

# 激素及细胞因子调控奶牛乳腺上皮细胞 增殖和泌乳的研究进展

母晓佳 李大彪\*

(内蒙古农业大学动物科学学院, 内蒙古自治区高校动物营养与饲料科学重点实验室, 呼和浩特 010018)

**摘要** 奶牛乳腺上皮细胞(bovine mammary epithelial cells, BMECs)具有分泌乳汁的特殊功能, BMECs的增殖和泌乳主要受激素和细胞因子等多种因素控制。该文总结了近年泌乳相关激素和细胞因子调控BMECs增殖及泌乳的研究进展和有待进一步解决的问题, 为今后系统研究BMECs增殖和泌乳调控信号通路开拓思路, 提供参考。

**关键词** 激素; 细胞因子; BMECs; 泌乳

## Research Progress of Hormone and Cytokine Regulating Proliferation and Lactation of Bovine Mammary Epithelial Cells

MU Xiaojia, LI Dabiao\*

(College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010018, China)

**Abstract** BMECs (bovine mammary epithelial cells) have a special function of secreting milk. The proliferation and lactation of BMECs are mainly controlled by hormones and cytokines. This paper reviews the latest research progress and problems that need to be solved in the regulation of BMECs proliferation and lactation by lactation-related hormones and cytokines, so as to provide reference for the systematic study of BMECs proliferation and lactation regulation signal pathway in the future.

**Keywords** hormone; cytokines; BMECs; lactation

牛奶中含有丰富的营养物质, 现如今是人们离不开的饮品。中国作为一个发展中国家, 奶业发展十分迅速<sup>[1]</sup>。动物乳腺是一种具有泌乳功能的特殊组织。奶牛乳腺是由上皮组织和结缔组织组成的可再生组织, 其发育和泌乳的过程受到泌乳相关激素、生长因子和细胞因子等多种因素的调控。乳腺细胞包括上皮细胞和基质细胞两种主要的细胞类型, 它们广泛分布于导管网络。奶牛乳腺上皮细胞 (bovine mammary epithelial cells, BMECs) 不仅有合

成分泌牛乳成分的功能, 还是乳腺生物反应器的靶细胞。体外培养的BMECs是研究乳成分合成调控和乳腺生理代谢的良好模型。因此, 解析BMECs相关泌乳功能有助于提高奶牛产奶量和乳品质, 并拓展我们对泌乳生物学和乳腺疾病的认知。

泌乳相关激素和细胞因子对于BMECs的增殖及泌乳的启动和维持具有重要的调控作用。有些激素具有促生长作用, 有些激素具有抑制生长作用。研究表明, 催乳素 (prolactin, PRL)、生长激素

收稿日期: 2020-11-23 接受日期: 2021-03-01

国家自然科学基金(批准号: 31860652)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 18947196215, E-mail: dkylb@imau.edu.cn

Received: November 23, 2020 Accepted: March 1, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31860652)

\*Corresponding author. Tel: +86-18947196215, E-mail: dkylb@imau.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5540>

(growth hormone, GH)和雌激素(estrogen, E)在乳腺发育和乳汁分泌过程中起着非常重要的作用<sup>[2]</sup>,此外其他激素也参与上述过程,例如脂联素(adiponectin, ADPN)、催产素(oxytocin, OT)、瘦素(leptin, LP)和胰岛素(insulin, INS)等<sup>[3]</sup>,在发育和泌乳过程中扮演着重要的角色。除了这些激素以外,还有很多重要的细胞因子参与乳腺发育和泌乳相关过程,例如胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)、干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )和肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)等都发挥着重要的作用。

## 1 激素对BMECs增殖和泌乳的影响

目前,激素和细胞因子在很大程度上影响了泌乳生物学的发展,其中激素的影响是最主要的。乳腺在发育过程中受到多种肽类和甾类激素的调节,激素及其信号转导系统可以促进乳腺的发育,这对于泌乳的启动和维持是至关重要的。近年来,学者们对BMECs的分离培养开展了大量研究,并成功在体外建立起BMECs细胞系<sup>[4]</sup>。研究人员利用体外培养的BMECs开展了一系列关于添加泌乳相关激素的研究,揭示了相关基因调控网络及细胞信号转导机理,并且为奶牛生产性能及乳品质的提高提供了重要的理论依据。

### 1.1 生长激素(GH)

GH是由人体脑垂体前叶分泌的一种肽类激素,能促进骨骼、内脏和蛋白质合成,除了调控反刍动物乳腺发育和哺乳期的分泌过程以外,也有与催乳素协同诱导和维持泌乳的作用<sup>[5-7]</sup>。GH在泌乳奶牛乳腺中的实质作用是诱导BMECs的生长和增殖<sup>[8]</sup>,并增加BMECs中乳蛋白基因的表达<sup>[9]</sup>。研究证明,外源性GH的使用能够提高奶牛的产奶量,并且在体内和体外添加GH的结果表明,GH均能够调节BMECs乳蛋白的mRNA丰度<sup>[10]</sup>,并能够影响永生细胞系(MAC-T)及乳腺组织块模型的成脂特性,即调控三酰甘油和鞘磷脂的比例<sup>[11]</sup>。KLEINBERG等<sup>[12]</sup>研究发现,GH促进基质细胞产生胰岛素样因子-1。SAKAMOTO等<sup>[13]</sup>进一步研究发现,在培养基中添加不同浓度的GH能够增加BMECs酪蛋白的表达量,并提高BMECs的增殖率。前人研究发现,mTOR信号通路是级联调控营养、内分泌及乳蛋白合成的控制点,

