

抗牛乳房炎基因研究进展

伍家辉, 周梦晗, 冯 墨, 钱诗雨, 邢雯慧, 李媛媛, 赵春江*

(中国农业大学动物科学技术学院, 北京 100193)

摘要: 奶牛乳房炎是奶牛养殖产业中常见且危害严重的疾病, 造成泌乳量下降、奶品质降低以及严重的经济损失。近年来, 抗病育种越来越受到重视, 抗奶牛乳房炎相关遗传因子的筛选和鉴定也成为本领域的研究热点。本文详细阐述了牛乳房炎的致病机制和抗性基因研究进展, 包括 JAK-STAT、NF- κ B 信号通路和模式识别受体中的关键基因及其作用机制、非编码 RNA (miRNAs 和 LncRNAs) 在炎症调控中的重要功能, 最后对奶牛乳房炎抗病育种的发展方向进行了展望。

关键词: 奶牛; 乳房炎; JAK-STAT; NF- κ B; ncRNAs

中图分类号: S823

文献标识码: A

DOI 编号: 10.19556/j.0258-7033.20250303-07

奶牛乳房炎是全世界范围内危害奶牛养殖产业的重要疾病之一, 发病率较高, 是奶牛常见的疾病之一。奶牛乳房炎是乳腺组织受到病原微生物感染和理化因素刺激发生的炎症反应, 可显著影响奶牛泌乳性能、乳品质和繁殖能力, 增加死淘率, 给奶牛场造成巨大的经济损失, 严重制约了奶产业的发展^[1]。奶牛乳房炎可分为临床型(急性)或亚临床型(隐性或慢性)炎症。临床型乳房炎通常具有明显的炎症症状, 如乳房红肿、疼痛和乳汁变性, 可能出现凝乳块或絮状物, 泌乳减少或停止^[2]。而亚临床型乳房炎不会引起明显的外部症状, 并且通常仅能通过测量化学参数和奶中体细胞数量(Somatic Cell Count, SCC)的变化识别, 其隐蔽性强、危害范围更广^[3]。据报道, 全球奶牛临床型乳房炎发病率约为 5%, 而亚临床型乳房炎的发病率则高达 25%~65%^[4]。近年来, 由于传统抗生素类药物治疗存在兽药残留和菌株耐药等问题, 所以抗病育种受到越来越多重视, 对于奶牛乳房炎相关抗性基因筛选以及调控机理探究也成为研究热点。本文着重对抗牛乳房炎基因的研究

进展进行综述。

1 牛乳房炎致病机制

乳腺上皮细胞是乳腺抵御细菌入侵的第一道防线, 它们不仅充当物理屏障, 而且能够产生炎症介质。侵入乳腺的病菌与乳腺上皮细胞接触后会使其关键应答基因转录激活, 进而诱导先天免疫系统激活, 引发炎症^[5]。奶牛乳房炎是一种由多种感染原引起的疾病, 并且在目前的研究中每种感染原具有特定和不同的致病机制, 其分子调控机制复杂。多数乳房炎病例是由几种细菌造成的, 包括金黄色葡萄球菌、乳房链球菌、大肠杆菌和隐秘化脓杆菌等。在大多数情况下, 革兰氏阴性菌如大肠杆菌等的感染常可引起临床型乳房炎, 而金黄色葡萄球菌等革兰氏阳性菌感染则会导致亚临床型乳房炎^[6]。

金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)是导致奶牛乳房炎的最常见的病原体之一, 由于其能够躲避宿主免疫系统的攻击, 并具有隐藏在宿主细胞中的能力, 使得抗菌药物无法发挥作用, 因此该类乳房炎的预防和治疗较为困难^[7]。金黄色葡萄球菌感染过程涉及 3 个特定阶段, 包括粘附宿主细胞和细胞外基质、入侵或渗透组织和细胞、逃避宿主免疫系统^[8]。当金黄色葡萄球菌入侵宿主细胞时, 其膜上的脂磷壁酸(Lipoteichoic Acid, LTA)激活 Toll 样受体 2 (Toll-like Receptor 2, TLR2), 后者又激活核因子 κ B (Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B Cells, NF- κ B) 信号传导途径,

收稿日期: 2025-03-03; 修回日期: 2025-08-26

资助项目: 科技部科技创新 2030—重大项目 抗病基因编辑奶牛育种新材料创制课题(2023ZD0405003)

作者简介: 伍家辉(2001-), 男, 四川德阳人, 硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种, E-mail: jiahuiwu@cau.edu.cn

* 通信作者: 赵春江(1970-), 男, 新疆乌鲁木齐人, 博士, 副研究员, 主要从事动物遗传育种学研究, E-mail: cjzhao@cau.edu.cn

导致炎症细胞因子的分泌，引发炎症^[9]。

大肠杆菌是全世界奶牛临床型乳房炎的主要病原体之一。在由大肠杆菌感染和其他革兰氏阴性菌引起的牛乳房炎病程早期，乳汁中即可检测到高水平表达的细胞因子及其他炎症介质。有研究表明，大肠杆菌引起严重炎症临床症状的主要因子是脂多糖（Lipopolysaccharides, LPSs），LPSs 也是革兰氏阴性菌细胞壁的一种成分^[10]。大肠杆菌可以在牛乳腺上皮细胞（Bovine Mammary Epithelial Cells, BMECs）中激发诱导 *TLR2* 和 *TLR4* 以及细胞因子，如肿瘤坏死因子- α （Tumor Necrosis Factor- α , *TNF- α* ）、白细胞介素- 1α （Interleukin- 1α , *IL-1 α* ）、*IL-6* 和 *IL-8* 的表达，并激活 NF- κ B 信号传导途径，从而引发炎症^[11]。

2 牛乳房炎关键信号通路的抗性候选基因

目前，许多研究采用组学方法对牛乳房炎抗性候选基因进行鉴定，整合基因组、转录组和蛋白组数据的多组学研究策略也越来越多地应用于该领域。在此类研究中，通常通过基因位点与牛乳房炎性状进行关联分析筛选抗性候选基因，并进一步对候选基因的生物学功能和抗病机制进行验证和解释。

炎症和免疫相关疾病的抵抗力受多基因影响，免疫相关基因的变异可导致机体在各种炎症性疾病中对病原体的炎症反应有所不同，这主要表现在乳中 SCC 和体细胞评分（Somatic Cell Score, SCS）的变化。由于难以直接通过指标来测定乳房炎表型，SCC 和 SCS 被

广泛用作早期乳房炎指标^[12]。除 SCS 和 SCC 外，多种炎性细胞因子包括干扰素- γ （Interferon- γ , *IFN- γ* ）、*IL-4*、*IL-6*、*IL-10*、*IL-17*、*TNF- α* 和 *TNF- β* 基因的表达水平也可用作评估牛乳房炎的指标^[13]。

2.1 JAK-STAT 通路中的基因 Janus 激酶 / 信号转导因子和转录激活因子（Janus kinase/signal Transducer and Activator of Transcription, JAK/STAT）信号通路是一种广谱表达的细胞内信号转导通路。JAK-STAT 通路由 3 个主要成分组成：受体、JAKs 和 STAT，STAT 被 JAK 磷酸化和二聚体化，然后通过核膜来调节相关基因的表达，这一调控过程被也被称为 IL-6 信号通路，是一种细胞因子刺激的信号转导通路^[14]（图 1）。JAK-STAT 通路的损坏可能导致各种疾病，包括牛乳房炎，并且 JAK-STAT 通路是抵抗临床型乳房炎的关键通路。有研究表明，在大肠杆菌感染引起的牛乳房炎中，JAK-STAT 通路相关基因的表达发生了显著改变^[15]。

