

杨强, 郑吉松, 郎立敏, 等. 藏猪妊娠期乳腺形态和乳腺发育的标志蛋白表达、相关激素及信号通路的变化 [J]. 华南农业大学学报, 2021, 42(4): 1-6.
YANG Qiang, ZHENG Jisong, LANG Limin, et al. Alternations of mammary gland morphology, and marker protein expression, related hormones and signaling pathways of mammary gland development during gestation in Tibetan pigs[J]. Journal of South China Agricultural University, 2021, 42(4): 1-6.

藏猪妊娠期乳腺形态和乳腺发育的标志蛋白表达、 相关激素及信号通路的变化

杨 强，郑吉松，郎立敏，王 玥，朱晓彤，束 刚，
王丽娜，高 萍，江青艳，王松波

(华南农业大学 动物科学学院/广东省动物营养调控重点实验室，广东 广州 510642)

摘要:【目的】研究藏猪妊娠期乳腺形态和乳腺发育标志蛋白、相关激素及信号通路的变化。【方法】选取妊娠 33、50、75 和 90 d 的藏猪，屠宰后采集血清和第 3、4 对乳腺。利用 HE 染色观察乳腺形态变化；使用 ELISA 试剂盒检测血清中雌二醇 (E2)、孕酮 (P) 和催乳素 (PRL) 等乳腺发育相关激素的水平；利用 Western blot 方法检测乳腺发育标志蛋白 [包括 ETS 相关的转录因子 5 (Elf-5) 和脂滴包被蛋白 2 (PLIN2)]，以及激素受体 [包括雌激素受体 (ER α)、催乳素受体 (PRLR) 和孕酮受体 (PR)] 的表达，并检测乳腺发育相关信号通路 PI3K/AKT 和 Jak2/STAT5 的激活情况。【结果】从乳腺形态观察可知，妊娠 33 d 时乳腺中主要是导管结构，50 d 时出现少量腺泡结构，75 d 时腺泡快速发育、腺泡增多，90 d 时乳腺中主要是腺泡结构；乳腺发育标志蛋白 Elf-5 和 PLIN2 在妊娠 50 d 蛋白表达开始升高，75 和 90 d 时均具有很高的表达量；血清中 E2、P 和 PRL 质量浓度随着妊娠的进行而升高，90 d 时 E2 达到 42.82 ng/L，P 达到 36.76 μ g/L，PRL 达到 66.53 μ g/L；ER α 和 PRLR 在妊娠 50 d 时表达量升高，PR 在 75 d 时表达量升高。此外，Jak2/STAT5 和 PI3K/AKT 信号通路在妊娠 75 和 90 d 时被显著激活。【结论】藏猪妊娠过程中，乳腺在 50 d 时开始腺泡发育、75 d 时乳腺进入腺泡快速发育期、90 d 时发育程度更高，同时，伴随着血清中乳腺发育相关激素和乳腺中激素受体表达的显著升高，以及乳腺发育相关通路 PI3K/AKT 和 Jak2/STAT5 的激活。

关键词: 藏猪; 乳腺发育; 激素; 妊娠期; 信号通路
中图分类号: S828 文献标志码: A 文章编号: 1001-411X(2021)04-0001-06

Alternations of mammary gland morphology, and marker protein expression, related hormones and signaling pathways of mammary gland development during gestation in Tibetan pigs

YANG Qiang, ZHENG Jisong, LANG Limin, WANG Yue, ZHU Xiaotong, SHU Gang,
WANG Lina, GAO Ping, JIANG Qingyan, WANG Songbo
(College of Animal Science, South China Agricultural University/Guangdong Provincial Key Laboratory of
Animal Nutrition Control, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the alternations of the mammary gland morphology and of the marker protein expression, related hormones and signaling pathways of mammary gland development during gestation in

