

# 乳铁蛋白减轻肠道功能障碍的研究进展

李 懿<sup>1</sup>, 任鑫鑫<sup>1</sup>, 王 勤<sup>2</sup>, 贺晓云<sup>1,\*</sup>

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 中国农业大学动物科学技术学院, 北京 100083)

**摘 要:** 肠道屏障保持机体内环境稳定, 当肠黏膜受损、肠道细胞间紧密连接被破坏和肠道菌群失调时会引发多种疾病。天然活性蛋白在肠道屏障修复中起着关键作用, 乳铁蛋白是存在于哺乳动物乳汁中的糖蛋白, 具有抗氧化、抗炎和抗菌等多种生物学功能。大量研究表明乳铁蛋白能够增强肠道紧密连接蛋白水平, 促进肠细胞生长发育, 下调炎症因子表达, 调节免疫反应和肠道微生物多样性, 参与维持肠道屏障稳态。本文对乳铁蛋白缓解肠道屏障功能障碍研究进展展开综述, 有助于了解乳铁蛋白在肠道损伤中的作用机制, 为乳铁蛋白制品干预肠道疾病提供参考。

**关键词:** 乳铁蛋白; 肠道屏障; 生理活性; 肠道微生物

## Research Progress in Lactoferrin's Role in Alleviating Intestinal Barrier Dysfunction

LI Yi<sup>1</sup>, REN Xinxin<sup>1</sup>, WANG Qin<sup>2</sup>, HE Xiaoyun<sup>1,\*</sup>

(1. College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** The intestinal barrier plays a crucial role in maintaining homeostasis in the body. When the intestinal mucosa is damaged, the tight junctions between intestinal cells are disrupted, and the intestinal flora becomes imbalanced, a variety of diseases can arise. Natural active proteins are pivotal in the repair of the intestinal barrier. Lactoferrin, a glycoprotein abundant in mammalian milk, exhibits a range of biological functions such as antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial functions. Numerous studies have shown that lactoferrin elevates the levels of intestinal tight junction proteins, promotes the growth and development of intestinal cells, down-regulates the expression of inflammatory factors, regulates the immune response and intestinal microbial diversity, and contributes to the maintenance of intestinal barrier homeostasis. In this paper, a review on the alleviation of intestinal barrier dysfunction by lactoferrin is conducted, aiming to gain a better understanding of the mechanisms underlying lactoferrin's role in alleviating intestinal injury and to provide insights for the development of lactoferrin-based interventions in intestinal diseases.

**Keywords:** lactoferrin; intestinal barrier; physiological activity; gut microorganisms

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20231113-100

中图分类号: TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2025) 02-0317-10

引文格式:

李懿, 任鑫鑫, 王勤, 等. 乳铁蛋白减轻肠道功能障碍的研究进展[J]. 食品科学, 2025, 46(2): 317-326. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20231113-100. <http://www.spkx.net.cn>

LI Yi, REN Xinxin, WANG Qin, et al. Research progress in lactoferrin's role in alleviating intestinal barrier dysfunction[J]. Food Science, 2025, 46(2): 317-326. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20231113-100. <http://www.spkx.net.cn>

肠道是人体消化和吸收营养物质的主要场所, 也是机体最大的免疫器官。肠道作为先天性屏障维持机体内环境平衡, 阻止非自身有害抗原、细菌和病毒的侵袭, 减少肠道微生物的全身性串扰<sup>[1]</sup>。肠道屏障是由肠

黏膜、肠上皮细胞、免疫细胞和肠道微生物组成的复杂系统, 与机体功能失调紧密相关, 在肠道健康中占据中心地位。肠道屏障功能障碍被认为是导致多种病理生理状况产生的关键因素, 屏障受损导致肠道通透性增加,

收稿日期: 2023-11-13

第一作者简介: 李懿 (2000—) (ORCID: 0009-0009-3105-1189), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养与安全。

E-mail: zoelyyyy@icloud.com

\*通信作者简介: 贺晓云 (1980—) (ORCID: 0000-0001-7315-6864), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品营养与安全。

E-mail: hexiaoyun@cau.edu.cn

外界抗原侵入机体,破坏微生物稳态,诱发全身性炎症反应<sup>[2]</sup>。通过增强肠道细胞间紧密连接,可诱导肠黏液、抗菌蛋白和免疫细胞的产生,并改善肠道微生态能修复受损的肠道屏障<sup>[3]</sup>。

乳铁蛋白是一种安全有效的天然活性蛋白质,能够促进胃肠道发育,与刷状边缘受体结合后被肠细胞和隐窝细胞摄取,进而转运到血液中发挥其生理活性,通过调节机体代谢和肠道微生物群落结构有效改善肠道屏障损伤<sup>[4]</sup>,在食品营养强化和疾病预防方面起着重要作用,有较强应用价值<sup>[5]</sup>。本文综述乳铁蛋白在修复肠道屏障和抵御肠道炎症方面的重要作用,以期开发干预肠道性疾病的临床应用策略提供理论依据。

## 1 肠道屏障功能

健康完整的肠道屏障可分为机械屏障、化学屏障、生物屏障和免疫屏障,包括肠上皮细胞、细胞间紧密连接、黏液层、微生物群落和免疫细胞<sup>[6]</sup>。肠道屏障是机体和环境之间进行物质吸收和交换的媒介,作为重要的保护防御系统具有严格的调节机制,各部分相互作用对于维持肠道内环境的稳定至关重要。

肠道机械屏障由完整的上皮细胞和细胞间紧密连接组成,肠上皮细胞可归为吸收型和分泌型两大类,包括吸收上皮细胞、杯状细胞、潘氏细胞、肠内分泌细胞、M细胞和簇状细胞。吸收上皮细胞占分化细胞的80%~90%,其微绒毛结构能扩大吸收面积有效参与体内营养物质吸收转运。杯状细胞分泌由黏蛋白和黏多糖组成的凝胶状黏液,建立肠黏膜上皮屏障。潘氏细胞分泌抗菌肽参与介导黏膜免疫过程<sup>[7]</sup>。肠内分泌细胞分泌多种肽类激素如促胰液素、瘦素和胃饥饿素等调节消化过程,感应微生物代谢产物变化,识别病原体相关分子调控肠黏膜免疫<sup>[8]</sup>。簇状细胞占分化细胞的0.4%,是肠道中白细胞介素(interleukin, IL)-25的唯一来源,在抵御寄生虫感染过程中起着重要作用<sup>[9]</sup>。紧密连接通常位于顶端相邻上皮细胞间,相邻质膜几乎融合并紧紧贴合,封闭细胞间隙,限制分子的自由扩散,该结构主要由闭合蛋白(Occludin)、密封蛋白(Claudin)、连接黏附分子(junctional adhesion molecule, JAM)和闭锁小带(zonula occludins, ZO)组成<sup>[10]</sup>。

肠道化学屏障由消化液、肠黏膜上皮分泌的黏液及肠上皮细胞产生的抑菌物质组成。胃肠道分泌的胃酸、肠液、溶菌酶、消化酶和胆汁等化学物质能够有效抑制病原体在肠道内的定植,胆盐与肠腔中的内毒素结合形成难以吸收的复合物,使内毒素失活,降低体内炎症反应<sup>[11]</sup>。溶菌酶破坏细菌细胞壁的肽聚糖结构,同时能够促进黏蛋白分泌,帮助形成致密的黏液层<sup>[12]</sup>。黏液层主要由黏蛋白、水、免疫分子和抗菌肽组成,黏蛋白是其

关键组成部分,主要由杯状细胞分泌,可分为广泛表达于肠道的分泌型黏蛋白和覆盖于肠细胞表面的膜结合型黏蛋白,是抵御微生物侵入的第一道防线。潘氏细胞分泌多种抗菌肽,包括 $\alpha$ -防御素( $\alpha$ -defensins,  $\alpha$ -DF)、 $\beta$ -防御素( $\beta$ -defensins,  $\beta$ -DF)和C型凝集素(C-type lectins, CTLs),抑制外源病菌侵袭,维持肠道稳态<sup>[13]</sup>。共生菌群和病原体被阻拦在低密度黏液外层中,不断更新的黏液能动态清除已结合的细菌,同时为分泌型免疫球蛋白A(secretory immunoglobulin A, SIgA)提供结合位点,维持抗菌效应<sup>[14]</sup>。

