

乳铁蛋白在肿瘤治疗中的作用机制

陈晓泓 张博恒^Δ(综述)

(复旦大学肝癌研究所-复旦大学附属中山医院肝肿瘤内科 上海 200032)

【摘要】 乳铁蛋白具有抗肿瘤活性。乳铁蛋白可通过增强宿主防御、抑制增殖、诱导凋亡,阻断细胞周期、抗血管生成,调控致癌物代谢酶以及清除铁等机制发挥抗肿瘤作用。乳铁蛋白的安全无毒性为人类肿瘤的治疗提供了新的选择。

【关键词】 乳铁蛋白; 肿瘤; 机制

【中图分类号】 R 730.2 **【文献标志码】** B

Mechanism of lactoferrin in cancer treatment

CHEN Xiao-hong, ZHANG Bo-heng^Δ

(Liver Cancer Institute and Department of Liver Oncology Medicine, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Lactoferrin has antitumoral activity. Lactoferrin exerts anti-carcinogenic effects via its ability to modulate host immunity, suppress proliferation, induce apoptosis, block cell cycle, inhibit angiogenesis, regulate carcinogen-metabolizing enzymes and sequester iron, etc. Safety and no toxicity of lactoferrin provide a new selection for cancer treatment.

【Key words】 lactoferrin; cancer; mechanism

乳铁蛋白是一种相对分子质量为 80 000 的铁结合糖蛋白,属于转铁蛋白家族,因与铁结合后形成的复合物呈红色,故又称“红蛋白”^[1]。它主要存在于哺乳动物(人、牛、羊、马、狗、猪和一些啮齿类)的乳汁中,消化、呼吸和生殖系统等分泌液中也含有一定量的乳铁蛋白,如胃肠液、胆汁、胰液、唾液、鼻腔分泌液、支气管黏液、宫颈黏液、精液、羊水、泪液、关节液等,但其含量远远低于乳汁。乳铁蛋白还存在于中性粒细胞的次级颗粒中(15 $\mu\text{g}/10^6$ 中性粒细胞)。乳铁蛋白的广泛分布说明其在宿主防御中具有重要作用。

乳铁蛋白的含量在不同动物之间存在着明显的种属特异性,其中人(主要是乳汁)中最高,而大鼠、兔和狗是几种几乎未发现乳铁蛋白存在的哺乳动物。血液中的乳铁蛋白主要来自中性粒细胞的次级颗粒,骨髓、子宫内膜及胎盘等也能分泌少量乳铁蛋白进入血液;此外,乳铁蛋白的浓度还可受炎症、激素及环境的影响。

乳铁蛋白是宿主防御的第一线,能对各种生理和环境变化作出应答。乳铁蛋白结合铁的能力、独特的 N 端结构、酶活性及其受体的特性在调控铁稳态、抗微生物感染、抗氧化、抗炎、免疫调节、调控细胞增殖、分化以及抗肿瘤、抗转移等方面起重要作用。

乳铁蛋白可与许多物质以特异性或非特异性的方式结合,包括金属离子、可溶性分子、细胞及其表面受体以及

DNA 等,从而干扰相关的信号通路和生物学应答。乳铁蛋白这种广泛的结合能力是其多样化生物学功能的基础。

抗肿瘤活性 许多体内、外研究证实了乳铁蛋白具有抗肿瘤活性。而且,母乳喂养的婴儿恶性肿瘤的发生率也较低。从理论上讲,乳铁蛋白具有抗肿瘤的潜能。首先,一些肿瘤细胞可过度表达净带负电荷的磷脂酰丝氨酸,这就增加了与乳铁蛋白的静电吸引^[2];其次,某些肿瘤细胞上存在有乳铁蛋白受体^[3],因此,乳铁蛋白可通过与肿瘤细胞的相互作用而发挥抗肿瘤效应。

与免疫调节相关的抗肿瘤作用 免疫调节是乳铁蛋白发挥抗肿瘤作用的重要机制。乳铁蛋白具有刺激抗肿瘤免疫的功能,可通过诱导细胞因子的产生、增加免疫细胞的数量以及增强免疫细胞的活性而提高宿主防御肿瘤的能力。乳铁蛋白能增强细胞免疫及 Th1 型应答^[4];活化自然杀伤(NK)细胞^[5],并增加肿瘤细胞对 NK 细胞溶胞作用的敏感性^[6];细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)也是乳铁蛋白发挥抗肿瘤功能的效应细胞^[7]。乳铁蛋白还可经受体介导的信号通路而调控细胞因子的生成;乳铁蛋白通过抑制促炎性和促转移性细胞因子的产生^[8]而改变肿瘤的细胞因子环境,从而发挥抗肿瘤效应。