Tibetan pigs. 【Method】 The pigs were slaughtered, and serum and the mammary glands of the third and fourth pairs were collected at 33, 50, 75 and 90 days of gestation. HE staining was used to observe the changes in mammary gland morphology. The ELISA kit was used to detect the serum levels of hormones related to mammary gland development such as estradiol (E2), progesterone (P) and prolactin (PRL). Western blot method was used to examine the expressions of marker proteins such as E74-like factor 5 (Elf- 5) and perilipin 2 (PLIN2) in mammary gland development, and of hormone receptors such as estrogen receptor (ER α), prolactin receptor (PRLR) and progesterone receptor (PR), as well as the activations of PI3K/AKT and Jak2/STAT5 signal pathways which were related to mammary gland development. 【Result】 Morphologically, the mammary glands at 33 days of gestation were mainly composed of ductal structures, and a small amount of alveolar structures appeared at 50 days. At 75 days, the alveoli developed rapidly in the mammary glands. Notably, the mammary glands were mainly composed of alveolar structures at 90 days. Correspondingly, the expression levels of the marker proteins Elf-5 and PLIN2 in mammary gland development began to increase at 50 days of gestation, with high expression levels at 75 and 90 days. Meanwhile, serum levels of E2, P and PRL all increased with the progress of gestation. The contents of E2, P and PRL reached 42.82 ng/L, 36.76 and 66.53 μ g/L respectively at 90 days. In addition, the expression levels of ER α and PRLR increased at 50 days and the PR expression increased at 75 days. Furthermore, the Jak2/STAT5 and PI3K/AKT signaling pathways were significantly activated at 75 and 90 days of gestation. 【Conclusion】 During gestation in Tibetan pigs, the mammary glands begin to develop alveolar at 50 days, enter the rapid alveolar development stage at 75 days, with higher developmental degree at 90 days. The alternations of mammary gland morphology are accompanied with the significant increase of hormones related to mammary gland development in serum and of hormone receptor expression in mammary glands, and with the activations of the PI3K/AKT and Jak2/STAT5 pathways which are closely related to mammary gland development.

Key words: Tibetan pig; mammary gland development; hormone; gestation; signaling pathway

藏猪是少有的高原型地方猪种,是我国宝贵的地方品种资源^[1]。据调查,藏猪产仔数并不低,母猪的营养水平低下和乳腺发育不佳以及生存条件较恶劣可能是导致仔猪死亡率高的主要原因^[2]。乳腺的良好发育是正常泌乳的前提,仔猪的存活率与母猪的乳腺发育密不可分。因此,研究藏猪妊娠期乳腺发育状况对于判断乳腺是否正常发育以及提高藏猪繁殖能力具有重要意义。

妊娠期是母猪乳腺发育的关键时期,特别是妊娠后 1/3 阶段,即妊娠 75 d 后,乳腺快速发育,其质量快速增加,乳腺结构由怀孕初期的以脂肪细胞为主转化为怀孕后期以导管和腺泡结构为主^[3];妊娠期乳腺发育受到雌二醇 (Estradiol, E2)、孕酮 (Progesterone, P)、催乳素 (Prolactin, PRL)^[4] 等激素的调控。E2 对于乳腺导管的伸长和分支具有重要作用^[5];P 与 E2 相似,由卵巢分泌,调控乳腺组织的导管分枝、腺泡形成^[6];PRL 促进乳腺腺泡的发育及乳汁的分泌^[7-8]。此外,在信号通路方面,PI3K/Akt 是细胞内重要的信号转导通路,在乳腺细胞的增

殖、分化、凋亡等活动中发挥重要的生物学功能^[9-11]。Jak2/STAT5 信号通路对乳腺腺泡的生成和多种乳汁蛋白基因的转录有着重要的调控作用^[12-13]。但是,目前对于藏猪妊娠期乳腺的发育情况及激素和信号通路调控尚不清楚。

本试验以藏猪为对象,选取妊娠期不同时间点,在研究乳腺发育形态的基础上,进一步探索不同时间点血清中 E2、P、PRL 的水平,乳腺中激素受体的表达及乳腺发育关键信号通路 PI3K/Akt 和 Jak2/STAT5 的变化。研究旨在初步探究妊娠期藏猪乳腺发育过程及其潜在调控机制,为日后藏猪乳腺发育规律的揭示和地方品种的保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