肠相关淋巴组织、肠系膜淋巴结和浆细胞产生的分泌型抗体等构成肠免疫屏障,通过细胞免疫和体液免疫维持机体稳态。肠上皮内淋巴细胞和固有层淋巴细胞是肠道主要免疫细胞,通过产生多样细胞因子刺激免疫反应。树突状细胞作为抗原呈递细胞,通过激活T细胞介导先天免疫和适应性免疫。肠道巨噬细胞是固有层内最大的免疫细胞群,在结肠组织中广泛分布,肠稳态时能促进凋亡细胞清除和组织修复,并为肠道干细胞提供信号以帮助产生杯状细胞、潘氏细胞和肠上皮细胞,而肠失衡时会破坏肠道完整<sup>[15]</sup>。肠道T细胞广泛分布于派氏结、肠固有层和上皮组织,根据表面受体的不同分为 $\alpha\beta$ T细胞和 $\gamma\delta$ T细胞两个亚群, $\gamma\delta$ T可释放干扰素 $\gamma$ (interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ),刺激巨噬细胞产生IL-15参与免疫反应<sup>[16]</sup>。在树突细胞的作用下,初始T细胞可分化为调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)和辅助性T细胞(helper T cell, Th),二者的平衡对肠道炎症反应起着重要作用。B细胞主要释放SIgA,中和细菌毒素并刺激肠黏液分泌,作为肠道免疫的第一道防线能够有效阻碍病原体对肠黏膜和肠上皮细胞的黏附<sup>[17]</sup>。

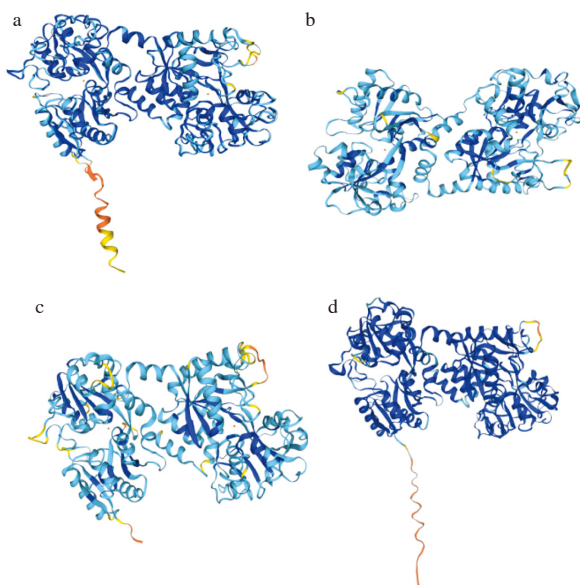
肠道微生物群落构成生物屏障,参与吸收营养物质,降解食物残渣,促进肠道发育,稳定状态下与机体保持共生关系,促进保护性肠道免疫应答。超过99%的肠道细菌属于厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门和放线菌门,炎症反应导致肠黏膜变薄,肠道内氧气梯度水平发生变化,共生细菌多样性改变,厚壁菌、双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌等有益菌比例降低,而变形杆菌、大肠杆菌和梭杆菌等致病性细菌显著增加<sup>[18-19]</sup>。肠道失衡条件下,黏液降解细菌增加,促使肠上皮细胞暴露,伴随着短链脂肪酸细菌丰度减少,不能调节杯状细胞分化和黏蛋白糖基化,紧密连接被破坏<sup>[20]</sup>。微生物群在免疫系统成熟过程中起着重要作用,影响中性粒细胞迁移和活性以及T细胞分化。双歧杆菌能够刺激细胞因子分泌,促进淋巴细胞成熟增殖,诱导树突状细胞成熟,增加肠道免疫球蛋白A(immunoglobulin, Ig)A的分泌<sup>[21]</sup>。普拉梭菌能刺激免疫细胞分泌IL-10和IFN- $\gamma$ 发挥抗炎作用,恢复肠道菌群多样性,缓解肠道炎症,促进树突状细胞分化、Tregs分化和上调丁酸表达维持免疫平衡<sup>[22]</sup>。

## 2 乳铁蛋白概述

### 2.1 乳铁蛋白的分布

乳铁蛋白是一种非血红素铁结合糖蛋白,其分子质量约为80 kDa,由700个氨基酸组成,在物种间具有较高同源性。乳铁蛋白最初在1939年分离乳清蛋白时被发现,并于1960年从牛乳和人乳中分离得到纯化物质<sup>[23]</sup>。由于乳铁蛋白能够螯合铁离子,并与血清转铁蛋白序列有60%相似性,因此被归为转铁蛋白家族成员<sup>[24]</sup>。乳铁蛋白主要存在于哺乳动物乳汁中,也由黏膜上皮细胞合成并分泌,广泛分布在眼泪、唾液、胃肠液和其他体液中<sup>[25]</sup>。此外,已在某些多形核白细胞(如中性粒细胞)的黏膜表面和次级颗粒中也发现了乳铁蛋白,中性粒细胞在感染时通过脱颗粒作用释放乳铁蛋白,这一免疫反应有助于乳铁蛋白参与到抗菌过程中<sup>[26]</sup>。

乳产品是乳铁蛋白的重要来源,腺体上皮细胞从乳腺表达和分泌乳铁蛋白。乳铁蛋白序列在物种间较保守,具有较高相似性,以常见物种为例,人源与牛源、马源和山羊乳铁蛋白序列分别约有70%、75%和71%同一性(图1),但其在乳中的含量因物种泌乳期、健康状况和品类差异而不同。乳铁蛋白在人初乳中质量浓度最高,约为7 g/L,在成熟乳中约1 g/L<sup>[26]</sup>。牛初乳中的乳铁蛋白质量浓度约为0.8 g/L,而成熟牛乳中仅含0.03~0.49 g/L,占乳清蛋白总量的8.38%<sup>[27]</sup>。驴乳中乳铁蛋白质量浓度约为0.4 g/L,占乳清蛋白总量的4.48%<sup>[28]</sup>。羊乳中乳铁蛋白约占乳清蛋白总量的4.35%,马乳中乳铁蛋白约占乳清蛋白总量的9.89%<sup>[27,29]</sup>。



a.人乳铁蛋白;b.牛乳铁蛋白;c.马乳铁蛋白;d.山羊乳铁蛋白。红色球体代表铁结合位点,模型序列来源于美国国家生物技术信息中心,构建于Swiss-Model (<https://swissmodel.expasy.org/>)。

图1 乳铁蛋白结构图

Fig.1 Structure diagrams of lactoferrin

### 2.2 乳铁蛋白的结构

乳铁蛋白由一条折叠成两个对称叶(N叶和C叶)的简单多肽链组成,其二级结构由 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠交替排列,两个叶型具有相似的折叠构象(同源性33%~41%)。每个叶型由两个结构域(N1、N2、C1、C2)组成,结构域之间形成的裂缝能够满足乳铁蛋白结合1个铁离子和1个碳酸根离子,铁离子与乳铁蛋白的4个氨基酸残基(1个天冬氨酸、1个组氨酸和2个酪氨酸)共价连接<sup>[30-31]</sup>。除铁离子外,乳铁蛋白也可与锌离子、锰离子和铜离子结合。

乳铁蛋白的双叶结构可逆地结合铁离子,根据其铁饱和度可分为铁饱和度低于5%的缺铁乳铁蛋白(Apo-lactoferrin, Apo-Lf)和铁饱和度大于85%的铁饱和乳铁蛋白(Holo-lactoferrin, Holo-Lf)。不同的三维构象和铁结合能力导致其生理活性功能不同,Apo-Lf的N叶开放而C叶封闭,Holo-Lf的双叶结构均封闭且不结合金属离子,故Holo-Lf高度稳定,抗蛋白酶水解能力更强,而Apo-Lf具有更高的抗氧化和抗菌活性<sup>[32]</sup>。

乳铁蛋白的等电点约为8.7,哺乳动物乳汁的pH值约为6.7,因而乳铁蛋白在乳中表面带正电。乳铁蛋白是转铁蛋白家族中铁结合能力最强的蛋白质,pH 3的条件下也能够可逆地结合两个铁离子,而一般转铁蛋白仅能维持铁离子结合状态至pH值约为5.5。其铁结合能力能够保证游离铁浓度不超过 $10^{-18}$  mol/L,防止铁不溶性氢氧化物沉淀形成,有害微生物摄取吸收以及芬顿反应中过氧化物负载导致组织、细胞和DNA的损伤<sup>[33]</sup>。

不同物种来源的乳铁蛋白具有不同的糖基化位点,人乳铁蛋白中,糖基化位点主要在第138、479和624位天冬酰胺残基;牛乳铁蛋白主要糖基化位点在第233、368、476和545位天冬酰胺残基<sup>[34]</sup>。糖基化位点可能影响蛋白的溶解度、免疫原性和抗水解能力,糖残基与蛋白质结构的相互作用小,糖基化在乳铁蛋白功能中的作用尚未完全阐明,大多数糖基化位点高度暴露在蛋白质表面,但为表征蛋白质结构和功能之间的关系提供了新的思路<sup>[34-35]</sup>。

