

组学技术在乳畜乳房炎研究中的应用进展

陈利强¹, 朱怡静², 刘 权², 萨仁格勒², 郭子荣¹, 邱 爽¹, 张立果^{2*}, 苏小虎^{1*}

(1. 内蒙古大学生命科学学院省部共建草原家畜生殖调控与繁育国家重点实验室, 内蒙古呼和浩特 010020;

2. 内蒙古乌兰察布市农牧和科技局畜牧工作站, 内蒙古乌兰察布 012000)

摘 要: 乳房炎是影响奶牛和奶山羊等乳畜生产性能的主要疾病之一, 微生物组学、代谢组学、蛋白质组学和基因组学技术为解析其机制提供了关键工具。微生物组学揭示肠道菌群通过肠-乳腺轴调控乳腺健康, 发现次级胆汁酸、短链脂肪酸 (Short-chain Fatty Acids, SCFAs) 等与菌群紊乱相关的标志物。代谢组学筛选出粪便丙酮酸、血清丝氨酸、 β -羟基丁酸 (β -hydroxybutyrate) 等反映炎症与代谢状态的核心标志物。蛋白质组学鉴定出乳汁中壳多糖酶 3 样蛋白 I (Chitinase 3 Like Protein I, CHI3LI)、抗菌肽、血清淀粉样蛋白 A (Serum Amyloid Protein A, SAA) 等诊断靶点。基因组学挖掘出 *STAT3*、*PTK2B* 等跨物种的抗病候选基因, 这些基因通过 JAK-STAT、炎症信号通路参与抗性调控。本研究综述了上述 4 种组学技术在乳畜乳房炎研究中的核心发现, 旨在为乳畜亚临床乳房炎型 (Subclinical Mastitic, SM) 的诊断及抗病筛选体系的建立提供参考。

关键词: 乳房炎; 组学技术; 乳畜

中图分类号: S823

文献标识码: A

DOI 编号: 10.19556/j.0258-7033.20250206-06

乳房炎是一种在奶牛和奶山羊等乳畜中频发的疾病^[1-2], 会导致乳畜的泌乳量大幅降低^[3], 并且乳中的乳糖、乳脂和酪蛋白含量也会显著降低^[4], 带来了巨大的经济损失。乳房炎的主要成因在于细菌感染, 包括金黄色葡萄球菌、链球菌、大肠杆菌等^[5-7]。根据乳房及乳汁是否出现肉眼可见的变化, 可分为临床型乳房炎

(Clinical Mastitic, CM) 和亚临床型乳房炎 (Subclinical Mastitic, SM)。CM 表现主要包括乳房区域出现明显的肿胀、伴有疼痛感、皮肤发红以及局部发热等炎症反应。同时, 乳汁的性状也会发生显著改变, 如乳汁稀薄、含有絮状物、脓液或血液^[8-9]。目前我国奶牛 CM 的发病率平均为 7.08% (3.29%~11.6%), SM 的发病率平均为 40.93% (13.41%~55.63%)^[10]。奶山羊乳房炎发病率高达 40.4%^[11]。在希腊奶绵羊群体中 SM 的发病率为 26%^[12]。然而, SM 的筛查体系并不健全, 非抗生素治疗手段不足, 潜在抗乳房炎个体筛选技术还不够完善, 影响了乳房炎的防治。

近年来, 微生物组学 (Microbiomics)、代谢组学 (Metabolomics)、蛋白质组学 (Proteomics) 和基因组学 (Genomics) 等技术通过系统解析微生物群落、代谢物、蛋白质及基因的动态变化, 为乳房炎的发病机制、早期诊断、临床治疗和抗乳房炎个体选育研究提供

收稿日期: 2025-02-06; 修回日期: 2025-07-16

资助项目: 内蒙古中央引导地方科技发展资金项目 (2025 ZY0149); 国家自然科学基金项目 (32160768); 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2024LHMS03011)

作者简介: 陈利强 (2000-), 男, 陕西榆林人, 硕士研究生, 研究方向为动物生殖生物学及生物技术, E-mail: 736892949@qq.com

* 通信作者: 苏小虎 (1986-), 男, 山西晋中人, 助理研究员, 研究方向为动物生殖生物学及生物技术, E-mail: 13947144670@139.com; 张立果 (1967-), 男, 内蒙古乌兰察布人, 正高级畜牧师, 研究方向为动物生殖生物学及生物技术, E-mail: 87939599@qq.com

L-Cit were affected by several factors such as feeding dose, method and environment. This article reviews the anabolic and metabolic processes of L-Cit in animals, describes its application researches of L-Cit in poultry, swine, ruminants and other animal production systems. Thereby it provides crucial theoretical support for the scientific application of L-Cit in livestock and poultry production.

Keywords: L-Citrulline; NO; Heat stress; Livestock and poultry

(责任编辑: 郑本艳)

了新视角^[13]。本文聚焦于组学技术在乳畜乳房炎中的应用研究进展,整合关键生物标志物与候选基因,以期为建立SM精准诊断、科学治疗与抗病育种体系提供依据。

1 微生物组和代谢组学技术在乳畜乳房炎中的应用

微生物组是指特定环境中所有微生物(包括细菌、古菌、低等及高等真核生物、病毒等)的基因与基因组,以及这些微生物所栖居的周围环境的总和^[14],主要使用的技术为16S rRNA测序。代谢组是指某一生物或细胞在特定生理时期内所有的低分子量代谢产物,代谢组学则是对某一生物或细胞在特定生理时期内所有低分子量代谢产物同时进行定性和定量分析的一门学科^[15]。代谢组学可以通过分析粪便、血液和乳汁等样品中的代谢物变化,发现与乳房炎相关的生物标志物^[16-17]。目前,在对待测样本做代谢组分析时用到的技术主要有核磁共振(Nuclear Magnetic Resonance, NMR)、液相色谱-质谱联用(Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry, LC-MS)等^[18]。二者通过“微生物-代谢物-宿主”的动态交互形成复杂网络,共同揭示生物系统的功能机制。

