

บทความรับเชิญ (Invited review article)

## เต้านมอักเสบในโคนม: ความท้าทายของการปรับปรุงพันธุ์ด้วยอณูพันธุศาสตร์

### Bovine mastitis: the challenge of molecular genetics for breeding

สิริวดี ชมเดช

ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

ศูนย์วิจัยวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

E-mail address: siriwadee@yahoo.com

อุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมนับได้ว่าเป็นอุตสาหกรรมที่มีอัตราการขยายตัวเพิ่มขึ้นทุกปี แต่กำลังการผลิตภายในประเทศก็ยังไม่เพียงพอ กับความต้องการของผู้บริโภค ทำให้ประเทศไทยต้องนำเข้าผลิตภัณฑ์นมจากต่างประเทศ ซึ่งมีแนวโน้มจะมีราคาที่ถูกลงเนื่องมาจากกำแพงภาษีที่กำลังจะถูกลดลงไปจากการค้าเสรีระหว่างประเทศ<sup>(1)</sup> ดังนั้น การพัฒนาคุณภาพควบคู่กับ ปริมาณของน้ำนมดิบนับได้ว่าเป็นสิ่งที่ต้องได้รับการส่งเสริมเป็นอย่างมากในอุตสาหกรรม การเลี้ยงโคนมของไทย

#### โรคเต้านมอักเสบ

โรคเต้านมอักเสบ (mastitis) นับได้ว่าเป็น ปัญหาที่พบอย่างต่อเนื่อง และเป็นปัญหาที่ ส่งผลกระทบต่ออย่างมากต่อการเลี้ยงโคนมให้ได้ ประสิทธิภาพ โรคเต้านมอักเสบเป็นภาวะที่ ส่วนต่างๆ ของเต้านมเกิดการอักเสบ พบได้ทั้ง แบบแสดงอาการ (clinical mastitis) และแบบ ไม่แสดงอาการ (subclinical mastitis) ซึ่งอาจ

เกิดจากหลายสาเหตุ เช่น การติดเชื้อ สารพิษ ของเชื้อ บาดแผลหรือสารเคมีต่างๆ ที่ทำให้เกิดอาการคัน เป็นต้น สาเหตุที่พบบ่อย คือ การติดเชื้อจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียที่สามารถ ผลิตสารพิษออกมาทำลายต่อมน้ำนม<sup>(2)</sup> นอกจากนี้โรคเต้านมอักเสบเป็นโรคที่สามารถติดต่อ ได้จากโคสูโค ทำให้โรคนี้เป็นโรคที่สามารถ แพร่กระจายได้ ในแต่ละปี ความสูญเสียที่เกิด จากโรคเต้านมอักเสบมีมูลค่ามหาศาล ส่วน หนึ่งมาจากการที่ปริมาณผลผลิตและคุณภาพ น้ำนมลดลงและอีกส่วนหนึ่งจากค่าใช้จ่าย ในการจัดการที่สูงขึ้น เช่น ค่าแรงงานที่ต้อง ดูแลโคที่เป็นโรค และค่ารักษาพยาบาล เป็นต้น รวมถึง การตายของแม่โค ค่าคัดทิ้ง และ ค่าใช้จ่ายสำหรับแม่โคทดแทน นอกจากนี้ยัง ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจแก่ อุตสาหกรรมนม เนื่องจากการลดลงของคุณภาพ น้ำนมดิบที่นำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นม อีกด้วย<sup>(3)</sup>

สำหรับอุบัติการณ์การเกิดโรคเต้านมอักเสบนั้น พบว่า มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งมีค่าระหว่าง 29.34-78.54%<sup>(4)</sup> เช่นเดียวกับประเทศไทยที่มีรายงานในหลายพื้นที่ว่าพบอุบัติการณ์การเกิดโรคเต้านมอักเสบที่มีค่าสูง เช่น อำเภอเมืองจังหวัดขอนแก่น พบว่าอย่างน้อย 40% ของฟาร์มโคนมมีปัญหาเต้านมอักเสบ<sup>(5)</sup> นอกจากนี้ในจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน พบว่าแม่โคเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ 28.86%<sup>(6)</sup> เป็นต้น

ปัจจัยของการเกิดโรคเต้านมอักเสบ สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประการ คือ ปัจจัยด้านคนและสิ่งแวดล้อม ปัจจัยด้านเชื้อโรค และปัจจัยด้านแม่โค แนวทางการควบคุมและป้องกันโรคมักจะเน้นที่การจัดการการรีดนมและการจัดการฟาร์มให้สะอาด ถูกสุขลักษณะ รวมทั้งการหมั่นประเมินสถานภาพของสุขภาพเต้านม และตรวจสอบหาโคนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ<sup>(1)</sup> ซึ่งเป็นการป้องกันในปัจจัยด้านคนและสิ่งแวดล้อม สำหรับปัจจัยด้านเชื้อโรคนั้น จะขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อโรคที่มาจากแหล่งต่างๆ เช่น เชื้อพวก coliform ที่พบตามอุจจาระ น้ำที่ไม่สะอาด พื้นดิน และที่รองนอน เป็นเชื้อที่มีการแพร่กระจายไปไว้มาก อาจทำให้โคตายได้ ถ้ารักษาไม่ทัน เป็นต้น นอกจากนี้ปัจจัยด้านแม่โคก็มีความสำคัญเช่นเดียวกัน เพราะโดยปกติแม่โคที่มีปัญหาเต้านมอักเสบส่วนหนึ่งจะสามารถหายเองได้ หลังจากทีระบบภูมิคุ้มกันของเต้านมโดยเฉพาะเม็ดเลือดขาวและแอนติบอดีสามารถกำจัดสาเหตุเชื้อแบคทีเรียได้<sup>(7)</sup> และพบว่า การตอบสนอง