并且向泌乳奶牛注射缓释的GH可以改变mTOR信号途径介导的mRNA翻译起始和延伸,进而增加乳蛋白产量<sup>[14-16]</sup>。WANG等<sup>[17]</sup>研究表明,在无血清培养基中添加GH(100 ng/mL)能够增加BMECs中CSN3的表达量,并促进酪蛋白的合成。YONEKURA等<sup>[18]</sup>研究发现,GH受体(growth hormone receptor, GHR)的mRNA和酪蛋白都在BMECs中有所表达,并且认为GHR可能参与GH和PRL的互作,并促进酪蛋白合成和分泌的过程。

### 1.2 催乳素(PRL)

PRL是一种由垂体前叶腺嗜酸细胞分泌的蛋白质激素,其主要作用为促进乳腺发育生长,刺激并维持泌乳,刺激卵泡LH受体生成等<sup>[19]</sup>。PRL在乳腺发育过程中与乳腺上皮细胞的催乳素受体结合,从而刺激乳腺腺泡发育,促进乳的生成与分泌<sup>[20]</sup>。PLAUT等<sup>[21]</sup>通过研究发现,连续三周给奶牛注射少剂量的PRL(1  $\mu$ g/kg, 2次/天)会引起产奶量增加,并且增加乳成分中 $\beta$ -球蛋白的含量,但是给泌乳期奶牛注射PRL抑制剂溴麦角隐亭可导致产奶量下降。WANG等<sup>[22]</sup>研究表明,添加PRL上调了BMECs中催乳素受体(recombinant prolactin receptor, PRLR)、STAT5及整合素的表达,使磷酸化的STAT5入核后介导 $\beta$ -酪蛋白的转录。YONEKURA等<sup>[18]</sup>研究表明,PRL通过促进乳蛋白合成相关的STAT5和AKT1/mTOR信号途径,在乳蛋白的转录和翻译中发挥重要作用。PRL能够显著促进BMECs增殖,有研究证明在48 h之内,50 ng/mL的催乳素可以促进细胞的增殖,但48 h之后需要的催乳素浓度为500 ng/mL<sup>[23]</sup>。邢媛媛等<sup>[24]</sup>研究表明,催乳素能够调控乳蛋白的合成,在低浓度组时随着PRL浓度的增加调控呈正向关系,并且浓度范围在100~300 ng/mL时能够促进BMECs的增殖,而高浓度(1 000 ng/mL)组的催乳素抑制奶牛乳腺乳蛋白的合成和增殖。陈静等<sup>[25]</sup>实验证明,长期处于高浓度的PRL环境下会造成BMECs反应性降低,PRLR基因表达量减少,最终减弱PRL的作用。

### 1.3 瘦素(LP)

瘦素是一种由脂肪组织分泌的多肽类激素,广义上认为它进入血液循环后会参与糖、脂肪及能量代谢的调节,促使机体减少摄食、增加能量释放、抑制脂肪细胞的合成,进而使体重减轻。进一步研究发现,LP基因不仅在脂肪细胞中表达,在BMECs

中也有表达,并且在乳汁中存在LP蛋白<sup>[26]</sup>。LP在动物孕期以及哺乳期有关营养物质分配和能量代谢过程中发挥着平衡能量的作用<sup>[27]</sup>。有研究证明在奶牛青春期前,饲喂日增重大于1 kg的高能量饲料可使乳腺实质内脂肪细胞体积增加<sup>[28]</sup>,会导致乳腺中LP浓度高于血清中的浓度<sup>[29]</sup>。郭洪波等<sup>[30]</sup>研究发现,瘦素及其受体在乳腺不同时期细胞中的分布变化表明,瘦素专一性诱导OB-Rb的表达,且通过与OB-Rb的结合调控乳腺的发育和泌乳功能。FEUERMAN-NV等<sup>[31]</sup>研究表明,LP与受体结合后,可通过调控mTOR信号通路刺激BMECs增殖抑制细胞凋亡,促进乳蛋白的合成,而SILVA等<sup>[32]</sup>研究发现,LP能够结合其受体(OB-Rb),激活SATA信号通路,进而加速BMECs的分化,降低细胞的增殖率从而减少奶牛泌乳量。杜瑞平等<sup>[33]</sup>关于LP和PRL互作的研究结果表明,在BMECs培养液中添加100 ng/mL LP的基础上,添加1 μg/mL PRL促进了BMECs的增殖,并对 $\alpha$ 1-酪蛋白、 $\kappa$ -酪蛋白和 $\beta$ -LGB乳蛋白的基因及乳蛋白合成相关基因表达有显著的促进作用,且通过调控信号转导因子*JAK2*、*STAT5*与*mTOR*基因表达,从而影响乳蛋白基因的表达。此外相关研究结果证明,生长激素、地塞米松、胰岛素和PRL在未分化和功能分化阶段均能降低BMECs中LP的mRNA表达<sup>[27]</sup>,并且YONEKURA等<sup>[18]</sup>通过研究发现,GH能够抑制BMECs中LP的mRNA表达。

