

麝鼠香腺发育及腺细胞培养分离的初步研究

李臣光¹ 安培培² 王大涛² 赵全民^{1*} 李春义^{2,3*}

(1 吉林农业大学中药材学院, 长春 130118)

(2 中国农业科学院特产研究所 特种经济动物分子生物学国家重点实验室, 长春 130112)

(3 长春科技学院生命科学院, 长春 130600)

摘要: 目前麝鼠香是麝香最好的天然替代物, 麝鼠香来源于麝鼠生殖系统中的香腺, 已发现其香腺中分泌细胞和支持细胞是麝鼠泌香的关键。本研究通过组织形态、HE 染色、免疫组织化学染色及免疫荧光鉴定方法, 初步描述了麝鼠香腺的发育过程。麝鼠香腺的形态结构显示其由小到大再至非泌香期萎缩; HE 染色及组化结果显示, 香腺在发育初期富含颗粒饱满的腺泡, 雄激素分泌处于较低水平, 分泌细胞数量较少, 随着进一步发育, 雄激素水平及分泌细胞数量逐渐升高, 在两个月时达到最高, 腺泡逐渐变大成熟并开始释放麝鼠香等分泌物; 在泌香末期, 腺泡逐渐被结缔组织取代。以上结果将有助于麝鼠香腺发育及分泌机制的研究, 为提高麝香产量及实现体外泌香建立基础。另外, 我们成功分离并鉴定了分泌细胞和支持细胞, 以期为后续建立体外泌香体系奠定基础。

关键词: 麝鼠香; 形态学; 组织学

中图分类号: Q459

文献标识码: A

文章编号: 1000-1050 (2020) 02-0175-08

A preliminary study on the development of muskrat's musk gland and the isolation of glandular cells

LI Chengguang¹, AN Peipei², WANG Datao², ZHAO Quanmin^{1*}, LI Chunyi^{2,3*}

(1 College of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

(2 State Key Laboratory of Special Economic Animal and Molecular Biology, Special Production Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China)

(3 College of Life Sciences, Changchun Sci-Tech University, Changchun 130600, China)

Abstract: Muskrat (*Ondatra zibethicus*) musk is known as the best natural substitute for musk from musk deer. Muskrat musk is produced by the scent glands of the male muskrat reproductive system in spring. The glandular cells and stroma (supporting) cells are the key cells for secretion of muskrat musk. This study investigated the development stages of muskrat scent glands through the techniques of histomorphology, immunohistochemical staining and immunofluorescence. Histological and immunohistochemical staining showed that the scent glands were rich in small, rounded acini (secretory units) at the initial stage, where both the androgen level and number of the secretory cells in the scent glands were at a minimum. Coincident with the development of the scent glands, the acini became gradually bigger, and the androgen level and number of the secretory cells increased, reaching a maximum in two months. By the end of the developmental stage, the acini were atrophied and replaced by connective tissue. We further isolated and characterized the secretory cells and supporting cells. We believe that our results have laid the foundation for constructing an in vitro system for the production of musk, which would help mitigate the short supply of musk in the market.

Key words: Muskrat musk; Morphology; Histology

麝香是一种比黄金还珍贵的香料和中药。其香味浓郁, 经久不散, 在香料工业和医药工业中都有

十分重要的价值。据报道, 我国医药行业平均每年至少要消耗 1 000 kg 麝香 (王玉玲和哈成勇,

基金项目: 利用细胞共培养模型研究麝 (鼠) 香腺的分泌机制实现离体泌香 (探索) (20160101338JC)

作者简介: 李臣光 (1995-), 男, 在读硕士研究生, 主要从事野生动物保护研究。E-mail: 1395453088@qq.com.

收稿日期: 2019-07-08; 修回日期: 2019-12-24

©1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

* 通讯作者, Corresponding authors, E-mail: 2088900885@qq.com; lichunyi1959@163.com

2018)。但是由于价格昂贵,过度开发导致麝及麝香极度匮乏。目前已找到的替代品有人工合成麝香、人造麝香、人工养殖麝取香等。但是人造麝香大量使用化学合成品,对土壤和水资源的污染非常严重。目前麝鼠香可以作为麝香的天然替代品 (Green, 1986; 蔡琳和刘双双, 2017)。

麝鼠 (*Ondatra zibethicus*) 又名青根貂, 是原产北美的一种中型半水生啮齿动物, 是麝鼠属中的唯一一种 (Mychajliw and Harrison, 2014)。在雄性麝鼠中有一特殊的器官——香腺, 因成分和作用与天然麝香相似, 引起学术界的广泛关注 (竭航等, 2015)。麝鼠香是吸引雌性的重要信息素, 并且化学分析表明麝鼠香含有多种药理成分, 如麝香酮、大环酮类、肽类和氨基酸等 (李宝唐, 1994; 牛峻等, 1999), 同时还具有多种药理活性, 例如降低心脏速率、降低心肌耗氧量、抗炎、抗肿瘤、止痛、抗菌性能、降低动脉血压和促进生长等 (尹士敏和王士贤, 2002; 陈玉山等, 2007; 曹喜红和周远大, 2007)。到目前为止国内外关于麝鼠的研究多为麝鼠香腺的组织学结构、麝鼠香的药理成分分析等 (华树芳和佟煜人, 1985; 陈玉山等, 1996a, 1996b; Keller *et al.*, 1996; Li *et al.*, 2011; Lu *et al.*, 2011, 2014)。对麝鼠香腺的泌香机制和如何增加泌香量的研究仍然很少 (Li *et al.*, 2017a, 2017b; Zhang *et al.*, 2019)。