### 2.3 乳铁蛋白的功能特性

#### 2.3.1 参与机体铁代谢

铁是机体所必需的微量矿物质营养素,参与DNA合成和细胞生长分化等关键生理过程,铁元素缺乏会损害哺乳动物发育,铁元素过载可能过量产生自由基,而乳铁蛋白通过结合、转运和释放铁维持机体铁稳态<sup>[36]</sup>。

饮食摄入后,铁元素以三价铁形态到达肠腔,被还原为亚铁离子,随后通过转运蛋白和载体蛋白进入肠细胞,最后通过肠上皮细胞基底外侧膜的铁转运蛋白运出细胞。乳铁蛋白能与细胞表面受体特异性结合并通过内吞作用进入细胞<sup>[37]</sup>。当机体缺铁时,肠细胞表面形成



更多的乳铁蛋白受体,增强铁的吸收率和利用率。当铁离子过载时,乳铁蛋白与转运蛋白作用驱动铁离子输出<sup>[38-39]</sup>。

### 2.3.2 抗菌活性

乳铁蛋白具有广谱抑菌性,能够抑制大肠杆菌、幽门螺旋杆菌等革兰氏阴性菌,也能抑制金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌等革兰氏阳性菌<sup>[38]</sup>。乳铁蛋白与需铁细菌竞争结合铁离子,剥夺致病菌的生长必需营养物质<sup>[40]</sup>。此外,乳铁蛋白N端的阳性基团可与革兰氏阴性菌细胞膜的主要成分脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)相互作用,破坏细菌外膜结构,起到杀菌作用<sup>[41]</sup>。乳铁蛋白能明显抑制半胱氨酸蛋白酶活性,进而抑制金黄色葡萄球菌的生长<sup>[42]</sup>。

### 2.3.3 抗氧化活性

氧化应激会引发慢性退行性疾病的发展,发炎的组织和细胞产生并释放大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS),ROS的过度累积会导致机体氧化防御系统失衡。过氧化氢在铁离子作用下生成羟自由基并积累ROS,乳铁蛋白可以整合机体内铁离子维持ROS保持稳态水平,改善体内铁代谢、保护神经系统和缓解氧化应激损伤<sup>[32,43]</sup>。

### 2.3.4 调节机体免疫

在淋巴细胞、巨噬细胞和树突状细胞中均已发现乳铁蛋白受体,乳铁蛋白能够诱导巨噬细胞活化,增强其吞噬能力,并促进树突状细胞成熟,与不同免疫细胞相互作用能够影响先天免疫系统<sup>[44-45]</sup>。乳铁蛋白通过与LPS结合调节抑制Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)4信号通路,减弱LPS诱导的肠道损伤<sup>[46]</sup>。另外,乳铁蛋白能促进T细胞和B细胞分化为调节性T细胞和抗原呈递细胞,提高机体免疫应答<sup>[45]</sup>。

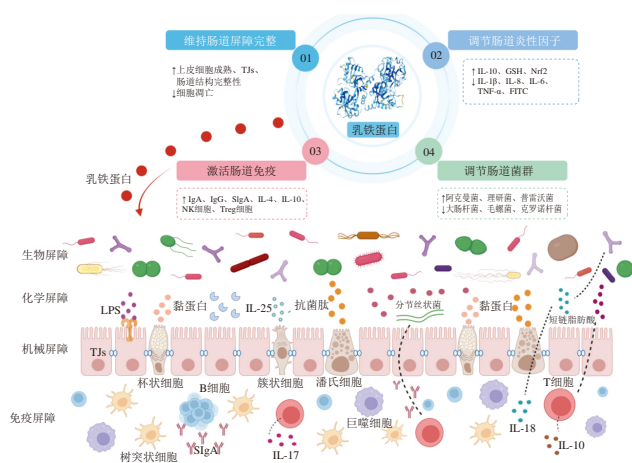
### 2.4 乳铁蛋白的应用

2013年实施的GB 14880—2012《食品营养强化剂使用标准》已将乳铁蛋白列为营养强化剂,允许其添加在婴儿配方奶粉中<sup>[47]</sup>。2017年实施的GB 1903.17—2016《食品营养强化剂 乳铁蛋白》对乳铁蛋白的纯度要求进行了修改,将纯度提升至95%<sup>[48]</sup>。美国食品药品监督管理局也将乳铁蛋白指定为安全的食品添加剂,可作为天然抑菌剂用于食品保鲜。此外,乳铁蛋白也能添加到动物饲料中强化营养价值,提高动物免疫力<sup>[49]</sup>。2022年发布的《乳铁蛋白临床应用中国专家共识》证实了乳铁蛋白在降低婴幼儿呼吸道和胃肠道疾病发生率、改善贫血状态、提高幽门螺旋杆菌根治率及改善老年人免疫功能等方面具有较好干预效果<sup>[50]</sup>。

## 3 乳铁蛋白对肠道功能障碍的影响

肠腔中的细菌、毒素和炎症物质发生易位,许多炎症激活剂如细胞因子和内毒素能激活细胞内信号通路,

与特定受体结合并释放炎症介质。失控的炎症反应促进肠道屏障破坏,导致肠道通透性增加、肠黏膜脱落、肠道上皮细胞死亡、免疫功能受损和微生物群失调等,从而加剧肠道环境紊乱<sup>[1]</sup>。肠道屏障功能障碍可引发多种疾病,应激性肠炎、坏死性小肠结肠炎、炎症性肠病等造成肠道区域间断性或连续性损伤,导致肠黏膜下层增厚、透壁炎症、隐窝脓肿和裂纹溃疡等,继而引起全身性免疫损伤。近年来多项研究表明乳铁蛋白能够维持肠道屏障完整、缓解肠道炎症、调节肠道免疫和微生物组成<sup>[46]</sup>。乳铁蛋白对肠道屏障功能的改善作用如图2所示。



TJs.紧密连接蛋白(tight junctions); NK.自然杀伤(natural killer); TNF- $\alpha$ .肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ ); GSH.谷胱甘肽(glutathione); Nrf2.核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2 related factor 2); FITC.异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate)。

图2 乳铁蛋白影响肠道屏障功能示意图

Fig. 2 Schematic diagram illustrating the effects of lactoferrin on intestinal barrier function

### 3.1 维持肠道屏障完整

肠上皮细胞及细胞间紧密连接是维持肠道内环境平衡的首要屏障,一方面选择性过滤营养素、水和电解质等物质进入机体;另一方面防止毒素、病原体或外来抗原入侵,肠上皮紧密连接一旦发生缺失或减少,会导致肠道高容量和无选择性地透过微生物和大分子物质,加剧炎症反应<sup>[51]</sup>。乳铁蛋白可作为肠道发育调节剂,有效改善肠道结构,促进上皮细胞成熟,增强TJs水平,修复肠道屏障。

Zhao Xiao等<sup>[52]</sup>利用人肠上皮隐窝细胞HIEC和人结肠腺癌细胞Caco-2模型,探究乳铁蛋白对其生长的促进作用和对肠道屏障功能的影响,结果发现经乳铁蛋白处理后,细胞活力有效增强,碱性磷酸酶活性和单层细胞电阻值显著增加,在mRNA和蛋白质水平上提高了Claudin-1、Occludin和ZO-1 3种标志性肠道TJs的表达。在葡聚糖硫酸钠盐(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的结肠炎小鼠模型中,乳铁蛋白干预能显著增加黏糖蛋

白2 (mucoprotein 2, MUC2) 等结肠黏膜蛋白的表达, 说明乳铁蛋白能够修复肠道黏膜, 有效改善肠道屏障<sup>[53]</sup>。

乳铁蛋白在生命早期的肠道发育过程中也起到积极作用, 已有研究分别采用野生型小鼠和乳铁蛋白基因敲除小鼠作为母鼠喂养新生幼鼠, 发现经含乳铁蛋白的乳汁哺育后, 幼鼠肠道质量、长度以及麦芽糖酶/乳糖酶活性均显著增加, 而麦芽糖酶/乳糖酶活性是肠道成熟的重要指标。此外, 乳汁哺育后, 肠道ZO-1和Occludin mRNA表达水平上升, 表明乳铁蛋白促进肠道发育成熟<sup>[54]</sup>。

乳铁蛋白因其铁结合水平的不同而具备不同的生物活性, 通过研究不同金属饱和度的牛乳铁蛋白对肠上皮屏障功能和肠黏膜的影响, 发现乳铁蛋白无细胞毒性, 不会诱导Caco-2细胞和巨噬细胞的炎症反应, 保持肠道TJs水平<sup>[55]</sup>。