妊娠藏猪选取 4 个时间点 (妊娠 33、50、75 和 90 d) 进行屠宰采样,采集血后离心取血清,采集第 3、4 对乳腺组织提取蛋白质,取第 4 对靠近乳

头部乳腺进行石蜡切片染色。

1.2 试验材料

雌二醇、孕酮和催乳素 ELISA 试剂盒购于南京建成生物工程有限公司; 催乳素受体 (Prolactin receptor, PRLR)(货号: 382057)、雌激素受体 (Estrogen receptor, ER)(货号: 220467)、孕酮受体 (Progesterone receptor, PR)(货号: 220124) 抗体购于正能生物有限公司, 蛋白酪氨酸激酶 2 (Janus kinase 2, Jak2)(货号: 3230)、磷酸化蛋白酪氨酸激酶 2 (p-Jak2)(货号: 3771)、信号转导及转录激活因子 5 (Signal transducers and activators of transduction 5, STAT5)(货号: 9359)、磷酸化信号转导及转录激活因子 5 (p-STAT5)(货号: 4322)、磷脂酰肌醇三激酶 (Phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)(货号: 4249)、磷酸化磷脂酰肌醇三激酶 (p-PI3K)(货号: 4228)、蛋白激酶 B (Protein kinase B, AKT)(货号: 9272) 和磷酸化蛋白激酶 B (p-AKT)(货号: 4060) 抗体购于 Cell Signaling Technology 公司; 苏木素染液、伊红染液、苏木素分化液和苏木素返蓝液购于塞维尔生物公司; BCA 蛋白定量试剂盒购自白泰克生物技术有限公司 (北京); ECL 化学发光液购自上海雅酶生物医药科技有限公司。

1.3 测定指标及方法

乳腺采集和 HE 染色: 切下右侧乳腺腹腺体 (第 4 对乳腺), 体积分数为 4% 的多聚甲醛溶液固定 24 h, 石蜡包埋, 切片, 进行 HE 染色, 显微镜下观察并拍照。

蛋白质免疫印迹 (Western blot): 按照每 10 μ g

乳腺组织加入 100 μ L 裂解液进行匀浆, 试剂盒抽提法提取蛋白质, 按照 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白浓度测定, 调整蛋白浓度并用 5 $\times$ loading buffer 制样, 按照每孔 20 μ g 总蛋白上样电泳, 经电转至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上后封闭, 孵育一抗过夜, 并用 TBST 缓冲液洗净孵育二抗, TBST 缓冲液洗净后按照 ECL 化学发光底物说明书 1:1 配置工作液, 使 PVDF 膜与其充分反应 30 s, 置于曝光仪中曝光显色并拍照。

血清激素检测: 按照南京建成 ELISA 试剂盒说明书进行检测; 加入准备好的样品、标准品和生物素抗原, 37 $^{\circ}$ C 条件下反应 30 min; 洗板 5 次, 加入亲和素-HRP, 37 $^{\circ}$ C 条件下反应 30 min; 洗板 5 次, 加入显色液 A、B, 37 $^{\circ}$ C 条件下显色 10 min; 加入终止液; 10 min 之内读取 $D_{450\text{ nm}}$, 计算浓度。

1.4 统计分析

数据结果用平均值 $\pm$ 标准误表示, 统计分析采用 SigmaPlot 12.5 软件分析, 采用单因素方差分析, 并用 Duncan's 法对各组进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 藏猪妊娠期乳腺形态变化

乳腺 HE 染色结果如图 1 所示, 妊娠 33 d 时, 藏猪乳腺中主要是导管结构; 50 d 时, 乳腺中出现少量腺泡结构; 75 d 时, 乳腺中腺泡结构快速增多; 至 90 d 时, 乳腺中主要是腺泡结构。

