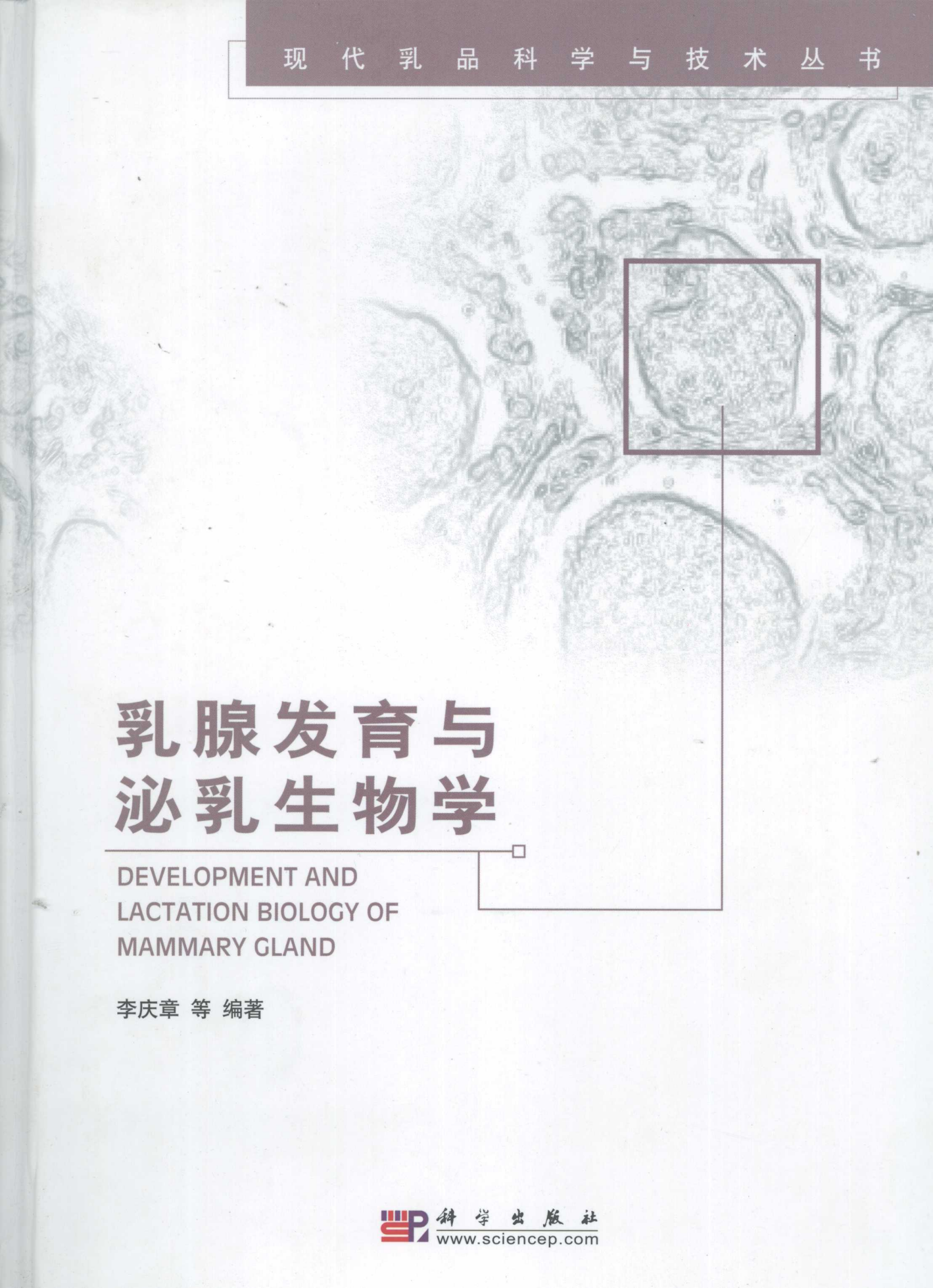


现代乳品科学与技术丛书



乳腺发育与 泌乳生物学

DEVELOPMENT AND
LACTATION BIOLOGY OF
MAMMARY GLAND

李庆章 等 编著

现代乳品科学与技术丛书

乳腺发育与泌乳生物学

Development and Lactation Biology of Mammary Gland

李庆章 等 编著

图书在版编目(CIP)数据

乳腺发育与泌乳生物学 = Development and Lactation Biology of Mammary Gland / 李庆章等编著. — 北京: 科学出版社, 2008.
(现代乳品科学丛书) ISBN 978-7-03-023082-1

I. ①乳… II. 李… III. ①哺乳动物解剖学—实验—研究 IV. Q632.8

中国图书馆书号(CIP)数据 161572

责任编辑: 李惠卿 封面设计: 王 磊 责任印制: 孙 洋
北京印刷厂印刷 2008年5月第1次印刷 16开 120页

科学出版社

北京 100070

<http://www.sciencep.com>

010-64015000

科学出版社发行 010-64015000

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书是我国第一部有关哺乳动物乳腺发育与泌乳生物学的专著,全篇以哺乳动物资料为主,兼顾人的有关资料。主要内容有:乳腺发育的解剖学与组织学,泌乳生物学,激素对乳腺发育、泌乳及退化的作用,细胞因子对乳腺发育、泌乳及退化的影响,天然生物功能物质对乳腺泌乳的作用,乳腺发育、泌乳及退化相关重要功能基因及其表达调控,乳腺生物工程学与乳腺生物反应器,乳房免疫学和乳房疾病学,乳腺发育研究技术。本书的出版将为广大泌乳生物学与乳腺功能调控研究工作者提供系统、完整的重要参考资料,为广大科技和医学相关工作者提供一部乳腺重要基础理论和主要研究技术参考书。

本书的读者对象为发育生物学、基础兽医学、动物科学与生产学等研究工作者和有关研究领域的硕士研究生、博士研究生、高年级本科生等,也可作为基础医学、妇产科学等相关学科有关研究领域广大研究工作者、研究生和本科生的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

乳腺发育与泌乳生物学=Development and Lactation Biology of Mammary Gland/李庆章等编著. —北京:科学出版社,2009