ต่อเชื้อโรคที่รับเข้ามาของแม่โคแต่ละตัวไม่เท่ากัน รวมทั้งรูปร่างของเต้านมและหัวนมก็มีส่วนสำคัญในการเกิดโรคเต้านมอักเสบ เพราะเต้านมและหัวนมที่มีรูปร่างไม่ดี (เต้านมหย่อน หัวนมชี้ออกด้านข้าง) จะมีโอกาสติดเชื้อได้ง่าย ซึ่งลักษณะเหล่านี้สามารถถ่ายทอดผ่านทางพันธุกรรมได้อีกด้วย<sup>(8)</sup> แสดงว่า ปัจจัยด้านแม่โคมีความสำคัญเทียบเท่ากับปัจจัยอื่นๆ

### การปรับปรุงพันธุ์โคนม

การปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (genetic improvement) เป็นการปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตสัตว์ให้สูงขึ้น ด้วยต้นทุนที่ต่ำลง โดยใช้ความรู้พื้นฐานทางพันธุกรรม สถิติ ชีวโมเลกุล อนุพันธุศาสตร์ และเทคโนโลยีชีวภาพ เข้ามาช่วยคัดเลือก และผสมพันธุ์สัตว์ โดยคำนึงถึงการเพิ่มประสิทธิภาพอย่างถาวร ยั่งยืน สามารถถ่ายทอดพันธุกรรมที่ดีไปสู่รุ่นลูกหลานได้นอกจากนี้ยังต้องมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคสิ่งแวดล้อม และสวัสดิภาพของสัตว์ด้วย<sup>(9)</sup>

แม้ว่าในปัจจุบันนี้ การคัดเลือกและผสมพันธุ์สัตว์เพื่อปรับปรุงพันธุ์จะมีความก้าวหน้าไปเป็นอย่างมาก โดยการนำความรู้ทางอนุพันธุศาสตร์ และเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาช่วยย่นระยะเวลาในการคัดเลือกและผสมพันธุ์สัตว์ให้สั้นลง แต่เป็นที่น่าสังเกตว่างานวิจัยส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นในฝั่งยุโรป และอเมริกา ซึ่งถือว่าเป็นผู้ผลิตและส่งออกผลิตภัณฑ์นมที่ใหญ่ที่สุดของโลก<sup>(10)</sup> เป็นที่แน่นอนว่า ผลการศึกษาที่มีอยู่ในปัจจุบันนี้ไม่สามารถนำมาปรับใช้ได้ เนื่องจากการศึกษาส่วนใหญ่เป็นข้อมูลในโคนมสายพันธุ์ยุโรป (*Bos taurus*) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง

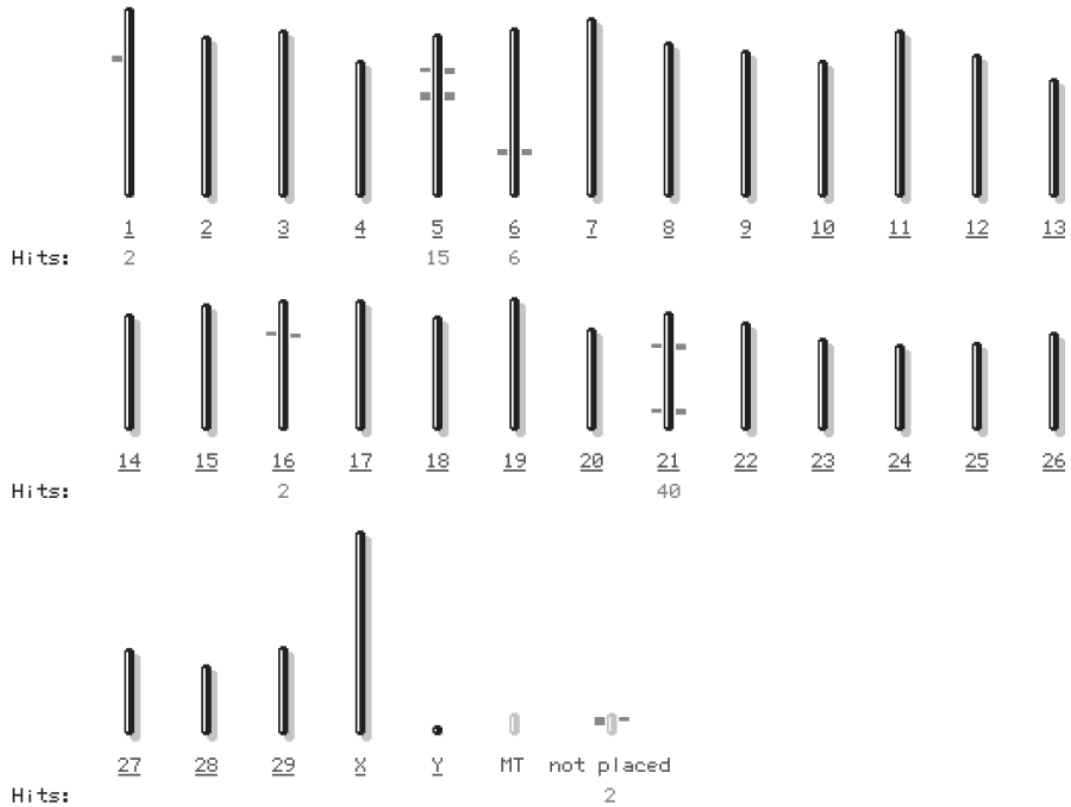


รูปที่ 1 แสดงลักษณะของโคนมพันธุ์ไทยฟรีเซียน (A) และพันธุ์ที่ เอ็ม แซ็ด (B) ที่ได้รับการปรับปรุงสายพันธุ์ในประเทศไทย

โคพันธุ์ Holstein-Friesian ซึ่งเป็นที่นิยมเลี้ยงกันมากในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำนมโค และเป็นสายพันธุ์ที่สามารถให้น้ำนมดิบได้สูงสุด 5,000-8,000 กิโลกรัม ต่อระยะการให้นม (lactation) แต่ข้อเสียเมื่อนำโคยุโรปมาเลี้ยงในเขตร้อน คือ จะทนทานต่อสภาพอากาศร้อนได้น้อย ไม่ทนต่อโรคและแมลงในเขตร้อน ทำให้น้ำนมลดลง เติบโตช้า เจ็บป่วยได้ง่าย และประสิทธิภาพในการสืบพันธุ์ลดลง ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์โคนมยุโรปเพื่อนำมาเลี้ยงในประเทศที่มีสภาพอากาศร้อนขึ้นอย่างในเขตภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จึงต้องมีการผสมพันธุ์โคนมระหว่างโคพันธุ์ยุโรปกับโคพื้นเมือง เพื่อให้ได้โคนมลูกผสม (cross bred) ที่สามารถต้านทานต่อสภาพอากาศร้อนได้ โดยยังคงเป็นโคนมที่ให้น้ำนมมากอยู่ ตัวอย่าง

เช่น ผสมกับโคพันธุ์อินเดีย (*Bos indicus*) หรือ zebu ซึ่งเป็นที่นิยมมาก เพราะเป็นโคที่สามารถทนต่อสภาพอากาศร้อนได้ดี ต้านทานต่อโรคแมลง และยังมีเลี้ยงดูง่ายอีกด้วย แม้ว่าจะให้นมได้ไม่มากเท่ากับโคนมยุโรป (1,500-2,000 กิโลกรัมต่อระยะการให้นม)<sup>(1)</sup>

สำหรับประเทศไทย โคนมที่นิยมเลี้ยงกันเป็นโคนมลูกผสมสายพันธุ์ต่างประเทศที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์โดยกรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เช่น พันธุ์ไทยฟรีเซียน (Thai-Friesian; TF) ซึ่งเป็นโคนมลูกผสมที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์จนมีระดับเลือดโคขาว-ดำ มากกว่า 75% ขึ้นไป และพันธุ์ไทยมิลกิ้งซีบู (Thai Milking Zebu; TMZ) ซึ่งเป็นโคนมที่ระดับเลือดโคขาว-ดำ อยู่ที่ 75% เป็นต้น (รูปที่ 1)



รูปที่ 2 แสดงบริเวณที่พบ QTL ที่สัมพันธ์กับลักษณะปริมาณน้ำนมใน genome ของโคนม (*Bos taurus*) บนโครโมโซมแท่งต่างๆ (บริเวณขีดสีแดง) ในที่นี้พบ QTL จำนวน 67 ตำแหน่ง หรือ 67 hits ที่มา: [www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map\\_search.cgi?taxid=9913&query=milk+yield&qchr=&strain=All](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9913&query=milk+yield&qchr=&strain=All) (25 กุมภาพันธ์ 2555)

## อณูพันธุศาสตร์กับโรคเด่นมอักษะในโคนม

### *quantitative trait loci (QTL)*

โรคในสัตว์ที่สำคัญต่อลักษณะทางเศรษฐกิจหลายโรคมักถูกควบคุมด้วยยีนหลายยีน (Multifactorial inheritance) หรือ ยีนหลายยีนที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน<sup>(12)</sup> โรคเด่นมอักษะก็ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มนี้ด้วย และลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลายยีนนี้จัดเป็นลักษณะทางปริมาณ