TNF- $\alpha$ 是由单核细胞分泌的促炎介质, 与IL-1 $\beta$ 和IL-6相互配合, 募集和活化其他炎症元素以增强炎症反应<sup>[56]</sup>。TNF- $\alpha$ 是细胞死亡的重要调节因子, 通过与肿瘤坏死因子受体1结合诱导细胞凋亡<sup>[57]</sup>。Liu Jia等<sup>[58]</sup>研究发现, 乳铁蛋白能缓解坏死性小肠结肠炎患病小鼠的病理特征, 下调IL-6和TNF- $\alpha$ 表达, 同时增加肠道干细胞标志物富含亮氨酸重复序列G蛋白偶联受体5 (leucine-rich repeat-containing g protein-coupled receptor 5, Lgr5) +表达和细胞增殖标志物Ki67阳性率, 乳铁蛋白可通过刺激肠细胞发育缓解肠道损伤。TNF- $\alpha$ 干扰肠道屏障期间, 乳铁蛋白可有效恢复人结肠癌细胞HT-29和人结肠腺癌肺转移细胞T84的TJs表达, 抑制上皮细胞凋亡, 并减少小肠结肠炎耶尔森氏菌诱导的肠道通透性增大, 保护肠道细胞系功能<sup>[59]</sup>。

### 3.2 调节肠道炎症因子

细胞因子是一类具有生物活性的小分子蛋白, 包括IL、趋化因子、IFN和TNF, 能调节免疫功能, 是破坏肠道屏障和调控炎症反应的重要靶标, 也是多种肠道疾病的重要诱因<sup>[60]</sup>。肠道损伤会诱发炎症细胞因子以激活肠道免疫, 细胞因子通过控制细胞死亡、增殖、转运和针对病原体的炎症反应等关键过程维持肠道稳态, 大量炎症因子释放会导致上皮结构严重损伤, 乳铁蛋白能够调节肠道的过度炎症反应, 并诱导干细胞增殖分化促进肠道修复<sup>[61]</sup>。

乳铁蛋白显著增加IL-3和自噬微管相关蛋白轻链3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3 beta, LC3B) 蛋白表达和杯状细胞数量, 降低信号传导和转录激活因子3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、炎症细胞因子和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 表达, 通过增强单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (adenosine

5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK) 和抑制mTOR-STAT3信号传导增强结肠自噬以对抗实验性应激诱导的结肠炎<sup>[62]</sup>。口服乳铁蛋白能有效缓解DSS诱导的小鼠肠道炎症, 改善小鼠疾病活动指数、结肠缩短量、组织病理学评分及炎症因子表达<sup>[63]</sup>。不同铁饱和度的乳铁蛋白对DSS诱导的结肠炎小鼠治疗效果不同, 相比Holo-Lf, Apo-Lf能显著缓解溃疡性结肠炎症状, 降低体内TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6等炎症因子水平<sup>[64]</sup>。

内毒素是细菌产生的有毒化合物, 肠道中有大量细菌定植, 细菌增殖、裂解和死亡过程中均可释放LPS, 诱导肠道通透性增加, 引起杯状细胞死亡, 肠道黏液层变薄<sup>[65]</sup>。TLR属于模式识别受体, 是主要的LPS受体, TLR4结合LPS后触发髓样分化因子88 (myeloid differentiation factor, MyD88) 与IL-1受体相关激酶4 (interleukin-1 receptor-associated kinase 4, IRAK4) 的相互作用, 传递信号到核因子- $\kappa$ B (nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B) 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK), 激发炎症信号通路<sup>[66]</sup>。NF- $\kappa$ B接收到刺激信号后与靶基因结合启动炎症因子转录, 促使促炎介质释放, 引起巨噬细胞浸润, 释放过量氧自由基, 引起免疫系统紊乱, 加重炎症反应<sup>[67]</sup>。同时, 过量的氧自由基扰乱机体氧化还原平衡, 刺激促炎细胞因子产生, 破坏肠黏膜细胞。目前的研究发现, 乳铁蛋白主要通过干预NF- $\kappa$ B信号通路缓解肠道炎症环境<sup>[46]</sup>。

Buey等<sup>[68]</sup>将乳铁蛋白、乳清作为肠道先天免疫和氧化应激的调节剂探究其对肠上皮细胞的影响, 发现均未引起肠上皮细胞氧化损伤, 乳铁蛋白和乳清都降低了LPS诱导的细胞氧化应激水平和TLR激活的炎症反应。

乳铁蛋白可通过NF- $\kappa$ B和MAPK信号通路有效抑制LPS诱导的猪肠上皮IPEC-J2细胞炎症, 降低细胞内ROS、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 以及炎症细胞因子水平, 上调Nrf2相关因子的表达, 有效保持肠细胞屏障完整并减轻氧化应激水平<sup>[69]</sup>。

利用LPS构建体内外幼儿肠道屏障损伤模型, 乳铁蛋白能够下调肠上皮细胞及血液中IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 等炎症细胞因子的表达, 同时通过调控ELAV样蛋白1 (ELAV like protein 1, ELAVL1) /磷脂酰肌醇3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) /NF- $\kappa$ B通路改善肠道损伤<sup>[70]</sup>。Apo-Lf可有效抑制LPS诱导的肠上皮细胞炎症, 下调TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 等炎症因子表达, 过氧化物酶体增殖剂激活受体 (peroxisome proliferators activated receptor, PPAR) 信号通路的靶蛋白PPAR- $\gamma$ 和果糖-2,6-二磷酸酶3 (fructose-2,6-biphosphatase 3, PFKFB3) 被激活, Apo-Lf通过调节NF- $\kappa$ B/PPAR信号通路对LPS诱导的肠道炎症损伤有保护作用<sup>[71]</sup>。



放射性肠损伤小鼠模型中,乳铁蛋白干预能有效缓解小鼠体质量下降和肝脏氧化损伤,显著增长肠绒毛长度,Lgr5+和Ki67表达明显升高,乳铁蛋白处理能维持肠道结构完整和肠道细胞增殖再生能力,同时乳铁蛋白显著下调二价转运蛋白和二价铁离子的含量,上调溶质载体家族成员(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)和谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)蛋白表达,降低MDA和酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)水平,乳铁蛋白改善放射性肠损伤造成的小肠组织铁死亡的作用机制可能与调节铁代谢和GSH-GPX4途径有关<sup>[72]</sup>。

### 3.3 激活肠道免疫

肠道是机体最大的免疫器官,IgG是初级免疫中最持久的抗体,能够有效抵御侵染并促进巨噬细胞的吞噬作用,而IgA是机体黏膜免疫的重要组成部分,是肠黏膜系统中主要的Ig类型,其能够有效控制细菌易位并中和黏膜表面的细菌毒素,在机体免疫中发挥着关键作用<sup>[73]</sup>。免疫细胞和致病性免疫细胞失衡是炎症性肠病黏膜炎症和组织破坏的关键驱动因素。

以急性应激BLAB/c小鼠为模型,研究发现口服乳铁蛋白能有效增强远端小肠派尔集合淋巴结和固有层CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>细胞水平及IgA和SIgA表达,以改善小鼠的肠道稳态<sup>[74-75]</sup>。Sarkar等<sup>[76]</sup>研究了乳铁蛋白干预对新生仔猪生长性能、免疫蛋白和肠道完整性的影响,发现乳铁蛋白处理有效提高了新生仔猪的存活率,增加血清IgG浓度和IgA浓度,同时上调转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )表达,有效维持肠道上皮黏膜功能完整性,促进肠道成熟。

乳铁蛋白及其胃蛋白酶水解物影响外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)和浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cells, pDCs)中IFN- $\alpha$ 的产生,在单链RNA病毒存在的情况下,乳铁蛋白能显著增加IFN- $\alpha$ 和CD86的浓度,通过MAPK信号通路直接上调pDCs中抗原呈递分子人类白细胞DR抗原(human leukocyte antigen DR, HLA-DR)的表达,表面乳铁蛋白可调节先天性和适应性免疫以保护机体免受病毒侵染<sup>[77]</sup>。

调节性T细胞主要通过分泌IL-10和TGF- $\beta$ 等细胞因子抑制T细胞的过度激活,具有免疫抑制作用,而Th17分泌IL-17促进机体炎症反应,在一定条件下两种细胞可以相互转化,维持免疫稳态<sup>[78-79]</sup>。在小鼠结肠炎和回肠炎模型中,乳铁蛋白增加肠道固有层中调节性T细胞数量,促进CD4<sup>+</sup>细胞表型偏离促炎性Th17,转向耐受性Treg表型以调节炎症<sup>[80]</sup>。Kuhara等<sup>[81]</sup>发现口服乳铁蛋白可有效促进IL-18分泌,上调派尔集合淋巴结和肠固有层中IFN- $\alpha$ 和IFN- $\beta$ 的表达,增强NK细胞活性。Zhang Qiang等<sup>[82]</sup>

利用LPS刺激巨噬细胞RAW264.7,探究乳铁蛋白及铜修饰蛋白对巨噬细胞抗炎活性的影响,研究发现乳铁蛋白能有效抑制炎症介质前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)、ROS、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 的表达。中性粒细胞在炎症部位累积,所释放的乳铁蛋白能促进细胞间相互作用,调节巨噬细胞表型以激活吞噬作用,维持肠道稳态<sup>[83]</sup>。

髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)是高度异质的非成熟髓源细胞,负向调控免疫系统,抑制免疫细胞功能,但在新生儿防御机制中MDSCs能够控制炎症进程,在小鼠和人类中观察到,乳铁蛋白仅在新生儿中将骨髓细胞转化为有效MDSCs<sup>[84]</sup>。Liu Yufeng等<sup>[85]</sup>用乳铁蛋白处理新生儿中性粒细胞和单核细胞,发现其可通过激活低密度脂蛋白受体相关蛋白2(low density lipoprotein receptor related protein 2, LRP2)和NF- $\kappa$ B转录因子将其转化为MDSCs,能够阻断坏死性小肠结肠炎患病幼鼠的炎症进程,增大幼鼠生存率,同时缓解DSS诱导的结肠炎小鼠炎症反应。

### 3.4 调节肠道微生物结构

肠道内环境是一个复杂的微生物生态系统,肠道微生物组在保护肠道健康方面起着重要作用,能有效促进机体多种生理过程。细菌侵染、抗生素感染和压力等多种因素会导致肠道生态失调,破坏肠黏膜屏障及肠免疫系统,导致肠道结构和功能损伤。乳铁蛋白通过限制微生物的铁离子利用以阻碍有害细菌生长,乳铁蛋白的阳性氨基酸基团可与革兰氏阴性菌的外膜LPS结合以发挥杀菌活性<sup>[40,86]</sup>。此外,乳铁蛋白能促进乳酸杆菌和双歧杆菌等具有较低铁需求的有益菌的生长,并首先被用作其生长底物,通过调节菌群多样性以维持肠道内环境稳态<sup>[87]</sup>。

大肠埃希菌O157:H7黏附肠黏膜损害肠道结构,增大肠道通透性,并分泌毒力因子导致全身性感染,利用其构建肠道功能障碍模型,口服乳铁蛋白能有效改善肠道炎症,抑制大肠埃希菌诱发的拟杆菌异常增长,维持肠道微生物群稳态<sup>[88]</sup>。研究表明乳铁蛋白可缓解抗生素给药导致的肠道系统紊乱,恢复TLR-2、TLR-8和TLR-9的表达,调节肠道微生物理研菌和普雷沃菌等抗炎菌水平,有效改善葡萄糖代谢,保护细胞免受氧化应激刺激<sup>[46,89]</sup>。

黏附性侵袭大肠杆菌LF82和O83:H1,通过上调细胞表面癌胚抗原相关细胞黏附分子6(carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule 6, CEACAM-6)干扰肠上皮细胞,诱导宿主DNA损伤增强其存活<sup>[90]</sup>。乳铁蛋白抑制大肠杆菌LF82侵染肠细胞水平,降低促炎细胞因子TNF- $\alpha$ 、IL-8和IL-6表达<sup>[91-92]</sup>。Lepanto等<sup>[93]</sup>利用LF82处理IFN- $\gamma$ 诱导损伤的Caco-2细胞,发现乳铁蛋白能够有效减少大肠杆菌在细胞中的侵袭,抵消细菌所介导的遗传毒性,有效保护宿主细胞。

产肠毒素大肠杆菌 (enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC) 通过分泌毒力因子干扰新生仔猪肠道稳态, 研究表明, 在仔猪的小肠灌注实验中, 乳铁蛋白能够减轻ETEC引起的肠液吸收不足, 体外抑制细菌生长, 阻碍细菌黏附和肠内运动能力, 并降解相关毒力因子如参与黏附肠细胞的F18和F4菌毛, 这对于减少ETEC的黏附至关重要<sup>[94-95]</sup>。

已有研究表明, 脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (deoxynivalenol, DON) 可诱发肠道炎症并破坏肠道完整性, 乳铁蛋白干预能够降低炎症细胞因子水平, 一定程度上增加结肠微生物群多样性, 提高梭菌属等共生细菌簇的丰度, 同时影响肠道短链脂肪酸的表达, 有益于维持肠道稳态, 促进肠道健康<sup>[96]</sup>。

乳铁蛋白通过调控肠道微生物多样性和代谢物来减轻DSS诱导的结肠炎小鼠免受炎症和结肠上皮屏障损伤, 增加肠道共生菌 *Akkermansia* 比例, 下调肠道内环境中厚壁菌门/拟杆菌门比值, 调节代谢紊乱小鼠肠道微生物组成并改善体内炎症, 形成非致病菌主导的肠道环境, 早期乳铁蛋白干预也能影响哺乳仔猪结肠微生物群的组成并改善肠道功能<sup>[53,97-98]</sup>。乳铁蛋白对肠道功能障碍的改善效应总结如表1所示。

表 1 乳铁蛋白对肠道屏障的保护作用及其机制总结  
Table 1 Summary of the protective effect and mechanism of lactoferrin on the intestinal barrier

干预介质或方式	主要研究模型	生物效应	参考文献
LPS	HIEC	↑ 细胞活力、碱性磷酸酶活性、TEER、TJs	[52]
	Caco-2	↑ 细胞增殖、TEER、TJs ↓ IL-6、TNF-α、TLR4、MDA、4-HNE	[52,54-55]
	IPEC-J2	↑ IL-10、TJs、GSH、Nrf2 ↓ IL-1β、IL-8、TNF-α、FITC、ROS、MDA、MAPK	[69]
	IEC	↓ TNF-α、IL-1β、IL-6、IFN-γ、ELAVL1、PI3K、NF-κB PPAR-γ、PFKFB3、NF-κB、Relb、Bcl3、CCL2	[68,70-71]
TNF-α	RAW264.7	↓ PGE2、ROS、NO、IL-6、IL-1β、TNF-α	[82]
	HT-29/B6; T84	↑ TJs、TEER ↓ 凋亡、FITC	[59]
大肠杆菌LF82	Caco-2	↓ TNF-α、IL-6、IL-8	[92-94]
单链RNA病毒	PBMC	↑ pDC、IFN-α、CD86、HLA-DR	[77]
DSS	BALB/c小鼠	↑ 结肠长度、TJs ↓ 疾病活动指数、组织学损伤评分、TNF-α、IL-1β、LPS、革兰氏阴性菌菌落数	[64]
	C57BL/6小鼠	↑ 体重、结肠长度、TJs、MUC-2、IL-10、TGF-β、嗜黏蛋白阿克曼菌; 肠道形态恢复 ↓ 疾病活动指数、MPO、IL-1β、TNF-α、IL-6、FITC、毛霉菌、大肠杆菌、念珠菌、克罗诺杆菌	[53,64]
克林霉素	C57BL/6小鼠	↑ TLR2、TLR8、TLR9、理研菌、普雷沃菌	[89]
辐照	C57BL/6小鼠	↑ 体重、肠绒毛、GSH、SOD、Lgr5+、Ki67、TER1、DMT1、Fe <sup>2+</sup> 、ACSL4 ↓ MDA、SOD、FPN、SLC7A11、GPX4	[72]
敲除鼠相关基因	<i>IL-18</i> <sup>-/-</sup> 小鼠	↑ NK细胞群、IL-18、IFN-α、IFN-β	[81]
	<i>LF</i> <sup>-/-</sup> 小鼠	↑ 肠绒毛生长、麦芽糖酶/乳糖酶活性、TJs	[54]
束缚应激	Wistar 大鼠	↑ 体重、IL-10、AMPK、LC3B、杯状细胞 ↓ 血清皮质醇、STAT3、mTOR	[62]
	BALB/c小鼠	↑ IgA、SIgA、IL-4、IL-10	[74-75]

续表1			
干预介质或方式	主要研究模型	生物效应	参考文献
NEC诱导	C57BL/6幼鼠	↑ Lgr5+、Ki67、β-catenin ↓ TNF-α、IL-6	[59]
	BALB/c小鼠	↑ MDSCs、LRP2、生存率	[85]
DON	BALB/c小鼠	↑ 体重、进食量、TJs; 肠道形态恢复 ↓ IL-1β、IL-8、TNF-α、IL-6、p-p38、p-ERK1/2	[96]
HFD	C57BL/6小鼠	↓ 体重、血糖、内脏脂肪比、TG、TC、LDL-C、厚壁菌门/拟杆菌门	[97]
大肠埃希菌O157:H7	C57BL/6小鼠	↑ 体重、生存率、肠绒毛结构、IL-10、TJs、MUC-1、TEER ↓ IL-1β、TNF-α、IL-6、炎症细胞浸润、FITC	[88]
LF饲喂	仔猪	↑ 生存率、体重、IgG、IgA、TGF-β、丁酸盐 ↓ IL-1β、IL-1α	[76,97]
ETEC	仔猪	↑ 肠液吸收 ↓ 细菌黏附、鞭毛蛋白	[94]
DSS*	C57BL/6小鼠	↑ 结肠长度、体重、IL-10、Treg细胞群 ↓ 肠黏膜损伤、组织学损伤评分、炎症细胞浸润、IL-1β、IFN-γ	[63,80]

