

# 乳源酪蛋白糖巨肽改善炎症性肠病的研究进展

朱晨晨, 陈庆森\*

(天津市食品生物技术重点实验室, 天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134)

**摘要:** 乳源酪蛋白糖巨肽(CGMP)主要是 $\kappa$ -酪蛋白经凝乳酶降解产生的一类含有糖链的多肽, 具有许多的生理活性功能和独特的营养特性, 可广泛地应用于保健食品和医药品。本文首先概括CGMP的来源、结构特点及其研究开发现状, 从炎症性肠病(IBD)的免疫病理机制的角度, 对本实验室和国外在CGMP调理、改善和治疗IBD的相关研究进行系统地介绍, 提出CGMP在一定程度上为IBD的生物免疫治疗提供了新的途径以及展示其广阔的开发前景。

**关键词:** 酪蛋白糖巨肽(CGMP); 炎症性肠病(IBD); 免疫调节; 肠道菌群

## Research Progress in Bovine Casein Glycomacropeptide for the Improvement of Inflammatory Bowel Disease

ZHU Chen-chen, CHEN Qing-sen\*

(Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, College of Biotechnology and Food Science,  
Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China)

**Abstract:** Casein glycomacropeptide (CGMP) is mainly a class of peptides bearing carbohydrate chains derived from the hydrolysis of  $\kappa$ -casein by tenet. Because CGMP has many physiological functions and unique nutritional properties, it can be widely used in the fields of functional food and medicine. CGMP has been reported to have anti-inflammatory activity such as improvement and immunotherapy on inflammatory bowel disease (IBD). In this paper, the sources, structural characteristics and current research status of CGMP are outlined. Recent research advances in the regulatory, improving and therapeutic effects of CGMP on IBD are reviewed. Moreover, the future development prospects of CGMP are also proposed.

**Key words:** casein glycomacropeptide (CGMP); inflammatory bowel disease (IBD); immunoregulation; intestinal flora

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)01-0262-05

炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 是一组病因未明的慢性肠道炎症性疾病, 具有遗传易感性。目前大多学者认为肠壁黏膜免疫调节异常、持续的肠道感染、肠壁黏膜屏障缺损、致病菌和有益菌之间的平衡失调, 遗传和环境等因素共同参与了疾病的发生、发展进程<sup>[1-2]</sup>。临床上对IBD患者的药物治疗包括5-氨基水杨酸、糖皮质激素、抗生素和免疫抑制剂, 但疗效并不令人满意, 且毒副作用较大, 复发率较高, 因此开发一种有效的营养治疗方案成为了该领域的研究热点。

酪蛋白糖巨肽(casein glycomacropeptide, CGMP)是一种来源于牛乳 $\kappa$ -酪蛋白的生物活性肽, 不含芳香族氨基酸, 可作为苯丙酮酸尿症(PKU)患者的营养食品。

此外, CGMP诸多的生物活性已得到证实, 如抗微生物毒素<sup>[3]</sup>、促益生菌增殖<sup>[4-5]</sup>以及免疫调节<sup>[6-7]</sup>等活性, 目前已有许多学者陆续地对CGMP的免疫调节作用进行探索性的研究, 但国内关于其改善和治疗IBD的研究还未见相关报道。本文首先概括CGMP的来源、结构特点及其研究开发现状, 从炎症性肠病的免疫病理机制的角度, 结合本实验室和国外学者最新的研究成果, 对酪蛋白糖巨肽调理、改善和治疗IBD的相关研究进行系统地介绍, 提出CGMP在一定程度上为IBD的生物免疫治疗提供了新的途径以及展示其广阔的开发前景。

## 1 CGMP的来源、结构性质及其研究开发现状

### 1.1 来源

酪蛋白糖巨肽(CGMP)于1953年开始被研究, Alais

收稿日期: 2011-07-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071522)

作者简介: 朱晨晨(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为生物活性肽与健康。E-mail: zcckathy@126.com

\*通信作者: 陈庆森(1957—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为发酵生物技术、蛋白资源开发与应用。E-mail: chenqs1689@163.com