抑制血管生成 乳铁蛋白可直接抑制内皮细胞的功能而发挥抗血管生成的作用;还可抑制血管内皮生长因子

^ΔCorresponding author E-mail: zhang.boheng@zs-hospital.sh.cn

(VEGF)^[9]以及肿瘤介导的血管生成^[10]。

研究显示,乳铁蛋白可呈剂量依赖性抑制成纤维细胞生长因子(如bFGF)和VEGF诱导的小鼠内皮KOP2.16细胞的增殖;其机制可能是:①钝化循环中的血管生成分子;②封闭内皮细胞表面捕获生物活性物质的肝素样分子;当乳铁蛋白结合bFGF和VEGF或细胞表面捕获bFGF和VEGF的肝素样分子后,便可抑制bFGF和VEGF诱导的内皮细胞的增殖。此外,乳铁蛋白还可抑制体外小鼠内皮KOP2.16细胞形成管样结构^[10]。

另外,乳铁蛋白也可通过诱导抗血管生成性细胞因子(如白介素-18、干扰素- γ)的产生,以及抑制促血管生成性细胞因子的产生而发挥抗血管生成的作用^[11]。

调控致癌物代谢酶以及清除铁 乳铁蛋白具有对抗化学致癌剂所诱导的许多器官(包括食管、肺、舌、膀胱、肝、结肠等)肿瘤的发生和生长^[12]。

当乳铁蛋白与致癌剂同时使用时,可作为阻断剂发挥作用。乳铁蛋白通过抑制I相酶(如细胞色素P450 1A2)和/或增强阻碍II相酶(如谷胱甘肽S转移酶等)的活性,而减少一些致癌剂的活化及其诱导的基因毒性,并促进致癌剂的解毒及排泄。乳铁蛋白还可在始发后阶段使用,作为抑制剂而发挥作用。研究发现,始发后阶段予以2%或0.2%的乳铁蛋白饮食可抑制结肠、食管、肺、膀胱和舌肿瘤的发生并减少肿瘤的多样性。

此外,乳铁蛋白还可通过清除环境中的铁离子而减少氧化诱导的癌症的风险^[13]。

抑制肿瘤细胞的增殖 乳铁蛋白对于细胞生长具有双重性作用,但其对肿瘤细胞的生长则是抑制而非刺激。乳铁蛋白在许多肿瘤细胞系及实验性肿瘤中下调或缺失,提示乳铁蛋白可调控细胞的增殖,具有直接抑制肿瘤细胞生长的作用。如人宫颈内膜的致瘤性转化与乳铁蛋白表达的下调有关,并伴随着明显的细胞增殖^[14];同样,Rado等^[15]发现一些早幼粒性白血病和原始粒细胞性白血病的细胞株没有产生乳铁蛋白信使核糖核酸(mRNA)的能力,推测中性粒细胞中乳铁蛋白的缺乏是一些白血病患者白细胞异常增生的重要原因。此外,乳铁蛋白还能通过促进肿瘤细胞的分化而抑制其生长及转移^[16]。

乳铁蛋白也可通过影响细胞周期调节蛋白,阻断细胞周期进程而抑制肿瘤细胞的增殖。研究显示,乳铁蛋白可阻碍体外培养的肿瘤细胞由脱氧核糖核酸(DNA)合成前期(G1期)向DNA合成期(S期)转化,达到抑制肿瘤细胞生长的作用^[17]。这主要是因为乳铁蛋白能改变细胞周期中一些重要调节蛋白的表达水平或活性,如依赖细胞周期蛋白的蛋白激酶抑制剂(CKIs)P21和P27以及G1/S转化点的关键转录因子——视网膜母细胞瘤(Rb)蛋白等,而导致肿瘤细胞生长停滞。

在乳腺上皮癌细胞中,乳铁蛋白可通过P53非依赖性机制增加P21^{cip1}蛋白的水平而抑制细胞由G1期向S期转变;而在头颈部肿瘤细胞中,乳铁蛋白可通过Akt/P27/cyclinE/Rb的途径^[17]以及P19/cyclinD1的途径^[18]而诱导细胞G0/G1期生长停止。

诱导凋亡 肿瘤的发生主要是由于控制细胞增殖、分化

及凋亡的通路失衡而造成的。

Lee等^[18]报道,乳铁蛋白可呈剂量-时间依赖性方式,通过JNK/Bcl-2途径导致半胱氨酸蛋白酶(Caspase)-9和caspase-3活化,多聚腺苷二磷酸核糖酶(PARP)裂解,从而诱导P53缺陷的Jurkat T淋巴细胞发生凋亡。

