

# 乳铁蛋白的免疫调节作用研究进展

高远<sup>1\*</sup>, 杨丽杰<sup>1</sup>, 马满玲<sup>1,2#</sup> (1. 哈尔滨医科大学附属第一临床医学院药学部, 哈尔滨 150001; 2. 哈尔滨工业大学理学院, 哈尔滨 150001)

中图分类号 R969.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)37-3523-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.37.23

**摘要** 目的: 综述乳铁蛋白的免疫调节功能及其临床应用情况。方法: 以“乳铁蛋白”“免疫调节”“免疫细胞”等组合作为关键词, 检索中国知网(CNKI)、PubMed、Embase等数据库中1998年1月至2014年3月的相关文献, 收集国内外对乳铁蛋白在宿主防御中的作用等方面的文献。结果: 共得到文献136篇, 有效文献35篇。乳铁蛋白主要通过下调炎症因子与促炎因子的释放, 促进T细胞、B细胞、巨噬细胞的成熟与活化, 与受体结合抑制炎症反应, 募集免疫细胞、激活NK细胞, 从而发挥免疫调节作用。在临床中, 乳铁蛋白可应用于肠道疾病(如新生儿败血症和坏死性结肠炎)、呼吸系统疾病(如严重急性呼吸综合征)等的治疗。结论: 乳铁蛋白具有免疫调节功能, 正逐步应用于临床疾病的诊断与治疗中, 具有进一步研究的价值与发展前景。

**关键词** 乳铁蛋白; 免疫调节; 免疫细胞; 炎症因子

乳铁蛋白(Lactoferrin)是一种非血源性糖蛋白, 与铁离子具有高亲和力, 作为转铁蛋白(Transferrin)家族的一员被人们熟知。与转铁蛋白相比, 乳铁蛋白并不主要分布于血清中, 而是主要分布于人体外分泌液中, 并且乳铁蛋白与铁的结合能力是转铁蛋白的300倍<sup>[1]</sup>。乳铁蛋白作为非特异免疫系统的第一道防线, 是先天免疫系统的一种成分, 具有抗微生物感染的功能。近年的研究表明, 乳铁蛋白不仅具有强大的抗菌活性, 而且能够调控炎症区细胞因子的释放, 活化免疫细胞, 对非致病菌引起的炎症性疾病以及肿瘤发展具有抑制作用<sup>[2]</sup>。本文以“乳铁蛋白”“免疫调节”“免疫细胞”等组合作为关键词, 检索中国知网(CNKI)、PubMed、Embase等数据库中1998年1月至2014年3月的相关文献, 收集国内外对乳铁蛋白在宿主防御中的作用方面的文献。结果共得到文献136篇, 剔除重复、过早文献, 得到有效文献35篇。现分别从乳铁蛋白的化学结构与分布、对炎症因子的调节、识别和装配免疫细胞以及临床应用方面作一综述。

## 1 乳铁蛋白概述

### 1.1 乳铁蛋白的发现

乳铁蛋白在发现之初, 因其晶体呈红色, 又被称作“红蛋白”。大约经历了50年的研究, 乳铁蛋白的结构、生物学活性及功能逐渐问世<sup>[3]</sup>。20世纪末, 乳铁蛋白主要应用于乳品业、食品业领域。通过对国内文献检索发现, 我国对乳铁蛋白的研究主要在21世纪初, 文献量近10年来呈递增趋势, 并且研究正向着营养品、药品及医疗诊疗剂方向发展。

### 1.2 乳铁蛋白的化学结构

人乳铁蛋白是由多肽链折叠而形成的两个对称的球状叶结构<sup>[4]</sup>, 称之为N端与C端, 两端又各自分成2个区域。3D结构显示, 乳铁蛋白的对称结构具有4个功能区域端, 即N<sub>1</sub>、N<sub>2</sub>、C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>端。在N叶和C叶中, 存在着相同成分和相同几何结构的铁离子结合位点。每一个乳铁蛋白分子可结合2个3价铁

