

# 乳腺淋巴管在奶牛乳房炎中的组织特异性研究进展

在奶牛乳腺中存在大量的淋巴管循环系统,淋巴管主要负责体液的运输以及免疫防御等功能,乳腺炎的发生发展与淋巴管密切相关。近些年,随着人们对淋巴管的起源、重要功能的认识以及研究的逐渐深入,发现在不同组织器官及病理状态下的淋巴管发挥不同的作用与功能,并有许多新的功能及结构被发现,但其调控及其他相关机制并不清晰。本文就国内外的研究报道,对奶牛乳房炎中乳腺淋巴管的组织特异性、研究技术突破等展开综述。



□狄婷婷 全春兰

奶牛乳房炎主要以乳腺组织炎症反应为特征,多以病原体的侵袭、物理或化学等刺激后诱发。到目前为止,约200种病原微生物与奶牛乳房炎的发生发展有关,主要包括真菌、病毒和细菌等,且新的病原体不断被发现。细菌是导致奶牛乳房炎的主要病原体,其中金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、链球菌为主要流行菌株,在不同地区病原体的流行情况也并不相同。奶牛乳房炎根据其发病症状可分为临床型乳房炎和亚临床型乳房炎。临床型乳房炎多为乳房红肿,且乳样有凝块或似水样稠度,患病奶牛食欲不佳,并且伴随发热。而亚临床型乳房炎症状并不明显,但与临床型乳房炎类似,都会导致奶量减少。乳腺是奶牛高度分化的泌乳器官,其解剖结构由腺泡、导管系统及间质组成,间质中包含了大量的血管以及淋巴管。乳头管是外界病原体侵袭奶牛的主要通道,其解剖结构的特殊性决定了奶牛患乳房炎的易感性。乳腺间质提供微环境,其中包含大量的免疫细胞和淋巴管,炎症反应的细胞募集多通过淋巴管完成。

淋巴系统是循环系统的重要组成部分,主要负责吸收多余的体液、维持内环境的稳定,同时在肠道营养物质的吸收以及调节体内免疫反应等方面也发挥着重要的作用。在机体内,淋巴管几乎遍布全身,随着淋巴管的来源之迷解开,淋巴管的异质性及组织特异性一直以来备受关注。在不同组织器官及病理状态下的淋巴管发挥

不同的作用与功能,并有许多新的功能及结构被发现。在小肠、脑膜和淋巴管中的淋巴管具有不同的形态结构(包括纽扣样及拉锁样淋巴管)以及分子特征,发挥着特殊的功能。除此之外,淋巴管还被发现可能在炎症性肠病、心血管疾病、眼科疾病和神经系统性疾病以及调节干细胞活性及生理功能中发挥着重要的作用。因此,在乳房炎患牛乳腺中的淋巴管是否具有新的生物学功能,在炎症反应的调控机制以及靶向治疗的策略上还有待进一步探索。

## 乳腺淋巴管的组织特异性基础

### 1. 发育的独特性

在胚胎早期发育的过程中乳腺淋巴管由静脉出芽分化而来,在淋巴管的出芽及发育过程中受PROX1(淋巴管发育关键转录因子)和SOX18(调控淋巴管内皮细胞分化)等基因调控,其分化时间略晚于血管,形成独立于血管的网格系统。在分化的过程中,乳腺淋巴管内皮细胞高表达LYVE1(淋巴管内皮透明质酸受体1)、PDPN(平足蛋白)以及VEGF-C(血管内皮生长因子C)等基因,且区别于血管内皮细胞。在奶牛正常的泌乳周期(包括妊娠期、泌乳期及退化期),乳腺中的淋巴管都扮演着重要的角色并发挥作用。在妊娠期,孕激素的作用下诱导乳腺淋巴管高表达VEGF-C,促进淋巴管增生,以腺泡为中心形成网状结构,相比于非妊娠期,淋巴管在乳腺的覆盖率从最初的25%可增加至80%。在泌乳期,随着奶牛乳汁在乳腺中的充