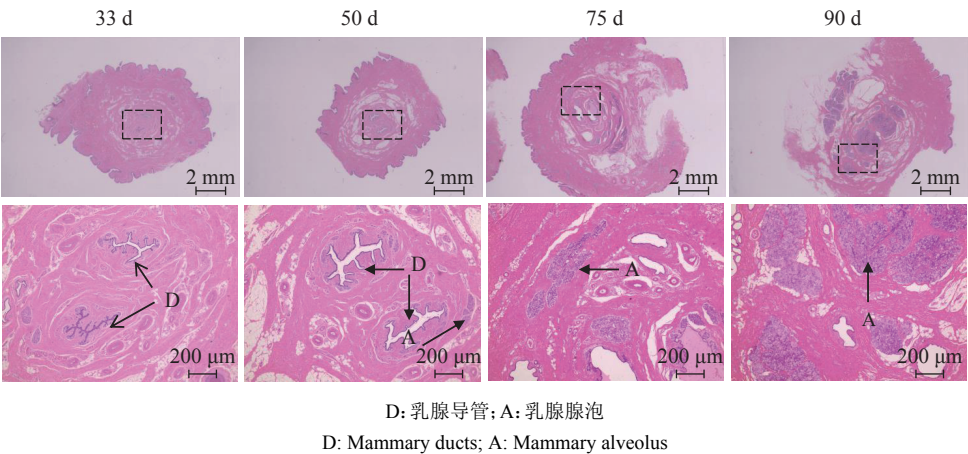


图 1 藏猪妊娠期不同时间点乳腺形态

Fig. 1 Mammary gland morphology in Tibetan pigs at different time points during gestation

2.2 藏猪妊娠期乳腺发育标志蛋白的表达

利用 Western blot 方法检测了藏猪妊娠期不同时间点乳腺发育标志蛋白 Elf-5 和 PLIN2 的表达, 结果发现, 在妊娠 50、75 和 90 d 时, Elf-5 蛋白表达

水平显著高于 33 d; PLIN2 的蛋白水平在 75 和 90 d 时显著高于 33 d (图 2、图 3)。

2.3 藏猪妊娠期血清激素水平

如表 1 所示, 妊娠期不同时间点藏猪血清中

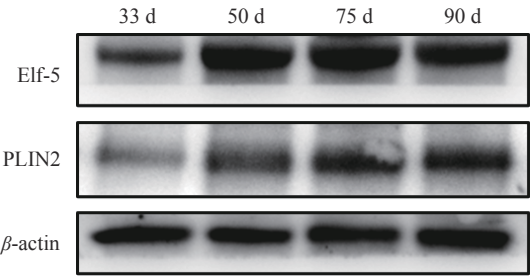
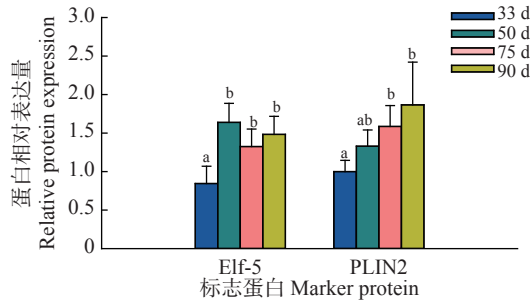


图 2 藏猪妊娠期不同时间点乳腺发育标志蛋白的电泳图
Fig. 2 Electropherograms of marker protein for mammary gland development at different time points during gestation in Tibetan pigs



相同标志蛋白柱子上的不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$, Duncan's 法)
Different lowercase letters on bars of the same marker protein indicate significant differences ($P<0.05$, Duncan's method)

图 3 藏猪妊娠期不同时间点乳腺发育标志蛋白相对表达量
Fig. 3 Relative expressions of marker proteins for mammary gland development at different time points during gestation in Tibetan pigs

表 1 藏猪妊娠期不同时间点的血清激素水平¹⁾
Table 1 Serum hormone levels at different time points during gestation in Tibetan pigs

$t_{\text{妊娠}}/\text{d}$ Days of gestation	$\rho(\text{E2})/$ ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\rho(\text{P})/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\rho(\text{PRL})/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
33	14.56±0.82a	31.55±1.15a	44.86±1.36a
50	22.30±0.71b	32.36±0.62a	54.12±2.73b
75	27.56±0.91c	35.19±0.90b	52.91±1.31b
90	42.82±2.25d	36.76±0.94b	66.53±2.87c

