

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2026.06.012

牛乳铁蛋白肽对肠道肿瘤的抑制作用

郑欣雨, 肖桂然

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:牛乳铁蛋白肽(LfcinB)是由牛乳铁蛋白水解产生的一种天然抗菌肽,已被证实具有抗菌、抗肿瘤和抗病毒等多种功效。近年来,果蝇已成为研究肿瘤诱导宿主消耗的理想模型。文章利用经典模式生物果蝇肠道中过表达活化的转录因子 yki^{3SA} (人体 YAP1 同源物),诱导肠道干细胞过度增殖构建肠道恶性肿瘤模型,探究 LfcinB 对恶性肿瘤的影响。结果发现,LfcinB 能够显著延长 yki^{3SA} 诱导的肠道肿瘤果蝇模型的寿命,并改善由肿瘤导致的腹部肿胀、肠道形态异常和肠道通透性损伤。研究表明,LfcinB 在预防和治疗肿瘤方面具有潜在应用价值和指导意义。

关键词:果蝇;牛乳铁蛋白肽(LfcinB);肿瘤;肠道

中图分类号:Q74

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2026)06-0801-05

Inhibitory effect of bovine lactoferricin on intestinal tumor

ZHENG Xinyu, XIAO Guiran

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: Bovine lactoferricin(LfcinB) is a natural antimicrobial peptide produced by the hydrolysis of bovine lactoferrin. It has been proven to have antibacterial, anti-tumor and anti-viral effects. *Drosophila melanogaster* has recently emerged as an ideal model for studying tumor-induced host depletion. In this study, yki^{3SA} (human YAP1 homolog) was overexpressed in the gut of the classic *Drosophila melanogaster* model to induce the overproliferation of intestinal stem cells to construct an intestinal malignant tumor model, and the effect of LfcinB on malignant tumors was investigated. It is found that LfcinB can significantly prolong the life span of the yki^{3SA} -induced intestinal tumor *Drosophila melanogaster* model. It can also improve abdominal swelling, abnormal intestinal morphology and intestinal permeability injury caused by tumors. Taken together, this work demonstrates the potential application and guiding significance of LfcinB in the prevention and treatment of tumors.

Key words: *Drosophila melanogaster*; bovine lactoferricin(LfcinB); tumor; intestine

0 引言

肿瘤诱导的宿主器官损耗是脊椎动物和无脊椎动物的普遍现象,晚期癌症患者经常出现严重的器官消耗,被称为癌症恶病质(cancer cachexia, CC)^[1]。癌症恶病质是一类复杂的代谢综合征,包括肌肉消耗、脂肪消耗、非计划的体质量下

降、厌食和免疫功能破坏等^[2]。恶病质可显著降低肿瘤患者的抗肿瘤治疗疗效,增加治疗不良反应,加重患者的症状负担,影响患者的生活质量,并最终缩短患者的生存时间。恶病质在肿瘤患者中的发病率为 50%~80%,最常见于肺癌和消化系统肿瘤^[3],而发生恶病质的癌症患者死亡率可高达 80%。临床上多应用于激素药物进行治疗,

收稿日期:2024-03-19;修回日期:2024-04-10

基金项目:安徽省重点研究与开发计划资助项目(202201020007)

作者简介:郑欣雨(1999—),女,安徽合肥人,合肥工业大学硕士生;

肖桂然(1988—),女,山东邹城人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师,通信作者,E-mail: xiaoguiran.101@163.com.

