

回乳期奶牛血清 PRL、E₂、P₄ 和 STAT5 含量的变化规律

沈留红¹ 肖劲邦¹ 傅宏庆² 巫晓峰¹ 姜思汛¹ 钱柏霖¹
曹随忠¹ 余树民¹ 左之才¹ 彭广能¹ 邓俊良^{1*}

(1. 四川农业大学 动物医学院/动物疫病与人类健康四川省重点实验室/奶牛疾病研究中心, 成都 611130;
2. 江苏农牧科技职业学院 宠物科技学院, 江苏 泰州 225300)

摘要 为探究回乳期奶牛血清中促乳素(PRL)、雌二醇(E₂)、孕酮(P₄)、信号转导和转录激活因子5(STAT5)含量和产奶量变化规律及其相关性,选择规模化奶牛场产奶量为(15.43±0.60) kg,将干乳的妊娠后期奶牛20头为研究对象。干乳开始当天记为第0天,分别在第0、1、3、5、7、9和11天上午8:00采集奶牛尾静脉血,ELISA法检测血清中PRL、E₂、P₄和STAT5含量并对结果进行统计学处理,分析其在奶牛回乳过程中的变化规律及其相关性。结果表明:回乳期奶牛血清PRL含量和产奶量在0~1 d变化不显著($P>0.05$),3~11 d依次降低且差异极显著($P<0.01$);血清E₂含量0~1 d、3~5、7~9 d、9~11 d之间差异均不显著($P>0.05$),依次呈阶梯式下降趋势;血清STAT5含量同样呈下降趋势,回乳0~5 d、7~11 d差异不显著($P>0.05$),但0~5 d与7~11 d两阶段间差异极显著($P<0.01$);血清P₄含量从回乳0~11 d变化不显著($P>0.05$);回乳期奶牛产奶量与PRL、E₂、STAT5含量呈极显著正相关($P<0.01$),PRL、E₂和STAT5含量变化两两间均呈极显著正相关($P<0.01$);P₄含量变化与PRL、E₂、STAT5含量和产奶量变化的相关性均不显著($P>0.05$)。综上所述,在奶牛回乳期间,血清中PRL、E₂和STAT5含量均呈降低趋势并显著正相关,而P₄含量变化不显著且与其他激素无显著相关性,为进一步研究泌乳相关激素调控奶牛回乳的作用机理提供理论依据。

关键词 奶牛; 回乳期; 促乳素; 雌二醇; 孕酮; 信号转导和转录激活因子5

中图分类号 S852.5 文章编号 1007-4333(2018)03-0048-06 文献标志码 A

Change rules of PRL, E₂, P₄ and STAT5 levels in dairy cow's serum during milk withdraw period

SHEN Lihong¹, XIAO Jinbang¹, FU Hongqing², WU Xiaofeng¹, JIANG Sixun¹, QIAN Bailin¹,
CAO Suizhong¹, YU Shumin¹, ZUO Zhicai¹, PENG Guangneng¹, DENG Junliang^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine/The Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province/
The Medical Research Center for Cow Disease, Sichuan Agricultural University, Chengdu, 611130, China;
2. The Pet Technology Institute, Jiangsu Agri-Animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China)

Abstract To explore the change rules and correlation among serum PRL, E₂, P₄ and STAT5 levels in dairy cows' serum during the period of milk withdraw, a total of 20 healthy cows in late pregnancy, which averagely produced (15.43 ± 0.6) kg milk per day, were taken as study object. The day when cows began to dry milk was recorded as 0 d, and the venous blood from the tails was collected on 0, 1, 3, 5, 7, 9 and 11 d, respectively. ELISA was used to detect the levels of PRL, E₂, P₄ and STAT5. The results showed that: During the period of milk withdraw, the changes of PRL level and milk yield among 0 - 1 d were not significantly ($P>0.05$) and they were declining from 3 to 11 d with significant differences ($P<0.01$); The changes of E₂ level among 0 - 1, 3 - 5, 7 - 9 and 9 - 11 d had no significant differences and the