#### 1.4 雌激素(E)

E是促进雌性动物第二性征发育及性器官成熟的激素,由雌性动物卵巢和胎盘分泌产生。姚志兰等<sup>[34]</sup>发现,E主要是利用机体内一些不同组织分泌的因子,经过多种分泌途径来发挥对乳腺发育的作用。曹艳红等<sup>[35]</sup>研究表明,E能够促进乳腺导管的延伸和乳腺上皮细胞的增殖,从而促进乳腺分泌乳汁。随着研究的逐渐深入,TAN等<sup>[36]</sup>研究发现,E能够促进 $\alpha$ -酪蛋白( $\alpha$ 1和 $\alpha$ 2)表达的原因可能是E能够激活细胞内相关信号传导通路,而这些通路的激活可能与BMECs合成及分泌 $\alpha$ -酪蛋白( $\alpha$ 1和 $\alpha$ 2)的能力有关。艾晓杰等<sup>[37]</sup>和杨建英等<sup>[38]</sup>通过给荷斯坦奶牛饲喂大豆黄酮(植物类雌激素)的实验发现,大豆黄酮能明显提高牛奶中乳蛋白的含量。武开乐等<sup>[39]</sup>研究表明,在一定条件下,添加200 μmol/L的E对 $\alpha$ -酪蛋白( $\alpha$ 1和 $\alpha$ 2)的表达有显著的促进效果,100 μmol/L的E对 $\beta$ -酪蛋白的表达有显著的促进效果,且高浓度E(200 μmol/L)添加组

在24、48和72 h三个时间段 $\alpha$ -酪蛋白( $\alpha$ 1和 $\alpha$ 2)的表达量显著高于低浓度(50 μmol/L、100 μmol/L)添加组。这一结果说明随着时间的增加,高浓度组能够更好的促进 $\alpha$ -酪蛋白( $\alpha$ 1和 $\alpha$ 2)的表达。BERRYHILL等<sup>[40]</sup>表示,导致这一结果的原因可能是E浓度的增加,导致大量的E与其特异性受体结合,从而诱导BMECs分泌一些细胞因子,这些因子可能促进了BMECs的增殖,间接地影响 $\alpha$ -酪蛋白( $\alpha$ 1和 $\alpha$ 2)的合成。卢志勇等<sup>[41]</sup>研究结果也表明,添加高剂量的大豆异黄酮可以促进BMECs中酪蛋白的表达,并呈现一定的剂量依赖性(10、100和1 000 mg/L)。BACKWELL等<sup>[42]</sup>研究结果证明了 $\beta$ -酪蛋白只在BMECs中分泌,武开乐等<sup>[39]</sup>研究表明,随着E浓度和时间的增加,E可能促进BMECs吸收大量的自身所需的营养物质,使得BMECs的增殖能力和活力不断提高,进而合成及分泌 $\beta$ -酪蛋白,李冬<sup>[43]</sup>的研究结果表明,与对照组相比,添加E促进了BMECs的增殖,且显著提高了BMECs分泌 $\beta$ -酪蛋白的能力。

#### 1.5 催产素(OT)

OT属于一种肽类激素,主要生理作用在于刺激乳腺并实现乳汁的分泌,在分娩过程中促使子宫平滑肌有效收缩。YUAN等<sup>[33]</sup>研究结果表明,OT是泌乳和调节产奶的关键激素,通过诱导肌上皮细胞收缩排出乳汁。HERVE等<sup>[44]</sup>研究表明机械挤奶时,垂体通过释放OT来刺激乳腺肌上皮细胞收缩,从而破坏乳腺上皮,导致BMECs脱落在乳汁中。BOUTIN-AUD等<sup>[45]</sup>研究表明,由于肌上皮细胞收缩而脱落的BMECs大部分都具有分化和泌乳的能力,这可能是导致产奶量下降的原因之一。随后,HERVE等<sup>[46]</sup>通过研究发现,给奶牛静脉注射OT受体阻断剂(Ato)能抑制肌上皮细胞收缩并减少BMECs的脱落从而提高产奶量。

#### 1.6 脂联素(ADPN)

ADPN是脂肪细胞分泌的一种内源性生物活性多肽或蛋白质,ADPN及其受体的mRNA在奶牛各组织中均有表达。YOSHIHISA等<sup>[47]</sup>研究发现,奶牛泌乳期乳腺中的脂联素mRNA表达量显著高于干奶期,这表明乳腺组织中脂联素及其受体在泌乳过程中可能发挥重要的作用。ROH等<sup>[48]</sup>研究表明,泌乳期的乳腺中ADPN含量下降可能是由乳腺间质细胞的减少或是乳腺内脂肪细胞的减少所导致的。PALIN等<sup>[49]</sup>在BMECs中检测到脂联素蛋白,这

一结果支持了BMECs可能具有合成脂联素的能力。KOMATSU等<sup>[50]</sup>通过研究发现,培养基中添加胰岛素能够增加BMECs中ADPN受体(*ApitoR2*) mRNA表达量。BOUTINAUD等<sup>[45]</sup>研究表明,ADPN通过激活PI3K基因及MAPK信号转导途径,在永生的BMECs细胞系中发挥了促增殖作用,较高的ADPN循环浓度或较高的ADPN局部浓度可能有助于BMECs增殖,进而促进乳腺发育。

