DOI:10.12441/spyswjs.20250225003 [文章编号] 1673-1689(2025)05-0146-15

乳铁蛋白调制乳粉的营养成分与免疫功能

周梦莹[1] 郑柳杰[1] 姚瑞卿[2] 吴红宇[2] 胡钢亮[2] 霍正泉[3] 倪银华[1*]

(1. 浙江工业大学生物工程学院,浙江 杭州 310014; 2. 杭州千岛湖康诺邦健康产品有限公司,浙江 杭州 311701; 3. 浙江忠梦昌健康科技股份有限公司,浙江 杭州 310015)

摘要:【目的】探讨乳铁蛋白(Lactoferrin,LF)调制乳粉及其所含的α-乳白蛋白、*N*-乙酰神经氨酸、酵母-β葡聚糖和乳铁蛋白4种营养成分对RAW264.7巨噬细胞的免疫调节机制。**【方法】**利用LPS和IL-4诱导M1/M2型巨噬细胞极化,并采用实时荧光定量PCR、流式细胞术和Western blot分析其对巨噬细胞极化及相关信号通路的影响。**【结果】**乳铁蛋白调制乳粉可促进巨噬细胞吞噬活性,在10~50 μg/mL范围内剂量依赖性降低M1型极化并促进M2型极化。含4种营养成分的组合亦具类似作用,且优于3种成分组合。此外,乳铁蛋白调制乳粉可促进抗原呈递相关分子并提高抗氧化酶的活性,并通过抑制MAPK/NF-κB和增强Akt/STAT6通路调节M1/M2型巨噬细胞极化,改善炎症水平。**【结论】**乳铁蛋白调制乳粉通过调控巨噬细胞极化来发挥免疫调节作用。

关键词:乳铁蛋白;营养成分;巨噬细胞;M1/M2极化;免疫调节

Nutritional Components and Immunoregulatory Mechanisms of Lactoferrin Formula

ZHOU Mengying[1] *ZHENG Liujie*[1] *YAO Ruiqing*[2] *WU Hongyu*[2] *HU Gangliang*[2] *HUO Zhengquan*[3] *NI Yinhua*[1*]

(1. College of Biotechnology and Bioengineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2. Hangzhou Qiandaohu Canobank Health Products Co., Ltd., Hangzhou 311701, China; 3. Zhejiang Zhongmengchang Health Technology Co., Ltd., Hangzhou 310015, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to investigate the immunoregulatory mechanisms of lactoferrin formula and its four nutritional components (α-lactalbumin, *N*-acetylneuraminic acid, yeast β-glucan, and lactoferrin) in RAW264.7 macrophages. [**Method**] M1 and M2 macrophage polarization were induced by lipopolysaccharides (LPS) and interleukin (IL)-4, respectively. Quantitative real-time PCR, flow cytometry, and Western blot were employed to analyze macrophage polarization and related signaling pathways. [**Result**] Lactoferrin formula enhanced the phagocytic activity of macrophages and dose-dependently inhibited M1 polarization while promoting M2 polarization within the range of 10~50 μg/mL. A combination of four nutritional components exhibited similar effects, with greater effects than the three-component combination. Additionally, the lactoferrin formula upregulated antigen-presenting molecules and antioxidant enzyme activity. It modulated macrophage polarization by inhibiting the mitogen-activated protein kinase (MAPK)/nuclear factor (NF)-κB pathway and activating the protein kinase B (Akt)/signal transducer and activator of transcription 6 (STAT6) pathway, thereby alleviating inflammation. [**Conclusion**] Lactoferrin formula exerts immunoregulatory effects by modulating macrophage polarization.

Keywords: lactoferrin; nutritional component; macrophage; M1/M2 polarization; immune regulation

通信作者:倪银华(1985—),男,博士,副教授,博士研究生导师,主要从事生物活性物质开发和慢病防治研究。E-mail: shali0145@zjut.edu.cn

收稿日期:2025-02-25 **修回日期:**2025-04-10

乳铁蛋白是一种具有多种生物活性的铁载体蛋白质，广泛存在于乳汁、唾液、眼泪等外分泌液中[1]，并参与铁代谢和免疫调节。近年来，乳铁蛋白因其多样的免疫调节功能而备受关注。乳铁蛋白能通过增加自然杀伤细胞数量和白细胞活力[2-3]、增强巨噬细胞的功能、促进树突细胞成熟[4]、激活抗原递呈细胞[5]、调节细胞因子的分泌[6]等方式直接调节免疫功能，还能以其抗细菌性[7]、抗病毒性[8]、抗氧化性[9]、抗炎症性间接调节免疫功能。乳铁蛋白调制乳粉中所含的α-乳白蛋白可调节神经递质与免疫应答，*N*-乙酰神经氨酸可参与细胞识别与信号传导以增强免疫功能，酵母-β葡聚糖可激活免疫细胞提升免疫防御能力[10-12]。此外，乳铁蛋白调制乳粉还含有蛋白质、脂肪、碳水化合物、钠元素、牛磺酸、乳清蛋白粉和蛋黄球蛋白粉等多种成分，这些成分可能与乳铁蛋白产生协同作用，共同调节免疫功能[13-17]。然而，乳铁蛋白及其调制乳粉在免疫调节中的具体分子机制尚未完全阐明，深入研究其作用机制对于开发新型免疫调节功能食品具有重要意义。

巨噬细胞是机体免疫系统中的重要成分，充当固有免疫和适应性免疫的重要角色。巨噬细胞不仅参与炎症反应的调节、异物的清除和抗原的呈递，还能通过极化过程改变其表型和功能，从而影响免疫应答[18-19]。巨噬细胞的极化状态主要分为两种：经典激活的M1促炎细胞和替代激活的M2抗炎细胞[20]。M1型巨噬细胞通常由Th1型细胞因子如IFN-γ、GM-CSF或脂多糖（Lipopolysaccharide，LPS）激活，产生促炎细胞因子，发挥促炎和杀菌的功能；而M2型巨噬细胞则通过IL-4和IL-13等Th2型细胞因子激活，主要发挥抗炎、组织修复和免疫调节功能[18]。此外，巨噬细胞还能向T细胞提呈抗原，并诱导抗原呈递细胞表达共刺激分子，从而启动适应性免疫反应[21]。研究表明，乳铁蛋白直接与抗原呈递细胞相互作用的能力可能对乳铁蛋白调制乳粉的免疫调节特性起关键作用[22]。因此，深入研究巨噬细胞的极化机制及其与乳铁蛋白调制乳粉的相互作用，有助于揭示乳铁蛋白调制乳粉的免疫调节机制。

在免疫调节和炎症反应中，核因子-κB（NF-κB）/丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）和激活因子6（STAT6）/蛋白激酶B（Akt）信号通路均发挥着至关重要的作用。NF-κB/MAPK信号通路通过介导促炎因子表达，在巨噬细胞向促炎M1型极化过程中起关键作用[23]。同时，STAT6/Akt信号通路在巨噬细胞吞噬活性和极化中也发挥重要作用，通过调控细胞因子和生长因子的分泌，促进巨噬细胞向抗炎M2型极化[24-27]。乳铁蛋白调制乳粉可能通过调控上述信号通路，参与免疫调节。

研究表明乳铁蛋白调制乳粉在减轻炎症和调节免疫代谢方面具有显著作用，但其具体作用机制尚未完全阐明。因此，作者探讨乳铁蛋白调制乳粉及其4种营养成分对RAW264.7巨噬细胞免疫调节的影响及其作用机制。采用LPS和IL-4分别诱导M1和M2型巨噬细胞极化模型，来研究乳铁蛋白调制乳粉的免疫调节作用。该研究可以为深入了解乳铁蛋白调制乳粉在提升免疫力中的作用机制提供参考，以及为添加乳铁蛋白调制乳粉的相关功能食品的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小鼠巨噬细胞RAW264.7细胞系、胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）和胰酶：上海传秋生物科技有限公司；青霉素和链霉素：美国Thermo Fisher Scientific公司；DMEM培养基：上海逍鹏生物科技有限公司；噻唑蓝（methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide，MTT）：纯度>98%，武汉赛维尔生物科技有限公司；中性红细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒和BCA蛋白质定量试剂盒：上海碧云天生物技术股份有限公司；LPS和IL-4：纯度>97%，美国Sigma-Aldrich公司；Phycoerythrin（PE）-conjugated CD11c：美国eBioscience公司；BV421-conjugated CD206：美国Biolegend试剂公司；Trizol试剂、cDNA逆转录酶试剂盒、SYBR Green real-time PCR Master Mix：南京诺唯赞生物科技股份有限公司；超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）、过氧化氢酶（catalase，CAT）、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，GPx）测定试剂盒：南京建成生物工程研究所；RIPA裂解缓冲液和PVDF膜：美国Millipore公司；anti-p38 MAPK，anti-phospho-p38 MAPK，anti-p65 NF-κB，anti-phospho-p65 NF-κB，anti-Akt、anti-phospho-Akt：美国Cell Signaling Technology公司；anti-STAT6、anti-phospho-STAT6、anti-GAPDH：

杭州华安生物技术有限公司。

乳铁蛋白调制乳粉及主要营养成分原料由杭州千岛湖康诺邦健康产品有限公司提供，并在作者所在实验室完成配制。产品配方为：每 100 g 乳铁蛋白调制乳粉中，含有 α-乳白蛋白 1.5 g，*N*-乙酰神经氨酸 0.5 g，酵母-β 葡聚糖 0.05 g，乳铁蛋白 0.12 g。除 4 种营养成分外，含蛋白质 26.1 g，脂肪 16.5 g，碳水化合物 51.5 g，钠 0.27 g，牛磺酸 0.036 g，其他营养成分 3.424 g。

