

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2024.09.010

竭航, 赵贵军, 曾德军, 等. 成熟麝香、白香及麝鼠香的扫描电镜观察研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2024, 46(9): 105-111.

成熟麝香、白香及麝鼠香的扫描电镜观察研究

竭航¹, 赵贵军¹, 曾德军¹, 封孝兰¹, 张承露¹, 郑程莉²

1. 重庆市药物种植研究所/重庆金佛山森林生态系统野外科学观测研究站, 重庆 南川 408435;

2. 四川养麝研究所 繁育研究室, 成都 611845

摘要: 通过光学显微镜观察与电镜扫描对比分析成熟麝香、白香和麝鼠香 3 种样品之间的差异, 并对林麝香囊皮肤进行了观测, 旨在探究麝香的生理分泌机理. 结果表明: 成熟麝香主要由 10~200 μm 不规则云状团块组成, 在团块上附着或者周围散布着较为模糊的星云状物质. 白香的均一性较好, 光镜下显示为高密度星云状, 电镜下呈现为葡萄状样颗粒簇, 单一颗粒直径约为 0.2 μm , 夹杂少许椭圆形细胞结构和干酪样不规则团块. 麝鼠香视野在电镜下较为模糊, 但也呈现为葡萄状样颗粒簇, 单一颗粒大小为 0.5~2 μm . 林麝香囊颈部皮肤存在多个约 2 mm² 的排泄小孔, 直径约 100 μm . 香囊内壁皮肤也观测到少许 20~100 μm 的排泄小孔.

关键词: 麝香; 白香; 麝鼠香; 扫描电镜

中图分类号: R927

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2024)09-0105-07

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Scanning Electron Microscope Observation of Mature Musk, White Musk and Muskrat Musk

JIE Hang¹, ZHAO Guijun¹, ZENG Dejun¹, FENG Xiaolan¹,
ZHANG Chenglu¹, ZHENG Chengli²

1. Chongqing Institute of Medicinal Plant Cultivation/Jinfo Mountain Forest Ecosystem of Chongqing Observation and Research Station, Nanchuan Chongqing 408435, China;

2. Sichuan Institute of Musk Deer Breeding, Chengdu 611845, China

Abstract: In this study, the differences among mature musk, white musk and muskrat musk samples were compared and analyzed by optical microscope observation and electron microscope scanning. In the meanwhile, the skin of the sachet was observed to explore the physiological secretion mechanism of musk. Results indicate that mature musk is mainly composed of 10~200 μm irregular clouds-like clusters, with rel-

收稿日期: 2023-04-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(81973428, 82274046); 重庆英才计划包干制项目(cstc2021jscx-bgzxm0201); 中央本级重大增减支项目(2060302); 四川省软科学需求项目(2023JDR0053).

作者简介: 竭航, 硕士, 主要从事药用动物遗传研究.

通信作者: 郑程莉, 硕士.

atively blurry nebular like substances attached to or scattered around the clusters. The uniformity of white musk is good, and it appears as a high-density nebula under light microscopy. While the white musk appears as a grape-like particle cluster with a single particle diameter of about $0.2\ \mu\text{m}$ and mixed with a few ellipsoidal cell structures and cheese-like irregular clumps under electron microscopy. The view of muskrat musk under electron microscopy is relatively blurry. It presents as grape-like particle clusters, with a single particle size of $0.5\sim 2\ \mu\text{m}$. There are multiple excretory pores of approximately $2\ \text{mm}^2$ on the neck skin of the sachet, with a diameter of $100\ \mu\text{m}$. A few excretory pores of $20\sim 100\ \mu\text{m}$ were also observed on the inner skin of the sachet.

Key words: mature musk; white musk; muskrat musk; scanning electron microscope

麝香为国家一级保护动物林麝、马麝、原麝香囊中的干燥分泌物,在我国已有 2 000 多年入药史,汉代的《神农本草经》对其就有详细记述,并列为“上品”。《中华人民共和国药典》2020 年版记载,麝香具有开窍醒神、活血通经、消肿止痛的功效^[1]。在《全国中成药处方集》收录的 2 621 个处方中,含麝香的处方就有 295 个^[2]。麝香外观形态不一,一般分为干燥颗粒状的当门子麝香、粉状的散香、水分高的油泥香及熟化障碍的白香^[3]。