但其副作用大,因此寻找绿色高效的替代性药物意义重大。CC 的发病机理不明,目前缺乏有效的治疗手段,因此癌症恶液质也被评为“人类最后的疾病”。

乳铁蛋白(LF)是大多数哺乳动物外分泌物转铁蛋白家族中的一种 80 kDa 的铁结合糖蛋白,主要存在于牛奶和其他外分泌分泌物中,具有广谱抗菌特性,同时还具有抗氧化、抗癌、调节免疫系统等功能。2012 年,LF 已被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)、欧洲食品安全局以及中国相关监管机构批准作为食品中的一种膳食补充剂。

牛乳铁蛋白肽(LfcinB)是一种由乳铁蛋白在酸性条件下经胃蛋白酶水解产生的含 25 个氨基酸残基的阳离子抗菌肽^[4],这些氨基酸残基通过分子内的二硫键形成扭曲的反平行 β 折叠结构^[5],使其生物活性强于乳铁蛋白,具有更强的抗菌能力^[6],因此可以作为一种天然、安全、有效的抗菌肽。随着对 LfcinB 的深入研究,发现其具有抗病毒、缓解炎症、调节免疫反应等多种生物活性^[7-9]。有研究报道 LfcinB 具有抗肿瘤活性^[10],能够诱导人胃癌细胞凋亡、抑制小鼠淋巴瘤转移,但机制并不明确。

果蝇是遗传和发育研究中重要的模式生物之一,其特点是生长发育周期短、饲养方便、遗传背景清晰。与哺乳动物一样,果蝇的器官是专门的和整合的,果蝇具有与人类消化道、性腺、肝脏和脂肪组织、肌肉、大脑等器官功能相似的组织和器官,其中肠与哺乳动物小肠类似,马氏管与哺乳动物肾脏类似^[11]。因此,果蝇被应用于研究帕金森、阿尔兹海默症、炎症等多种疾病,并取得显著成果。近年来,果蝇成为研究肿瘤诱导宿主消耗的理想模型。*Yki*^{3SA} 是果蝇中人类原癌基因 YAP1 的同源基因,利用遗传技术在果蝇肠道干细胞(intestinal stem cells,ISCs)中诱导活化形式的 *yki*^{3SA} 表达,导致肠道干细胞过度增殖,形成肠道肿瘤,可完整地模拟癌症恶病质的表型,包括肌肉功能障碍、脂质损失、高血糖和死亡率^[12]等。本研究借助此模型,从营养的角度探究 LfcinB 对肠道肿瘤的影响,研究结果可为恶性肿瘤的预防与治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

本文所用果蝇品系 w^{1118} 、*esg*-GAL4、*tub*-

GAL80^{ts}、UAS-*yki*^{3SA} 均来自维也纳果蝇资源中心;亮蓝(#3844-45-9)购于上海麦克林生化科技股份有限公司;LfcinB(#070685)购于上海楚肽生物科技有限公司;PBS 缓冲液(#E607020)购于生工生物工程(上海)股份有限公司;多聚甲醛(#80096618)购于国药集团化学试剂有限公司。

所用仪器主要有:Ti2 倒置荧光显微镜(尼康仪器(上海)有限公司);B600 数码相机(尼康仪器(上海)有限公司);SZ660 体视显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司);HWS 型恒温恒湿培养箱(宁波江南仪器厂)。

1.2 果蝇培养条件

本研究中果蝇在 18 °C 恒温、相对湿度 60% 的培养箱中进行杂交,果蝇寿命统计和肿瘤诱导阶段培养箱饲养条件均为 29 °C 恒温、相对湿度 60%。果蝇食物为实验室专用标准玉米培养基,牛乳铁蛋白肽培养基是在标准玉米培养基中加入浓度 30 mmol/L 的 LfcinB 溶液。

1.3 果蝇肠道肿瘤模型的构建

挑出同一天羽化的 UAS-*yki*^{3SA} 雄性果蝇、*esg*-GAL4 和 *tub*-GAL80^{ts} 雌性处女蝇,置于正常培养基或牛乳铁蛋白肽培养基上进行杂交,果蝇在 18 °C 恒温、60% 相对湿度的培养箱中进行杂交。待子代羽化后,挑选出雌性处女蝇,在 18 °C 中保持 4 d,使肠道稳定,再转入 29 °C 培养箱中诱导肿瘤基因表达,各指标在 11 d 后测量。