由于天然麝香及产品的禁用, 目前国内外高级化妆品和有关医药生产所需要的动物香料主要来源于麝鼠所提取的麝鼠香 (孙同望, 2000)。但是目前麝鼠香产量匮乏, 单从养殖麝鼠中收集难以满足市场需要。通过生物技术方法实现麝鼠香工业化生产将作为一种新的途径 (赵伟刚等, 2009)。建立麝鼠香腺细胞系, 并构建模拟活体离体共培养模型, 实现分泌细胞离体分泌麝鼠香, 这将会产生巨大的经济和社会效益。为了更好地研究和利用麝鼠香腺, 本文通过观察不同年龄段麝鼠香腺的形态学、组织学, 研究了麝鼠香腺的发育过程, 揭示分泌细胞、支持细胞的发育过程; 以及对麝鼠香腺细胞进行原代培养, 分离与鉴定, 并且将分离出的分泌细胞及支持细胞用于体外共培养泌香, 以期为提高麝香产量满足市场对麝鼠香的需求, 及实现离体泌香建立基础。

1 研究方法

1.1 实验动物

不同年龄段雄性麝鼠 18 只由中国农业科学院特产研究所提供。分别取 7 d、15 d、30 d、60 d、90 d 及成年 (5~6 个月) 麝鼠各 3 只, 以每 300 g 体重注射 1 mL 10% 水合氯醛 (国药集团化学试剂有限公司) 腹腔麻醉, 于无菌环境下解剖取出香腺, 拍照记录后一半迅速置于 4℃ 预冷的 500 U/mL 青、链霉素 (美国 BI 公司 03-031-1B) PBS (北京索莱宝科技有限公司) 中, 冲洗 5 次后备用; 另一半固定于 4% 多聚甲醛 (国药集团化学试剂有限公司) 液中, 48 h 后流水冲洗 2 h, 75% 乙醇常规脱水, 用石蜡包埋机 (德国 LEICA-EG1150C) 包埋。切片机 (德国 LEICA-RM2255) 切片 5 μm 备用。

1.2 麝鼠香腺组织切片染色

切片 HE 常规染色; 免疫组织化学常规染色。分别以 Anti-Androgen Receptor (ab3509)、Anti-Vimentin (ab8978)、Anti-CK18 (bsm-33101M) (丁旭娜等, 2012; Lu *et al.*, 2014) 作为第一抗体, 1:100 稀释, PBS 作为对照, 4℃ 过夜孵育。第二天添加通用型第二抗体 (福州迈新生物技术开发有限公司 KIT-9710) 孵育 30 min, 洗去第二抗体, DAB (福州迈新生物技术开发有限公司 DAB-2031) 显色。正置荧光显微镜 (日本 Nikon-90i) 下观察。

1.3 麝鼠细胞原代培养及鉴定

将处于泌香期的麝鼠香腺于无菌环境中取出, 并迅速置于 4℃ 预冷的 500 U/mL 青、链霉素 PBS 中, 冲洗后备用; 用眼科剪刀将香腺组织剪碎, 放入 15 mL 离心管中加入 I 型胶原蛋白酶 (美国 Life Technology 公司 17100-017), 不断震荡消化至显微镜 (奥林巴斯 CKX41-32PH 倒置显微镜) 下观察外层纤维组织消失后, 离心机 (低速离心机, 湘仪) 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清; 收集细胞及组织小块, 用无血清的 DMEM/F-12 (美国 Gibco 公司 C11330500BT) 培养液洗 1 次后接种到培养液中, 放入培养箱 (ESPEC BNA-311 型 CO₂ 培养箱) 中培养; 3~4 d 后观察细胞的贴壁情况, 在倒置显微镜下可以看到细胞从香腺组织小块周围生长出来, 饱满透明, 立体感较强, 为香腺原代细胞

(姜峰等, 2006)。当麝鼠香腺分泌细胞及支持细胞在 10 cm 培养皿中生长到 80% 汇合时, 用 3 mL PBS 清洗两次, 加入 1 mL 0.25% Trypsin/EDTA (美国 Life Technology 27250-018) 溶液, 置 37℃ 2 min, 加入 4 mL 完全培养基和消化液, 轻轻吹打细胞使之分散成单个细胞。100 g 离心细胞, 去掉上清液后, 用 2 mL 完全培养基重悬细胞, 按照每孔接种 $3 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ 个细胞, 培养至密度达到 60%, 4% 多聚甲醛固定 20~60 min, PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min。弃去多聚甲醛, PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min, 注意洗涤尽量不要太剧烈, 避免把细胞洗脱。用含 3% BSA 的 PBS 作为封闭液封闭 30~60 min。PBS 洗 3 次, 每次 10 min。Anti-CK18 和 Anti-Vimentin 作为鉴定上皮细胞和成纤维细胞的第一抗体, 1:100 稀释孵育 1~2 h, PBS 洗涤 3 次, 每次 10 min。Alexa Fluor[®] 488-conjugated Goat anti-Mouse IgG (H+L) (北京中山杉金桥有限公司) 1:200 稀释, 孵育 30~60 min。DAPI (碧云天生物技术有限公司