20 世纪 80 年代末被列入保护动物之前,麝香样品较容易获取。在未有法律条款限制的情况下,可通过杀麝的方式获取样品。在此背景下,前人在麝香及香囊的显微结构研究方面进行了卓有成效的探索。在香囊的结构方面,1980 年,毕书增等^[4]取家养原麝 8 只,对其香腺囊进行了组织学解剖,结果发现泌香盛期的初香是由香腺上皮细胞分泌,排泄管开口于香囊颈管部将初香输入香囊腔内,香囊内壁为角化复层鳞状上皮层,对麝香起保护作用。1981 年,盛佩蒂等^[5]发现香囊颈管部周围拥有丰富的皮脂腺分部,且在香囊颈、管及香囊内存有大量的乳白色皮脂。

为了进一步探究麝香的超微结构,毕书增等^[6-7]利用扫描和透射电镜对麝香和皮脂进行了观测,结果发现麝香呈云团状,云团之间见少许脂质物,而皮脂呈天然玉块状,表面光滑细腻,与散香中的脂质物相同,并证明了麝香堆叠状团块主要是香腺细胞通过巨顶浆分泌脱落,最终进入香囊腔内的观点。1999 年,倪荷芳^[8]进一步利用扫描电镜对麝香和皮脂进行了观察,结果表明麝香外层由云团形结构与脂质物组成,而皮脂表面光滑无云团形结构。

上述研究结果对研究麝香的分泌形成提供了参考,但无清晰的香囊和麝香电镜结构图。由于年代较久远,杂志社也未保存有原始图片,目前只能根据文字描述进行推测,这对开展林麝分泌熟化机制研究和麝香质量评价工作都带来了诸多困惑。随着近年来观测技术的发展,扫描电镜在中药材显微鉴别方面运用越来越广泛^[9];加之我们在生产上发现较多熟化障碍的白香,且白香与麝鼠香在颜色和形态上存在一定的相似性。为了对麝鼠香的超微结构有直观的了解,并探索白香和麝鼠香在结构上的异同点,本研究结合光镜和扫描电镜的方法,对成熟麝香、白香、麝鼠香及林麝香囊皮肤超微结构等进行观测,以期对名贵中药材麝香的合成、分泌和熟化过程提供基础性支撑。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验动物林麝饲养于四川养麝研究所都江堰麝场和重庆市药物种植研究所药用动物研究室,麝鼠饲养于重庆市药物种植研究所药用动物研究室。

1.2 样品采集

2022 年 6 月,通过人工取香的方法采集分泌旺盛期的麝鼠香,用 $1.5\ \text{mL}$ EP 管分装存放于 $-20\ ^\circ\text{C}$ 冰箱中。2022 年 7 月,收集到 1 头因受伤意外死亡的林麝,用生理盐水彻底将香囊组织冲洗干净,并用眼科镊和眼科剪取香囊颈部皮肤和香囊内皮各 $0.5\ \text{cm}^2$ 备用。2022 年 9 月底,通过人工活麝取香的方法采集已到熟化期林麝的麝香(包括正常成熟的麝香和熟化障碍的白香),用 $1.5\ \text{mL}$ EP 管分装

存放于-20℃冰箱内。

1.3 光镜观察

用解剖针挑取少许成熟麝香、白香、麝鼠香及猪油样品, 置于载玻片中间的位置, 用另一载玻片挤压研细, 加蒸馏水 1~2 滴, 用针搅拌均匀, 将盖玻片与样品一侧接触, 轻轻放下盖玻片, 使液体逐渐扩延, 铺满整个盖玻片, 置于 Olympus 光学显微镜下观察。

1.4 电镜观察

取适量成熟麝香、白香、麝鼠香及香囊皮肤置于 1.5 mL EP 管中, 放于 LABCONCO 冷冻干燥仪中冷冻 6 h, 采用 HITACHI MC1000 设备镀金 120 s, 镀金后置于 HITACHI SU3500 扫描电镜下观察, 加速电压 15 kV。

2 结果与分析

2.1 样品外观形态

经肉眼观测, 正常成熟麝香为红棕色或棕褐色固体(图 1a)。不成熟的白香呈白色奶酪状或者凝固猪油状, 质软(图 1b)。麝鼠香外观与不成熟的白香类似, 白色偏黄, 但不同的是其为酸奶样的可流动液体(图 1c)。将林麝香囊剪开并冲洗干净后发现, 香囊颈部长约 0.5 cm, 颈部皮肤较为光滑, 顺时针和逆时针长有 1 圈毛发, 颈部皮包裹着 1 圈较厚的腺体, 主要为皮脂腺。香囊内壁颜色比颈部皮肤稍红润, 发现有光滑、褶皱以及表皮脱落后留下的不平部分(图 1d)。