等<sup>[8]</sup>在研究凝乳酶对牛奶酪蛋白溶液的作用时,发现经酶处理后的牛乳以及酪蛋白盐溶液,在12%三氯乙酸溶液的可溶性氮含量明显增加。1956年, Waugh 等<sup>[9]</sup>发现了酪蛋白。1965年, Delfour 等<sup>[10]</sup>发现,利用凝乳酶切断 $\kappa$ -酪蛋白的<sup>105</sup>苯丙氨酸<sup>106</sup>甲硫氨酸部位,产生不溶的副 $\kappa$ -酪蛋白和TCA可溶的多肽两部分。通常此可溶性的多肽有30%~50%是以糖基化的形式存在,因此被称为“糖巨肽”,而酪蛋白来源的此类肽则统称为酪蛋白糖巨肽(CGMP)。

## 1.2 化学结构及特点

$\kappa$ -酪蛋白来源的CGMP的氨基酸序列现已研究清楚<sup>[11]</sup>,它是从 $\kappa$ -酪蛋白的N末端106位甲硫氨酸(Met)开始至169位C末端缬氨酸(Val)结束的64个氨基酸残基构成的,其序列有A/B型两种,即:<sup>106</sup>H·Met-Ala-Ile-Pro-Pro<sup>110</sup>-Lys-Lys-Asn-Gln-Asp-Lys-Thr-Glu-Ile-Pro<sup>120</sup>-Thr-Ile-Asn-Thr-Ile-Ala-Ser-Gly-Glu-Pro<sup>130</sup>-Thr-Ser-Thr-Pro-Thr-Thr-Ile-Glu-Ala-Val-Glu<sup>140</sup>-Ser-Thr-Val-Ala-Thr-Leu-Glu-Asp/Ala-Ser-Pro<sup>150</sup>-Glu-Val-Ile-Glu-Ser-Pro-Pro-Glu-Ile-Asn<sup>160</sup>-Thr-Val-Gln-Val-Thr-Ser-Thr-Ala-Val<sup>169</sup>·OH。其结构特点是富含支链氨基酸,几乎不含有芳香族氨基酸如苯丙氨酸(Phe),只含有一个甲硫氨酸(Met),没有二级结构,其在波长280nm处无吸收峰,很难用考马斯亮蓝染色法检测,只在205~217nm处有吸收峰,因此,经常用210nm/280nm处的紫外(UV)吸收差来评价CGMP的纯度。

牛的CGMP主要有A型和B型两种<sup>[12]</sup>,它们的不同在于此多肽链的136位和148位的氨基酸不同,即A型的136位和148位氨基酸分别为苏氨酸(Thr)和天冬氨酸(Asp),而B型的为异亮氨酸(Ile)和丙氨酸(Ala)。CGMP中的131、133、135、136位和142位的苏氨酸残基为糖配体化的部位,127位和149位的丝氨酸(Ser)为磷酸化的部位<sup>[13-15]</sup>,都是实现其生理功能的重要位点。

在酪蛋白糖聚肽中,糖基基团主要有3种:Gal-半乳糖、N-乙酰神经氨酸(NeuNAc,也称唾液酸)、N-乙酰氨基半乳糖(GalNAc),糖链主要是以O-糖苷型结合的2种中性和3种酸性糖链,90%以上的结合糖链都含唾液酸。已经被证实存在5种糖<sup>[16]</sup>:单糖:GalNAc-O-R(0.8%);二糖:Gal $\beta$ <sub>1</sub>→3GalNAc-O-R(6.3%);三糖:NeuAc $\alpha$ <sub>2</sub>→3Gal $\beta$ <sub>5</sub>→3GalNAc-O-R(18.4%);三糖:Gal $\beta$ <sub>1</sub>→3(NeuA $\alpha$ <sub>2</sub>→6)GalNAc-O-R(18.5%);四糖:NeuAc $\alpha$ <sub>2</sub>→3Gal $\beta$ <sub>1</sub>→3(NeuAc $\alpha$ <sub>2</sub>→6)GalNAc-O-R(56%)。

## 1.3 研究开发现状

目前,生产CGMP的方法主要有以下两种:一是从甜乳清中分离纯化CGMP,二是用酶水解牛乳酪蛋白生产CGMP,其中以第一种方法较多。其分离方法主要涉及沉淀法、超滤法、色谱分离法以及综合分离纯化

