



乳腺重构的过程及其调节因素*

伍超群 刘建新 石恒波**

(浙江大学动物科学学院, 奶业科学研究所, 杭州 310058)

摘要 受到妊娠周期的影响, 乳腺组织在雌性哺乳动物一生中经历着妊娠-哺乳-退化的周期性发育变化. 在乳腺退化到再次泌乳的过程中, 乳腺细胞经历凋亡和更新, 从而实现乳腺组织的自我更新和修复, 即乳腺重构. 重构期间乳腺在组织结构和生理过程中发生显著变化, 但该过程物种间差异较大. 乳用家畜为维持泌乳, 妊娠期和干奶期重叠, 展示出独特的再生性乳腺重构. 再生性乳腺重构对乳畜乳腺健康和下一周期的泌乳具有重要意义, 研究此过程将为后续调控乳腺自我更新和改善乳腺健康提供思路. 本综述总结了近年来动物乳腺重构的研究进展, 系统归纳了影响乳腺重构的因素, 包括激素、蛋白酶、细胞因子、热应激、氧化应激、光照周期等, 旨在解析乳腺重构的生理机制, 为精准调控该过程提供科学依据.

关键词 乳腺重构, 健康, 细胞更新, 氧化应激

中图分类号 S82, Q95

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0008

雌性哺乳动物乳腺随着妊娠和泌乳的过程经历着妊娠-哺乳-退化的周期性发育变化. 雌性动物停止哺乳后, 乳汁淤积, 乳腺进入退化期, 其上皮细胞 (mammary epithelial cells, MEC) 发生凋亡, 腺泡逐渐萎缩, 前体脂肪细胞分化为成熟的脂肪细胞, 充斥乳腺组织, 最终乳腺退化至妊娠前状态^[1]. 在雌性动物周期性的妊娠-分娩-泌乳-干奶过程中, 乳腺随之产生的周期性退化-再生过程称为乳腺重构.

泌乳生物学理论认为, MEC 衰老是导致泌乳能力下降的重要原因之一. 干奶期乳腺重构过程中, MEC 大量更新, 衰老细胞被新生细胞取代, 乳腺得以在下一泌乳周期中维持良好的泌乳能力. 干奶期乳腺重构对动物的泌乳有着重要影响. 有研究表明, 缩短奶牛干奶期, 下一周期产奶量显著降低; 与老年母牛相较, 缩短干奶期的青年母牛产奶量的降低程度更大^[2]. 目前乳腺发育的研究主要集中在模式动物——啮齿类动物上, 但尚无系统阐述乳腺重构的相关文献, 尤其是乳用家畜的相关资料十分匮乏. 本文旨在系统比较、阐述啮齿类动物和奶畜乳腺重构过程及其影响因素, 为深入研究乳腺重构和发育提供理论参考.

1 乳腺重构的动物差异

哺乳动物乳腺发育和重构的过程具有种间差异. 江楠楠等^[3]在近期的论文中详细地介绍了模式动物和家畜在乳腺发育过程中的不同之处. 啮齿类动物乳腺重构中的退化过程分为两个阶段: a. 停止泌乳后, 促凋亡因子表达上调, MEC 开始凋亡并脱落到腔体中, 如果恢复哺乳, 乳腺能恢复到泌乳状态, 此为可逆阶段; b. 继续退化, 巨噬细胞与蛋白酶相互作用, 乳腺发生广泛的细胞凋亡与组织重塑, 恢复至妊娠前状态^[4], 此时乳腺进入不可逆阶段^[5]. 再次妊娠后, MEC 增殖分化, 腺泡重新充盈乳腺. 在结构方面, 小鼠断奶后 2 d 内, 淤积乳汁的刺激引起溶酶体膜通透化, 溶酶体内容物如组织蛋白酶增加并进入胞浆, 导致细胞凋亡, 此阶段巨噬细胞数量有效增加, 吞噬 MEC, 并在溶酶体中将其降解. 若在此期间恢复哺乳, 乳腺组织可恢复泌乳功能. 断奶后 36~72 h, 乳腺退化进入

* 国家重点研发计划(2018YFE0111700)和中央高校基本科研业务费专项资金(2020QNA6029)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 0571-88981341, E-mail: shihengbo@zju.edu.cn

收稿日期: 2021-01-12, 接受日期: 2021-04-14

不可逆阶段, 在线粒体介导的内在凋亡途径作用下, 通过不同蛋白酶和巨噬细胞的作用, MEC 发生广泛凋亡, 乳腺组织重塑, 乳腺恢复至未妊娠状态^[6]. 啮齿类动物乳腺退化的特征是乳汁成分合成减少、导管大小和数量显著减少、含有蛋白球和脂质的细胞质空泡出现以及囊泡增加. 啮齿类动物这种停止泌乳后乳腺退化到未妊娠状态的过程, 被称为完全退化.