1.4 果蝇寿命测定

羽化后的成蝇在 18 °C 培养箱中放置 4 d 后,将已经饥饿脱水 2 h 的成蝇先用 CO₂ 麻醉,每组挑选 20 只,使用细毛刷轻轻将果蝇扫入正常培养基或牛乳铁蛋白肽培养基中,置于 29 °C 培养箱中培养。每 24 h 将果蝇转移至新的培养基中,并统计果蝇的存活率,每组至少 5 管独立实验,实验重复至少 3 次。

1.5 果蝇腹胀程度测定

挑选各组果蝇,用 CO₂ 气体麻醉后将果蝇置于相机下拍照记录,观测各组腹胀程度,每组至少 5 只独立实验,实验重复至少 3 次。

1.6 果蝇肠道形态和通透性测定

将各组果蝇在 1×PBS 中解剖,立即在荧光显微镜下观察并记录肠道形态,每组至少 5 只独立实验,实验重复至少 3 次。

为了评价添加 LfcinB 对肠道通透性的影响,本实验将各组果蝇分别饲喂添加 LfcinB (30 mmol/L) 膳食(LF 组)和正常食物(normal food, NF)。将

亮蓝按照 0.025 g/mL 的质量浓度溶于培养基中,待检测的果蝇成虫先用二氧化碳麻醉,转移到空管内饥饿 2 h,再喂食亮蓝培养基,喂食 7 d 后拍照记录,每组至少 5 只独立实验,实验重复至少 3 次。

1.7 果蝇肠道荧光成像

收集 11 d 果蝇成虫,在 $1\times$ PBS 中解剖果蝇肠道,然后用 4% 多聚甲醛室温固定 10 min,再使用 $1\times$ PBS 放于摇床上洗 3 次,每次 8 min,清除残余的多聚甲醛。在载玻片上滴几滴 $1\times$ PBS,将清理完成的肠道放置在载玻片上,使用荧光显微镜拍摄成像记录,每组至少 5 只独立实验,实验重复至少 3 次。

1.8 数据统计与分析

每组实验重复 3 次及以上,数据分析采用软件 GraphPad 的 One way ANOVA 检验,并进行组间比较和多组间的单因素方差分析。统计结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。NS 表示无显著性差异; * 表示 $P<0.05$; * * 表示 $P<0.01$; * * * 表示 $P<0.001$; * * * * 表示 $P<0.0001$ 。

2 结果与分析

2.1 LfcinB 对果蝇寿命的影响

在果蝇肠道中过表达活化的转录因子 yki^{3SA} (人体 YAP1 同源物),诱导肠道干细胞过度增殖构建肠道恶性肿瘤模型,其寿命会明显缩短。因此,本文研究了 LfcinB 对肿瘤果蝇寿命的影响,结果如图 1 所示。

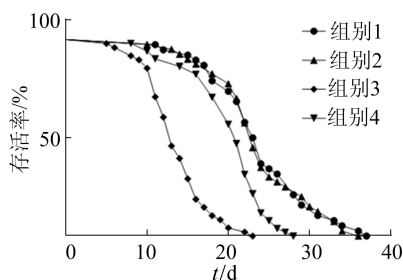


图 1 LfcinB 对果蝇寿命的影响

图 1 中:组别 1 表示 $esg\times w1118$ NF;组别 2 表示 $esg\times w1118$ LF;组别 3 表示 $esg\times yki$ NF;组别 4 表示 $esg\times yki$ LF。下同。为了研究 LfcinB 对果蝇寿命的影响,将各组果蝇在标准玉米培养基或牛乳铁蛋白肽培养基上饲养。由图 1 可知:正常果蝇可以活到 38 d,添加 LfcinB 不会对正常果蝇的寿命造成影响;肿瘤果蝇在 20 d 时大

部分死亡,存活率为 50% 时肿瘤果蝇中期寿命为 15 d,而添加 LfcinB 后延长到 21 d。说明 LfcinB 可以延长肿瘤果蝇的寿命。

2.2 LfcinB 对果蝇肠道肿瘤的影响

在转录因子 yki^{3SA} 诱导肠道干细胞过度增殖的恶性肿瘤模型中,绿荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 可以标记肠道肿瘤,绿色荧光强度反映肠道肿瘤生长情况,荧光强度越强肿瘤越严重,如图 2 所示。