## 2 细胞因子对BMECs增殖和泌乳的影响

细胞因子是一类通过与特异的、高亲和的细胞膜受体结合,调节细胞生长与其他细胞功能等多效应的多肽类物质,这些因子间接地通过对食欲、新陈代谢及其他生理过程的影响来调节泌乳量,它们可通过自分泌或者旁分泌的途径影响乳腺上皮细胞的增殖及其活力。有研究表明,包括TGF- $\beta$ 1在内的多种因子对细胞的增殖影响取决于细胞类型、培养条件和有无其他生长因子的加入<sup>[51]</sup>。

### 2.1 胰岛素样生长因子(IGF)

胰岛素样生长因子是一类能够促进细胞生长的多肽类物质。IGF-I、IGFBP-3、FGF-1、FGF-2和TGF- $\beta$ 1是调节乳腺生长发育的重要因子。IGF和EGF家族的FGF-1对BMECs生长有促进作用,而FGF-2和TGF- $\beta$ 1在低浓度下可刺激DNA合成,高浓度则抑制DNA合成<sup>[52]</sup>,IGF结合蛋白IGFBP-2和IGFBP-3对BMECs生长具有正向调节作用。IGF-I是正常青春期导管生长和终末池结构的增殖过程中必不可少的生长因子<sup>[53]</sup>,是BMECs中一种有效且有一定特异性的凋亡抑制因子<sup>[54]</sup>,参与乳腺发育,促进BMECs增殖,抑制凋亡,调节乳腺退化过程<sup>[55]</sup>。KATOH等<sup>[56]</sup>报道,GH可以刺激肝脏及乳腺间质细胞产生IGF-I,这种局部产生的IGF-I可能会促进BMECs的增殖。体外研究表明,IGF-I可促进BMECs的增殖,IGF-II过表达可抑制其凋亡<sup>[57]</sup>。在BMECs的培养基中分别添加IGF-I和IGF-II,结果表明,两种因子均促进了BMECs的增殖,且IGF-I的促进效果显著优于IGF-II<sup>[58]</sup>。WANG等<sup>[59]</sup>研究结果表明,在无血清培养基中添加IGF-I能够增加BMECs中CSN3的表达量,并能促进酪蛋白的合成。何伯萍等<sup>[60]</sup>研究结果表明,IGF-I能促进BMECs乳脂和乳蛋白的分泌。李莹莹等<sup>[61]</sup>研究表明,10~200 ng/mL的IGF-I显著促进了BMECs增殖,导致这一结果的原因可能是IGF-I具有促进

BMECs乳脂和乳蛋白分泌的作用。

### 2.2 干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )

IFN- $\gamma$ 是一种Th1型的细胞因子,能够在抗原及有丝分裂素等的刺激下,分泌一种可溶性糖蛋白,主要在树突状细胞和单核细胞等抗原提呈细胞中表达。IFN- $\gamma$ 具有免疫调控的作用,其对巨噬细胞、NK细胞和B细胞起到抑制纤维化的作用。奶牛乳腺炎最重要的病理表现就是乳腺纤维化。研究表明,IFN- $\gamma$ 对奶牛乳腺上皮细胞的增殖活性具有抑制作用<sup>[62]</sup>。IFN- $\gamma$ 可以抑制TGF- $\beta$ 1诱导上皮细胞向间质细胞的转变(epithelial to mesenchymal transition, EMT),还能够抑制细胞外基质成分的形成,其机制可能是IFN- $\gamma$ 的加入下调了TGF- $\beta$ 1下游因子的表达<sup>[63]</sup>。IFN- $\gamma$ 是血液中最容易受到秸秆日粮影响而升高的炎症因子<sup>[64]</sup>。夏小静等<sup>[62]</sup>研究证明,IFN- $\gamma$ 在体内和体外都可以促进自噬,自噬能够促进细胞的恶性增殖、转化,抑制乳脂以及乳蛋白的合成,有利于BMECs内金黄色葡萄球菌的消除。

### 2.3 转化生长因子 $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)

TGF- $\beta$ 1是乳腺正常生长发育所必需的一类多功能调节肽,在乳腺退化时能够刺激大多数间充质细胞的增殖,抑制上皮细胞、淋巴网状细胞、造血细胞和内皮细胞的生长<sup>[65]</sup>。TGF- $\beta$ 1被认为是乳腺组织退化的重要局部调节因子,以旁分泌方式抑制BMECs增殖。TGF- $\beta$ 1抑制BMECs的分化和乳蛋白合成,并增加ECM的形成<sup>[66]</sup>。有研究表明,当奶牛的乳房受到细菌感染时,奶牛血清和牛奶中TGF- $\beta$ 1水平升高<sup>[67]</sup>。WU等<sup>[68]</sup>发现,金黄色葡萄球菌通过激活BMECs中的NF- $\kappa$ B和AP-1,上调TGF- $\beta$ 1的分泌。ZHANG等<sup>[69]</sup>研究表明,TGF- $\beta$ 1对金黄色葡萄球菌的黏附和BMECs的侵袭具有显著的促进作用,这说明体内TGF- $\beta$ 1水平较高时可能会增加乳腺炎发病率。

### 2.4 肝细胞生长因子(HGF)

HGF是肝细胞在肝再生过程中的有丝分裂因子。HGF与其受体结合可诱导多种生物反应,包括增殖、运动、细胞外基质的侵袭、细胞凋亡的抵抗和血管生成的激活<sup>[70]</sup>。HGF对BMECs具有很强的促分裂活性和促生长作用<sup>[71]</sup>。HGF和其受体在BMECs中表达并调控其发育和分化。乳腺成纤维细胞产生的HGF具有促进有丝分裂和骨变形的能力<sup>[72]</sup>。ACCORNERO等<sup>[73]</sup>研究表明,HGF可以激活Erk/MAPK和Akt两条信号通路,并且对BMECs增殖具有重要