JAK2 基因在乳房炎抗性中起关键作用，已经鉴定的 JAK-STAT 通路中许多类型的突变都与 *JAK2* 基因相关，其通过激活 STAT 蛋白，来调控细胞的增殖、分化和存活，因而受到关注^[16]，已有研究表明，与多种炎症性疾病相关的 *JAK2* 基因上的多个单核苷酸多态性（Single Nucleotide Polymorphism, SNP）位点与奶牛乳房炎抗性和乳糖含量显著相关^[17]。Usman 等^[13]发现了 *JAK2* 基因 39652267 A>G 多态性位点的 GG 基因型与低 SCC 密切相关。该团队随后的研究揭示，*JAK2* 基因 g.39645396 A>G 位点野生型即 AA 基因型的 mRNA

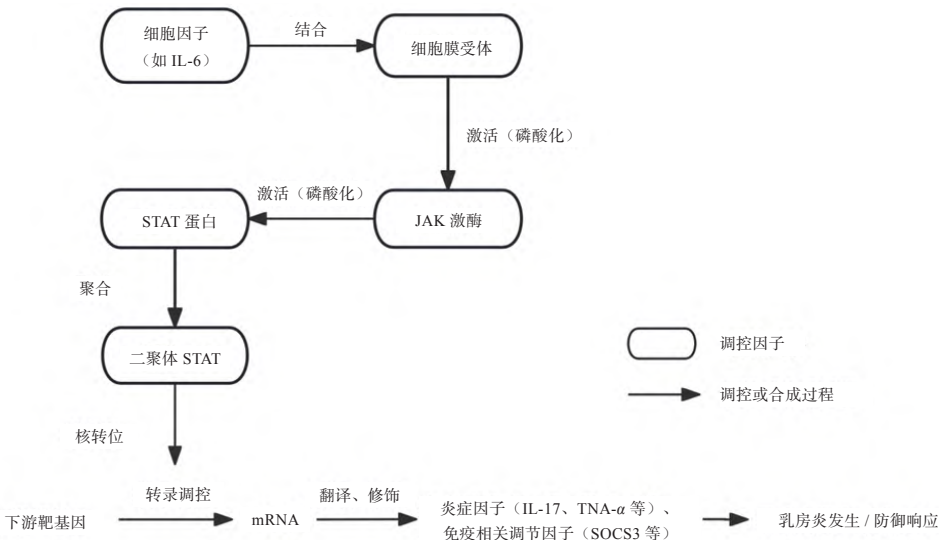


图 1 JAK-STAT 通路调控机制示意图

表达水平显著高于其他基因型,进而导致奶牛乳房中 SCC 和 SCS 增加,使奶牛更容易患乳房炎,该位点可作为选择抗乳房炎奶牛的强遗传标记^[18],且 *JAK2* 基因的甲基化水平与 *IL-4* 显著相关,进一步证实了 *JAK2* 基因是重要的候选基因^[19]。此外, Khan 等^[20]通过微流控芯片技术发现, *JAK2* 基因和二酰基甘油酰基转移酶 (Diacylglycerol O-acyltransferase 1, *DGAT1*) 基因的 SNP 与乳房炎性状如 SCC、SCS、*IL-6* 和 *IFN-γ* 显著关联,进一步证实了 *JAK2* 基因上的 SNP 对于奶牛乳房炎相关性状的多样性。由此可见, *JAK2* 基因是改善奶牛乳房炎抗性的潜在遗传标记。

STAT 在信号和转录的激活中起着关键作用, Cai 等^[21]通过全基因组关联分析 (Genome-wide Association Study, GWAS) 和 RNA-seq 数据验证发现 *STAT5A* 和 *STAT3* 基因为牛乳房炎抗性候选基因。*STAT5A*-AvaI 多态性与患乳房炎奶牛的乳电导率 (Electrical Conductivity, EC) (为奶牛乳房炎判定的基本指标之一) 存在显著关联^[22]。Usman 等^[13]研究表明, *STAT5A* 基因内含子 9 中的 SNP 与 *IL-6* 表达水平显著相关,并进一步发现 *STAT5A* 基因的甲基化水平与 *IL-4* 和 *IL-17* 水平显著相关^[19]。在浆细胞性乳房炎 (Plasma Cell Mastitis, PCM) 中, *STAT3* 可通过 *IL-6*/*STAT3* 信号通路被激活,其激活不仅促进浆细胞的分化,还通过上调抗凋亡蛋白的表达,抑制浆细胞和 T 淋巴细胞的凋亡,从而维持炎症细胞的存活^[23]。这些研究表明, *STAT5A* 和 *STAT3* 基因可以作为抵抗牛乳房炎的候选基因。在金黄色葡萄球菌感染的乳腺上皮细胞中,其中就有参与多种细胞过程调控的 *STAT1* 基因发挥作用, *STAT1* 基因可通过上调 2 种细胞信号传导抑制因子 (Suppressors of Cytokine Signaling, SOCS) 家族成员 *SOCS1* 和 *SOCS3* 的表达,减少炎症因子的产生,从而减轻炎症反应^[24]。SOCS 也称为 STAT 诱导的 STAT 抑制蛋白,这种负向反馈机制有助于限制炎症反应的强度和持续时间,防止过度的组织损伤,其中 *SOCS3* 可通过 *JAK2*/*STAT5* 信号通路的负反馈调节来抑制炎症反应,其高表达时可以抑制 BMECs 中 *STAT5A* 的激活,从而减少炎症细胞的浸润和炎症因子的产生^[25]。此外,与 *STAT5A* 基因密切相关的 *STAT5B* 基因也受到关注,两者在蛋白质水平上高度保守^[16]。已有研究显示, *STAT5B* 基因也是与牛乳房炎抗病相关的基因。Usman 等^[18]发现,奶牛的乳

腺上皮细胞中, *STAT5B* 基因 GG 基因型的 mRNA 表达水平相对于其他基因型更高,会导致奶牛乳房中 SCC 和 SCS 增加,从而使奶牛更容易患乳房炎。分化簇 4 (Cluster of Differentiation 4, *CD4*) 基因是 *STAT5B* 关联的另一个重要的抗病候选基因,其甲基化水平与 SCC、SCS、乳房炎程度和 *IFN-γ* 显著相关^[19]。Khan 等^[26]还研究了 *CD4* 基因的 SNP 与中国荷斯坦奶牛的乳房炎抗性的关联,发现 TT 基因型的奶牛 *IL-6* 表达水平较高, SCC 水平较低,对乳房炎具有抗性。He 等^[27]报道了 *CD4* g.13598 C>T 和 *STAT5B* g.31562 T>C 的 CCTT 单倍型相较于其他单倍型 SCS 更高,而单倍型 TTTC 可能有利于提高牛奶和蛋白质产量,同时降低 SCS,有助于减少奶牛乳房炎的发生。此外,在炎症过程中, *STAT5B* 同样会调节 *CD4*⁺T 辅助细胞分化,抑制其向辅助性 T 细胞 17 (T helper 17 cell, Th17) 的分化,进而降低 *IL-17* 等炎症细胞因子的分泌,从而减轻炎症反应^[28]。

总体来看 JAK-STAT 信号通路在牛乳房炎的发病与抗性中起着关键作用, *JAK2*、*STAT1*、*STAT5A* 等基因通过调控细胞因子及炎症反应显著影响乳房炎相关性状,其 SNP 具有潜在的作为抗病育种分子遗传标记的价值。

2.2 NF-κB 信号通路及其上下游的调控基因 NF-κB 信号通路在炎症和免疫相关疾病中的作用已有大量研究。NF-κB 家族由 p50 (NF-κB1)、p52 (NF-κB2)、p65 (RELA)、REL 和 RELB 组成,它们都共享一个氨基末端 REL 同源结构域^[29]。在 NF-κB 信号通路中, IκB 蛋白被 IκB 激酶 (IKK) 复合物磷酸化,导致 IκB 蛋白泛素化和降解,这使细胞质 NF-κB 复合物释放,然后转运到细胞核并驱动靶基因的表达^[30] (图 2)。临床型乳房炎奶牛乳汁体细胞中 NF-κB 活性高,而亚临床型乳房炎奶牛乳汁细胞中 NF-κB 活性存在较大差异,健康奶牛中则未检测到其明显变化^[31]。NF-κB 信号通路在奶牛乳房炎症中,通过调控炎症细胞因子、粘附分子、趋化因子和生长因子的表达发挥着重要作用。

