

猪苓多糖对荷肝癌H22小鼠肝糖原积累、糖异生和分解酶系的作用

魏群 吴国利 聂剑初 (北京师范大学生物化学教研室, 北京 100082)

提要 猪苓多糖(400 mg/kg)ip 给药 qd × 5 d 能增加荷癌小鼠肝糖原的积累, 并使荷癌小鼠明显降低的糖异生活性显著增强, 葡萄糖-6-磷酸酶活性从 217 ± 35 上升到 $267 \pm 12 \mu\text{mol P/g 蛋白质/h}$, 果糖-1,6-二磷酸酶活性从 263 ± 25 上升到 $448 \pm 56 \mu\text{mol P/g 蛋白质/h}$, 但对糖原分解酶即磷酸化酶的活性没有影响。提示给药后荷癌小鼠肝糖原的积累可能是通过糖原异生增强, 加速了糖原合成的缘故。猪苓多糖1次给药后的动态实验也支持了这一结果。

关键词 猪苓; 多糖; 肝癌H22; 糖原; 葡萄糖-6-磷酸酶; 果糖-1,6-二磷酸酶

能量的大量消耗和浪费是肿瘤组织的一个重要生化特征。中医研究院进行的组织化学实验提示了猪苓 *Polyporus umbellatus*(Pers.)Fr. 多糖能使荷癌小鼠下降的肝糖原积累增加⁽¹⁾。根据 Weber 关键酶的恶性相关理论和在肿瘤形成过程中基因表达的调节和基因重排是通过关键酶而进行的理论⁽²⁾, 我们选择糖代谢途径中几个关键酶的活性作为指标, 并观察了它们的动态变化, 对猪苓多糖如何通过肝脏进行肝糖原积累的代谢途径进行了研究, 试图为肿瘤的治疗提供一定的依据。

材料和方法

体重为 24—26g 的上海杂种小白鼠, ♀ ♂ 皆有, 随机分组。按常规腹腔接种腹水型肝癌 H22 细胞, 每次接种癌细胞 $80 \pm (\text{SD})10 \times 10^5$ 个。除 1 次给药后的 12 和 36 h 外, 其他均为早晨 7:00—9:00 进行。

猪苓多糖为中医研究院中药所药厂生产的“757”注射液, 含猪苓多糖 10 mg/ml; 糖原

为英国 Edward Gurr Ltd 出品; 葡萄糖-6-磷酸钡盐和葡萄糖-1-磷酸二钾盐为中国科学院上海生物化学研究所生产; 果糖-1,6-二磷酸钡盐为英国 BDH Ltd 出品; 5-AMP 为 Koch-Light Laboratories Ltd 生产; 考马斯亮蓝 G250 为德国 EMK Ltd 出品, 其他均为市售品。

小白鼠脱臼处死, 肝脏洗去血液, 用滤纸吸干后-20℃保存, 1 d 内实验。根据糖原和酶在小鼠肝中的分布, 取肝叶外围的 1/3 部分⁽³⁾, 匀浆后测定肝糖原⁽⁴⁾、葡萄糖-6-磷酸酶活力⁽⁵⁾、果糖-1,6-二磷酸酶活力⁽⁶⁾(此二酶用稍加改良的 Lowry⁽⁷⁾法定磷)、磷酸化酶活力⁽⁸⁾(定磷用 Youngburg⁽⁹⁾法)和蛋白质含量⁽¹⁰⁾。

实验结果

猪苓多糖对荷肝癌小鼠肝脏的糖原、糖异生及分解酶系的作用 每个试验均将小白鼠分为 3 组: 正常组、肿瘤对照组和肿瘤给药组。肿瘤给药组为引癌后 24 h 时 ip 猪苓多糖 400 mg/kg, qd × 5 d, 末次注射 1.5 h 后用于实验, 肿瘤对照组和正常组小鼠 ip 生理盐水。

表 1 表明, 荷肝癌 H22 小鼠的肝糖原含量, 葡萄糖-6-磷酸酶活性、果糖-1,6-二磷酸酶活性均比正常小鼠减少, 给猪苓治疗后, 这些指标又比未给药荷癌小鼠显著增加。而表 1 中猪苓多糖对荷肝癌 H22 小鼠磷酸化酶活性的作用表明, 正常、荷肝癌及荷癌给药小鼠三组间均无显著性差异。