与啮齿类动物相比, 乳用反刍动物的乳腺重构过程较为独特. 现代化的牧场经营活动中, 为了保持连续的泌乳, 奶畜的退化期和妊娠后期重叠, 乳腺重构表现出复杂的生理现象. 当停止挤奶, 乳汁淤积发生时, 乳腺进入退化期, 但妊娠造成的乳腺增殖和腺泡更新同时存在, 对退化过程中的细胞凋亡有一定的抑制作用, 这一时期的乳腺发育称为再生性乳腺重构, 亦称为再生性退化^[7]. 在组织结构方面, 再生性乳腺重构表现为: 乳腺腺泡结构仍然保持基本完整, 不会出现大量腺泡的塌陷消亡^[8], 乳腺上皮所占比例变化程度较小, 乳腺细胞损失的数量较少; 腺泡结构呈现异质性, 但基底膜保持完整, MEC 亦并未从基底膜脱落^[9]. Sorensen 等^[10]发现, 干奶前期奶牛乳腺细胞凋亡率升高, 而后至干奶后期, 细胞增殖率升高. 在生理方面, 奶畜停止挤奶后, 影响细胞凋亡和乳腺细胞存活的因子如激素、蛋白酶、细胞因子等迅速变化, 促进细胞外基质交流的基因表达减少, 部分 MEC 程序性死亡, 同时部分细胞增殖分化以完成乳腺的自我更新和修复 (图 1).

2 奶畜再生性乳腺重构

2.1 奶畜再生性乳腺重构的过程

从乳腺细胞分泌活动看, 干奶期乳腺重构经历主动复原、稳定休整、细胞生长分化三个生理阶段^[11-12], 即乳腺分泌细胞程序性死亡, 经休整后原始细胞增殖分化形成新的分泌细胞. 主动复原阶段在最后一次排乳后立即开始, 这一阶段与自然状态下结束哺乳后的乳腺组织重塑过程相对应, 表现为乳成分合成减少、乳腺腺体退化. 奶牛乳腺的主动复原阶段持续时间约为三周, 期间 MEC 凋亡率从泌乳后期的 2.4% 上升到 4.8%^[13], 间质面积增加, 实质面积减少^[14], 随后乳腺停止分泌, 处于休眠状态. 细胞生长分化阶段则为下一次哺乳的准备期, 在此期间乳腺再发育并开始形成初乳.

乳腺重构期间免疫细胞大量募集以清除酪蛋白

胶束、脂滴和细胞碎片^[8]. 干奶后 3 d 内, 牛奶中白细胞总数迅速增加, 并保持较高水平直至产犊^[12]. 干奶早期, 中性粒细胞作为主要的白细胞参与乳腺重构, 随着重构进行, 巨噬细胞取代中性粒细胞成为主要的免疫细胞类型. 乳腺重构过程中 MEC 形态发生改变. 停止泌乳 2 d 后, MEC 胞浆内形成大空泡占据细胞大部分空间, 这些空泡通常含有絮状物质或染色较深的酪蛋白胶束, 一些空泡含有脂肪和蛋白质, 表明部分空泡是脂滴和分泌囊泡融合而来. 细胞质被压缩, 在空泡周围呈薄层分布, 大量线粒体和其他细胞器聚集在细胞核周围, 退化 2~3 周后, 空泡逐渐消失^[15]. 泌乳停止 2 d, 奶牛 MEC 粗面内质网和高尔基体结构保持完整, 但线粒体数量减少. 随退化进一步发展, 细胞出现空泡, 且数量逐渐增加, 分泌囊泡、脂滴、细胞骨架结构亦发生变化^[16].

2.2 再生性乳腺重构的重要性

细胞衰老的自由基理论认为: MEC 代谢旺盛, 产生大量自由基, 随着泌乳进行, 细胞抗氧化系统无法清除积累的自由基导致细胞损伤衰老^[17], 是导致乳腺分泌能力下降的重要原因. 在干奶期, 乳腺细胞增殖和程序性死亡同时存在, 新生 MEC 取代衰老细胞, MEC 进行着周转更新^[18]. Capuco 等^[11]利用经产奶牛乳腺研究发现, 持续泌乳奶牛和干奶期奶牛的乳房实质总 DNA 在产前 53 d 至产前 7 d 均增加了 1 倍, 但是干奶期奶牛的乳腺组织 DNA 合成率比持续泌乳奶牛要高 80%, 这表明干奶期奶牛乳腺组织的周转更替更为显著. 很显然, 经历干奶期乳腺重构的奶牛下一周期泌乳性能会更加优良.