收稿日期: 2017-08-22

基金项目: 四川省教育厅重点项目(15ZA0024); 四川省科技创新苗子工程项目(2017086); 四川农业大学本科科研兴趣培养计划项目(KY2016062); 四川肉牛创新团队项目(035Z2036)

第一作者: 沈留红, 副教授, 主要从事反刍动物疾病及繁殖新技术研究, E-mail: shenlh@sicau.edu.cn

通讯作者: 邓俊良, 教授, 主要从事奶牛疾病防治研究, E-mail: dengjl213@126.com

changes overall were on the decline. The STAT5 level also had a downward trend, and there were no significant differences between 0–5 d and from 7–11 d, while the difference between 0–5 d and 7–11 d were significant ($P < 0.01$); The change of P₄ level had no significant differences from 0–11 d ($P > 0.05$); PRL, E₂ and STAT5 had significantly positive correlation with the milk yield ($P < 0.01$), the changes of PRL, E₂ and STAT5 had significantly positive correlation with each other ($P < 0.01$), while P₄ has no significant different correlation with PRL, E₂, STAT5 and milk yield ($P > 0.05$). In conclusion, during the period of milk withdraw, the levels of serum PRL, E₂ and STAT5 in dairy cows were declining and had significantly positive correlation with each other, while the level of P₄ has no significant change and no significant correlation with others. These results provided basis for research in the influence of hormones milk withdraw.

Keywords dairy cow; milk withdraw period; PRL; E₂; P₄; STAT5

激素在哺乳动物生长发育过程中具有不可替代的调控作用, 探明回乳期奶牛血清泌乳相关激素和因子的变化规律, 有助于改进奶牛回乳方法, 降低回乳期奶牛乳房炎的发生。直接调控乳腺发育和泌乳的激素主要有促乳素 (prolactin, PRL)、雌二醇 (estradiol, E₂)、孕酮 (progesterone, P₄)、生长激素、胰岛素和氢化可的松等^[1-2], 它们通过与信号转导和转录激活因子 5 (signal transduction and transcriptional activation factor of 5, STAT5)、胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1)、转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 等^[3] 细胞因子相互作用而形成乳腺发育和泌乳的调控网络。泌乳相关激素对人、小鼠、奶牛等动物泌乳期的作用已有研究, 并显示与泌乳量呈一定的相关性^[4-6]。由于奶牛经过泌乳期, 消耗大量能量及各种营养物质, 在妊娠后期, 为保证胎犊宫内生长发育及分娩后再次泌乳做充分准备, 奶牛需要经过一段时间的回乳期后进入干乳期, 使乳房更新乳腺组织; 另外, 不适当的回乳方法会增加干乳期及分娩后奶牛乳房炎的发生率。目前, 关于回乳期奶牛相关泌乳激素和因子的变化规律及其相关性研究尚未见报道。因此, 本研究拟以即将进入回乳期的健康奶牛为研究对象, 采用逐渐干奶法, 探究回乳期奶牛血清 PRL、E₂、P₄、STAT5 含量和产奶量变化规律及其相关性, 为进一步研究回乳期奶牛相关泌乳激素的调控机理以及寻求更安全有效的回乳技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验选择四川省某规模化奶牛场半封闭统一舍饲、体重 (582 ± 41) kg、2~4 胎中国荷斯坦奶牛 51 头。再从中选择体况良好、临床检查健康、乳房和乳

汁均正常、即将进入回乳期、产奶量为 (15.43 ± 0.60) kg 的妊娠后期奶牛 20 头。

1.2 回乳方式

本试验采用逐渐干奶法^[7], 方法为: 停喂多汁饲料, 减少精料喂量, 以青干草为主, 控制饮水, 适当加强运动。在回乳第 1 天, 挤奶次数由 3 次降为 2 次, 第 2 天降为 1 次, 逐渐减少挤奶次数, 当日产奶量为 3~4 kg 时, 即可停止挤奶, 回乳期持续时间为 11 天。