(Quantitative traits) ตำแหน่งที่ควบคุมลักษณะทางปริมาณนั้น เรียกว่า quantitative trait loci (QTL) (รูปที่ 2) ซึ่งเป็นบริเวณหรือตำแหน่งบน DNA ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางปริมาณ เช่น ความสูง น้ำหนัก สีผิว การเจริญเติบโต และ ลักษณะทางการสืบพันธุ์ เป็นต้น เป้าหมายของการค้นหา QTL คือ การค้นหาตำแหน่งบนโครโมโซมที่คาดว่าจะมีความสัมพันธ์กับความผันแปรของลักษณะปรากฏต่างๆ ปัจจุบันนี้ได้

มีการศึกษาหา QTL เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์เศรษฐกิจให้ได้ลักษณะตามต้องการของตลาด เนื่องจากลักษณะที่ต้องการทางเศรษฐกิจนั้นมักเป็นลักษณะทางปริมาณที่ได้รับอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อม เช่น การต้านทานโรค มวลกล้ามเนื้อ คุณภาพเนื้อสัตว์ ปริมาณน้ำนม อัตราการเจริญเติบโต ช่วงระยะการเก็บเกี่ยว เป็นต้น

การค้นหา QTL สำหรับโรคเต้านมอักเสบในโคนมได้รับการศึกษากันเป็นจำนวนมาก ทั้งแบบแสดงอาการ (clinical mastitis) และไม่แสดงอาการ (subclinical mastitis) โดยในปี 1999 Heyen และคณะ<sup>(13)</sup> ทำการศึกษาหา QTL ที่ส่งผลกระทบต่อลักษณะการผลิตน้ำนมและสุขภาพในโคนมพันธุ์ Holstein Friesian แถบอเมริกาเหนือ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Schrooten และคณะ<sup>(14)</sup> ซึ่งทำการศึกษาหา QTL ที่มีอิทธิพลต่อลักษณะการผลิต รูปร่างเต้านม สุขภาพของเต้านม และ ความสมบูรณ์พันธุ์ หรือ Klungland และคณะ<sup>(15)</sup> ที่ทำการศึกษา QTL ที่ส่งผลต่อโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและจำนวนเซลล์โซมาติก (SCC) ใน โคนม พบว่า QTL ที่สัมพันธ์กับโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการตั้งอยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 6 แต่ไม่พบ QTL ที่มีอิทธิพลต่อทั้งโรคเต้านมอักเสบและจำนวนเซลล์โซมาติก และในปี 2003 Kühn และคณะ<sup>(16)</sup> ได้รายงานผลการศึกษา QTL ต่อลักษณะต่างๆ ที่แสดงถึงการทำงานในโคเยอร์มันพันธุ์ Holstein พบ QTL ของลักษณะการคลอดยากบนโครโมโซมแท่งที่ 8 และ QTL

ของจำนวนเซลล์โซมาติกบนโครโมโซมแท่งที่ 18 มีค่ามากกว่าระดับ 10% ของ genome wise อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p < 0.01$ ) โดยตำแหน่ง QTL ที่มีอิทธิพลต่อค่า SCC จะถูกพบบนโครโมโซมที่แตกต่างกันออกไป นอกจากนี้ยังมีการค้นหา QTL ที่ส่งผลต่อลักษณะต่างๆ ที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคและการป้องกันโรคอีกด้วย เช่น Lund et al.<sup>(17)</sup> ได้ค้นหา QTL ที่เกี่ยวข้องกับโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ somatic cell score (SCS) และลักษณะรูปร่างของเต้านมในโคนมเดนมาร์กพันธุ์ Holstein นอกจากนี้ยังศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะต่างๆ เหล่านี้กับปริมาณน้ำนมอีกด้วย การศึกษาของ Sodeland et al.<sup>(18)</sup> ได้ศึกษาหา QTL ที่สัมพันธ์กับโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการในระยะต่างๆ ของการตั้งท้องพบว่า ในระยะก่อนและหลังคลอด มี QTL ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะดังกล่าวอยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 2, 6 และ 20 ส่วนระยะการให้นมช่วงทำายนั้น แสดง QTL บนโครโมโซมแท่งที่ 14 นอกจากนี้พบว่า QTL ที่สัมพันธ์กับโรคเต้านมอักเสบเหล่านี้ตั้งอยู่ใกล้กับยีน interleukin 8 บนโครโมโซมแท่งที่ 6 และยีนที่แปลรหัสให้โปรตีนตัวรับของ interleukin 8 บนโครโมโซมแท่งที่ 2

การนำผลงานวิจัยที่ศึกษาหา QTL ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเต้านมอักเสบในโคนมที่มีอยู่อย่างมากมายมาประยุกต์ใช้เพื่อนำไประบุยีนที่คาดว่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเต้านมอักเสบ หรือ candidate gene ได้ เช่น การศึกษาของ Nilsen et al (2009) ซึ่งทำ