1.2 仪器与设备

荧光显微镜：EVOSM5000 型，美国 Thermo Fisher Scientific 公司；细胞培养箱：MCO-18AC 型，日本松下公司；电泳仪：WIX-EP300 型，北京韦克斯科技有限公司；微量分光光度计：Nano-3000 型，杭州奥盛仪器有限公司；台式冷冻离心机：iCEN 型，杭州奥盛仪器有限公司；超低温冰箱：DW-HL398S 型，广州深华公司；实时荧光定量 PCR 仪：CFX Connect Optics Module 型，美国 Bio-Rad 伯乐公司；化学发光系统：Tanon-5200 型，上海天能科技有限公司；流式细胞仪：FACS Melody 型，美国 BD Bioscience 公司。

1.3 方法

1.3.1 样品制备方法

1）乳铁蛋白调制乳粉的配制：取乳铁蛋白调制乳粉成品 0.1 g，加入 9.9 mL PBS 缓冲液配成 10 mg/mL 的母液，用 PBS 缓冲液以体积比 1∶100 稀释成最大质量浓度为 100 μg/mL 的工作液，其余工作液通过最大质量浓度工作液进行梯度稀释。

2）4 种营养成分的配制：取 α-乳白蛋白粉末 75 mg、*N*-乙酰神经氨酸粉末 25 mg、酵母-β 葡聚糖粉末 2.5 mg 和乳铁蛋白粉末 6 mg，加入 10 mL PBS 缓冲液，配成 10.85 mg/mL 的母液，用 PBS 缓冲液以体积比 1∶100 稀释成最大质量浓度为 108.5 μg/mL 的工作液，其余工作液通过最大质量浓度工作液进行梯度稀释。

3）3 种营养成分的配制：取上述 4 种营养成分中的 3 种，加入 10 mL PBS 缓冲液配成母液，再用 PBS 缓冲液以体积比 1∶1 000 进行稀释。

1.3.2 细胞培养

采用小鼠巨噬细胞 RAW264.7 细胞系进行试验，使用含体积分数为 10% 的胎牛血清、100 IU/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素的 DMEM 培养基，置于 37 ℃、体积分数 5% 的 CO_2 下培养，每 2 d 更换一次培养基。当细胞密度达到 80% 时，将它们传代培养以进行下一步的试验。

1.3.3 细胞增殖

将细胞以每孔 5×10^3 个的密度接种于 96 孔板，培养 24 h 后，分别用 0、5、10、25、50、100 μg/mL 的乳铁蛋白调制乳粉处理细胞 24 h，PBS 漂洗 1 次，每孔加入 10 μL MTT 和 100 μL 无血清 DMEM 培养基，每组各设 12 个复孔。37 ℃孵育 3 h 后吸弃上清液，每孔加入 150 μL 二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide，DMSO）用于溶解生成的结晶物，室温下振荡 15 min，然后于 570 nm 处测量光密度（optical density，OD）值。

1.3.4 细胞吞噬活性测定

将细胞以每孔 5×10^3 个的密度接种于 96 孔板，培养 24 h，分别用 0、5、10、25、50、100 μg/mL 的乳铁蛋白调制乳粉处理细胞 24 h，PBS 漂洗 1 次，每孔加入 10 μL 中性红染色液和 100 μL 无血清 DMEM 培养基，每组各设 12 个复孔。37 ℃孵育 3 h 后吸弃上清液，PBS 漂洗 1 次，每孔加入 200 μL 中性红检测裂解液用于裂解细胞，室温下振荡 10 min，然后于 540 nm 处测量 OD 值。

1.3.5 巨噬细胞极化处理

以 1×10^5 个/孔的密度在 12 孔板中培养细胞，为诱导巨噬细胞 M1 型极化，分别用不同质量浓度（10、25、50 μg/mL）的乳铁蛋白调制乳粉或 4 种营养成分组合（1.085、5.425、10.850、27.125、54.250、108.500 μg/mL，其中 1.085 μg/mL 对应 50 μg/mL 乳铁蛋白调制乳粉中 4 种营养成分的质量浓度，定义为 1× 质量浓度，其余质量浓度分别对应 5×、10×、25×、50×、100× 质量浓度，以确保 4 种营养成分在与调制乳粉相同的试验条件下具有合适的质量浓度范围）以及 1 μg/mL LPS 共同处理细胞 24 h；为诱导巨噬细胞 M2 型极化，分别采用不同质量浓度（10、25、50 μg/mL）的乳铁蛋白调制乳粉或 4 种营养成分组合（1.085、5.425、10.850、27.125、54.250、108.500 μg/mL）以及 10 ng/mL IL-4 共同处理细胞 24 h；为进一步探究乳铁蛋白调制乳粉中的营养成分组合对巨噬细胞 M1/M2 型极化的作用和潜在机制，分别用 10.850 μg/mL 的 4 种营养成分组合或 10.850 μg/mL 对应的 3 种营养成分组合（组合 1：*N*-乙酰神经氨酸、酵母-β 葡聚糖和乳铁蛋

白；组合2：α-乳白蛋白、酵母-β葡聚糖和乳铁蛋白；组合3：α-乳白蛋白、*N*-乙酰神经氨酸和乳铁蛋白；组合4：α-乳白蛋白、*N*-乙酰神经氨酸和酵母-β葡聚糖）以及LPS或IL-4共同处理细胞24 h。LPS和IL-4的质量浓度参照作者所在课题组前期研究中已验证的质量浓度[28-29]，该质量浓度可有效调控巨噬细胞的M1/M2型极化。

1.3.6　细胞抗原呈递

以1×10^{5}个/孔的密度在12孔板中培养细胞，用不同质量浓度（0、10、25、50 μg/mL）的乳铁蛋白调制乳粉处理24 h，每组各设6个复孔，采用实时荧光定量PCR分析编码抗原呈递相关分子基因（major histocompatibility complex II，*Mhc II*）和共刺激分子基因（如*Cd80*和*Cd86*）的mRNA表达水平。

1.3.7　流式细胞术

将细胞以1×10^{6}个/孔的密度在6孔板中培养24 h后，用50 μg/mL的乳铁蛋白调制乳粉或10.850 μg/mL不同营养成分组合以及1 μg/mL LPS或10 ng/mL IL-4共同处理细胞24 h，每组各设6个复孔。收集细胞悬液，并用藻红蛋白标记的CD11c和bv421标记的CD206抗体孵育30 min，然后采用FACS Melody分析，试验数据采用FlowJo软件进行分析。

1.3.8　细胞抗氧化酶活性及mRNA表达

将细胞以1×10^{6}个/孔的密度在6孔板中培养24 h后，用50 μg/mL的乳铁蛋白调制乳粉或10.850 μg/mL营养成分组合和1 μg/mL LPS共同处理细胞24 h，每组各设6个复孔。采用相应试剂盒检测细胞中SOD、CAT和GPx活性。将细胞以1×10^{5}个/孔的密度在12孔板中培养，按上述方式处理24 h后，采用实时荧光定量PCR分析抗氧化物酶基因的mRNA表达水平。

1.3.9　实时荧光定量PCR

使用Trizol试剂提取细胞总RNA，利用分光光度仪测定RNA质量浓度，利用cDNA逆转录酶试剂盒合成cDNA。在实时荧光定量PCR系统中，使用SYBR Green real-time PCR Master Mix检测相关标志物的mRNA表达水平。*Actb*的转录被用作管家基因进行数据标准化。试验中所用的引物序列见表1。

表1　引物序列

Table 1　Primer sequences

基因	上游引物（引物序列5′—3′）	下游引物（引物序列5′—3′）
Actb	AGGCCCAGAGCAAGAGAGGTA	GGGGTGTTGAAGGTCTCAAACA
Tnfa	TGAAGACAGGGGCCTTTTTG	AATTCGCCGGAGACACTCG
Il1b	GCAACTGTTCCTGAACTCAACT	ATCTTTTGGGGTCCGTCAACT
Ccl5	TTTGCCTACCTCTCCCTCG	CGACTGCAAGATTGGAGCACT
Mcp1	TAAAAACCTGGATCGGAACCAAA	GCATTAGCTTCAGATTTACGGGT
Arg1	CCTGGAACTGAAAGGAAAG	TTGGCAGATATGCAGGGAGT
Cd206	CTTCGGGCCTTTGGAATAAT	TAGAAGAGCCCTTGGGTTGA
Mgl2	TTAGCCAATGTGCTTAGCTGG	GGCCTCCAATTCTTGAAACCT
Chi3l3	ATGGCCTCAACCTGGACTG	TCCTGCTCCTGTGGAAGTG
Mhc II	TCTACCCAGCCAAGATCAAAGT	CCCATTCCTAATAAGCTGTGTGG
Cd80	CTGGGAAAAACCCCCAGAAG	TGACAACGATGACGACGACTG
Cd86	CATGGGCTTGGCAATCCTTA	AAATGGGCACGGCAGATATG
Sod	AACCAGTTGTGTTGTCAGGAC	CCACCATGTTTCTTAGAGTGAGG
Cat	GGAGGCGGGAACCCAATAG	GTGTGCCATCTCGTCAGTGAA
Gpx	CCACCGTGTATGCCTTCTCC	AGAGAGACGCGACATTCTCAAT

1.3.10　Western blot

以1×10^{6}个/孔的密度在6孔板中培养细胞24 h后，用50 μg/mL的乳铁蛋白调制乳粉或10.850 μg/mL营养成分组合以及1 μg/mL LPS或10 ng/mL IL-4共同处理24 h，每组各设6个复孔。先采用RIPA裂解缓冲液对细胞进行洗涤和裂解，再采用BCA蛋白定量试剂盒，按照厂家说明测定蛋白质质量浓度。含30 μg蛋白质的全细胞裂解物经SDS-PAGE分离后，转移到PVDF膜上，并在室温下用脱脂奶粉封闭1 h。随后，加入一抗，膜