盈,淋巴管也受到了外界的压力。淋巴管内皮细胞在这个时期高表达AQP3(负责水和小分子跨膜转运)即水通道蛋白,从而增加淋巴管的重吸收等功能。同时在这个时期,乳腺中的淋巴管相比于其他器官的淋巴管的通透性也会增加,这样能够保证在泌乳的过程中允许大分子快速通过。泌乳期后进入退化期,乳腺中的淋巴管会经历程序性的萎缩,在此期间,淋巴管内皮细胞会在MMP-9(基质金属蛋白酶9)的介导下进行收缩,总体面积减少,且对体液的重吸收能力也会随之降低。同时,也为下一个妊娠周期作准备。

### 2. 乳腺淋巴管的解剖学特异性

乳腺淋巴管主要包括三种结构的淋巴管,且各自有独特的形态与功能,包括腺泡周围淋巴管、导管周围淋巴管以及小叶间集合淋巴管。腺泡周围淋巴管为直径5—15微米的特殊盲端结构,位置在腺泡的基底膜,淋巴管内皮细胞呈多孔的“筛状”结构,在泌乳期通透性增加的同时允许乳汁中的大分子通过。乳腺导管周围淋巴管是围绕输乳管形成的一种环状网络结构,为防止乳汁逆流,乳腺导管周围淋巴管具有类似于心脏的瓣膜结构,该区域的淋巴管瓣膜特异性表达COUP-TFII基因(调控淋巴管瓣膜发育、维持瓣膜结构,是淋巴管瓣膜的标志性基因)。此外还包括小叶间集合淋巴管结构,该淋巴管管壁含有平滑肌,受催产素的调控而进行收缩等活动。与其他组织器官的淋巴管不同,乳腺淋巴管基底膜特异性高表达Nidogen-2基因(乳腺淋巴管基底膜特有蛋白,维持基底膜结构,参与淋巴管收缩、组织液快速交换),该基因在维持血管及淋巴管平滑肌细胞收缩中扮演重要的角色。且该基因是乳腺淋巴管基底膜特有的成分,能够支持体液的快速交换。乳腺淋巴管密集分布于腺泡和导管周围,在高代谢需求下维持着组织液平衡。

### 乳房炎中乳腺淋巴管的特异性响应

乳腺在胚胎早期过程中由外胚层上皮组织分化而来,其主要功能是为后代分泌乳汁,提供后代早期发育所需的营养物质。特别是初乳富含免疫球蛋白及乳铁蛋白等,除了可为刚出生的犊牛提供营养物质外,还具有增强免疫力、促进发育以及改善肠道菌群等功

能。由于乳腺作为体内器官在结构上与外界相连的特殊性,很容易被外界的各种病原微生物侵袭,尤其是细菌、病毒等。在奶牛的哺乳期是患乳房炎的高发时期,在该时期很容易被病原菌感染患病。一般情况下,奶牛的皮肤、黏膜以及外分泌腺可在先天免疫以及适应性免疫的保护下免受病原菌的侵袭,并提供保护。但若奶牛机体抵抗力不足,或平时饲养条件恶劣,当病原体通过乳头屏障进入乳池,便在奶牛乳腺中定植并快速繁殖,进而引发乳房炎。此外在哺乳期以及分娩前后,奶牛的抵抗力以及免疫力降低,在一定程度上也增加了患病的可能性。乳腺淋巴管除常规负责体液的稳态和循环等功能外,还参与免疫方面的功能。淋巴管可为B细胞(B淋巴细胞,负责产生抗体)以及T细胞(T淋巴细胞,负责细胞免疫、调控免疫应答)等免疫细胞提供迁移的路径。未成熟的T细胞通过胸腺成熟后进入到淋巴管中,再通过淋巴管分布到全身的淋巴管中;活化的B细胞可以通过淋巴管进入血液,并分泌抗体参与免疫反应;当树突状细胞在捕获病原体后,可经过淋巴管迁移至淋巴结,呈递抗原给T细胞,启动适应性免疫应答。当乳腺被病原体感染后,会有大量中性粒细胞通过淋巴管进入到腺泡中参与免疫反应。此外,乳腺淋巴管还参与炎症应答、病原体的清除等反应。通常情况下,在奶牛乳腺被病原体感染的初期,乳腺淋巴管在刺激后会急速扩张,并加速中性粒细胞的运输,移送中性粒细胞至病原体定殖的部位,吞噬病原体。中性粒细胞在乳腺内是参与免疫效应的主要细胞,在感染后,局部血管信号可与CD62L(L-选择素,免疫细胞表面黏附分子,负责免疫细胞归巢、迁移)相互作用,有助于将激活的免疫细胞通过淋巴管靶向运输到感染部位。此外,乳腺上皮的树突细胞在接收到信号后,会捕捉在乳腺中定殖的病原体,并通过淋巴管将其运输到乳腺淋巴结中。淋巴管以及淋巴结中多携带IL-1(白细胞介素-1,促炎因子)、TNF-α(肿瘤坏死因子-α,强效促炎因子)等炎性因子,可增强局部的炎症反应,在增强血管通透性的同时允许更多的其他免疫细胞渗出。淋巴结内的B细胞识别抗原后增殖分化为浆细胞,并产生针对病原体的特异性抗体,通过淋巴管归巢至乳腺中。此外,浆细胞在淋巴结中产生IgG(免疫球