1.1 粪便微生物组和代谢组 乳房炎的发生常伴随着乳畜肠道菌群的变化,肠道菌群可以通过肠-乳腺轴影响乳腺健康^[19-20]。Ma等^[21]研究发现将患乳房炎奶牛的粪便微生物移植到无菌小鼠身上会导致乳房炎的发生。Wang等^[22]对乳房炎奶牛粪便进行LC-MS分析发现,与健康组奶牛相比,SM和CM奶牛粪便中的微生物群落多样性低,并且柠檬酸循环、肉碱和嘌呤代谢的相关产物显著下调,同时检测到肠道次级胆汁酸与粪便微生物群之间存在正相关,而次级胆汁酸的缺失会导致炎症细胞因子激活。因此,肠道次级胆汁酸可作为诊断乳房炎的潜在生物标志物。Zhu等^[23]对乳房炎奶牛粪便进行氢核磁共振分析发现,丙酸盐、乙酸盐、丙酮酸、乙酰乙酸、2,3-丁二醇和乙醇在乳房炎奶牛中的浓度较高,而甘氨酸、O-乙酰胆碱、谷氨酰胺和O-磷酸胆碱的浓度较低。进一步分析发现,所有在乳房炎奶牛中表现出较高水平的分子都与能量代谢有关,其中丙酸盐是糖异生的主要底物,丙酮酸是糖异生的起点和糖酵解的终产物,是从琥珀酸途径或乳酸途径产生丙酸盐的重要中间代谢物,结果提示,与能量相关的代谢途径因乳房炎而改变,最终导致产奶量降低^[24]。因此,奶牛粪便中的

丙酮酸和丙酸盐可以作为判定乳房炎发病的潜在生物标志物。O-乙酰胆碱和O-磷酸胆碱是胆碱的微生物产物,参与脂质代谢和细胞信号传导,也可作为诊断乳房炎发病的潜在生物标志物。同娟珍^[25]对奶山羊粪便进行微生物组测序发现,与健康奶山羊相比,SM奶山羊粪便中蓝藻菌门(Cyanobacteria)数量显著升高,CM奶山羊粪便中厚壁菌门(Firmicutes)数量显著降低、拟杆菌门(Bacteroidetes)数量显著升高。Li等^[26]发现,患有CM的奶牛采食量显著降低,营养代谢异常,不利于肠道共生菌的增殖,进一步影响了有益共生菌通过内源性途径进入乳腺。短链脂肪酸(Short-chain Fatty Acids, SCFAs)作为肠道菌群发酵的最终产物,在乳房炎的过程中具有保护作用,SCFAs包括甲酸、乙酸、丙酸、丁酸等,对于维持肠道的正常功能非常重要^[20]。产生SCFAs的细菌门主要是厚壁菌门,乳房炎奶山羊粪便中厚壁菌门(Firmicutes)数量显著降低,这很可能影响到了SCFAs在肠道中的产生。Wang等^[27]在奶牛中的研究也发现SM奶牛中产生SCFAs的细菌和肠道益生菌显著降低,表明奶牛的免疫力和抗感染能力下降。以上研究结果表明肠道菌群在乳畜宿主防御乳房炎的过程中发挥重要作用。

1.2 血清代谢组 血液易于采集,经常被用于检测各种疾病的发生发展。研究发现炎症和感染通常伴随着机体氧化应激水平的变化^[28]。Wang等^[22]在SM和CM奶牛血清中检测到IL-1 β 、IL-6和TNF- α 浓度升高,谷胱甘肽过氧化物酶和超氧化物歧化酶浓度降低。在乳房炎期间,氧化应激水平的升高可能与炎症过程中中性粒细胞过量产生活性氧有关,谷胱甘肽过氧化物酶和超氧化物歧化酶的降低可能导致氧化损伤^[29]。Zhu等^[23]研究发现CM主要改变了奶牛血清代谢组的氨基酸和有机酸组分。CM奶牛血清中表现出较高水平的乳酸、丝氨酸、苯丙氨酸和甲酸盐,而天冬酰胺和柠檬酸盐的水平较低。丝氨酸在甲基化过程中起重要作用,可对蛋白质、DNA和RNA进行甲基化修饰^[30]。有研究发现丝氨酸摄入不足会降低鸡的免疫反应^[31]。因此,可以将丝氨酸作为CM奶牛免疫反应激活的指标。血清淀粉样蛋白A(Serum Amyloid A, SAA)是一种由多基因编码的具有多种免疫功能的炎症反应蛋白。当机体受到炎症、组织损伤及感染时,SAA可在肝脏内大量合成和分泌,但在疾病恢复期可以快速回归到正常范围^[32]。

Bochniarz 等^[33]评估了由不同病菌引起的乳房炎奶牛和健康奶牛中 SAA 的浓度（患乳房炎：1 134.25 ng/mL，健康奶牛：324.5 ng/mL， $P<0.001$ ），证实了 SAA 可以作为诊断乳房炎的生物标志物。