在 4 ℃下孵育过夜，再用适当的 HRP 标记的二抗进行孵育。然后采用发光成像工作站使条带可视化，并采用 ImageJ 软件进行定量。

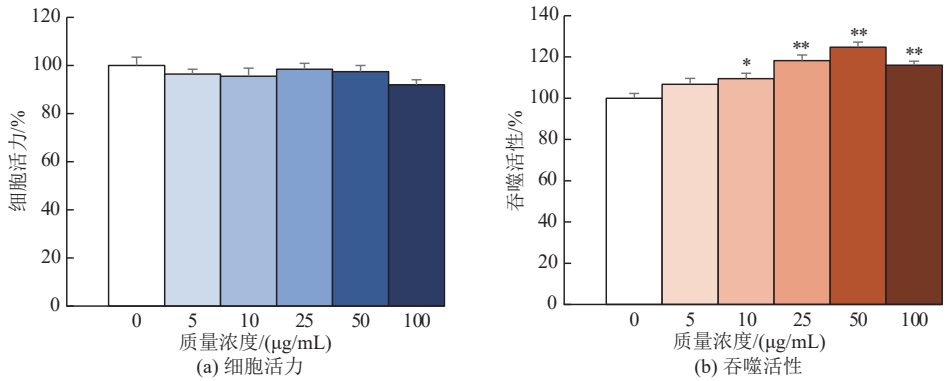
1.4 统计学处理

所有试验均重复 3 次，所有数据均表示为平均值±标准误差，统计分析均采用单因素方差分析，然后进行 Student-Newman-Keuls 检验。当 $P<0.05$ 时表示有显著性差异；当 $P<0.01$ 时表示为差异极其显著。

2 结果与讨论

2.1 乳铁蛋白调制乳粉对细胞增殖能力和吞噬活性的影响

为评估乳铁蛋白调制乳粉对巨噬细胞增殖能力和吞噬活性的影响，采用 MTT 法和中性红染色法检测细胞活力和吞噬活性。MTT 结果显示，与 0 μg/mL 相比，处理 24 h 后，5、10、25、50、100 μg/mL 的乳铁蛋白调制乳粉对细胞的增殖无影响，见图 1(a)。中性红染色试验结果表明，处理 24 h 后，10、25、50、100 μg/mL 的乳铁蛋白调制乳粉可显著增强巨噬细胞的吞噬活性，其中 50 μg/mL 的乳铁蛋白调制乳粉处理后细胞吞噬活性最高，达到 124.8%，见图 1(b)。以上结果表明，在不改变巨噬细胞活力的前提下，乳铁蛋白调制乳粉可以促进巨噬细胞的吞噬活性。Hwang 等[30]的研究结果与此结果类似，他们发现牛乳铁蛋白能够调节牛分枝杆菌卡介苗感染的巨噬细胞，在不影响巨噬细胞增殖能力的前提下，乳铁蛋白还能增强巨噬细胞的吞噬能力，提升巨噬细胞为抗原特异性 CD_4+T 细胞传递抗原的能力，激活特异性免疫。后续的试验选择 10、25、50 μg/mL 共 3 个质量浓度进行展开。



*—与对照组相比，$P<0.05$；**—与对照组相比，$P<0.01$。

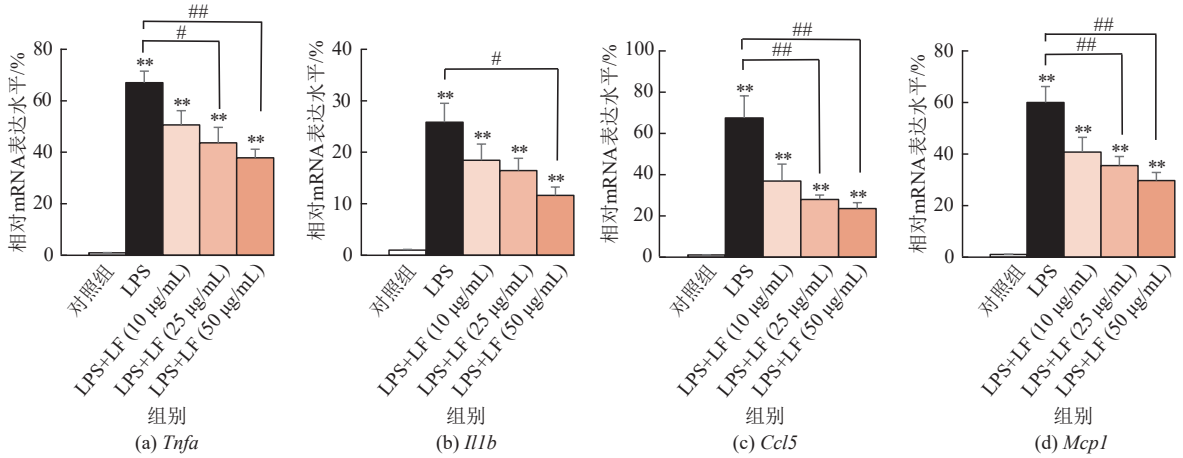
图 1 RAW264.7 细胞的细胞活力和吞噬活性

Fig. 1 Cell viability and phagocytic activity of RAW264.7 cells

2.2 乳铁蛋白调制乳粉的免疫调节效益

为评估乳铁蛋白调制乳粉的免疫调节效益，分别采用 LPS 处理诱导 M1 型巨噬细胞极化或 IL-4 处理诱导 M2 型巨噬细胞极化，见图 2~3。结果显示，乳铁蛋白调制乳粉处理以剂量依赖性方式显著降低了 LPS 诱导的促炎 M1 型巨噬细胞标志物的 mRNA 表达，包括肿瘤坏死因子-α 基因(tumor necrosis factor-alpha，*Tnfa*)、白细胞介素-1β 基因(interleukin-1 beta，*Il1b*)、CC 趋化因子配体 5 基因(cc motif chemokine ligand 5，*Ccl5*)和单核细胞趋化蛋白-1 基因(monocyte chemotactic protein-1，*Mcp1*)，见图 2。此外，乳铁蛋白调制乳粉剂量依赖性地增加了 IL-4 诱导的抗炎 M2 型巨噬细胞标志物的 mRNA 表达，如精氨酸酶 1 基因(arginase-1，*Arg1*)、巨噬细胞甘露糖受体 c 型 1 基因(macrophage mannose receptor c type 1，*Cd206*)、巨噬细胞半乳糖凝集素 2 基因(macrophage galectin-2，*Mgl2*)和几丁质酶 3 样 3 基因(chitinase 3 like protein 3，*Chi3l3*)，见图 3。陆梦兰等[31]的研究结果与此研究结果类似，乳铁蛋白干预可抑制肾脏 M1 型巨噬细胞的极化，并增强 M2 型巨噬细胞的极化，从而缓解肾纤维化。Zhao 等[32]的研究结果表明，乳铁蛋白可以通过减少促炎因子的表达来抑制 LPS 诱导的炎症细胞活化。对于乳铁蛋白在免疫调节中的机制，Latorre 等[33]认为乳铁蛋白的多种免疫活性不仅依赖于其结合铁的能力，还依赖于其与宿主和病原体分子相互作用的能力。乳铁蛋白可以通过结合 LPs 抑制 Toll 样受体(Toll-like

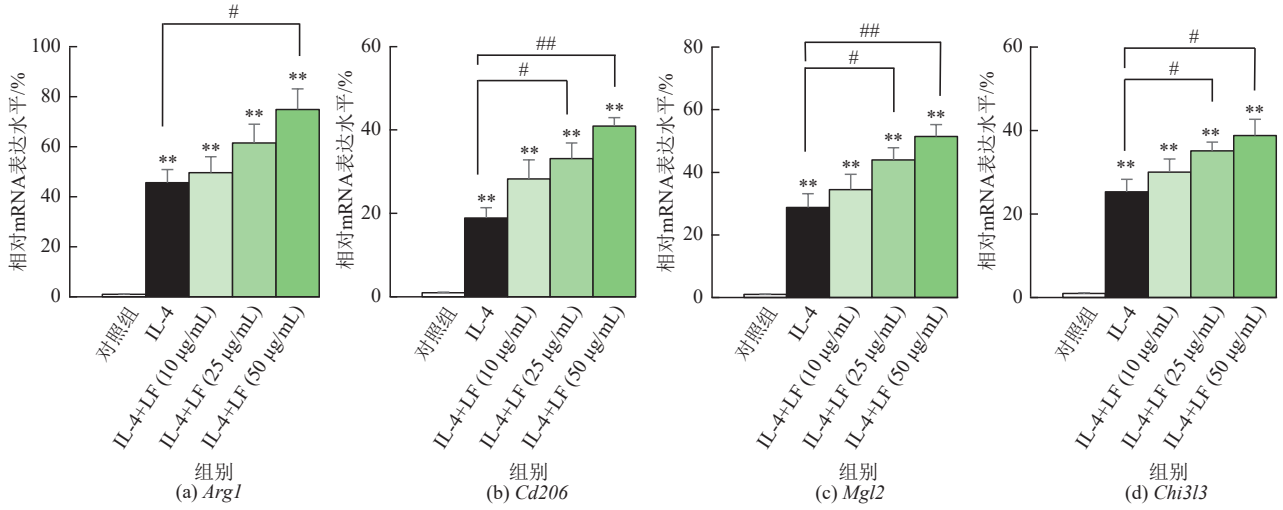
receptors，TLR）4信号通路，从而抑制促炎途径的激活[34]。综上所述，乳铁蛋白调制乳粉可以降低促炎M1型巨噬细胞的极化并增强抗炎M2型巨噬细胞的极化，从而参与免疫调节。



