

乳铁蛋白抗肿瘤作用及机制研究进展

李一丁 赵先英 贺建综述 刘毅敏审核

关键词: 乳铁蛋白; 抗肿瘤; 机制

中图分类号: R730.2 文献标识码: B

文章编号: 1001-5930(2012)06-0678-02

乳铁蛋白(lactoferrin, LF)主要存在于哺乳动物的乳汁中,也分布在其他分泌液(泪液、精液、胆汁、关节液、唾液、胰液、鼻腔分泌液、羊水等)中。乳铁蛋白具有多种生物学活性,如抗氧化、抗真菌活性、抗病毒活性、抗微生物活性等,近年来研究表明,乳铁蛋白还具有抗肿瘤作用^[1]。

1 乳铁蛋白的基本结构

乳铁蛋白是 1 种铁结合糖蛋白,属于转铁蛋白家族,相对分子质量约为 80 kDa,大约由 700 个氨基酸残基构成^[2]。乳铁蛋白中含有 N-环和 C-环 2 个同源球状域。N-环对应于肽链中的第 1~333 个氨基酸残基,而 C-环与第 345~692 个氨基酸残基对应,这 2 个域的 2 端由一段短链 α -螺旋相连接^[3]。

乳铁蛋白属于碱性蛋白质,等电点为 8.7。它以富含铁形式(holo-lactoferrin)和不含铁形式(apo-lactoferrin)存在。两者有不同的三级结构,apo-lactoferrin 的特点是有 1 个“开放式”的 N-环和 1 个“封闭式”的 C-环,而 holo-lactoferrin 2 个环都是“封闭式”的。每个乳铁蛋白分子能可逆地结合 2 个铁、锌、铜或其它金属离子,2 个结合位点分别位于 2 个蛋白球状域中。每个金属离子结合 6 个配体,其中 4 个来自肽链中的配体(2 个酪氨酸残基、1 个组氨酸残基和 1 个天冬氨酸残基),另 2 个是碳酸根或碳酸氢根离子。

乳铁蛋白与铁元素形成红色的复合物,它对铁的亲和力比运铁蛋白高出 300 倍。当机体出现炎症时,在弱酸性介质中,乳铁蛋白对铁的亲和力增加。这种特性有利于铁从运铁蛋白转移至乳铁蛋白中,因为炎症产生乳酸和其他有机酸的积累常常造成组织的 pH 降低。人乳中乳铁蛋白的饱和铁浓度为 10%~30%(100%代表所有的乳铁蛋白分子中含有 2 个铁原子)。研究表明,乳铁蛋白不仅涉及铁、锌和铜离子的转运,而且能够调节这些离子的吸收量。溶液中锌和铜离子的存在并不影响乳铁蛋白的铁结合能力,甚至可能增加其结合能力。

乳铁蛋白在血浆和分泌液中存在不同的聚合物形式,从单体形式到四聚体形式。乳铁蛋白更倾向于以聚合物的形式存在于体内外,特别是当浓度很高时。研究发现,在生理条件下以四聚体乳铁蛋白为主。

乳铁蛋白的低聚合形式主要取决于蛋白质的浓度,而多聚

合形式的形成则受到 Ca^{2+} 浓度的影响。当 Ca^{2+} 浓度为 $10^{-10} \sim 10^{-11} \text{ g/mol}$ 时,乳铁蛋白主要以单体形式存在;而当 Ca^{2+} 浓度提高到 $10^{-9} \sim 10^{-10} \text{ g/mol}$ 后,乳铁蛋白单体转化成为四聚体。一般血液中乳铁蛋白处于单体和四聚体之间,单体和四聚体均存在。乳铁蛋白的许多功能特性取决于其单体形式,如其单体可以紧密地结合 DNA。

2 乳铁蛋白抗肿瘤作用

2.1 抗鼻咽癌

人乳铁蛋白可以抑制鼻咽癌细胞(nasopharyngeal carcinoma cells, CNE)的增殖。李志沐等^[4]研究了重组人乳铁蛋白(rhLF)对体外培养的鼻咽癌细胞生长特性的影响。待鼻咽癌细胞生长至对数生长期时,用不同浓度的 hLF 作用于鼻咽癌细胞 24 h,再加入噻唑蓝 MTT,继续培养 4 h,观察 hLF 处理前后细胞的变化。MTT 实验结果显示,浓度为 $5 \times 10^{-3} \sim 40 \times 10^{-3} \text{ g/L}$ 的 hLF 均显著抑制 CNE 体外增殖,且呈现剂量依赖。显微镜下可见,空白对照组癌细胞密集成片生长,如铺路卵石状,细胞膜圆润,细胞间界限清楚,并隐约可见细胞核;经 hLF 处理的各组细胞形态发生明显的改变,随 hLF 浓度增加,细胞从正常的增殖旺盛的贴壁生长,逐渐表现为生长缓慢,黏附力降低,细胞内颗粒逐渐增多,且透明度降低,立体感较差,细胞形态完整性受损。可见,人乳铁蛋白对鼻咽癌细胞的增殖有抑制作用。

