5 ± 0.5 <sup>△</sup>	16.0 ± 0.9 <sup>△</sup>
125μg/ml	40.8 ± 1.9 <sup>△</sup>	13.8 ± 1.2 <sup>△</sup>	15.2 ± 1.2 <sup>△</sup>
250μg/ml	44.2 ± 2.8 <sup>△</sup>	14.3 ± 0.8 <sup>△</sup>	15.5 ± 0.8 <sup>△</sup>
500μg/ml	44.8 ± 2.8 <sup>△</sup>	17.0 ± 4.5 <sup>△</sup>	13.7 ± 1.0 <sup>△</sup>
1000μg/ml	47.2 ± 2.7 <sup>△</sup>	16.8 ± 1.8 <sup>△</sup>	13.7 ± 0.5 <sup>△</sup>

注:与对照组比较,\* $P < 0.01$ ;与胃泌素组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ , $n = 3$

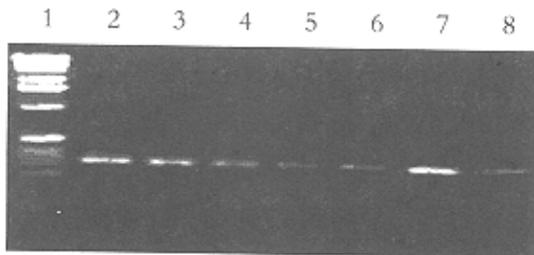
4 AI对 IEC-6 细胞 ODC mRNA 水平、ODC 蛋白、ODC 活性及腐胺含量的影响 见表3。AI 62.5~250μg/ml 各剂量组 ODC mRNA 水平均明显增加,与对照组比较差异有显著性( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );500μg/ml 剂量组对 ODC mRNA 无明显影响;1000μg/ml 剂量组 ODC mRNA 水平降低( $P < 0.01$ )。胃泌素 ODC mRNA 水平也明显增加,与对照组比较差异有显著性( $P < 0.01$ )。AI 250~1000μg/ml 与胃泌素比较,差异有显著性( $P < 0.05 \sim 0.01$ ),而 62.5μg/ml 和 125μg/ml 剂量组与胃泌素之间差异无显著性。AI 各剂量组对 ODC 蛋白均无明显影响,与对照组比较差异无显著性。胃泌素明显增加 ODC 蛋白,与对照组比较差异有显著性( $P < 0.01$ )。AI 各剂量组与胃泌素比较,差异有显著性( $P < 0.01$ )。随着 AI 剂量增加,ODC 活性逐渐升高,具有剂量依赖关系,其中 250μg/ml 和 500μg/ml 两组与对照组比较差异有显著性( $P < 0.05 \sim 0.01$ )。胃泌素也明显增加 ODC 活性,与对

表3 AI对 IEC-6 细胞 ODC mRNA、ODC 蛋白、ODC 活性及腐胺含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	ODC mRNA	ODC 蛋白	ODC 活性	腐胺含量
	(OD 值)	(OD 值)	(pmol/mg pro)	(nmol/mg pro)
对照	95.28 ± 1.56	0.74 ± 0.02	0.24 ± 0	0.46 ± 0.02
胃泌素	110.44 ± 3.23**	0.94 ± 0.02**	0.41 ± 0.03*	2.44 ± 0.05**
AI 62.5μg/ml	109.17 ± 1.87**	0.70 ± 0.01 <sup>△△</sup>	0.29 ± 0.02 <sup>△</sup>	0.67 ± 0.02* <sup>△△</sup>
125μg/ml	108.08 ± 2.18**	0.70 ± 0.01 <sup>△△</sup>	0.31 ± 0.03	1.11 ± 0.02* <sup>△△</sup>
250μg/ml	101.61 ± 1.61* <sup>△</sup>	0.71 ± 0.01 <sup>△△</sup>	0.36 ± 0.01**	1.11 ± 0.03** <sup>△△</sup>
500μg/ml	95.41 ± 3.15 <sup>△△</sup>	0.73 ± 0.02 <sup>△△</sup>	0.38 ± 0.02*	1.71 ± 0.07* <sup>△△</sup>
1000μg/ml	88.55 ± 2.08** <sup>△△</sup>	0.76 ± 0.01 <sup>△△</sup>	0.38 ± 0.04	1.74 ± 0.06** <sup>△△</sup>