由图 2 可知, LfcinB 不会对正常果蝇的肠道产生影响,肿瘤果蝇在喂食 LfcinB 后肠道肿瘤相对荧光强度显著降低,说明膳食中添加 LfcinB 能够明显抑制肿瘤生长。

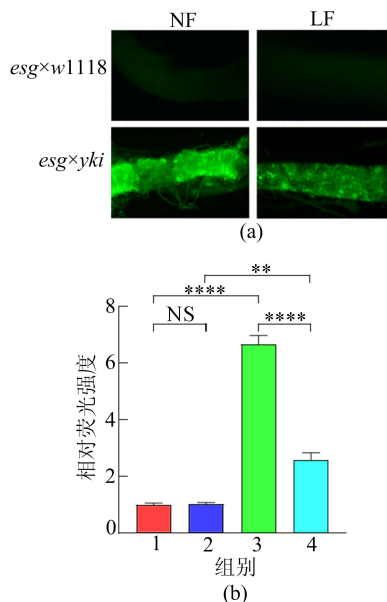
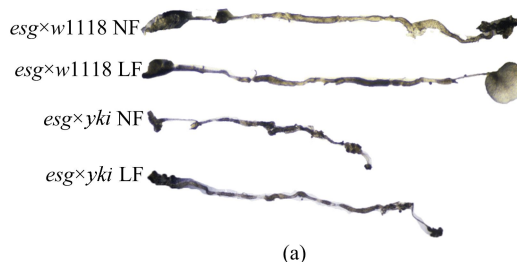


图 2 LfcinB 对果蝇肠道肿瘤的影响

2.3 LfcinB 对果蝇肠道形态的影响

Yki^{3SA} 诱导的肠道肿瘤会引起肠道形态的改变,如图 3 所示。

从图 3 可以看出: LfcinB 不会对正常果蝇的肠道长度产生影响;对于肿瘤果蝇,膳食添加 LfcinB 相较于正常食物,果蝇肠道长度增加了 21%。因此, LfcinB 能显著挽救肠道肿瘤导致的肠道形态损伤。



(a)

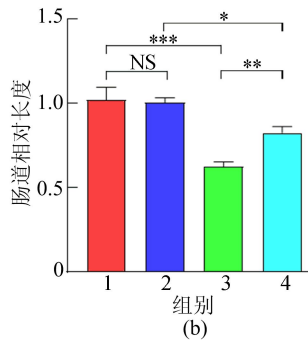


图 3 LfcinB 对果蝇肠道形态和肠道长度的影响

2.4 LfcinB 对果蝇腹胀程度的影响

肠道恶性肿瘤还会诱导果蝇全身器官消耗,表现为腹部肿胀。拍摄果蝇腹部图片,比较各组腹胀程度,探究 LfcinB 对肿瘤果蝇腹胀表型的挽救效果,实验结果如图 4 所示,图 4 中每组实验至少 6 只果蝇($n \geq 6$)。

从图 4 可以看出:正常果蝇中 NF 组和 LF 组腹胀程度没有显著差异,说明喂食 LfcinB 不会对正常果蝇造成影响;肿瘤果蝇 NF 组腹部肿胀明显,喂食 LfcinB 可以显著缓解肿瘤果蝇的腹胀程度,说明 LfcinB 能够显著改善肠道肿瘤模型果蝇的腹胀表型。