离子(Fe<sup>3+</sup>)和2个阴离子(HCO<sup>3-</sup>或CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>)。结合部位的4个氨基酸残基(2个酪氨酸、1个天冬氨酸、1个组氨酸)组成配位体, 具有稳定铁结合的作用。乳铁蛋白片段的研究表明, 乳铁蛋白N叶端的某部位与其受体结合相关<sup>[5]</sup>。其中, 乳铁蛋白肽(Lactoferricin)是由乳铁蛋白在酸性条件下经胃蛋白酶作用N端释放的一段多肽<sup>[6]</sup>, 其与乳铁蛋白功能密切相关, 虽然不能结合铁离子, 但其抗菌作用更为明显。乳铁蛋白的空间结构会随着铁离子的结合而发生改变, 作为一种铁的螯合剂, 其对铁的获取与释放赋予了自身一系列的生物学活性, 包括乳铁蛋白所具有的抗细菌和真菌、抗病毒、清除自由基、抑制炎症因子、激活免疫细胞、抑制癌细胞生长、免疫调节等功能<sup>[7-8]</sup>。

### 1.3 乳铁蛋白在人体中的分布

乳铁蛋白在人体中广泛分布, 其由腺体黏膜上皮细胞分泌, 在宿主防御中发挥重要作用。在人体外分泌液中, 如唾液、泪液、胆汁、胰液、肠液等中都存在乳铁蛋白, 其中以母乳中含量最高。研究表明, 初乳中的乳铁蛋白含量最高, 可达到5~7 mg/ml, 过渡乳中约为(3.7±0.1) mg/ml, 而成熟的母乳中则为1~2 mg/ml<sup>[9]</sup>。在泪液中, 乳铁蛋白也具有较高浓度, 约为2.2 mg/ml<sup>[10]</sup>。

血浆中的乳铁蛋白浓度较低, 其来源主要由接受刺激的白细胞的中性粒细胞次级颗粒释放入血。正常人体内血浆中的乳铁蛋白浓度平均值为0.5~1.5 μg/ml<sup>[11]</sup>, 脐带血中乳铁蛋白的含量却高达25.8~28.0 μg/ml<sup>[12]</sup>, 这是正常人体血浆内乳铁蛋白含量的10倍之高。脐带血中含有重建人体造血和免疫系统的造血干细胞, 可治疗多种血液疾病和免疫系统疾病, 在人体先天免疫防御系统占有重要地位。

研究表明, 体内乳铁蛋白水平会受到内分泌活动影响, 比如孕妇孕期乳铁蛋白的含量会升高, 月经周期也会对其水平产生影响<sup>[13]</sup>。血液中的乳铁蛋白受到激素的影响而改变, 激素的刺激以及外部信号引起乳铁蛋白的分泌, 一方面直接与外来病原菌反应保护机体; 另一方面, 在内皮细胞表面结合或通过抑制炎症反应起到宿主防御作用。

## 2 乳铁蛋白的免疫调节作用

### 2.1 对免疫因子的调节

\* 硕士研究生。研究方向: 药理学。电话: 0451-85555370。E-mail: goreeouan@sina.cn

# 通信作者: 主任药师, 博士。研究方向: 药理学、临床药理学。电话: 0451-85555370。E-mail: mamanling@126.com

乳铁蛋白可与脂多糖(LPS)的lipid A结合。LPS是内毒素的主要成分,可与细胞膜上的CD14结合,激活Toll样受体(TLR)4信号通路释放炎症因子。乳铁蛋白的这种竞争性结合剥夺了LPS,使之不能与CD14结合,进而TLR4信号通路的启动被阻断。通过这一机制,抗炎因子白细胞介素(IL)-10的分泌提高,肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8等促炎因子的分泌降低<sup>[14]</sup>。实际上,乳铁蛋白的阳离子N端,已经被证实无论是否有LPS的情况下都与sCD14具有高亲和性<sup>[15]</sup>。在乳铁蛋白存在的情况下,LPS无法发挥其炎症反应,通过这一机制抑制了内皮细胞对IL-8的分泌。乳铁蛋白对LPS诱导的IL-8释放具有浓度依赖性,在炎症区域,不仅可抑制内皮细胞对IL-8的释放,同时也可降低IL-8 mRNA的表达<sup>[16]</sup>。

乳铁蛋白可直接抑制炎症因子,也可通过促进抗炎因子间接发挥作用,如促进抗炎细胞因子IL-10、IL-11和IL-14的分泌。Kuhara T等<sup>[17]</sup>在人的肠道肌成纤维细胞和肝炎老鼠模型的肠道中均检测到有乳铁蛋白刺激升高的IL-11。在U14实体肿瘤移植的老鼠中,应用乳铁蛋白处理后,血管内皮生长因子(VEGF)在肿瘤组织中的表达下降,干扰素- $\gamma$ 与IL-2升高,动物寿命延长<sup>[18]</sup>。乳铁蛋白具有抑制炎症介质产生、增强机体免疫的作用,其刺激细胞产生的抗炎因子在组织细胞中具有趋使、保护作用。最新研究发现,乳铁蛋白在体外实验中具有清除羟基自由基、防止DNA氧化损伤的活性<sup>[19]</sup>。给予乳铁蛋白的大鼠在接受高强度X线辐射后死亡率明显低于对照组,乳铁蛋白具有较好的抑制辐射损伤功能<sup>[20]</sup>。