炎症基因的启动子区域通常包含 NF-κB 的结合位点,可作为 NF-κB 信号通路的下游靶基因,其表达受该通路调控,因此主要依赖于 NF-κB 的调节。其中, *IL-8* 的表达水平与其活性高度相关^[31]。*IL-8* 作为一种重要的趋化因子,在免疫反应和炎症过程中发挥着关键

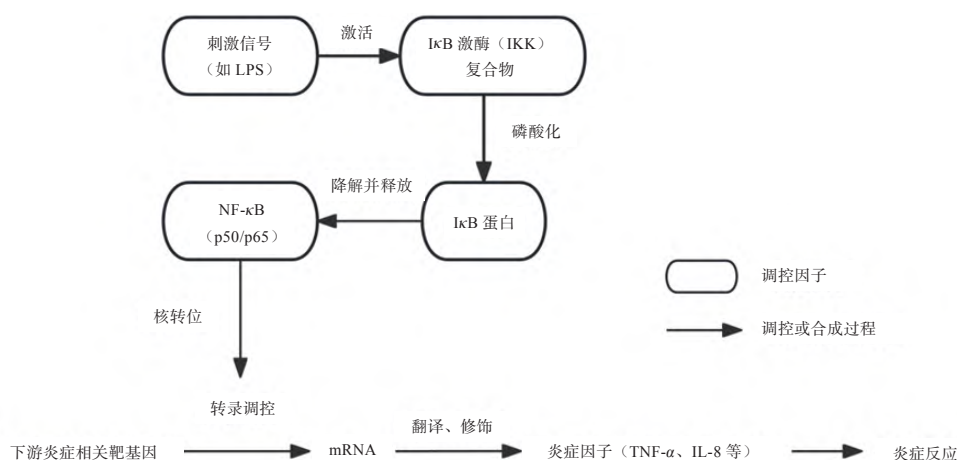


图 2 NF-κB 通路调控机制示意图

作用，它可通过趋化和激活中性粒细胞、淋巴细胞等免疫细胞，调节炎症反应和促进组织修复^[32]。*IL-8* 基因中特定的突变位点与奶牛乳房炎抗性显著相关，这些突变通过影响 *IL-8* 的表达水平或生物活性来调节宿主的抗炎反应。已有研究发现 *IL-8* 基因 -105 G>A 位点与 SCS 显著相关，GG 基因型的奶牛的 SCS 较低，且 mRNA 相对表达和蛋白水平最高，表明其 GG 基因型或可作为抗病育种中的有效遗传标记^[33]。冀德君等^[34]研究了 *IL-8* 基因 5' 侧翼区 SNP -180 A>G，发现其显著影响体细胞评分，且 GG 型的 SCS 指标极显著低于 GA 型和 AA 型，同样有可能作为遗传标记使用。趋化因子受体 1 基因（*CXCR1*）是与 *IL-8* 存在互作的另一个重要抗病候选基因。陈仁金等^[35]研究发现 *CXCR1* 的 -1830 A>G 位点 AA 基因型、-1768 T>A 位点 TT 基因型和 -344 T>C 位点 TT 基因型以及单倍型 Haplo2（ATTA）纯合体都在中国荷斯坦牛中表现出较高的乳房炎抗性。进一步研究表明，*CXCR1* 与 *IL-8* 相互作用可促进中性粒细胞在炎症部位的聚集，从而增强局部的炎症反应，有助于清除病原菌，两者特定的基因型组合（如 *CXCR1*（-1768）-*IL-8*）也可以显著影响奶牛对乳房炎的易感性^[36]。由 Th17 细胞分泌的 IL-17 也是牛乳房炎炎症反应中不可或缺的细胞因子。最初 *IL-17A* 基因是通过微阵列分析发现的^[37]，进一步研究^[38]表明，细胞因子 IL-17A 可通过激活缺氧诱导因子 1α，促进上皮细胞迁移和代谢重编程，加速伤口愈合，该机制可能为牛乳房炎的治疗提供新的靶点。此外，*IL-17A* 基因的 g.24345410 A>G 位点还与血清细胞因子 IL-4 显著相关，且 GG 基因型比其他基因型的 mRNA 表达水平更高^[39]，

而其 -1578 A>G 位点则与 SCS 显著相关，AA 基因型的 SCS 显著高于 GA 和 GG 基因型^[40]，上述 2 个位点可作为乳房炎抗性选择和育种的有效遗传标记。

NF-κB 信号通路中的上游调节基因主要通过多种机制参与其激活调控，在缓解炎症反应及提高牛乳房炎抗性方面发挥关键作用。细胞色素 P450 1A1（Cytochrome P450 1A1, *CYP1A1*）在动物的各个器官中广泛表达，已有研究表明 *CYP1A1* 基因参与炎症相关疾病^[41]。Zhang 等^[42]通过高通量测序分析在 LPS 处理的牛乳腺上皮细胞中初步鉴定到了 *CYP1A1* 基因，过表达的 *CYP1A1* 基因能够显著抑制 LPS 诱导的 NF-κB 信号通路的激活，表现为 pNF-κB 水平的下降和 pIκB 水平的上升，从而减轻由 LPS 引起的炎症反应并提高牛对乳房炎的抗性。Liu 等^[43]首次系统地探讨了线粒体脱乙酰酶（Sirtuin 3, *SIRT3*）基因在奶牛乳房炎中的作用机制，研究表明 *SIRT3* 的过表达通过降低 pNF-κB P65 水平和比率，抑制 NFκB P65 的磷酸化及核转位，从而减轻炎症反应。多配体蛋白聚糖 -3（Syndecan-3, *SDC3*）则通过抑制 IκBα 的磷酸化，进而阻止 NF-κB p50 的活化来负向调控 NF-κB 信号通路，最终抑制炎症反应^[44]。运输蛋白颗粒复合物 9（Trafficking Protein Particle Complex Subunit 9, *TRAPPC9*）基因作为 NF-κB 信号传导的关键调节因子，已有研究^[45]通过 GWAS 在牛乳房炎中筛选到了这个基因。其编码的蛋白质 NIK/IKK2 结合蛋白（NF-κB-inducing kinase/IκB kinase 2 Binding Protein, NIBP）通过与 NIK 和 IKK2 的相互作用，从而增强 NF-κB 信号通路的活性，其 SNP（Chr14: 2525852）位点的 GG 基因型与较低的 SCC 和 SCS 以

及较高的 IL-6 水平相关, 因此具有更高的乳房炎抗性^[26,46]。这些上游调节基因通过多种机制调控 NF- κ B 信号通路, 为提高奶牛乳房炎抗性提供了新的靶点和分子依据。

NF- κ B 信号通路中相关基因的单核苷酸变异 (Single Nucleotide Variant, SNV) 位点, 如 *Rel* 基因的 g.536C>T、*p100* (NF- κ B2) 的 g.94 G>A、*p105* (NF- κ B1) 的 g.43 T>C 和 g.2397 T>G, 也均被认为是乳房炎抗性选择和育种的有用遗传标记^[47]。有研究发现, NF- κ B1 基因 g.18T>C 位点 CC 基因型的个体可能易患乳房炎, 而 TT 基因型具有较低的 SCS, 是抗乳房炎基因型^[48]。

由上述可知, NF- κ B 信号通路的多基因调控使得其在乳房炎的免疫反应和炎症调节中发挥着至关重要的作用, 显著影响着牛乳房炎的易感性和抗性。但大多数牛乳房炎研究主要聚焦于单基因或少数因子, 因而缺乏对 NF- κ B 信号通路上下游调控网络系统性的整合分析, 未来结合多组学分析将会有力推动这一领域的研究。