注: \*.乳铁蛋白来源为人乳, 其余为牛乳。TEER.跨内皮电阻 (trans endothelial electrical resistance); 4-HNE. 4-羟基-2-壬烯醛 (4-hydroxynonenal); Relb.原癌基因蛋白; Bcl3.转录辅激活因子3 (transcription coactivator 3); CCL2.趋化因子配体2 (C-C motif chemokine ligand 2); MPO.髓过氧化物酶 (myeloperoxidase); SOD.超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase); FPN.铁泵蛋白 (ferroprotein); ERK.细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases); TC.血清总胆固醇 (total cholesterol); TG.甘油三酯 (triglyceride); LDL-C.低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol)。

4 结 语

肠道屏障将肠腔与机体内环境分离, 在预防和阻止全身炎症反应和免疫系统中起着重要作用。乳铁蛋白分布于机体体液中, 是哺乳动物分泌的天然活性蛋白, 通过改善肠道屏障功能障碍有效促进消化道健康, 帮助机体吸收营养物质, 增强免疫。随着“健康中国2030”战略的实施和肠道疾病年轻化的现状, 国民对肠道健康的关注度不断提升。近年来, 乳铁蛋白作为关键营养成分适用于婴幼儿、孕妇和老年人等特殊人群, 已添加到婴儿配方奶粉中辅助防治胃肠道疾病, 广泛应用于食品和医药领域中, 具有较深开发潜力。目前, 乳铁蛋白对肠道屏障的干预机制尚未完全阐明, 基于其独特的生理活性, 需联合多种肠道屏障探究乳铁蛋白的肠道靶向结合机制和转运机制, 深入了解乳铁蛋白在肠道损伤中的修复作用。

参考文献:

[1] INCZEFI O, BACSUR P, RESÁL T, et al. The influence of nutrition on intestinal permeability and the microbiome in health and disease[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 718710. DOI:10.3389/fnut.2022.718710.

[2] 庄国栋, 汤丹, 陈永生. 结合态多酚改善肠道氧化应激与肠道屏障的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(11): 440-448. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021070114.

- [3] THOO L, NOTI M, KREBS P. Keep calm: the intestinal barrier at the interface of peace and war[J]. *Cell Death & Disease*, 2019, 10(11): 849. DOI:10.1038/s41419-019-2086-z.
- [4] SUZUKI Y A, LOPEZ V, LÖNNERDAL B. Lactoferrin[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2005, 62(22): 2560. DOI:10.1007/s00018-005-5371-1.
- [5] 张雷, 王文利, 程智美, 等. 乳铁蛋白生理活性及作用机理研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(9): 388-395. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020060152.
- [6] 杨靖源, 蒙俊, 杨堃. 肠紧密连接蛋白与肠道屏障功能[J]. *医学综述*, 2022, 28(2): 235-239. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2022.02.005.
- [7] 龙振晔, 聂青和. 潘氏细胞及其抗微生物肽与肠道黏膜免疫[J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(3): 209-219. DOI:10.11569/wcjd.v25.i3.209.
- [8] WORTHINGTON J J, REIMANN F, GRIBBLE F M. Enteroendocrine cells-sensory sentinels of the intestinal environment and orchestrators of mucosal immunity[J]. *Mucosal Immunology*, 2018, 11(1): 3-20. DOI:10.1038/mi.2017.73.
- [9] 杨敏卉, 连思琪, 刘家奇, 等. 肠上皮细胞在动物肠黏膜免疫调节中的功能[J]. *中国兽医学报*, 2021, 41(3): 603-610. DOI:10.16303/j.cnki.1005-4545.2021.03.31.
- [10] 王金鑫, 谢胜, 黄茂光, 等. 肠紧密连接在溃疡性结肠炎中的作用及中药治疗进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(15): 249-255.
- [11] 易俊, 刘小伟. 炎症性肠病的肠道屏障功能研究进展[J]. *中华炎症肠病杂志*, 2019, 3(1): 41-44. DOI:10.3760/cma.j.issn.2096-367X.2019.01.008.
- [12] 程赛赛, 季金虎, 徐二华, 等. 溶菌酶对动物肠道屏障的影响及其在动物生产中的应用研究进展[J]. *饲料研究*, 2021, 44(19): 157-160. DOI:10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2021.19.034.
- [13] LUESCHOW S R, MCELROY S J. The paneth cell: the curator and defender of the immature small intestine[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 587. DOI:10.3389/fimmu.2020.00587.
- [14] 王华伟, 赵浩天, 蒋小芝, 等. 肠黏液层构成及其与相关疾病关系[J]. *肠外与肠内营养*, 2019, 26(1): 61-64.
- [15] RIVERA C A, LENNON-DUMÉNIL A M. Gut immune cells and intestinal niche imprinting[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2023, 150: 50-57. DOI:10.1016/j.semcdb.2023.01.006.
- [16] MCCARTHY N E, EBERL M. Human  $\gamma\delta$  T-cell control of mucosal immunity and inflammation[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 985. DOI:10.3389/fimmu.2018.00985.
- [17] 黄佳铭, 杨冬雪, 李晓曦, 等. 肠道黏膜免疫与炎症小体的研究进展[J]. *微生物与感染*, 2019, 14(2): 113-123. DOI:10.3969/j.issn.1673-6184.2019.02.007.
- [18] 岳宏宇, 丛春莉, 李艳梅. 肠道微生态与肠道疾病关系的研究进展[J]. *中国真菌学杂志*, 2020, 15(4): 240-243. DOI:10.3969/j.issn.1673-3827.2020.04.014.
- [19] CHEN Y Y, CUI W W, LI X, et al. Interaction between commensal bacteria, immune response and the intestinal barrier in inflammatory bowel disease[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 761981. DOI:10.3389/fimmu.2021.761981.
- [20] QU D W, WANG G, YU L L, et al. The effects of diet and gut microbiota on the regulation of intestinal mucin glycosylation[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 258: 117651. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.117651.
- [21] 吴田田, 宋光. 溃疡性结肠炎与肠道微生物群关系进展[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2020, 25(12): 1695-1698. DOI:10.3969/j.issn.1672-2159.2020.12.033.
- [22] ZHOU Y L, XU H M, XU J, et al. *F. prausnitzii* and its supernatant increase SCFAs-producing bacteria to restore gut dysbiosis in TNBS-induced colitis[J]. *AMB Express*, 2021, 11(1): 33. DOI:10.1186/s13568-021-01197-6.
- [23] GROVES M L. The isolation of a red protein from milk<sup>2</sup>[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1960, 82(13): 3345-3350. DOI:10.1021/ja01498a029.
- [24] IGLESIAS-FIGUEROA B F, ESPINOZA-SÁNCHEZ E A, SIQUEIROS-CENDÓN T S, et al. Lactoferrin as a nutraceutical protein from milk, an overview[J]. *International Dairy Journal*, 2019, 89: 37-41. DOI:10.1016/j.idairyj.2018.09.004.
- [25] SUPERTI F. Lactoferrin from bovine milk: a protective companion for life[J]. *Nutrients*, 2020, 12(9): 2562. DOI:10.3390/nu12092562.
- [26] MORENO-EXPÓSITO L, ILLESCAS-MONTES R, MELGUIZO-RODRÍGUEZ L, et al. Multifunctional capacity and therapeutic potential of lactoferrin[J]. *Life Sciences*, 2018, 195: 61-64. DOI:10.1016/j.lfs.2018.01.002.
- [27] MALACARNE M, MARTUZZI F, SUMMER A, et al. Protein and fat composition of mare's milk: some nutritional remarks with reference to human and cow's milk[J]. *International Dairy Journal*, 2002, 12(11): 869-877. DOI:10.1016/S0958-6946(02)00120-6.
- [28] VINCENZETTI S, POLIDORI P, MARIANI P, et al. Donkey's milk protein fractions characterization[J]. *Food Chemistry*, 2008, 106(2): 640-649. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.06.026.
- [29] 蔡俊娜, 张富新, 刘玉芳, 等. 羊乳蛋白质组成及消化特性[J]. *乳业科学与技术*, 2021, 44(3): 1-5. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2021.03.001.
- [30] ROSA L, CUTONE A, LEPANTO M S, et al. Lactoferrin: a natural glycoprotein involved in iron and inflammatory homeostasis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(9): 1985. DOI:10.3390/ijms18091985.
- [31] SINGH J, MAURYA A, SINGH P K, et al. A peptide bond from the inter-lobe segment in the bilobal lactoferrin acts as a preferred site for cleavage for serine proteases to generate the perfect C-lobe: structure of the pepsin hydrolyzed lactoferrin C-lobe at 2.28 Å resolution[J]. *The Protein Journal*, 2021, 40(6): 857-866. DOI:10.1007/s10930-021-10028-3.
- [32] ASHRAF M F, ZUBAIR D, BASHIR M N, et al. Nutraceutical and health-promoting potential of lactoferrin, an iron-binding protein in human and animal: current knowledge[J]. *Biological Trace Element Research*, 2024, 202(1): 56-72. DOI:10.1007/s12011-023-03658-4.
- [33] DIXON S J, STOCKWELL B R. The role of iron and reactive oxygen species in cell death[J]. *Nature Chemical Biology*, 2014, 10(1): 9-17. DOI:10.1038/nchembio.1416.
- [34] KARAV S, GERMAN J B, ROUQUIÉ C, et al. Studying lactoferrin N-glycosylation[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(4): 870. DOI:10.3390/ijms18040870.
- [35] BAKER E N, BAKER H M. A structural framework for understanding the multifunctional character of lactoferrin[J]. *Biochimie*, 2009, 91(1): 3-10. DOI:10.1016/j.biochi.2008.05.006.
- [36] LEGRAND D. Overview of lactoferrin as a natural immune modulator[J]. *The Journal of Pediatrics*, 2016, 173: S10-S15. DOI:10.1016/j.jpeds.2016.02.071.
- [37] IANIRO G, ROSA L, BONACCORSI DI PATTI M C, et al. Lactoferrin: from the structure to the functional orchestration of iron homeostasis[J]. *Biometals*, 2023, 36(3): 391-416. DOI:10.1007/s10534-022-00453-x.
- [38] FU J N, YANG L, TAN D H, et al. Iron transport mechanism of lactoferrin and its application in food processing[J]. *Food Science and Technology*, 2023, 43. DOI:10.1590/fst.121122.
- [39] HASCHKA D, HOFFMANN A, WEISS G. Iron in immune cell function and host defense[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2021, 115: 27-36. DOI:10.1016/j.semcdb.2020.12.005.