**—与对照组相比，$P<0.01$；#—与LPS处理组相比，$P<0.05$；##—与LPS处理组相比，$P<0.01$。

图2　促炎M1型巨噬细胞标志物的mRNA表达情况

Fig. 2　Relative mRNA levels of proinflammatory M1 macrophage markers



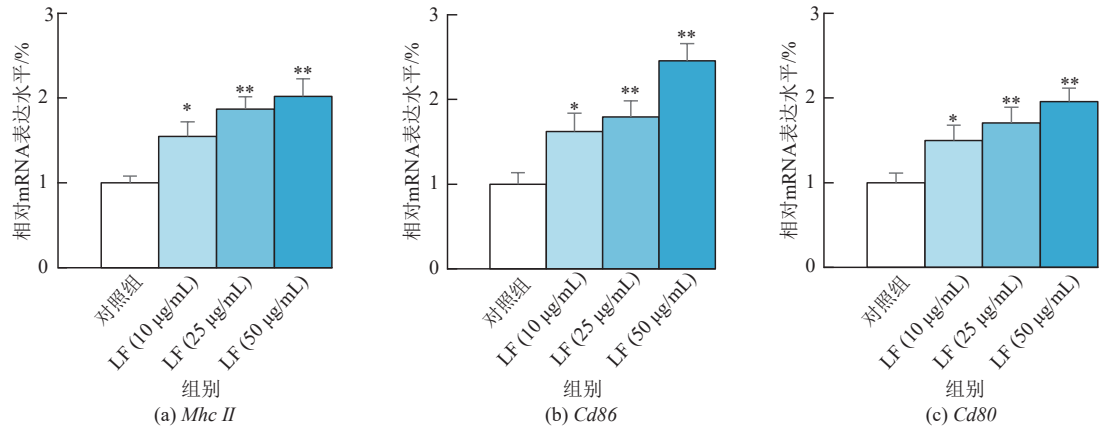
**—与对照组相比，$P<0.01$；#—与IL-4处理组相比，$P<0.05$；##—与IL-4处理组相比，$P<0.01$。

图3　抗炎M2型巨噬细胞标志物的mRNA表达情况

Fig. 3　Relative mRNA levels of anti-inflammatory M2 macrophage markers

2.3　乳铁蛋白调制乳粉对巨噬细胞抗原呈递能力的影响

为评价乳铁蛋白调制乳粉对巨噬细胞抗原呈递能力的影响，在无抗原刺激下检测巨噬细胞抗原呈递相关分子和共刺激分子的mRNA表达水平。结果显示，乳铁蛋白调制乳粉以剂量依赖性方式显著增强了巨噬细胞的抗原呈递相关分子基因*Mhc II*和共刺激分子基因*Cd80*和*Cd86*的mRNA表达水平，表明巨噬细胞抗原呈递能力的提升和T细胞活化的增强，见图4。Chea等[35]和Legrand[36]的研究表明，乳铁蛋白在面对病原体时能增加抗原呈递细胞（Antigen-Presenting Cell，APC）对IL-12的分泌，并刺激抗炎细胞因子IL-10的表达，间接地促进了巨噬细胞的抗原呈递能力，使机体在面对病原体时能够更有效地启动和调节免疫应答，增强了机体的免疫防御功能，这与本试验结果相似。Legrand[37]认为乳铁蛋白的免疫调节特性是由于它与许多细胞和分子靶标相互作用的能力。在细胞水平上，乳铁蛋白调节免疫细胞的迁移、成熟和部分功能。在分子水平上，除了结合铁外，乳铁蛋白与可溶性分子



*—与对照组相比，$P<0.05$；**—与对照组相比，$P<0.01$。

图 4　RAW264.7 细胞抗原呈递相关标志物 mRNA 表达情况

Fig. 4　Relative mRNA levels of antigen presentation-related markers in RAW264.7 cells

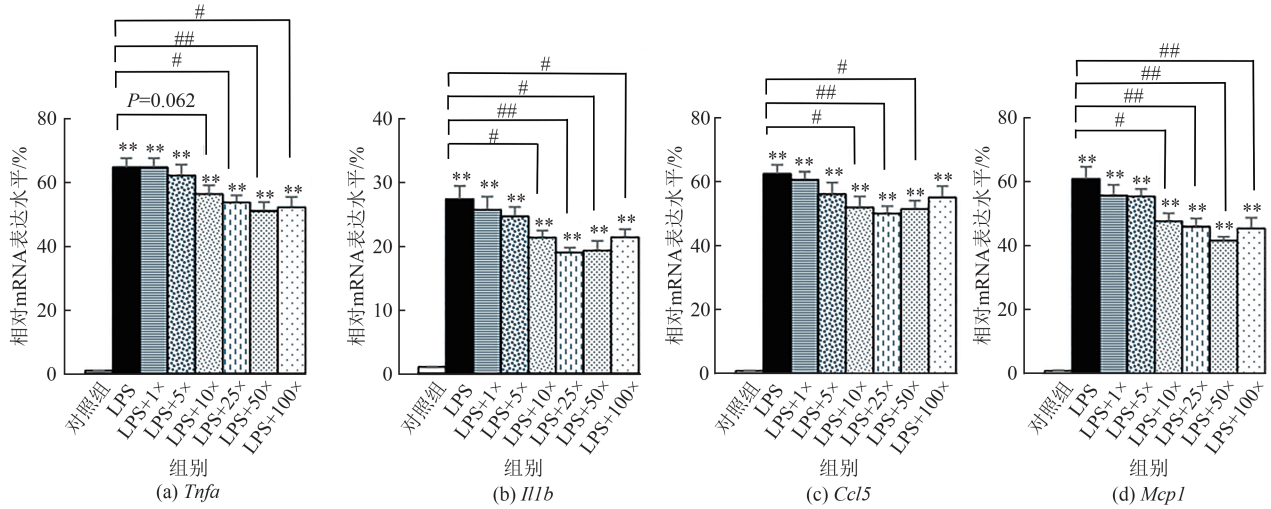
或细胞表面分子的相互作用也是其具有免疫调节特性的原因。综上所述，乳铁蛋白调制乳粉可以通过促进巨噬细胞抗原呈递能力来发挥免疫调控的功能。

2.4　乳铁蛋白调制乳粉营养成分的免疫调节效益

由上述研究可知，50 μg/mL 乳铁蛋白调制乳粉的免疫调节作用最为显著。为进一步评估乳铁蛋白调制乳粉营养成分的免疫调节效益，将 50 μg/mL 乳铁蛋白调制乳粉中营养成分质量浓度 1.085 μg/mL 设为 1×质量浓度，并设置不同质量浓度梯度来研究乳铁蛋白调制乳粉中起主要作用的活性成分，分别采用 LPS 处理诱导 M1 型巨噬细胞极化和 IL-4 处理诱导 M2 型巨噬细胞极化，见图 5~6。结果显示，乳铁蛋白调制乳粉营养成分处理在一定范围内以剂量依赖性方式显著降低了 LPS 诱导的促炎 M1 型巨噬细胞标志物的 mRNA 表达，包括 *Tnfa*、*Il1b*、*Ccl5* 和 *Mcp1*，见图 5。此外，乳铁蛋白调制乳粉营养成分给药可增加巨噬细胞中 IL-4 诱导的抗炎 M2 型巨噬细胞标志物的表达，如 *Arg1*、*Cd206*、*Mgl2* 和 *Chi3l3*，见图 6。由此可见，乳铁蛋白调制乳粉营养成分可以减少促炎 M1 型巨噬细胞的极化并增加抗炎 M2 型巨噬细胞的比例，从而参与免疫调节。选取 10.850 μg/mL 的营养成分组合进行后续试验。

2.5　乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分对 M1 型巨噬细胞极化的影响

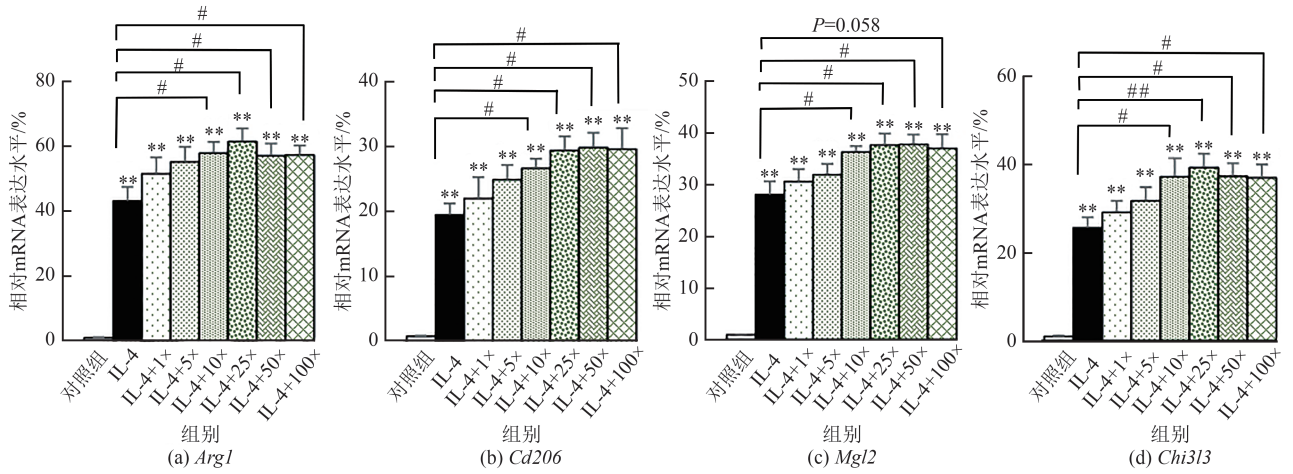
采用 50 μg/mL 的乳铁蛋白调制乳粉和 10.850 μg/mL 的 4 种营养成分组合处理细胞，检测