(现代乳品科学与技术丛书)

ISBN 978-7-03-023088-1

I. 乳… II. 李… III. ①哺乳动物纲-乳腺-发育②哺乳动物纲-泌乳
IV. Q959.8

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 151277 号

责任编辑:李秀伟 刘 晶 甄文全 王 静/责任校对:钟 洋

责任印制:钱玉芬/封面设计:美光制版

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009 年 3 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2009 年 3 月第一次印刷 印张:24 3/4 插页:4

印数:1—1 500 字数:560 000

定价:88.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈双青〉)

《乳腺发育与泌乳生物学》编委会名单

主 编：李庆章 博士 教 授
副主编：高学军 博士 教 授
赵 锋 博士 助理研究员

编 者：(以姓氏笔画为序)

王春梅 博士 教 授
吕 英 博士 讲 师
曲 波 博士 助理研究员
李庆章 博士 教 授
张 莉 博士 讲 师
林 叶 博士 讲 师
赵 冰 博士 讲 师
赵 锋 博士 助理研究员
高学军 博士 教 授
崔英俊 博士 讲 师

丛书序

乳, 为所有雌性哺乳类动物乳腺组织所分泌的液体食品, 为其幼仔的生长和发育提供必需的营养需要和重要的活性物质, 如免疫物质、生长因子、酶等。在人类驯养的动物中, 牛、马、羊、驼等生产的乳被人类作为重要的动物性食品而利用, 并在悠久的历史过程中形成了种类繁多、风味各异的乳制品。它们丰富了人类的膳食来源, 改善了人类的膳食结构, 甚至形成了独特的膳食文化。

“国以民为本, 民以食为天”。伴随着我国国民经济的前进步伐, 在 20 世纪 90 年代后期, 我国乳业得到空前发展。进入 21 世纪, 我国乳业更是日新月异, 2005 年奶牛存栏数已经达到 1280 万头, 乳类的总产量已经超过 2860 万 t, 总产值超过 862 亿元人民币。消毒乳和乳饮料、酸奶和酸奶饮料、乳粉等传统乳制品的生产迅速增加, 干酪、保健乳制品的市场正在开发之中, 人均占有量已经超过了 20 kg。我国的乳业正处于快速成长期, 一批大中型乳品生产企业迅速发展, 并在国内形成了自己的知名品牌。

东北农业大学地处我国乳业生产中心地带——黑龙江省, 是我国乳品科学事业的发祥地, 也是培养我国乳品科学研究人才数量最多的高等学府, 为我国乳业的发展作出了杰出贡献。经过 58 年的建设, 现在拥有乳品科学和技术研究的两个平台: 国家乳品工程技术研究中心、乳品科学教育部重点实验室, 以及一大批优秀的人才。“博观而约取, 厚积而薄发”, 经过多年的历史积淀, 科学研究人员已经积累了大量宝贵的研究资料和学术资源。为了充分展现东北农业大学在乳品科学领域的学术地位和学术成就, 更好地培养乳品科学领域的高层次创新型人才, 保证优质、安全、可口的乳制品生产, 促进我国乳业的全面、协调、可持续发展, 在科学出版社的大力支持下, 我们组织优秀的乳品科学研究人员集结编写(译)了《现代乳品科学与技术丛书》。该部丛书首次最系统、最完整地汇集了现代乳品科学领域的理论与技术, 为从事乳品科学研究和投身乳品生产实践的科学技术人员提供了必要的参考书, 并为乳品科学研究领域的莘莘学子构建起最新颖、最完善的知识框架。编写(译)工作的整体完成, 将是东北农业大学食品科学和乳品科学发展史上的一个重要里程碑。

我国乳业生产方兴未艾, 其未来的发展需要乳品科学研究工作的坚强支持。东北农业大学将汇聚国内外一流乳品科学人才, 积极促进多学科交叉与融合, 在大力开展高水平基础研究和应用研究的基础上努力实现乳品科学创新和乳品技术创新, 为我国的乳品生产和乳业的未来发展提供理论指导和技术支持。《现代乳品科学与技术丛书》的正式出版, 就是我们努力实现这一宏伟目标的具体表现。愿《现代乳品科学与技术丛书》的广大读者, 通过自己的“博学、审问、慎思、明辨、笃行”, 能够从中获得服务社会、造福人类的知识和技能, 这才是此丛书出版的真正目的。

李庆章 教授
东北农业大学校长
2006 年夏于哈尔滨

前 言

众所周知,乳是人类和雌性哺乳动物哺育幼儿(仔)生长和发育的天然营养品,也是人类赖以生存和不可或缺的重要食品,营养价值十分丰富,有“全价食品”之誉。尽管人类女性现在哺乳婴儿的任务几近荒弃,但从培养健康儿童即构建健康未来人类的角度出发,世界卫生组织(WHO)还是奉劝妇女至少要给予新生儿不少于4个月的人乳哺育。人类对乳的基本要求应该是营养丰富与安全可靠。为人类生命和生活质量的提高生产更多、更好的乳及乳制品,是乳品研究与乳品生产的一项根本任务。

我国的奶牛养殖发展十分迅速,奶牛存栏数已经达到1517.5万头(2007年),牛乳正在逐步成为我国特别是城市人口的重要营养食品。此外,奶山羊、奶水牛存栏数也有显著增加。但也必须看到,我国的奶牛年单产水平还较低,平均水平仅为3.84t,而美国为8.43t,澳大利亚为7~8t,可见我国奶牛养殖发展的空间和潜力还很大。乳腺(mammary gland)是重要的泌乳器官,其充分的正常发育不仅关系乳房的卫生健康,而且关系到产奶动物是否多产奶和产好奶,即关系产奶动物的生产能力和生产效益。保护乳房和维护乳房健康,是生产优质奶的重要前提,而大量乳腺发育、乳腺生理、乳腺健康和乳腺卫生知识,是人类自觉实现乳房健康和指导生产优质奶的理论基础。目前,世界各国关于乳腺发育与泌乳生物学的深入研究很少,但却正在成为诸多有识之士研究的学术热点。因此,乳腺发育与泌乳生物学(development and lactation biology of mammary gland)便随着人类对乳及乳制品的不断需求应运而生,并逐步发展成为发育生物学(biology of development)的一个重要分支。