的作用。此外, HGF还能够诱导BMECs在三维胶原基质中重新悬浮时形成类似乳腺导管的复杂管状结构。

### 3 小结

现如今, 随着泌乳生物学的不断发展, 阻碍奶牛生产性能提高的原因远不仅是日粮上的营养供给, 还有泌乳相关激素和细胞因子对BMECs增殖和泌乳的调控。乳腺是奶牛的泌乳器官, BMECs是乳腺合成乳汁的基本功能单位。在奶牛泌乳期, 泌乳相关激素和细胞因子对调控奶牛乳腺上皮细胞发育和泌乳起着十分重要的作用。近年来, 前人通过对BMECs添加不同泌乳相关激素和细胞因子对其进行研究, 其大量的研究结果表明, 添加不同泌乳相关激素和细胞因子对BMECs的增殖和泌乳相关基因表达产生不同的影响, 浓度的变化也导致了表达水平的动态变化, 进一步说明泌乳相关激素和细胞因子在BMECs泌乳过程中发挥重要调控作用<sup>[24,39,43]</sup>。目前, 泌乳相关激素和细胞因子的互作对BMECs内受体、信号通路以及转录因子的影响还需要进一步深入研究。

### 参考文献 (References)

- [1] 高巍, 张建杰, 张艳舫, 等. 中国奶业全产业链绿色发展指标的时空变化特征[J]. 中国生态农业学报(GAO W, ZHANG J J, ZHANG Y F, et al. Spatiotemporal characteristics of green development indicators in the whole dairy industry chain in China [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture), 2020, 28(8): 1-25.
- [2] CAPUCO A V, ELLIS S E, HALE S A, et al. Lactation persistency: insights from mammary cell proliferation studies [J]. J Anim Sci, 2003, 81: 18-31.
- [3] 陈建晖, 佟慧丽, 李庆章, 等. 胰岛素、催乳素和孕酮对奶牛乳腺上皮细胞泌乳功能的影响[J]. 中国奶业(CHEN J H, TONG H L, LI Q Z, et al. Influence of insulin, prolactin and progesterone on milk-secretion of mammary gland epithelial cell in dairy cow [J]. China Dairy Cattle), 2008, 8: 9-13.
- [4] MARTIGNANI E, ACCORNERO P, MIRETTI S, et al. Bovine mammary organoids: a model to study epithelial mammary cells [J]. Method Enzymol, 2018, 1817: 37-144.
- [5] AKERS R M. Major advances associated with hormone and growthfactor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows [J]. J Anim Sci, 2006, 89(4): 1222-34.
- [6] WANG B S, MEN J J, WANG C M, et al. Laminin-dependent integrin  $\beta 1$  signaling regulates milk protein synthesis via prolactin/STAT5 pathway in bovine mammary epithelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 524(2): 88-294.
- [7] LI Y W, CAO Y, WANG J X, et al. Kp-10 promotes bovine mammary epithelial cell proliferation by activating GPR54 and its downstream signaling pathways [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(5): 4481-93.
- [8] CAPUCO A V, WOOD D L, BALDWIN R, et al. Mammary cell number, proliferation, and apoptosis during a bovine lactation: relation to milk production and effect of bST [J]. J Anim Sci, 2001, 84(10): 2177-87.
- [9] WANG J F, FU S P, LI S N, et al. Establishment and characterization of dairy cow growth hormone secreting anterior pituitary cell model [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2014, 50(2): 103-10.
- [10] KAZUHITO S, TOMOKI Y, TAKUYA K, et al. Growth hormone suppresses the expression of IGFBP-5, and promotes the IGF-I-induced phosphorylation of AKT in bovine mammary epithelial cells [J]. Domest Anim Endocrinol, 2006, 32(4): 260-72.
- [11] TASHA L J, BRENT A F, RAFAEL J, et al. Growth hormone alters lipid composition and increases the abundance of casein and lactalbumin mRNA in the MAC-T cell line [J]. J Dairy Res, 2010, 77(2): 199-204.
- [12] KLEINBERG D L, RUAN W, CATANESE V, et al. Non-lactogenic effects of growth hormone on growth and insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid of rat mammary gland [J]. Endocrinology, 1990, 126(6): 3274-6.
- [13] SAKAMOTO K, YANO T, KOBAYASHI T, et al. Growth hormone suppresses the expression of IGFBP-5, and promotesthe IGF-I-induced phosphorylation of AKT in bovine mammary epithelial cells [J]. Domest Anim Endocrinol, 2007, 32(4): 260-72.
- [14] GAJEWSKA M, ZIELNIOK K, DEBSKI B, et al. IGF-I retards proper development of acinar structures formed by bovine mammary epithelial cells via sustained activation of AKT kinase [J]. Domest Anim Endocrinol, 2013, 45(3): 111-21.
- [15] BURGOS S A, DAI M, CANT J P. Nutrient availability and lactogenic hormones regulate mammary protein synthesis through the mammalian target of rapamycin signaling pathway [J]. J Dairy Sci, 2010, 93(1): 153-61.
- [16] YUAN X H, ZHEN Z, ZHANG M H, et al. Cyclase-associated protein1 is a key negative regulator of milk synthesis and proliferation of bovine mammary epithelial cells [J]. Cell Biochem Funct, 2019, 37(3): 185-92.
- [17] WANG M Z, JI Y, WANG C, et al. The preliminary study on the effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on  $\kappa$ -casein synthesis in bovine mammary epithelial cells *in vitro* [J]. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 2016, 100(2): 251-5.
- [18] YONEKURA S, SAKAMOTO K, KOMATSU T, et al. Growth hormone and lactogenic hormones can reduce the leptin mRNA expression in bovine mammary epithelial cells [J]. Domest Anim Endocrinol, 2006, 31(1): 88-96.
- [19] FREEMAN M E, KANYICKSKA B, LERANT A, et al. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion [J]. Physiol Rev, 2000, 80(4): 1523-31.
- [20] WALL E H, CRAWFORD H M, ELLIS S E, et al. Mammary response to exogenous prolactin or frequent milking during early lactation in dairy cows [J]. J Dairy Sci, 2006, 89(12): 4640-8.
- [21] PLAUT K, BAUMAN D E, AGER G, et al. Effect of exogenous prolactin administration on lactational performance of dairy cows [J]. Domest Anim Endocrinol, 1987, 4(4): 279-90.
- [22] WANG B S, LIN L, MEN J J, et al. Controlled synchronization of prolactin/STAT5 and AKT1/mTOR in bovine mammary epithelial cells [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2020, 56(3): 243-