的方法。早期制备CGMP的方法主要是在酸性介质中分离热处理变性后的乳清蛋白,再用乙醇选择性沉淀。1988年, Morr 等<sup>[17]</sup>利用三氯乙酸(TCA)沉淀法只能分离出含有糖配体的CGMP,并且CGMP的回收率只占乳清粉的6.7%<sup>[18]</sup>。Tolkach 等<sup>[19]</sup>于2004年建立用谷氨酰胺转氨酶(transglutaminase, TGase)交联和膜分离技术相结合的方法分离乳清蛋白中的各种活性成分,得到了较好的效果。本实验室李博智等<sup>[20]</sup>利用谷氨酰胺转氨酶(TGase)结合微滤技术从乳清中分离纯化CGMP。通过实验得出最佳酶反应条件为乳清粉质量浓度8g/100mL,谷氨酰胺转氨酶添加量7U/g、pH6.5、温度39℃、反应时间80min,最后经微滤可得到纯度为70%左右的CGMP。其分离方法步骤简单、分离周期短、成本较低,易于扩大生产。但是由于所得的CGMP为交联体,其生物学功能尚不明确,然而作为苯丙酮酸尿症(phenylketonuria, PKU)病人的专用蛋白补剂将具有很好的开发前景。此外,本实验室始终以努力提高原料乳的附加值和综合利用水平为宗旨,利用不同技术手段成功地从乳中分离纯化出CGMP,并建立起了相应的成熟工艺路线<sup>[20-21]</sup>,为实现CGMP以及相关生物活性产物的产业化打下了坚实的基础。到目前为止,工业化生产CGMP主要考虑的因素包括生产价格、产品纯度以及操作周期。日本一家公司同时采用先进的过滤技术以及离子交换技术,最早实现了CGMP的工业化,为CGMP广泛的应用提供了可能。美国的威斯康星也产业化CGMP。国内尚无此产品的工业化生产。总之,对CGMP的制备以及实现产业化的技术还需深入地探讨和研究。

## 2 IBD 发病机理

### 2.1 免疫因素

#### 2.1.1 免疫调节细胞

原始T细胞可分化为各种T细胞亚群,包括辅助性T细胞(Th细胞)、抑制性T细胞(Ts细胞)和调节性T细胞(Treg细胞)等。1986年, Mosmann 等<sup>[22]</sup>首先将Th细胞分为Th1和Th2两大类。Th1细胞以表达IL-12、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 为主,介导细胞免疫;Th2细胞以表达IL-4、IL-5、IL-10为主,介导体液免疫反应。Th1和Th2细胞之间相互作用调节着机体免疫平衡,维持机体内环境的相对稳定,研究报道显示Th1/Th2亚群失衡可能是IBD的重要发病机制之一<sup>[23-24]</sup>。

Treg细胞是一类不同于Th1和Th2的T细胞亚群,依赖特异性转录因子Foxp3以维持稳定表达,并通过细胞—细胞间直接接触和释放IL-10、TGF- $\beta$ 等细胞因子而抑制自身反应性T细胞的增殖活化,维持自身免疫耐受<sup>[25]</sup>。根据表面标志物、分泌的细胞因子及作用机制的

不同,可分为不同的亚型,目前对这类细胞研究较多的一类亚型是 $CD4^{+}CD25^{+}$  Treg 细胞,可从人的胸腺和外周血中分离到。大量动物实验表明,如果 $CD4^{+}CD25^{+}$  Treg 细胞数量减少、功能异常或抑制功能受损,均可导致肠黏膜损伤,从而诱发 IBD,然而,给予 Treg 细胞可治愈实验动物肠道炎症<sup>[26]</sup>。因此 Treg 细胞在 IBD 的发病和治疗中起着重要作用。

Th17 细胞是新近发现的 $CD4^{+}$  T 细胞亚群,其主要分泌 IL-17。近年对 IBD 遗传背景的研究发现, Th17 细胞产生的 IL-17 及影响 Th17 细胞分化的 IL-23 受体基因多态性与 IBD 的发病相关<sup>[27-28]</sup>,提示 Th17 细胞参与了 IBD 的发病过程。研究也表明 T 细胞各亚群之间是相互制约,且在一定条件下可相互转化。IBD 的免疫紊乱可能是多细胞亚群之间的失衡造成的。