1.3 乳汁代谢组 乳成分可以反映乳房的代谢状态，因此可用于推断不同生理条件下乳腺细胞的系统生物学，常用于检测乳房炎。Ali 等^[34]通过 GC-MS 等技术对比检测健康奶牛与 SM 奶牛的乳汁样本发现，SM 奶牛乳汁中蛋白质含量显著降低，且健康奶牛与 SM 奶牛乳汁中差异代谢物所涉及的主要途径为脂肪酸降解等，该研究说明与脂肪酸代谢相关的代谢物与隐性乳房炎乳成分的变化息息相关。乳体细胞计数（Somatic Cell Count, SCC）与乳成分的变化有关，包括蛋白质、脂质和乳汁代谢物的变化，常用作乳房炎感染的指标。Sundekilde 等^[35]通过基于 NMR 的代谢组学分析比较了高 SCC 奶牛与低 SCC 奶牛乳汁中的差异代谢物，发现在高 SCC 奶牛乳汁中乳酸、丁酸盐、异亮氨酸、乙酸盐和 β -羟基丁酸盐（ β -hydroxybutyrate, BHBA）的浓度增加。Xi 等^[36]在高 SCC 奶牛乳汁中发现丁酸、异亮氨酸、甘油、肽、乙酸和 BHBA 的含量显著增加，而乳糖、马尿酸和富马酸的含量降低。炎症状态下，乳腺细胞的葡萄糖代谢受抑制，脂肪酸 β 氧化增强，导致酮体（BHBA 为主要成分）积累。BHBA 可通过 GPR43 受体激活 AMPK 信号通路，抑制 mTOR 介导的炎症因子合成，发挥代谢保护作用，但高浓度 BHBA 也会损害 AMPK 信号通路，导致肝脏脂质代谢紊乱^[37]。因此，丁酸、BHBA、异亮氨酸、马尿酸、富马酸、甘油、肽和富马酸可以作为高 SCC 乳汁中的新标志物，高 SCC 也是 SM 和 CM 的典型特征，因此这些代谢产物可以间接反映奶牛是否患有乳腺炎。Zhu 等^[23]也发现 CM 奶牛血清乳酸含量增加。乳酸是糖酵解的主要终产物，可经单羧酸转运蛋白 1（Monocarboxylate Transporter 1, MCT1）转运至细胞内，激活 Toll 样受体 4（Toll-like receptor 4, TLR4）/NF- κ B 信号通路，进而诱发乳腺炎症反应^[38]。因此，乳酸可以作为诊断奶牛乳房炎的潜在生物标志物。Salama 等^[40]对脂多糖（Lipopolysaccharide, LPS）诱导乳房炎的奶山羊乳汁进行 NMR 分析发现，LPS 显著增加了乳蛋白的合成，降低了乳糖的合成。输入 LPS 后，乳汁中 BHBA 含量显著升高，乳汁 BHBA 与 SCC 呈显著正相关，再次说

明 BHBA 可以作为乳房炎发病的生物标志物。

由此可见，乳腺中微生物群落的变化可导致乳房炎的发生，而肠道微生物的代谢产物可通过肠-乳腺轴直接作用于乳腺，引发代谢紊乱；同时代谢物的异常又反作用于菌群，形成恶性循环，这一发现为乳房炎的早期筛查和发病诱因的确定提供了理论基础。

2 蛋白质组学在乳畜乳房炎中的应用

蛋白质组学是以蛋白质组为研究对象，研究细胞、组织或生物体蛋白质组成及其变化规律的科学^[40]。传统的蛋白质组学主要包括二维凝胶电泳、质谱等技术，目前，二维毛细管电泳、二维色谱和液相色谱-毛细管电泳等新技术异军突起，极大地提高了蛋白质组学技术的研究范围和定量准确性，推动了蛋白质组学的进一步发展^[41]。蛋白质组学技术通过分离、鉴定蛋白质及生物信息学分析，研究生物体全部蛋白质，在阐释生命过程和疾病诊断中具有重大意义^[42]。

2.1 乳汁蛋白组 蛋白质组学技术可用于筛选乳汁中乳房炎相关的生物标记物。例如，Zhang 等^[43]使用 SDS-PAGE 结合液相色谱串联质谱法（LC-MS/MS）对 5 组体细胞数不同的牛奶样本进行差异蛋白筛选，结果表明与较低体细胞数的牛奶相比，体细胞数较高的牛奶中免疫相关蛋白（抗菌肽、IGK、CD59 分子、补体调节蛋白、乳黏蛋白）显著增加，抗菌肽 4 蛋白在最高 SCC 的牛奶中增加了近 10 倍，该研究结果为鉴定较高体细胞数量的隐性乳房炎奶牛提供了潜在的蛋白标记物。Bathla 等^[44]基于串联质量标签的定量蛋白质组学分析了健康、SM 与 CM 奶牛乳汁之间的蛋白质组差异，发现 CHI3LI、LPB、GCLC、GSN 和 CD14 可用作诊断 SM 的生物标志物。Tanamati 等^[45]研究发现 CHI3LI 在患有乳房炎奶牛的乳汁中表达上调，同时还发现抗菌肽 -3 可以作为 SM 的有用生物标志物。Pongthaisong 等^[46]利用二维凝胶电泳和 LC-MS 技术鉴定了健康奶牛和无乳链球菌感染引起的 SM 奶牛乳汁中的差异蛋白，在感染的乳汁样品中检测到抗菌肽 -1 的存在，与乳汁体细胞计数显著相关，因此，抗菌肽 -1 可以作为检测 SM 的生物标志物。Tetens 等^[47]的研究结果证明舌抗菌肽（LAP）、气管抗菌肽（TAP）、牛 β 防御素 4（BNBD4）和牛 β 防御素 10（BNBD10）仅在淋巴结表达，而防御素 β 1（DEFB1）在距离乳腺更远的区域表达。在条纹

管中检测到对大肠杆菌高度活性的钙结合蛋白 S100A7 的强组成型 mRNA 表达,表明抗菌肽在乳腺炎的早期预防中至关重要。Katsafadou 等^[48-49]的研究结果表明患病母羊产生了一种防御反应,这种反应受到许多蛋白质(例如:抗菌肽、触珠蛋白、SAA)和各种途径(例如:急性期反应、结合和运输重要离子和分子)的调节,它们在很多方面是相互依赖的。此外,抗菌肽-1 和 SAA 已被确定为可以用作乳房炎诊断的生物标志物。

