

巫晓峰, 肖劲邦, 沈留红, 等. 中药组方“回乳康”对回乳期奶牛血清 E、P4 和 TGF-β1 含量的影响[J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(4): 69-75.

中药组方“回乳康”对回乳期奶牛血清 E、P4 和 TGF-β1 含量的影响

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

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

摘要:【目的】探究中药组方“回乳康”对回乳期奶牛血清雌激素(Estrogen, E)、孕酮(Progesterone, P4)和转化生长因子 β1(Transforming growth factor β1, TGF-β1)含量的影响。【方法】选取即将干乳日产奶量为(15.42 ± 0.71) kg 的健康奶牛 80 头, 随机分为 4 组, 每天饲喂 0(对照组)、400、500 和 600 g “回乳康”中药, 采用逐渐干奶法回乳, 分别在回乳第 0、1、3、5、7、9 和 11 天采集奶牛尾静脉血, 并记录奶牛单日产奶量, 采用 ELISA 法检测血清 E、P4 和 TGF-β1 含量。【结果】0、400、500 和 600 g 处理回乳时间分别为 11、7、5 和 5 d; 各组奶牛血清 E 含量在回乳期均随时间推移呈下降趋势, 对照组下降趋势较中药组慢; 对照组奶牛血清 P4 含量在回乳期变化不显著, 而中药组奶牛血清 P4 含量均随时间推移呈上升趋势, 在回乳期之后下降, 但下降后仍极显著高于对照组; 各处理回乳期奶牛血清 TGF-β1 含量均呈上升趋势, 而在回乳期之后中药组奶牛血清 TGF-β1 含量呈下降趋势; 回乳期奶牛血清 E、TGF-β1 含量和日产奶量两两间均呈极显著相关, 血清 P4 含量与血清 E、TGF-β1 含量、日产奶量均无显著相关性。【结论】在奶牛回乳过程中, 添加中药组方“回乳康”能显著促进回乳期奶牛回乳, E 是奶牛回乳的负调控激素, TGF-β1 是正调控因子, 而 P4 对回乳无明显影响。

关键词:奶牛; 回乳期; 中药组方; 雌激素; 孕酮; 转化生长因子 β1
中图分类号:S828 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2017)04-0069-07

Effects of Chinese herbal formula “Huirukang” on serum E, P4 and TGF-β1 levels of dairy cows during the milk withdrawal period

WU Xiaofeng^{1†}, XIAO Jinbang^{1†}, SHEN Liuhong¹, JIANG Sixun¹, QIAN Bolin¹, DENG Junliang¹,
FU Hongqing², ZUO Zhicai¹, CAO Suizhong¹, YU Shumin¹, JIANG Tao¹

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

Abstract:【Objective】To explore the impact of Chinese herbal formula “Huirukang” on serum estrogen (E), progesterone (P4) and transforming growth factor β1 (TGF-β1) levels in dairy cows during the milk withdrawal period. 【Method】Eighty healthy cows in late pregnancy with (15.42 ± 0.71) kg daily milk yield were randomly divided into four groups: control group and Chinese medicine groups (fed 400,

收稿日期:2016-11-04 优先出版时间:2017-06-21
优先出版网址:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20170621.1924.024.html>
作者简介:巫晓峰(1992—),男,硕士研究生,E-mail: 1041542947@qq.com;肖劲邦(1994—),男,硕士研究生,E-mail: 811031312@qq.com;† 对本文贡献相同;通信作者:沈留红(1979—),男,副教授,E-mail: shenlh@scau.edu.cn
基金项目:四川省教育厅重点项目(15ZA0024);江苏农牧科技职业学院产业发展关键技术创新项目(NSF201604);四川农业大学双支计划项目(03571303);四川农业大学本科科研兴趣培养计划项目(KY2016062)