司 C1006) 复染 3~5 min, PBS 洗 2 次每次 5 min。倒置荧光显微镜下观察 (美国 Life Tech)。

2 结果

2.1 麝鼠香腺的形态

麝鼠香腺位于雄性麝鼠下腹部与皮肤之间, 附睾囊上方, 阴囊两侧, 呈扁椭圆形, 左右各一, 呈对称状 (图 1a)。麝鼠香腺的表面有厚度不均的薄层致密结缔组织被膜, 周围不平整; 表面布有毛细血管, 触感如海绵可见曲折状腺泡, 内含脂性油状黄色粘液为麝鼠香原液, 质地柔软富有弹性, 具有浓厚芳香气味。我们观察了麝鼠香腺 7 d、15 d、30 d、60 d、90 d 至成年的形态学发育过程 (图 1)。出生后 7~30 d 内香腺发育比较缓慢, 最大时 (1.567 ± 0.08819) cm (图 1d), 在 90 d 左右显著增大 (3.667 ± 0.08819) cm (图 1f), 到成年时最大 (5.700 ± 0.05774) cm (图 1g)。

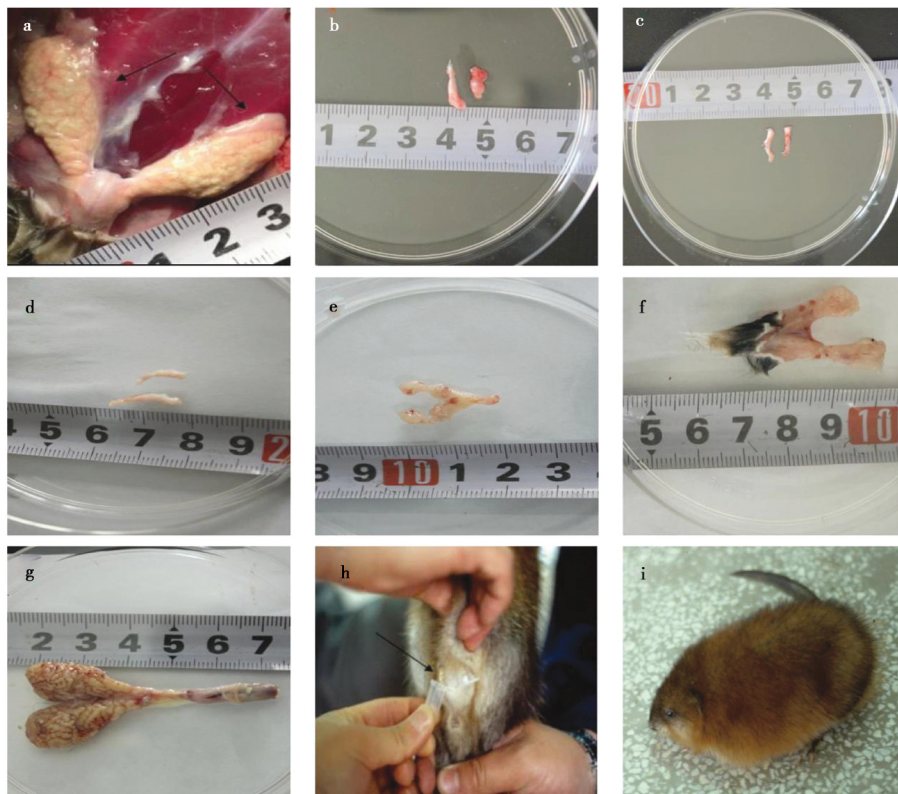


图 1 麝鼠香腺的形态学观察. a: 呈对称性分布的麝鼠香腺组织; b: 7 d 的麝鼠香腺; c: 15 d 的麝鼠香腺; d: 30 d 的麝鼠香腺; e: 60 d 的麝鼠香腺; f: 90 d 的麝鼠香腺; g: 成年的麝鼠香腺; h: 麝鼠采香; i: 成年麝鼠

Fig. 1 Morphological observation of muskrat gland development. a: Symmetrical distribution of muskrat gland; b: 7 days muskrat gland; c: 15 days muskrat gland; d: 30 days muskrat gland; e: 60 days muskrat gland; f: 90 days muskrat gland; g: adult muskrat gland; h: muskrat picking; i: adult muskrat

2.2 麝鼠香腺组织学结果

麝鼠香腺在光学显微镜下观察：香腺内布满腺泡，呈圆形、椭圆形、蚕豆型等不规则形状。腺泡内含有致密度高的分泌颗粒。分泌细胞呈现多种形态，有锥形、圆形、椭圆形及不规则形，周围有成纤维细胞形成的支持细胞，核呈三角形或梭形。麝鼠出生 7 d 开始香腺组织内细胞致密，腺泡较少，

结缔组织较少（图 2a）；30 d 内变化不大（图 2b, c）；60 d 后明显变化，腺泡变多，香腺囊体内分泌物饱满（图 2d）；90 d 成熟后分泌颗粒开始与细胞膜接触、融合、破裂、释放分泌物（图 2e）。同时，在细胞分泌颗粒转出后，分泌细胞的整个体积缩小，或分泌细胞局部大量减少，最后腺泡被结缔组织取代（图 2f）。