2.2 唾液蛋白组 唾液是一种近年来受到关注的体液,因为它可以通过非侵入性、廉价和简单的采样方法收集,可以随时随地收集样本。另一方面,其前处理较为简单,它不需要过滤或长时间的强烈离心去除高脂质^[50]。已有研究表明在 SM 期间,乳汁和血清中的 SAA 水平会升高^[33,49]。Caplen 等^[51]为了调查奶牛唾液中 SAA 是否也会发生变化,收集了健康奶牛和 SM 奶牛的唾液进行分析,结果发现,与在乳汁和血清中的研究结果一致,唾液 SAA 在 SM 奶牛中浓度较高且与 SCC 呈正相关。

蛋白质组学在技术实现上更具便捷性,其检测对象为生物体内的蛋白质,样本处理流程相对标准化,无需像微生物组那样复杂的菌群分离、富集及避免污染等难题。同时,蛋白质作为功能执行的直接载体,其作为标志物时稳定性更强。相比微生物组中菌群组成易受饮食、环境等因素干扰而波动,蛋白质的表达模式和修饰状态更能稳定反映生物的生理或病理状态,为乳房炎的诊断和预防提供了更可靠的指标支撑。

3 基因组学在乳畜乳房炎中的应用

除了诊断外,潜在高抗性个体的选育对群体抗乳房炎能力的提升来说尤为必要。基因组学是对生物体所有基因进行集体表征、定量研究及不同基因组比较研究的一门交叉生物学科。基因组学概念最早于 1986 年由美国遗传学家 Thomas H Roderick 提出。基因组学旨在解析生物基因组的序列与结构,明确基因功能及其与表型的关联,探索生物进化规律^[52]。基因组学研究的主要方法包括:生物信息学、遗传分析、基因表达测量和基因功能鉴定^[53]。将先进的基因组学技术运用到乳房炎研究领域,能够深度剖析并揭示病理组织和正常组织在基因表达层面的微妙差异,并且解析相关的生物学通路,进而可以鉴定出乳房炎的关键候选基因及遗传标记^[54]。同时,通过分子标记可快速选育出潜在的高抗性个体。

3.1 基因组学在奶牛乳腺炎中的应用 奶牛乳房炎抗性的差异本质上是通过各种基因在特定的时间和空间选择性表达。试验中经常利用全基因组关联分析(Genome Wide Association Study, GWAS)来筛选各种与复杂性状表型相关的遗传标记并将其运用在奶牛乳房炎研究中^[55]。

Wang 等^[56]将中国荷斯坦奶牛体细胞数估计育种值(Somatic Cell Score Estimating Breeding Value, SCS EBVs)作为表型性状,采用建立在混合模型的单标记回归分析和 GWAS 技术相结合的方法鉴定了与奶牛乳房炎抗性及易感性相关的单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)和候选基因,结果发现 48 个 SNP 与奶牛乳房炎抗性显著相关并且大多数定位在 14 号染色体上,有 6 个显著的 SNP 位于 *TRAPPC9* 和 *ARHGAP39* 基因中,其可作为奶牛乳房炎易感性候选基因。Yang 等^[57]通过 GWAS-2b-RADseq 对中国荷斯坦奶牛进行分析,筛选出 27 个与乳腺炎风险相关的显著 SNP,其中 3 个 SNP 位于免疫调节基因 *PTK2B*、*SYK* 和 *TNFRSF21*。进一步研究发现,*PTK2B* 和 *SYK* 在 CM 奶牛的外周血白细胞和体外刺激的牛乳腺上皮细胞中的表达下调,*PTK2B* 可与整合素 $\beta 1$ 结合,介导免疫细胞的粘附与迁移^[58]。*PTK2B* 表达下调会减少免疫细胞过度浸润,避免炎症扩大。*PTK2B* 通过与 IkappaB 激酶 β (IkB kinase β , IKK β) 和 TANK 结合激酶 1 (TANK Binding Kinase 1, TBK1) 相互作用参与先天免疫反应^[59],该反应对中性粒细胞脱颗粒和宿主防御细菌感染至关重要^[60],提示 *PTK2B* 和 *SYK* 为乳房炎抗性相关候选基因;而 *TNFRSF21* 表达上调,提示 *TNFRSF21* 与易感性相关,从宿主基因型层面揭示了乳房炎发病的遗传基础^[57]。Hoekstra 等^[61]对奶牛源金黄色葡萄球菌优势克隆复合体(CC151、CC97、CC479、CC398)进行全基因组测序,发现毒力及抗菌素耐药性(Antimicrobial Resistance, AMR)基因的携带特征与克隆复合体高度关联。CC151、CC479 等携带毒力基因最多,CC398 则与 AMR 基因显著相关,表明基因克隆复合体及毒力基因特征可用于预测乳腺内感染 CM 的风险。Wang 等^[62]通过高通量转录组测序分析 3 种金黄色葡萄球菌(S56、S178、S3)诱导的奶牛乳腺上皮组织,筛选出大量差异表达基因,这些基因富集于炎症反应、免疫应答、细胞代谢及凋亡等通路,其中 IL-1 α 、TNF、IL-8 等促炎因子的表达量显著上调。当金黄

色葡萄球菌等病原菌入侵乳腺时,其细胞壁成分可被乳腺上皮细胞的 TLR2 受体识别,激活下游 MyD88 依赖的信号通路,导致 I κ B 激酶磷酸化,进而使 NF- κ B 从抑制状态释放并入核,启动 IL-1 α 、TNF 等促炎因子的转录^[63],为解析病原菌与宿主互作的分子机制提供了线索。