1.3 试验试剂

牛促乳素 (YAD-N2085)、雌二醇 (YAD-N910)、孕酮 (YAD-N7504) 和信号转导和转录激活因子 5 (YAD-N6311) 双抗体夹心酶联免疫吸附检测 (ELISA) 试剂盒 (美国 R&D Systems Inc 公司)。

1.4 试验方法

1.4.1 血清收集

奶牛从回乳开始当天记为第 0 天, 在第 0、1、3、5、7、9 和 11 天 8:00, 采集奶牛尾静脉血 10 mL, 置于未加抗凝剂的离心管中, 室温下静置 1 h, 1500 r/min 离心 10 min, 转移上层血清于 EP 管中, -20 °C 冻存, 待检。

1.4.2 ELISA 检测

采用双抗体夹心酶联免疫吸附技术 (ELISA) 测定牛促乳素、雌二醇、孕酮和信号转导和转录激活因子 5 含量, 步骤严格按照说明书进行。

1.5 统计分析

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析, K-S 检验计量资料是否服从正态分布, 以平均数 ± 标准差 (Mean ± SD) 表示, 两组间采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 相关性分析采用双变量 Pearson 相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 回乳期奶牛血清 PRL、E₂、P₄、STAT5 含量和产奶量检测

回乳期奶牛血清 PRL、E₂、P₄、STAT5 含量和产奶量检测结果如表 1 所示,回乳期奶牛血清 PRL 含量和产奶量均在 0~1 d 变化不显著($P>0.05$),

3~11 d 依次降低且差异极显著($P<0.01$);血清 E₂ 含量 0~1 d、3~5 d、7~9 d、9~11 d 之间差异均不显著($P>0.05$),依次呈阶梯式下降趋势;血清 P₄ 含量从回乳 0~11 d 变化均不显著($P>0.05$);血清 STAT5 含量同样呈下降趋势,但回乳 0~5 d、7~11 d 差异均不显著($P>0.05$),但前一阶段与后一阶段差异极显著($P<0.01$)。

表 1 回乳期奶牛血清 PRL、E₂、P₄、STAT5 含量和产奶量检测结果 ($\bar{X}\pm S$)

Table 1 PRL, E₂, P₄, STAT5 levels and milk yield during the period of milk withdraw ($\bar{X}\pm S$)

时间/d Time	产奶量/(kg/d) Milk yield	促乳素/(pg/mL) PRL	雌二醇/(ng/mL) E ₂	孕酮/(ng/mL) P ₄	STAT5/(ng/mL)
0	15.43±0.60 A	3 975.77±75.92 A	1 162.76±35.37 A	14.96±1.54	9.29±0.13 A
1	15.30±0.92 A	4 023.57±70.36 A	1 176.33±44.31 A	14.51±1.09	9.49±0.26 A
3	13.33±0.42 B	3 525.83±82.36 B	985.95±24.13 B	15.48±1.05	9.40±0.23 A
5	10.44±0.74 C	3 123.35±83.40 C	967.82±34.40 B	14.69±1.51	9.28±0.22 A
7	8.08±0.74 D	2 913.18±42.44 D	891.61±15.75 Ca	15.87±2.12	8.59±0.27 B
9	6.73±1.06 E	2 644.76±55.71 E	859.05±38.67 Cab	14.98±1.42	8.35±0.15 B
11	4.38±0.73 F	2 413.10±46.49 F	843.85±16.12 Cb	15.31±1.82	8.40±0.22 B

注:样本量 $n=20$;同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

Note: No. of sample $n=20$; Lower case letters within same column represent significant differences at $P<0.05$, while capital letters represent significant differences at $P<0.01$ between groups.