**—与对照组相比，$P<0.01$；#—与 LPS 处理组相比，$P<0.05$；##—与 LPS 处理组相比，$P<0.01$。

图 5　促炎 M1 型巨噬细胞标志物的 mRNA 表达情况

Fig. 5　Relative mRNA levels of pro-inflammatory M1 macrophage markers



**—与对照组相比，$P<0.01$；#—与IL-4处理组相比，$P<0.05$；##—与IL-4处理组相比，$P<0.01$。

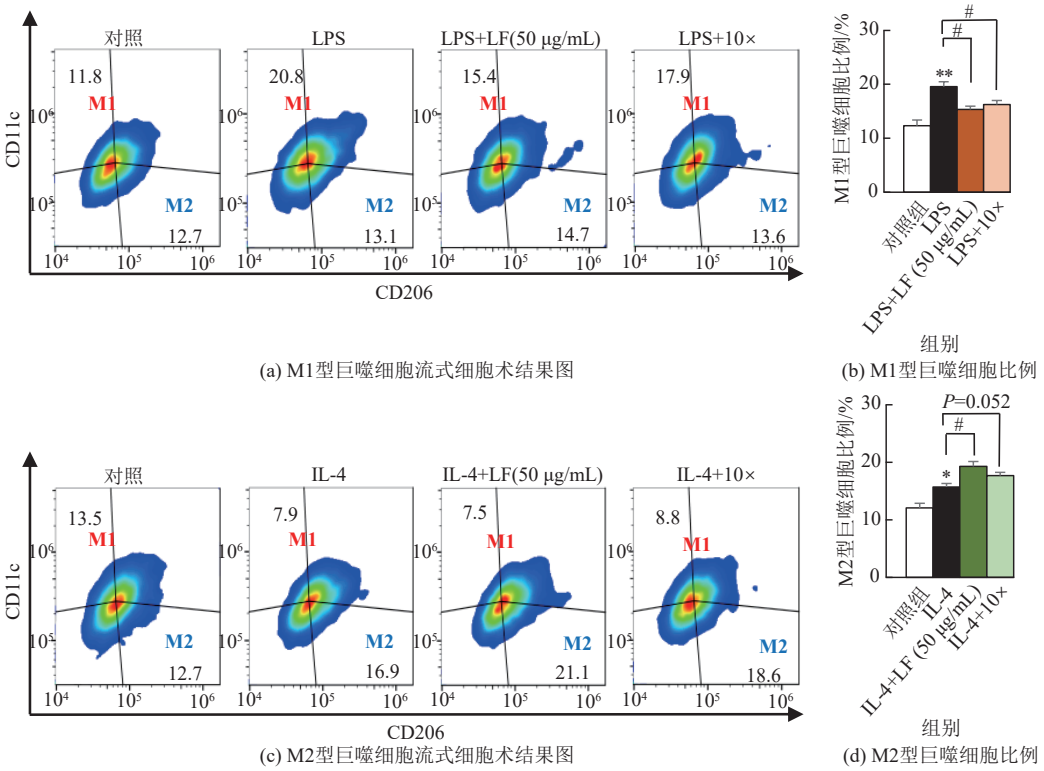
图6　抗炎M2型巨噬细胞标志物的mRNA表达情况

Fig. 6　Relative mRNA levels of anti-inflammatory M2 macrophage markers

巨噬细胞的比例变化。流式细胞术结果表明，与对照组相比，LPS处理24 h后，M1型巨噬细胞的比例显著上升，其平均值达到19.6%，见图7(a)。然而，经过50 μg/mL乳铁蛋白调制乳粉处理后，M1型巨噬细胞的比例显著下降至15.3%；相比之下，10.850 μg/mL营养成分处理组中M1型巨噬细胞的平均比例为16.2%，见图7(a)~(b)。另一方面，IL-4处理增加了M2型巨噬细胞的比例。在乳铁蛋白调制乳粉处理后，M2型巨噬细胞的比例显著提升，平均比例从15.8%上升至19.3%，见图7(c)~(d)。尽管统计学上略高于显著性阈值，4种营养成分仍显示出促进M2型巨噬细胞极化的趋势，见图7(d)。50 μg/mL的乳铁蛋白调制乳粉可以显著减少促炎M1型巨噬细胞的比例，并促进抗炎M2型巨噬细胞极化；10.850 μg/mL营养成分也能减少促炎M1型巨噬细胞的比例，但对促进抗炎M2型巨噬细胞极化的影响较小。4种营养成分对巨噬细胞极化的影响不如乳铁蛋白调制乳粉，这可能与乳铁蛋白调制乳粉中其他成分与乳铁蛋白的协同作用有关。调制乳粉中含有蛋白质、脂肪、碳水化合物、钠元素、牛磺酸、乳清蛋白粉和蛋黄球蛋白粉等多种成分，这些成分可能与乳铁蛋白产生协同作用，共同影响试验效果。具体而言，乳铁蛋白与乳清蛋白中的β-乳球蛋白可在油水界面形成多层结构，增强了两者的生物活性[13]。其次，调制乳粉中含有蛋白质、脂肪、碳水化合物、维生素等多种供能成分，可能通过影响能量平衡和代谢与乳铁蛋白产生协同作用[14]。钠元素的存在可能与维持乳铁蛋白的稳定性密切相关[15]。此外，牛磺酸作为一种含硫氨基酸，具有抗氧化特性，而蛋黄球蛋白粉中则含有丰富的免疫球蛋白，两者都可能与乳铁蛋白发生协同作用进而调节巨噬细胞的免疫功能[16-17]。另一方面，乳铁蛋白的生物活性可能受到其在产品中存在形式的影响，乳铁蛋白在特定的pH和环境中可能更活跃。因此，在调制乳粉中，乳铁蛋白的生物利用度更高，能更好地发挥免疫功能。但是，当前试验聚焦于商品化调制乳粉的整体效应，未直接比较乳铁蛋白单独作用与调制乳粉的效果差异，未来将通过成分特异性试验进一步解析协同机制。综上所述，乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分可抑制促炎M1型巨噬细胞的极化，乳铁蛋白调制乳粉还可促进抗炎M2型巨噬细胞极化，而营养成分则呈现出促进M2型极化的趋势，说明其可能通过调控巨噬细胞极化参与免疫调节。

2.6　乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分对巨噬细胞抗氧化酶活性的影响

为评估乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分在氧化应激中的作用，采用相应试剂盒检测抗氧化酶活性，并采用实时荧光定量PCR分析抗氧化物酶基因的mRNA表达水平。结果显示，LPS处理显著降低了巨噬细胞内抗氧化酶的活性，包括SOD、CAT和GPx，而乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分能够恢复这些酶的活性，见图8(a)~(c)。与此一致的是，LPS处理下调了巨噬细胞中超氧化物歧化酶基因(Superoxide Dismutase，*Sod*)、过氧化氢酶基因(Catalase，*Cat*)和谷胱甘肽过氧化物酶基因



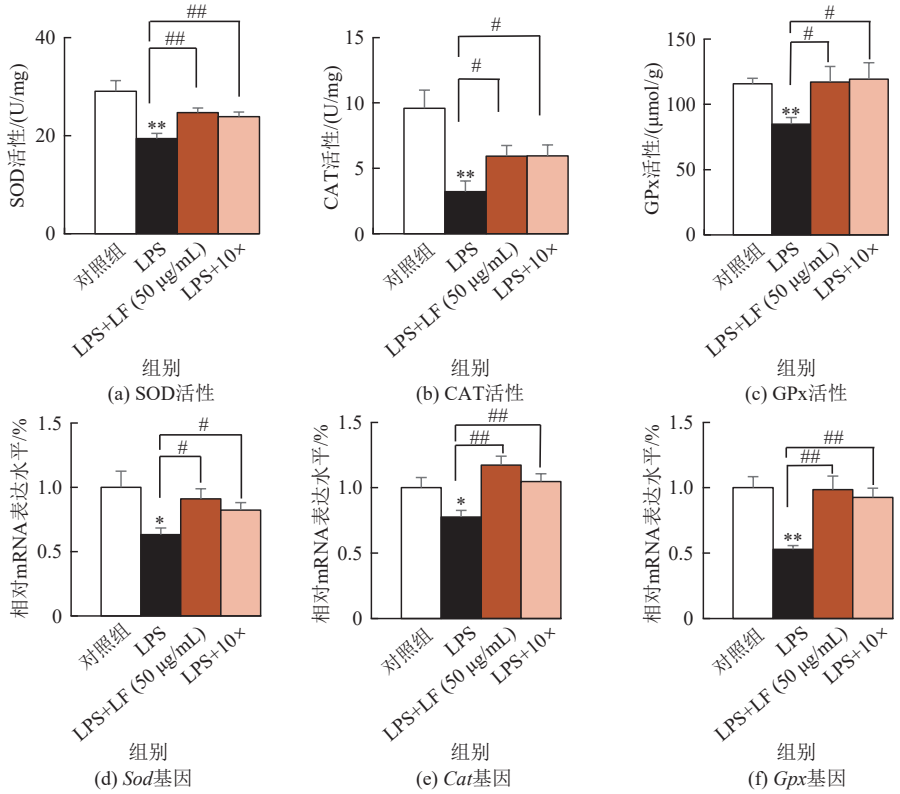
(a) M1型巨噬细胞流式细胞术结果图　(b) M1型巨噬细胞比例

(c) M2型巨噬细胞流式细胞术结果图　(d) M2型巨噬细胞比例

*—与对照组相比，$P<0.05$；**—与对照组相比，$P<0.01$；#—与 LPS 或 IL-4 处理组相比，$P<0.05$；##—与 LPS 或 IL-4 处理组相比，$P<0.01$。