3.2 基因组学在奶山羊乳腺炎中的应用 山羊基因组序列的可用性开辟了新的研究领域。Martin 等^[64]基于 50K SNP 芯片数据对萨能奶山羊进行 GWAS 分析发现,萨能奶山羊 19 号染色体 33~42 Mb 区域与 SCS 显著关联,并包含 *RAR α* 、*STAT3*、*STAT5A* 和 *STAT5B* 等关键候选基因,*STAT3*、*STAT5A* 以及 *STAT5B* 均属于 *STAT* 基因家族。当乳腺组织受病原菌刺激时,IL-6 等细胞因子分泌增加,结合细胞膜上的 IL-6 受体 (IL-6R),导致 Janus 激酶磷酸化,进而激活 *STAT3* (第 705 位酪氨酸磷酸化),磷酸化的 *STAT3* 形成二聚体入核,调控靶基因表达。现有研究已证实,在奶牛抵抗乳房炎的过程中,*STAT3*、*STAT5A* 以及 *STAT5B* 同样能通过 JAK-STAT 信号通路发挥关键作用,对增强奶牛乳房炎抗性有着重要意义^[65]。Llie 等^[66]的研究表明,IL6、*SOCS3*、*TLR3* 等基因内部存在的 SNP 与罗马尼亚以及匈牙利当地山羊品种的乳房炎抗性存在显著相关性。这意味着 IL6、*SOCS3*、*TLR3* 的特定变异可能影响山羊对乳房炎的抗性,为山羊乳房炎抗性的遗传选育提供了潜在的分子标记。

3.3 基因组学在奶绵羊乳腺炎中的应用 近年来,人们主要使用中低密度 SNP 芯片开展 GWAS 和连锁分析,鉴定出许多调控绵羊乳房炎抗性基因。Oner 等^[67]利用 SCS 值将阿萨夫奶绵羊分为高低 2 组开展 GWAS,鉴定到 4 个显著关联 SNP,确定 *ARPP21*、*NUP210* 和 *HDAC11* 为候选基因。Bonnefontc 等^[68]使用微阵列分析发现,相较于易感绵羊,*RAR α* 在乳房炎抗性绵羊的乳体细胞中表达显著上调。Banos 等^[69]对患乳腺炎母羊使用定制的 960-SNP DNA 阵列进行基因分型,在第 2、3、5、16 和 19 号染色体上发现了与 SCC、加州乳房炎试验 (California Mastitis Test, CMT) 和乳汁中的总活菌数 (Total Viable Count, TVC) 显著相关的 SNP 标记,确定了乳腺炎耐药的途径、分子相互作用网络和功能基因簇。结合乳体细胞转录组数据,发现与先天免疫相关的候选基因包括 *SOCS2*、*CTLA4*、*C6*、*C7*、*C9*、*PTGER4*、*DAB2*、*CARD6*、*OSMR*、*PLXNC1*、

IDH1、*ICOS*、*FYB* 和 *LYFR*。这些基因能够作为 CM 的潜在候选基因,成为预测绵羊 CM 抗性的遗传学依据。

基因组学解析的候选基因,是宿主应对菌群-代谢-蛋白信号的遗传基础。如 *PTK2B* 不仅调控抗菌肽的表达,还影响宿主对 SCFAs 的敏感性,最终决定个体是否易感。这一层面的发现将环境与遗传关联起来,形成完整的调控链条。

4 其他组学技术

转录组学是建立在高通量测序上的一项具有广泛应用性的技术,利用转录组可检测到特殊环境及生理状态下某些细胞、组织及生物体的全部 RNA 表达量。Liu 等^[70]对 SM 奶牛的血液白细胞进行转录组测序,在对照组和治疗组之间共鉴定出 277 个差异表达基因 (Differentially Expressed Genes, DEGs),这些基因主要富集在炎症反应、免疫反应、调节免疫等免疫相关的功能 GO 条目。此外,关联分析发现 *BCL2*、*KIR3DS1*、*CHML* 这 3 个基因与 SCC 显著相关,为今后开展 SM 奶牛免疫应答机制研究奠定了基础。Wang 等^[71]采用 RNA-seq 技术对 SM 奶牛的乳 SCC 进行检测分析,得到的 DEGs 大多数富集在与免疫反应有关的生物过程,并与甲基化联合分析共鉴定出 6 个 SM 候选生物标记物,为 SM 的鉴定提供了新的参考。与基因组和转录组所不同的是,表观组更注重表达和转录后的遗传信息。Wang 等^[72]通过整合 10 头健康奶牛和 20 头 SM 奶牛 SCC 的 RNA 测序数据,小 RNA 测序数据和 DNA 甲基化测序数据,鉴定出大量与亚临床乳腺炎相关的差异标志物,包括 30 846 个差异甲基化单倍型块 (Differentially Methylated Haplotype Blocks, dMHBs)、2 552 个 DEGs、1 276 个差异表达 lncRNAs (Differentially Expressed Long non-coding RNA, DELs) 和 57 个差异表达 miRNAs (Differentially Expressed MicroRNA, DEMs),加深了对 SM 基因组和表观基因组变化的理解,为未来探索乳房炎的靶向管理策略奠定了坚实基础。

转录是一项动态且可变的生物过程,而转录水平的调控也是目前最广泛以及最重要的调控方式,也会给 SM 的防控研究带来新的机遇。表观组学为乳房炎研究提供了超越基因组序列的动态调控视角,然而,外界环境的动态变化影响着 SM 的发生与发展进程,这使得从表观遗传学角度对 SM 抗病性状开展更深入、更广泛的

研究成为必要。通过深入探究表观调控机制,并与其他组学研究结论相结合,有望为SM的精准防控提供更为坚实的科学依据。

5 总结与展望

现有研究通过微生物组学、代谢组学、蛋白质组学和基因组学等技术,揭示了乳畜乳房炎的“菌群-代谢-蛋白-基因”多维度调控网络。肠道中的次级胆汁酸、乳汁中的BHBA和SAA等生物标志物及PTK2B、STAT3等抗病基因,为乳房炎发病机制解析奠定基础。抗病育种中,将奶牛的PTK2B、SYK及奶山羊的STAT3、IL6等关键基因纳入育种芯片,通过分子标记辅助选择降低群体SM发病率,多基因聚合育种则能借助基因编辑技术缩短育种周期,显著提升后代抗性。