2.3 模式识别受体类基因 BMECs 的炎症反应主要是通过模式识别受体 (Pattern Recognition Receptors, PRRs) 途径实现, 例如膜表面的 TLRs 和胞内的 NOD 样受体 (NOD-like receptors, NLRs), PRRs 识别病原体相关分子模式 (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs) 后, 最终导致 NF- κ B 信号通路的激活, 从而产生炎症介质^[49]。

在细菌性乳房炎中, TLRs 中的 *TLR2* 和 *TLR4* 基因在识别病原体和激活下游的信号传导途径过程中发挥着关键作用^[9,11,49]。并已有研究通过数量性状位点 (Quantitative Trait Locus, QTL) 分析、关联研究和表达谱分析多种研究方法鉴定到 *TLR2* 和 *TLR4* 基因是牛乳房炎抗性的候选基因^[50]。其中, *TLR2* 能够识别到与包括革兰氏菌和分枝杆菌在内的多种微生物的各种相关 PAMPs^[51], 研究发现, *TLR2* 基因的 T385G 位点多态性与奶牛的 SCS 显著相关, GG 基因型奶牛 SCS 较低, 表明了该基因型可能与乳房炎风险较低相关^[52]。而 *TLR4* 则与脾酪氨酸激酶 (Spleen Tyrosine Kinase, SYK) 之间的相互作用较强, 并且可通过 TLR4-SYK 信号轴来调控 *IL-1 β* 、*IL-8* 的表达和 NF- κ B 信号通路活性, 从而抑制 BMECs 的炎症反应^[53]。*TLR4* 基因 3 个 SNP (rs8193946 A>G、rs8193060 C>T 和 rs29017188 C>G) 的基因型组合 AACCCC、GGTCGG 和 GACCGC

的 SCS 均值较低^[54]。Bhat 等^[55]在 *TLR4* 基因的启动子区域和 5'UTR 鉴定出 16 个 SNP, 这些变异可能会影响 *TLR4* 基因的转录水平, 进而影响奶牛对亚临床型乳房炎的易感性。此外, TLRs 中 *TLR6* 基因的 SNP 也与牛乳房炎抗性之间有着密切的关系, 如 *TLR6* 基因的 T853A 和 G855A 突变位点的 B 等位基因, 以及 A1980G 突变位点的 J 等位基因, 均可作为牛乳房炎抗性的有效遗传标记^[56]。

脂多糖结合蛋白 (Lipopolysaccharide Binding Protein, LBP) 基因也同样参与牛乳房炎病原体的识别, Bathla 等^[57]利用基于串联质谱标记 (Tandem Mass Tag, TMT) 的定量蛋白质组学技术鉴定出 LBP 为亚临床型乳房炎相关的潜在生物标志物。功能研究表明, LBP 能够对 LPS 进行识别, 并通过 CD14 激活 TLR4 和 TLR2 信号通路^[58], 且 *LBP* 基因的 SNP 可通过调节自身的表达和分泌水平以及改变与 LPS 的结合能力来影响临床型乳房炎易感性^[59]。而同样作为 TLRs 识别病原体过程中的关键部分, *CD14* 基因也较早通过 QTL 分析等多重研究方法被注意到^[50], 其与临床型乳房炎的发病率也密切相关。*CD14* 基因的多态性可能会影响可溶性 CD14 在乳汁中的水平, 进而影响牛乳腺上皮细胞对 LPS 的识别和响应能力^[60]。此外, 奶牛初乳中 CD14⁺ 细胞数量的减少还可能会导致产后乳房炎的发生, 这进一步强调了干奶期管理在降低产后乳房炎发病率中的重要性^[61]。*CD14* 基因外显子 2 的 2 个 SNP 位点 g.528 A>C 和 g.612 A>G 还会影响 CD14 蛋白的结构和功能, 进而影响奶牛对乳房炎的易感性^[62]。Selvan 等^[63]还分析了 *CD14* 基因 SNP 的基因型组合与牛乳房炎发病率之间的关系, 并表明特定的基因型组合可有效降低牛乳房炎的发病率。

NLRs 在牛乳房炎中主要参与细胞损伤和应激相关先天免疫反应^[49]。目前的研究主要通过功能基因组学验证揭示相关基因在细胞损伤和调节炎症反应中的关键作用, 进而确定为候选基因。泛素折叠修饰因子 1 连接酶 1 (UFM1-Ligase 1, *UFL1*) 基因是奶牛乳房炎治疗中的一个关键位点。NOD 样受体蛋白 3 炎症体 (NOD-like Receptor Protein 3 Inflammasome, NLRP3) 是 NLRs 中的一种细胞内多蛋白复合体, 其在 LPS 诱导的乳房炎中通过促进炎症细胞因子的分泌发挥作用^[64], 而 *UFL1* 基因的过表达可通过靶向激活 NLRP3, 抑制半

胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶1 (Cysteine-dependent Aspartate-specific Protease-1, Caspase-1) 和 IL-1 β 的分泌,从而减轻炎症反应和细胞损伤。同时, *UFL1* 基因过表达也可负向调节 TLR4/NF- κ B 信号通路,导致相关炎症因子表达水平的降低,进一步缓解 LPS 诱导的炎症反应和细胞损伤^[65]。在大肠杆菌诱导的乳房炎中, Tan 等^[66]探讨了核苷酸结合寡聚结构域1 (NOD1) 在中性粒细胞早期反应中的重要作用,发现了 NOD1/NF- κ B 通路的激活有助于中性粒细胞对 LPS 的功能反应,包括细胞存活、迁移、吞噬细菌杀伤能力,以及在一定程度上调节促炎介质的基因转录。

综上, BMECs 通过 PRRs 识别病原体并激活下游免疫通路,虽然当前对于 NLRs 的研究少于 TLRs,但通过多项研究策略鉴定出的与牛乳房炎抗性相关基因已经在调控炎症反应、减轻细胞损伤方面展现出潜力,为乳房炎抗性遗传标记筛选和分子育种提供了重要依据。

3 与抗牛乳房炎相关的 ncRNAs

3.1 miRNAs MicroRNAs (miRNAs) 是长度约为 22 个核苷酸的非编码 RNA (Non-Coding RNA, ncRNA), 其在牛乳房炎的免疫和炎症系统中起着重要的调节作用^[67]。通过 RNA-seq 技术,研究者可筛选差异表达 miRNA 作为感染和炎症的生物标志物,它们或成为新的治疗靶点,并已有研究借此鉴定出多个 miRNA 参与 TLR 等多个免疫信号通路^[68]。

miRNAs 作为一种重要的基因表达调控因子,可通过与靶基因 mRNA 的非翻译区 (3'UTR、5'UTR) 及编码区结合来影响 mRNA 的稳定性和翻译效率而发挥作用。在 *S.aureus* 感染的奶牛乳腺中,相关免疫信号的响应也由 miRNA- 基因 - 通路网络调控^[69]。例如, BMECs 中的 miR-29c 可通过多个基因来调节氧化应激和炎症反应,如叉头盒蛋白 O1 (Forkhead Box O1, *FOXO1*) 和 *TNF- α* , 可作为治疗奶牛乳房炎的潜在治疗靶点^[70]。Wang 等^[71]也发现了 bta-miR-146a 通过直接靶向肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated Factor 6, *TRAF6*) 基因,抑制了 *TRAF6* 的表达和 NF- κ B 信号通路的活性,从而负向调节 BMECs 中 LPS 刺激的炎症反应。Li 等^[72]则通过对 miR-375 沉默,使核受体亚家族 4A 组成员 1 (Nuclear Receptor Subfamily 4 Group A Member 1,