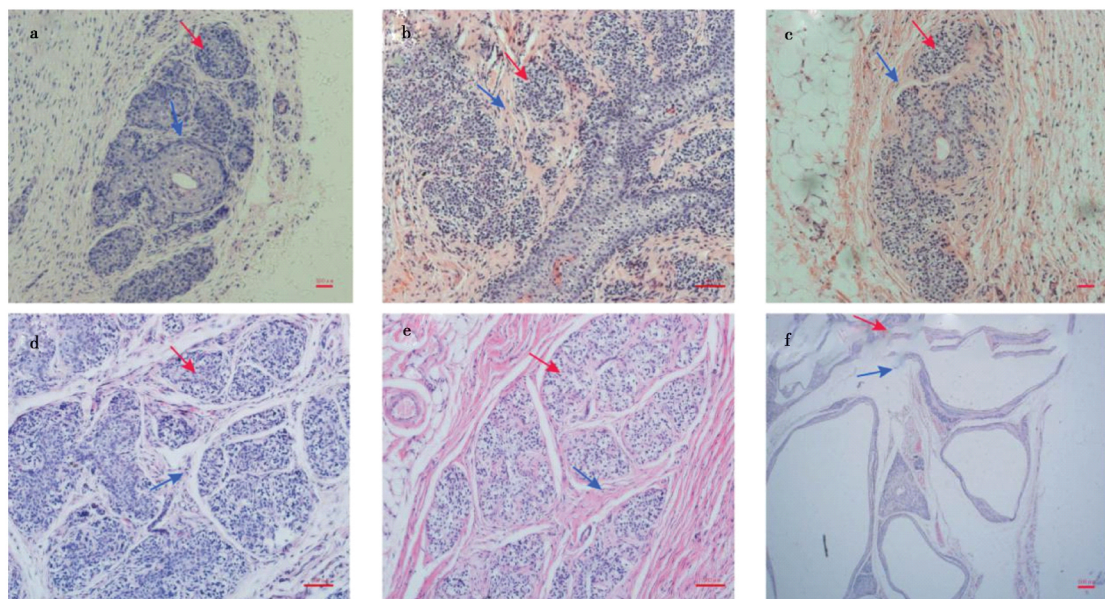


图 2 麝鼠香腺的组织学结果。a: 7 d 的麝鼠香腺；b: 15 d 的麝鼠香腺；c: 30 d 的麝鼠香腺；d: 60 d 的麝鼠香腺；e: 90 d 的麝鼠香腺；f: 成年的麝鼠香腺；红色箭头为分泌细胞所在位置，蓝色箭头为支持细胞所在位置；Bar=500 μm

Fig. 2 Histological observation of muskrat gland development. a: 7 days muskrat gland; b: 15 days muskrat gland; c: 30 days muskrat gland; d: 60 days muskrat gland; e: 90 days muskrat gland; f: adult muskrat gland; Secretory cells (red arrow), and supporting cells (blue arrow); Bar=500 μm

2.3 麝鼠香腺的免疫组织化学染色结果

麝鼠出生 7 d 即可检测到雄激素受体（图 3a），60 d 时有明显变化，密度最高，颜色最深（图 3d）；出生 7 d 未检测到分泌细胞（图 4a），15 d 后个别腺泡开始出现分泌细胞（图 4b），30 d 后逐渐增多（图 4c），60 d 时可见着色较多且较深（图 4d），90 d 后及成年分泌细胞检测恢复正常（图 4e, f）。支持细胞具有辅助分泌细胞分泌麝鼠香的作用，其存在于麝鼠成长的各个阶段，主要围绕腺泡周围生长，总体看来并没有明显的变化趋势（图 5）。

2.4 免疫荧光鉴定细胞培养结果

麝鼠香腺细胞原代培养后经免疫荧光方法鉴定结果如图 6。分泌细胞属于上皮细胞主要表达 CK-18，成纤维细胞（支持细胞）主要表达 Vimentin。分离纯化后的分泌细胞及支持细胞生长状态良好，

纯度达 90% 左右，将用于共培养实现体外泌香。对照组几乎不表达。

3 讨论

天然动物香料目前只有麝香、灵猫香、海狸香、龙涎香和麝鼠香。然而随着麝等珍稀动物的濒临灭绝，天然麝香等产品已禁用，这使得现阶段麝鼠香的开发成为天然动物香料研发的重点（陈玉山和魏海军，2002）。麝鼠香来源于麝鼠香腺，属于外分泌腺，研究表明，其泌香过程由腺体的分泌细胞和支持细胞完成，分泌细胞司分泌功能，支持细胞决定分泌物的性质（Cunha *et al.*, 1998）。比如麝鼠香腺分泌麝鼠香就是由其支持细胞所决定。根据这一特点建立麝鼠香腺细胞系实现体外泌香，达到产业化，这对于动物香料业来说具有很大的经济意义。