世界上乳腺发育与泌乳生物学研究已有100多年的历史,在这100多年的探索中,已经揭示了乳腺结构与泌乳功能之间的关系,找到了生理学调控产奶量的方法,并可以利用遗传工程手段对泌乳动物乳腺进行改良,为提高人类福利和生活质量服务。但也必须看到,乳腺发育与泌乳生物学研究还存在许多未知领域,等待科研工作者和乳业生产者去开发、去探索。相信乳腺发育与泌乳生物学这一神秘领域的彻底揭示和阐明,必将推动世界奶牛养殖业和乳品制造业的蓬勃发展。有关乳腺发育和泌乳生物学方面的同类书籍,可以说是寥寥无几。而有关乳腺发育和泌乳生物学方面的文献资料,虽说数量较多,但却主要集中出自美国、澳大利亚、爱尔兰、加拿大等几个国家的研究者之手,散见于多种科技期刊。因此,编写一部乳腺发育与泌乳生物学的专著,不仅对于促进我国更多的尖端科学家投身乳品科学研究具有重要的学术发展意义,而且对于保护乳房健康和优质奶生产也具有重要的国民经济意义。为了认真总结前人对乳腺发育与泌乳生物学的最新研究成果,为我国动物科学和动物生产提供重要的基础资料,进一步推动我国乳腺发育与泌乳生物学研究的深入开展,乳品科学教育部重点实验室(东北农业大学)泌乳生物学与乳腺功能调控研究部和国家重点学科基础兽医学学科组织主要研究人员,密切结合自己的研究成果,认真查阅了大量研究资料,精心编著了《现代乳品科学与技术丛书》之一——我国第一部有关泌乳生物学与乳腺功能调控的学术专著《乳腺发育与泌乳生物学》。

与国外已经出版的同类书籍比较,本专著具有以下特点:①学术思想——在充分查

阅并占有资料的基础上,作者主要结合自身多年研究工作成果,撰写我国第一部哺乳动物乳腺发育与泌乳生物学专著,为广大生物科技和医学相关工作者提供一部乳腺重要基础理论和主要研究技术参考书;②内容范围——包括哺乳动物乳腺发育生物学、乳腺病理生物学、乳腺环境生物学、乳腺生物工程学等内容,为广大研究工作者提供有关科学理论知识和主要研究技术;③结构体系——由乳腺发育与泌乳生物学的基本理论知识和主要研究技术构架而成,两者互为补充,相得益彰;④写作特点——图文并茂、学术结合、编排新颖、文字清新。坚信本专著一定能为我国哺乳动物乳腺发育与泌乳生物学研究工作者提供系统、完整的参考资料,进一步丰富人类乳腺发育与泌乳生物学的知识宝库。

参与编著本书的各位编者所承担的编写任务分别是:第1章绪论、第10章乳腺发育研究技术由李庆章博士编写;第2章乳腺发育的解剖学与组织学由曲波博士和崔英俊博士编写;第3章泌乳生物学由赵锋博士编写;第4章激素对乳腺发育、泌乳及退化的作用由赵冰博士编写;第5章细胞因子对乳腺发育、泌乳及退化的影响由林叶博士编写;第6章天然生物功能物质对乳腺泌乳的作用由高学军博士编写;第7章乳腺发育、泌乳及退化相关重要功能基因及其表达调控由王春梅博士编写;第8章乳腺生物工程学与乳腺生物反应器由张莉博士编写;第9章乳房免疫学和乳房疾病学由吕英博士编写;全书由李庆章博士统稿。

本书付梓之际,我们的心情既兴奋又惶恐。兴奋的是一本集乳腺发育与泌乳生物学最新研究成果的学术专著即将出版,并贡献给这个不创新就会落伍的伟大时代;惶恐的是一群初涉乳腺发育与泌乳生物学研究的晚辈后生,借着“初生之犊”的胆气撰写了这部学术专著,难免充斥着不成熟就会挨骂的忧虑。好在我们的研究工作将会不断地继续下去,他人的研究成果也会不断被充实进来,本书也会随着时代的发展和科技的进步,不断得以修订和完善。本书的编写,还要特别感谢黑龙江省自然科学基金重点项目(ZJN0504)的支持。

编著者

2009年1月1日

目 录

丛书序

前言

1 绪论	1
1.1 导语	1
1.2 乳腺发育生物学的科学使命	1
1.3 乳腺发育生物学研究的历史	2
1.4 乳腺发育生物学研究的现状	3
1.5 乳腺发育生物学的主要成就	6
1.6 乳腺发育生物学的发展前景	8
小结	9
参考文献	9
2 乳腺发育的解剖学与组织学	12
2.1 概述	12
2.2 乳腺胚期发育的解剖学与组织学	12
2.3 乳腺胚后发育的解剖学与组织学	21
小结	46
参考文献	48
3 泌乳生物学	57
3.1 概述	57
3.2 泌乳过程及泌乳机制	58
3.3 泌乳的调节	64
3.4 乳的生物化学	72
小结	98
参考文献	99
4 激素对乳腺发育、泌乳及退化的作用	103
4.1 概述	103
4.2 主要激素对乳腺发育、泌乳及退化过程的作用	103
4.3 类激素样物质对乳腺发育、泌乳及退化过程的作用	127
小结	133
参考文献	133
5 细胞因子对乳腺发育、泌乳及退化的影响	137
5.1 概述	137
5.2 影响乳腺发育的细胞因子	137
5.3 影响乳腺泌乳的细胞因子	171
5.4 影响乳腺退化的细胞因子	175
小结	180