当前,组学技术在乳畜乳房炎研究中有很大的进展,但仍存在不足,例如:微生物组易受环境干扰、代谢组标志物波动较大、蛋白质组样本处理复杂、基因组难反映表观调控。同时,已有标志物检测方法待优化,其在不同物种、品质、地域的阈值与适用性需明确,还有新标志物挖掘以及抗乳房炎基因功能需验证。未来研究亟需聚焦多组学网络建模、CRISPR基因编辑验证、标准化技术跨物种应用、单细胞互作解析四大方向,构建“基础发现-技术开发-产业应用”的全链条创新体系。只有通过学科交叉融合与产学研深度协作,才能突破传统防控的局限性,推动乳房炎管理迈入以数据驱动、靶向干预为特征的精准化新时代,为全球奶业可持续发展提供核心科技支撑。

参考文献:

- [1] Menzies P. Udder Health for Dairy Goats[J]. Vet Clin North Am Food Anim Pract, 2021, 37(1): 149-174.
- [2] Zaatout N. An overview on mastitis-associated Escherichia coli: Pathogenicity, host immunity and the use of alternative therapies[J]. Microbiol Res, 2022, 256: 126960.
- [3] Gröhn Y T, Rajala-schultz P J, Allore H G, et al. Optimizing replacement of dairy cows: modeling the effects of diseases[J]. Prev Vet Med, 2003, 61(1): 27-43.
- [4] Jean-baptiste C, Patrick G, Jacques B, et al. Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows[J]. Annales De Zootechnie, 2002, 51(5): 383-393.
- [5] Zhumakayeva A, Zhubatkanova A, Asauova Z, et al. Efficiency of probiotic culture consortium application for disinfection of dairy farm premises and prevention of mastitis in cows[J]. J Adv Vet Anim Res, 2023, 10(2): 185-195.
- [6] Michael C K, Lianou D T, Mavrogianni V S, et al. Irregular findings on teatcups in milking parlours in sheep and goat farms and potential predictors[J]. Animals (Basel), 2023, 13(19): 3004.
- [7] 陈如龙, 张润泽, 张霞, 等. 安格斯母牛葡萄球菌性乳房炎的诊断与防治[J]. 现代畜牧科技, 2025(7): 108-110.
- [8] 杜结小. 牛乳房炎的病因与防治[J]. 畜禽业, 2024, 35(6): 83-85.
- [9] Zhylkaidar A, Oryntaev K, Altenov A, et al. Prevention of bovine mastitis through vaccination[J]. Arch Razi Inst, 2021, 76(5): 1381-1387.
- [10] 牟小青, 尚立宏, 杨峰, 等. 奶牛乳房炎防治及中兽药作用机制研究进展[J]. 中兽医医药杂志, 2024, 43(6): 47-53.
- [11] 贾倩倩, 张岩岩, 曾琳子, 等. 母羊产后缺乳[J]. 动物医学进展, 2022, 43(2): 125-128.
- [12] Vasileiou N G C, Cripps P J, Ioannidi K S, et al. Extensive countrywide field investigation of subclinical mastitis in sheep in Greece[J]. J Dairy Sci, 2018, 101(8): 7297-7310.
- [13] Couvillion S P, Mostoller K E, Williams J E, et al. Interrogating the role of the milk microbiome in mastitis in the multi-omics era[J]. Front Microbiol, 2023, 14: 1105675.
- [14] Marchesi J R, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal[J]. Microbiome, 2015, 3: 31.
- [15] Goodacre R. Metabolic profiling: pathways in discovery[J]. Drug Discov Today, 2004, 9(6): 260-261.
- [16] Hu H H, Fang Z, Mu T, et al. Application of metabolomics in diagnosis of cow mastitis: a review[J]. Front Vet Sci, 2021, 8: 747519.
- [17] 冯士彬, 张磊, 李志明, 等. 乳房炎奶牛血液流变学指标及细胞因子的变化[J]. 中国兽医学报, 2011, 31(5): 730-733, 739.
- [18] Yang J, Song S L, Castro-perez J, et al. Metabonomics and its applications[J]. Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao, 2005, 21(1): 1-5.
- [19] Hu X Y, Guo J, Zhao C J, et al. The gut microbiota contributes to the development of Staphylococcus aureus-induced mastitis in mice[J]. Isme J, 2020, 14(7): 1897-1910.
- [20] Reuben R C, Torres C. Integrating the milk microbiome signatures in mastitis: milk-omics and functional implications[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2025, 41(2): 41.
- [21] Ma C, Sun Z, Zeng B H, et al. Cow-to-mouse fecal transplantations suggest intestinal microbiome as one cause of mastitis[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 200.
- [22] Wang Y, Nan X M, Zhao Y G, et al. Discrepancies among healthy, subclinical mastitic, and clinical mastitic cows in fecal microbiome and metabolome and serum metabolome[J]. J Dairy Sci, 2022, 105(9): 7668-7688.
- [23] Zhu C L, Zhang Q, Zhao X, et al. Metabolomic analysis of multiple biological specimens (feces, serum, and urine) by (1) H-NMR spectroscopy from dairy cows with clinical mastitis[J]. Animals (Basel), 2023, 13(4): 741.
- [24] Bravo D M, Wall E H. The rumen and beyond: nutritional physiology of the modern dairy cow[J]. J Dairy Sci, 2016, 99(6): 1-10.