d 图中箭头所指的红色小点处为香囊颈部和内壁样品采集部位, 用于电镜观测。

图 1 试验样品的外观特性

2.2 光学显微镜观测

在光镜下,对成熟麝香、白香、麝鼠香及猪油进行了观察,结果表明,成熟麝香由不规则团块堆砌而成,有部分毛发混在其中(图 2a). 白香为一坨脂类物质,在光镜下为均一性较高的油状物质,部分油状物质在蒸馏水中形成空泡样脂滴(图 2b). 麝鼠香密度较白香低很多,颗粒多为散开状(图 2c). 猪油脂肪颗粒的状态与麝鼠香类似,光镜下也呈散开状(图 2d).

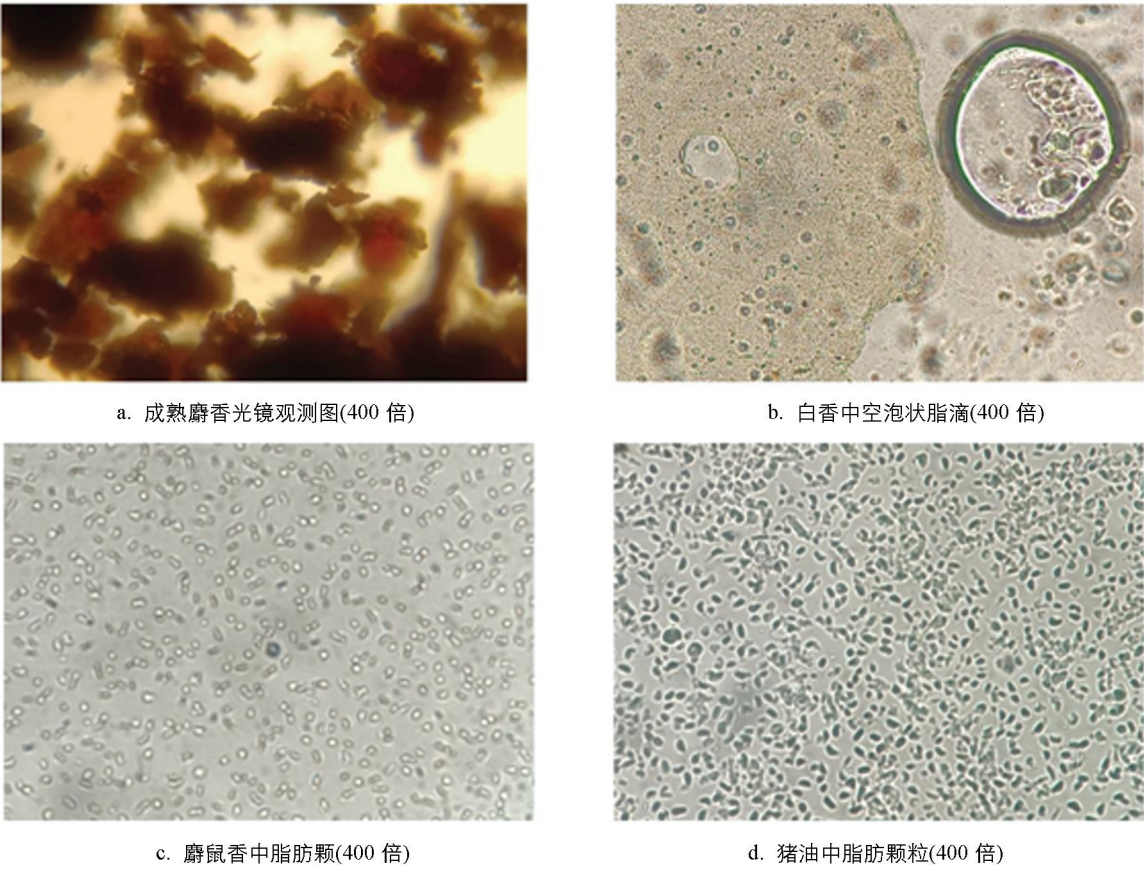


图 2 试验样品的光镜观测结果

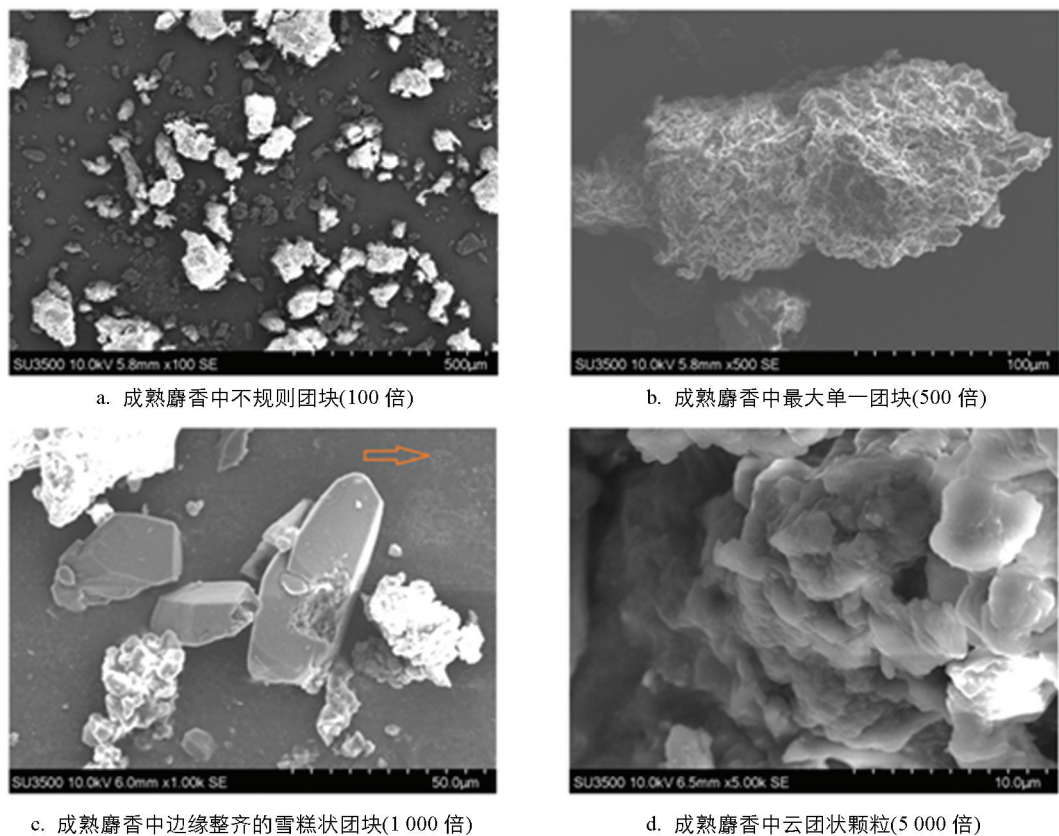
2.3 扫描电镜观测

2.3.1 成熟麝香电镜观测结果