3 影响乳腺重构的因素

3.1 激素

雌激素是乳腺重构和功能调节的重要驱动因子. 在参与泌乳调控的众多激素中, 雌二醇和孕酮在乳腺发育及泌乳功能中起着重要作用, 降低血液中雌二醇和孕酮浓度可以减缓乳房退化过程^[19]. 体外添加外源性雌二醇可增加凋亡前期 MEC 的凋亡率^[20]. 孕酮与其受体结合, 通过 Wnt-4、转化生长因子 β (TGF- β)、Wnt-5b 和胰岛素样生长因子结合蛋白 5 (IGFBP5) 等细胞因子抑制妊娠后期的乳汁分泌^[21-23]. 雌二醇会引起产奶量迅速下降, 并加速乳腺退化过程^[24]. 此外, 干奶期妊娠奶牛的胎儿-胎盘单位分泌的内源性雌激素可能在一定程

度上介导哺乳期发生的逐渐退化. Athie 等^[25]研究表明, 对干奶期奶牛进行雌激素处理后, 纤溶酶原激活加速, 纤溶酶原/纤溶酶比值急剧下降, 纤溶酶原的激活可能是外源性雌激素加速乳腺组织退化速度的原因之一 (图 1). 另外, 牛生长激素 (bST) 可通过影响细胞周期来促进妊娠晚期奶牛的 MEC 增殖^[26]. 在大鼠中, 乳腺组织局部合成的促性腺激素释放激素 (GnRH) 是泌乳后乳腺退化所必需的, 停止哺乳后血浆催乳素水平下降, 乳腺组织中 GnRH 和膜联蛋白 A5 (ANXA5) 表达增强, MEC 凋亡加速^[27].

3.2 蛋白酶

多种蛋白酶参与调控乳腺重构过程. 纤溶酶原是乳腺发育过程中重要的蛋白酶, 纤溶酶原缺乏小鼠在泌乳能力和哺乳期后的乳腺退化方面表现出显著缺陷. 纤溶酶原可通过尿激酶型纤溶酶原激活物 (uPA)、组织型纤溶酶原激活物 (tPA) 和血浆激肽释放酶激活为纤溶酶. 在乳腺退化过程中, tPA 和 uPA 水平急剧增加, 刺激纤溶酶的激活^[28], 激活的纤溶酶降解 α -酪蛋白、 β -酪蛋白、 κ -酪蛋白和乳铁蛋白等, 从而导致乳腺退化过程中乳汁成分发生变化^[29].

乳腺组织中, MEC 和间质组织被细胞外基质分开, 细胞外基质参与维持乳腺分化状态和调节细胞凋亡. 在乳腺退化期间, 基质金属蛋白酶 (MMPs) 系统被激活, 诱导细胞外基质成分的蛋白质水解, 从而导致广泛的乳腺细胞凋亡和退化^[30] (图 1). 此外, MMPs 还具有释放生长因子和细胞因子的功能, 这些生长因子和细胞因子参与调节干奶期的其他生理过程, 如免疫系统的激活和细胞生长等^[31].

3.3 细胞因子和信号分子

参与乳腺重构的细胞因子和信号分子主要有 IGF 家族、瘦素、TGF- β 、信号转导及转录激活因子 (STAT) 等. IGF-IGFBP 系统参与了干奶期乳腺重构的调节, 在干奶期 IGF-I 上调, 这种上调与细胞更新率提高有关^[32]. 干奶期奶牛乳腺会合成分泌 IGFBP-3 和 IGFBP-5, 它们分别与 IGF-I 结合抑制其促增殖信号的传递, 从而调节乳腺细胞凋亡. 干奶期奶山羊 miR-99b 的表达量增加可抑制 IGF-1R 表达, 影响细胞增殖^[33]. 除促凋亡外, IGFBP-5 的表达还与刺激细胞增殖、活化和分化有关^[34] (图 1).

瘦素在乳腺导管发育、腺泡形成、乳腺退化过

程中扮演着多重角色^[35]. 瘦素可以诱导长型受体 (OB-Rb) 表达, 与 OB-Rb 一起作为旁分泌和自分泌因子调节乳腺的生长、发育和功能. 妊娠期瘦素通过 JAK-MAPK 信号通路刺激导管上皮细胞增殖和分化, 而退化期瘦素则通过 JAK-STAT3 通路诱导细胞凋亡和乳腺重构. 腺泡上皮细胞本身可以分泌瘦素, 如奶山羊妊娠后期 MEC 中的瘦素蛋白含量略有增加, 退化期乳腺脂肪垫再生, 瘦素蛋白含量增加^[36] (图 1).