### 2.1.2 细胞因子

细胞因子主要由活化的免疫细胞产生,在免疫应答过程中起着重要的调节作用。IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-23、TNF- $\alpha$ 、IFN 等属于促炎细胞因子,主要由单核细胞以及巨噬细胞产生,参与细胞免疫反应。抗炎细胞因子包括 IL-4、IL-5、IL-10 和 IL-13 等,主要由 T 细胞产生,参与体液免疫反应。促炎细胞因子与抗炎细胞因子之间的平衡失调被视为 IBD 的重要发病机制,细胞因子失调可由 Th1/Th2 紊乱引起,并反馈性地加重 Th1/Th2 失衡,从而形成恶性循环。近期的研究还显示,炎症是生物体应对病原体和有害刺激时的复杂生物反应。半胱氨酸蛋白酶-1(caspase-1)通过切割 IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 IL-33 的前体,参与了炎症反应;Caspase-1 的激活是自身严格调控的,并成为限制炎症的又一个独特机理,也就是说 Caspase-1 炎性体在自体炎症疾病中发挥重要的作用<sup>[29]</sup>。

### 2.1.3 肠黏膜屏障

肠上皮细胞有 Toll 样受体(TLR)、NOD1、NOD2 受体以及特异性抗体的受体表达,上皮细胞特异性 NF- $\kappa$ B 激活或抑制成为 IBD 免疫应答激活或抑制的节点。NF- $\kappa$ B 信号通路既能维持肠上皮正常黏膜内环境稳定,又可介导病原特异性应答,对黏膜屏障兼具保护和损害作用。散布于绒毛隐窝中的 Paneth 细胞、杯状细胞等均能对抗微生物,并且有助于上皮细胞和肠黏膜的修复,减轻结肠炎症损伤程度。提示肠上皮屏障损伤可能参与了 IBD 的发病过程。

### 2.2 微生物因素

肠道内存在着大量的微生物,这些共生菌群与人体健康息息相关。Mazmanian 等<sup>[30]</sup>研究证明肠道菌群失调是造成免疫失衡,诱发 IBD 等肠道疾病的主要原因。动物实验也显示,特发性慢性结肠炎可能完全是由肠道菌

群失调所致,大多数动物在无菌环境中不发生结肠炎,但在肠道菌群内环境发生改变时迅速发生结肠炎<sup>[31]</sup>。正常肠道共生菌群及其产物可能作为自身抗原而诱导免疫耐受,肠道感染时,一些条件致病菌损害肠黏膜屏障,肠腔内细菌及其产物等抗原移位至肠黏膜固有层并激活黏膜免疫系统,使之对肠腔内抗原失去耐受,从而诱发 IBD。临床观察显示微生物所致的肠道感染能使缓解期 IBD 复发<sup>[32]</sup>。

## 3 乳源 CGMP 对 IBD 的改善作用

近年来,本实验室在连续获得两项国家自然科学基金的资助下,系统地从 CGMP 对肠道免疫调控系统、肠道菌群变化以及和肠道炎症反应的相关性等方面进行了研究。

### 3.1 乳源 CGMP 对 IBD 的免疫调节作用研究

贾玉臣等<sup>[33]</sup>以 UC 动物模型为对象,初步研究了 CGMP 对恶唑酮(oxazolone, OXZ)诱导小鼠结肠炎的治疗效果,从 CGMP 对模型小鼠的体质量、结肠炎的 3 项氧化损伤指标(二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)及丙二醛(malondialdehyde, MDA))、大体形态损伤评分以及病理组织形态的影响这四个方面进行了探讨。实验结果表明, OXZ 诱导的小鼠结肠炎模型对照组的氧化损伤指标 DAO 活力、MPO 活力以及 MDA 含量均比正常小鼠组显著升高,由此可知溃疡性结肠炎小鼠的结肠组织具有明显的氧化损伤;通过灌胃不同剂量的 CGMP,结果显示低剂量的 CGMP 使溃疡性结肠炎小鼠结肠组织中的 MPO 活力显著降低,中剂量的 CGMP 使溃疡性结肠炎小鼠 DAO 活力、MPO 活力及 MDA 含量显著降低,高剂量 CGMP 使溃疡性结肠炎小鼠 DAO 活力和 MPO 活力显著降低,因此, CGMP 可能通过发挥抗炎活性抑制肠道炎症反应,从而使溃疡性结肠炎的病征得到缓解。此外研究结果还证实了 CGMP 能够保持较完整的上皮细胞,维持结肠组织形态的完整。灌胃低、中、高剂量的 CGMP 一段时间后,可有效改善 OXZ 诱导的小鼠结肠炎,其中以中剂量 CGMP 的作用较为显著。因此 CGMP 可作为一种营养方案使小鼠的溃疡性结肠炎在一定程度上得到治疗。