蛋白G)、IgA(免疫球蛋白A)等抗体,这些抗体可通过淋巴管进入乳腺,中和侵袭到乳腺中的病原体。在很多报道中淋巴管在参与炎症反应的过程中,多高表达CCL21基因(趋化因子配体21,引导免疫细胞沿淋巴管迁移)。在清除炎症产物与凋亡的细胞方面,淋巴管回收乳腺中的细菌或病毒残骸、凋亡的中性粒细胞以及炎症渗出液,防止组织损伤并扩大。在奶牛慢性乳房炎中,淋巴管可通过VEGF-C(血管内皮生长因子C,诱导淋巴管新生)/VEGFR-3(血管内皮生长因子受体3,VEGF-C的受体)信号通路激活新生,并持续促进免疫细胞的募集,但也会加剧组织器官的纤维化。在泌乳期,乳腺淋巴管会分泌TGF-β(转化生长因子-β),抑制T细胞活化,防止过度炎症从而损伤乳腺的功能。由此可见,淋巴管在奶牛乳房炎中不仅是免疫细胞的运输通道,还是先天与适应性免疫平衡的重要枢纽。

### 乳腺淋巴管组织特异性研究的技术突破

近些年,随着新技术的开发与应用,如空间转录组及蛋白组学、活体成像技术以及类器官芯片技术等,能更好地阐述并揭示乳腺淋巴管的区域异质性及组织特异性。尤其是空间转录组测序技术,作为一种新兴的分子生物学测序手段,能够在保留组织空间位置信息的前提下,原位解析基因表达在组织结构中的三维关系。在奶牛乳房炎的研究中,该技术对淋巴管组织特异性的应用可突破传统单细胞测序所丢失空间位置的局限,揭示淋巴管在乳腺不同区域的功能异质性及其免疫微环境的互作机制,能够更好地原位阐述乳腺中淋巴管的组织特异性以及绘制差异表达的基因图谱。同时也能更直观地观察到病原体在乳腺中的定殖及其受体的位置,从而可通过敲除受体或使用受体的抑制剂进行治疗。空间转录组测序技术发现奶牛乳腺不同区域淋巴管中的内皮细胞的基因表达存在明显的差异,乳头区高表达抗菌相关基因,深部区高表达脂代谢等相关基因。

除此之外,随着类器官技术的兴起,乳腺类器官、淋巴管类器官等也相继被报道。为更好地模拟及阐述奶牛乳房炎中淋巴管的功能以及组织特异性,利用奶牛乳腺淋巴管内皮细胞与成纤维细胞在基质胶中共培养构建的类

器官,能够成功模拟炎症下的屏障功能损伤模型和分子应答反应。通过LC/MS质谱(液相色谱-质谱联用技术)分析,能够精准判断其信号通路的改变和激活,更好地从信号通路入手研究淋巴管在奶牛乳房炎发展过程中的功能与作用。