图 7　RAW264.7 巨噬细胞 M1 型和 M2 型比例

Fig. 7　Proportions of M1 and M2 types of RAW264.7 macrophages



(a) SOD活性　(b) CAT活性　(c) GPx活性

(d) *Sod*基因　(e) *Cat*基因　(f) *Gpx*基因

*—与对照组相比，$P<0.05$；**—与对照组相比，$P<0.01$；#—与 LPS 处理组相比，$P<0.05$；##—与 LPS 处理组相比，$P<0.01$。

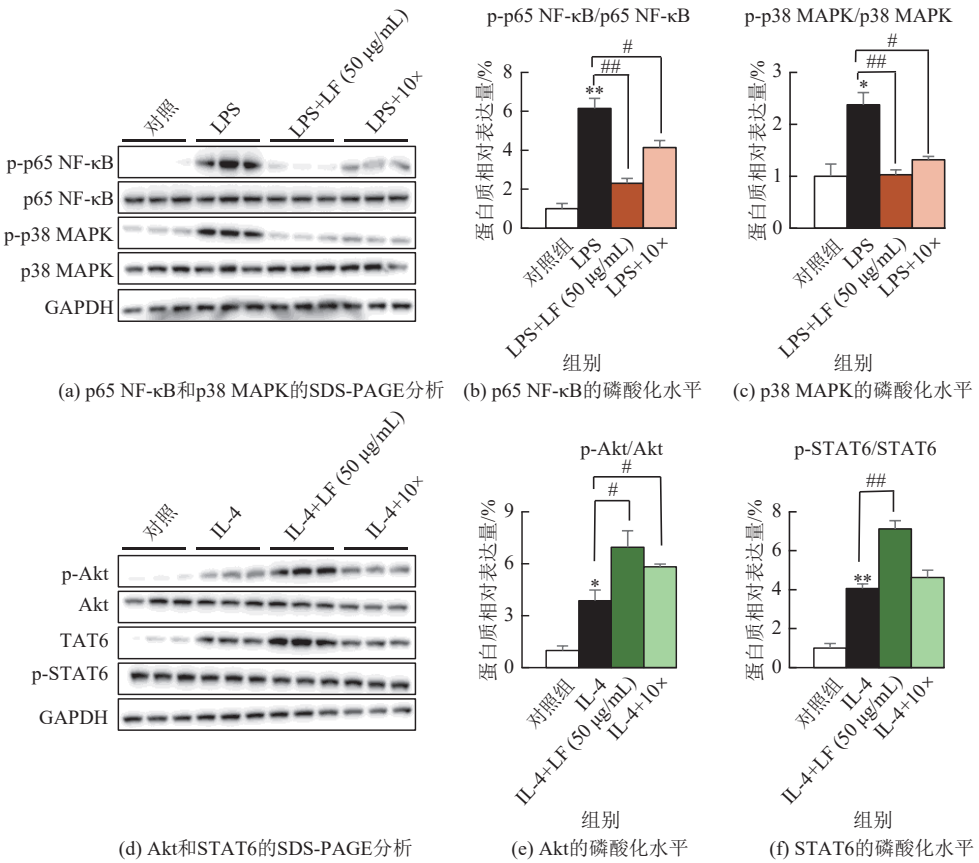
图 8　巨噬细胞抗氧化酶活性及其基因的相对 mRNA 表达水平

Fig. 8　Activities of antioxidant enzymes and relative mRNA levels of the genes

（Glutathione Peroxidase，*Gpx*）的mRNA表达，而乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分能上调这些抗氧化酶基因的mRNA表达，见图8（d）~（f）。综上所述，乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分可以通过调节细胞内抗氧化酶系统来增强酶活性，进一步提升细胞整体的抗氧化防御能力，进而维持免疫微环境的稳态，从而更好地发挥乳铁蛋白调制乳粉的免疫调节功能。

2.7　乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分在调节LPS和IL-4相关的信号通路中的作用

为进一步探究乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分在调节LPS和IL-4信号通路中的作用，采用Western blot检测LPS处理的细胞中p38 MAPK和p65 NF-κB的磷酸化水平，以及IL-4处理的细胞中STAT6和Akt的磷酸化水平，见图9。结果表明，LPS处理显著激活了p38 MAPK和p65 NF-κB的磷酸化，而乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分却能够减弱其激活。另一方面，IL-4诱导的STAT6和Akt磷酸化水平在乳铁蛋白调制乳粉处理后显著增强。然而，营养成分仅在部分信号传导上表现出增强的作用，其作用不及乳铁蛋白调制乳粉，这可能与乳铁蛋白调制乳粉的协同作用有关。由上述结果可知，乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分下调了p38 MAPK和p65 NF-κB的磷酸化水平，结合多种促炎因子的转录水平下调的结果，说明乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分可能会抑制p38 MAPK和p65 NF-κB通路；而乳铁蛋白调制乳粉能增强STAT6和Akt磷酸化水平，同时多种抗炎因子的mRNA表达上升，说明乳铁蛋白调制乳粉可能会激活STAT6和Akt通路。Hu等[38]发现乳铁蛋白通过抑制NF-κB和MAPK途径维持肠上皮细胞完整性并减轻细胞氧化应激反应，从而抑制脂多糖诱导的细胞炎症，与本研究结果相似。相关研究表明，调节MAPK/NF-κB通路能抑制M1型巨噬细胞极化，而调节Akt/STAT6通路能促进M2型巨噬细胞极化[39-40]。综上所述，乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分可能通过调



(a) p65 NF-κB和p38 MAPK的SDS-PAGE分析　(b) p65 NF-κB的磷酸化水平　(c) p38 MAPK的磷酸化水平

(d) Akt和STAT6的SDS-PAGE分析　(e) Akt的磷酸化水平　(f) STAT6的磷酸化水平

*—与对照组相比，$P<0.05$；**—与对照组相比，$P<0.01$；#—与LPS或IL-4处理组相比，$P<0.05$；##—与LPS或IL-4处理组相比，$P<0.01$。