Daddaoua 等<sup>[34]</sup>以 IBD 动物模型为对象,研究了 CGMP 对三硝基苯磺酸(trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)诱导大鼠结肠炎的治疗效果,从 CGMP 对模型大鼠的体质量、大体形态损伤评分以及与炎症相关的因子(如 AP、iNOS、IL-1 $\beta$ 、TFF3 等)在结肠炎中的表达水平等方面研究 CGMP 在肠道中的抗炎作用,并且进一步比较了 CGMP 与治疗 IBD 的药物柳氮磺胺吡啶的抗炎效

果。研究证实灌胃合适剂量的 CGMP 可以有效地降低结肠炎大鼠的形态损伤、AP 的活性和 iNOS 等炎症因子的表达,其抗炎效果与柳氮磺胺吡啶相同。Requena 等<sup>[35]</sup>也以 IBD 动物模型为对象,研究了 CGMP 对 TNBS 诱导大鼠回肠炎的治疗效果,研究证实灌胃合适剂量的 CGMP 可显著降低回肠炎大鼠的形态损伤、MPO 活力、iNOS 和 COX-2 的表达,其抗炎效果与治疗 IBD 的药物 5- 对氨基水杨酸相同。该研究还发现 Th17 和 Treg 细胞在 CGMP 的抗炎作用中起着重要作用,与 TNBS 模型对照组相比,灌胃合适剂量的 CGMP 可显著降低回肠炎大鼠 Treg 细胞的表面标记 Foxp3 的表达和 Th17 表达的 IL-17 mRNA 水平,由此可知 CGMP 可能通过调节 Treg 细胞的数量和功能以及下调 IL-17 发挥抗炎作用来改善和缓解回肠炎的病症。

目前 IBD 的发病机制已从细胞因子、转录因子、肠道菌群等方面得以阐释,炎症细胞因子和抗炎细胞因子之间的平衡将成为治疗 IBD 的重要靶点。贾玉臣等<sup>[36]</sup>研究了 CGMP 对健康小鼠 IFN- $\gamma$  和 IL-4 的调节作用,探讨 CGMP 可能通过调节 Th1/Th2 的失衡从而发挥在肠道内的抗炎作用,使 IBD 的病症得以缓解。研究显示灌胃小鼠 CGMP 12h 内 IL-4 会出现明显的增高趋势,而在实验期间 IFN- $\gamma$  并未呈现明显的变化趋势;在连续 5d 灌胃 CGMP 的实验期间,CGMP 组小鼠在灌胃后第 2 天至第 5 天肠黏膜的 IL-4 质量浓度明显高于对照组和空白对照组,而 IFN- $\gamma$  在实验期间也未表现出明显的变化趋势,从而使得在连续灌胃后的第 2 天至第 5 天 CGMP 组的 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值较空白对照组与生理盐水组均低,提示 CGMP 可能具有下调 Th1/Th2 的潜在功效,但是 CGMP 对 IFN- $\gamma$  的影响是不显著的,该结论与 Requena 等<sup>[37]</sup>近期的研究成果是一致的。CGMP 可促进抗炎细胞因子 IL-4 表达的结论为进一步研究 CGMP 在肠道内的抗炎机制提供了佐证,同时也表明调控 Th1 和 Th2 平衡对解决相关炎症性疾病具有重要作用。Requena 等<sup>[38]</sup>还研究发现了 CGMP 可以通过激活 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 信号转导途径而诱导细胞因子的产生。众多资料显示 UC 和 CD 患者肠黏膜组织活检中 NF- $\kappa$ B p65 亚单位表达明显上调,在 IBD 复杂的细胞因子网络失调中,NF- $\kappa$ B 活化可能是一中心环节,因此 CGMP 介导 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 等信号转导途径的激活是其发挥抗炎作用、调理和治疗 IBD 可能的作用机制。本实验室最近也完成了乳源 CGMP 改善小鼠溃疡性结肠炎机制的研究,以灌胃 CGMP 剂量为 50mg/(kg·d),连续灌胃 5d 为基础,利用流式微珠阵列技术(cytometric bead array, CBA)和酶联免疫技术(ELISA)检测各组小鼠血清中细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-4、IL-5、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-10 的浓度,并利用 Western Blotting 技术检测各组小鼠结肠组织蛋白中 MAPK p38 和 NF- $\kappa$ B p65 表达的差异,从细胞因子和免