### 临床转化与治疗的启示

在靶向组织特异性的治疗策略方面,可通过乳头导管注射VEGF-C缓释制剂,选择性激活乳腺淋巴管再生,让淋巴管通过微环境来减轻乳腺肿胀等症状,同时也加速回流消肿。

乳腺淋巴管在奶牛乳房炎炎症反应中有着重要的功能,可以通过抑制乳腺淋巴管介导的特异性炎症反应进行治疗。与此同时,乳房炎患牛血清中携带的特有蛋白如PDPN、Prox1、Lyve1(淋巴管的三个“身份证”)等可作为奶牛乳房炎的早期诊断标志物。

### 未来的挑战

在模式动物跨物种比较方面,由于奶牛的体型较为庞大,很难在实验室中进行动物试验,而传统模式动物小鼠的乳腺淋巴管中缺乏淋巴池淋巴管,与奶牛乳腺存在差异,需要建立更贴近奶牛的转基因模型。比如,利用Crispr-Cas9基因编辑技术(目前最常用的基因编辑技术)敲入奶牛的相关乳腺淋巴管生长发育的基因构建小鼠模式动物等。近些年来人们对淋巴管的研究不断深入,但淋巴管在组织特异性及异质性研究方面还处于起步阶段,其调控淋巴管的机制尚不清晰,还有待后续更为深入的研究。

### 结语

乳腺淋巴管的组织特异性及其异质性的特点使其在奶牛乳房炎中扮演“双刃剑”的角色,既可以快速启动免疫防御通道进行免疫反应,也可能加速扩散炎症至全身。未来的研究中需要整合各类技术如单细胞多组学测序技术、活体动态监测技术与类器官芯片技术等,解析淋巴管在奶牛乳房炎中独特的组织特异性调控机制,推动精准治疗策略,最大限度地挽救奶牛乳房炎导致的经济损失,提高乳制品的品质及生产效率,保障我国乃至全球的公共卫生安全。

(作者单位:天津嘉立荷牧业集团有限公司)

# 围产期奶牛脂肪肝的防治

□刘国信

奶牛肝脏内脂肪代谢过程受阻,使脂肪在肝脏中蓄积,并超过肝脏中正常含量的5%时,即称为脂肪肝。由于此病常发生于围产期的奶牛,所以又叫围产期奶牛脂肪肝。患病后的奶牛,不仅肝脏的正常功能受到影响,胆汁分泌障碍,影响消化功能,而且常伴发其他围产期疾病,如胎衣不下、生产瘫痪和子宫内膜炎等;此外,患牛的繁殖力和免疫力也会受到不同程度的影响。

### 症状与病变

大多数病牛开始时表现为中度食欲减退和产奶量下降。病牛通常是先拒食精料,随后拒食青绿料,但还能继续采食干草,并可能表现出异食癖,体重迅速减轻。由于明显消瘦和皮下脂肪消失而出现皮肤弹性减弱。粪便干而硬,严重的出现稀便。病牛精神中度沉郁,不愿走动和采食,有时有轻度腹痛症状。体温、脉搏和呼吸正常,瘤胃运动稍有减弱;病程长时,瘤胃运动可消失。重度脂肪肝病牛如得不到及时正确的治疗和护理,可能死于过度衰弱,或死于伴发的其他疾病;轻度和中度脂肪肝的患牛,约经1个半月的时间可能自愈,但产奶量不能完全恢复,免疫力和繁殖力均受到影响,容易因伴发其他疾病而留下后遗症。脂肪肝患牛某些血液生化指标也

会发生相应的变化。如血糖含量下降,游离脂肪酸浓度上升,天门冬氨酸氨基转移酶(AST)上升,血中胆红素的含量也有所升高,血镁含量比正常牛低,这可能是脂肪分解使血液游离脂肪酸含量过高的结果。

本病的病死率约为25%,死亡奶牛的肝脏明显增大,增大的程度因肝脏内脂肪浸润的程度而异。肝脏颜色呈暗黄色,边缘变钝,切口外翻,小叶形状明显,质地变脆,触之易碎。其他内脏外附有脂肪,子宫壁上有脂肪沉积,有时可见皱胃移位。

### 诊断

奶牛患脂肪肝后,临床症状通常不明显,单纯依据临床症状很难作出确诊。诊断时首先应了解病史,特别是参考母牛产犊时间、饲料组成、营养水平、泌乳量及产前的体况变化,这些将为确切诊断提供有价值的参考。目前,比较准确可靠的诊断方法有肝组织活检和血液生化成分分析法等。