- 4939-4940.
- [25] 同娟珍. 山羊羊口疮及乳房炎病程中肠道菌群改变及其对免疫功能影响的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
- [26] 李宏亮, 韩吉雨, 何志辉, 等. 高寒地区秋、冬季荷斯坦奶牛补饲优质饲料对采食量、泌乳性能和乳房炎发病率的影响 [J]. 畜牧与饲料科学, 2016, 37(3): 27-31.
- [27] Wang Y, Nan X M, Zhao Y G, *et al.* Rumen microbiome structure and metabolites activity in dairy cows with clinical and subclinical mastitis[J]. J Anim Sci Biotechnol, 2021, 12(1): 36.
- [28] Atroshi F, Parantainen J, Sankari S, *et al.* Changes in inflammation-related blood constituents of mastitic cows[J]. Vet Res, 1996, 27(2): 125-132.
- [29] El-deeb W M. Clinicobiochemical investigations of gangrenous mastitis in does: immunological responses and oxidative stress biomarkers[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2013, 14(1): 33-39.
- [30] Kalhan S C, Hanson R W. Resurgence of serine: an often neglected but indispensable amino Acid[J]. J Biol Chem, 2012, 287(24): 19786-19791.
- [31] Konashi S, Takahashi K, Akiba Y. Effects of dietary essential amino acid deficiencies on immunological variables in broiler chickens[J]. Br J Nutr, 2000, 83(4): 449-456.
- [32] 陈敏, 廖林, 林发全. 血清淀粉样蛋白 A 与动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 广东医学, 2021, 42(8): 1002-1005.
- [33] Bochniarz M, Szczubial M, Brodzki P, *et al.* Serum amyloid A as an marker of cows mastitis caused by *Streptococcus* sp[J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2020, 72: 101498.
- [34] Ali A, Mir M U R, Ganie S A, *et al.* Milk-compositional study of metabolites and pathogens in the milk of bovine animals affected with subclinical mastitis[J]. Molecules, 2022, 27(23): 8631.
- [35] Sundekilde U K, Poulsen N A, Larsen L B, *et al.* Nuclear magnetic resonance metabonomics reveals strong association between milk metabolites and somatic cell count in bovine milk[J]. J Dairy Sci, 2013, 96(1): 290-299.
- [36] Xi X M, Kwok L Y, Wang Y N, *et al.* Ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry MS(E)-based untargeted milk metabolomics in dairy cows with subclinical or clinical mastitis[J]. J Dairy Sci, 2017, 100(6): 4884-4896.
- [37] 丁宝隆, 伏东宝, 赵洪喜. 酮病奶牛血清脂代谢和肝功能相关指标的变化 [J]. 中国兽医杂志, 2024, 60(6): 80-85.
- [38] Wang L R, Wang Y, Meng M J, *et al.* High-concentrate diet elevates histone lactylation mediated by p300/CBP through the upregulation of lactic acid and induces an inflammatory response in mammary gland of dairy cows[J]. Microb Pathog, 2023, 180: 106135.
- [39] Salama A A K, Contreras-jodar A, Love S, *et al.* Milk yield, milk composition, and milk metabolomics of dairy goats intramammary-challenged with lipopolysaccharide under heat stress conditions[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 5055.
- [40] 周燕, 杨钦. 动物科学中蛋白质组学技术的应用 [J]. 兽医导刊, 2020(1): 95.
- [41] 徐闯, 朱奎玲, 陈媛媛, 等. 应用 SELDI-TOF-MS 技术对患脂肪肝奶牛血浆差异蛋白的分离鉴定及生物信息学特征 [J]. 中国农业科学, 2016, 49(8): 1585-1598.
- [42] Hortin G L, Jortani S A, Ritchie J C J R, *et al.* Proteomics: a new diagnostic frontier[J]. Clin Chem, 2006, 52(7): 1218-1222.
- [43] Zhang L, Boeren S, Van hooijdonk A C, *et al.* A proteomic perspective on the changes in milk proteins due to high somatic cell count[J]. J Dairy Sci, 2015, 98(8): 5339-5351.
- [44] Bathla S, Sindhu A, Kumar S, *et al.* Tandem mass tag (TMT)-based quantitative proteomics reveals potential targets associated with onset of Sub-clinical Mastitis in cows[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 9321.
- [45] Tanamati F, Taylor J F, Behura S K, *et al.* Short communication: Characterization of the milk protein expression profiles in dairy buffaloes with and without subclinical mastitis[J]. J Dairy Sci, 2020, 103(3): 2677-2684.
- [46] Pongthaisong P, Katawatin S, Thamrongyoswittayakul C, *et al.* Milk protein profiles in response to *Streptococcus agalactiae* subclinical mastitis in dairy cows[J]. Anim Sci J, 2016, 87(1): 92-98.
- [47] Tetens J, Friedrich J J, Hartmann A, *et al.* The spatial expression pattern of antimicrobial peptides across the healthy bovine udder[J]. J Dairy Sci, 2010, 93(2): 775-783.
- [48] Katsafadou A I, Tsangaris G T, Anagnostopoulos A K, *et al.* Differential quantitative proteomics study of experimental *Mannheimia haemolytica* mastitis in sheep[J]. J Proteomics, 2019, 205: 103393.
- [49] Katsafadou A I, Vasileiou N G C, Fthenakis G C. Use of proteomics in the study of mastitis in ewes[J]. Pathogens, 2019, 8(3): 134.
- [50] Escribano D, Horvatic A, Contreras-aguilar M D, *et al.* Identification of possible new salivary biomarkers of stress in sheep using a high-resolution quantitative proteomic technique[J]. Res Vet Sci, 2019, 124: 338-345.
- [51] Caplen G, Held S D E. Changes in social and feeding behaviors, activity, and salivary serum amyloid A in cows with subclinical mastitis[J]. J Dairy Sci, 2021, 104(10): 10991-11008.
- [52] Capra E, Cremonesi P, Pietrelli A, *et al.* Genomic and transcriptomic comparison between *Staphylococcus aureus* strains associated with high and low within herd prevalence of intramammary infection[J]. BMC Microbiol, 2017, 17(1): 21.
- [53] Brooker R. Concepts of genetics[M]. Tokyo: McGraw-Hill Education 2nd ed, 2016.
- [54] Lippolis J D, Holman D B, Brunelle B W, *et al.* Genomic and transcriptomic analysis of *Escherichia coli* strains associated with persistent and transient bovine mastitis and the role of colanic acid[J]. Infect Immun, 2018, 86(1): e00566-17.
- [55] Shittu A, Abdullahi J, Jibril A, *et al.* Sub-clinical mastitis and associated risk factors on lactating cows in the Savannah Region of Nigeria[J]. BMC Vet Res, 2012, 8: 134.
- [56] Wang X, Ma P P, Liu J F, *et al.* Genome-wide association study in Chinese Holstein cows reveal two candidate genes for