参考文献	180
6 天然生物功能物质对乳腺泌乳的作用	188
6.1 概述	188
6.2 常用主要天然生物功能物质及其调乳效应	188
6.3 调乳天然功能物质的作用途径及机制	197
小结	213
参考文献	214
7 乳腺发育、泌乳及退化相关重要功能基因及其表达调控	221
7.1 概述	221
7.2 乳腺发育、泌乳及退化相关重要功能基因	222
7.3 乳腺重要功能基因表达调控及其机制	237
小结	241
参考文献	242
8 乳腺生物工程学与乳腺生物反应器	249
8.1 概述	249
8.2 乳腺干细胞与乳腺生物工程学	249
8.3 乳腺生物反应器	268
小结	286
参考文献	286
9 乳房免疫学和乳房疾病学	292
9.1 概述	292
9.2 乳房免疫学	293
9.3 乳房疾病学	308
小结	332
参考文献	333
10 乳腺发育研究技术	340
10.1 概述	340
10.2 乳腺研究常用的模式动物	340
10.3 乳腺上皮细胞的体外培养与乳腺上皮细胞系的建立	346
10.4 乳腺外植体的培养	359
10.5 血乳屏障的建立与乳腺生物合成机制研究	362
10.6 乳腺生物反应器	366
小结	376
参考文献	376
索引	379
图版	

1 绪 论

导语

乳腺发育生物学的科学使命

乳腺发育生物学研究的历史

国际乳腺发育生物学研究的历史

国内乳腺发育生物学研究的历史

乳腺发育生物学研究的现状

国际乳腺发育生物学研究的现状

国内乳腺发育生物学研究的现状

乳腺发育生物学的主要成就

国际乳腺发育生物学的主要成就

国内乳腺发育生物学的主要成就

国内乳腺发育生物学研究的差距

乳腺发育生物学的发展前景

乳腺发育生物学的科学发展前景

乳腺发育生物学的生产发展前景

乳腺发育生物学的商业发展前景

小结

参考文献

1.1 导语

从撒哈拉沙漠岩石上的图画可以看出早在公元前 4000 年,乳和乳制品就已经成为人类重要的食物。翻开世界人类营养发展史,也不难发现乳特别是牛乳已经成为一个民族健康水平提升的关键。因此,推动乳业发展和公众饮奶量的增加,成为世界各国政府的一项重要工作。第二次世界大战以后,日本政府就提出了“一杯牛奶强壮一个民族”的口号。20 世纪 50 年代,美国政府提出“三杯奶运动”,倡导国民每餐一杯奶。与此同时,印度政府也掀起“白色革命”,大力发展乳业,使牛乳总产量跃居世界第一位。我国在 2006 年也提出“每天一杯奶,强壮中国人”的口号,可见乳和乳制品在人类营养需求中已经居于首位。

随着人类对乳及乳制品认识逐步提高,从“有奶喝”转为“喝好奶”的需求日益强烈,提高奶牛的乳产量和乳质量成为乳业生产者的目标,乳产量和乳质量也已经成为家畜遗传改良的一个主要选择标准。因此,从乳汁的生产器官——乳腺自身出发,探讨乳腺乳合成和分泌的机制、影响乳腺发育和泌乳的因素,以及通过遗传操作从根本上提高泌乳动物的泌乳机能,甚至利用乳腺作为生物反应器来生产乳汁中原本不存在的有益生物活性成分,已经成为当今乳腺发育生物学研究的重点。

1.2 乳腺发育生物学的科学使命

纵观世界农业发展的历史,过去农业的生产目标一直是提高产量和生产效率,对提高食品的营养和制造特性没有在意。近年来,随着越来越多的消费者注重饮食和健康之间的关系,使得营养质量在食品选择上变得越来越重要。乳和乳制品是人类饮食中重要的营养来源,可以为人类提供能量、高质量的蛋白质、必需维生素及矿物质。人类对乳

和乳制品需求的提高促使乳业生产者和科研工作者将研究视角转到乳腺发育和泌乳功能调控这一领域。乳腺发育生物学 (developmental biology of mammary gland) 研究的开展以及对乳的生物合成与分泌的理解, 为提高泌乳动物乳腺的生产性能、提高食物中营养 (能源和蛋白质) 转化为乳汁成分的转化效率以及提高乳的健康特性 (即减少乳脂含量, 提高乳蛋白含量) 和加工处理特性 (如 $>3\%$ 的乳蛋白含量, 较高的 κ -酪蛋白和较低的 β -乳球蛋白含量, 减少乳糖) 提供重要的理论基础。因此, 从人类的营养需求和动物福利出发, 如何最大化地提高乳产量和乳质量而不影响泌乳动物的健康、繁殖能力和寿命, 一直是乳腺发育生物学的科学使命。

1.3 乳腺发育生物学的历史

大约 1.2 亿年前, 恐龙统治着陆地生态系统。此时, 一些小的四足动物在哺育后代的方式上正在经历史无前例的进化, 产生了最有效的、适于幼仔出生后营养获得的方式——泌乳。中生代末期, 当恐龙和其他大型爬行动物灭绝后, 泌乳成为哺乳动物重要的生理功能。由于哺乳动物的生存环境不断变化, 其泌乳机能也随着环境、饮食、生殖周期以及繁殖季节的变化而变化。经过几百万年的进化, 形成了现在哺乳动物的泌乳多样性。

人类从营养学角度出发利用并调控哺乳动物泌乳机能的历史和人类文明一样久远, 但是由于地理条件的限制, 人类所研究的泌乳动物物种很有限, 多集中在家养的动物, 如奶牛、绵羊和山羊上。

1.3.1 国际乳腺发育生物学的历史

世界上最早对奶牛、绵羊和山羊泌乳调控的探索开始于 5000 年前, 主要是通过驯化和人工选育的方法来提高泌乳动物的产乳性能。当时部分欧洲、非洲、中东和东南亚人驯养一些具有泌乳特性的偶蹄目动物。这些偶蹄目动物相对体积较大、乳产量高、泌乳期长, 具有群居特性, 适合人类驯养。在种群中, 由于遗传变异和自发突变的影响, 人类可以从中选育乳产量更高、更加温顺的个体。