- 52.
- [23] 田青, 王洪荣. 胰岛素、催乳素和氢化可的松对奶牛乳腺上皮细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中国饲料(TIAN Q, WANG H R. Effects of INS, PRL and HYD on proliferation and apoptosis of mammary [J]. China Feed), 2013, 2: 8-12.
- [24] 邢媛媛, 李大彪, 李红磊, 等. 催乳素对奶牛乳腺上皮细胞乳脂和乳蛋白合成相关基因表达的影响[J]. 动物营养学报(XING Y Y, LI D B, LI H L, et al. Effects of prolactin on gene expressions involved in milk fat and milk protein synthesis in bovine mammary epithelial cells [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition), 2016, 28(8): 2439-47.
- [25] 陈静, 王根林, 李莲, 等. 雌激素对奶牛乳腺上皮细胞增殖及抗氧化性的影响[J]. 农业生物技术学报(CHEN J, WANG G L, LI L, et al. Effects of estrogen on proliferation and antioxidation in bovine mammary epithelial cells [J]. Journal of Agricultural Biotechnology), 2013, 21(2): 216-22.
- [26] PAROLA R, MACCHI E, FRACCHIA D, et al. Comparison between plasma and milk levels of leptin during pregnancy and lactation in cow, a relationship with beta-lactoglobulin [J]. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 2007, 91(5/6): 240-6.
- [27] WANG J H, DU Y Y, WU Y Y, et al. Suppression of prolactin signaling by pyrrolidine dithiocarbamate is alleviated by N-acetylcysteine in mammary epithelial cells [J]. Eur J Pharmacol, 2014, 738: 308-9.
- [28] CAPUCO A V, SMITH J J, WALDO D R, et al. Influence of prepubertal dietary regimen on mammary growth of Holstein heifers [J]. J Dairy Sci, 1995, 78: 2709-25.
- [29] DELAUAUD C, BOCQUIER F, CHILLIARD Y, et al. Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep [J]. J Endocrinol, 2000, 165(2): 519-26.
- [30] 郭洪波, 林叶, 李庆章, 等. 奶牛乳腺中瘦素及其受体的表达与定位[J]. 中国乳品工业(GUO H P, LIN Y, LI Q Z, et al. Expression and localization of leptin and its receptor in mammary gland of dairy cow [J]. China Dairy Industry), 2011, 39(6): 8-11.
- [31] FEUERMANN V Y, SHAMAY A, MABJEES J. Leptin up-regulates the lactogenic effect of prolactin in the bovine mammary gland *in vitro* [J]. J Dairy Sci, 2008, 91(11): 4183-9.
- [32] SILVA L F, VANDEHAAR M J, WEBER N M S, et al. Evidence for a local effect of leptin in bovine mammary gland [J]. J Dairy Sci, 2002, 85(12): 3277-86.
- [33] 杜瑞平, 王春艳, 高民, 等. 催乳素和瘦素对奶牛乳腺上皮细胞乳蛋白及乳蛋白合成信号通路关键因子基因表达的影响[J]. 动物营养学报(DU R P, WANG C Y, GAO M, et al. Effects of prolactin and leptin on gene expressions of milk proteins and key factors related to milk protein synthesis of bovine mammary epithelial cells [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition), 2015, 27(12): 3920-30.
- [34] 姚志兰, 崔平福, 傅宏庆, 等. 奶牛泌乳启动调控激素的研究进展[J]. 畜牧与兽医(YAO Z L, CUI P F, FU H Q, et al. A review of research on hormones regulating initiation of lactating in dairy cow [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine), 2018, 50(8): 129-32.
- [35] 曹艳红, 罗军, 张蒙, 等. 体外培养奶山羊乳腺上皮细胞的形态学观察[J]. 中国兽医杂志(CAO Y H, LUO J, ZHANG M, et al. Morphological observation of milk goat mammary epithelial cells cultured *in vitro* [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine), 2008(5): 20-1.