STATs 作为细胞质信号分子参与调节乳腺细胞分化、增殖和凋亡等生理过程, 其中 STAT3 和 STAT5 在乳腺退化时期发生显著变化^[37]. STAT3 作为 JAK-STAT 信号通路中的重要分子参与调节乳腺重构过程, 其在乳腺退化之初被激活, 促进细胞凋亡, 抑制细胞增殖^[8]. Zhang 等^[38]研究发现, miR-21-3p 对奶牛 MEC 活力和增殖具有明显促进作用, 转录因子 STAT3 可能通过影响 miR-21 的转录抑制 miR-21-3p 的功能. STAT3 似乎也刺激 IGFBP-5 表达, STAT3 基因缺失的小鼠表现出 IGFBP-5 蛋白表达的降低. 妊娠期间, STAT5 主要由催乳素激活, 催乳素受体基因敲除小鼠的乳腺腺泡无法正常发育, 说明 STAT5 参与调节腺泡上皮细胞的增殖分化^[39]. Nørgaard 等^[40]对干奶期奶牛乳腺研究发现, 从分娩前 48 d 至分娩前 16 d, STAT5 的 mRNA 丰度增加 3 倍, 提示该因子在反刍动物乳腺重构过程中发挥一定的作用 (图 1).

除了以上因子之外, TGF- β 在乳腺重构过程中发挥作用. Zarzyńska 等^[41]通过降低细胞培养体系中的胎牛血清构建奶牛体外凋亡模型, 结果发现, 胎牛血清缺失会诱导 TGF- β 1 mRNA 和蛋白质丰度增加, 从而抑制细胞周期和引发细胞凋亡, IGF-I 特别是 IGF-I 和 EGF 的结合可以阻止胎牛血清缺乏诱导的 TGF- β 1 表达, 表明该因子与乳腺细胞凋亡相关.

3.4 其他因素

除了自身激素、蛋白酶和细胞因子等生理性因素外, 病理性因素和环境因素也会影响干奶期乳腺重构, 例如光照周期^[42]、营养水平^[43]、热应激^[44-45]和氧化应激^[46-50]等.

干奶期的光周期长短影响奶牛乳腺重构及其随后的泌乳周期, 与长日光周期相比, 短日光周期奶牛在下一泌乳周期中奶产量更高, 且免疫功能得到改善. 研究发现, 短日光周期可通过促进乳腺细胞增殖和减少 MEC 凋亡, 进而调控干奶期乳腺重

构^[42]. 热应激影响乳腺细胞的形态及细胞凋亡和增殖等过程, 热应激会降低乳腺细胞的蛋白质合成导致细胞凋亡和自噬^[45]. Dado-Senn 等^[44] 对干奶期奶牛进行热应激暴露处理后发现, 在下一泌乳期间, 热应激奶牛乳腺组织中的腺泡数量显著减少, 乳腺结缔组织的比例显著升高.

正常条件下, 活性氧 (ROS) 参与各种生理活动的调节, 如细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡、细胞迁移、伤口愈合和血管生成等^[46]. 在乳腺中, ROS 是退化可逆阶段的启动信号. Thomas 等^[47] 对从人乳中分离的乳腺细胞进行培养后发现, 停用培养基后 ROS 的积累启动了乳腺腺泡退化, 在新鲜培养基中添加异源 ROS 亦可以诱导腺泡退化. 奶牛停止挤奶后, 乳腺组织内的谷胱甘肽过氧化物酶 1 (GPX1) 和超氧化物歧化酶 2 (SOD2) 表达量持续上调^[48]. 人乳腺组织中, 上皮细胞与类干细胞等不同细胞群体的氧化还原系统存在较大的差别^[49]. ROS 在人乳腺组织的形态结构发生和动态

平衡中起着重要作用, 对 MCF10A 细胞系进行 3D 培养后产生多层球体, 内层细胞高水平的 ROS 是诱导管腔形成的主要信号因子^[50].