2.2 回乳期奶牛血清 PRL、E₂、P₄、STAT5 及产奶量的相关性

回乳期奶牛产奶量变化与 PRL、E₂ 和 STAT5 含量变化呈极显著正相关($P<0.01$),回乳期奶牛

血清 PRL、E₂、STAT5 含量变化两两间均呈极显著正相关($P<0.01$);P₄ 含量变化与 PRL、E₂、STAT5 含量和产奶量变化的相关性均不显著($P>0.05$) (表 2)。

表 2 回乳期奶牛血清 PRL、E₂、P₄、STAT5 和产奶量的相关性

Table 2 Correlations between the levels of PRL, E₂, P₄, STAT5 and milk yield during the period of milk withdraw

指标 Index	产奶量 Milk yield		促乳素 PRL		雌二醇 E ₂		孕酮 P ₄		STAT5	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
	<i>r</i> value	<i>P</i> value	<i>r</i> value	<i>P</i> value	<i>r</i> value	<i>P</i> value	<i>r</i> value	<i>P</i> value	<i>r</i> value	<i>P</i> value
产奶量	—	—	0.965**	<0.001	0.908**	<0.001	-0.133	0.361	0.845**	<0.001
PRL			—	—	0.934**	<0.001	-0.130	0.374	0.824**	<0.001
E ₂					—	—	-0.155	0.287	0.745**	<0.001
P ₄							—	—	-0.215	0.138
STAT5									—	—

注:*r* 相关系数;“**”代表相关性极显著($P<0.01$)。

Note: *r*, correlation coefficient; Significant levels is ** $P<0.01$.

3 讨论

3.1 奶牛回乳期血清 PRL、E₂ 和 P₄ 含量的变化规律

PRL 是垂体分泌的一种蛋白质激素^[8], 主要受神经内分泌调节, 具有促进乳腺生长发育、启动和维持泌乳等作用^[9]。妇女哺乳期大量分泌 PRL^[6], 其与乳腺中受体结合, 激活 JAK2 激酶, 通过 JAK2/STAT5 信号通路刺激乳腺发育, 增强乳蛋白合成^[4], 促进乳汁产生、启动和维持, 通过抑制奶牛 PRL 可促使奶牛回乳^[10]。本研究结果表明回乳过程中, 奶牛血清 PRL 含量从回乳第 3~11 天间依次下降且差异极显著($P < 0.01$), 与 Littlejohn 等^[10]的报道一致。一方面可能是奶牛回乳期奶牛挤奶次数逐渐减少, 降低了对乳房和垂体的刺激, 使 PRL 含量下降; 另一方面可能是由于乳房积聚未挤尽的乳汁, 乳房受到物理压迫, 抑制乳腺泌乳, 从而抑制垂体 PRL 合成和分泌。

E₂ 是卵巢和胎盘合成和分泌的一种类固醇激素, 是乳腺发育、泌乳启动与维持必不可少的激素之一^[11]。乳腺发育早期, E₂ 和各类生长因子协同调控导管上皮末端终芽增生, 乳腺发育中、后期, E₂ 促进乳腺导管生长, 诱导 P₄ 受体表达, 促进乳腺发育^[12], 提高乳腺上皮组织 PRL 水平^[13], 并与 E₂ 受体 (estradiol receptor, E₂R) 结合直接发挥促乳功能^[14], 提高泌乳量。同时, E₂ 可诱导 GH 活性, 影响 INS 敏感性, 间接调控乳腺泌乳^[15]。郝振荣等^[16]和 Cools 等^[17]均发现大豆异黄酮 (植物雌激素) 可显著提高奶牛泌乳量, 说明了 E₂ 与泌乳呈正相关。然而, Berryhill 等^[18]研究结果则表明 E₂ 可促进产后妇女回乳。本研究结果显示, 在奶牛回乳过程中, 随泌乳量逐渐下降, 血清 E₂ 含量呈阶梯式下降趋势, 结果与 Akers^[14]、郝振荣等^[16]和 Cools 等^[17]对 E₂ 与泌乳量呈正相关的研究报道一致, 可能是由于奶牛回乳期泌乳量下降, PRL 含量降低, 使得乳腺 E₂R 表达减少^[19], 反馈调节 E₂ 含量降低。