การศึกษาหา candidate gene บริเวณ QTL ของลักษณะเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ และปริมาณโปรตีนบนโครโมโซมแท่งที่ 6 และ ค้นพบ single nucleotide polymorphism (SNP) บนยีน Mucin7 (MUC7) และ Immunoglobulin J (IGJ) ที่มีความสัมพันธ์กับ โรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการในวัวแดง นอร์เวย์ เป็นต้น

### *candidate gene*

candidate gene เป็นการค้นหาเครื่องหมาย โมเลกุลจากยีนที่มีข้อมูลในเชิงชีววิทยา ชีวเคมี หรือสรีรวิทยา ซึ่งมีหน้าที่หรือมีบทบาทเกี่ยวกับ ลักษณะที่สนใจ สำหรับโรคเต้านมอักเสบยีนที่ได้รับการศึกษาอย่างแพร่หลายและให้ความ สนใจว่ามีความเกี่ยวข้องกับโรค คือ ยีนในระบบ ภูมิคุ้มกัน (Immunity Gene) เพราะการอักเสบที่ เกิดขึ้นในโรคนี้นี้ก็เป็นขั้นตอนหนึ่งในกระบวนการ กำจัดเชื้อโรคที่เข้าสู่เต้านม โดยจะศึกษาทั้ง ระบบภูมิคุ้มกันแบบปฐมภูมิ (Innate Immunity) และแบบทุติยภูมิ (Acquire Immunity) มีการศึกษาที่ยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน เช่น ยีน IgG2, ยีน CD18 และบริเวณ exon 2 ของยีน bovine major histocompatibility complex (DRB3.2) ในโคนมสายพันธุ์ Holstein<sup>(19)</sup> และพบว่ามีการปรากฏของอัลลีล ต่างๆ ที่มีความสัมพันธ์กับค่า somatic cell score (SCC) กับโรคเต้านมอักเสบแบบแสดง อาการ และในโคนมในประเทศแคนาดา (สาย พันธุ์ Holstein และ Jersey) พบว่า ยีน DRB3 ไม่มีผลกระทบต่อค่า SCC ในโคนม Jersey แต่พบอัลลีลของยีน DRB3.2 ที่มีผลกระทบ

ต่อ SCC และการเกิดโรคเต้านมอักเสบชนิด ที่รุนแรง (ติดเชื้อพวก coliform bacteria) ใน โคนพันธุ์ Holstein<sup>(20)</sup> นอกจากนี้ยังมีการศึกษา พบว่า SNP ตำแหน่ง +777 บนยีน chemokine (C-X-C motif) receptor 1 และ 2 (CXCR1 และ 2) มีความสัมพันธ์กับลักษณะ การเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ และแบบแสดงอาการในโคนมพันธุ์ Holstein<sup>(21)</sup> Lactoferrin ก็เป็นอีกยีนหนึ่งที่มีการศึกษากัน อย่างแพร่หลาย เนื่องมาจากหน้าที่ที่ช่วยป้องกัน เชื้อจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียแกรมบวก กรัมนลบ ไวรัส ปรสิต และเชื้อรา เป็นต้น ในสารคัดหลั่ง ต่างๆ ของร่างกาย<sup>(22)</sup> ตัวอย่างเช่น การศึกษา ของ Li และคณะ<sup>(23)</sup> ซึ่งค้นพบ SNP ใน exon ที่ 4, 8, 9, 11, 15 และ intron ที่ 4 แต่ไม่พบ ความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเต้านมอักเสบเลย

สำหรับการศึกษาระดับการแสดงออกของ ยีนที่เกี่ยวข้องกับโรคเต้านมอักเสบนั้น ได้มีการ ศึกษาที่ยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ Tumor necrosis factor alphas (TNF- $\alpha$ ), Lactoferrin, 5-LO, COX1, COX2 ซึ่งพบว่า มีระดับการแสดงออกสูงในเซลล์จากน้ำนม และเต้านมที่มีค่า SCC สูง (มากกว่า 150,000 cells/ml)<sup>(24)</sup> นอกจากนี้ยังมียีน TLR9, 2, 4 ซึ่งเป็นยีนในกลุ่ม receptor ที่จดจำเชื้อโรค และยีน  $\beta$ -defensin 5 (BNBD5) ระดับการ แสดงออกของยีนทุกยีน ยกเว้นยีน TLR9 ในโคนมกลุ่มที่ติดเชื้อมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ติด เชื้อ 4-13 เท่า และยีน BNBD5 มีการแสดง ออกที่เซลล์เยื่อบุเต้านม (mammary epithelial cell) ในต่อมผลิตน้ำนมที่ติดเชื้อ<sup>(25)</sup> นอกจากนี้

Schwerin และคณะ<sup>(26)</sup> ทำการศึกษาใน ที่แสดงออกซึ่งเกี่ยวข้องกับโรคเต้านมอักษะ จากเต้านมโคด้วยวิธี differential display reverse transcription (DDRT) พบว่ามียีน ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและการอักษะ 21% โดยลำดับนิวคลีโอไทด์เหล่านี้ยังเกี่ยวข้องกับโรคเต้านมอักษะ และสอดคล้องกับ QTL ในยีน S-adenosylhomocysteine hydrolase encoding gene (AHCY), DNA-dependent protein kinase (PRKDC), Heterogeneous Nuclear Ribonuclear Protein U (HNRPU) และ osteoclast stimulating factor 1 (OSTF1)