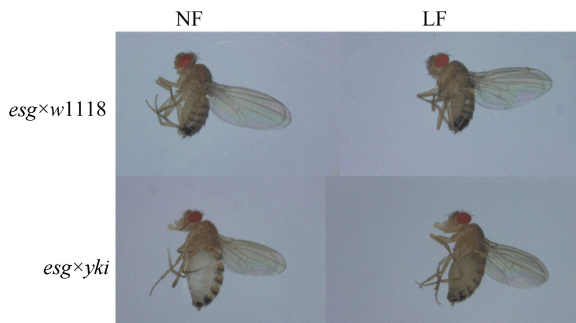


图 4 LfcinB 对果蝇腹胀程度的影响

2.5 LfcinB 对果蝇肠道通透性的影响

果蝇肠道屏障功能的丧失可以通过亮蓝的不可吸收蓝色食用染料检测,当肠道通透性增加时,亮蓝会透过肠上皮从而浸染全身。为了研究 LfcinB 在维持肠道屏障完整性方面的作用,本文使用亮蓝实验评估果蝇的肠道完整性,结果如图 5 所示,每组实验至少 6 只果蝇($n \geq 6$)。

由图 5 可知,与正常果蝇 NF 组相比,肿瘤果蝇身体蓝色染色增加,而膳食补充 LfcinB 后,肿瘤果蝇身体蓝色染色程度明显下降。结果表明, LfcinB 对肠道肿瘤引起的肠道屏障损伤具有保护作用。

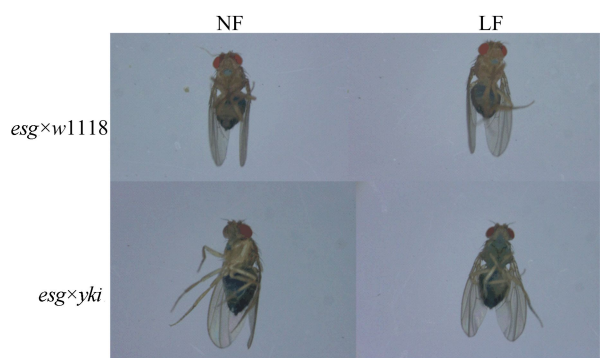


图 5 LfcinB 对果蝇肠道通透性的影响

3 结 论

本文以果蝇为模式生物,利用遗传技术在果蝇肠道干细胞(ISCs)中诱导活化形式的 yki^{3SA} 表达,从而导致肠道干细胞的过度增殖;并建立恶性肠道肿瘤模型,通过膳食中添加 LfcinB 来评估其对肿瘤的抑制作用。

实验结果表明,在膳食中添加 LfcinB 不会对正常果蝇产生影响,喂食 LfcinB 可以延长肿瘤果蝇的寿命,使其肿瘤生长受到抑制,肠道萎缩情况得以缓解,腹胀程度明显改善,肠道屏障损伤得到保护。因此, LfcinB 对恶性肠道肿瘤具有抑制作用。

本研究为 LfcinB 的抗肿瘤生物活性提供有力证据,为利用天然物质预防和治疗肠道肿瘤提供了有益参考。研究结果为研究肿瘤治疗提供了新的思路,同时也为开发更有效的肿瘤治疗药物奠定了基础。

[参 考 文 献]

- [1] FIGUEROA-CLAREVEGA, BILDER D. Malignant *Drosophila* tumors interrupt insulin signaling to induce cachexia-like wasting[J]. *Developmental Cell*, 2015, 33(1): 47-55.
- [2] 荣秀梅,王甦. 癌症恶病质的研究进展[J]. *临床医药文献杂志(电子版)*, 2017, 4(74): 14645-14647, 14649.
- [3] LEE J, NG K G L, DOMBEK K M, et al. Tumors overcome the action of the wasting factor ImpL2 by locally elevating Wnt/Wingless[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2021, 118(23): e2020120118.
- [4] 吴存兵,吴君艳,王彬. 牛乳铁蛋白素的研究与应用[J]. *饲料研究*, 2016(23): 29-33.
- [5] PEI J, XIONG L, BAO P J, et al. Secondary structural transformation of Bovine Lactoferricin affects its antibacterial activity [J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2020, 13(3): 1-12.