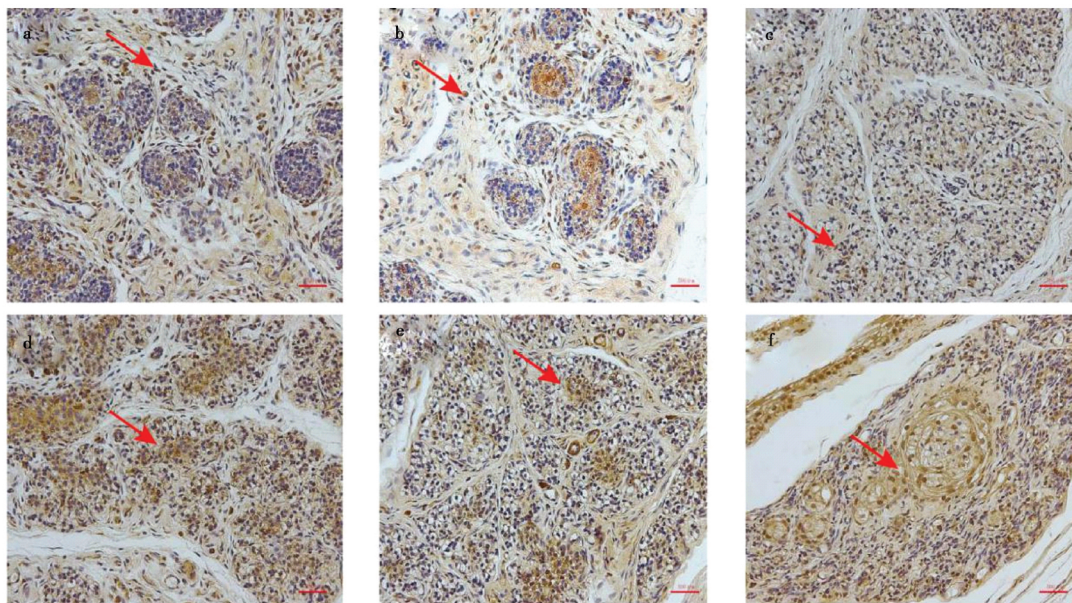


图3 麝鼠香腺的雄激素受体检测结果 . a: 7 d 的麝鼠香腺; b: 15 d 的麝鼠香腺; c: 30 d 的麝鼠香腺; d: 60 d 的麝鼠香腺; e: 90 d 的麝鼠香腺; f: 成年的麝鼠香腺; 红色箭头为雄激素受体所在位置; Bar=500 μ m

Fig.3 Examination and observation of androgen receptors in muskrat glands. a: 7 days muskrat gland; b: 15 days muskrat gland; c: 30 days muskrat gland; d: 60 days muskrat gland; e: 90 days muskrat gland; f: adult muskrat gland; Red arrow points the location of androgen receptor; Bar=500 μ m

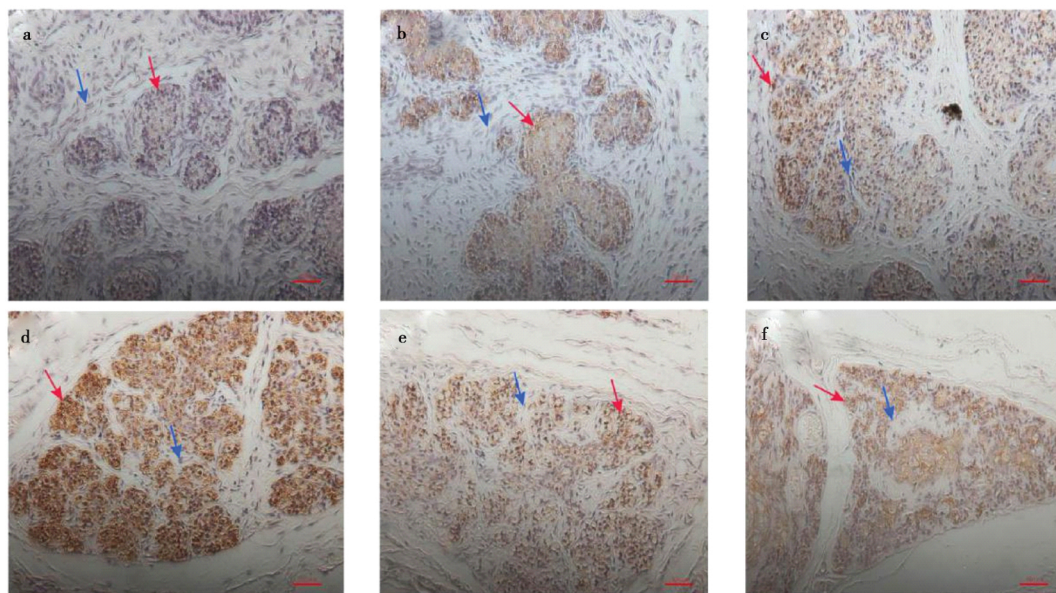


图4 麝鼠香腺的分泌细胞标志物 CK-18 检测结果 . a: 7 d 的麝鼠香腺; b: 15 d 的麝鼠香腺; c: 30 d 的麝鼠香腺; d: 60 d 的麝鼠香腺; e: 90 d 的麝鼠香腺; f: 成年的麝鼠香腺; 红色箭头为分泌细胞所在位置, 蓝色箭头为支持细胞所在位置; Bar=500 μ m

Fig.4 Examination and observation of secretory cells Marker CK-18 in muskrat gland. a: 7 days muskrat gland; b: 15 days muskrat gland; c: 30 days muskrat gland; d: 60 days muskrat gland; e: 90 days muskrat gland; f: adult muskrat gland; Red arrow points the location of secretory cells, and blue arrow points the location of supporting cells; Bar=500 μ m