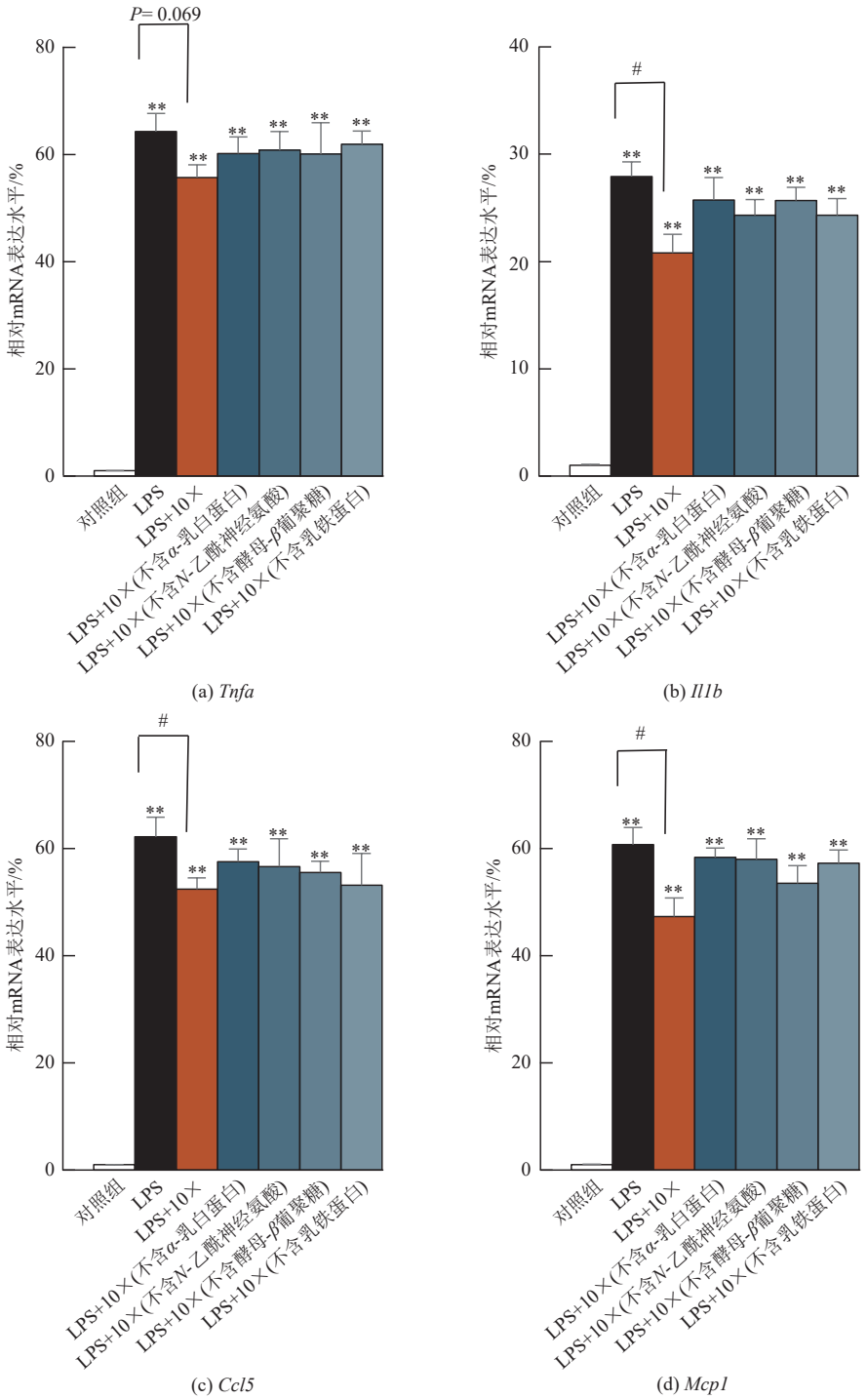
图9　巨噬细胞LPS和IL-4相关的信号通路变化

Fig. 9　Changes in LPS and IL-4-related signaling pathways in macrophages

控 p38 MAPK/p65 NF-κB 和 STAT6/Akt 通路，改变巨噬细胞极化状态，从而介导免疫反应。

2.8 不同乳铁蛋白调制乳粉中营养成分组合对调节巨噬细胞极化能力的影响

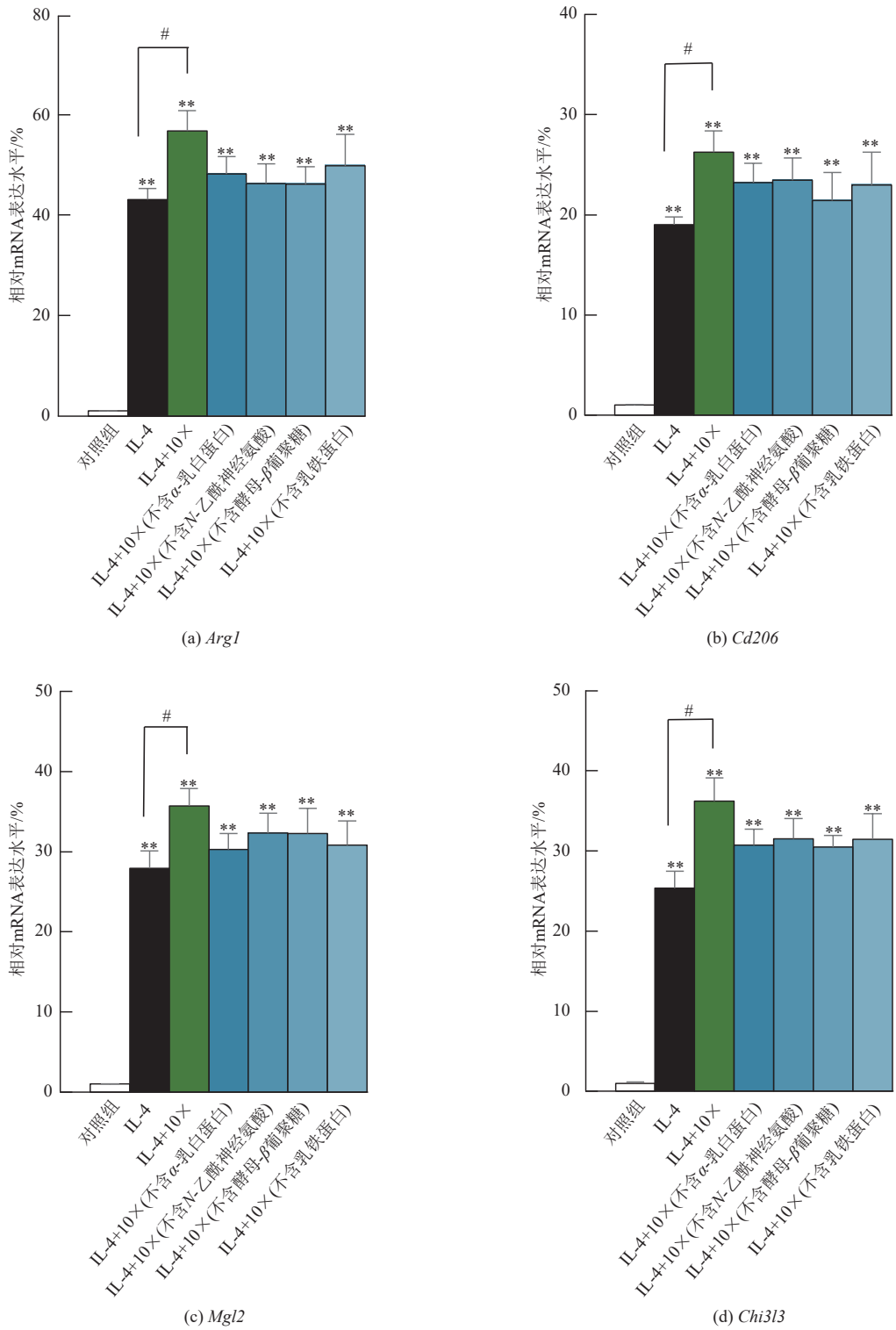
为进一步探究乳铁蛋白调制乳粉中的营养成分组合对巨噬细胞 M1/M2 极化的作用，将质量浓度 10.850 μg/mL 的 4 种营养成分组合与不同的 3 种营养成分组合处理的细胞进行对比，并分别用 LPS 处理诱导 M1 型巨噬细胞极化和 IL-4 处理诱导 M2 型巨噬细胞极化，见图 10~11。结果



*—与对照组相比，$P<0.05$；**—与对照组相比，$P<0.01$；#—与 LPS 处理组相比，$P<0.05$。

图 10 促炎 M1 型巨噬细胞标志物的 mRNA 表达情况

Fig. 10 Relative mRNA levels of pro-inflammatory M1 macrophage markers



*—与对照组相比，$P<0.05$；**—与对照组相比，$P<0.01$；#—与IL-4处理组相比，$P<0.05$。

图11　抗炎M2型巨噬细胞标志物的mRNA表达水平

Fig. 11　Relative mRNA levels of anti-inflammatory M2 macrophage markers

显示，4种营养成分组合处理显著降低了LPS诱导的促炎M1型巨噬细胞标志物的mRNA表达，包括*Tnfa*、*Il1b*、*Ccl5*和*Mcp1*，而任何3种成分组合无改善效果，见图10。此外，4种营养成分组合给药增加了巨噬细胞中IL-4诱导的抗炎M2型巨噬细胞标志物的表达，如*Arg1*、*Cd206*、*Mgl2*和

Chi3l3，而任何3种成分组合无改善效果，见图11。综上所述，4种营养成分组合可主导巨噬细胞向抗炎M2型转变，从而参与免疫调节，而去掉任何一种营养成分都会导致免疫调节能力丢失。*α*-乳白蛋白[10]、*N*-乙酰神经氨酸[11]和酵母-*β*葡聚糖[12]在提高免疫力、抗病毒、预防感染方面均具有重要作用，且均为配方奶粉中的重要成分。*α*-乳白蛋白可以作为脂溶性维生素的载体[41]，提高维生素的利用度。酵母-*β*葡聚糖与蛋白质的组合能够增强自然杀伤细胞的活性[42]，提高机体的免疫监视和清除功能。*N*-乙酰神经氨酸与碳水化合物结合后，对于细胞表面聚糖的结构稳定和功能发挥重要作用[43]。因此，营养成分中缺少其一均会导致营养组成不全面，从而对其免疫调节能力造成影响。后续可以进一步开展不同配比的营养成分组合研究，以探究最佳组合方式，为调制乳粉的优化升级提供理论依据。

3 结论

作者探究了乳铁蛋白调制乳粉及其4种营养成分对RAW264.7巨噬细胞免疫调节的作用及机制。研究结果表明，乳铁蛋白调制乳粉通过提升巨噬细胞抗原呈递能力、抗氧化酶活性并主导巨噬细胞向M2型极化，从启动适应性免疫、减轻氧化应激和免疫调节等多方面共同调节免疫作用，维持机体的免疫稳态。相较于4种营养成分，乳铁蛋白调制乳粉以其各营养成分之间的协同作用具有更好的免疫调节功能。研究表明，乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分通过调控p38 MAPK/p65 NF-κB和STAT6/Akt通路来调节巨噬细胞极化，提出了一种双通路联动调控免疫反应的新机制。这一发现为乳铁蛋白调制乳粉在免疫调节领域的作用机制提供了新的视角，丰富了其在营养免疫学中的内涵。研究聚焦于乳铁蛋白调制乳粉及其营养成分的免疫功能，为开发具备免疫增强潜力的新型功能性食品提供了重要依据，并为实现科学膳食和精准营养补充提供了理论依据。未来研究可进一步从分子机制入手，探索其对巨噬细胞功能的深层调控，并通过更多体内试验验证其在免疫调节及炎症相关疾病干预中的应用前景。

参考文献

[1] 闫晓斌，高瑞雄，袁凯，等. 乳铁蛋白功能及作用效果[J]. 食品工业，2024，45(9)：223-229.
YAN X B，GAO R X，YUAN K，et al. Function and effect of lactoferrin[J]. The Food Industry，2024，45(9)：223-229.(in Chinese)

[2] SIQUEIROS-CENDÓN T，ARÉVALO-GALLEGOS S，IGLESIAS-FIGUEROA B F，et al. Immunomodulatory effects of lactoferrin[J]. Acta Pharmacologica Sinica，2014，35(5)：557-566.

[3] LIU K Y，COMSTOCK S S，SHUNK J M，et al. Natural killer cell populations and cytotoxic activity in pigs fed mother's milk，formula，or formula supplemented with bovine lactoferrin[J]. Pediatric Research，2013，74(4)：402-407.

[4] YAGO T，TADA A，KUBO S，et al. Bovine lactoferrin enhances Toll-like receptor 7 response in plasmacytoid dendritic cells and modulates cellular immunity[J]. International Journal of Molecular Sciences，2024，25(24)：13369.

[5] PARK H W，PARK S H，JO H J，et al. Lactoferrin induces tolerogenic bone marrow-derived dendritic cells[J]. Immune Network，2020，20(5)：e38.

[6] SHAFQAT A，LI M C，LIU F T，et al. A comprehensive review of research advances in the study of lactoferrin to treat viral infections[J]. Life Sciences，2025，361：123340.

[7] SUPERTI F，DE SETA F. Warding off recurrent yeast and bacterial vaginal infections：lactoferrin and lactobacilli[J]. Microorganisms，2020，8(1)：130.

[8] EKER F，DUMAN H，ERTÜRK M，et al. The potential of lactoferrin as antiviral and immune-modulating agent in viral infectious diseases[J]. Frontiers in Immunology，2024，15：1402135.