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与胃泌素组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ,<sup>△△</sup> $P < 0.01$ , $n = 3$

对照组比较差异有显著性( $P < 0.05$ )。AI 62.5μg/ml 与胃泌素组比较,差异有显著性( $P < 0.05$ )。其他剂量组差异无显著性。AI 明显增加 IEC-6 细胞腐胺含量,与对照组比较差异有显著性( $P < 0.05 \sim 0.01$ ),具有一定的剂量依赖关系。胃泌素也明显增加 IEC-6 细胞腐胺含量,与对照组比较差异有显著性( $P < 0.01$ )。AI 与胃泌素比较差异亦有显著性( $P < 0.01$ )。图5为 ODC mRNA RT-PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳条带。



1~8 依次为 DNA 标准品, AI 62.5μg/ml, AI 125μg/ml, AI 250μg/ml, AI 500μg/ml, AI 1000μg/ml, 胃泌素和空白对照

图5 IEC-6 细胞 ODC mRNA RT-PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳条带

### 讨论

IEC-6 是 Quaroni 等<sup>(6)</sup>从正常大鼠小肠隐窝细胞分离出来并经体外培养传代而建立的细胞株,它保持了小肠上皮干细胞未分化的特性,在组织学和免疫学方面与增殖隐窝细胞无明显差别,而且在合适条件下,能分化为成熟的肠上皮细胞。该细胞自建株以来被国外学者广泛运用于小肠粘膜修复的细胞、分子和基因机理的研究<sup>(7-9)</sup>。

肠粘膜损伤后的修复,主要依靠位于肠腺隐窝部位的隐窝细胞不断增殖、分化和上皮细胞的移行,形成新的上皮细胞<sup>(10,11)</sup>。大量研究表明多胺对正常粘膜生长和损伤后粘膜修复具有重要作用,细胞内多胺水平由 ODC 调节,ODC 是多胺生物合成的第一个关键酶。

本研究结果显示, AI 具有诱导 IEC-6 细胞分化的

药理作用,同时能明显增加 ODC mRNA 水平,ODC 活性和多胺含量,提示它可能通过激活 ODC,促进多胺的生物合成,在粘膜损伤的早期通过诱导细胞分化,发挥其粘膜修复作用。AI 对细胞增殖无促进作用,其原因可能与干细胞在药理作用下较快分化成为较成熟的上皮细胞有关。胃泌素对 IEC-6 细胞同时具有促进增殖、分化、移行,增加 ODC 基因和蛋白表达、ODC 活性和多胺合成的作用,结果与国外文献相似。AI 与胃泌素的差异,在于胃泌素不但诱导细胞分化,而且促进细胞增殖和移行,其解释可能是胃泌素在粘膜损伤修复的整个过程参与了调控机制,也可能与其剂量有关。

中医学认为“脾主运化”、“四季脾旺不受邪”,即“脾”的生理与胃肠运动、消化、吸收及粘膜屏障等功能相关,因此黄芪益气健脾的作用可能与其维护粘膜完整及其屏障功能、调节胃肠局部免疫有关。临床研究证明<sup>[12]</sup>黄芪等益气健脾类药对胃肠疾病具有治疗作用。药理学研究也表明黄芪具有明显的提高机体免疫和促进胃肠运动的作用<sup>[1-3]</sup>,但其在防治粘膜损伤中的作用,目前了解尚不多。本结果表明,AI 能通过诱导 IEC-6 细胞 ODC 活性和多胺合成促进细胞分化,从细胞分子药理水平阐明了黄芪益气健脾,修复粘膜的作用机理。AI 是否通过诱导细胞因子产生发挥粘膜修复作用,需进一步研究。