乳腺发育和泌乳功能调控研究真正进入实验室研究阶段是在 100 年前, 主要致力于乳腺形态发育和泌乳功能内分泌调控研究。乳腺形态发育和泌乳功能的内分泌调控属于生理学研究范畴。生理学调控乳产量和乳质量的方法主要是利用家畜的先天特征, 通过激素或生长因子的内分泌和旁分泌调节来诱导乳腺发育和乳的合成与分泌。乳腺发育和泌乳的生理学调控研究开始于一个经典的实验, 即通过切除合成和分泌类固醇类激素和肽类激素的器官来研究乳腺形态发育的变化。1900 年, Halban 首先证实, 乳腺的生长发育受卵巢调控, 切除卵巢引起乳腺发育退化, 移植回卵巢可以预防乳腺萎缩。28 年后, Stricker 和 Grueter 通过给切除卵巢的兔子注射垂体抽提物来诱导乳腺发育和乳的分泌。1932 年, Asdell 证明垂体前叶提取物也可以提高泌乳山羊的乳产量。1933 年, Riddle 等纯化了这种可以诱导乳汁分泌的垂体激素, 并命名为催乳素。1937 年, Asimov 和 Krouze 用 500 多头奶牛进行实验, 发现给奶牛注射垂体抽提物也可以提高泌乳奶牛的乳产量。1945 年, Li 等进一步研究证实垂体抽提物中还有另外一种可以促进乳

腺发育和提高乳产量的成分存在,即生长激素。1955年,Brumby和Hancock第一次对奶牛长期注射牛生长激素,结果显示连续注射12周,奶牛泌乳量提高约50%。进入20世纪50年代,随着体外培养技术的进一步发展,使得人们可以更加直接地评价激素和生长因子对乳腺发育和泌乳的作用。1964年,Rivera等的体外研究结果表明,雌激素、催乳素和生长激素能共同促进乳腺发育。1966年,Cowie等应用切除卵巢和垂体的山羊进行实验,证明生长激素也可以促进山羊乳腺发育。1973年,Machlin对奶牛长期注射高纯度的牛生长激素,奶牛泌乳量显著提高。1986年,Sejrsen等首次证明生长激素对后备牛乳腺发育具有正向诱导作用。生物技术的发展也提高了这些影响乳腺发育和泌乳的激素和生长因子的价值与效率(Forsyth, 1982; Yoshimura, 1986)。在这些研究理论的基础上,1994年美国联邦食品与药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)首次批准了可以将重组生长激素应用于奶牛养殖业来提高泌乳奶牛的乳产量,一直延续至今。

在这个历史时期,对乳腺结构发育与泌乳功能关系的研究也在迅速展开。1980年,Topper等发现全部乳腺上皮细胞的增殖主要发生在妊娠期和泌乳期。同年,Cowie等研究证明妊娠期乳腺腺泡上皮细胞的生长和分化是整个分泌上皮细胞面积和乳产量的主要决定因素,乳腺分泌上皮细胞的维持也是决定泌乳持续性和乳产量的重要指标(Knight and Peaker, 1984)。1989年,Wilde (1989)研究发现,在泌乳下降阶段,反刍动物乳腺上皮细胞减少约50%(Wilde and Knight, 1989)。Turner在1991年证实泌乳奶牛的一生中要经历好多次妊娠循环,每次妊娠循环乳腺上皮细胞都要经历增殖、分化、乳蛋白合成和分泌、退化4个阶段。

1.3.2 国内乳腺发育生物学研究的历史

虽然国外乳腺发育生物学的研究在20世纪如火如荼地开展,但国内乳腺发育生物学的研究历史一直处于空白状态。

1.4 乳腺发育生物学的现状

1.4.1 国际乳腺发育生物学的现状

随着分子生物学和生物技术的发展,乳腺发育生物学与泌乳功能调控进入一个崭新的研究阶段。乳腺发育和泌乳的生理学调控研究认为垂体对正常乳腺发育是必需的,催乳素或生长激素可以诱导乳的合成和分泌,但其作用的分子机制还不清楚。分子生物学和生物技术应用用于乳腺发育和泌乳功能调控研究得以证实,催乳素是乳腺细胞分化的主要刺激者。催乳素作用的顺式元件存在于许多乳腺特异性乳蛋白基因的启动子区。在分离的乳腺上皮细胞中添加催乳激素可以诱导乳蛋白在mRNA水平和蛋白质水平的表达。现在知道,内分泌激素和生长因子的作用与其在靶细胞中的信号转导通路显著相关。因此,探讨这些激素和生长因子如何在乳腺分泌细胞中发挥效应,深入理解这些激素调控乳蛋白基因表达的详细机制成为现代乳腺发育生物学研究的热点。一时之间,理解经典的乳腺发育和泌乳相关激素与生长因子以及它们的信号级联途径,似乎可以解释乳腺发育和功能的本质。

在最近几年, 生物技术的发展到可以从鼠基因组中敲除基因, 这使得我们可以以小鼠或大鼠为研究对象, 鉴定乳腺发育过程中的基因调控成分。分子生物学技术已经使我们可以比较野生型和基因敲除鼠组织来研究乳腺发育过程中乳腺组织的遗传框架和信号网络, 了解乳腺发育、泌乳及退化相关基因的功能。例如, 在证明乳腺退化过程中与乳腺上皮细胞凋亡相关的信号分子时, Chapman 等 (1999) 就采用了将乳腺细胞中 STAT3 基因靶向断裂的方法研究 STAT3 信号分子在乳腺组织退化过程中的作用, 发现 STAT3 基因靶向断裂导致幼仔离乳后乳腺上皮细胞凋亡延迟。

哺乳动物的乳腺是一个动态器官, 在妊娠、泌乳及退化过程中经历显著的发育变化。乳腺细胞是否由干细胞所产生成为乳腺发育生物学研究的又一个热点。1998 年, Kordon 等将标记有小鼠乳腺肿瘤病毒的乳腺上皮组织移植到清除上皮细胞成分的乳腺脂肪垫后, 发现可以产生一个新的乳腺, 证明乳腺中的确存在具有自我更新能力的多能干细胞 (Smith and Chepko, 2001)。干细胞的存在对于解释乳腺再生能力, 研究乳腺发生以及细胞分化的机制具有重要意义。对于奶牛乳腺干/祖细胞的研究仍处于初级阶段, 目前仅知道奶牛单一的乳腺干细胞可以独自增殖成一个细胞克隆 (Holland *et al.*, 2003)。这个细胞克隆具有较长的自我更新周期, 但不能在体外条件下无限扩增, 也没有显示出可以整合到体内乳腺环境中生存并分化成功能性乳腺上皮细胞的能力。