### อนาคตของอณูพันธุศาสตร์กับโรคเต้านมอักษะในโคนมสำหรับประเทศไทย

จากรายงานดังกล่าวข้างต้น งานวิจัยที่ศึกษา เกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์โคนมที่ต้านทาน ต่อโรคเต้านมอักษะ มักเป็นงานวิจัยที่ทำขึ้น ในโคนมของประเทศในทวีปยุโรปและอเมริกา จากปริมาณงานวิจัยที่ได้มีการค้นคว้าและตีพิมพ์เผยแพร่ออกมาเป็นจำนวนมาก แต่มีเพียงงานวิจัยบางส่วนเท่านั้นที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับโคนมในประเทศไทยได้ เนื่องจากพันธุกรรมที่แตกต่างกันจากการใช้โคนมลูกผสมของไทย ส่งผลให้เกิดพันธุกรรมที่แตกต่างกับโคนมในต่างประเทศด้วย

การปรับปรุงพันธุ์โคนมในประเทศไทย แม้จะมีมาอย่างยาวนานเป็นเวลากว่า 60 ปี สำหรับการปรับปรุงพันธุ์โคนมขาว-ดำ (Holstein Friesian) ให้สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพอากาศร้อนของประเทศไทยได้ จนได้โคนมลูก

ผสมพันธุ์ไทยฟรีเซียน (Thai-Friesian; TF) และพันธุ์ที่ เอ็ม แซ็ค (Thai Milking Zebu; TMZ) เนื่องจากปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้โคนมลูกผสมเหล่านี้ จำเป็นต้องใช้น้ำเชื้อโคพ่อพันธุ์ Holstein-Friesian เพื่อนำมาผสมให้ได้แม่โคที่มีระดับเลือดโคนมขาว-ดำที่มีค่าสูง จากรายงานของ Sharma et al.<sup>(27)</sup> ที่รายงานว่า โคนมพันธุ์ Holstein-Friesian เป็นโคนมที่มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเต้านมอักษะมากกว่าโคนมพันธุ์พื้นเมืองและโคพันธุ์ Jersey ดังนั้น ความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเต้านมอักษะในโคนมไทย-ฟรีเซียน และที่ เอ็ม แซ็ค ย่อมมีค่าสูงตามระดับเลือดของโคนมขาว-ดำ ซึ่งโคนมพันธุ์ไทย-ฟรีเซียนเป็นโคนมที่ต้องการผู้เลี้ยงที่มีประสบการณ์มากกว่า เนื่องจากมีระดับเลือดโคนมขาว-ดำมากกว่าพันธุ์ที่ เอ็ม แซ็ค<sup>(28)</sup>

การปรับปรุงพันธุ์โดยอาศัยเทคนิคทางอณูชีววิทยาในประเทศไทย ถือว่ามีปริมาณงานวิจัยที่น้อยมาก อาจเนื่องมาจากวิธีการปรับปรุงพันธุ์ที่ยังคงต้องอาศัยน้ำเชื้อจากต่างประเทศ ในปี 2009 Duangjinda et al.<sup>(29)</sup> ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีน DRB3 บริเวณ exon ที่ 2 ในโคนมลูกผสมระหว่าง Holstein และ Zebu จากโคนมในสถานีทดลองและฝึกอบรมเกษตรกร กรม จังหวัดร้อยเอ็ด และศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ลำพูนกลาง จังหวัดลพบุรี พบอัลลีลของยีนนี้จำนวน 40 อัลลีล โดยอัลลีล DRB3\*10 เป็นอัลลีลที่ส่งผลมากที่สุดต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำนมและมีความต้านทานต่อโรคเต้านมอักษะแบบแสดงอาการในระดับปานกลาง ในปี 2011 Chomdej et al.<sup>(30)</sup>

ได้ศึกษาหาเครื่องหมายโมเลกุลต่อโรคเต้านมอักเสบในโคนมลูกผสมของเกษตรกรรายย่อยในเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน สายพันธุ์ไทย-ฟรีเซียน ด้วยเทคนิค amplified fragment length polymorphism (AFLP) พบว่า มีชิ้นส่วน DNA ที่มีลำดับเบสเหมือนกับยีนที่เคยมีรายงานเกี่ยวกับเซลล์มะเร็งเต้านมและระบบภูมิคุ้มกัน คือ ยีน PDZ domain containing 1 (PDZK1) และยีน Sodium channel protein type 8 subunit alpha (SCN8A) โดยยีนทั้งสองนั้นเคยมีรายงานว่า เป็นยีนที่มีการแสดงออกที่มากเกินไปในเซลล์มะเร็งเต้านมและมีความเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย นอกจากนี้ยังพบ SNP บนยีน PDZK1 จำนวน 2 ตำแหน่ง (T deletion และ G>T) และยีน SCN8A จำนวน 2 ตำแหน่ง (SCN8A-10 และ SCN8A-54) (C>T) SNP ทั้งหมดถูกศึกษา genotype เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์กับการเป็นโรคเต้านมอักเสบและค่า Somatic cell count (SCC) พบว่า SNP SCN8A-54 มีความสัมพันธ์กับการเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ความเชื่อมั่น 99% ซึ่งผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ายีน PDZK1 และ SCN8A มีความน่าสนใจที่จะนำไปศึกษาหาความเกี่ยวข้องกับโรคเต้านมอักเสบในโคนมไทยฟรีเซียนในเขตภาคเหนือต่อไป