#### 参 考 文 献

- 徐毅,王守富,张英,等. 黄芪注射液对体液免疫功能的影响. 临床医学 1998 ;18(1):17—18.
- 徐峻,戴慧芬,叶武,等. 黄芪注射液对 COPD 患者 IL-8 的影响. 浙江中医学院学报 1999 ;23(4):61.

- 郑天珍,李伟,瞿颂义,等. 黄芪对大鼠离体胃平滑肌条运动的影响. 中药药理与临床 1999 ;15(2):22—24.
- Zhang ZL, Chen WW. Proliferation of intestinal crypt cells by gastrin-induced ornithine decarboxylase. World J Gastroenterol 2002 ;8(1):183—187.
- Wang JY, McCormack SA, Viar MJ, et al. Decreased expression of proto-oncogenes c-fos, c-myc, and c-jun following polyamine depletion in IEC-6 cells. Am J Physiol 1993 ;265 (Gastrointest Liver Physiol 28):G331—G338.
- Quaroni A, Wands J, Trelstad RL, et al. Epithelial cell cultures from rat small intestine J Cell Biol 1979 ;80:248—265.
- Carrol KM, Wong TT, Drabik DL, et al. Differentiation of rat small intestinal epithelial cells by extracellular matrix. Am J Physiol 1988 ;254(Gastrointest Liver Physiol 15):G355—G360.
- Wang JY, Wang H, Johnson LR. Gastrin Stimulates expression of protooncogene C-myc through a process involving polyamines in IEC-6 cell. Am J Physiol 1995 ;269:C1474—C1481.
- Santos MF, Viar MJ, McCormack SA, et al. Polyamines are important for attachment of IEC-6 cells to extracellular matrix. Am J Physiol 1997 ;273:G175—G183.
- Goke M, Podolsky DK. Regulation of the mucosal epithelial barrier. Baillieres Clin Gastroenterol 1996 ;10(3):393—407.
- Nusrat A, Delp C, Madara JL. Intestinal epithelial restitution. Characterization of a cell culture model and mapping of cytoskeletal elements in migrating cells. J Clin Invest 1992 ;89:1501—1511.
- 殷静先. 黄芪药理研究与临床应用. 时珍国药研究 1998 ;9(3):230.

(收稿 2001-11-05 修回 2002-03-08)

### 幸林中西医临床辅助软件

【简介】本软件是运用神经网络技术的大型计算机智能化诊疗软件,已经通过中国中医诊断专业委员会组织的专家鉴定。软件以临床为中心、以诊断为重点、以中西医结合为方向,辅助医生把握诊疗过程中的结构性互动关系,作出迅速准确的处理。随盘附送教学软件,深入浅出,一学便会。

【特征】全科病域(1498 种疾病),介入式自动辨证推理,简单鼠标操作,无缝式病历管理,中英文跟随对译提示,全面协助诊疗过程每一环节,直至财务记账统计。

【对象】医生。单机版适用于医院独立科室、社区医院、乡镇医院、诊所、药店、学校等。

【销售】年费制,现五折优惠价 580 元/年。可随时升级,升级免费,但需刻盘费和邮寄费共 80 元/次。正版软件 100 元即寄,可试用 1 个月。

【服务】跟踪医学最新发展,软件随时更新,随时升级。可按用户特殊要求制作特定的诊疗内容。开办中医智能化培训班。

【总经销】深圳市泰然工贸园 210 栋 3G 洛泰克实业有限公司 邮编 518040 深圳市百花一路国城花园 1-6G 幸林软件(深圳)工作站 邮编 518028 电话 0755—3792371 2707199 E-mail: healingsoft@21cn.com