泌乳的乳腺是一个巨大的蛋白质加工厂。早在 1969 年, Patton 就认识到乳腺上皮细胞作为“生物工厂”的重要性。随着哺乳动物遗传工程的发展, 利用乳腺作为生物反应器来生产大量正常乳中没有的生物活性物质被提到日程上来。1987 年, 美国国立卫生研究院和英国 Integrated Genetics Inc (Framingham, MA) 的科学家创立了激活转基因小鼠乳腺中外源基因的方法, 成功地在小鼠乳汁中产生了人组织纤维蛋白酶原活化因子和绵羊 β -乳球蛋白 (β -LG), 这使得利用哺乳动物乳腺生产药用蛋白成为可能 (Gordon *et al.*, 1987)。目前至少有 20 种属于药物制剂的血清蛋白已经在动物乳腺中产生。美国 Genzyme 转基因公司从 1990 年开始即致力于应用转基因山羊乳腺生物反应器生产重组人抗凝血酶 III, 最终使得重组人抗凝血酶 III 成为世界上第一个动物乳腺生物反应器生产的基因工程新药, 并于 2006 年 6 月获得了欧洲医药评价署人用医药产品委员会批准意见, 率先在荷兰上市。目前, 全世界已有二三十家公司致力于开发动物乳腺生物反应器重组蛋白药物。除了重组人抗凝血酶 III 外, 还有利用转基因绵羊、牛和兔乳腺生物反应器生产的人 α -抗胰蛋白酶 (抗蛋白酶缺乏性肺气肿药物)、重组血纤维蛋白酶溶酶原激活剂 (抗栓药)、人 C1 抑制剂 (治疗血管神经性水肿的药物) 等重组蛋白药物也已经完成或进入临床 III 期试验。

在努力提高泌乳动物乳产量和乳质量的同时, 随着乳制品制造业的发展, 人们对原料乳的特性要求也越来越高。因此, 通过分子生物学手段改善原料乳成分的特性, 从而提高乳制品的生产效率、消化特性、储存期限等也引起乳业生产者的关注。通过提高乳中酪蛋白含量提高乳酪的制作效率, 近期在新西兰的转基因牛中获得成功。通过提高乳中酪蛋白上的磷酸化位点来提高乳化特性, 提高 κ -酪蛋白 (κ -CN) 的含量来降低胶体颗粒大小、降低凝胶化和凝固、提高消化吸收率, 通过敲除 α -乳白蛋白基因降低乳中乳糖含量、降低原料乳的含水量等方法的可行性也已经在转基因小鼠中被证实。目前, 含有人类溶菌酶的乳汁在转基因山羊中产生, 这种乳汁明显提高了乳酪的制作效益。首

先它会缩短凝结时间、提高凝乳强度、使乳酪更加坚固;其次,由于它含有溶菌酶,可以降解细菌细胞壁,通过使酸败细菌生长减缓而提高乳酪储存期限 (Bauman *et al.*, 2006)。

1.4.2 国内乳腺发育生物学研究的现状

国内乳腺发育生物学研究起步于 20 世纪 90 年代末,21 世纪初逐渐活跃起来。研究机构和人员主要集中在东北农业大学、中国农业大学、浙江大学、西北农林科技大学、河南农业大学、内蒙古农业大学等高等院校,多数研究机构目前研究领域还主要局限于影响乳腺发育和泌乳的激素与生长因子及其受体的表达与调控。在国内致力于乳腺发育生物学研究的机构中,东北农业大学乳品科学教育部重点实验室泌乳生物学与乳腺功能调控研究部是国内目前唯一的泌乳生物学与乳腺功能调控研究部,主要从事乳腺发育生物学、乳腺病理生物学、乳腺环境生物学和泌乳生物工程学的研究。泌乳生物学与乳腺功能调控研究部自建立以来一直致力于哺乳动物泌乳生物学与乳腺功能调控研究,目标在于揭示乳腺发育、泌乳及退化过程中乳腺功能及其调控机制,为提高产奶动物乳产量和乳质量提供可信的理论基础和可靠的技术支持。该研究部所采用的实验动物从小鼠起步,逐渐延伸到重要的乳用经济动物奶山羊和奶牛。主要研究内容涉及乳蛋白多磷酸肽的重组表达 (Jiang *et al.*, 2004)、乳腺中瘦素及其受体的表达与作用 (林叶和李庆章, 2006; Lin and Li, 2007)、乳腺中胰岛素样生长因子家族及其受体的表达与作用 (Zhao and Li, 2007)、乳腺间质与实质的相互作用及其对乳腺发育与泌乳的影响 (赵锋和李庆章, 2007)、乳腺腺泡模型的构建与血乳屏障 (齐帮若和李庆章, 2007)、乳蛋白与半乳糖苷酶的重组与共表达 (田雷等, 2007)、microRNA 与乳腺发育 (Wang and Li, 2007)、植物功能成分 (生物活性因子) 对乳腺发育与泌乳的作用与机制 (秦君和高学军, 2006; 杨庆丽等, 2007)、乳腺发育与泌乳功能关键基因的筛选与表达调控、乳腺免疫和乳房炎的免疫病理学等。经过多年的不懈努力,我国乳腺发育生物学研究手段和所取得的研究进展与世界先进国家的差距正在逐步缩小,使中国的乳腺发育生物学和泌乳功能调控研究在世界乳腺发育生物学研究领域占有一席之地。