多能乳腺干细胞 (MaSC) 和祖细胞的活性在乳腺发育过程中受到调节, 以满足乳腺组织生长、发育及维持动态平衡的需要^[51]. 在妊娠期, MaSC 增殖分化以取代衰老的细胞, 维持细胞周转. 若实现对 MaSC 和祖细胞的调节, 将为提高泌乳持续性、改善乳腺健康、促进乳腺损伤组织修复等提供新的思路^[18]. Kannan 等^[49] 在人乳腺上皮细胞中发现, 基底细胞与腔祖细胞的 ROS 水平及抗氧化机制显著不同, 腔祖细胞 ROS 含量高, 线粒体活性强, 其通过高效的谷胱甘肽非依赖型抗氧化机制调节氧化还原水平, 而基底细胞维持着低水平的 ROS, 通过低效的谷胱甘肽依赖型抗氧化机制调节氧化还原水平. 这些结果说明, 氧化还原平衡在乳腺重构过程中发挥着重要的作用, 但其机制尚待进一步发掘 (图 1).

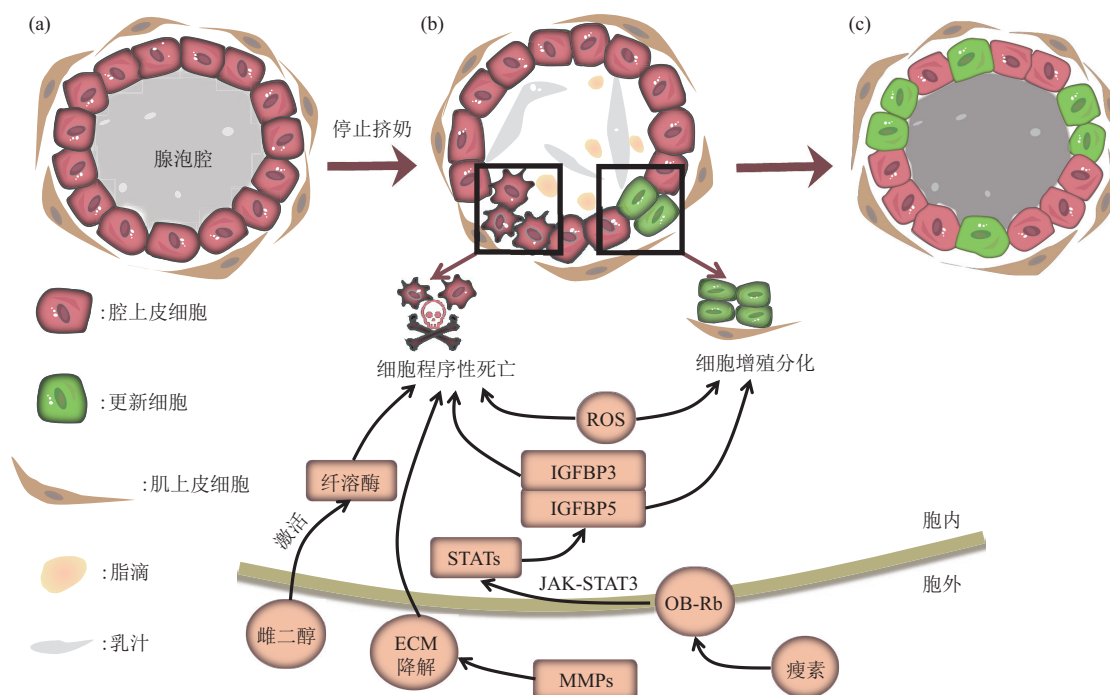


Fig. 1 The process of mammary gland remodeling and its regulatory factors in dairy animals

图1 奶畜再生性乳腺重构的过程及其影响因素

(a) 泌乳后期腺泡; (b) 干奶前期腺泡; (c) 泌乳前期腺泡.

4 总结与展望

受到妊娠周期的影响, 乳腺组织在雌性动物一

生中经历妊娠期-哺乳期-退化期的周期性发育变化, 在动物乳腺退化到再次泌乳的过程中, 乳腺细胞经历凋亡和更新, 从而实现乳腺组织的自我更新

和修复,称之为乳腺重构.乳腺重构期间,乳腺在形态学和细胞学上发生显著变化,但该过程中物种间差异较大.乳用家畜为维持持续泌乳,妊娠期与干奶期重合叠加,乳腺组织展示出独特的再生性乳腺重构过程,这对奶畜乳腺健康和下一周期的泌乳具有重要意义,研究此过程可为理解乳腺自我更新和提高乳腺健康提供新的思路.生理因素(激素、细胞因子和应激等)和环境因素(光照周期、营养和温度等)都会对乳腺重构产生影响.在众多的调控因子中,本综述突出了氧化还原系统对乳腺重构的调控作用,如氧化产物ROS在乳腺多功能干细胞的功能和腺泡形成过程中均发挥着重要的作用,但遗憾的是,目前乳腺重构过程中,氧化系统的作用尚无表征和阐述.近年来氧化应激对机体稳态系统的调节作用越来越受到关注,未来的研究过程中,乳腺重构过程中氧化还原系统的代谢将成为一个重要的研究领域.这些研究将会进一步拓展乳腺重构的深度、解明乳腺重构的机制,为有效维持乳腺健康提供新的思路.