1) 同列数据后的不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$, Duncan's 法)
1) Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$, Duncan's method)

E2、P 和 PRL 的水平随着妊娠的进行呈升高趋势。其中 E2 水平逐渐升高, 到妊娠 90 d 达到最高水平, 为 42.82 ng/L; P 水平在 75 和 90 d 显著高于 33 和 50 d, 90 d P 水平达到 36.76 μg/L; PRL 水平在 50 d 升高, 75 d 显著高于 33 d 但与 50 d 无显著差异, 90 d 时达到最高, 为 66.53 μg/L, 显著高于其他时

间点。
2.4 藏猪妊娠期激素受体的蛋白表达模式
利用 Western blot 方法检测了藏猪妊娠期不同时间点乳腺中激素受体的蛋白表达。结果显示, 妊娠 50 d 时 PRLR 表达水平显著高于 33 d, 在 90 d 时达到最高; ER 表达水平在 50 d 时显著增加, 在 50、75 和 90 d 时水平相当; 在 75 d 时 PR 表达水平显著高于 33 和 50 d, 在 90 d 时达到更高 (图 4、图 5)。

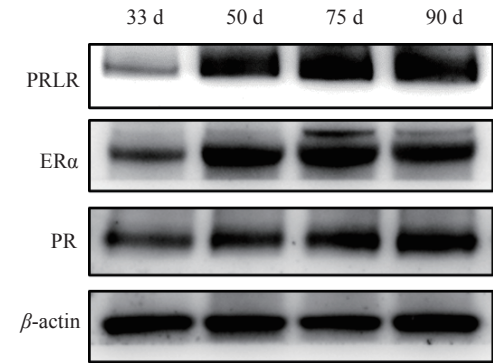
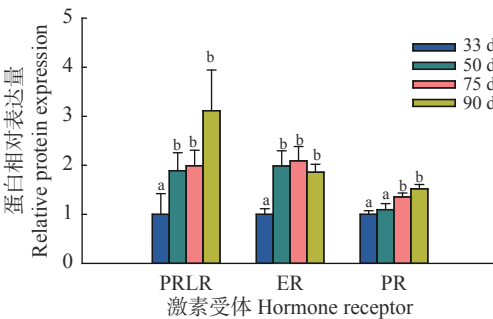


图 4 藏猪妊娠期不同时间点乳腺中激素受体电泳图
Fig. 4 Electropherograms of the hormone receptors at different time points during gestation in mammary glands of Tibetan pigs



相同激素受体柱子上的不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$, Duncan's 法)
Different lowercase letters on bars of the same hormone receptor indicate significant differences ($P<0.05$, Duncan's method)

图 5 藏猪妊娠期不同时间点乳腺中激素受体蛋白相对表达量
Fig. 5 Relative expressions of the hormone receptors at different time points during gestation in mammary glands of Tibetan pigs

2.5 藏猪妊娠期乳腺发育相关信号通路变化
利用 Western blot 方法检测藏猪妊娠期不同时间点乳腺发育相关信号通路 Jak2/STAT5 和 PI3K/AKT 的激活情况。由图 6、图 7 可知, 妊娠 75 d 时, Jak2、STAT5、PI3k 和 AKT 的磷酸化水平显著升高, 90 d 时, Jak2、STAT5 和 PI3k 的磷酸化水平显著升高, 提示 Jak2/STAT5 和 PI3K/AKT 信号通路被显著激活。