我国的乳腺发育生物学研究除了秉承世界乳腺发育生物学研究的理念之外,还兼具显著的中国特色。我国的中医药学博大精深,有许多中草药具有催乳功效。例如,在《本草纲目》就记载有“穿山甲、王不留,妇人服了乳长流”的说法。面对我国奶牛养殖业普遍存在的乳产量低、奶牛乳房炎发病率高的状况,将中医研究理论应用于奶牛养殖业来提高泌乳奶牛的乳产量和预防奶牛乳腺疾病受到我国乳腺发育生物学研究者的关注。2007 年,内蒙古农业大学先后对具有催乳成分的中药穿山甲和王不留行对小鼠乳腺实质结构发育的影响进行研究,证明穿山甲和王不留行通过促进卵巢功能而影响乳腺的发育 (巴音吉日嘎拉等, 2007)。同年,东北农业大学乳品科学教育部重点实验室也对具有催乳成分的中药进行研究,提取了王不留行中皂苷类、黄酮苷类以及香豆素 3 种有效成分,鉴定了这 3 种成分对体外培养小鼠乳腺上皮细胞增殖、 β -酪蛋白表达、细胞周期蛋白 cyclin D1 表达以及乳腺上皮细胞中 STAT5 表达的影响,证明了王不留行中主要是黄酮苷类成分对乳腺上皮细胞增殖、乳蛋白表达具有促进作用,其诱导乳蛋白基因表达是通过激活 JAK-STAT5 信号通路实现的。动物实验也表明,黄酮苷类成分具有

提高小鼠泌乳量的作用(秦君和高学军, 2007)。

在乳腺干细胞研究方面, 中国农业大学从 2002 年 10 月起已经成功构建了 BALB/c 小鼠乳腺发育图谱, 建立了小鼠腹部第 4 对乳腺腺体清除技术和⁶⁰Co 照射小鼠乳腺清除其乳腺干细胞的模型, 目前正在进行小鼠乳腺干细胞的分离和鉴定工作(方昌阁等, 2004)。在世界乳腺生物反应器生产药用蛋白如火如荼的研发阶段, 我国也不甘落后。早在 1980 年, 我国就已经开始了转基因动物和动物乳腺生物反应器的研究。由于动物乳腺生物反应器制药技术具有高产出、高活性、低成本、周期短、不耗能、无污染等优点, 国家对该领域的研发给予了大力支持。在“九五”和“十五”期间, 乳腺生物反应器均被列为科技部“863”计划的重大专项。我国科学家也不负众望, 在动物乳腺生物反应器制药技术研究领域取得了巨大成就。先后获得了转基因鼠、转基因绵羊、转基因山羊、转基因猪、转基因牛等, 并获得了一批高效表达重组蛋白的转基因动物乳腺生物反应器。例如, 2005 年中国农业大学和北京济普霖生物技术有限公司联合研制的人乳铁蛋白和人乳清白蛋白转基因奶牛均获得高效表达, 在转基因奶牛乳汁中重组人乳铁蛋白和人乳清白蛋白的含量分别达到 3.4g/L 和 1.5g/L, 标志着我国首次获得可商业化生产的动物乳腺生物反应器重组人类蛋白。目前科学家们正在加紧开展重组蛋白纯化、临床试验等研究, 力争早日实现我国动物乳腺生物反应器制药技术产业化。

1.5 乳腺发育生物学的主要成就

1.5.1 国际乳腺发育生物学的主要成就

科学的许多进步来自于知识的点滴积累, 乳腺发育生物学的发展也是如此。在 20 世纪, 乳腺上皮细胞和乳腺结构与功能的相互关系被建立, 乳成分合成的生物化学途径被确定, 激素和细胞因子在乳腺发育及其功能调控中的作用被阐明。经过不断探索, 对乳腺发育与泌乳机能的理解在许多领域逐步深入。

第一个领域是阐明了乳腺结构与泌乳功能的关系以及乳的合成和分泌机制。随着人类对乳及乳制品需求的日益增加, 提高泌乳奶牛的乳产量和乳质量是大势所趋。虽然一些泌乳操作如遗传选育高产品系、更好地满足奶牛营养需求、预防奶牛乳房炎以及规范挤奶操作可以提高泌乳奶牛的产乳性能和收益率, 但更多信息表明乳腺结构与功能才是直接影响乳产量提高的因素。因此只有在对泌乳动物乳腺上皮细胞结构与功能正确认识的基础上, 才可以从分子水平上去揭示乳蛋白合成和分泌的机制, 才有可能通过基因工程手段对乳合成和分泌的途径进行定向改造, 达到多产奶和产好奶的目的。

第二个领域是对奶牛泌乳生理学调控机制的揭示和泌乳调控技术的掌握。在 20 世纪 50 年代以前, 谁也不会想到激素或生长因子会影响泌乳工业。直到 1955 年, Brumby 和 Hancock 首次对奶牛长期注射牛生长激素, 成功提高了泌乳奶牛的乳产量, 人们才对此深信不疑。科研和实践证明, 生长激素处理可以提高泌乳奶牛的乳产量。注射生长激素以后, 乳分泌在 1 日内提高, 在 1 周内达到最大。持续注射生长激素, 可以使泌乳奶牛乳产量维持在一个较高水平。迄今, 这种生理学调控方法仍在奶牛养殖业中广泛使用。因此, 对于乳业生产来说, 生长激素的商业应用是当今乳腺发育生物学与泌乳功能调控研究中最显著的成就。

第三个领域是提供高品质的原料乳。由于当前消费者对饮食和健康的关系更加看重,营养质量在食品的选择上变得尤为重要。牛乳可以说是一种“接近完美的天然食品”,除了包含人体所需要的全部营养物质外,还含有许多生物活性成分,如免疫球蛋白、乳铁蛋白、生物活性多肽等。因此,牛乳已经成为一个民族健康水平提升的关键。为了迎合消费者的消费心理和消费需求,通过基因工程等手段对泌乳动物乳腺发育和泌乳功能进行定向改造,提高乳中蛋白质含量以及原料乳的制造特性,为乳制品生产提供优质的原材料这一理念正在蓬勃发展,必将推动乳腺发育生物学与泌乳功能调控研究的进步。