参 考 文 献

- [1] Jena M K, Jaswal S, Kumar S, *et al.* Molecular mechanism of mammary gland involution: an update. *Dev Biol*, 2019, **445**(2): 145-155
- [2] Kok A, Chen J, Kemp B, *et al.* Review: dry period length in dairy cows and consequences for metabolism and welfare and customised management strategies. *Animal*, 2019, **13**(S1):s42-s51
- [3] 江楠楠,刘建新,石恒波.乳腺脂肪组织调节乳腺发育的研究进展.生物化学与生物物理进展,2021,**48**(6):611-617
Jiang N N, Liu J X, Shi H B. *Prog Biochem Biophys*, 2021, **48**(6): 611-617
- [4] Wang Q A, Scherer P E. Remodeling of murine mammary adipose tissue during pregnancy, lactation, and involution. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2019, **24**(3):207-212
- [5] Zwick R K, Rudolph M C, Shook B A, *et al.* Adipocyte hypertrophy and lipid dynamics underlie mammary gland remodeling after lactation. *Nat Commun*, 2018, **9**(1):3592
- [6] Baxter F O, Neoh K, Tevendale M C. The beginning of the end: death signaling in early involution. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2007, **12**(1):3-13
- [7] Capuco A V, Choudhary R K. Symposium review: determinants of milk production: understanding population dynamics in the bovine mammary epithelium. *J Dairy Sci*, 2020, **103**(3):2928-2940
- [8] Zhao X, Ponchon B, Lanctôt S, *et al.* Invited review: accelerating mammary gland involution after drying-off in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 2019, **102**(8):6701-6717
- [9] De Vries L D, Dover H, Casey T, *et al.* Characterization of mammary stromal remodeling during the dry period. *J Dairy Sci*, 2010, **93**(6):2433-2443
- [10] Sorensen M T, Nørgaard J V, Theil P K, *et al.* Cell turnover and activity in mammary tissue during lactation and the dry period in dairy cows. *J Dairy Sci*, 2006, **89**(12):4632-4639
- [11] Capuco A V, Akers R M, Smith J J. Mammary growth in Holstein cows during the dry period: quantification of nucleic acids and histology. *J Dairy Sci*, 1997, **80**(3): 477-487
- [12] Hurley W L. Mammary gland function during involution. *J Dairy Sci*, 1989, **72**(6):1637-1646
- [13] Wilde C J, Addey C V, Li P, *et al.* Programmed cell death in bovine mammary tissue during lactation and involution. *Exp Physiol*, 1997, **82**(5):943-953
- [14] Capuco A V, Akers R M. Mammary involution in dairy animals. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 1999, **4**(2):137-144
- [15] Holst B D, Hurley W L, Nelson D R. Involution of the bovine mammary gland: histological and ultrastructural changes. *J Dairy Sci*, 1987, **70**(5): 935-944
- [16] Singh K, Dobson J, Phyn C, *et al.* Milk accumulation decreases expression of genes involved in cell-extracellular matrix communication and is associated with induction of apoptosis in the bovine mammary gland. *Livest Prod Sci*, 2005, **98**: 67-78
- [17] Hadsell D L, Torres D, George J, *et al.* Changes in secretory cell turnover, and mitochondrial oxidative damage in the mouse mammary gland during a single prolonged lactation cycle suggest the possibility of accelerated cellular aging. *Exp Gerontol*, 2006, **41**(3):271-281
- [18] Lamote I, Meyer E, Massart-Leñ A M, *et al.* Sex steroids and growth factors in the regulation of mammary gland proliferation, differentiation, and involution. *Steroids*, 2004, **69**(3):145-159
- [19] Yart L, Lollivier V, Marnet P G, *et al.* Role of ovarian secretions in mammary gland development and function in ruminants. *Animal*, 2014, **8**(1):72-85
- [20] Athie F, Bachman K C, Head H H, *et al.* Estrogen administered at final milk removal accelerates involution of bovine mammary gland. *J Dairy Sci*, 1996, **79**(2):220-226
- [21] Connor E E, Meyer M J, Li R W, *et al.* Regulation of gene expression in the bovine mammary gland by ovarian steroids. *J Dairy Sci*, 2007, **90**(Suppl 1): E55-E65
- [22] Briskin C, O'malley B. Hormone action in the mammary gland. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*, 2010, **2**(12):a003178
- [23] Ji Z, Chao T, Zhang C, *et al.* Transcriptome analysis of dairy goat mammary gland tissues from different lactation stages. *DNA Cell Biol*, 2019, **38**(2):129-143
- [24] Capuco A V, Ellis S E, Hale S A, *et al.* Lactation persistency: insights from mammary cell proliferation studies. *J Anim Sci*, 2003, **81**(Suppl 3):18-31
- [25] Athie F, Bachman K C, Head H H, *et al.* Milk plasmin during bovine mammary involution that has been accelerated by estrogen. *J Dairy Sci*, 1997, **80**(8):1561-1568
- [26] Stelwagen K, Grieve D G, McBride B W, *et al.* Growth and subsequent lactation in primigravid Holstein heifers after prepartum bovine somatotropin treatment. *J Dairy Sci*, 1992,