此外,在氧化偶氮甲烷(AOM)诱导的结肠肿瘤模型中,乳铁蛋白还可增加结肠黏膜Fas mRNA和Fas蛋白的表达水平而活化caspase-8和caspase-3,同时上调凋亡相关基因Bid和Bax的表达而诱导凋亡^[19]。

其他 乳铁蛋白对某些肿瘤细胞具有直接的细胞毒作用。研究显示,乳铁蛋白可通过活化肿瘤细胞的胞内酶,造成胞膜水解而导致口腔鳞癌细胞(OSCC)死亡^[20]。

此外,Kanyshkova等^[21]发现乳铁蛋白的异构体具有DNA酶、RNA酶、三磷酸腺苷(ATP)酶、磷酸酶和淀粉酶的活性;体内研究认为,乳铁蛋白异构体所具有的酶活性具有细胞毒性和诱导肿瘤细胞发生细胞凋亡的作用。

乳铁蛋白抗肿瘤作用的优势 乳铁蛋白经美国食品药品监督管理局(FDA)证实认为是安全的。在迄今所有的各种动物实验及临床试验中均未发现乳铁蛋白相关性严重不良反应的发生^[22]。因此,乳铁蛋白是一种极具吸引力的抗肿瘤药物。

乳铁蛋白具有维持体内稳态的作用。在荷瘤动物的实验中,经乳铁蛋白喂养可改善其生活质量^[23]。乳铁蛋白与化疗药联合使用还可减少后者的用量,降低化疗药的肝肾毒性,同时增强机体对药物的敏感性,并减少耐药的发生。

另有研究发现,铁饱和型乳铁蛋白可增强化疗药的疗效;而且,在肿瘤消失后停用乳铁蛋白,未观察到肿瘤重新生长。此外,铁饱和型乳铁蛋白还可恢复因接受化疗的而受损的血液系统和免疫系统的功能^[24]。同样,经环磷酰胺及甲氨喋呤诱导的免疫抑制小鼠,经口服乳铁蛋白治疗后,也可加速淋巴细胞、髓细胞的生成以及体液免疫的重建^[25]。

结 语

乳铁蛋白可通过多种途径发挥抗肿瘤作用,达到预防和治疗肿瘤的目的。乳铁蛋白既能作为抗肿瘤药,用于多种肿瘤(如消化道肿瘤、头颈部肿瘤等)的治疗;也能作为免疫调节剂,应用于肿瘤的辅助治疗。

虽然有许多体内、外研究都证实了乳铁蛋白的确具有抗肿瘤活性,但也有一些研究认为乳铁蛋白对于某些肿瘤的发生无明显抑制作用,有时甚至有促癌倾向^[26];而且体内环境复杂,乳铁蛋白不易达到靶位,无法快速发挥药理作用等。因此,对于乳铁蛋白的抗肿瘤机制及其临床应用尚需进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Farnaud S, Evans RW. Lactoferrin—a multifunctional protein with antimicrobial properties[J]. *Mol Immunol*, 2003, 40(7): 395–405.
- [2] Baker EN, Baker HM. Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2005, 62(22): 2 531–2 539.