500 and 600 g “Huirukang” daily). The method of gradual milk cessation was used. We collected venous blood from the cow tail on day 0, 1, 3, 5, 7, 9 and 11, and recorded the daily milk yield. ELISA was used to determine the expression levels of serum E, P4 and TGF- β 1. 【Result】Control group and Chinese medicine groups (400, 500, 600 g) dried off on day 11, 7, 5 and 5 respectively. Serum E levels declined in all four groups, and the decline in control group was slower compared to Chinese medicine groups. P4 level did not change significantly during the milk withdrawal period for control group. P4 levels increased first in Chinese medicine groups, then declined after the milk withdrawal period, and by the end of the test period were still significantly higher compared to control group. TGF- β 1 levels increased in all four groups during the milk withdrawal period, and declined after the milk withdrawal period in Chinese medicine groups. The levels of E, TGF- β 1 and daily milk yield showed significant correlation between each other during the milk withdrawal period, while P4 had no significant correlation with E, TGF- β 1 or daily milk yield. 【Conclusion】During the milk withdrawal period, Chinese herbal formula “Huirukang” can significantly promote cows to dry off. E is a negative regulation factor for milk withdrawal, while TGF- β 1 is a positive regulation factor. P4 has no significant effect on milk withdrawal.

Key words: cow; milk withdrawal period; Chinese herbal formula; estrogen; progesterone; TGF- β 1

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,其中直接调控乳腺发育和泌乳的激素主要有雌激素(Estrogen, E)、孕酮(Pregesterone, P4)、催乳素(Prolactin, PRL)、生长激素(Growth hormone, GH)、胰岛素(Insulin, INS)和氢化可的松(Hydrocortisone, HC)等^[1-2],它们与转化生长因子 β 1(Transforming growth factor β 1, TGF- β 1)、信号转导和转录激活因子5(Signal transducer and activator of transcription 5, STAT5)和胰岛素样生长因子1(Insulin-like growth factor I, IGF-I)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。目前运用中药组方对人和小鼠等动物催乳或回乳的研究已有报道^[4-5],均显示与泌乳激素及相关因子呈一定的相关性^[6-7],而奶牛经过泌乳期,机体消耗严重,需要经过回乳期进入干乳期,进而恢复自身体质及更新乳腺组织,为下一个泌乳期做充分准备,但传统回乳方式效果差,易产生乳房炎、流产和抗生素残留等副作用^[8],因此,回乳中药组方在奶牛回乳期的运用有着较广阔的研究前景^[9]。探究回乳中药组方对回乳期奶牛血清泌乳相关激素、因子、日产奶量及回乳时间的影响,有助于研究开发奶牛乳房保健产品、改进奶牛回乳方法、降低回乳期奶牛乳房炎发生率。本研究旨在探究中药组方“回乳康”对回乳期奶牛血清E、P4和TGF- β 1含量的影响,为进一步研究中药组方对回乳期奶牛相关泌乳激素的调控机理奠定基

<http://xuebao.scau.edu.cn>

础,并为更安全有效的回乳技术措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

选择四川省某规模化奶牛场半封闭统一舍饲,体质量(582 ± 41) kg、2~4胎中国荷斯坦奶牛150头。从中选取体况良好,乳房、乳汁均正常,即将进入回乳期,日产奶量为(15.42 ± 0.71) kg的妊娠后期健康奶牛80头。随机分为4组(包括1个对照组和3个中药组),每组20头。各组均采用逐渐干奶法回乳,回乳当天记为第0天,对照组不饲喂中药,从第1天开始,3个中药组每日8:00分别饲喂中药组方“回乳康”400、500和600 g,直至停奶,停止饲喂中药。

1.2 回乳方式

本试验采用逐渐干奶法回乳^[10-11],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次改为2次,第2天改为1次,逐渐减少挤奶频率,当奶牛日产奶量为3~5 kg时,停止挤奶。

1.3 试验药物和试剂

中药组方“回乳康”由四川农业大学动物医学院奶牛疾病研究中心研发。由麦芽、朴硝、升麻、柴胡、香附、薏仁、蚕蜕、白术、黄芩、知母、苏梗、芡实、五味子、蒲公英和甘草等组成。

牛E、P4和TGF- β 1双抗体夹心ELISA试剂盒,

均由美国 RD 公司提供。

1.4 试验方法

1.4.1 血清收集 试验奶牛回乳开始当天记为第 0 天,依次采集第 0、1、3、5、7、9 和 11 天尾静脉血 10 mL,置于未加抗凝剂的离心管中,室温下静置 1 h,1 800 r · min⁻¹ 离心 10 min,转移上层血清于 EP 管中,-20 ℃ 冻存,待检。