疫信号通路的角度探讨 CGMP 发挥抗炎活性的机制。研究证实 CGMP 通过抑制溃疡性结肠炎小鼠体内 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 的激活,有效抑制 UC 小鼠体内 IL-1 $\beta$ 、IL-5、IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  的升高,同时促进 IL-10 的分泌,从而减缓炎症程度。

### 3.2 乳源 CGMP 维持肠道微生物菌群作用的研究

大量研究和临床观察发现肠道菌群失调和内环境的改变和肠道持续感染会引起 IBD 的发生和复发。曹晋宜等<sup>[5]</sup>研究了 CGMP 对小鼠肠道菌群消长规律的影响,研究证实 CGMP 不同灌胃剂量对小鼠肠道微生物区系中各菌群的影响存在显著的促进和调控优势菌群生长的特性,对构建膜菌群具有显著的作用。其中中剂量组(80 $\mu$ g/d 和 100 $\mu$ g/d)可以有效促进双歧杆菌和乳酸杆菌增殖,同时能够有效降低肠杆菌、肠球菌,特别是致病菌的繁殖,有效降低了肠道中致病菌和条件致病菌的数量,可以调整机体的微生态平衡,增强机体的免疫力。由此可知灌胃适当剂量的 CGMP 后肠道中益生菌得到显著的增殖,条件致病菌和致病菌的增殖得到有效抑制,这就可以有效地防止细菌易位现象的发生,实现了对肠道占位性保护作用。提示我们 CGMP 可能通过维持肠道微生态的平衡,纠正菌群失调,从而具有可以改善和调理 IBD 的作用。2010 年曹晋宜等<sup>[39]</sup>报道了基于 ERIC-PCR 技术研究 CGMP 对小鼠肠道菌群结构的影响,其目的是了解 CGMP 对小鼠肠道中微生物群落结构及其动态变化的影响。研究结果证实了小鼠肠道内的微生物群落非常丰富,普遍存在共有的优势菌群,且优势菌群的群落结构较为稳定;CGMP 能够显著增加小鼠肠道菌群的多样性;聚类分析结果显示:对照组小鼠个体在不同时间的肠道菌群结构相似性较高,对照组小鼠肠道菌群多样性指数范围为 1.75  $\pm$  0.06,CGMP 组多样性指数范围为 1.89  $\pm$  0.04,二者之间差异有统计学意义。研究表明采用 ERIC-PCR 技术分析鉴定在灌胃小鼠 CGMP 期间其 ERIC-PCR 指纹图谱没有明显的规律;CGMP 组小鼠个体的 ERIC-PCR 指纹图谱被明显地分成两个亚族,说明小鼠灌胃 CGMP 3~5d 后,其肠道菌群的群落结构开始发生明显变化。

## 4 结 语

综上所述,IBD 的发病机理以及开发一种有效的治疗方案一直是该领域的研究热点。本实验室和国外的最新研究可以证实 CGMP 具有抗炎活性,在一定程度上可以改善、缓解和治愈 IBD。同时,CGMP 是一种乳源的生物活性肽,具有广泛的生物学功能,决定了其潜在的商业价值和开发的可行性。因此 CGMP 可以作为功能性食品用于炎症性肠病的生物免疫治疗,为解决 IBD 等常见、难愈疾病提供了一条新的、有效的途径。但 CGMP 的科学明确的抗炎活性机制还有待于后续从分子