在诊断脂肪肝时,应和酮病加以区别。研究表明,牛患酮病时常伴发肝功能不全。有人认为酮病和脂肪肝都发生于低血糖,而脂肪肝是酮病的继发现象。此外,牛创伤性胃网心包炎、慢性肾盂肾炎和慢性消化不良等病均可能与脂肪肝混淆。如果脂肪肝伴发子宫炎、乳房炎和皱胃移位,则诊断更加困难,但上述病例一般都有轻度体温升高,心率加快以



及原发疾病的某些局部症状。

### 防治方法

本病的治疗效果不佳,且费用较高,应以预防为主。平时要加强饲养管理,合理供给营养,及时治疗影响消化吸收的胃肠道疾病。对干奶期的奶牛应减少精料的饲喂量,以免产前过于肥胖;妊娠期要保证日粮中含有充足的钙、磷和碘,并在妊娠后期适当增加户外运动量;对产后牛要加强护理,改善日粮的适口性,逐渐增加精料,避免因产妇产后泌乳等所造成的能量负平衡,出现过度消瘦。

**葡萄糖注射疗法:**静脉注射50%葡萄糖溶液500毫升,每天1次,连注4天为一个疗程;也可腹腔内注射20%葡萄

糖溶液1000毫升。在应用葡萄糖的同时,肌肉注射他米松20毫克;随饲料口服丙二醇或甘油250毫升,每天2次,连服2天;随后将口服丙二醇或甘油每天改为110毫升,再服3天,效果较好。

**口服烟酸、胆碱:**烟酸具有降低血浆中游离脂肪酸、酮体含量和抗脂肪分解的作用;胆碱和脂肪代谢密切相关,缺乏胆碱,可使体内脂肪代谢紊乱,并形成脂肪肝。

**其他疗法:**可采用肾上腺皮质激素和胰岛素,同时配合应用高糖和2%—5%碳酸氢钠注射液进行治疗。此外,水合氯醛能增加瘤胃中淀粉的分解,促进葡萄糖的生成和吸收。因此,可考虑投给水合氯醛,开始口服30克,随后减为7克,每天2次,连服数日即可。



## 提高春季奶牛产奶量的措施

### 1. 日粮营养要充分

除饲喂足量青草、青贮饲料和适量干草外,应适当提高日粮营养成分。在正常泌乳量的基础上,每多产3千克奶,应增喂1—1.5千克混合精料,以保证奶牛营养的需要。无足够的青饲料时,每天须饲喂切碎的胡萝卜、马铃薯或新鲜大白菜等3—5千克。

### 2. 饲料比例要合理

为了满足奶牛的营养需要,日粮结构中精料所占比例不宜超过60%,日粮粗纤维不宜低于13%。一般饲料玉米、豆粕、麦麸比例为4:4:2;对于膘情良好的奶牛应增加豆粕比例(因豆粕是油脂饲料,可以催奶);对于较瘦小的奶牛则增加玉米、麦麸比例,使之增膘(膘情转好后可多产奶)。

### 3. 供给足量温水

早春如果给奶牛饮冷水,会使奶牛消耗大量的体热,降低产奶量;饮水不足,还会导致某些疾病的发生。应注意供给足量的

16℃左右的温水,一般可将刚从井中抽出的水,每桶兑入半暖瓶开水,供牛自由饮用。

### 4. 保持适宜温度

奶牛产奶临界温度在20℃左右,除采用暖棚养牛外,早春要达到这个温度很困难,但舍温最低应保持在10℃左右,特别要防范倒春寒对奶牛的影响。

### 5. 坚持日晒运动

在晴朗天气,每天至少让奶牛运动2小时,让它们多晒太阳,以加强血液循环,有助于消化,提高产奶量。

### 6. 认真刷拭牛体

刷拭牛体不但可使牛体卫生,减少寄生虫的危害,还可以促进血液循环,能提高产奶量。

### 7. 保持圈舍卫生

圈舍干燥利于保温,应勤换垫草。及时清除粪便,并定期在舍内撒些石灰粉或草木灰,这样既能降低舍内湿度,又能消毒防病,有利于提高产奶量。

(甘孜藏族自治州农牧农村局)