1.4.2 ELISA 检测 采用双抗体夹心 ELISA 测定牛 E、P4 和 TGF-β1 的含量,步骤按照说明书进行。

1.5 统计分析

利用 SPSS 9.0 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,数据结果以平均数 ± 标准差表示,2 组间采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用 LSD 单因素方差分析,相关性分析采用双变

量 Pearson 相关分析。

2 结果与分析

2.1 “回乳康”对回乳期奶牛日产奶量的影响

如表 1 所示,各组奶牛日产奶量在回乳期均呈下降趋势,回乳期分别为 11、7、5 和 5 d,回乳第 0 天,各组间奶牛日产奶量差异均不显著(*P* > 0.05);第 1 天,400 g 中药组奶牛日产奶量极显著高于 600 g 中药组(*P* < 0.01);第 3~5 天,对照组、400 g 中药组奶牛日产奶量均极显著高于 600 g 中药组,且对照组奶牛日产奶量极显著高于 400 g 中药组;第 7 天,对照组奶牛日产奶量极显著高于 400 g 中药组;500、600 g 中药组奶牛日产奶量在整个回乳期差异均不显著。结果表明中药组方“回乳康”具有较好回乳效果。

表 1 中药组方“回乳康”对回乳期奶牛日产奶量的影响¹⁾
Tab.1 The effects of Chinese herbal formula “Huirukang” on milk production of dairy cows during the milk withdrawal period

时间	对照组	400 g 中药组	500 g 中药组	600 g 中药组
第 0 天	15.43 ± 0.60a	15.22 ± 0.71a	15.27 ± 0.72a	15.76 ± 0.84a
第 1 天	15.30 ± 0.92abAB	15.91 ± 0.57aA	15.22 ± 0.75abAB	14.45 ± 0.68bB
第 3 天	13.33 ± 0.42aA	10.23 ± 1.16bB	9.38 ± 0.92bcBC	8.47 ± 0.88cC
第 5 天	10.44 ± 0.74aA	7.45 ± 0.94bB	4.85 ± 2.00cC	3.94 ± 0.51cC
第 7 天	8.08 ± 0.74aA	4.31 ± 0.68bB		
第 9 天	6.73 ± 1.06			
第 11 天	4.38 ± 0.73			

1) 同行数据后凡具有一个相同小写、大写字母者,表示不同处理间差异未达到 0.05、0.01 的显著水平(LSD 法,*n* = 20)。

2.2 “回乳康”对回乳期奶牛血清 E 含量的影响

如表 2 所示,各组奶牛血清 E 含量在回乳期均呈下降趋势。回乳第 0 至 1 天,各组奶牛血清 E 含量差异均不显著;第 3—11 天,对照组奶牛血清 E 含量极显著高于其他 3 组,其中第 3—7 天,400 g 中

药组奶牛血清 E 含量极显著高于 500、600 g 中药组;500、600 g 中药组奶牛血清 E 含量在整个回乳期差异均不显著。结果表明中药组方“回乳康”可促使回乳期奶牛血清 E 含量降低。

表 2 中药组方“回乳康”对回乳期奶牛血清 E 含量的影响¹⁾
Tab.2 The effects of Chinese herbal formula “Huirukang” on serum estrogen levels of dairy cows during the milk withdrawal period

时间	对照组	400 g 中药组	500 g 中药组	600 g 中药组
第 0 天	1162.76 ± 35.37a	1149.52 ± 32.24a	1148.89 ± 40.66a	1153.30 ± 57.97a
第 1 天	1176.33 ± 44.31a	1179.19 ± 30.32a	1184.86 ± 27.10a	1149.52 ± 22.87a
第 3 天	985.95 ± 24.13aA	896.42 ± 32.24bB	839.64 ± 22.48cC	851.11 ± 11.73cC
第 5 天	967.82 ± 34.40aA	838.03 ± 23.07bB	753.12 ± 11.92cC	749.18 ± 14.14cC
第 7 天	891.61 ± 15.75aA	810.40 ± 19.86bB	748.48 ± 7.49cC	757.06 ± 12.41cC
第 9 天	859.05 ± 38.67aA	746.46 ± 12.69bB	753.11 ± 12.10bB	748.60 ± 17.11bB
第 11 天	843.85 ± 16.12aA	744.63 ± 13.64bB	747.91 ± 16.64bB	756.69 ± 17.11bB