- [40] ABD EL-HACK M E, ABDELNOUR S A, KAMAL M, et al. Lactoferrin: Antimicrobial impacts, genomic guardian, therapeutic uses and clinical significance for humans and animals[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 164: 114967. DOI:10.1016/j.biopha.2023.114967.
- [41] DRAGO-SERRANO M E, DE LA GARZA-AMAYA M, LUNA J S, et al. Lactoferrin-lipopolysaccharide (LPS) binding as key to antibacterial and antiendotoxic effects[J]. International Immunopharmacology, 2012, 12(1): 1-9. DOI:10.1016/j.intimp.2011.11.002.
- [42] 王楠楠, 蔡婷婷, 朱婉萍. 乳铁蛋白抗菌作用研究进展[J]. 食品科技, 2020, 45(8): 233-237.
- [43] MOHAMED W A, SALAMA R M, SCHAAALAN M F. A pilot study on the effect of lactoferrin on Alzheimer's disease pathological sequelae: Impact of the p-Akt/PTEN pathway[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 111: 714-723. DOI:10.1016/j.biopha.2018.12.118.
- [44] DEMMELMAIR H, PRELL C, TIMBY N, et al. Benefits of lactoferrin, osteopontin and milk fat globule membranes for infants[J]. Nutrients, 2017, 9(8): 817. DOI:10.3390/nu9080817.
- [45] IIGO M, ALEXANDER D B, XU J G, et al. Inhibition of intestinal polyp growth by oral ingestion of bovine lactoferrin and immune cells in the large intestine[J]. Biometals, 2014, 27(5): 1017-1029. DOI:10.1007/s10534-014-9747-2.
- [46] CONESA C, BELLÉS A, GRASA L, et al. The role of lactoferrin in intestinal health[J]. Pharmaceutics, 2023, 15(6): 1569. DOI:10.3390/pharmaceutics15061569.
- [47] 卫生部. 食品营养强化剂使用卫生标准: GB 14880—2012[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [48] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品营养强化剂 乳铁蛋白: GB 1903.17—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [49] 张棚, 张海霞, 田晓静, 等. 乳铁蛋白生物活性及应用进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(13): 404-411. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020070367.
- [50] 中国医疗保健国际交流促进会营养与代谢管理分会. 乳铁蛋白临床应用中国专家共识[J]. 中华预防医学杂志, 2022, 56(12): 1694-1701. DOI:10.3760/cma.j.cn112150-20220704-00680.
- [51] SLIFER Z M, BLIKSLAGER A T. The integral role of tight junction proteins in the repair of injured intestinal epithelium[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(3): 972. DOI:10.3390/ijms21030972.
- [52] ZHAO X, XU X X, LIU Y, et al. The *in vitro* protective role of bovine lactoferrin on intestinal epithelial barrier[J]. Molecules, 2019, 24(1): 148. DOI:10.3390/molecules24010148.
- [53] WANG S L, ZHOU J Y, XIAO D, et al. Bovine lactoferrin protects dextran sulfate sodium salt mice against inflammation and impairment of colonic epithelial barrier by regulating gut microbial structure and metabolites[J]. Frontiers in Nutrition, 2021, 8: 660598. DOI:10.3389/fnut.2021.660598.
- [54] WANG W L, CHENG Z M, WANG X, et al. Lactoferrin, a critical player in neonate intestinal development: RHLF may be a good choice in formula[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(31): 8726-8736. DOI:10.1021/acs.jafc.1c03129.
- [55] MAJKA G, WIĘCEK G, ŚRÓTTEK M, et al. The impact of lactoferrin with different levels of metal saturation on the intestinal epithelial barrier function and mucosal inflammation[J]. Biometals, 2016, 29(6): 1019-1033. DOI:10.1007/s10534-016-9973-x.
- [56] GE P, LUO Y L, OKOYE C S, et al. Intestinal barrier damage, systemic inflammatory response syndrome, and acute lung injury: a troublesome trio for acute pancreatitis[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 132: 110770. DOI:10.1016/j.biopha.2020.110770.
- [57] RUDER B, ATREYA R, BECKER C. Tumour necrosis factor alpha in intestinal homeostasis and gut related diseases[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(8): 1887. DOI:10.3390/ijms20081887.
- [58] LIU J, ZHU H T, LI B, et al. Lactoferrin reduces necrotizing enterocolitis severity by upregulating intestinal epithelial proliferation[J]. European Journal of Pediatric Surgery, 2020, 30(1): 90-95. DOI:10.1055/s-0039-1693728.
- [59] HERING N A, LUETTIG J, KRUG S M, et al. Lactoferrin protects against intestinal inflammation and bacteria-induced barrier dysfunction *in vitro*[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2017, 1405(1): 177-188. DOI:10.1111/nyas.13405.
- [60] SAEZ A, HERRERO-FERNANDEZ B, GOMEZ-BRIS R, et al. Pathophysiology of inflammatory bowel disease: innate immune system[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(2): 1526. DOI:10.3390/ijms24021526.
- [61] NAKASE H, SATO N, MIZUNO N, et al. The influence of cytokines on the complex pathology of ulcerative colitis[J]. Autoimmunity Reviews, 2022, 21(3): 103017. DOI:10.1016/j.autrev.2021.103017.
- [62] ABDELMALAK M F L, ABDELRAHIM D S, GEORGE MICHAEL T M A, et al. Vitamin D and lactoferrin attenuate stress-induced colitis in Wistar rats via enhancing AMPK expression with inhibiting mTOR-STAT3 signaling and modulating autophagy[J]. Cell Biochemistry and Function, 2023, 41(2): 211-222. DOI:10.1002/cbf.3774.
- [63] HÅVERSEN L A, BALTZER L, DOLPHIN G, et al. Anti-inflammatory activities of human lactoferrin in acute dextran sulphate-induced colitis in mice[J]. Scandinavian Journal of Immunology, 2003, 57(1): 2-10. DOI:10.1046/j.1365-3083.2003.01162.x.
- [64] 孙二娜, 云战友, 金君华, 等. 铁饱和度对乳铁蛋白缓解溃疡性结肠炎作用的影响[J]. 中国食品学报, 2014, 14(10): 10-17.
- [65] LI C, MA D X, ZHOU H C, et al. Effects of different doses lipopolysaccharides on the mucosal barrier in mouse intestine[J]. Research in Veterinary Science, 2020, 133: 75-84. DOI:10.1016/j.rvsc.2020.09.005.
- [66] MOHAMMAD S, THIEMERMANN C. Role of metabolic endotoxemia in systemic inflammation and potential interventions[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 11: 594150. DOI:10.3389/fimmu.2020.594150.
- [67] ZHANG T, MA C, ZHANG Z Q, et al. NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer[J]. MedComm, 2021, 2(4): 618-653. DOI:10.1002/mco2.104.
- [68] BUEY B, BELLÉS A, LATORRE E, et al. Comparative effect of bovine buttermilk, whey, and lactoferrin on the innate immunity receptors and oxidative status of intestinal epithelial cells[J]. Biochemistry and Cell Biology, 2021, 99(1): 54-60. DOI:10.1139/bcb-2020-0121.
- [69] HU P, ZHAO F Z, WANG J, et al. Lactoferrin attenuates lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses and barrier impairment through the modulation of NF- $\kappa$ B/MAPK/Nrf2 pathways in IPEC-J2 cells[J]. Food & Function, 2020, 11(10): 8516-8526. DOI:10.1039/d0fo01570a.
- [70] LI C N, LIU X K, HUANG Z H, et al. Lactoferrin alleviates lipopolysaccharide-induced infantile intestinal immune barrier damage by regulating an ELAVL1-related signaling pathway[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(22): 13719. DOI:10.3390/ijms232213719.