目前,对于乳铁蛋白如何参与免疫因子释放的机制并没有完全阐明,研究方向逐渐转移到了对乳铁蛋白受体的研究。多种细胞和肌肉组织中,乳铁蛋白受体广泛分布。凝集素1是一种在小肠上皮表达的乳铁蛋白受体,与铁结合的乳铁蛋白可通过受体途径被肠细胞摄取进入细胞质近核区域<sup>[21]</sup>。乳铁蛋白可与多种细胞表面受体结合,如蛋白聚糖、载脂蛋白E/低密度脂蛋白(ApoE/LDL)、核仁素以及一些淋巴细胞和肠上皮细胞受体。关于受体相互作用的结果仍然存在争议,尚有少量实验表明乳铁蛋白具有炎症诱导的作用,这些分歧也有待证实。

## 2.2 对免疫细胞的作用

固有免疫的组成细胞主要有巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、树突状细胞、自然杀伤(NK)细胞等。获得免疫应答细胞主要为T细胞、B细胞。作为人体免疫系统的重要组成部分,免疫细胞在炎症反应发生、发展中起着重要的作用。

2.2.1 巨噬细胞与单核细胞。乳铁蛋白可促进T细胞、B细胞和巨噬细胞的成熟与活化,促进树突状细胞成熟,引起中性粒细胞的重组。在巨噬细胞RAW264细胞系中,乳铁蛋白对细胞有轻微的促增殖作用,并且可刺激巨噬细胞表达B细胞活化因子(BAFF),这一反应是通过Smad3和Smad4信号通路介导<sup>[22]</sup>。巨噬细胞活化后对B细胞有激活、刺激分化的影响,在免疫系统发挥重要作用。在人体外周血单核细胞的迁移试验中,乳铁蛋白可诱导单核细胞的迁移,这种作用是通过G蛋白耦联受体完成,进而通过激活趋化因子受体2(CCR2)完成信号通路传导,但目前利用G蛋白实现的趋药性尚未清楚。用新鲜分离的单核细胞进行研究时也发现,乳铁蛋白可进入单核细胞内部,位于细胞核附近发挥作用,最终可通过调控基因的转录表达最终控制单核细胞的分化。

2.2.2 中性粒细胞与NK细胞。乳铁蛋白可活化中性粒细胞、

NK细胞,后者主要由于乳铁蛋白和NK细胞的靶分子之间存在结构同源性,进而增加集落刺激因子的活性和巨噬细胞的毒性,抑制肿瘤细胞生长。乳铁蛋白被储存在中性粒细胞中的一种特殊颗粒中,一旦发生感染,这种颗粒将被释放出来并从伤口的渗出物端迁移到伤口床端。近年的研究发现,乳铁蛋白通过受体介导进入细胞之内,引起P65蛋白磷酸化,最终激活NF- $\kappa$ B信号通路来发挥抗炎调节<sup>[23]</sup>。

2.2.3 其他。乳铁蛋白可募集并激活抗原呈递细胞(APCs),提高抗原特异性获得免疫反应。炎症反应时,在胰岛素敏感性很低的情况下可提高胰岛素对细胞作用的敏感性,调节胰岛素样生长因子的活性。乳铁蛋白对细胞生长的调控、对细胞聚集的促进、与受体的结合还有待进一步研究。

## 3 乳铁蛋白免疫调节作用在临床上的应用

### 3.1 肠道疾病

口服乳铁蛋白可刺激消化道上皮产生IL-18,发挥其免疫调节作用。乳铁蛋白被肠道吸收后随血流分布,促进铁的吸收,同时还能促进婴儿胃肠道中的双歧杆菌、乳酸菌的增殖,保护肠道不被有害细菌损伤<sup>[24]</sup>。研究显示,乳铁蛋白在治疗新生儿败血症和坏死性小肠结肠炎中具有较好的疗效和安全性。口服乳铁蛋白,可降低83%的结肠癌发病率<sup>[25]</sup>。在肠道疾病中,尤其以炎症性疾病为主,检测粪乳铁蛋白(Fecal lactoferrin),将其作为一种疾病标志物来辅助诊断,结果表明其敏感度和特异性均较高<sup>[26]</sup>。