1) 同行数据后凡具有一个相同小写、大写字母者,表示不同处理间差异未达到 0.05、0.01 的显著水平(LSD 法,*n* = 20)。

2.3 “回乳康”对回乳期奶牛血清 P4 含量的影响

如表 3 所示,对照组奶牛血清 P4 含量在回乳期

无明显变化,400、500、600 g 中药组均呈先上升后下降的趋势。回乳第 0—1 天,各组奶牛血清 P4 含量

差异均不显著;从第 3 天开始,对照组奶牛血清 P4 含量较其他组低,于第 3 天显著低于 500、600 g 中药组,第 5—11 天则显著低于其他 3 组。500、600 g 中药组 P4 含量在整个回乳期差异均不显著。结果表明中药组方“回乳康”可促使回乳期奶牛血清 P4 含量上升。

表 3 中药组方“回乳康”对回乳期奶牛血清 P4 含量的影响¹⁾

Tab.3 The effects of Chinese herbal formula "Huirukang" on serum progesterone levels of dairy cows during the milk withdrawal period

时间	对照组	400 g 中药组	500 g 中药组	600 g 中药组
第 0 天	14.96 ± 1.54a	14.71 ± 1.18a	15.62 ± 2.73a	15.49 ± 2.09a
第 1 天	14.51 ± 1.09a	14.83 ± 1.47a	15.09 ± 1.43a	15.99 ± 2.59a
第 3 天	15.48 ± 1.05aA	16.64 ± 1.09aA	18.46 ± 1.46bB	19.26 ± 0.79bB
第 5 天	14.69 ± 1.51aA	18.92 ± 0.92bB	24.31 ± 2.55cC	24.70 ± 1.06cC
第 7 天	15.87 ± 2.12aA	22.87 ± 1.72bB	20.27 ± 0.83bB	22.97 ± 1.82bB
第 9 天	14.98 ± 1.42aA	21.78 ± 1.92bB	18.53 ± 1.13bB	20.22 ± 1.49bB
第 11 天	15.31 ± 1.82aA	18.26 ± 1.31bB	19.00 ± 1.61bB	19.04 ± 1.12bB

1) 同行数据后凡具有一个相同小写、大写字母者,表示不同处理间差异未达到 0.05、0.01 的显著水平(LSD 法, $n=20$)。

2.4 “回乳康”对回乳期奶牛血清 TGF-β1 含量的影响

如表 4 所示,各组奶牛血清 TGF-β1 含量在回乳期均呈上升趋势,并在回乳期后下降。回乳第 0—3 天,各组间 TGF-β1 含量差异均不显著;第 7 天,对照

组、400 g 中药组 TGF-β1 含量极显著高于 500、600 g 中药组;第 9—11 天,400 g 中药组 TGF-β1 含量极显著高于其他 3 组;500、600 g 中药组 TGF-β1 含量在整个回乳期差异均不显著。结果表明中药组方“回乳康”可促使回乳期奶牛血清 TGF-β1 含量上升。

表 4 中药组方“回乳康”对回乳期奶牛血清 TGF-β1 含量的影响¹⁾

Tab.4 The effects of Chinese herbal formula "Huirukang" on serum TGF-β1 levels of dairy cows during the milk withdrawal period