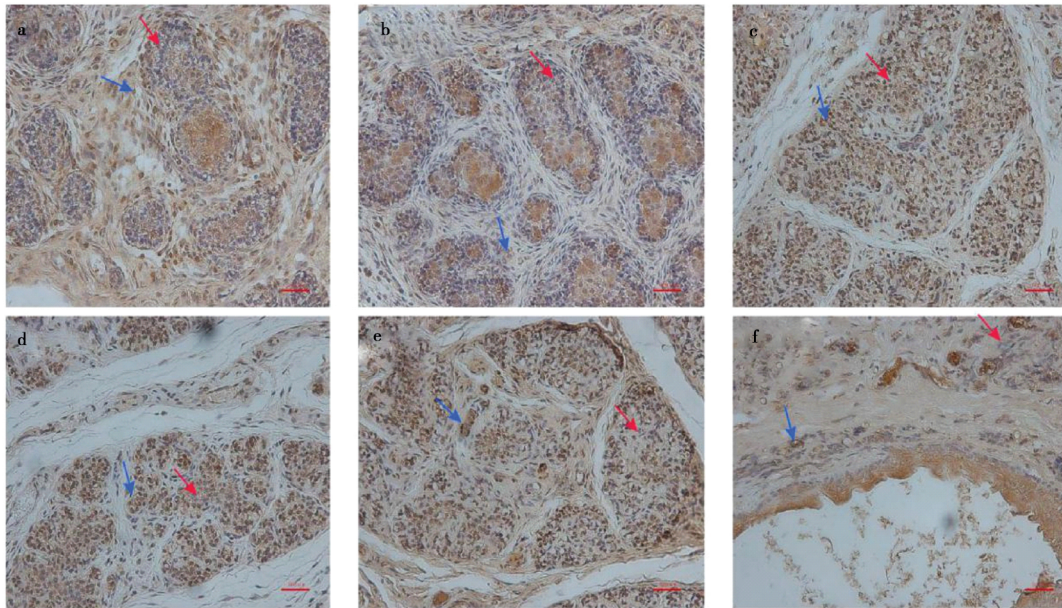


图5 麝鼠香腺的支持细胞标志物 Vimentin 检测结果 . a: 7 d 的麝鼠香腺; b: 15 d 的麝鼠香腺; c: 30 d 的麝鼠香腺; d: 60 d 的麝鼠香腺; e: 90 d 的麝鼠香腺; f: 成年的麝鼠香腺; 红色箭头为分泌细胞所在位置, 蓝色箭头为支持细胞所在位置; Bar=500 μ m

Fig. 5 Examination and observation of supporting cell Marker Vimentin in muskrat glands. a: 7 days muskrat gland; b: 15 days muskrat gland; c: 30 days muskrat gland; d: 60 days muskrat gland; e: 90 days muskrat gland; f: adult muskrat gland; Red arrow points the location of secretory cells, and blue arrow point the location of supporting cells; Bar=500 μ m

麝鼠香腺的发育及泌香受多种因素的调控, 其中雄激素为最主要的一个因子。雄激素介导广泛的发育和生理反应, 促进雄性生殖器官形成, 外分泌腺的生长发育等 (Keller *et al.*, 1996; 陆路, 2014)。在麝鼠中, 外周睾酮浓度的季节变化与香腺产物呈正相关, 繁殖季节表现出较高的值, 这表明麝鼠的腺体功能依赖于雄激素, 并有可能在香腺细胞的自分泌和旁分泌过程中发挥着重要作用 (Lu *et al.*, 2011)。在繁殖期麝鼠香腺细胞中发现了 P450_{scc} 与 P450_{c17}, 说明繁殖期麝鼠香腺细胞自身拥有合成雄性激素的能力, 这进一步证明了麝鼠香腺细胞为雄性激素的靶细胞的观点, 可能直接影响麝鼠的泌香功能 (Li *et al.*, 2011)。有研究显示, 给非泌香期的麝鼠注射丙酸睾丸素可以诱导其泌香, 而且被诱导发育的香腺囊体积与自然泌香盛期香腺囊体积相比差异不大, 可见丙酸睾丸素是刺激香腺发育、诱导麝鼠泌香的重要因素之一 (陈玉山等, 1996b)。

本研究中雄激素受体主要在麝鼠香腺分泌细胞中表达, 这与 Zhang 等 (2017) 对麝鼠香腺中雄激素受体免疫组化表达研究结果一致, 雄激素受体

主要定位于分泌细胞并且在繁殖季节 (泌香期) 最为显著, 推测雄激素作用于雄激素受体后间接作用于麝鼠香腺使其泌香; 除此之外我们又检测了分泌细胞, 与雄激素受体的检测结果一致并呈正相关, 在 60 d 时二者表达最高, 推测麝鼠 60 d 时可能还不泌香, 但是其分泌细胞已经非常活跃。对麝鼠香腺细胞进行原代培养及分泌细胞与支持细胞的分离纯化的结果表明, 我们已成功将分泌细胞与支持细胞分离并鉴定, 证明可以将细胞进行体外培养并可以尝试诱导泌香。

本文通过不同年龄段的麝鼠香腺的形态学和组织学观察及细胞水平上的培养与分离, 主要揭示了麝鼠香腺的初步发育过程, 为实现体外泌香建立基础。我们主要通过免疫组化检测雄激素受体 AR, 分泌细胞和支持细胞的主要标记物 CK-18 和 Vimentin, 这三个因子在麝鼠香腺中的表达情况, 揭示不同阶段分泌细胞和支持细胞的发育过程及雄激素受体 AR 在香腺发育过程中的变化。我们在细胞水平上进行原代培养和香腺分泌细胞及支持细胞的分离鉴定, 证明在体外培养是可行的, 以期为实现体外泌香建立基础。