- 75(2):463-471
- [27] Rieanrakwong D, Laoharatchathanin T, Terashima R, *et al.* Prolactin suppression of gonadotropin-releasing hormone initiation of mammary gland involution in female rats. *Endocrinology*, 2016, **157**(7):2750-2758
- [28] Flint D J, Boutinaud M, Whitelaw C B, *et al.* Prolactin inhibits cell loss and decreases matrix metalloproteinase expression in the involuting mouse mammary gland but fails to prevent cell loss in the mammary glands of mice expressing IGFBP-5 as a mammary transgene. *J Mol Endocrinol*, 2006, **36**(3):435-448
- [29] De Vries R, Brandt M, Lundh Å, *et al.* Short communication: influence of shortening the dry period of Swedish dairy cows on plasmin activity in milk. *J Dairy Sci*, 2016, **99**(11):9300-9306
- [30] Boutinaud M, Isaka N, Gandemer E, *et al.* Inhibiting prolactin by cabergoline accelerates mammary gland remodeling during the early dry period in dairy cows. *J Dairy Sci*, 2017, **100**(12):9787-9798
- [31] Domènech A, Parés S, Bach A, *et al.* Mammary serum amyloid A3 activates involution of the mammary gland in dairy cows. *J Dairy Sci*, 2014, **97**(12):7595-7605
- [32] Allan G J, Beattie J, Flint D J. The role of IGFBP-5 in mammary gland development and involution. *Domest Anim Endocrinol*, 2004, **27**(3):257-266
- [33] Xuan R, Chao T, Wang A, *et al.* Characterization of microRNA profiles in the mammary gland tissue of dairy goats at the late lactation, dry period and late gestation stages. *PLoS One*, 2020, **15**(6):e0234427
- [34] Kanatani M, Sugimoto T, Nishiyama K, *et al.* Stimulatory effect of insulin-like growth factor binding protein-5 on mouse osteoclast formation and osteoclastic bone-resorbing activity. *J Bone Miner Res*, 2000, **15**(5):902-910
- [35] Hu X, Juneja S C, Maible N J, *et al.* Leptin — a growth factor in normal and malignant breast cells and for normal mammary gland development. *J Natl Cancer Inst*, 2002, **94**(22):1704-1711
- [36] Li M, Li Q, Gao X. Expression and function of leptin and its receptor in dairy goat mammary gland. *J Dairy Res*, 2010, **77**(2): 213-219
- [37] Haricharan S, Li Y. STAT signaling in mammary gland differentiation, cell survival and tumorigenesis. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, **382**(1):560-569
- [38] Zhang X, Cheng Z, Wang L, *et al.* MiR-21-3p centric regulatory network in dairy cow mammary epithelial cell proliferation. *J Agric Food Chem*, 2019, **67**(40):11137-11147
- [39] Ormandy C J, Naylor M, Harris J, *et al.* Investigation of the transcriptional changes underlying functional defects in the mammary glands of prolactin receptor knockout mice. *Recent Prog Horm Res*, 2003, **58**:297-323
- [40] Nørgaard J V, Theil P K, Sørensen M T, *et al.* Cellular mechanisms in regulating mammary cell turnover during lactation and dry period in dairy cows. *J Dairy Sci*, 2008, **91**(6):2319-2327
- [41] Zarzyńska J, Gajewska M, Motyl T. Effects of hormones and growth factors on TGF-beta1 expression in bovine mammary epithelial cells. *J Dairy Res*, 2005, **72**(1):39-48
- [42] Tao S, Bubolz J W, Do Amaral B C, *et al.* Effect of heat stress during the dry period on mammary gland development. *J Dairy Sci*, 2011, **94**(12):5976-5986
- [43] Stefanon B, Colitti M, Gabai G, *et al.* Mammary apoptosis and lactation persistency in dairy animals. *J Dairy Res*, 2002, **69**(1): 37-52
- [44] Dado-Senn B, Skibieli A L, Fabris T F, *et al.* Dry period heat stress induces microstructural changes in the lactating mammary gland. *PLoS One*, 2019, **14**(9):e0222120
- [45] Fabris T F, Laporta J, Skibieli A L, *et al.* Effect of heat stress during the early and late dry period on mammary gland development of Holstein dairy cattle. *J Dairy Sci*, 2020, **103**(9):8576-8586
- [46] Baratta M, Miretti S, Macchi E, *et al.* Mammary stem cells in domestic animals: the role of ROS. *Antioxidants*, 2018, **8**(1):6
- [47] Thomas E, Zeps N, Rigby P, *et al.* Reactive oxygen species initiate luminal but not basal cell death in cultured human mammary alveolar structures: a potential regulator of involution. *Cell Death Dis*, 2011, **2**(8):e189
- [48] Piantoni P, Wang P, Drackley J K, *et al.* Expression of metabolic, tissue remodeling, oxidative stress, and inflammatory pathways in mammary tissue during involution in lactating dairy cows. *Bioinform Biol Insights*, 2010, **4**:85-97
- [49] Kannan N, Nguyen L V, Makarem M, *et al.* Glutathione-dependent and -independent oxidative stress-control mechanisms distinguish normal human mammary epithelial cell subsets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(21):7789-7794
- [50] Schafer Z T, Grassian A R, Song L, *et al.* Antioxidant and oncogene rescue of metabolic defects caused by loss of matrix attachment. *Nature*, 2009, **461**(7260):109-113
- [51] Rauner G, Ledet M M, Van De Walle G R. Conserved and variable: understanding mammary stem cells across species. *Cytometry A: J Int Soc Anal Cytol*, 2018, **93**(1):125-136