NR4A1) 和蛋白酪氨酸磷酸酶非受体 5 型 (Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 5, *PTPN5*) 这 2 个丝裂原活化蛋白激酶 (Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK) 信号通路中的抗炎基因显著上调,进而缓解牛乳房炎的炎症反应。基于该调节机制,通过监测并调节 miRNA 的表达,可为疾病预防、抗病育种以及开发新的治疗策略提供新方向。其中, miR-223 是治疗奶牛乳房炎的关键靶点,其在抑制炎症反应和维持 BMECs 稳定性中发挥着重要作用。通过对 miR-223 的干扰,可诱导细胞因子 *IL-6* 和 *IL-24* 以及趋化因子 *CXCL5*、*CXCL3* 和 *CCR6* 的表达^[73], bta-miR-223 可通过靶向 *Cbl* 原癌基因 B (Cbl Proto-Oncogene B, *CBLB*) 和 *Ras* 家族成员 B (Ras Homolog Family Member B, *RHOB*) 基因,抑制 NF- κ B 信号通路来减轻 *S.aureus* 和 LPS 诱导引发的乳房炎炎症反应^[74-75]。bta-miR-223 还可通过影响其与高迁移率族蛋白 B1 (High Mobility Group Box 1, *HMGB1*) 基因的 SNP (g.2776 A>G) 不同基因型的结合能力,进而调节 *HMGB1* 基因的 mRNA 表达水平来影响炎症反应,且 GG 基因型的奶牛 SCS 值较低,显示出更强的乳房炎抗性^[76]。Liu 等^[77]还对 GWAS 数据和 QTL 数据库进行综合分析,确认了 miR-223 的靶基因与牛乳房炎抗性密切相关。

一般情况下,在 NF- κ B 信号通路中, miRNAs 也会抑制健康奶牛 NF- κ B 信号通路的基因表达,来维持免疫平衡,但在患有乳房炎的奶牛中, miRNA 水平较低,减弱了对 NF- κ B 信号通路中基因的抑制作用,导致免疫相关基因表达并参与免疫反应以抵抗细菌入侵^[78]。Chen 等^[48]发现了下调的 bta-miR-125b 和上调的肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 3 (Tumor Necrosis Factor α -Induced Protein 3, *TNFAIP3*) 基因可以共同抑制 LPS 诱导的牛乳腺上皮细胞系 (MAC-T) 中 NF κ B1/p105 的抗炎能力。但另一项研究表明, miR-125b 是通过调节其他靶基因间接控制 *TNFAIP3* 的表达,并且可通过下调 miR-125b 的表达,减弱其对 NF- κ B 抑制剂互作 *Ras* 样蛋白 2 (NF- κ B Inhibitor Interacting Ras-Like Protein 2, *NKIRAS2*) 基因表达的抑制作用,导致 NF- κ B 活性下降, *IL-6* 和 *TNF- α* 的表达下降,进而缓解细胞炎症^[79]。这表明 miR-125b 在不同炎症条件下可能通过多条路径发挥调控作用,也突显了 miRNAs 在乳房炎免疫调节中复杂的调节机制。

3.2 LncRNA 长非编码 RNA (Long non-coding RNA, LncRNA) 是一组长度大于 200 个核苷酸的异质性 RNA, 其在奶牛乳房炎的免疫和炎症反应调控过程中参与多个相关信号通路, 具有至关重要的作用, 可作为奶牛乳房炎防治的潜在分子靶点^[80]。目前, 主要使用 RNA-seq 技术来筛选差异表达的 lncRNAs, 但已鉴定的与牛乳房炎抗性相关的 lncRNA 很有限。有研究表明, NF- κ B 信号通路的激活就可以促进 LncRNA X-失活特异性转录物 (X-Inactive Specific Transcript, XIST) 和 NLRP3 炎症体的表达, 而 XIST 则能通过负反馈调节 NF- κ B/NLRP3 途径来影响炎症过程, 理解 XIST 在炎症条件下的关键作用有助于识别治疗牛乳房炎的新靶点^[81]。微管相关长链非编码 RNA (LncRNA-Tubulin, LncRNA-TUB) 同样也在奶牛乳房炎中起着重要作用, 敲低 LncRNA-TUB 会引发乳腺上皮细胞的上皮-间质转化, 抑制细胞增殖、迁移和 β -酪蛋白分泌, 并影响细胞对炎症因子的表达及细菌的粘附能力^[82]。而 LncRNA H19 印记母系表达转录物 (H19 imprinted maternally expressed transcript, H19) 则具有双重作用, LncRNA H19 在炎症期通过 NF- κ B 信号通路增强免疫反应, 帮助病原体的清除, 在炎症消退后又过表达来修复屏障, 并促进乳腺腺体功能恢复, 其在抑制细菌感染和恢复炎症组织的正常功能方面起着积极的作用^[83]。富含亮氨酸重复序列蛋白 75A 的反义 LncRNA1 (Leucine-Rich Repeat Containing 75A Antisense RNA 1, LRRC75A-AS1) 也在牛乳房炎治疗中具有多重效果, 其表达下调会导致 LRRC75A 的表达水平下降, 可以显著增强紧密连接蛋白的表达, 减少细胞单层的通透性, 并抑制金黄色葡萄球菌的粘附和侵袭, 同时还能下调炎症因子的表达, 抑制 NF- κ B 信号通路的激活^[84]。INK4 位点的反义非编码 RNA (Antisense Non-Coding RNA in the INK4 Locus, ANRIL) 同样也在 LPS 刺激的 MAC-T 细胞中表现出了抗炎效果, 通过敲低 ANRIL 能显著影响 NF- κ B 信号通路相关基因和蛋白的表达, 可以促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡, 并减轻牛乳房炎的炎症反应和氧化应激^[85]。同样是反义 LncRNA, 碳酸酐酶 12 反义 LncRNA1 (Carbonic Anhydrase 12 Antisense Long Non-Coding RNA 1, LncRNA CA12-AS1) 敲低则使得 miR-133a 的表达上调, 进而抑制了炎症因子的分泌和细胞凋亡, 促进了细胞增殖, 从而减轻了 LPS 诱

导的 BMECs 炎症反应和症状^[86]。牛乳房炎相关长非编码 RNA (Bovine Mastitis-Associated Long Non-Coding RNA, BMNCR) 也可通过 miR-145/CBFB 轴来影响 BMECs 的增殖和凋亡^[87]。上述研究说明 LncRNAs 也能通过 miRNAs 抵抗奶牛乳房炎。另外, 某些 lncRNA 通过调控多个信号通路的交叉点 (如 NF- κ B 和 NLRP3 炎症体) 来影响炎症反应。因此, 推测其可能存在一个更广泛的 lncRNA 调控网络, 未来的研究可以通过整合多组学数据 (如 RNA-seq、ChIP-seq 等), 构建 lncRNA 调控网络, 揭示其在牛乳房炎中的协同作用机制。目前 lncRNAs 调控牛乳房炎的研究仍然滞后, 将来应加强这一领域的研究。

上述研究表明, miRNAs 和 LncRNAs 都是调控牛乳房炎免疫反应的重要非编码 RNA, 它们在免疫反应和炎症过程中发挥着关键作用。两者各自的调控机制都为抗奶牛乳房炎的研究和治疗提供了新思路, 有望为疾病的预防和治疗开辟新的方向。

4 展 望

随着分子生物学与基因组学技术的迅速发展, 抗乳房炎基因的研究不断深入, 已揭示了多种与免疫应答、炎症调控、细胞凋亡等相关的候选基因, 为抗乳房炎育种提供了理论依据和技术支持, 也为深入理解这些基因抗乳房炎的遗传机制奠定了基础。然而, 受限于表型数据的准确性、样本量、基因型与表型之间复杂的相互关系等因素, 抗乳房炎基因遗传机制的解析仍面临诸多挑战。首先, 目前多数研究聚焦于单个或少数几个候选基因的功能, 而乳房炎作为一种复杂的性状, 其抗性是由多基因协同调控的, 这种“单基因”研究模式难以揭示基因间的互作网络和整体调控机制。其次, 现有研究多依赖于单一组学技术 (如基因组学或转录组学), 导致对抗病调控机制的理解较为片面, 缺乏从基因、转录、蛋白到代谢等多个层面的系统整合分析, 难以构建完整的抗病分子图谱。此外, 许多研究鉴定出的候选基因与性状的关联仍停留在统计学层面, 其在乳房炎发生发展中的具体生物学功能和分子机制验证尚不充分。针对上述不足, 未来应更多采用多基因的研究策略, 进一步整合多组学数据, 通过生物信息学方法构建抗性基因调控网络, 并对相关调控通路及网络进行进一步的解析和功能验证, 同时结合先进的基因编辑工具, 实现对奶牛抗