HITACHI SU3500 扫描电镜观测结果表明,成熟麝香呈大小不等且形状各一的团块状(图 3a),单一团块最长约 200 μm (图 3b),最小团块长约 10 μm (图 3c),放大倍数后发现,各团块大多呈卷曲的云团状,边缘有较多形状各一的半岛状颗粒,颗粒直径约 2~5 μm (图 3d). 在云状团块中,还夹杂着边缘整齐的长方体或多边形样团块,团块内部多孔,也含有半岛状凸起的颗粒,在云状团块周围,散布着较为模糊的星云状物质(图 3c).

2.3.2 白香电镜观测结果

在电镜下,白香的均一性较好,放大 500 倍后显示为高密度星云状(图 4a). 对星云状物质放大至 10 000 倍后呈现为葡萄状样颗粒簇,单一颗粒直径约 0.2 μm (图 4b),与成熟麝香半岛状颗粒凸起相比,直径更小,边缘更圆润. 在星云状物质中,分布少许椭圆形细胞结构,纵径约 30 μm ,横径约 20 μm ,在该结构边缘分布着较多细小颗粒(图 4c). 此外,在白香中还发现个别干酪样不规则团块,团块中有裂缝,表面分布有细小颗粒(图 4d).



c 图中箭头所指为星云状物质.