2.2 抗口腔癌

乳铁蛋白作为新的口腔肿瘤的化学预防剂,可抑制舌癌细胞增殖。McKeown 等^[5]认为乳铁蛋白对口腔鳞癌的作用是变化的,随着乳铁蛋白的浓度增大和作用时间的延长,乳铁蛋白对口腔鳞癌细胞增殖的抑制作用越强。Sakai 等^[6]研究了牛乳铁蛋白对口腔鳞状细胞癌的作用,结果发现牛乳铁蛋白可以通过诱导口腔癌细胞的凋亡来抑制肿瘤细胞的生长。

王雷等^[7]研究了重组人乳铁蛋白对口腔癌细胞周期及周期因子表达的影响。待 Tca8113 口腔舌癌细胞生长至对数生长期,用不同浓度的 rhLF 作用于 Tca8113 口腔舌癌细胞 24 h,加入 MTT,继续培养 4 h,显微镜下观察。MTT 法实验显示,随着重组人乳铁蛋白作用浓度的增加, Tca8113 细胞在细胞周期中的分布发生了明显的变化, G_0/G_1 期细胞数逐渐增加, S 和 G_2/M 期细胞数逐渐减少。除 0.5 g/300 L 外,其他浓度的 LF 均抑制 Tca8113 细胞增殖。Wolf 等^[8]研究发现,重组人乳铁蛋白通过阻断细胞从 G_0 到 G_1 期的转化来抑制肿瘤细胞的增殖。重组人乳铁蛋白对鼠的头颈部鳞状细胞癌 HNSCC 增殖具有抑制作用并呈现剂量依赖性,对正常细胞无抑制作用。

2.3 抗食管癌

重组人乳铁蛋白可以抑制食管癌细胞的增殖及肿瘤的血管

作者单位: 400038 第三军医大学学员旅十一队(李一丁); 400038 第三军医大学药学院化学教研室(赵先英,贺建,刘毅敏)

通讯作者: 刘毅敏

发生。李志沐等^[9]研究了重组人乳铁蛋白对食管癌细胞体外增殖的影响。待 Eca-109 人食管癌细胞生长至对数生长期,用不同浓度的 hLF 作用于 Eca-109 人食管癌细胞 24 h,加入 MTT,继续培养 4 h,显微镜下观察。MTT 实验显示,浓度为 $5 \times 10^{-3} \sim 40 \times 10^{-3} \text{ g/L}$ 的 rhLF 均显著抑制人食管癌细胞 Eca-109 体外增殖,且呈现剂量依赖,最大剂量 rhLF 对细胞增殖的抑制率达 57.8%。正常情况下细胞增殖与凋亡之间保持动态平衡,这种平衡是维持多细胞生物自身稳定的重要因素,这种动态平衡的打破被认为是增加癌可能的标志。此研究表明, rhLF 可以抑制食管癌细胞的增殖,促进其凋亡,为保持正常细胞生长的平衡状态提供可能。Norrby 等^[10]的研究也认为乳铁蛋白可以抑制肿瘤的血管发生。乳铁蛋白在体外具有抗上皮细胞增殖的活性并且可以强烈抑制血管内皮生长因子介导的血管发生。

2.4 抗卵巢癌

人乳铁蛋白(hLF)可以有效抑制卵巢癌细胞的体外增殖。卵巢癌患者的死亡率居妇科恶性肿瘤疾病之首位,5 年生存率仅 25%~30%,其治疗手段主要以手术为主,化疗为辅。仇志琴等^[11]就人乳铁蛋白对体外培养的、不同来源的卵巢癌细胞是否具有抑制作用进行了研究。待 SKOV3 人卵巢癌细胞生长至对数生长期,用不同浓度的 hLF 作用于 SKOV3 人卵巢癌细胞 24 h,加入 MTT,继续培养 4 h,显微镜下观察。MTT 实验显示,浓度为 6.25~50.00 $\mu\text{g/mol}$ 的 hLF 均显著抑制 3 株卵巢癌细胞的增殖,且呈剂量依赖关系,其中对 SKOV3 的抑制率最为显著。经过 hLF 作用的各株卵巢癌细胞,在细胞形态学上发生了明显的改变,不仅增殖力受到抑制,而且发生了较明显的凋亡。结果表明,人乳铁蛋白能够有效地抑制癌细胞的增殖,同时对正常细胞无显著抑制作用。