P₄ 是介于内分泌和免疫系统交互作用的重要因素, 具有促进乳腺小叶及腺泡发育^[20], 维持妊娠等作用^[21-22]。陈建晖等^[23]研究表明, 在 E₂ 刺激乳腺导管发育的基础上, P₄ 能使乳腺发育更充分, 黄利等^[5]也指出 P₄ 可明显刺激豚鼠乳腺增生, 王瑞琼等^[24]发现乳腺生长不良孕鼠乳腺组织 P₄ 及其受体表达量较低。虽然 P₄ 可刺激乳腺发育, 但不会刺激

乳腺泌乳^[25], 夏成等^[26]指出奶牛产奶量与 P₄ 含量关系不明显。本研究结果显示在奶牛回乳过程中, P₄ 含量差异不显著 ($P > 0.05$), 可能是由于 P₄ 主要是妊娠黄体产生, 其在奶牛怀孕后期主要功能是抑制子宫肌蠕动, 以维持胎犊宫内生长, 而对回乳期奶牛泌乳无明显影响。

3.2 奶牛回乳期血清 STAT5 含量的变化规律

信号转导和转录激活因子 (STATs) 是一种独特 DNA 结合蛋白, 其家族成员较多。其中 STAT5 可被 PRL 和 GH 等激活, 参与乳腺细胞增殖、分化和泌乳^[27]。乳腺发育各阶段均可在其上皮细胞中检测到 STAT5, 且其酪氨酸磷酸化状态与乳腺发育及乳蛋白基因活化密切相关^[28]。STAT5 发挥泌乳功能主要受 PRL 介导的 JAK2/STAT5 信号转导通路调控^[29], 从而促进乳腺上皮细胞增殖和表达^[30], 藏长江等^[31]发现乳汁氨基酸和蛋白质含量均与 STAT5 mRNA 表达水平呈显著正相关。本研究结果发现, 在奶牛回乳过程中, STAT5 含量 0 至 5 d 极显著高于 7~11 d ($P < 0.01$), 但 STAT5 含量下降趋势较缓慢, 可能是由于 PRL 下降, 使 STAT5 被磷酸化量减少, 负反馈抑制 STAT5 进一步分泌导致。因此, STAT5 的活性是控制乳腺正常生长发育及泌乳的关键因子之一。

3.3 回乳期奶牛血清 PRL、E₂、P₄、STAT5 和产奶量间的相关性

在乳腺发育和泌乳中, PRL 介导的 JAK2/STAT5 对乳腺发育和乳蛋白表达有重要促进作用^[32-33], PRL 与其受体结合, 活化 JAK2 激酶, 使 STAT5 磷酸化^[34], 调控乳蛋白合成, 影响泌乳量及乳品质^[35]。本研究结果表明, 回乳期奶牛血清 PRL、STAT5 含量和奶产量变化两两间呈极显著正相关 ($P < 0.01$), 表明 PRL 和 STAT5 分别是奶牛泌乳的正向调节激素和因子, 并相互影响调控奶牛泌乳。E₂ 通过刺激垂体前叶合成和释放 PRL, 直接刺激乳腺增加 PRL 受体表达, 促进乳腺发育。本研究中, 产奶量变化与回乳期奶牛血清 E₂、PRL 和 STAT5 含量变化均呈极显著正相关 ($P < 0.01$), 表明 E₂、PRL 和 STAT5 不仅在奶牛泌乳期有促进泌乳的作用, 且在奶牛回乳期可通过降低 E₂、PRL 和 STAT5 含量, 促进回乳进行。另外, 在奶牛乳腺生长发育过程中, E₂ 可促进乳腺导管上皮细胞和小叶周围缔结组织生长, 并诱导 P₄ 受体表达, 促进 P₄ 与 PRL 协同刺激乳腺上皮细胞 DNA 合成和腺泡发