- [36] TAN D, JOHNSON D A, WU W, et al. Unmodified prolactin (PRL) and S179D PRL-initiated bioluminescence resonance energy transfer between homo- and hetero-pairs of long and short human PRL receptors involving human cells [J]. Mol Endocrinol, 2005, 19(5): 1291-303.
- [37] 艾晓杰, 吴晓林, 韩正康, 等. 大豆黄酮对荷斯坦牛乳中蛋白质和脂肪含量的影响[J]. 中国奶牛(AI X J, WU X L, HAN Z K, et al. Effect of daidzein on protein and fat content of holstein milk [J]. China Dairy Cattle), 2005(6): 23-5.
- [38] 杨建英, 张勇法, 王艳玲, 等. 大豆黄酮对奶牛产奶量和乳中常规成分的影响[J]. 饲料研究(YANG J Y, ZHANG Y F, WANG Y L, et al. Effects of daidzein on milk yield and conventional components in milk of dairy cows [J]. Feed Research), 2005, 6: 30-1.
- [39] 武开乐, 邵伟, 马静, 等. 雌激素对奶牛乳腺上皮细胞中酪蛋白和甘油三酯表达的影响[J]. 饲料工业(WU K L, SHAO W, MA J, et al. Effects of estrogen on casein and triglyceride expression in bovine mammary epithelial cells [J]. Feed Industry), 2019, 40(11): 36-42.
- [40] BERRYHILL G E, TROTT J F, HOVEY R C. Mammary gland development-it's not just about estrogen [J]. J Dairy Sci, 2016, 99(1): 875-83.
- [41] 卢志勇, 梁代华, 曲明丽, 等. 大豆异黄酮对奶牛乳腺上皮细胞泌乳性能及抗氧化能力的影响[J]. 饲料与畜牧(LU Z Y, LIAN G D H, QU M L, et al. Effects of soybean isoflavones on lactation performance and antioxidant capacity of bovine mammary epithelial cells [J]. Animal Agriculture), 2013, 2: 25-8.
- [42] BACKWELL F R, BEQUETTE B J, WILSON D, et al. Evidence for the utilization of peptides for milk protein synthesis in the lactating dairy goat *in vivo* [J]. Am J Physiol, 1996, 271(4Pt2): R955-60.
- [43] 李冬. METTL3对奶牛乳腺上皮细胞乳蛋白和乳脂肪合成的调控及其作用机理[D]. 东北农业大学(硕士论文), 2017, 1-11.
- [44] HERVE L, QUESNEL H, LOLLIVIER V, et al. Regulation of cell number in the mammary gland by controlling the exfoliation process in milk in ruminants [J]. J Dairy Sci, 2016, 99(1): 854-63.
- [45] BOUTINAUD M, JAMMES H. Potential uses of milk epithelial cells: a review [J]. Reprod Nutr Dev, 2002, 42(2): 133-47.
- [46] HERVE L, QUESNEL H, LOLLIVIER V, et al. Mammary epithelium disruption and mammary epithelial cell exfoliation during milking in dairy cows [J]. J Dairy Sci, 2017, 100(12): 9824-34.
- [47] YOSHIHISA O, TOMO Y, SANG H S, et al. Gene expression and hormonal regulation of adiponectin and its receptors in bovine mammary gland and mammary epithelial cells [J]. J Anim Sci, 2011, 82(1): 99-106.
- [48] ROH S G, HISHIKAWA D, HONG Y H, et al. Control of adipogenesis in ruminants [J]. Anim Sci J, 2006, 77: 472-7.
- [49] PALIN M F, FARMER C, DUARTE C R A. Triennial lactation symposium/bolfa: adipokines affect mammary growth and function in farm animals [J]. J Anim Sci, 2017, 95(12): 5689-700.
- [50] KOMATSU T, ITOH F, SAKUMOTO R, et al. Changes of the gene expression of adiponectin and glucose transporter 12 (GLUT12) in lactating and non-lactating cows [J]. Anim Sci J, 2007, 78: 98-102.