图 3 成熟麝香电镜观测结果

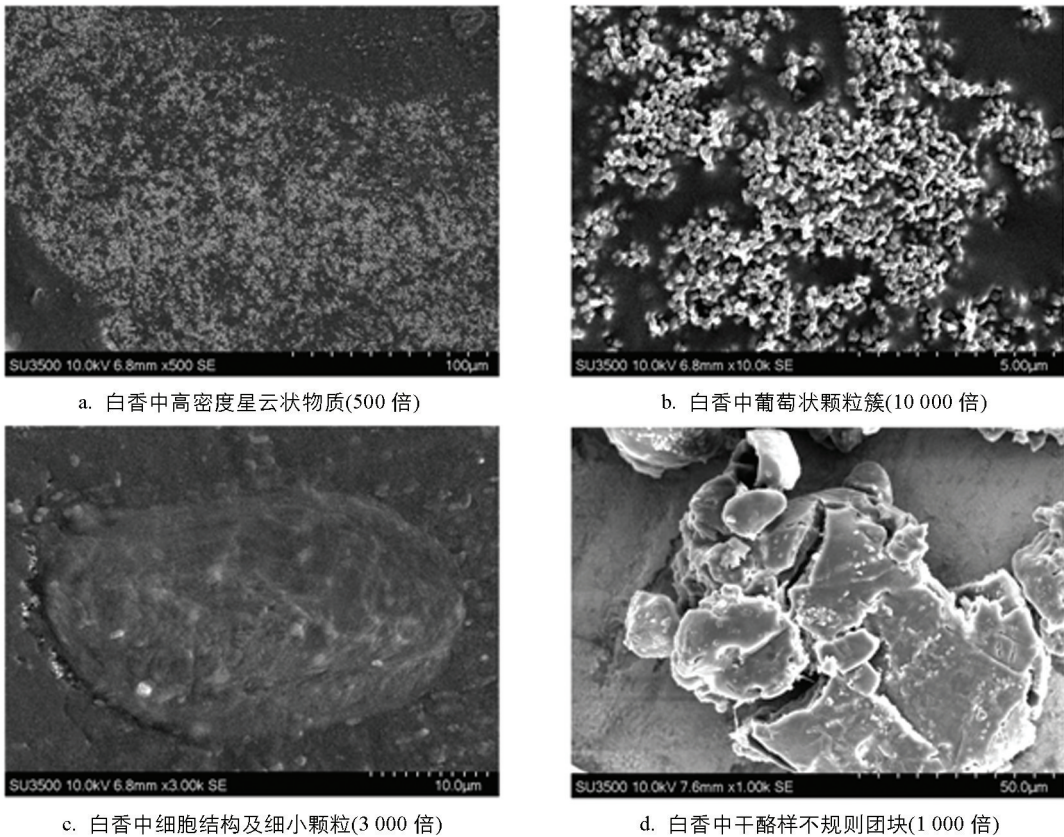


图 4 白香电镜观测结果

2.3.3 麝鼠香电镜观测结果

在电镜下，麝鼠香视野较为模糊，但也能隐约观测到呈星云状，放大后也呈现为葡萄状样颗粒簇，单一颗粒大小为 $0.5\sim 2\ \mu\text{m}$ (图 5).

2.3.4 林麝香囊电镜结果

对林麝香囊颈部皮肤观测结果表明，除颈部毛发外，还存在较为密集的排泄小孔，在约 $4\ \text{mm}^2$ 的视野中，观测到 8 个较为明显的小孔，折算下来约 $2\ \text{mm}^2$ ，小孔直径约 $100\ \mu\text{m}$ (图 6a). 进一步观察发现，小孔内存在多个通道，小孔外周散布有直径约 $5\ \mu\text{m}$ 的细小肉粒(图 6b). 对香囊内壁皮肤的观测结果显示，香囊内壁无毛发，内部上壁光滑，也存在直径约 $5\ \mu\text{m}$ 的细小肉粒，还观测到有少许排泄孔(图 6c)，孔直径大小不一，小的约 $20\ \mu\text{m}$ ，大的约 $100\ \mu\text{m}$ (图 6d).