麝鼠香腺发育机制的研究目前还处于初级阶段。阐明麝鼠香腺的发育机制和其泌香机制, 实现

体外泌香满足市场需求量是未来麝鼠相关研究的重点。

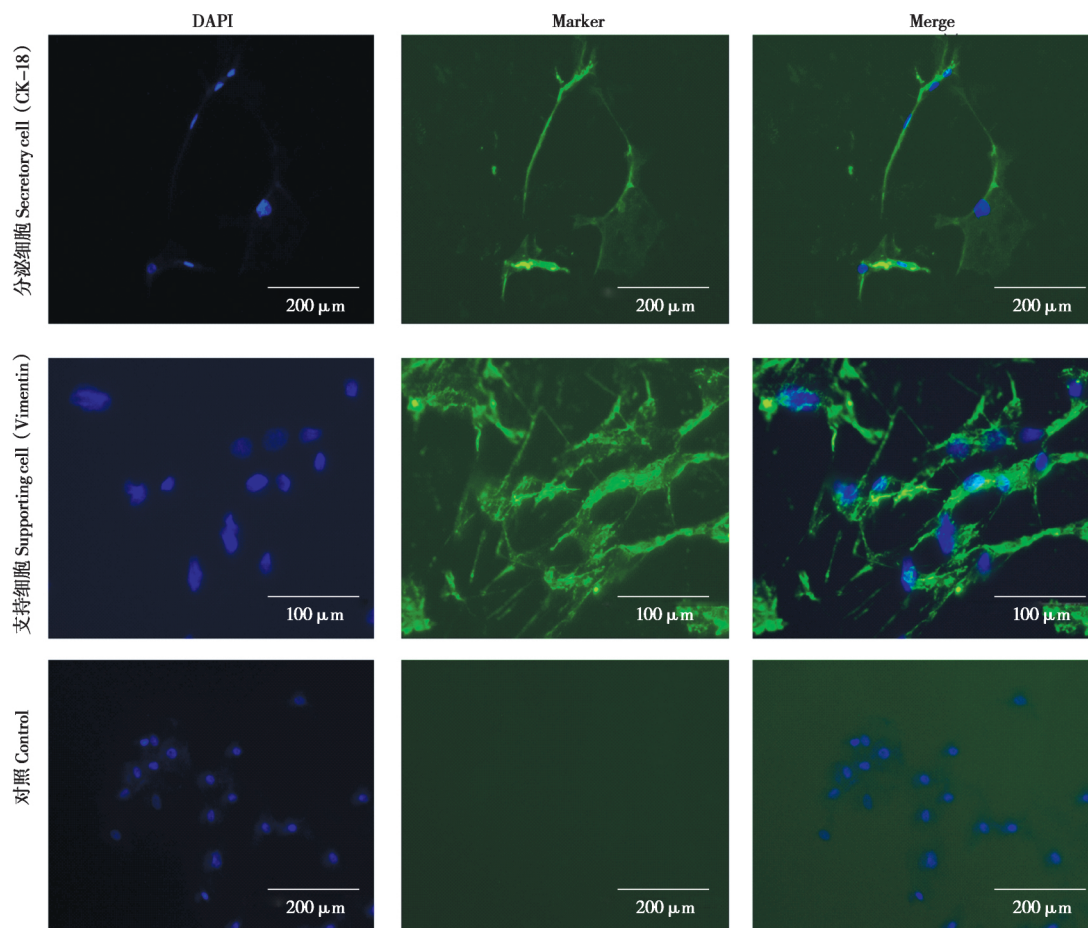


图6 免疫荧光鉴定麝鼠香腺细胞. 蓝色荧光 (DAPI): 细胞核; 绿色荧光: 分泌细胞中 CK-18 的表达, 支持细胞中 Vimentin 的表达; Merge: CK-18 与 DAPI 的复合图, Vimentin 与 DAPI 的复合图; DAPI: 4, 6-二脒基-2-2 苯基吲哚; 对照: 未用 CK-18 或 Vimentin 抗体的 PBS 溶液; Bar=500 μm

Fig. 6 Muskrat gland cells were identified by immunofluorescence. DAPI: cell nucleus; Green fluorescence: expression of CK-18 in secretory cells, expression of Vimentin in supporting cells; Merge: CK-18 merged with DAPI, Vimentin merged with DAPI; DAPI: 4, 6-diamino-2-diphenylindole; Control: PBS solution without CK-18 or Vimentin antibody; Bar=500 μm

致谢: 中国农业科学院特产研究所“特种动物干细胞创新团队”成员在实验材料获取和实验过程中给予支持与帮助; 新西兰 AbacusBio 公司 Peter Fennessy 博士指导本文英文部分写作, 特此感谢。

参考文献:

- Cunha G R, Booutin E L, Turner T, Donjacour A A. 1988, Role of mesenchyme in the development of the urogenital tract. *Journal of Clean Technology Environmental Toxicology and Occupational Medicine*, 7 (2): 179-194.
- Chen Y S, Wei H J. 2002. A new resources of natural animal perfume studies on muskrat perfume product in muskrats. *Flavour Fragrance*

Cosmetics, (5): 12-14, 6. (in Chinese)

- Chen Y S, Zhao W G, Zhao M, Chang Z J, Zhang Y, Ma D W. 2007. Histological observation on musk-secreting scented gland in muskrat. *Chinese Journal of Zoology*, 42 (2): 91-95. (in Chinese)
- Ding X N, Wang F L, Ding Y L, Yang L, Li Y, Yin J F, Zhao Z K. 2012. Identification and in vitro culture of bovine mammary epithelial cells and fibroblast. *Heilongjiang Animal Science And Veterinary Medicine*, (5): 1-5. (in Chinese)
- Green M. 1986. The distribution, status and conservation of the Himalayan musk deer *Moschus chrysogaster*. *Biological Conservation*, 35 (4): 347-375.
- Jie H Z, Zhao G J, Feng X L, Zhang C L, Chen Q, Zeng D J. 2015.