Recent Advance in Mammary Gland Remodeling and Its Regulatory Factors*

WU Chao-Qun, LIU Jian-Xin, SHI Heng-Bo**

(Institute of Dairy Science, College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract Affected by the pregnancy cycle, the mammary gland undergoes cyclical developmental changes of pregnancy-lactation-involution in the life of female mammals. In the transition of mammary gland from involution to lactation, the mammary gland cells undergo apoptosis and renewal to reach the self-renewal and self-repair of mammary gland, which is defined as mammary gland remodeling. The mammary gland undergoes significant changes in morphology during mammary gland remodeling, and this process varies across species. In rodents, the involution is divided into two phases based on the reversal of phase. The first phase (first 48h after weaning) is characterized by milk stasis and lysosomal content release into the cytosol and extensive cell death. The second irreversible phase (after 48h of weaning) facilitates the remodeling of mammary gland. Compared with rodents, the remodeling process of the mammary glands in dairy livestock exhibits a regenerative involution to maintain subsequent lactation. During the regenerative involution, the regress of mammary gland cells is not significant and the mammary alveolar structure remains basically intact. Alveolar structure is heterogeneous and only shows a few alveolar collapses, and the number of apoptotic bodies only slightly increases. The regenerative remodeling of mammary gland is of great significance to the mammary health and maintenance of the next cycle of lactation in dairy livestock. If the dry period of dairy cows is shortened, the milk production in the next cycle will be significantly reduced. The hormones level, proteases, cytokines and oxidative stress have influences on the remodeling of mammary gland through the various cellular signal pathways. Beyond the internal factors, dietary nutrition and various environmental factors, including heat stress and photoperiod, play important roles in regulating the process of remodeling of mammary gland. The current review summarizes the studies on mammary gland remodeling in recent years, and highlights the factors (including hormones, proteases, cytokines, *etc.*) regulating the regenerative involution in the mammary gland of dairy livestock. This review tries to uncover the internal mechanism of mammary gland remodeling and provides scientific basis to regulate it.

Key words mammary gland remodeling, health, cell renewing, oxidative stress

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0008

* This work was supported by grants from The Intergovernmental Collaborative Project in S & T Innovation under the National Key Research and Development Program (2018YFE0111700) and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2020QNA6029).

** Corresponding author.

Tel: 86-571-88981341, E-mail: shihengbo@zju.edu.cn

Received: January 12, 2021 Accepted: April 14, 2021