แม้จะมีงานวิจัยมากมายที่พยายามค้นหา Candidate gene ที่มีความเกี่ยวข้องกับโรคเต้านมอักเสบ เพื่อนำมาใช้สำหรับการคัดเลือกพันธุ์โคนมที่ต้านทานโรคหรือปราศจาก

พันธุกรรมที่ไวต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบอย่างมากมายทั้งในและต่างประเทศ แต่จะสังเกตได้ว่า Candidate gene เหล่านั้น ถูกค้นพบขึ้นมาจากกลุ่มประชากรที่แตกต่างกัน แต่สิ่งที่สำคัญที่สุด คือ ความคงที่ของการนำ Candidate gene ไปใช้ได้ในทุกกลุ่มประชากร อีกทั้ง Candidate gene ที่รายงานในปัจจุบันนี้ ยังไม่มีข้อมูลเพียงพอที่จะสามารถนำมาหาความสัมพันธ์กันเพื่อสร้าง Pathway หลักของการเกิดโรคได้ อาจเนื่องมาจากโรคเต้านมอักเสบมีปัจจัยสาเหตุอยู่หลายประการ และเนื่องจากค่าอัตราพันธุกรรมของโรคนี้มีค่าค่อนข้างต่ำ ทำให้การพัฒนาประสิทธิภาพของการจัดการฟาร์มให้ถูกสู่ลักษณะของเกษตรกรมีความสำคัญไม่ยิ่งหย่อนไปกว่าการค้นหา Candidate gene ดังนั้น เพื่อให้ได้ผลผลิตน้ำนมดิบที่มีลักษณะดีทั้งคุณภาพและปริมาณ การค้นหา Candidate gene เพื่อนำมาใช้ปรับปรุงพันธุ์โคนมให้มีลักษณะดีและสามารถต้านทานโรคได้ จำเป็นต้องทำควบคู่ไปกับการจัดการฟาร์มให้มีประสิทธิภาพ เพื่อการพัฒนาอุตสาหกรรมเลี้ยงโคนมที่ยั่งยืนต่อไป

### เอกสารอ้างอิง

1. สุวิชัย โรจนเสถียร. แนวคิดและวิธีปรับปรุงการดูแลสุขภาพและผลผลิตโคนม. ใน : Proceeding งานประชุมวิชาการสุขภาพสัตว์ภาคเหนือ ประจำปี 2553 เรื่อง “เปิดโลกทัศน์ทางสัตวแพทย์ กับสถานการณ์ปัจจุบัน” ระหว่างวันที่ 28-29 มกราคม 2553 ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่: คณะสัตว



- แพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2553.
2. Jones GM, Bailey TL. Understanding the basics of mastitis. USA: Virginia Polytechnic Institute and State University; 1998.
  3. ชีรพงศ์ ชีรภัทรสกุล. การทบทวนเอกสารด้านสุขภาพเต้านมในโคนม โรคเต้านมอักเสบและการควบคุมคุณภาพน้ำนมในประมวลสถานภาพองค์ความรู้ด้านสุขภาพโคนม: แนวทางการวิจัยและพัฒนาในอนาคต. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย; 2542.
  4. Sharma N, Singh NK, Bhadwal MS. Relationship of somatic cell count and mastitis: an overview. *Asian-australas. J. Anim. Sci.* 2011; 24 (3): 429 – 38.
  5. Kampa J, Sukolapong V, Chaiyotwittakun A, Rerk-u-suke S, Polpakdee A. Chronic mastitis in small dairy cattle herds in Muang Khon Kaen. *Thai J. of Vet. Med.* 2010; 40(3): 265-72.
  6. รัชฎาพร ไชยคุณ, ศุภณิดา สุระวงศ์, ศุภลรัตน์ บุญยยาตรา, วิทยา สุริยาสถาพร. ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการในแม่โครีดนมหลังคลอดในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน. *เชียงใหม่สัตวแพทยสาร.* 2548; 3: 31-42.
  7. กิตติศักดิ์ อัจฉริยะขจร. เต้านมอักเสบในโคนม “เข้าใจปัญหา หาแนวทางควบคุมป้องกันและรักษา”. *จดหมายข่าวโคนม.* 2547; 8: 2-5.
  8. ชีรพงศ์ ชีรภัทรสกุล. รูปร่างของแม่โคกับโรคเต้านมอักเสบ. *วารสารโคนม* 2547; 21(3): 41-3.
  9. ศุภมิตร เมฆฉาย. เอกสารประกอบการสอนวิชาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์. เชียงใหม่ : ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2548.
  10. FAO. The State of Food and Agriculture Organization of the United Nations. Italy : Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2009.
  11. ชวนิศนดากร วรวรรณ. การเลี้ยงโคนม. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช ; 2534.
  12. Morris CA. A review of genetic resistance to disease in *Bos taurus* cattle. *The Veterinary Journal.* 2007; 174(3): 481-91.
  13. Heyen DW, Weller JI, Ron M, Band M, Beever JE, Feldmesser E, et al. A genome scan for QTL influencing milk production and health traits in dairy cattle. *Physiol Genomics.* 1999; 1: 165-75.