- Research progress on the mechanism of musk secretion in muskrat. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, **37** (3): 65–68. (in Chinese)
- Keller E T, Ershler W B, Chang C. 1996. The androgen receptor: a mediator of diverse responses, *Front Biosci*, **1**: d59.
- Lu L, Zhang H, Lv N, Ma X, Tian L, Hu X, Liu S, Xu M, Weng Q, Watanabe G, Taya K. 2011. Immunolocalization of androgen receptor, aromatase cytochrome P450, estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta proteins during the breeding season in scent glands of muskrats (*Ondatra zibethicus*). *Zoolog Sci*, **28** (10): 727–732.
- Li Q, Weng J, Zhang H, Lu L, Ma X, Wang Q, Cao H, Liu S, Xu M, Weng Q, Watanabe G, Taya K. 2011. Immunohistochemical evidence: testicular and scented glandular androgen synthesis in muskrats (*Ondatra zibethicus*) during the breeding season. *European Journal of Histochemistry*, **55** (4): e32.
- Lu L, Liu S, Li Q, Huang S, Bao L, Sheng X, Han Y, Watanabe G, Taya K, Weng Q. 2014. Seasonal expression of androgen receptor in scented gland of muskrat (*Ondatra zibethicus*). *Gen Comp Endocrinol*, **204** (8): 1–7.
- Li Y, Zhang T, Zhou J, Yang S, Fan M, Sun X, Zhang M, Xu S, Cha M, Hu X, Qi L, Lin S, Liu S, Hu D. 2017a. Transcriptome analysis of muskrat scented glands degeneration mechanism. *PLoS ONE*, **12** (5): e0176935.
- Li Y, Zhang T, Fan M, Zhou J, Yang S, Zhang M, Qi L, Lin S, Hu D, Liu S. 2017b. Comparison of amino acid profiles and metabolic gene expression in muskrat scented glands in secretion and non-secretion season. *Science Report*, **7**: 41158.
- Mychajliw A M, Harrison R G. 2014. Genetics reveal the origin and timing of a cryptic insular introduction of muskrats in north America. *PLoS ONE*, **9** (9): e111856.
- Wang Y L, Ha C Y. 2018. Research progress on musk and artificial propagation technique of forest musk deer. *China Journal of Chinese Materia Medica*, **43** (19): 3806–3810. (in Chinese)
- Zhang T, Peng D, Qi L, Li W, Fan M, Shen J, Yang L, Wang Y, Wang W, Hu X, Cai R, Zhou R, Wei Y, Zhou J, Yang S, Hu D, Liu S. 2017. Musk gland seasonal development and musk secretion are regulated by the testis in muskrat (*Ondatra zibethicus*). *Biological Research*, **50** (1): 10.
- Zhang M, Yang S, Shi M, Zhang S, Zhang T, Li Y, Xu S, Cha M, Meng Y, Lin S, Yu J, Li X Mu A, Hu D, Liu S. 2019. Regulatory roles of peroxisomal metabolic pathways involved in musk secretion in muskrats. *The Journal of Membrane Biology*, **252** (1): 61–75.
- Zhao W G, Chen Y S, Zhao M, Li X W, Liu D Y. 2009. Study on the comparison for the muskrat perfume secretion of fragrant gland cell cultured in vitro and that in nature. *Special Wild Economic Animal And Plant Research*, **31** (4): 50–53. (in Chinese)
- 丁旭娜, 王凤龙, 丁玉林, 杨磊, 李瑜, 尹景峰, 赵占宽. 2012. 奶牛乳腺上皮细胞和成纤维细胞的体外培养与鉴定. 黑龙江畜牧兽医, (5): 1–5.
- 牛峻, 于艳秋, 杨英华, 王维杰, 陈建新, 孙跃泉. 1999. 麝鼠泌香期有效成分大环酮类化合物的分析与研究. 检验检疫科学, **9** (3): 41–45.
- 尹士敏, 王士贤. 2002. 麝香的药理作用及临床研究近况. 天津药学, **14** (3): 42–44.
- 王玉玲, 哈成勇. 2018. 林麝的人工繁殖新技术及麝香研究进展. 中国中药杂志, **43** (19): 3806–3810.
- 孙同望. 2000. 麝鼠香的价值. 农村百事通, (2): 10.
- 华树芳, 佟煜人. 1985. 麝鼠生殖系统解剖及公母的识别. 毛皮动物饲养, (1): 35–37.
- 李宝唐. 1994. 麝鼠香化学成分的研究. 中国药学杂志, **29** (7): 396–397.
- 陈玉山, 赵伟刚, 赵蒙, 常忠娟, 张宇, 马东伍. 2007. 麝鼠香腺泌香的组织学观察. 动物学杂志, **42** (2): 91–95.
- 陈玉山, 金顺丹, 佟煜人, 高秀华, 周爱莲, 徐尔真, 刘春香, 毋英杰. 1996a. 麝鼠泌香期香囊腺形态及组织结构的研究. 兽类学报, **16** (2): 151–154.
- 陈玉山, 佟煜人, 高秀华, 魏海军, 李忠宽, 王深玲. 1996b. 麝鼠香腺发育与活体取香的初步研究. 兽类学报, **16** (1): 43–47.
- 陈玉山, 魏海军. 2002. 天然动物香料新资源—麝鼠香香料新产品的研究. 香料香精化妆品, (5): 12–14, 6.
- 陆路. 2014. 性类固醇激素对麝鼠泌香腺功能的调节作用. 北京: 北京林业大学硕士学位论文.
- 姜峰, 张学明, 韩小虎, 韩春田, 岳占碰, 邓旭明. 2006. 麝鼠香囊腺形态学观察及腺上皮体外培养初报. 中国农学通报, (11): 40–43.
- 赵伟刚, 陈玉山, 赵蒙, 李晓文, 刘大有. 2009. 体外细胞分泌与自然分泌的麝鼠香化学成分比较研究. 特产研究, **31** (4): 50–53.
- 曹喜红, 周远大. 2007. 麝香抗炎作用的研究进展. 中国药房, **18** (21): 1662–1664.
- 竭航, 赵贵军, 封孝兰, 张承露, 陈强, 曾德军. 2015. 麝鼠泌香机制研究进展. 特产研究, **37** (3): 65–68.
- 蔡琳, 刘双双. 2017. 麝香药材替代品的研究进展. 安徽化工, **43** (6): 16–17.