猪苓多糖 1 次给药对荷癌小鼠肝脏糖原积累和糖异生酶活性的动态效应 均用引癌第 6 d 小鼠, 分为 2 组, 第 1 组 ip 猪苓多糖 400 mg/kg⁽¹³⁾, 一次给药, 第 2 组 ip 同容量生理盐水, 并分别于 1.5 h, 12 h, 24 h 和 48 h 处

Table 1. Effects of ip *Polyporus umbellatus* polysaccharides (400 mg/kg) on glycogen storage, glucose-6-phosphatase, fructose-1, 6-diphosphatase and phosphorylase of liver in mice bearing hepatoma H22. $\bar{x} \pm SD$ (Number of mice in parentheses).

	Normal mice	Hepatoma mice	Treated mice
Glycogen (mg/g)	45 ± 5 (6)	13.3 ± 0.8*** (6)	18 ± 2** (7)
G-6-phosphatase (μmol P/g protein/h)	410 ± 14 (6)	217 ± 35*** (7)	267 ± 12*** (7)
F-1, 6-diphosphatase (μmol P/g protein/h)	426 ± 50 (6)	263 ± 25*** (7)	448 ± 56*** (7)
Phosphorylase (μmol P/g protein/min)	1003 ± 65 (6)	892 ± 35* (7)	910 ± 51* (7)

* $P > 0.05$, *** $P < 0.01$ (compared with normal mice)

** $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ (compared with hepatoma mice)

死、取样。结果见图 1。

肝脏葡萄糖-6-磷酸酶活性在 ip 猪苓多糖后 1.5 h 就明显升高 ($P < 0.001$) 12 h 达高峰 24 h

($P < 0.01$) 和 48 h ($P < 0.05$) 仍保持在较高水平。肝脏果糖-1,6-二磷酸酶活性在 1.5 h 升高不显著 ($P > 0.05$), 在 12 h ($P < 0.05$) 和 24 h ($P < 0.01$) 升高明显。肝糖原在 1.5 h 和 12 h 均无明显上升 ($P > 0.05$), 24 h 后才显著增加 ($P < 0.05$)。

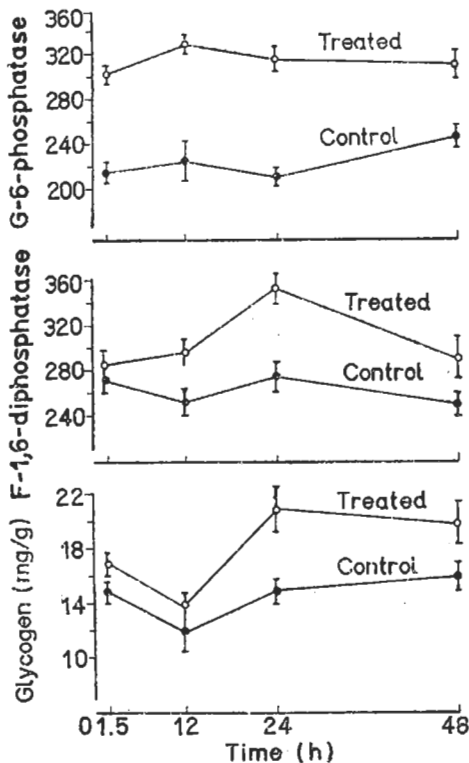


Fig 1. Effects of ip *Polyporus umbellatus* polysaccharides 400mg/kg on glyconeogenesis, glycolysis and glycogen storage of liver in mice bearing hepatoma H22 $\bar{x} \pm SD$

讨 论

荷腹水型肝癌 H22 小鼠给猪苓多糖治疗后, 其肝糖原比未给药荷癌小鼠肝糖原增加。

实验表明, 猪苓多糖能使荷癌小鼠肝脏糖异生的二个酶: 葡萄糖-6-磷酸酶, 果糖-1,6-二磷酸酶活性显著增加, 而不影响糖原分解酶—磷酸化酶的活性。根据 Weber 关键酶的理论, 调节相对合成和分解途径的速度和方向都是通过对关键酶的控制而实现的。在肿瘤形成过程中, 基因表达的调节和基因重排也都是通过关键酶而进行的⁽¹¹⁾。葡萄糖-6-磷酸酶、果糖-1,6-二磷酸酶分别是糖异生和糖分解代谢途径中的关键酶。可以认为, 它们的活性变化基本上反映了代谢产物即肝糖原的增加或减少。从实验结果分析, 猪苓多糖之所以增加荷癌小鼠肝糖原的积累不是因为分解减慢, 而是通过糖原异生的增加, 加速了糖原合成的缘故。