- [71] WU H Y, FAN L L, GAO Y N, et al. The protective effects of iron free lactoferrin on lipopolysaccharide-induced intestinal inflammatory injury via modulating the NF- $\kappa$ B/PPAR signaling pathway[J]. *Foods*, 2022, 11(21): 3378. DOI:10.3390/foods11213378.
- [72] 郭雅馨, 徐加英, 卫蔚, 等. 乳铁蛋白通过调节铁死亡改善小鼠放射性肠损伤[J]. *中华疾病控制杂志*, 2023, 27(4): 465-470. DOI:10.16462/j.cnki.zhjbkz.2023.04.016.
- [73] TEZUKA H, OHTEKI T. Regulation of IgA production by intestinal dendritic cells and related cells[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 1891. DOI:10.3389/fimmu.2019.01891.
- [74] ARCINIEGA-MARTÍNEZ I M, CAMPOS-RODRÍGUEZ R, DRAGO-SERRANO M E, et al. Modulatory effects of oral bovine lactoferrin on the IgA response at inductor and effector sites of distal small intestine from BALB/c mice[J]. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2016, 64(1): 57-63. DOI:10.1007/s00005-015-0358-6.
- [75] PEÑA-JUÁREZ M C, CAMPOS-RODRÍGUEZ R, GODÍNEZ-VICTORIA M, et al. Effect of bovine lactoferrin treatment followed by acute stress on the IgA-response in small intestine of BALB/c mice[J]. *Immunological Investigations*, 2016, 45(7): 652-667. DOI:10.1080/08820139.2016.1202959.
- [76] SARKAR V K, DE U K, KALA A J, et al. Early-life intervention of lactoferrin and probiotic in suckling piglets: effects on immunoglobulins, intestinal integrity, and neonatal mortality[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2023, 15(1): 149-159. DOI:10.1007/s12602-022-09964-y.
- [77] KUBO S, MIYAKAWA M, TADA A, et al. Lactoferrin and its digestive peptides induce interferon- $\alpha$  production and activate plasmacytoid dendritic cells *ex vivo*[J]. *Biomaterials*, 2023, 36(3): 563-573. DOI:10.1007/s10534-022-00436-y.
- [78] YAN J B, LUO M M, CHEN Z Y, et al. The function and role of the Th17/Treg cell balance in inflammatory bowel disease[J]. *Journal of Immunology Research*, 2020, 2020(1): 8813558. DOI:10.1155/2020/8813558.
- [79] 马维江, 王平, 杨立民, 等. 辅助性T细胞17和调节性T细胞的免疫功能及其对非小细胞肺癌免疫调节作用的研究进展[J]. *肿瘤研究与临床*, 2020, 32(1): 66-69. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2020.01.015.
- [80] MACMANUS C F, COLLINS C B, NGUYEN T T, et al. VEN-120, a recombinant human lactoferrin, promotes a regulatory T cell[Treg] phenotype and drives resolution of inflammation in distinct murine models of inflammatory bowel disease[J]. *Journal of Crohn's & Colitis*, 2017, 11(9): 1101-1112. DOI:10.1093/ecco-jcc/jjx056.
- [81] KUHARA T, YAMAUCHI K, TAMURA Y, et al. Oral administration of lactoferrin increases NK cell activity in mice via increased production of IL-18 and type I IFN in the small intestine[J]. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2006, 26(7): 489-499. DOI:10.1089/jir.2006.26.489.
- [82] ZHANG Q, ZHAO H J, HUANG L Y, et al. Low-level Cu-fortification of bovine lactoferrin: focus on its effect on *in vitro* anti-inflammatory activity in LPS-stimulated macrophages[J]. *Current Research in Food Science*, 2023, 6: 100520. DOI:10.1016/j.crfs.2023.100520.
- [83] CUTONE A, ROSA L, LEPANTO M S, et al. Lactoferrin efficiently counteracts the inflammation-induced changes of the iron homeostasis system in macrophages[J]. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: 705. DOI:10.3389/fimmu.2017.00705.
- [84] HE Y M, LI X, PEREGO M, et al. Transitory presence of myeloid-derived suppressor cells in neonates is critical for control of inflammation[J]. *Nature Medicine*, 2018, 24(2): 224-231. DOI:10.1038/nm.4467.
- [85] LIU Y F, PEREGO M, XIAO Q, et al. Lactoferrin-induced myeloid-derived suppressor cell therapy attenuates pathologic inflammatory conditions in newborn mice[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2019, 129(10): 4261-4275. DOI:10.1172/JCI128164.
- [86] 孙晶, 张昊, 郭慧媛, 等. 乳铁蛋白抑菌功能的研究进展[J]. *中国乳业*, 2012(10): 38-41. DOI:10.3969/j.issn.1671-4393.2012.10.012.
- [87] SEYOUM Y, BAYE K, HUMBLLOT C. Iron homeostasis in host and gut bacteria: a complex interrelationship[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1-19. DOI:10.1080/19490976.2021.1874855.
- [88] ZHANG H W, HUA R, ZHANG B X, et al. Oral administration of bovine lactoferrin-derived lactoferricin (Ifcin) B could attenuate enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 induced intestinal disease through improving intestinal barrier function and microbiota[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(14): 3932-3945. DOI:10.1021/acs.jafc.9b00861.
- [89] BELLÉS A, AGUIRRE-RAMÍREZ D, ABAD I, et al. Lactoferrin modulates gut microbiota and Toll-like receptors (TLRs) in mice with dysbiosis induced by antibiotics[J]. *Food & Function*, 2022, 13(10): 5854-5869. DOI:10.1039/d2fo00287f.
- [90] MAZZARELLA G, PERNA A, MARANO A, et al. Pathogenic role of associated adherent-invasive *Escherichia coli* in Crohn's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2017, 232(10): 2860-2868. DOI:10.1002/jcp.25717.
- [91] FRIONI A, CONTE M P, CUTONE A, et al. Lactoferrin differently modulates the inflammatory response in epithelial models mimicking human inflammatory and infectious diseases[J]. *Biomaterials*, 2014, 27(5): 843-856. DOI:10.1007/s10534-014-9740-9.
- [92] BERTUCCINI L, COSTANZO M, IOSI F, et al. Lactoferrin prevents invasion and inflammatory response following *E. coli* strain LF82 infection in experimental model of Crohn's disease[J]. *Digestive and Liver Disease*, 2014, 46(6): 496-504. DOI:10.1016/j.dld.2014.02.009.
- [93] LEPANTO M S, ROSA L, CUTONE A, et al. Bovine lactoferrin pre-treatment induces intracellular killing of AIEC LF82 and reduces bacteria-induced DNA damage in differentiated human enterocytes[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(22): 5666. DOI:10.3390/ijms20225666.
- [94] DIERICK M, ONGENA R, VANROMPAY D, et al. Lactoferrin decreases enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced fluid secretion and bacterial adhesion in the porcine small intestine[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(9): 1778. DOI:10.3390/pharmaceutics14091778.
- [95] DIERICK M, VAN DER WEKEN H, RYBARCZYK J, et al. Porcine and bovine forms of lactoferrin inhibit growth of porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* and degrade its virulence factors[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(24): e00524-e00520. DOI:10.1128/AEM.00524-20.
- [96] HU P, ZONG Q F, ZHAO Y H, et al. Lactoferrin attenuates intestinal barrier dysfunction and inflammation by modulating the MAPK pathway and gut microbes in mice[J]. *The Journal of Nutrition*, 2022, 152(11): 2451-2460. DOI:10.1093/jn/nxac200.
- [97] LI L, MA C L, HURILEBAGEN, et al. Effects of lactoferrin on intestinal flora of metabolic disorder mice[J]. *BMC Microbiology*, 2022, 22(1): 181. DOI:10.1186/s12866-022-02588-w.