时间	对照组	400 g 中药组	500 g 中药组	600 g 中药组
第 0 天	184.20 ± 12.38a	185.78 ± 5.93a	186.20 ± 6.33a	190.33 ± 14.98a
第 1 天	183.72 ± 9.68a	179.12 ± 11.40a	180.04 ± 8.85a	188.41 ± 10.13a
第 3 天	236.38 ± 14.34a	239.94 ± 15.58a	234.52 ± 12.07a	232.35 ± 14.10a
第 5 天	231.87 ± 10.44abA	227.95 ± 11.19aA	233.44 ± 10.79abA	240.51 ± 10.17bA
第 7 天	243.56 ± 23.85aA	240.11 ± 9.18aA	192.74 ± 24.77bB	187.06 ± 7.89bB
第 9 天	229.95 ± 15.66abA	199.79 ± 15.72aB	186.57 ± 11.19abB	181.95 ± 7.39bB
第 11 天	237.68 ± 15.00aA	187.60 ± 6.55bB	186.64 ± 11.83bB	186.42 ± 5.41bB

1) 同行数据后凡具有一个相同小写、大写字母者,表示不同处理间差异未达到 0.05、0.01 的显著水平(LSD 法, $n=20$)。

2.5 回乳期奶牛血清 E、P4、TGF-β1 含量与日产奶量的相关性

如表 5 所示,在整个回乳期,奶牛血清 E、TGF-

β1 含量和日产奶量两两间均呈极显著相关,血清 P4 含量与 E、TGF-β1 含量、日产奶量相关性不显著。

表 5 回乳期奶牛血清 PRL、P4、TGF-β1 含量与日产奶量的相关性¹⁾

Tab.5 Correlation between serum estrogen, progesterone and TGF-β1 levels and daily milk yield during the milk withdrawal period

指标	日产奶量		E 含量		P4 含量		TGF-β1 含量	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
日产奶量			0.908 **	<0.001	-0.133	0.361	0.657 **	<0.001
E 含量					-0.155	0.287	-0.767 **	<0.001
P4 含量							0.244	0.091
TGF-β1 含量								

1) ** 代表相关性达到 0.01 的显著水平。

3 讨论与结论

3.1 “回乳康”对回乳期奶牛日产奶量的影响

目前,口服麦芽,外敷芒硝等方式促进哺乳期妇女回乳的研究已报道较多^[12-13]。叶琳^[14]使用麦芽、蒲公英和神曲等使妇女乳汁减少至无乳,王雄^[4]使用“回乳抑增一号”(麦芽、牡蛎、浙川贝等)使妇女溢乳改善,郝振华等^[5]使用麦芽治疗妇女产后溢乳有明显疗效。现有回乳中药组方中多有麦芽,且已人工合成麦角衍生物——卡麦角林,其明显抑制 PRL 生成,控制泌乳的进行^[15]。然而,中药组方运用于奶牛回乳鲜见报道,本试验结果显示,中药组方“回乳康”具有较好回乳效果,缩短了奶牛回乳期,且有效减少了日产奶量,推测其机理可能是“回乳康”中炒麦芽消食、回乳^[4,13];升麻、柴胡、香附、白术疏肝理气;黄芩、知母、苏梗安胎;五味子、蒲公英固精敛阴,清热解毒,统筹全局,断其生化之源,使肝气调达四运,有效抑制乳汁分泌而回乳。500、600 g 中药组奶牛日产奶量在整个回乳期差异均不显著,表明“回乳康”剂量达到 500 g·d⁻¹时,效果即可达到最佳。

3.2 “回乳康”对回乳期奶牛血清 E 含量的影响

E 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^[16]。乳腺发育早期,E 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,E 促进乳腺导管生长,诱导 P4 受体表达,促进乳腺发育,提高乳腺上皮组织 PRL 水平,并与 E 受体(Estrogen receptor, ER)结合直接发挥促乳功能,提高泌乳量^[17]。同时,E 可诱导 GH 活性,影响 INS 敏感性,间接调控乳腺泌乳^[18]。郝振荣等^[19]和 Cools 等^[20]均发现大豆异黄酮(植物雌激素)可显著提高奶牛泌乳量,说明了血清 E 含量与泌乳量呈正相关。然而, Berryhill 等^[21]研究表明 E 可促进产后妇女回乳。本试验结果显示,在奶牛回乳过程中,随泌乳量逐渐下降,血清 E 含量呈阶梯式下降趋势,结果与郝振荣等^[19]和 Cools 等^[20]对 E 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 降低,使得乳腺 ER 表达减少^[22],反馈调节 E 降低。