第四个领域是利用哺乳动物乳腺生物反应器生产药用蛋白。随着遗传工程的发展以及它与泌乳工业关系的进一步加深,利用哺乳动物乳腺作为生物反应器生产药用蛋白成为21世纪利用泌乳动物乳腺生理学调控来提高人类福利的一种手段。这种以新的有效的价值方式生产药物制剂,也是新型制药工业的驱动力。2006年6月,世界上第一个动物乳腺生物反应器生产的基因工程新药——重组人抗凝血酶Ⅲ获得了欧洲医药评价署人用医药产品委员会的批准意见,率先在荷兰上市,这必将推动动物乳腺生物反应器制药技术产业化在全球的迅速发展。

第五个领域是利用乳腺干细胞研究器官形态发生的分子机制。对哺乳动物乳腺在妊娠、泌乳及退化过程中经历明显发育变化的研究表明,具有无限增殖能力、可以产生功能性乳腺细胞的干细胞群起了重要作用。因此,研究乳腺干细胞再生乳腺可以为我们在体外研究器官再生和细胞分化的机制提供实验模型。

1.5.2 国内乳腺发育生物学的主要成就

国内乳腺发育生物学研究的开展,是以西方发达国家乳腺发育和泌乳功能调控研究理论为基础的。虽然当前中国乳腺发育生物学研究仍处于初级阶段,但也取得了一些成就,弥补了世界乳腺发育生物学研究的不足。

首先,在影响乳腺发育和泌乳的激素和生长因子的研究方面,我国乳品科学教育部重点实验室(东北农业大学)首次系统研究了瘦素及其受体、胰岛素样生长因子家族及其受体、胰岛素样生长因子结合蛋白、Heregulin α 及其受体、FGF7 和 FGF10 及其受体在小鼠乳腺发育、泌乳及退化全过程中蛋白质水平的表达、定位变化,揭示了这些因子及其受体在乳腺发育、泌乳及退化过程中的功能及其作用机制。特别是积极探索了非编码 RNA 在乳腺发育过程中的表达与作用,找到了与泌乳相关的 microRNA,为提高产奶动物乳产量和乳质量提供可信的理论基础和可靠的技术支持。

其次,我国乳品科学教育部重点实验室(东北农业大学)在乳腺免疫研究的基础上,对世界奶业重大难题——乳房炎进行了深入细致的免疫病理学研究,阐明了乳房炎特别是隐性乳房炎的发生发展机制,探讨了早期诊断的敏感指标以及免疫保护和免疫保健的可行方法。着眼于传统中医药学研究理论,揭示中药催乳方剂中主要催乳成分对乳腺上皮细胞增殖和乳蛋白表达的影响及其调控机制,为中药催乳针剂和颗粒剂的研发提供了理论依据。

再次,我国在乳腺干细胞方面的研究已经起步,乳腺生物反应器生产药用蛋白也取得可喜的进展。

1.5.3 国内乳腺发育生物学研究的差距

虽然全世界乳业生产者和科研工作者的最终目标都是提高泌乳动物的乳产量和乳质量,但由于我国与发达国家乳腺发育生物学研究的历史和现状不同,导致我国与发达国家之间对乳腺发育生物学研究的方法和视角上有所差别。我国乳腺发育生物学研究起步较晚,目前在奶牛养殖业中广泛采用的生理学调控乳产量的方法,主要来自于发达国家对乳腺发育和泌乳相关激素以及细胞因子的研究结果。随着分子生物学和生物技术的发展,从分子水平探讨激素和生长因子影响乳腺发育和泌乳的机制是当今世界上乳腺发育生物学与泌乳功能调控的主要研究热点。我国乳腺发育生物学的研究刚刚起步,研究机构也只是寥寥几家。目前的科研工作主要是借鉴国外乳腺发育生物学的研究方法和理论,着眼于乳腺发育及泌乳相关激素和生长因子在乳腺发育循环中蛋白质水平上的表达、定位进行系统研究,通过体外组织培养技术阐明这些激素和细胞因子在乳腺发育不同阶段的功能并揭示其作用机制。对激素和细胞因子在乳腺发育循环中的表达定位进行系统研究在国外尚未见报道,我国这方面的研究工作填补了世界上乳腺发育生物学这一研究领域的空白。但是由于技术水平和实验环境的限制,利用基因敲除小鼠来研究特定基因在乳腺发育、泌乳及退化过程中的作用这一研究领域和研究方式在国内还未见尝试。

1.6 乳腺发育生物学的发展前景

1.6.1 乳腺发育生物学的科学发展前景

尽管我们了解影响乳腺发育和泌乳的激素与生长因子的历史很悠久,目前已经证明激素作用或生长因子的局部调节可以使乳腺调控自己的命运,但是影响乳腺发育和泌乳的激素与生长因子受体的表达、信号级联途径、综合理解乳腺发育与泌乳功能,特别是对泌乳动物经济学重要性的认识还处于初级阶段。随着基因组学、蛋白质组学等一系列新知识、新技术的发展,以及我们对以乳腺上皮细胞和基质细胞为靶细胞的众多激素和生长因子认识的加深,使我们可以更好地从分子水平上去理解乳腺中调控乳腺分泌细胞分化的机制,以及决定腺泡分泌细胞合成和分泌乳能力的细胞内复杂的信号网络。与过去相比,虽然我们理解乳腺发育和泌乳调控的焦点已经转变到细胞和分子水平上,但最终的目标没有改变,即如何最大化提高乳产量和乳质量而不影响产奶动物的健康状况、繁殖能力和实际寿命。

1.6.2 乳腺发育生物学的生产发展前景

相对于国外乳腺发育生物学的研究,国内乳腺发育生物学起步较晚。虽然我国是世界奶牛养殖大国,但是在过去的20年,我国奶牛单产没有显著变化,显著低于世界平均水平。在2000年前,由于经济条件的约束和信息交流平台的限制,我国基本上没有开展乳腺发育生物学的研究,在提高奶牛单产方面仅靠提高奶牛饲料营养均衡配比达到提高乳产量的目的。我国对开展乳腺发育生物学研究不迫切的另一个原因,就是我国对乳及乳制品的需求量远远低于发达国家。据资料统计,2004年我国乳及乳制品人均消