2.5 抗其他癌症

Bezault 等^[12]将 LF 注射到肿瘤体内,发现实体瘤的体积明显减小,且肿瘤体积的减小与 LF 干预天数相关。Varadachary 等^[13]的研究表明口服 rhLF 能部分或完全阻止乳腺癌生长,同时 200 mg/kg 的 rhLF 可以抑制头颈鳞状细胞癌(SCCVII)的生长。有些学者^[14,15]研究证实,乳铁蛋白通过抑制肿瘤细胞增殖从而抑制肿瘤的发展。Hirofumi 的研究表明,牛乳铁蛋白的特别序列能与 DNA 相结合,从而影响其转录活性。胃蛋白酶酶解产物中有这种能与 DNA 相结合的肽,与 DNA 结合后加快了转录的速度,从而引起淋巴细胞增殖。研究发现,乳铁蛋白的抗头颈部肿瘤作用是通过抑制肿瘤细胞增殖实现的。Kanyshkova 等^[16]发现乳铁蛋白的异构体具有 DNA 酶、RNA 酶、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。近几年的研究发现,人乳铁蛋白可以抑制头颈部鳞状细胞癌,它是通过直接的细胞毒作用以及系统性的免疫调节作用来实现的^[8]。McKeown 等^[5]研究认为大剂量或长时间作用的乳铁蛋白均可以诱导细胞死亡。

综上所述,乳铁蛋白可预防和治疗多种肿瘤,还未发现其严重不良反应。因此,乳铁蛋白是 1 种非常具有实用价值的抗肿瘤

瘤药物,它既能作为抗肿瘤药用于多种肿瘤的治疗,也能作为免疫调节剂应用于肿瘤的辅助治疗,乳铁蛋白有望成为新一代的抗肿瘤药物。

参考文献

- [1] 黄玉政,成勇,柏亚军,等.人乳铁蛋白转基因小鼠杂交选育的研究[J].动物医学进展,2007,28(6):39.
- [2] Vanderstate BWA, Beljaars L, Molema G, et al. Antiviral activities of lactoferrin[J]. Antiviral Res, 2001, 52(3):225.
- [3] Baker EN, Baker HM. Molecular structure, Binding properties and dynamics of lactoferrin[J]. Cell Mol Life Sci, 2005, 62(22):2531.
- [4] 李志沐,仇志琴,杨欢,等.人乳铁蛋白对鼻咽癌细胞增殖的影响[J].现代肿瘤医学,2010,18(1):15.
- [5] McKeown S, 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 Oncology, 2006, 42(7):685.
- [6] Sakai T, Banno Y, Kato Y, et al. Pepsin-Digested Bovine Lactoferrin Induces Apoptotic Cell Death With JNK/SAPK Activation in Oral Cancer Cells[J]. J Pharmacol Sci, 2005, 98(1):41.
- [7] 王雷,高文信,柳淑杰,等.乳铁蛋白对口腔鳞癌增殖的影响[J].中国老年学杂志,2008,28(7):643.
- [8] Wolf JS, Li GY, Varadachary 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):1601.
- [9] 李志沐,仇志琴,黄玉政,等.重组人乳铁蛋白对食管癌细胞体外增殖的影响[J].现代生物医学进展,2009,9(17):3308.
- [10] 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.
- [11] 仇志琴,虞丰,顾志群,等.重组人乳铁蛋白对不同卵巢癌细胞株增殖影响的实验研究[J].中国妇幼保健,2010,25(26):3787.
- [12] Bezault J, Bhimani R, Wipmynick J, et al. Human lactoferrin inhibits growth of solid tumors and development of experimental metastases in mice[J]. Cancer Res, 1994, 54(9):2310.
- [13] Varadachary A, Wolf JS, Petrak K, et al. Oral lactoferrin inhibits growth of established tumors and potentiates conventional chemotherapy[J]. Int J Cancer, 2004, 111(3):398.
- [14] Hayes TG, Falchook GF, Varadachary GR, et al. Phase I trial of oral talactoferrin alfa in refractory solid tumors[J]. Invest New Drugs, 2006, 24(3):233.
- [15] Jonasch E, Stadler WM, Bukowski RM, et al. Phase 2 trial of talactoferrin in previously treated Patients with metastatic renal cell carcinoma[J]. Cancer, 2008, 113(1):72.
- [16] Kanyshkova TG, Babina SE, Semenov DV, et al. Multiple enzymic activities of human milk lactoferrin[J]. Eur J Biochem, 2003, 270(16):3353.

(收稿日期 2012-06-20 修回日期 2012-09-17)

(编辑:甘艳)