### 3.2 呼吸系统疾病

儿童反复呼吸道感染中,由于免疫系统对感染源刺激的反应低下,治疗中除抗感染外常需要免疫调节剂。研究发现,口服乳铁蛋白治疗后,患儿血清免疫球蛋白(Ig)G、IgA、IgM及C3受体较治疗前明显升高,CD3、CD4及CD4/CD8较治疗前明显升高,CD8较治疗前明显降低,总有效率达86.0%<sup>[27]</sup>。严重急性呼吸综合征(SARS)患者,在检测其外周血单核细胞的乳铁蛋白基因表达中发现,其表达量为正常人的148倍<sup>[28]</sup>。乳铁蛋白作为重要的炎症调控因子,对LPS诱导的肺损伤具有保护作用。其免疫调节作用使其对多种非致病菌炎症性疾病具有很好的预防和治疗作用,如慢性阻塞性肺疾病、哮喘等<sup>[29]</sup>。

### 3.3 其他

资料显示,乳铁蛋白具有天然、无毒的特性,并可应用于长期预防和治疗代谢失调等疾病,如血脂异常、肥胖、胰岛素抵抗及2型糖尿病<sup>[30]</sup>。通常情况下,机体血浆中的乳铁蛋白含量约为0.5~1.5 mg/L,当发生感染及败血症时,其浓度可在短时间内升高到200 mg/L<sup>[30]</sup>。其他炎症组织中也检测到高浓度的乳铁蛋白含量。例如,风湿性关节炎患者的关节滑液中,乳铁蛋白含量明显升高。基于乳铁蛋白在机体内浓度的变化,人们也在试图将乳铁蛋白作为一种标志蛋白用于疾病诊断和治疗中。另外,乳铁蛋白在口腔学中的研究虽然起步较晚,但是近些年国内外已开始日益重视。作为一种抗菌且促进骨再生的天然物质,乳铁蛋白可用于治疗牙周病、预防龋齿、修复骨缺损和治疗口腔肿瘤<sup>[31]</sup>。

## 4 结语

研究表明,乳铁蛋白不仅在先天免疫系统占据主导地位,在获得免疫中也发挥着重要作用。随着对乳铁蛋白免疫调节机制的阐明,其在食品、药品领域以及临床疾病的诊断与预防中有重要意义,具有较好的发展前景,值得进一步研究。