病性状的高效定向改良。

参考文献:

- [1] Ashraf A, Imran M. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis[J]. *Anim Health Res Rev*, 2020, 21(1): 36-49.
- [2] Pokorska J, Sawicki S, Gabrys J, *et al.* The use of stem cells in the treatment of mastitis in dairy cows[J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 10349.
- [3] Cobirka M, Tancin V, Slama P. Epidemiology and classification of mastitis[J]. *Animals*, 2020, 10(12): 2212.
- [4] Wang M Q, Liang Y, Ibeagha-Awemu E M, *et al.* Genome-wide DNA methylation analysis of mammary gland tissues from chinese holstein cows with staphylococcus aureus induced mastitis[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 550515.
- [5] Wellnitz O, Bruckmaier R M. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection[J]. *Vet J*, 2012, 192(2): 148-152.
- [6] Jensen K, Günther J, Talbot R, *et al.* Escherichia coli- and staphylococcus aureus-induced mastitis differentially modulate transcriptional responses in neighbouring uninfected bovine mammary gland quarters[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14(1): 36.
- [7] Twomey D P, Wheelock A I, Flynn J, *et al.* Protection against staphylococcus aureus mastitis in dairy cows using a bismuth-based teat seal containing the bacteriocin, lacticin 3147[J]. *J Dairy Sci*, 2000, 83(9): 1981-1988.
- [8] Middleton J R. Staphylococcus aureus antigens and challenges in vaccine development[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2008, 7(6): 805-815.
- [9] Zhao G, Jiang K F, Wu H C, *et al.* Polydatin reduces staphylococcus aureus lipoteichoic acid-induced injury by attenuating reactive oxygen species generation and TLR2- NF κ B signaling[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(11): 2796-2808.
- [10] Steele N M, Swartz T H, Enger K M, *et al.* The effect of J5 bacterins on clinical, behavioral, and antibody response following an escherichia coli intramammary challenge in dairy cows at peak lactation[J]. *J Dairy Sci*, 2019, 102(12): 11233-11249.
- [11] Thompson-Crispi K, Atalla H, Miglior F, *et al.* Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 493.
- [12] Wang L, Yang F, Wei X J, *et al.* Prevalence and risk factors of subclinical mastitis in lactating cows in northwest China[J]. *Isr J Vet Med*, 2019, 74: 17-22.
- [13] Usman T, Yu Y, Liu C, *et al.* Genetic effects of single nucleotide polymorphisms in *JAK2* and *STAT5A* genes on susceptibility of chinese holsteins to mastitis[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(12): 8293-8301.
- [14] Xin P, Xu X Y, Deng C J, *et al.* The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 80: 106210.
- [15] Buitenhuis B, Røntved C M, Edwards S M, *et al.* In depth analysis of genes and pathways of the mammary gland involved in the pathogenesis of bovine escherichia coli- mastitis[J]. *BMC Genomics*, 2011, 12(1): 130.
- [16] Hennighausen L, Robinson G W. Interpretation of cytokine signaling through the transcription factors *STAT5A* and *STAT5B*[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(6): 711-721.
- [17] Ali N, Niaz S, Khan N U, *et al.* Polymorphisms in *JAK2* gene are associated with production traits and mastitis resistance in dairy cattle[J]. *Ann Anim Sci*, 2020, 20(2): 409-423.
- [18] Usman T, Wang Y, Liu C, *et al.* Association study of single nucleotide polymorphisms in *JAK2* and *STAT5B* genes and their differential mRNA expression with mastitis susceptibility in chinese holstein cattle[J]. *Anim Genet*, 2015, 46(4): 371-380.
- [19] Usman T, Ali N, Wang Y C, *et al.* Association of aberrant DNA methylation level in the *CD4* and *JAK-STAT*-pathway-related genes with mastitis indicator traits in chinese holstein dairy cattle[J]. *Animals*, 2021, 12(1): 65.
- [20] Khan M Z, Wang D, Liu L, *et al.* Significant genetic effects of *JAK2* and *DGAT1* mutations on milk fat content and mastitis resistance in holsteins[J]. *J Dairy Res*, 2019, 86(4): 388-393.
- [21] Cai Z X, Guldbrandtsen B, Lund M S, *et al.* Prioritizing candidate genes post-GWAS using multiple sources of data for mastitis resistance in dairy cattle[J]. *BMC Genomics*, 2018, 19: 656.
- [22] Kiyici J M, Akyüz B, Kaliber M, *et al.* Association of *GH*, *STAT5A*, *MYF5* gene polymorphisms with milk somatic cell count, EC and pH levels of holstein dairy cattle[J]. *Anim Biotechnol*, 2022, 33(3): 401-407.
- [23] Liu Y, Zhang J, Zhou Y H, *et al.* IL-6/STAT3 signaling pathway is activated in plasma cell mastitis[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(10): 12541-12548.
- [24] Zahoor A, Yang Y P, Yang C, *et al.* MerTK negatively regulates staphylococcus aureus induced inflammatory response via toll-like receptor signaling in the mammary gland[J]. *Mol Immunol*, 2020, 122: 1-12.
- [25] Huang Y L, Zhao F, Luo C C, *et al.* SOCS3-mediated blockade reveals major contribution of *JAK2/STAT5* signaling pathway to lactation and proliferation of dairy cow mammary epithelial cells in vitro[J]. *Molecules*, 2013, 18(10): 12987-13002.
- [26] Khan M Z, Dari G, Khan A, *et al.* Genetic polymorphisms of *TRAPPC9* and *CD4* genes and their association with milk production and mastitis resistance phenotypic traits in chinese holstein[J]. *Front Vet Sci*, 2022, 9: 1008497.
- [27] He Y H, Chu Q, Ma P P, *et al.* Association of bovine *CD4* and *STAT5b* single nucleotide polymorphisms with somatic cell scores and milk production traits in chinese holsteins[J]. *J Dairy Res*, 2011, 78(2): 242-249.
- [28] Wilson C B, Rowell E, Sekimata M. Epigenetic control of T-helper-cell differentiation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(2): 91-105.
- [29] Hayden M S, Ghosh S. Shared principles in NF- κ B signaling [J]. *Cell*, 2008, 132(3): 344-362.
- [30] Ghosh S, Hayden M S. New regulators of NF- κ B in inflammation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(11): 837-848.