[9] RASCÓN-CRUZ Q，SIQUEIROS-CENDÓN T S，SIAÑEZ-ESTRADA L I，et al. Antioxidant potential of lactoferrin and its protective effect on health：an overview[J]. International Journal of Molecular Sciences，2025，26(1)：125.

[10] 陈文亮，苏米亚，贾宏信，等. *α*-乳白蛋白的功能特性及其在婴儿配方乳粉中的应用[J]. 乳业科学与技术，2019，42(1)：33-38.
CHEN W L，SU M Y，JIA H X，et al. Functional characteristics and application in infant formula of alpha-lactalbumin[J]. Journal of Dairy Science and Technology，

2019，42（1）：33-38.（in Chinese）

[11] 肖敏，郑立新，丰珂珏，等. *N*-乙酰神经氨酸增强小鼠免疫力功能研究[J]. 中国食品添加剂，2023，34（5）：103-110.
XIAO M，ZHENG L X，FENG K J，et al. Study *N*-acetylneuraminic acid on mice immunity enhancement [J]. China Food Additives，2023，34（5）：103-110.（in Chinese）

[12] 王珊珊，蔡超，郝杰杰，等. 水溶性酵母*β*-葡聚糖的制备及免疫活性评价[J]. 高等学校化学学报，2019，40（9）：1873-1880.
WANG S S，CAI C，HAO J J，et al. Preparation and immunological activity evaluation of water-soluble *β*-glucan from *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Chemical Journal of Chinese Universities，2019，40（9）：1873-1880.（in Chinese）

[13] 周英爽，樊凤娇，刘猛，等. 乳铁蛋白与牛乳中其他蛋白质相互作用机制研究进展[J]. 食品科学，2015，36（5）：244-249.
ZHOU Y S，FAN F J，LIU M，et al. Interaction mechanism between lactoferrin and other proteins in bovine milk[J]. Food Science，2015，36（5）：244-249.（in Chinese）

[14] IANIRO G，NIRO A，ROSA L，et al. To boost or to reset：the role of lactoferrin in energy metabolism[J]. International Journal of Molecular Sciences，2023，24（21）：15925.

[15] TOKLE T，MCCLEMENTS D J. Physicochemical properties of lactoferrin stabilized oil-in-water emulsions：effects of pH，salt and heating[J]. Food Hydrocolloids，2011，25（5）：976-982.

[16] 王新慧，刘沛尧，许宏扬，等. 牛磺酸的吸收与代谢方式及其在动物生产中的应用研究进展[J]. 中国畜牧杂志，2022，58（5）：16-19.
WANG X H，LIU P Y，XU H Y，et al. Advances in taurine absorption，metabolism and its application in animal production[J]. Chinese Journal of Animal Science，2022，58（5）：16-19.（in Chinese）

[17] 纵伟，余明. 蛋黄免疫球蛋白在食品上的应用[J]. 山西食品工业，2000（3）：36-37，41.
ZONG W，YU M. Application of immunoglobulin of yolk in food industry[J]. Shanxi Food Industry，2000（3）：36-37，41.（in Chinese）

[18] 贾瑞，惠毅，闫曙光，等. 巨噬细胞M1/M2型极化与免疫炎症性疾病关系的研究进展[J]. 中国免疫学杂志，2021，37（22）：2791-2797.
JIA R，HUI Y，YAN S G，et al. Research progress on relationship between macrophage M1/M2 polarization and immune inflammatory diseases[J]. Chinese Journal of Immunology，2021，37（22）：2791-2797.（in Chinese）

[19] SHAPOURI-MOGHADDAM A，MOHAMMADIAN S，VAZINI H，et al. Macrophage plasticity，polarization，and function in health and disease[J]. Journal of Cellular Physiology，2018，233（9）：6425-6440.

[20] KADOMOTO S，IZUMI K，MIZOKAMI A. Macrophage polarity and disease control[J]. International Journal of Molecular Sciences，2021，23（1）：144.

[21] HUBER-RUANO I，RAVENTÓS C，CUARTAS I，et al. An antisense oligonucleotide targeting TGF-*β*2 inhibits lung metastasis and induces CD86 expression in tumor-associated macrophages[J]. Annals of Oncology，2017，28（9）：2278-2285.

[22] YU Y H，FANG J，LI Y Y，et al. The novel effect and potential mechanism of lactoferrin on organ fibrosis prevention[J]. Nutrients，2025，17（1）：197.

[23] XUE R Y，XIE M Y，WU Z Y，et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote recovery of the facial nerve injury through regulating macrophage M1 and M2 polarization by targeting the P38 MAPK/NF-κB pathway [J]. Aging and Disease，2024，15（2）：851-868.

[24] CUI Y，CHEN C，TANG Z Q，et al. TREM2 deficiency aggravates renal injury by promoting macrophage apoptosis and polarization *via* the JAK-STAT pathway in mice[J]. Cell Death & Disease，2024，15：401.

[25] WANG J，SHEN Y，LI C，et al. IL-37 attenuates allergic process *via* STAT6/STAT3 pathways in murine allergic rhinitis[J]. International Immunopharmacology，2019，69：27-33.

[26] MOHAMED W A，SALAMA R M，SCHAALAN 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.

[27] FANG J Q，OU Q，WU B H，et al. TcpC inhibits M1 but promotes M2 macrophage polarization *via* regulation of the MAPK/NF-κB and Akt/STAT6 pathways in urinary tract infection[J]. Cells，2022，11（17）：2674.

[28] NI L Y，ZHUGE F，YANG S，et al. Hydrolyzed chicken meat extract attenuates neuroinflammation and cognitive impairment in middle-aged mouse by regulating M1/M2 microglial polarization[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2021，69（34）：9800-9812.

[29] NI Y H，ZHUGE F，NI L Y，et al. CX3CL1/CX3CR1 interaction protects against lipotoxicity-induced nonalcoholic steatohepatitis by regulating macrophage migration and

M1/M2 status[J]. Metabolism,2022,136:155272.

[30] HWANG S A,KRUZEL M L,ACTOR J K. Influence of bovine lactoferrin on expression of presentation molecules on BCG-infected bone marrow derived macrophages[J]. Biochimie,2009,91(1):76-85.

[31] 陆梦兰,陈财龙,吴江雪,等. 乳铁蛋白通过调节M1/M2巨噬细胞缓解高脂高盐饮食引起的小鼠肾纤维化[J]. 营养学报,2023,45(1):45-50.
LU M L, CHEN C L, WU J X, et al. Lactoferrin alleviates renal fibrosis induced by high fat and salt diet in mice by regulating M1/M2 macrophages [J]. Acta Nutrimenta Sinica,2023,45(1):45-50.(in Chinese)

[32] ZHAO C H, CHEN N, ASHAOLU T J. Prebiotic and modulatory evidence of lactoferrin on gut health and function[J]. Journal of Functional Foods, 2023, 108: 105741.

[33] LATORRE D,PUDDU P,VALENTI P,et al. Reciprocal interactions between lactoferrin and bacterial endotoxins and their role in the regulation of the immune response [J]. Toxins,2010,2(1):54-68.

[34] CONESA C, BELLÉS A, GRASA L, et al. The role of lactoferrin in intestinal health[J]. Pharmaceutics, 2023, 15(6):1569.

[35] CHEA C, MIYAUCHI M, INUBUSHI T, et al. Molecular mechanisms of inhibitory effects of bovine lactoferrin on invasion of oral squamous cell carcinoma [J]. Pharmaceutics,2023,15(2):562.

[36] LEGRAND D. Overview of lactoferrin as a natural immune modulator[J]. The Journal of Pediatrics, 2016, 173:S10-S15.

[37] LEGRAND D. Lactoferrin, a key molecule in immune and inflammatory processes[J]. Biochemistry and Cell Biology,2012,90(3):252-268.

[38] HU P,ZHAO F Z,WANG J,et al. Lactoferrin attenuates lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses and barrier impairment through the modulation of NF-κB/MAPK/Nrf2 pathways in IPEC-J2 cells[J]. Food & Function, 2020,11(10):8516-8526.

[39] 冯叶叶,许军英,逯君霞,等. 细粒棘球蚴通过STAT6促进巨噬细胞向M2型极化[J]. 中国免疫学杂志,2022,38(10):1158-1163.
FENG Y Y, XU J Y, LU J X, et al. *Echinococcus granulosus* promotes macrophage polarization to M2 type *via* STAT6[J]. Chinese Journal of Immunology, 2022, 38(10):1158-1163.(in Chinese)

[40] LIU L, ZHU X X, ZHAO T Y, et al. Sirt1 ameliorates monosodium urate crystal-induced inflammation by altering macrophage polarization *via* the PI3K/Akt/STAT6 pathway [J]. Rheumatology,2019,58(9):1674-1683.

[41] CHEN W, YU H Y, SHI R J, et al. Comparison of carrying mechanism between three fat-soluble vitamins and alpha-lactalbumin: Effects on structure and physicochemical properties of alpha-lactalbumin[J]. Food Hydrocolloids, 2021,116:106662.

[42] 冯学轩,王弋,严家荣,等. 天然蛋白与酵母β-葡聚糖组合物增强免疫力功能研究[J]. 中国免疫学杂志,2021,37(16):1938-1942.
FENG X X, WANG Y, YAN J R, et al. Study on immunity enhancement of natural protein and yeast-β-glucan combination[J]. Chinese Journal of Immunology, 2021,37(16):1938-1942.(in Chinese)

[43] ZHAO M L,ZHU Y Y,WANG H,et al. Recent advances on *N*-acetylneuraminic acid: physiological roles, applications, and biosynthesis[J]. Synthetic and Systems Biotechnology, 2023,8(3):509-519.

（责任编辑：李春丽）