- [51] 李瑜, 王凤龙, 丁旭娜, 等. TGF- $\beta$ 1对奶牛乳腺上皮细胞增殖与凋亡的影响[J]. 动物医学进展(LI Y, WANG F L, DING X N. TGF- $\beta$ 1 effect on proliferation and apoptosis of bovine mammary epithelial cells [J]. Progress in Veterinary Medicine), 2012, 33(9): 53-7.
- [52] WANG M, WANG Z, YANG C, et al. Protein 14-3-3 $\epsilon$  regulates cell proliferation and casein synthesis via pi3k-mtor pathway in dairy cow mammary epithelial cells [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(45): 12000-8.
- [53] CHOI J Y, PAIK D J, KWON D Y, et al. Dietary supplementation with ricebran fermented with *Lentinus edodes* increases interferon- $\gamma$  activity without causing adverse effects: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study [J]. Nutr J, 2014, 22(13): 35.
- [54] ACCORSI P A, PACIONI B, PEZZI C, et al. Role of prolactin, growth hormone and insulin-like growth factor 1 in mammary gland involution in the dairy cow [J]. J Dairy Sci, 2002, 85(3): 507-13.
- [55] SAKAMOTO K, KOMATSU T, KOBAYASHI T, et al. Growth hormone acts on the synthesis and secretion of alpha-casein in bovine mammary epithelial cells [J]. J Dairy Res, 2005, 72(3): 264-70.
- [56] KATOH K, KOMATSU T, YONEKURA S, et al. Effects of adenosine 5'-triphosphate and growth hormone on cellular H<sup>+</sup> transport and calcium ion concentrations in cloned bovine mammary epithelial cells [J]. J Endocrinol, 2001, 169(2): 381-8.
- [57] TONNER E, ALLAN G, SHKRETA L, et al. Insulin-like growth factor binding protein-5 (IGFBP-5) potentially regulates programmed cell death and plasminogen activation in the mammary gland [J]. Biol Reprod, 2001, 64: 324-30.
- [58] 刘畅, 赵锋, 李庆章. 不同泌乳相关激素和生长因子对奶牛乳腺上皮细胞增殖的影响[J]. 中国畜牧兽医(LIU C, ZHAO F, LI Q Z. Influence of different hormone and cytokine related lactation on the proliferation of mammary epithelial cells of dairy cow [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine), 2012, 39(5): 102-6.
- [59] BURGOS S A, CANT J P. IGF-1 stimulates protein synthesis by enhanced signaling through mTORC1 in bovine mammary epithelial cells [J]. Domest Anim Endocrinol, 2010, 38(4): 211-21.
- [60] 何伯萍, 邢艳苹, 雷连成, 等. IGF-I对奶牛乳腺上皮细胞合成乳脂、乳蛋白的影响[J]. 中国兽医学报(HE B P, XING Y P, LEI L C, et al. IGF-I regulating synthesis of milk fat and milk protein in bovine mammary epithelial cells [J]. Chinese Journal of Veterinary Science), 2012, 32(8): 1231-4.
- [61] 李莹莹, 夏小静, 吴云娣, 等. 胰岛素样生长因子-I、肝细胞生长因子、转化生长因子- $\beta$ 1、干扰素- $\gamma$ 对奶牛乳腺上皮细胞增殖活性的影响[J]. 中国畜牧兽医(LI Y Y, XIA X J, WU Y D, et al. Effects of IGF-I, HGF, TGF- $\beta$ 1, IFN- $\gamma$  on proliferation of bovine mammary epithelial cells [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine), 2014, 41(4): 37-42.
- [62] 夏小静. IFN- $\gamma$ 诱导的自噬对奶牛乳腺上皮细胞泌乳与细胞增殖及抗细菌感染的调控[D]. 吉林大学(博士学位), 2016: 1-11.
- [63] 孙俊若男, 李海明, 苏韵, 等. IFN- $\gamma$ 对奶牛乳腺上皮细胞转分化的影响[J]. 安徽农业科学(SUN J R N, LI H M, SU Y, et al. Effects of Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) on the transdifferentiation of mammary epithelial cells in dairy cows [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences), 2017, 45(4): 99-101.
- [64] COLPO E, DALTON D A, VILANOVA C, et al. Brazilian nut consumption by healthy volunteers improves inflammatory parameters [J]. Nutrition, 2014, 30(4): 459-65.
- [65] MOSES H, BARCELLOS H M. TGF-beta biology in mammary development and breast cancer [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2011, 3(1): a003277.
- [66] ZARZYNSKA J, GAJEWSKA M, MOTYL T. Effects of hormones and growth factors on TGF-beta1 expression in bovine mammary epithelial cells [J]. J Dairy Res, 2005, 72(1): 39-48.
- [67] BANNERMAN D D, SPRINGER H R, PAAPE M, et al. Evaluation of breed-dependent differences in the innate immune responses of holstein and jersey cows to staphylococcus aureus intramammary infection [J]. J Dairy Res, 2008, 75(3): 291-301.
- [68] WU J M, DING Y L, WANG J L, et al. Staphylococcus aureus induces TGF- $\beta$ 1 and bFGF expression through the activation of AP-1 and NF- $\kappa$ B transcription factors in bovine mammary epithelial cells [J]. Microb Pathog, 2018, 117: 276-84.
- [69] ZHANG M, CHE Y, ZHAO S, et al. TGF- $\beta$ 1 promoted the infection of bovine mammary epithelial cells by staphylococcus aureus through increasing expression of cells' fibronectin and integrin $\beta$ 1 [J]. Vet Microbiol, 2019, 237: 108420.
- [70] ACCORNERO P, LUVARÀ S, FAVOLE A, et al. Biological role of the HGF/MET ligand/receptor couple in bovine mammary epithelial cells [J]. Vet Res Commun, 2007, 31(1): 161-4.
- [71] SUAREZ W L, LAKEY J R, BRAND S J, et al. Combination therapy with epidermal growth factor and gastrin induces neogenesis of human islet  $\beta$ -cells from pancreatic duct cells and an increase in functional  $\beta$ -cell mass [J]. Clin Endocrinol Metab, 2005, 90(6): 3401-9.
- [72] 邢艳苹. IGF-I和HGF对奶牛乳腺上皮细胞合成乳脂乳蛋白的调节[D]. 吉林大学(硕士学位论文), 2012: 1-10.
- [73] ACCORNERO P, MARTIGNANI E, MACCHI E, et al. Hepatocyte growth factor exerts multiple biological functions on bovine mammary epithelial cells [J]. J Dairy Sci, 2007, 90(9): 4289-96.