- [31] Boulanger D, Bureau F, Mélotte D, *et al.* Increased nuclear factor κ b activity in milk cells of mastitis-affected cows[J]. J Dairy Sci, 2003, 86(4): 1259-1267.
- [32] 陈仁金. 中国荷斯坦牛乳房炎相关基因遗传效应、IL8 和 CXCR1 基因聚合效应及表达规律的研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2013.
- [33] Chen R J, Wang Z Z, Yang Z P, *et al.* Association of IL8 -105G/a with mastitis somatic cell score in chinese holstein dairy cows[J]. Anim Biotechnol, 2015, 26(2): 143-147.
- [34] 冀德君, 陈仁金, 杨章平, 等. 中国荷斯坦奶牛 IL-8 基因 SNP-180A/G 显著影响体细胞评分 [J]. 中国农业科学, 2012, 45(7): 1387-1391.
- [35] 陈仁金, 杨章平, 毛永江, 等. 中国荷斯坦牛 CXCR1 基因遗传多态性与体细胞评分的关联分析 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(18): 3848-3856.
- [36] 毛永江, 陈仁金, 陈莹, 等. 利用多因子降维法研究 CXCR1 和 IL-8 基因交互作用与中国荷斯坦牛乳房炎的关系 [J]. 中国农业科学, 2011, 44(9): 1908-1915.
- [37] Gilbert F B, Cunha P, Jensen K, *et al.* Differential response of bovine mammary epithelial cells to staphylococcus aureus or escherichia coli agonists of the innate immune system[J]. Vet Res, 2013, 44(1): 40.
- [38] Konieczny P, Xing Y, Sidhu I, *et al.* Interleukin-17 governs hypoxic adaptation of injured epithelium[J]. Science, 2022, 377(6602): eabg9302.
- [39] Usman T, Wang Y C, Liu C, *et al.* Novel SNPs in IL-17F and IL-17A genes associated with somatic cell count in chinese holstein and inner-mongolia sanhe cattle[J]. J Anim Sci Biotechnol, 2017, 8(1): 5.
- [40] Ghulam Mohyuddin S, Liang Y, Ni W, *et al.* Polymorphisms of the IL-17A gene influence milk production traits and somatic cell score in chinese holstein cows[J]. Bioengineering, 2022, 9(9): 448.
- [41] Kyoreva M, Li Y, Hoosenally M, *et al.* CYP1A1 enzymatic activity influences skin inflammation via regulation of the AHR pathway[J]. J Invest Dermatol, 2021, 141(6): 1553-1563.e3.
- [42] Zhang W Y, Wang H, Qi S P, *et al.* CYP1A1 relieves lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in bovine mammary epithelial cells[J]. Mediators Inflamm, 2018, 2018: 1-10.
- [43] Liu L, Wang B G, Yang W, *et al.* Sirtuin 3 relieves inflammatory responses elicited by lipopolysaccharide via the PGC1 α -NF κ B pathway in bovine mammary epithelial cells[J]. J Dairy Sci, 2023, 106(2): 1315-1329.
- [44] Yu H B, Fan J, Zhang Y L, *et al.* Syndecan-3 inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation of bovine mammary epithelial cells through the NF- κ B signal transduction pathway [J]. J Dairy Sci, 2024, 107(12): 11563-11575.
- [45] 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.
- [46] Bodnar B, DeGruttola A, Zhu Y J, *et al.* Emerging role of NIK/IKK2-binding protein (NIBP)/trafficking protein particle complex 9 (TRAPPC9) in nervous system diseases[J]. Transl Res, 2020, 224: 55-70.
- [47] Chen L, Han Y J, Chen Y, *et al.* Eight SNVs in NF- κ B pathway genes and their different performances between subclinical mastitis and mixed chinese holstein cows[J]. Gene, 2015, 555(2): 242-249.
- [48] Chen L, Tian R F, Zhang H L, *et al.* Anti-mastitis SNV identification of in chinese holstein cows and the possible anti-inflammation role of NF κ B/p105 in bovine MECs[J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2020, 52(11): 1191-1201.
- [49] Bhattarai D, Worku T, Dad R, *et al.* Mechanism of pattern recognition receptors (PRRs) and host pathogen interplay in bovine mastitis[J]. Microb Pathog, 2018, 120: 64-70.
- [50] Ogorevc J, Kunej T, Razpet A, *et al.* Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis[J]. Anim Genet, 2009, 40(6): 832-851.
- [51] Texereau J, Chiche J D, Taylor W, *et al.* The importance of toll-like receptor 2 polymorphisms in severe infections[J]. Clin Infect Dis, 2005, 41(Supplement_7): S408-S415.
- [52] Zhang L P, Gan Q F, Ma T H, *et al.* Toll-like receptor 2 gene polymorphism and its relationship with SCS in dairy cattle[J]. Anim Biotechnol, 2009, 20(3): 87-95.
- [53] Yang F, Yuan L, Xiang M H, *et al.* A novel TLR4-SYK interaction axis plays an essential role in the innate immunity response in bovine mammary epithelial cells[J]. Biomedicines, 2022, 11(1): 97.
- [54] Mesquita A Q D, Rezende C S M E, Mesquita A J D, *et al.* Association of TLR4 polymorphisms with subclinical mastitis in brazilian holsteins[J]. Braz J Microbiol, 2012, 43(2): 692-697.
- [55] Bhat R R, Bhat N N, Shabir A, *et al.* SNP analysis of TLR4 promoter and its transcriptional factor binding profile in relevance to bovine subclinical mastitis[J]. Biochem Genet, 2024, 62(5): 3605-3623.
- [56] 储明星, 李春苗, 石万海, 等. 荷斯坦母牛 TLR6 基因多态性及其与体细胞评分关系的研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2009, 40(11): 1621-1629.
- [57] 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: 9321.
- [58] Zweigner J, Schumann R R, Weber J R. The role of lipopolysaccharide-binding protein in modulating the innate immune response[J]. Microbes Infect, 2006, 8(3): 946-952.
- [59] Cheng J N, Li J, Zhang W X, *et al.* Mutations in lipopolysaccharide-binding protein (LBP) gene change the susceptibility to clinical mastitis in chinese holstein[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(10): 9601-9612.
- [60] Védrine M, Gilbert F B, Maman S, *et al.* Soluble CD14 produced by bovine mammary epithelial cells modulates their response to full length LPS[J]. Vet Res, 2024, 55: 76.
- [61] Kiku Y, Ozawa T, Kushibiki S, *et al.* Decrease in bovine CD14 positive cells in colostrum is associated with the incidence of