育^[13]。同时, P₄ 通过乳腺组织抑制 PRL 的催乳作用,降低 PRL 和 E₂ 的协同促乳功能^[20]。回乳期奶牛 PRL、E₂ 与 P₄ 含量均升高,乳腺组织发育迅速,但血中 P₄ 含量过高,抑制了 PRL 的泌乳作用,从而使乳腺具备泌乳能力而不泌乳^[25],分娩后,血中 P₄ 浓度降低, PRL 才正常发挥泌乳功能。本研究发
现,回乳期奶牛血清 P₄ 含量变化与血清 STAT5、E₂、PRL 含量和产奶量变化相关性均分别不显著 (P>0.05),可能是由于奶牛乳腺发育时, P₄ 发挥促生长和抑乳功能,但在奶牛维持泌乳和回乳过程中, P₄ 与其它泌乳激素无明显相互影响造成。

参考文献 References

- [1] Ogata Y, Yu G M, Hidaka T, Matzushige T, Maeda T. Effective embryo production from Holstein cows treated with gonadotropin-releasing hormone during early lactation [J]. *Theriogenology*, 2016, 86(6): 1421-1426
- [2] 文静, 卜登攀, 王建发, 孙鹏. 激素调控乳蛋白合成的作用及其分子机制[J]. 华北农学报, 2012, 27(增刊): 111-115
Wen J, Bu D P, Wang J F, Sun P. Progress in the regulation role of lactoprotein synthesis by hormone and its molecular mechanism [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2012, 27 (SI): 111-115 (in Chinese)
- [3] Bach L A. Insulin-like growth factor binding proteins—an update [J]. *Pediatric Endocrinology Reviews*, 2015, 13 (2): 521-530
- [4] Wang J F, Fu S P, Li S N, Hu Z M, Xue W J, Li Z Q, Huang B X, Lv Q K, Liu J X, Wang W. Short-chain fatty acids inhibit growth hormone and prolactin gene transcription via cAMP/PKA/CREB signaling pathway in dairy cow anterior pituitary cells [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14 (11): 21474-21488
- [5] 黄利, 李利民, 刘之恒, 宁楠, 刘亚灵. 乳癖 2 号汤对乳腺增生豚鼠雌孕激素水平及病理形态的影响 [J]. 四川中医, 2013, 31 (1): 61-63
Huang L, Li L M, Liu Z H, Ning N, Liu Y L. Breast 2 soup for hyperplasia of mammary glands guinea pig female progesterone level and the influence of the pathologic morphology [J]. *Journal of Sichuan of Traditional Chinese Medicine*, 2013, 31 (1): 61-63 (in Chinese)
- [6] 苗培. 催乳素及其受体的研究进展 [J]. 中国畜牧兽医文摘, 2016, 32 (3): 55
Miao P. The research progress of prolactin and its receptor [J]. *China Animal Husbandry and Veterinary Abstract*, 2016, 32 (3): 55 (in Chinese)
- [7] 王春璇. 奶牛疾病防控治疗学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2013
Wang C A. *Prevention and Treatment of Dairy Cattle Diseases Milk Cows Dry Method* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2013 (in Chinese)
- [8] 王雄, 陈永刚, 吴金虎. 泌乳素的研究进展 [J]. 医学综述, 2012, 18(1): 6-10
Wang X, Chen Y G, Wu J H. Study progress of prolactin [J]. *Medical Recapitulate*, 2012, 18(1): 6-10 (in Chinese)