- somatic cell score as an indicator for mastitis susceptibility[J]. BMC Genet, 2015, 16: 111.
- [57] Yang F, Chen F H, Li L L, *et al.* Three novel players: PTK2B, SYK, and TNFRSF21 were identified to be involved in the regulation of bovine mastitis susceptibility via GWAS and post-transcriptional analysis[J]. Front Immunol, 2019, 10: 1579.
- [58] Beck T N, Nicolas E, Kopp M C, *et al.* Adaptors for disorders of the brain? The cancer signaling proteins NEDD9, CASS4, and PTK2B in Alzheimer's disease[J]. Oncoscience, 2014, 1(7): 486-503.
- [59] Liu X G, Zhang P, Zhang Y K, *et al.* Glycolipid iGb3 feedback amplifies innate immune responses via CD1d reverse signaling [J]. Cell Res, 2019, 29(1): 42-53.
- [60] Kamen L A, Schlessinger J, Lowell C A. Pyk2 is required for neutrophil degranulation and host defense responses to bacterial infection[J]. J Immunol, 2011, 186(3): 1656-1665.
- [61] Hoekstra J, Zomer A L, Rutten V, *et al.* Genomic analysis of European bovine *Staphylococcus aureus* from clinical versus subclinical mastitis[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 18172.
- [62] Wang X, Xiu L, Hu Q L, *et al.* Deep sequencing-based transcriptional analysis of bovine mammary epithelial cells gene expression in response to in vitro infection with *Staphylococcus aureus* stains[J]. PLoS One, 2013, 8(12): e82117.
- [63] 袁峥嵘. 金黄色葡萄球菌诱导奶牛实验性乳腺炎研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- [64] Martin P, Palhiere I, Maroteau C, *et al.* Genome-wide association mapping for type and mammary health traits in French dairy goats identifies a pleiotropic region on chromosome 19 in the Saanen breed[J]. J Dairy Sci, 2018, 101(6): 5214-5226.
- [65] Khan M Z, Khan A, Xiao J, *et al.* Role of the JAK-STAT pathway in bovine mastitis and milk production[J]. Animals (Basel), 2020, 10(11): 2107.
- [66] Ilie D E, Kusza S, Sauer M, *et al.* Genetic characterization of indigenous goat breeds in Romania and Hungary with a special focus on genetic resistance to mastitis and gastrointestinal parasitism based on 40 SNPs[J]. PLoS One, 2018, 13(5): e0197051.
- [67] Öner Y, Serrano M, Sarto P, *et al.* Genome-wide association studies of somatic cell count in the assaf breed[J]. Animals (Basel), 2021, 11(6): 1531.
- [68] Bonnefont C M, Toufeer M, Caubet C, *et al.* Transcriptomic analysis of milk somatic cells in mastitis resistant and susceptible sheep upon challenge with *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*[J]. BMC Genomics, 2011, 12: 208.
- [69] Banos G, Bramis G, Bush S J, *et al.* The genomic architecture of mastitis resistance in dairy sheep[J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 624.
- [70] 刘雪琴, 王迪, 米思远, 等. 叶酸补饲对隐性乳房炎奶牛免疫力及产奶性状相关基因表达的影响 [J]. 畜牧兽医学报, 2020, 51(11): 2731-2742.
- [71] Wang M Q, Bissonnette N, Laterriere M, *et al.* Methylome and transcriptome data integration reveals potential roles of DNA methylation and candidate biomarkers of cow *Streptococcus uberis* subclinical mastitis[J]. J Anim Sci Biotechnol, 2022, 13(1): 136.
- [72] Wang M Q, Yang N S, Laterriere M, *et al.* Multi-omics integration identifies regulatory factors underlying bovine subclinical mastitis[J]. J Anim Sci Biotechnol, 2024, 15(1): 46.

Research Progress of Omics Technology in the Research of Mastitis in Dairy Animals

CHEN Liqiang¹, ZHU Yijing², LIU Quan², SA Rengele², GUO Zirong¹, QIU Shuang¹, ZHANG Ligu^{2*}, SU Xiaohu^{1*}

(1. State Key Laboratory of Reproductive Regulation and Breeding of Grassland Livestock, Ministry of Education and Province, College of Life Sciences, Inner Mongolia University, Inner Mongolia Hohhot 010020, China;

2. Animal Husbandry Workstation, Bureau of Agriculture, Animal Husbandry and Science and Technology of Ulanqab City, Inner Mongolia Autonomous Region, Inner Mongolia Ulanqab 012000, China)

Abstract: Mastitis is one of the major diseases affecting the production performance of dairy animals such as dairy cows and dairy goats. Microbiomics, metabolomics, proteomics and genomics technologies provide key tools for understanding its mechanism. Microbiomics reveal that the gut microbiota regulates breast health through the gut-mammary axis and discover markers related to microbiota disorder such as secondary bile acids and Short-chain Fatty Acids (SCFAs). Metabolomics screened out core markers reflecting inflammation and metabolic status, such as fecal pyruvate, serum serine, and β -hydroxybutyrate (BHBA). Proteomics identified diagnostic targets such as Chitinase 3 Like Protein I (CHI3LI), antimicrobial peptides, and Serum Amyloid Protein A (SAA) in breast milk. Genomics has identified cross-species candidate genes for disease resistance such as STAT3 and PTK2B, which are involved in resistance regulation through JAK-STAT and inflammatory signaling pathways. This study reviews the core findings of the above four major omics techniques in the research of mastitis in dairy animals, aiming to provide a reference for the establishment of a diagnostic and disease resistance screening system for Subclinical Mastitis (SM) in dairy animals.

Keywords: Mastitis; Omics; Dairy livestock

(责任编辑: 石丽丹)