李萍萍等^[23]利用柴胡、丹皮、紫草等组成的中药组方降低了小鼠血清 E 含量,Tiosano 等^[24]研究发现 18 种中药复合物可改变儿童 E 含量及活性,王丹等^[25]利用“参芪解郁颗粒”增加了妇女产后 E 含量,王小云等^[26]利用熟地、白术、泽泻等组成的中药组方显著降低妇女 E 表达。本试验结果显示,中药组方

“回乳康”使回乳期奶牛血清 E 含量明显降低每天饲喂 500 g 即可达到最佳效果,且中药组 E 含量在回乳期后无明显变化,可能是由于奶牛停止泌乳引起。

3.3 “回乳康”对回乳期奶牛血清 P4 含量的影响

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,维持妊娠等作用^[27]。陈建晖等^[28]研究表明,在 E 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^[29]也指出 P4 可明显刺激豚鼠乳腺增生,王瑞琼等^[30]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^[31],夏成等^[32]指出奶牛泌乳量与 P4 含量无明显相关性。本研究结果显示,在奶牛回乳过程中,对照组 P4 含量在回乳期差异不显著,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。

王丹等^[25]利用“参芪解郁颗粒”显著降低妇女血清 P4 含量,张剑锋等^[33]使用黄芩、苏梗、白术等组成的中药组方提升了怀孕妇女 P4 表达量,保胎效果良好。本研究使用的中药组方“回乳康”能够极显著提高回乳期奶牛血清 P4 含量,500 g 和 600 g 的“回乳康”饲喂量对奶牛回乳期血清 P4 含量影响一致,在回乳期结束后,P4 含量有一定程度的下降,但各中药组仍极显著高于对照组,表明奶牛回乳期饲喂中药组方“回乳康”能够提高其血清 P4 含量,且以每天 500 g 为佳,可能是中药组方“回乳康”中黄芩、苏梗、白术等中药提高了妊娠奶牛血清 P4 含量,P4 含量的升高使子宫内膜和子宫肌松弛,从而保证胎犊宫内正常生长发育。

3.4 “回乳康”对回乳期奶牛血清 TGF-β1 含量的影响

TGF-β1 是一种多效细胞因子,可影响上皮细胞增殖、凋亡并维持细胞外基质稳态,对乳腺形态发生及分泌功能有重要作用。已有研究表明,TGF-β1 可诱导乳腺上皮干细胞群衰老,抑制乳腺发育,并与乳腺泌乳的终止信号密切相关^[34]。另外,TGF-β1 可减少乳腺上皮细胞中由 PRL 诱导的 β-酪蛋白 mRNA 和蛋白表达水平,且对蛋白表达水平的抑制更明显^[35]。说明 TGF-β1 在动物乳腺退化过程中对抑制细胞生长起重要调控作用^[36],Vries 等^[37]指出 TGF-β1 含量表达在奶牛回乳后 1 周内达到最高,本研究发现,在奶牛回乳过程中,随泌乳量逐渐下降,血清 TGF-β1 含量呈上升趋势,与上述研究结果趋势一致,可能是由于回乳期奶牛机体缺少挤奶刺激,促使

乳腺表达 TGF- β 1, 减少 β -酪蛋白 mRNA 和蛋白表达水平, 降低奶牛泌乳量。

张臻等^[38]使用黄芩、太子参等组成的中药组方提升了大鼠 TGF- β 1 表达量, 葛明晓等^[39]利用熟地、山药和白术等组成的中药组方增加了妇女血清 TGF- β 1 含量。本研究使用的中药组方“回乳康”可使奶牛快速回乳, 回乳期结束后, 各中药组 TGF- β 1 含量均有一定程度的下降, 缩短了 TGF- β 1 高含量水平及回乳期持续时间, 从而降低对细胞增殖的抑制作用, 间接促进犊牛生长发育。而对照组变化不明显, 可能是由于对照组奶牛回乳持续时间较长, 致使 TGF- β 1 还未达到降低期。