- [3] Bennett RM, Merritt MM, Gabor G. Lactoferrin binds to neutrophilic membrane DNA [J]. *Br J Haematol*, 1986, 63 (1):105 - 117.
- [4] Guillen C, McInnes IB, Vaughan DM, *et al.* Enhanced Th1 response to *Staphylococcus aureus* infection in human lactoferrin-transgenic mice[J]. *J Immunol*, 2002, 168(8):3 950 - 3 957.
- [5] Legrand D, Ellass E, Pierce A, *et al.* Lactoferrin and host defence: an overview of its immuno-modulating and anti-inflammatory properties[J]. *Biometals*, 2004, 17(3):225 - 229.
- [6] Damiens E, Mazurier J, Yazidi I, *et al.* Effects of human lactoferrin on NK cell cytotoxicity against haematopoietic and epithelial tumour cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1402 (3):277 - 287.
- [7] Spadaro M, Curcio C, Varadhachary A, *et al.* Requirement for IFN-gamma, CD8⁺ T lymphocytes, and NKT cells in talactoferrin-induced inhibition of neu + tumors[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(13): 6 425 - 6 432.
- [8] Wolf JS, Li G, Varadhachary A, *et al.* Oral lactoferrin results in T cell-dependent tumor inhibition of head and neck squamous cell carcinoma *in vivo* [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13 (5):1 601 - 1 610.
- [9] Norrby K, Mattsby-Baltzer I, Innocenti M, *et al.* Orally administered bovine lactoferrin systemically inhibits VEGF (165)-mediated angiogenesis in the rat [J]. *Int J Cancer*, 2001, 91(2):236 - 240.
- [10] Shimamura M, Yamamoto Y, Ashino H, *et al.* Bovine lactoferrin inhibits tumor-induced angiogenesis [J]. *Int J Cancer*, 2004, 111(1):111 - 116.
- [11] Kuhara T, Iigo M, Itoh T, *et al.* Orally administered lactoferrin exerts an antimetastatic effect and enhances production of IL-18 in the intestinal epithelium [J]. *Nutr Cancer*, 2000, 38(2):192 - 199.
- [12] Tsuda H, Sekine K, Fujita K, *et al.* Cancer prevention by bovine lactoferrin and underlying mechanisms—a review of experimental and clinical studies[J]. *Biochem Cell Biol*, 2002, 80(1):131 - 136.
- [13] Weinberg ED. The role of iron in cancer [J]. *Eur J Cancer Prev*, 1996, 5(1):19 - 36.
- [14] Farley J, Loup D, Nelson M, *et al.* Neoplastic transformation of the endocervix associated with downregulation of lactoferrin expression[J]. *Mol Carcinog*, 1997, 20(2):240 - 250.
- [15] Rado TA, Wei XP, Benz EJ, Jr. Isolation of lactoferrin cDNA from a human myeloid library and expression of mRNA during normal and leukemic myelopoiesis[J]. *Blood*, 1987, 70(4):989 - 993.
- [16] Damiens E, El Yazidi I, Mazurier J, *et al.* Role of heparan sulphate proteoglycans in the regulation of human lactoferrin binding and activity in the MDA-MB-231 breast cancer cell line[J]. *Eur J Cell Biol*, 1998, 77(4):344 - 351.
- [17] Xiao Y, Monitto CL, Minhas KM, *et al.* Lactoferrin down-regulates G1 cyclin-dependent kinases during growth arrest of head and neck cancer cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(24): 8 683 - 8 686.
- [18] Lee SH, Park SW, Pyo CW, *et al.* Requirement of the JNK-associated Bcl-2 pathway for human lactoferrin-induced apoptosis in the Jurkat leukemia T cell line[J]. *Biochimie*, 2009, 91(1):102 - 108.
- [19] Fujita K, Matsuda E, Sekine K, *et al.* Lactoferrin modifies apoptosis-related gene expression in the colon of the azoxymethane-treated rat[J]. *Cancer Lett*, 2004, 213(1):21 - 29.
- [20] McKeown ST, Lundy FT, Nelson J, *et al.* The cytotoxic effects of human neutrophil peptide-1 (HNP1) and lactoferrin on oral squamous cell carcinoma (OSCC) *in vitro* [J]. *Oral Oncol*, 2006, 42(7):685 - 690.
- [21] Kanyshkova TG, Babina SE, Semenov DV, *et al.* Multiple enzymic activities of human milk lactoferrin [J]. *Eur J Biochem*, 2003, 270(16):3 353 - 3 361.
- [22] Mulder AM, Connellan PA, Oliver CJ, *et al.* Bovine lactoferrin supplementation supports immune and antioxidant status in healthy human males[J]. *Nutr Res*, 2008, 28(9):583 - 589.
- [23] Moser AR, Pitot HC, Dove WF. A dominant mutation that predisposes to multiple intestinal neoplasia in the mouse [J]. *Science*, 1990, 247(4 940):322 - 324.
- [24] Kanwar JR, Palmano KP, Sun X, *et al.* ‘Iron-saturated’ lactoferrin is a potent natural adjuvant for augmenting cancer chemotherapy[J]. *Immunol Cell Biol*, 2008, 86(3):277 - 288.
- [25] Artym J, Zimecki M, Paprocka M, *et al.* Orally administered lactoferrin restores humoral immune response in immunocompromised mice[J]. *Immunol Lett*, 2003, 89(1):9 - 15.
- [26] Haba R, Watanabe S, Wada M, *et al.* Effects of lactoferrin, soya germ and polyamine on 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4, 5-b]-pyridine (PhIP)-induced breast carcinogenesis in rats [J]. *Biofactors*, 2004, 22(1 - 4):127 - 131.

(收稿日期:2009-03-16;编辑:王蔚)