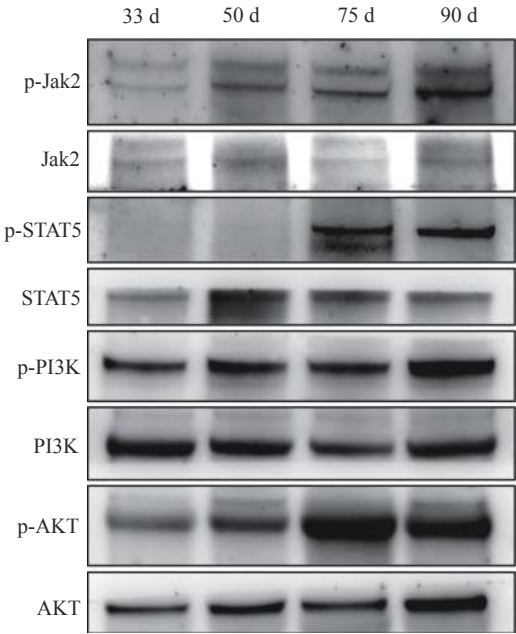
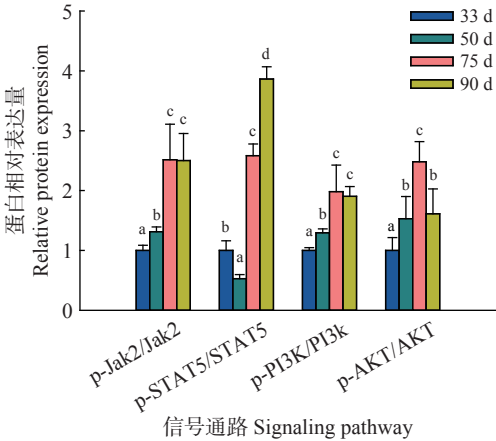


图 6 藏猪妊娠期不同时间点乳腺中 Jak2/STAT5 和 PI3K/AKT 信号通路蛋白的电泳图

Fig. 6 Electropherograms of proteins from Jak2/STAT5 and PI3K/AKT signaling pathways at different time points during gestation in mammary glands of Tibetan pigs



相同信号通路柱子上方的不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$, Duncan's 法)
Different lowercase letters on bars of the same signaling pathway indicate significant differences ($P<0.05$, Duncan's method)

图 7 藏猪妊娠期不同时间点乳腺中 Jak2/STAT5 和 PI3K/AKT 信号通路的蛋白相对表达量

Fig. 7 Relative expressions of proteins from Jak2/STAT5 and PI3K/AKT signaling pathways at different time points during gestation in mammary glands of Tibetan pigs

3 讨论与结论

3.1 藏猪妊娠期乳腺形态变化及发育标志蛋白的表达模式

妊娠期是母猪乳腺发育的重要时期。我们的研究发现, 妊娠 33 d 时, 藏猪乳腺中主要是导管结构,

50 d 时出现少量腺泡结构, 75 d 时腺泡快速增多, 90 d 时乳腺中主要是腺泡结构。与我们的研究结果类似的是, Ji 等^[14] 研究发现, 母猪乳腺在妊娠 45 d 仅 316 g, 75 d 乳腺质量达 1 606 g, 90 d 达到 2 357 g; 此外, Kensinger 等^[15] 研究表明, 母猪乳腺在 90 d 时, 腺泡数量达到最大, 在 90~105 d, 乳腺腺泡开始分泌并蓄积大量乳汁, 泌乳活动即将开始等。高慧杰等^[16] 在奶山羊的妊娠前期也发现乳腺并没有进入快速增殖分化阶段, 而是代谢和呼吸作用增强, 妊娠中期有大量细胞增殖分化。

Elf-5 在妊娠期和哺乳期对乳腺腺泡的增殖和分化有重要作用, 是调节乳腺发育中必不可少的调控因子^[17-18]。PLIN2 是调控乳脂生成的关键分子^[19]。我们的研究结果显示, Elf-5 和 PLIN2 在妊娠 50 d 后表达量显著升高, 结合乳腺的形态和 Elf-5、PLIN2 蛋白水平, 说明 50 d 乳腺开始发育出腺泡, 75 d 乳腺进入快速发育的阶段, 90 d 达到更高的发育程度, 其中主要是腺泡结构。