## 参考文献

- [ 1 ] Sandrini SM, Shergill R, Woodward J, *et al.* Elucidation of the mechanism by which catecholamine stress hormones liberate iron from the innate immune defense proteins transferrin and lactoferrin[J]. *J Bacteriol*, 2010, 192(2):587.
- [ 2 ] Valenti P, Berlutti F, Conte MP, *et al.* Lactoferrin functions: current status and perspectives[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2004, 38(Suppl 6):S127.
- [ 3 ] Baker HM, Baker EN. A structural perspective on lactoferrin function[J]. *Biochem Cell Biol*, 2012, 90(3):320.
- [ 4 ] Mir R, Singh N, Vikram G, *et al.* The structural basis for the prevention of nonsteroidal antiinflammatory drug-induced gastrointestinal tract damage by the C-lobe of bovine colostrum lactoferrin[J]. *Biophys J*, 2009, 97(12):3178.
- [ 5 ] Arutyunova E, Brooks CL, Beddek A, *et al.* Crystal structure of the N-lobe of lactoferrin binding protein B from *Moraxella bovis*[J]. *Biochem Cell Biol*, 2012, 90(3):351.
- [ 6 ] Yin CM, Wong JH, Xia J, *et al.* Studies on anticancer activities of lactoferrin and lactoferricin[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2013, 14(6):492.
- [ 7 ] 郑瑛, 陈攀, 郭小芳, 等. 旧基因, 新功能: 乳铁蛋白参与抑制肿瘤生长和转移[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2012, 37(12):1284.
- [ 8 ] Legrand D. Lactoferrin, a key molecule in immune and inflammatory processes[J]. *Biochem Cell Biol*, 2012, 90(3):252.
- [ 9 ] Rai D, Adelman AS, Zhuang W, *et al.* Longitudinal changes in lactoferrin concentrations in human milk: a global systematic review[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2014, 54(12):1539.
- [10] Berlutti F, Piloni A, Pietropaoli M, *et al.* Lactoferrin and oral diseases: current status and perspective in periodontitis[J]. *Ann Stomatol: Roma*, 2011, 2(3/4):10.
- [11] Levay PF, Viljoen M. Lactoferrin: a general review[J]. *Haematologica*, 1995, 80(3):252.
- [12] Farnaud S, Evans RW. Lactoferrin: a multifunctional protein with antimicrobial properties[J]. *Mol Immunol*, 2003, 40(7):395.
- [13] Horiuchi Y, Higuchi T, Tatsumi K, *et al.* Lactoferrin is associated with a decrease in oocyte depletion in mice receiving cyclophosphamide[J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(Suppl 5):2069.
- [14] Drago-Serrano ME, de la Garza-Amaya M, Luna JS, *et al.* Lactoferrin-lipopolysaccharide (LPS) binding as key to antibacterial and antiendotoxic effects[J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 12(1):1.
- [15] Inubushi T, Kawazoe A, Miyauchi M, *et al.* Molecular mechanisms of the inhibitory effects of bovine lactoferrin on lipopolysaccharide-mediated osteoclastogenesis[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(28):23527.
- [16] Ouhara K, Savitri IJ, Fujita T, *et al.* miR-584 expressed in human gingival epithelial cells is induced by porphyromonas gingivalis stimulation and regulates interleukin-8 production via lactoferrin peceptor[J]. *J Periodontol*, 2013, 84(14):1.
- [17] Kuhara T, Yamauchi K, Iwatsuki K. Bovine lactoferrin induces interleukin-11 production in a hepatitis mouse model and human intestinal myofibroblasts[J]. *Eur J Nutr*, 2012, 51(3):343.
- [18] Shi H, Li W. Inhibitory effects of human lactoferrin on U14 cervical carcinoma through upregulation of the immune response[J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(3):820.
- [19] Krusel ML, Actor JK, Zimecki M, *et al.* Novel recombinant human lactoferrin: differential activation of oxidative stress related gene expression[J]. *J Biotechnol*, 2013, 168(4):666.
- [20] Nishimura Y, Homma-Takeda S, Kim HS, *et al.* Radioprotection of mice by lactoferrin against irradiation with sublethal X-rays[J]. *J Radiat Res*, 2014, 55(2):277.
- [21] Akiyama Y, Oshima K, Kuhara T, *et al.* A lactoferrin-receptor, intelectin 1, affects uptake, sub-cellular localization and release of immunochemically detectable lactoferrin by intestinal epithelial Caco-2 cells[J]. *J Biochem*, 2013, 154(5):437.
- [22] Chang H, Jin BR, Jang YS, *et al.* Lactoferrin stimulates mouse macrophage to express BAFF via Smad3 pathway[J]. *Immune Netw*, 2012, 12(3):84.
- [23] Oh SM, Lee SH, Lee BJ, *et al.* A distinct role of neutrophil lactoferrin in RelA/p65 phosphorylation on Ser536 by recruiting TNF receptor-associated factors to I $\kappa$ B kinase signaling complex[J]. *J Immunol*, 2007, 179(9):5686.
- [24] Moreno-Navarrete JM, Ortega FJ, Bassols J, *et al.* Decreased circulating lactoferrin in insulin resistance and altered glucose tolerance as a possible marker of neutrophil dysfunction in type 2 diabetes[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(10):4036.
- [25] Rahman MM, Kim WS, Ito T, *et al.* Growth promotion and cell binding ability of bovine lactoferrin to *Bifidobacterium longum*[J]. *Anaerobe*, 2009, 15(4):133.
- [26] Lingappan K, Arunachalam A, Pammi M. Lactoferrin and the newborn: current perspectives[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2013, 11(7):695.
- [27] 潘伟, 罗靖, 徐进生, 等. 乳铁蛋白治疗反复呼吸道感染患儿的疗效[J]. *实用儿科临床杂志*, 2007, 22(22):1713.
- [28] Lang J, Yang N, Deng J, *et al.* Inhibition of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparan sulfate proteoglycans[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8):e23710.
- [29] 叶秋容, 马健. 天然免疫分子乳铁蛋白的抗炎机制[J]. *生命的化学*, 2013, 33(3):269.
- [30] Brock JH. Lactoferrin: 50 years on[J]. *Biochemistry and Cell Biology*, 2012, 90(3):245.
- [31] 刘学敏, 金明光, 张莉, 等. 乳铁蛋白在口腔医学研究中的应用进展[J]. *口腔医学研究*, 2013, 29(4):386.

(收稿日期:2013-11-19 修回日期:2014-02-19)