水平上研究解决,围绕其对一些免疫分子和免疫信号途径的影响将有助于进一步阐明治疗 IBD 的机制。

#### 参考文献:

- [1] SARTOR R B. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis[J]. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 2006, 3 (7): 390-407.
- [2] XAVIER R J, PODOLSKY D K. Unraveling the pathogenesis of inflammatory bowel disease[J]. *Nature*, 2007, 448: 427-434.
- [3] OH S, WOROBO R W, KIM B, et al. Detection of cholera toxin-binding activity of  $\kappa$ -casein macropeptide and optimization of its production by the response surface methodology[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2000, 64(3): 516-522.
- [4] 曹晋宜, 陈庆森. 酪蛋白糖巨肽(CGMP)对小鼠盲肠中微生物区系的影响[J]. *食品科学*, 2008, 29(10): 582-585.
- [5] 曹晋宜, 陈庆森, 王友湘. 酪蛋白糖巨肽(CGMP)对小鼠肠道菌群消长规律的影响[J]. *食品科学*, 2007, 28(11): 536-540.
- [6] OTANI H, HATA I. Inhibition of proliferative responses of mouse spleen lymphocytes and rabbit Peyer's patch cells by bovine milk caseins and their digests[J]. *Journal of Dairy Research*, 1995, 62(2): 339-348.
- [7] 李伟, 陈庆森. 酪蛋白糖巨肽对小鼠肠道免疫系统的影响[J]. *食品科学*, 2010, 31(15): 240-243.
- [8] ALAIS Ch, MOCQUOT G, NITSCHMANN Hs, et al. Das Lab und seine Wirkung auf das Casein der Milch. VII. Über die Abspaltung von Nicht-Protein-Stickstoff (NPN) aus Casein durch Lab und ihre Beziehung zur Primärreaktion der Labgerinnung der Milch[J]. *Helvetica Chimica Acta*, 1953, 36(7): 1955-1968.
- [9] WAUGH D F, PETER H.  $\kappa$ -Casein and the stabilization of casein micelles[J]. *American Chemical Society*, 1956, 78(18): 4576-4582.
- [10] DELFOUR A, JOLLÈS J, ALAIS C. Caseino-glycopeptides: characterization of a methionine residue and of the N-terminal sequence[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1965, 19(4): 452-455.
- [11] BRODY E P. Biological activities of bovine glycomacropeptide[J]. *British Journal of Nutrition*, 2000, 84(Suppl 1): 39-46.
- [12] FARRELL H M, JIMENEZ-FLORES R, BLECK G T. Nomenclature of the proteins of cows'milk-sixth revision[J]. *Dairy Science*, 2004, 87 (6): 1641-1674.
- [13] FIAT A M, JOLLÈS P. Caseins of various origins and biologically active casein peptides and oligosaccharides: structural and physiological aspects[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1989, 87(1): 5-30.
- [14] PISANO A, PACKER N H, REDMOND J W. Characterization of O-linked glycosylation motifs in the glycopeptide domain of bovine  $\kappa$ -casein[J]. *Glycobiology*, 1994, 4(6): 837-844.
- [15] ZEVAO C, RIBADEAU-DUMAS B. A study on the carbohydrate binding sites of  $\kappa$ -casein using high performance liquid chromatography [J]. *Milchwissenschaft*, 1984, 39: 206-210.
- [16] SAITO T, YAMAJI A, ITOH T. A new isolation method of caseinoglycopeptide from sweet cheese whey[J]. *Dairy Science*, 1991, 74 (9): 2831-2837.
- [17] MORR C V, SEO A. Fractionation and characterization of glycomacropeptide from caseinate and skim milk hydrolysates[J]. *Food Science*, 1988, 53(1): 80-87.
- [18] LI E W Y, MINE Y. Technical note: comparison of chromatographic profile of glycomacropeptide from cheese whey isolated using different methods[J]. *Dairy Science*, 2004, 87(1): 174-177.
- [19] TOLKACH A, KULOZIK U. Fractionation of whey proteins and caseinomacropeptide by means of enzymatic crosslinking and membrane separation techniques[J]. *Food Engineering*, 2005, 67(1): 13-20.