- [9] 夏雷. 泌乳素的分子结构及表达调控 [J]. 现代医药卫生, 2009, 25(6): 882-883
Xia L. Molecular structure and expression regulation of prolactin [J]. *Modern Medicine and Health*, 2009, 25(6): 882-883 (in Chinese)
- [10] Littlejohn M D, Henty K M, Tiplady K, Johnson T, Harland C, Lopdell T, Sherlock R G, Li W, Lukefahr S D, Shanks B C, Garrick D J, Snell R G, Spelman R J, Davis S R. Functionally reciprocal mutations of the prolactin signalling pathway define hairy and slick cattle [J]. *Nature Communications*, 2014, (5): 5861-5861
- [11] Dessauge F, Finot L, Wiart S, Aubry J M, Ellis S E. Effects of ovariectomy in prepubertal goats [J]. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2009, 60(S3): 127-133
- [12] Agarwal S K, Kim J, Korst L M, Hughes C L. Application of the estrogen threshold hypothesis to the physiologic hypoestrogenemia of lactation [J]. *Breastfeeding Medicine*, 2015, 10(2): 77-83
- [13] 崔英俊, 李庆章. 乳腺发育激素对小鼠乳腺中 FGF7, FGF10 及其受体表达的影响 [J]. 中国科学 C 辑: 生命科学, 2008, 38 (7): 612-618
Cui Y J, Li Q Z. The growth hormone on mouse breast FGF7, FGF10 and its receptor expression [J]. *Science in China: Series C, Life Sciences*, 2008, 38(7): 612-618 (in Chinese)
- [14] Akers R M. Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows [J]. *Journal of Dairy Science*, 2006, 89(4): 1222-1234
- [15] 张贵锋, 吴晓玲, 温鸿源, 林楚华, 廖广婧, 曾艺文. 针灸结合对围绝经期综合征大鼠血清 E₂、FSH、LH 及 IGF 表达水平的影响 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2016, 37(17): 2143-2145
Zhang G L, Wu X L, Wen H Y, Lin C H, Liao G J, Zeng Y W. The influence of the level of expression of on perimenopausal syndrome rats serum E₂, FSH, LH, and IGF by combination of acupuncture with medicine [J]. *Journal of Qiqihar University of Medicine*, 2016, 37(17): 2143-2145 (in Chinese)
- [16] 郝振荣, 朱志宁, 郭玉琴, 蒋林树, 高伟, 李艳艳. 大豆黄酮对产奶量和牛奶品质的影响 [J]. 北京农学院学报, 2009, 24(4): 26-27, 38
Hao Z R, Zhu Z N, Guo Y Q, Jiang L S, Gao W, Li Y Y. Effect of daidzein supplementation in diet on milk yield and quality in Holstein lactating cows [J]. *Journal of Beijing University of Agriculture*, 2009, 24(4): 26-27, 38 (in Chinese)
- [17] Cools S, Van den Broeck W, Vanhaecke L, Heyerick A, Bossaert P, Hostens M, Opsomer G. Feeding soybean meal