同时由荷癌小鼠给猪苓多糖后的动态变化也可看出, 给药后 1.5 h 并不引起糖原的积累,

而葡糖-6-磷酸酶的活性已有了明显的升高。给药后 12 h, 葡糖-6-磷酸酶的活性达到高峰, 果糖-1,6-二磷酸酶的活性也明显增高, 但糖原的积累仍无显著增加, 这一实验进一步支持了糖原的积累是通过糖异生酶活性的增高, 从而加强了糖异生途径的结果。

在正常状态下, 糖异生是机体保持稳态的重要机制⁽¹²⁾。荷瘤状态时, 糖异生酶活性的下降表明机体保持稳态的能力可能也遭到一定程度的损害, 而经猪苓多糖治疗后酶活性的上升提示了药物对机体保持自稳态能力的改善, 同时也提示了在肿瘤治疗中可以选择酶这一敏感的靶来作为抗癌药物的攻击点。

参 考 文 献

- 1 中医研究院中药所 药理室肿瘤组. 中华肿瘤杂志 1981年5月; 3(2):106
- 2 Weber G. Carbohydrate metabolism: Pattern of imbalance. In: Busch H, ed. *The molecular*

- biology of cancer*. 1st ed. NY: Academic Press, 1974: 497
- 3 Chigucine AD. *Histochem Cytochem* 1953 Nov; 1(1):429
- 4 Kemp A, Adrienne J. *Biochem J* 1954 Mar; 56(1):646
- 5 Cori GT, Cori CF. *J Biol Chem* 1952 Dec; 199(2):661
- 6 Pogell BM, McGilvery RM. *Ibid* 1952 Jul; 197(1):293
- 7 Lowry OH, Lopez JA. *Ibid* 1964 Mar; 162(3):421
- 8 Sutherland EW. Polysaccharide phosphorylase, liver. In: Colowick SP, Kaplan NO, eds. *The methods in enzymology*, vol 1. 1st ed. NY: Academic Press, 1955: 215
- 9 Youngburg GE, Youngburg MV. *J Lab Clin Med* 1930 Oct; 16(1):158
- 10 Bradford MM. *Anal Biochem* 1976 Feb; 72(2):248
- 11 Weber G. *N Engl J Med* 1977 Mar 3; 296(9):486, 1977 Mar 10; 296(10):541
- 12 Shapot VS. *Cancer Res* 1974 Aug; 34(8):1827
- 13 魏群、吴国利、聂剑初、宋书元、白玉珍. 中国药理学报 1983年3月; 4(1):52

Acta Pharmacologica Sinica 1983 Jun; 4(2): 141-143

EFFECTS OF *POLYPORUS UMBELLATUS* POLYSACCHARIDES ON GLYCOGEN STORAGE, ENZYME ACTIVITIES IN GLYCOGENESIS AND GLYCOGENOLYSIS OF LIVER IN MICE BEARING HEPATOMA H22

WEI Qun, WU Guo-li, NIE Jian-chu

(Department of Biochemistry, Beijing Normal University, Beijing 100082)

ABSTRACT *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr. polysaccharides ip 400 mg/kg qd × 5 d restored the glycogen content and the enzyme activities in glyconeogenesis of mice bearing hepatoma H22. The activity of liver glucose-6-phosphatase was elevated from 217 ± 35 to 267 ± 12 $\mu\text{mol P/g protein/h}$, the activity of liver fructose-1, 6-diphosphatase was elevated from 263 ± 25 to 448 ± 56 $\mu\text{mol P/g protein/h}$, but the phosphorylase activity in glycogenolysis did

not change significantly.

Kinetic experiments with mice after a single dose further supported this result.

It is concluded that the glyconeogenesis in treated mice bearing hepatoma is augmented, resulting in a rise of glycogen storage in liver.

KEY WORDS *Polyporus umbellatus*; polysaccharides; hepatoma H22; glycogen; glucose-6-phosphatase; fructose-1, 6-diphosphatase