3.2 藏猪妊娠期血清激素水平、乳腺激素受体及关键信号通路的蛋白表达模式

妊娠期乳腺发育受到多种激素的调节, 其中, E2、P 是调节妊娠期乳腺发育的主要激素, PRL 是调节泌乳期乳腺发育及泌乳的的主要激素^[5-6]。激素通过与其受体结合发挥作用, 若敲除其受体, 则乳腺无法正常发育^[20]。方莉莉等^[21] 研究发现, 在牦牛的妊娠早中期, PR 在乳腺组织中表达量较少, 与本文藏猪妊娠早中期 PR 蛋白表达较少一致。本文研究结果显示, E2、P 和 PRL 等激素及其受体在妊娠期呈升高趋势, 与乳腺的发育程度相吻合。类似地, Horigan 等^[22] 通过体外给卵巢切除并抑制 PRL 分泌的猪注射 E2、P、E2+PRL、E2+PRL+P, 结果表明, 注射 E2+PRL+P 这 3 种激素的组合方式才能最大程度地促进乳腺导管和腺泡产生, 说明 E2、P 和 PRL 之间的相互作用对母猪乳腺发育起着关键作用。

PI3K/Akt 和 Jak2/STAT5 信号通路在乳腺发育中起着重要调控作用。其中, PI3K/Akt 是细胞内参与细胞信号转导的重要通路, 参与细胞生长、增殖及分化等细胞过程^[9, 23]。Meng 等^[10-11] 研究表明, PI3K/Akt 信号通路对乳腺发育和乳腺细胞的增殖具有重要作用。此外, JAK2/STAT5 信号通路对乳腺腺泡的生成和多种乳汁蛋白基因的转录有着重要的调控作用^[12-13]。我们的研究结果表明, PI3K/Akt 和 Jak2/STAT5 信号通路在妊娠 75 d 后被显著激活, 这与乳腺的高度发育及泌乳活动的开始有关。Palin 等^[24] 的研究表明, 梅山猪与大白猪乳腺组织实质中 STAT5A 和 STAT5B 的表达水平存在差异,

STAT5 发生磷酸化后易位至细胞核,与产乳靶基因启动子结合,激活并维持泌乳,梅山猪妊娠期乳腺组织中 STAT5A 和 STAT5B 的表达水平更高,能够生成更多的磷酸二聚体易位至核,同时梅山猪乳腺发育情况更好,具有更高的泌乳力。

综上所述,本文研究了藏猪妊娠期乳腺形态和乳腺发育标志蛋白、相关激素及信号通路的变化。结果发现,在藏猪妊娠过程中,其乳腺在妊娠 50 d 开始腺泡发育,75 d 乳腺进入腺泡快速发育期,90 d 发育程度更高,同时伴随着血清中乳腺发育相关激素(E2、P 和 PRL)和乳腺中激素受体表达的显著升高,以及乳腺发育相关通路 PI3K/AKT 和 Jak2/STAT5 的激活。研究结果为认识藏猪的乳腺发育和繁殖功能奠定了科学依据,为保护藏猪资源奠定了理论基础。

参考文献:

- [1] 唐建华,冯静,陈晓英,等.藏猪种质资源保护与利用研究[J].养猪,2016(1): 68-70.
- [2] 张浩,吴常信,强巴央宗,等.藏猪 3 个繁殖性状主效基因多态性研究[J].遗传,2007(8): 939-944.
- [3] JI F, HURLEY W L, KIM S W. Characterization of mammary gland development in pregnant gilts[J]. *Journal of Animal Science*, 2006, 84(3): 579-587.
- [4] MACIAS H, HINCK L. Mammary gland development[J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews Developmental Biology*, 2012, 1(4): 533-557.
- [5] HILTON H N, CLARKE C L, GRAHAM J D. Estrogen and progesterone signalling in the normal breast and its implications for cancer development[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2018, 466: 2-14.
- [6] ZIELNIOK K, SOBOLEWSKA A, GAJEWSKA M. Mechanisms of autophagy induction by sex steroids in bovine mammary epithelial cells[J]. *Journal of Molecular Endocrinology*, 2017, 59(1): 29.
- [7] TIAN L, ZHANG L, CUI Y, et al. miR-142-3p regulates milk synthesis and structure of murine mammary glands via PRLR-mediated multiple signaling pathways[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(34): 9532-9542.
- [8] O'LEARY K A, SHEA M P, SALITURO S, et al. Prolactin alters the mammary epithelial hierarchy, increasing progenitors and facilitating ovarian steroid action[J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 9(4): 1167-1179.
- [9] RÄDLER P D, WEHDE B L, WAGNER K U. Crosstalk between STAT5 activation and PI3K/AKT functions in normal and transformed mammary epithelial cells[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2017, 451: 31-39.
- [10] MENG Y, YUAN C, ZHANG J, et al. Stearic acid suppresses mammary gland development by inhibiting PI3K/Akt signaling pathway through GPR120 in pubertal mice[J]. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 2017, 491(1): 192-197.
- [11] MENG Y, ZHANG J, ZHANG F, et al. Lauric acid stimulates mammary gland development of pubertal mice through activation of GPR84 and PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(1): 95-103.
- [12] VOLKER S E, HEDRICK S E, FEENEY Y B, et al. Cyclophilin a function in mammary epithelium impacts Jak2/Stat5 signaling, morphogenesis, differentiation, and tumorigenesis in the mammary gland[J]. *Cancer Research*, 2018, 78(14): 3877-3887.
- [13] ZHANG M C, ZHAO S G, WANG S S, et al. d-Glucose and amino acid deficiency inhibits casein synthesis through JAK2/STAT5 and AMPK/mTOR signaling pathways in mammary epithelial cells of dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(2): 1737-1746.
- [14] JI F, WU G, BLANTON J R, et al. Changes in weight and composition in various tissues of pregnant gilts and their nutritional implications1[J]. *Journal of Animal Science*, 2005, 83(2): 366-375.
- [15] KENSINGER R S, COLLIER R J, BAZER F W, et al. Nucleic acid, metabolic and histological changes in gilt mammary tissue during pregnancy and lactogenesis[J]. *Journal of Animal Science*, 1982, 54(6): 1297-1308.
- [16] 高慧杰,郑惠玲. WGCNA 鉴定奶山羊妊娠至泌乳期乳腺发育关键基因[J]. 畜牧兽医学报, 2020, 51(11): 2679-2688.
- [17] 苏启明,曲鑫建,伍会健. ELF5 在正常乳腺发育和乳腺肿瘤发生中的作用[J]. 生命科学研究, 2017, 21(3): 262-267.
- [18] OAKESS R, NAYLOR M J, ASSELIN-LABAT M-L, et al. The Ets transcription factor Elf5 specifies mammary alveolar cell fate[J]. *Genes & Development*, 2008, 22(5): 581-586.
- [19] SHI H B, YU K, LUO J, et al. Adipocyte differentiation-related protein promotes lipid accumulation in goat mammary epithelial cells[J]. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98(10): 6954-6964.
- [20] KELLY P A, BACHELOT A, KEDZIA C, et al. The role of prolactin and growth hormone in mammary gland development[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2002, 197(1): 127-131.
- [21] 方莉莉,安玲,荆海霞,等.孕激素受体在不同发育期牦牛乳腺组织内的分布及表达[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019(11): 141-146.
- [22] HORIZAN K C, TROTT J F, BARNDOLLAR A S, et al. Hormone interactions confer specific proliferative and histomorphogenic responses in the porcine mammary gland[J]. *Domestic Animal Endocrinology*, 2009, 37(2): 124-138.
- [23] CHAI X, SUN D, HAN Q, et al. Hypoxia induces pulmonary arterial fibroblast proliferation, migration, differentiation and vascular remodeling via the PI3K/Akt/p70S6K signaling pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2018, 41(5): 2461-2472.
- [24] PALIN M F, BEAUDRY D, ROBERGE C, et al. Expression levels of STAT5A and STAT5B in mammary parenchymal tissue from Upton-Meishan and Large White gilts[J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 2002, 82(4): 507-518.