(下转第 812 页)

- 象建筑物分级提取方法[J]. 航天返回与遥感, 2023, 44(4): 88-102.
- [8] 韩东成, 杨世植, 赵强, 等. 面向对象的高分辨率遥感影像建筑物信息提取[J]. 大气与环境光学学报, 2021, 16(4): 358-364.
- [9] 杨杰, 高伟, 段茜茜, 等. 面向对象的特征自动选择的建筑物信息提取[J]. 遥感信息, 2021, 36(2): 130-135.
- [10] HUI Z, LI Z, CHENG P, et al. Building extraction from airborne LiDAR data based on multi-constraints graph segmentation[J]. Remote Sensing, 2021, 13(18): 3766.
- [11] WU B, WU S, LI Y, et al. Automatic building rooftop extraction using a digital surface model derived from Aerial-Stereo images[J]. Journal of Spatial Science, 2022, 67(1): 21-40.
- [12] 胡同喜, 牛雪峰, 谭洋, 等. 基于 SURF 算法的无人机遥感影像拼接技术[J]. 测绘通报, 2015(1): 55-58, 74.
- [13] SANDEEP K, SURESH N L S. Remote sensing scene type classification using multi-trial vector-based differential evolution algorithm and multi-support vector machine classifier[J]. International Journal of e-Collaboration (IJeC), 2022, 18(1): 1-20.
- [14] YUAN W, WANG J, XU W B. Shift Pooling PSPNet: rethinking PSPNet for building extraction in remote sensing images from entire local feature pooling[J]. Remote Sensing, 2022, 14(19): 4889-4889.
- [15] WANG Y H, GAO L R, HONG D F, et al. Mask DeepLab: end-to-end image segmentation for change detection in high-resolution remote sensing images[J]. International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation, 2021, 104: 102582.
- [16] 何直蒙, 丁海勇, 安炳琪. 高分辨率遥感影像建筑物提取的空洞卷积 E-Unet 算法[J]. 测绘学报, 2022, 51(3): 457-467.
- [17] 古煜民, 阎福礼. 基于不同骨架 UNet++ 网络的建筑物提取[J]. 中国科学院大学学报, 2022, 39(4): 512-523.
- [18] 李传林, 黄风华, 胡威, 等. 基于 Res.AttentionUnet 的高分辨率遥感影像建筑物提取方法[J]. 地球信息科学学报, 2021, 23(12): 2232-2243.
- [19] 李彦冬, 郝宗波, 雷航. 卷积神经网络研究综述[J]. 计算机应用, 2016, 36(9): 2508-2515, 2565.

(责任编辑 吴 亮)

(上接第 804 页)

- [6] HUERTAS MÉNDEZ N D J, VARGAS CASANOVA Y, GÓMEZ CHIMBI A K, et al. Synthetic peptides derived from Bovine Lactoferricin exhibit antimicrobial activity against *E. coli* ATCC 11775, *S. maltophilia* ATCC 13636 and *S. enteritidis* ATCC 13076[J]. Molecules, 2017, 22(3): 452.
- [7] XU R, ZHAO X Y, GUO S, et al. Effect of loop structure of Bovine Lactoferricin on *Escherichia coli* [J]. Advances in Food Science and Engineering, 2018, 2(4): 110-114.
- [8] YAN W, HO J, MING T, et al. Bovine Lactoferrampin, human lactoferricin, and lactoferrin 1-11 inhibit nuclear translocation of HIV integrase[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2016, 179(7): 1202-1212.
- [9] SADIQ I Z, BABAGANA K B, DANLAMI D, et al. Molecular therapeutic cancer peptides: a closer look at Bovine Lactoferricin[J]. Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology, 2018, 1(2): 1-9.
- [10] JIANG R L, LÖNNERDAL B. Bovine lactoferrin and lactoferricin exert antitumor activities on human colorectal cancer cells (HT-29) by activating various signaling pathways[J]. Biochemistry and Cell Biology, 2017, 95(1): 99-109.
- [11] 霍桂桃, 吕建军, 屈哲, 等. 果蝇在肿瘤学研究中的优势及应用前景[J]. 遗传, 2014, 36(1): 30-40.
- [12] DING G, XIANG X, HY Y, et al. Coordination of tumor growth and host wasting by tumor-derived Upd3[J]. Cell Reports, 2021, 36(7): 109553.

(责任编辑 闫杏丽)