14. Schrooten C, Bovenhuis H, Coppieters W, Van Arendonk JA. Whole genome scan to detect quantitative trait loci for conformation and functional traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2000; 83(4): 795–806.
15. Klungland H, Sabry A, Heringstad B, Olsen HG, Gomez-Raya L, Våge DI. Quantitative trait loci affecting clinical mastitis and somatic cell count in dairy cattle. *Mamm Genome.* 2001; 12: 837-42.
16. Kühn Ch, Bennewitz J, Reinsch N, Xu N, Thomsen H, Looft C. Quantitative trait loci mapping of functional traits in the German Holstein cattle population. *J Dairy Sci.* 2003; 86: 360-8.
17. Lund MS, Guldbrandtsen B, Buitenhuis AJ, Thomsen B, Bendixen C. Detection of quantitative trait loci in Danish Holstein Cattle affecting clinical mastitis, somatic cell score, udder conformation traits, and assessment of associated effects on milk yield. *J Dairy Sci.* 2008; 91(10): 4028-36.
18. Sodeland M, Kent MP, Olsen HG, Opsal MA, Svendsen M, Sehested E. Quantitative trait loci for clinical mastitis on chromosomes 2, 6, 14 and 20 in Norwegian Red cattle. *Anim Genet.* 2011; 42(5): 457–65.
19. Kelm SC, Detilleux JC, Freeman AE, Kehrl ME, Dietz AB, Fox LK. Genetic association between parameters of innate immunity and measures of mastitis in periparturient Holstein cattle. *J Dairy Sci.* 1997; 80: 1767-75.
20. Sharif S, Mallard BA, Sargeant JM, Scott HM, Dekkers JCM, Leslie KE. Association of major histocompatibility complex DRB3 (BoLA-DRB3) alleles with occurrence of disease and milk somatic cell score in Canadian dairy cattle. *Animal Genetics,* 1998; 29: 185-93.
21. Youngerman SM, Saxton AM, Oliver SP, Pighetti GM. Association of CXC2 polymorphisms with subclinical and clinical mastitis in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2004; 87: 2442-8.
22. Adlerova L, Bartoskova A, Faldyna M. Lactoferrin: a review. *Veterinari Medicina.* 2008; 53(9): 457-68.
23. Li GH, Zhang Y, Sun DX, Li N. Study on the polymorphism of bovine Lactoferrin gene and its relationship with mastitis. *Anim Biotechnol.* 2004; 15(1): 67-76.

24. Pfaffl MW, Wittmann SL, Meyer HHD, Bruckmaier RM. Gene expression of immunologically important factors in blood cells, milk cells, and mammary tissue of cows. *J. Dairy Sci.* 2003; 86(2): 538–45.
25. Goldammer T , Zerbe H, Molenaar A, Schuberth HJ, Brunner RM, Kata SR , et al. Mastitis increases mammary mRNA abundance of  $\beta$ -Defensin 5, Toll-Like-Receptor 2 (TLR2), and TLR4 but Not TLR9 in cattle. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.* 2004; 11: 174-85.
26. Schwerin M, Czernek-Schäfer D, Goldammer T, Kata SR, Womack JE, Pareek R, et al. Application of disease-associated differentially expressed genes-mining for functional candidate genes for mastitis resistance in cattle. *Genet. Sel. Evol.* 2003; 35: 19–34.
27. Sharma N, Rho GJ, Hong YH, Kang TY, Lee HK, Hur TY. Bovine mastitis: an asian perspective. *Asian J Anim Vet Adv.* 2012; 7: 454-76.
28. กรมปศุสัตว์ กองบำรุงพันธุ์สัตว์. พันธุ์สัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2546. หน้า 1-2.
29. Duangjinda M, Buayai D, Pattarajinda V, Phasuk Y, Katawatin S, Vongpralub T, et al . Detection of bovine leukocyte antigen DRB3 alleles as candidate markers for clinical mastitis resistance in Holstein × Zebu. *J. of. Anim. Sci.* 2009; 87: 469-76.
30. Chomdej S, Pradit W, Nganvongpanit K, Rojanasthien S. Marker identification for mastitis and its association in Thai-Friesian cattle in northern Thailand. *J Anim Vet Adv.* 2011; 10: 2783-9.