3.5 回乳期奶牛血清 E、P4、TGF- β 1 含量和日产奶量的相关性

在奶牛乳腺生长发育过程中, E 可促进乳腺导管上皮细胞和小叶周围结缔组织生长, 诱导 P4 受体表达, 促进 P4 与 E 协同刺激乳腺上皮细胞 DNA 合成和腺泡发育^[27]。怀孕后期奶牛 E 和 P4 含量均升高, 乳腺组织发育迅速, 但血液中 P4 含量过高, 抑制了泌乳作用, 从而使乳腺虽具备泌乳能力而不泌乳^[31], 分娩后, 血液中 P4 浓度降低, PRL 才正常发挥泌乳功能。有研究指出, 在乳腺退化过程中, TGF- β 1 在转录水平及蛋白水平上均有所增加^[40], 抑制 ER 表达, 诱导乳腺导管快速退化^[41]。研究表明, 在奶牛回乳期, E 是奶牛回乳的负调控激素, 而 TGF- β 1 是奶牛回乳的正调控因子。然而回乳期奶牛血清 P4 含量与血清 E、TGF- β 1 含量及日产奶量相关性均不显著, 可能是由于 P4 只促进青春期奶牛乳腺发育, 而对泌乳期和回乳期奶牛乳腺无明显影响, 此时, P4 主要是由妊娠黄体分泌, 维持妊娠。

参考文献:

- [1] OGATA Y, YU G M, HIDAKA T, et al. 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, 等. 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(S1): 111-115.
- [3] BACH L A. Insulin-like growth factor binding proteins: An update[J]. *Pediatr Endocrinol Rev*, 2015, 13(2): 521-530.
- [4] 王雄. 回乳抑增一号治疗高泌乳素血症与乳腺增生药效学研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2012.
- [5] 郝振华, 郭震兵. 重用生麦芽治疗高泌乳素血症性不孕的临床观察[J]. *新疆中医药*, 2016, 34(1): 13-14.
- [6] MACRINA A L, KAUF A C, KENSINGER R S. Effect of

bovine somatotropin administration during induction of lactation in 15-month-old heifers on production and health[J]. *J Dairy Sci*, 2011, 94(9): 4566-4573.

- [7] WANG J F, FU S P, LI S N, et al. Short-chain fatty acids inhibit growth hormone and prolactin gene transcription via camp/pka/creb signaling pathway in dairy cow anterior pituitary cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(11): 21474-21488.
- [8] HENDERSON A C, HUDSON C D, BRADLEY A J, et al. Prediction of intramammary infection status across the dry period from lifetime cow records[J]. *J Dairy Sci*, 2016, 99(7): 5586-5595.
- [9] ZHAO F R, MAO H P, ZHANG H, et al. Antagonistic effects of two herbs in zuojin wan, a traditional chinese medicine formula, on catecholamine secretion in bovine adrenal medullary cells[J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(8/9): 659-668.
- [10] ZOBEL G, LESLIE K, WEARY D M, et al. Gradual cessation of milking reduces milk leakage and motivation to be milked in dairy cows at dry-off[J]. *J Dairy Sci*, 2013, 96(8): 5064-5071.
- [11] TUCKER C B, LACY-HULBERT S J, WEBSTER J R. Effect of milking frequency and feeding level before and after dry off on dairy cattle behavior and udder characteristics[J]. *J Dairy Sci*, 2009, 92(7): 3194-3203.
- [12] 吴文英, 周惠欢, 吴秀娥. 芒硝外敷治疗产后回奶的观察及护理[J]. *医学信息*, 2013, 26(8): 375.
- [13] 钟慧萍. 炒麦芽泡茶饮用联合芒硝外敷双乳回奶的效果观察[J]. *中外医学研究*, 2015, 13(34): 157-159.
- [14] 叶琳. 少泽穴点刺放血配合蒲公英神曲麦芽煎回乳 45 例[J]. *陕西中医*, 2008, 29(3): 341.
- [15] 杨强, 陈晋, 刘军. 卡麦角林治疗泌乳素型垂体瘤的研究进展[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2016, 42(5): 311-314.
- [16] DESSAUGE F, FINOT L, WIART S, et al. Effects of ovariectomy in prepubertal goats[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2009, 60(S3): 127-133.
- [17] AGARWAL S K, KIM J, KORST L M, et al. Application of the estrogen threshold hypothesis to the physiologic hypoeestrogenemia of lactation[J]. *Breastfeed Med*, 2015, 10(2): 77-83.
- [18] 张贵锋, 吴晓玲, 温鸿源, 等. 针药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.
- [19] 郝振荣, 朱志宁, 郭玉琴, 等. 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.
- [20] COOLS S, BROECK W V D, VANHAECKE L, et al. Feeding soybean meal increases the blood level of isoflavones and reduces the steroidogenic capacity in bovine cor-