- [20] 李博智, 闫亚丽, 陈庆森. 利用 TGase 结合微滤技术从乳清粉中分离纯化 CGMP 的研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(20): 94-100.
- [21] 陈绪卓, 陈庆森. 甜乳清粉中酪蛋白糖聚肽(CGMP)的分离及刺激小鼠肠道分泌 IgA 特性的研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(6): 327-331.
- [22] MOSMANN T R, CHERWINSKI H, BOND M W, et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins[J]. *Immunology*, 1986, 136(7): 2348-2357.
- [23] FUSS I J, NEURATH M, BOIRIVANT M, et al. Disparate CD4<sup>+</sup> lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of IFN- $\gamma$ , whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5[J]. *Immunology*, 1996, 157(3): 1261-1270.
- [24] HELLER F, FLORIAN P, BOJARSKI C, et al. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution[J]. *Gastroenterology*, 2005, 129(2): 550-564.
- [25] HORI S, NOMURA T, SAKAGUCHI S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3[J]. *Science*, 2003, 299: 1057-1061.
- [26] IZCUE A, COOMBES J L, POWRIE F. Regulatory T cells suppress systemic and mucosal immune activation to control intestinal inflammation[J]. *Immunological Reviews*, 2006, 212(1): 256-271.
- [27] MCGOVERN D P, ROTTER J I, MEI L, et al. Genetic epistasis of IL23/IL17 pathway genes in Crohn's disease[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2009, 15(6): 883-889.
- [28] SEIDERER J, ELBEN I, DIEGELMANN J, et al. Role of the novel Th17 cytokine IL-17F in inflammatory bowel disease(IBM): upregulated colonic IL-17F expression in active Crohn's disease and analysis of the IL17F p.His161Arg polymorphism in IBM[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2008, 14(4): 437-445.
- [29] LAMKANFI M, KANNEGANTI T D, FRANCHI L, et al. Caspase-1 inflammasomes in infection and inflammation[J]. *Leukocyte Biology*, 2007, 82(2): 220-225.
- [30] MAZMANIAN S K, ROUND J L, KASPER D L. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease[J]. *Nature*, 2008, 453: 620-625.
- [31] SELLON R K, TONKONOGY S, SCHULTZ M, et al. Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10-deficient mice[J]. *Infection and Immunity*, 1998, 66(11): 5224-5231.
- [32] 欧阳钦. 炎症性肠病的病因和发病机制[J]. *实用医学杂志*, 2003, 19 (5): 448-449.
- [33] 贾玉臣, 陈庆森. 乳源酪蛋白糖巨肽改善小鼠溃疡性结肠炎的研究 [J]. *食品科学*, 2010, 31(21): 365-368.
- [34] DADDAOUA A, PUERTA V, ZARZUELO A, et al. Bovine glycomacropeptide is anti-inflammatory in rats with hapten-induced colitis [J]. *Nutritional Immunology*, 2005, 135(5): 1164-1170.
- [35] REQUENA P, DADDAOUA A, PLATA E M, et al. Bovine glycomacropeptide ameliorates experimental rat ileitis by mechanisms involving downregulation of interleukin 17[J]. *Pharmacology*, 2008, 154(4): 825-832.
- [36] 贾玉臣, 陈庆森. 乳源糖巨肽对小鼠 IFN- $\gamma$  和 IL-4 的调节作用[J]. *中国乳品工业*, 2010, 38(11): 11-14.
- [37] REQUENA P, GONZÁLEZ R, LÓPEZ-POSADAS R, et al. The intestinal anti-inflammatory agent glycomacropeptide has immunomodulatory actions on rat splenocytes[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2010, 79(12): 1797-1804.
- [38] REQUENA P, DADDAOUA A, GUADIX E, et al. Bovine glycomacropeptide induces cytokine production in human monocytes through the stimulation of the MAPK and the NF- $\kappa$ B signal transduction pathways [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2009, 157(7): 1232-1240.
- [39] 曹晋宜, 陈庆森. 基于 ERIC-PCR 技术研究酪蛋白糖巨肽对小鼠肠道菌群结构的影响[J]. *中国微生态学杂志*, 2010, 22(9): 769-772.