- increases the blood level of isoflavones and reduces the steroidogenic capacity in bovine corpora lutea, without affecting peripheral progesterone concentrations [J]. *Animal Reproduction Science*, 2014, 144(3/4): 79-89
- [18] Berryhill G E, Trott J F, Hovey R C. Mammary gland development: It's not just about estrogen [J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(1): 875-883
- [19] Connor E E, Wood D L, Sonstegard T S, Da Mota A F, Bennett G L, Williams J L, Capuco A V. Chromosomal mapping and quantitative analysis of estrogen-related receptor alpha-1, estrogen receptors alpha and beta and progesterone receptor in the bovine mammary gland [J]. *Journal of Endocrinology*, 2005, 185(3): 593-603
- [20] Hilton H N, Graham J D, Clarke C L. Minireview: Progesterone regulation of proliferation in the normal human breast and in breast cancer; A tale of two scenarios? [J]. *Molecular Endocrinology*, 2015, 29(9): 1230-1242
- [21] Duan L, Yan D, Zeng W, Yang X, Wei Q. Effect of progesterone treatment due to threatened abortion in early pregnancy for obstetric and perinatal outcomes [J]. *Early Human Development*, 2010, 86(1): 41-43.
- [22] Szekeres-Bartho J, Balasch J. Progestagen therapy for recurrent miscarriage [J]. *Human Reproduction Update*, 2008, 14(1): 27-35
- [23] 陈建晖, 佟慧丽, 李庆章, 高学军. 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]. *中国奶牛*, 2008(8): 9-13
Chen J H, Tong H L, Li Q Z, Gao X J. 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 (in Chinese)
- [24] 王瑞琼, 吴国泰, 刘峰林, 魏彦明, 吴玉泓. 心理应激致孕鼠乳腺发育不良及雌/孕激素和受体水平异常 [J]. *中国实验动物学报*, 2015, 23(3): 272-277
Wang R Q, Wu G T, Liu F L, Wei Y M, Wu Y H. Mammary dysplasia and abnormal estrogen/progesterone or their receptor expression induced by psychological stress in pregnant rats [J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2015, 23(3): 272-277 (in Chinese)
- [25] 丁威, 邢军, 魏全伟, 石放雄. 二花脸猪卵巢卵泡形成和早期发育过程中雌二醇和孕酮含量变化及其受体定位 [J]. *江苏农业学报*, 2016, 32(2): 383-389
Ding W, Xing J, Wei Q W, Shi F X. Changes in concentrations of estradiol and progesterone during ovarian follicular development and localization of ovarian estradiol receptor (ER) and progesterone receptor (PR) in the fetal and neonatal Erhualian swines [J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 32(2): 383-389 (in Chinese)
- [26] 夏成, 朱玉哲, 徐鹏, 吴凌, 徐闯, 郑家三. 过瘤胃脂肪对泌乳奶牛生殖机能的影响 [J]. *中国奶牛*, 2010, 10: 35-38
Xia C, Zu Y Z, Xu P, Wu L, Xu C, Zhen J S. Rumen bypass fat affect lactation cows reproductive function [J]. *China Dairy Cattle*, 2010, 10: 35-38 (in Chinese)
- [27] Linher-Melville K, Haftchenary S, Gunning P, Singh G. Signal transducer and activator of transcription 3 and 5 regulate system Xc- and redox balance in human breast cancer cells [J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2015, 405(1/2): 205-221
- [28] Chen C C, Stairs D B, Boxer R B, Belka G K, Horseman N D, Alvarez J V, Chodosh L A. Autocrine prolactin induced by the Pten-Akt pathway is required for lactation initiation and provides a direct link between the Akt and Stat5 pathways [J]. *Genes and Development*, 2012, 26(19): 2154-2168
- [29] Iavnilovitch E, Eilon T, Groner B, Barash I. Expression of a carboxy terminally truncated Stat5 with no transactivation domain in the mammary glands of transgenic mice inhibits cell proliferation during pregnancy, delays onset of milk secretion, and induces apoptosis upon involution [J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2006, 73(7): 841-849
- [30] Li H M, Wang C M, Li Q Z, Gao X J. MiR-15a decreases bovine mammary epithelial cell viability and lactation and regulates growth hormone receptor expression [J]. *Molecules*, 2012, 17(10): 12037-12048
- [31] 臧长江, 张养东, 王加启, 胡涛, 卜登攀, 金迪, 周凌云, 李发弟. 脂多糖对泌乳奶牛乳中氨基酸组成及蛋白质代谢相关基因表达的影响 [J]. *动物营养学报*, 2012, 24(9): 1770-1777
Zang C J, Zhang Y D, Wang J Q, Hu T, Bu D P, Jin D, Zhou L Y, Li F D. Effects of lipopolysaccharide on amino acid composition and gene expressions related to protein metabolism in milk of dairy cows [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(9): 1770-1777 (in Chinese)
- [32] Khatib H, Monson R L, Schutkus V, Kohl D M, Rosa G J, Rutledge J J. Mutations in the STAT5A gene are associated with embryonic survival and milk composition in cattle [J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(2): 784-793
- [33] 宋金委, 李辉, 陈哲, 施振旦, 王振勇. 基于 PRLR-JAK-STAT5 信号传导通路测定鹅催乳素的新方法 [J]. *畜牧兽医学报*, 2016, 47(7): 1389-1395
Song J W, Li H, Chen Z, Shi Z D, Wang Z Y. A novel method of detecting goose prolactin based on PRLR-JAK-STAT5 signal transduction pathway [J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2016, 47(7): 1389-1395 (in Chinese)
- [34] Heltemes-Harris L M, Farrar M A. Constitutively active STAT5 constructs [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2013, 96(7): 225-232
- [35] 黄玉玲. SOCS3 抑制 STAT5a 信号通路调节奶牛乳腺上皮细胞泌乳 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014
Huang Y L. SOCS3 inhibit STAT5a signaling pathways regulating the cow breast ductal epithelial cells [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014 (in Chinese)