- pora lutea, without affecting peripheral progesterone concentrations[J]. Anim Reprod Sci, 2014, 144(3): 79-89.
- [21] BERRYHILL G E, TROTT J F, HOVEY R C. Mammary gland development; It's not just about estrogen 1[J]. J Dairy Sci, 2016, 99(1): 875-883.
- [22] CONNER E E, WOOD D L, SONSTEGARD T S, et al. 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]. J Endocrinol, 2005, 185(3): 593-603.
- [23] 李萍萍,王薇,谢玉泉. 舒肝凉血方对体内雌激素影响的实验研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2003, 25(5): 445-447.
- [24] TIOSANO D, PARIS F, GRIMALDI M, et al. Evidence of ERalpha and ERbeta selectivity and partial estrogen agonism in traditional chinese medicine [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2014, 12(1): 1-14.
- [25] 王丹,赵瑞珍,李小黎,等. 补益心脾法对产后抑郁症患者中医证候积分以及雌、孕激素的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(11): 772-776.
- [26] 王小云,张春玲,莫莉莉,等. 补肾健脾中药对围绝经期妇女骨代谢和雌激素的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2000, 17(3): 230-232.
- [27] 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]. Mol Endocrinol, 2015, 29(9): 1230-1242.
- [28] 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]. 中国奶牛, 2008(8): 9-13.
- [29] 黄利,李利民,刘之恒,等. 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.
- [30] 王瑞琼,吴国泰,刘峰林,等. 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.
- [31] 丁威,邢军,魏全伟,等. 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.
- [32] 夏成,朱玉哲,徐鹏,等. 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.
- [33] 张剑峰,归绥琪. 中药治疗对反复自然流产患者抗 CD 抗原封闭效率和血清泌乳素及孕酮的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(4): 303-305.
- [34] YANG G, ZHOU J, TENG Y, et al. Mesenchymal TGF-β signaling orchestrates dental epithelial stem cell homeostasis through Wnt signaling [J]. Stem Cells, 2014, 32(11): 2939-2948.
- [35] KLEINBERG D L, FELDMAN M, RUAN W. IGF-I: An essential factor in terminal end bud formation and ductal morphogenesis [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2000, 5(1): 7-17.
- [36] ZARZYNSKA J, GAJKOWSKA B, WOJEWODZKA U, et al. Apoptosis and autophagy in involuting bovine mammary gland is accompanied by up-regulation of TGF-beta1 and suppression of somatotrophic pathway[J]. Pol J Vet Sci, 2007, 10(1): 1-9.
- [37] VRIES L D, CASEY T, DOVER H, et al. Effects of transforming growth factor-β on mammary remodeling during the dry period of dairy cows[J]. J Dairy Sci, 2011, 94(12): 6036-6046.
- [38] 张臻,阙华发,朱元颖,等. 益气化痰中药对糖尿病皮肤溃疡大鼠转化生长因子 β1 的影响[J]. 结合医学学报, 2007, 5(4): 416-420.
- [39] 葛明晓,张金玉,赵彦鹏,等. 益气血补肝肾中药对体外受精-胚胎移植周期中卵泡液转化生长因子 β1 和性激素水平的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(3): 327-330.
- [40] WU W J, LEE C F, HSIN C H, et al. TGF-β inhibits prolactin-induced expression of β-casein by a Smad3-dependent mechanism[J]. J Cell Biochem, 2008, 104(5): 1647-1659.
- [41] SERRA R, CROWLEY M R. Mouse models of transforming growth factor β impact in breast development and cancer[J]. Endocr Relat Cancer, 2005, 12(4): 749-760.

【责任编辑 庄 延】