- mastitis after calving[J]. *Vet Res Commun*, 2010, 34(2): 197-203.
- [62] Li J, Wang Q, Chen F H, *et al.* SNPs of CD14 change the mastitis morbidity of chinese holstein[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(6): 9102-9110.
- [63] Selvan A S, Gupta I D, Verma A, *et al.* Molecular characterization and combined genotype association study of bovine cluster of differentiation 14 gene with clinical mastitis in cross-bred dairy cattle[J]. *Vet World*, 2016, 9(7): 680-684.
- [64] Sun Y, Li L, Li C M, *et al.* Gene microarray integrated with iTRAQ-based proteomics for the discovery of NLRP3 in LPS-induced inflammatory response of bovine mammary epithelial cells[J]. *J Dairy Res*, 2019, 86(4): 416-424.
- [65] Li C M, Wang X L, Kuang M Q, *et al.* UFL1 modulates NLRP3 inflammasome activation and protects against pyroptosis in LPS-stimulated bovine mammary epithelial cells[J]. *Mol Immunol*, 2019, 112: 1-9.
- [66] Wei L J, Tan X, Fan G J, *et al.* Role of the NOD1/NF- κ B pathway on bovine neutrophil responses to crude lipopolysaccharide[J]. *Vet J*, 2016, 214: 24-31.
- [67] Lawless N, Vegh P, O'Farrelly C, *et al.* The role of microRNAs in bovine infection and immunity[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 611.
- [68] Luoreng Z M, Wang X P, Mei C G, *et al.* Comparison of microRNA profiles between bovine mammary glands infected with staphylococcus aureus and escherichia coli[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(1): 87-99.
- [69] Fang L Z, Hou Y L, An J, *et al.* Genome-wide transcriptional and post-transcriptional regulation of innate immune and defense responses of bovine mammary gland to staphylococcus aureus[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2016, 6: 193.
- [70] Yang J, Hu Q C, Wang J P, *et al.* RNA-seq reveals the role of miR-29c in regulating inflammation and oxidative stress of bovine mammary epithelial cells[J]. *Front Vet Sci*, 2022, 9: 865415.
- [71] Wang X P, Luoreng Z M, Zan L S, *et al.* Bovine miR-146a regulates inflammatory cytokines of bovine mammary epithelial cells via targeting the *TRAF6* gene[J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100(9): 7648-7658.
- [72] Li Y H, Hu Q C, Luoreng Z M, *et al.* Differential mRNA expression profiling reveals the role of MiR-375 in inflammation of bovine mammary epithelial cells[J]. *Animals*, 2022, 12(11): 1431.
- [73] Li Y X, Jiao P, Wang X P, *et al.* RNA-seq reveals the role of miR-223 in alleviating inflammation of bovine mammary epithelial cells[J]. *Res Vet Sci*, 2023, 159: 257-266.
- [74] Han S, Li X L, Liu J, *et al.* Bta-miR-223 targeting CBLB contributes to resistance to staphylococcus aureus mastitis through the PI3K/AKT/NF- κ B pathway[J]. *Front Vet Sci*, 2020, 7: 529.
- [75] Jiao P, Wang J P, Yang J, *et al.* Bta-miR-223 targeting the *RHOB* gene in dairy cows attenuates LPS-induced inflammatory responses in mammary epithelial cells[J]. *Cells*, 2022, 11(19): 3144.
- [76] Li L M, Huang J M, Zhang X J, *et al.* One SNP in the 3'-UTR of HMGB1 gene affects the binding of target bta-miR-223 and is involved in mastitis in dairy cattle[J]. *Immunogenetics*, 2012, 64(11): 817-824.
- [77] Liu X Q, Mi S Y, Dari G, *et al.* Functional validation to explore the protective role of miR-223 in staphylococcus aureus-induced bovine mastitis[J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2025, 16: 34.
- [78] Chen L, Liu X L, Li Z X, *et al.* Expression differences of miRNAs and genes on NF- κ B pathway between the healthy and the mastitis chinese holstein cows[J]. *Gene*, 2014, 545(1): 117-125.
- [79] Luoreng Z M, Wei D W, Wang X P. MiR-125b regulates inflammation in bovine mammary epithelial cells by targeting the *NKIRAS2* gene[J]. *Vet Res*, 2021, 52(1): 122.
- [80] Wang J P, Hu Q C, Yang J, *et al.* Differential expression profiles of lncRNA following LPS-induced inflammation in bovine mammary epithelial cells[J]. *Front Vet Sci*, 2021, 8: 758488.
- [81] Ma M R, Pei Y F, Wang X X, *et al.* lncRNA XIST mediates bovine mammary epithelial cell inflammatory response via NF- κ B/NLRP3 inflammasome pathway[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(1): e12525.
- [82] Wang H, Wang X X, Li X R, *et al.* A novel long non-coding RNA regulates the immune response in MAC-T cells and contributes to bovine mastitis[J]. *FEBS J*, 2019, 286(9): 1780-1795.
- [83] Li X Z, Wang H, Zhang Y F, *et al.* Overexpression of lncRNA H19 changes basic characteristics and affects immune response of bovine mammary epithelial cells[J]. *PeerJ*, 2019, 7: e6715.
- [84] Wang X X, Wang H, Zhang R Q, *et al.* LRRC75A antisense lncRNA1 knockout attenuates inflammatory responses of bovine mammary epithelial cells[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(2): 251-263.
- [85] Lu J Y, Gu B B, Lu W, *et al.* lnc-ANRIL modulates the immune response associated with NF- κ B pathway in LPS-stimulated bovine mammary epithelial cells[J]. *Immun Inflamm Dis*, 2023, 11(12): e1125.
- [86] Feng F, Li Y X, Wang J P, *et al.* lncRNA CA12-AS1 targets miR-133a to promote LPS-induced inflammatory response in bovine mammary epithelial cells[J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 261: 129710.
- [87] Sun Y J, Zhao T Q, Ma Y Y, *et al.* Multiple roles of lncRNA-BMNCR on cell proliferation and apoptosis by targeting miR-145/CBFB axis in BMECs[J]. *Vet Q*, 2023, 43(1): 1-11.

Advances in Research on Genes Resistant to Bovine Mastitis

WU Jiahui, ZHOU Menghan, FENG Mo, QIAN Shiyu, XING Wenhui, LI Yuanyuan, ZHAO Chunjiang*

CST3 基因结构及功能研究进展

施巧婷¹, 张 彬¹, 吕晨晨¹, 祁兴山², 黄永震³, 王二耀^{1*}

(1. 河南省农业科学院畜牧兽医研究所, 河南省畜禽繁育与营养调控重点实验室, 河南郑州 450002;
2. 泌阳县夏南牛科技开发有限公司, 河南泌阳 463700; 3. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

摘 要: 随着分子生物学研究的不断发展, 越来越多机体的生物学特性都从分子水平找到了答案。胱抑素 C (Cystatin C, CysC) 蛋白是一种半胱氨酸蛋白酶抑制剂, 广泛存在于各种组织的有核细胞和体液中, 作为近年来发展起来的肾功能评估指标, 它不仅满足理想内源性肾小球滤过率标志物的要求, 还具备敏感性高、特异性强的突出优势。CST3 是 CysC 的编码基因, 其多态性在心脑血管疾病、神经系统疾病等领域的研究中长期备受关注, 同时在生殖系统和细胞免疫等方面也发挥重要的作用。本文综述了 CST3 基因及其蛋白质的分子结构和生物学功能研究进展, 系统梳理了 CST3 基因在人类疾病、畜禽繁殖中的功能研究进展, 旨在为该基因作为遗传标记在人类疾病诊疗及畜禽育种中的开发应用提供理论基础与实践依据。

关键词: CST3 基因; CysC; 结构特征; 生物学功能

中图分类号: S813

文献标识码: A

DOI 编号: 10.19556/j.0258-7033.20250208-04

由 CST3 基因编码的胱抑素 C (Cystatin C, CysC) 是一种半胱氨酸酶抑制剂, 1961 年在脑脊液中首次发现, CysC 参与细胞内蛋白水解的调节、保护细胞不被

收稿日期: 2025-02-08; 修回日期: 2025-04-18

资助项目: 国家肉牛牦牛产业技术体系专项 (CARS-37); 河南省农业科学院科技创新团队: 牛羊繁育与生产 (2026TD25); 河南省科技攻关 (252102110073); 河南省自然科学基金项目 (252300420687); 河南省肉牛产业技术体系项目 (HARS-22-13-S)

作者简介: 施巧婷 (1972-), 女, 壮族, 广西邕宁人, 博士, 研究员, 主要从事动物遗传育种与繁殖工作, E-mail: sqts@126.com

* 通信作者: 王二耀 (1971-), 男, 内蒙古呼和浩特人, 博士, 研究员, 主要从事动物遗传育种与繁殖工作, E-mail: wangeryao666@qq.com

其他蛋白酶水解, 是人体内一个重要的蛋白质。当机体 CysC 水平降低时, 半胱氨酸酶抑制功能下降, 组织蛋白酶活性相对增强, 进而对机体造成生理性损害, 使动脉趋于硬化, 促进炎症的发生, CysC 水平在心血管疾病诊断与预后中发挥了重要作用^[1]。相较于传统肾功能评估指标, CysC 具备更高的敏感度与特异性, 因此近年来已逐步发展成为新型内源性肾小球滤过率 (Glomerular Filtration Rate, GFR) 评估的核心指标^[2], 与急性肾损伤程度密切相关^[3]。CysC 在蛋白分解、抗原呈递、血管壁基质重构、细胞外基质降解及中性粒细胞的吞噬和趋化等生理过程发挥了重要调控作用。目前研究表明 CysC 与某些遗传性疾病有关, 但相关研究仍处于探索阶段, 尚不能够直接应用于临床检测实践, 需

(College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Bovine mastitis is a common and serious disease in the dairy cow industry, leading to reduced milk production, lower milk quality, and substantial economic losses. In recent years, genetic research on bovine mastitis has drawn increasing academic interests. This article details the pathogenesis of bovine mastitis and the progress in research on the disease resistance genes, including the key genes and their roles in the JAK-STAT, NF- κ B signaling pathway and pattern recognition receptors. It was also summarized that the important functions of Non-coding RNAs (miRNAs and lncRNAs) are involved in the regulation of inflammation. Based on the current status of this field, the prospects and future research directions and practical applications of breeding for resistance to bovine mastitis were narrated.

Keywords: Bovine; Mastitis; JAK-STAT; NF- κ B; ncRNAs

(责任编辑: 石丽丹)