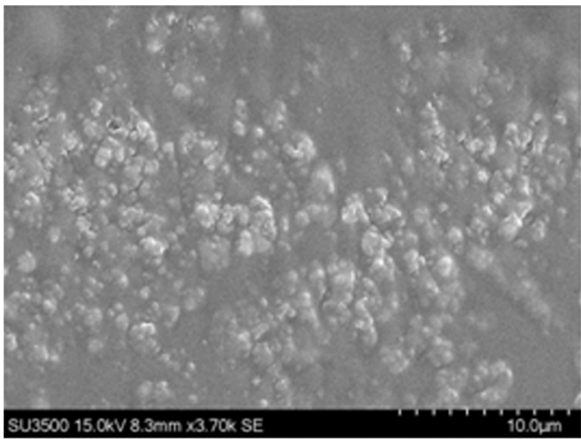
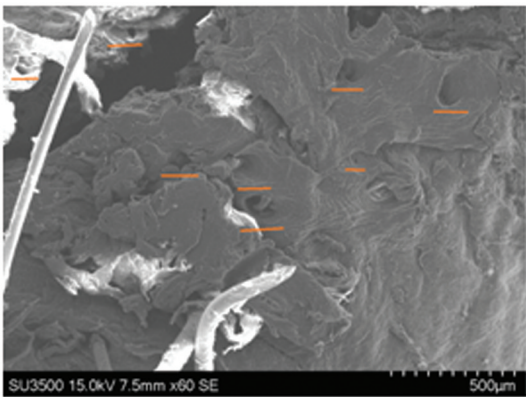
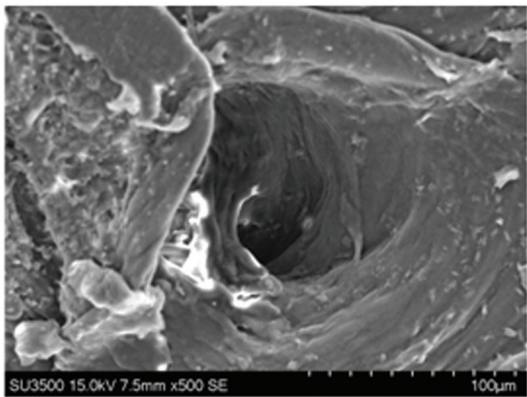


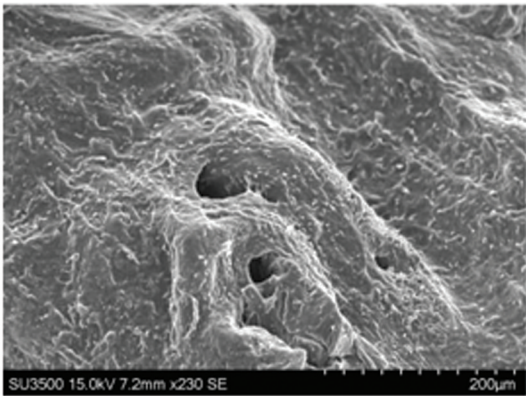
图 5 麝鼠香电镜观测结果(3 700 倍)



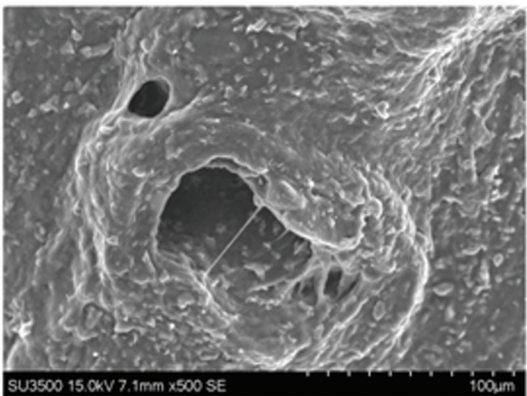
a. 香囊颈部排泄小孔(60 倍)



b. 排泄小孔通道及外周小肉粒(500 倍)



c. 香囊内壁排泄小孔(230 倍)



d. 香囊内壁排泄小孔(500 倍)

图 6 香囊电镜观测结果

3 讨论与结论

麝香的生成主要分为 2 个阶段：第 1 阶段为初香液的分泌，在每年 5 月下旬前后，林麝睾丸、香腺开始肿大，继而香腺细胞分泌的初香液顺着导管流入香囊中，经过约 1 周时间，林麝睾丸和香腺的肿胀逐渐消退，林麝完成泌香反应，此时香囊中为乳白色的液体。第 2 阶段为麝香的熟化过程，初香液在香囊中经过

水分的吸收、皮脂混入及微生物发酵等生化反应,转化为具有浓烈香气的成熟麝香^[10-11]。据报道,第 1 阶段分泌的初香液主要香为香腺细胞通过巨顶浆分泌的云状堆叠团块物质^[6]。本研究首次展示了该云状团块物质的高清图片,并发现该类团块大小从 10~200 μm 不等,鉴于动物真核细胞一般大小在 10~100 μm,这印证了云状团块物质是由香腺上皮细胞巨顶浆分泌。

在林麝养殖生产中发现存在熟化障碍的麝香占比约 10%,多表现为恶臭的稀香或者白香。本研究中,我们在白香中发现少许椭圆形细胞结构,纵径约 30 μm,横径约 20 μm,其大小与动物脂肪细胞类似,且该细胞结构边缘分布着较多颗粒,加之白香在外观上与酸奶或凝固的猪油类似,因此,推测白香就是皮脂腺细胞分泌的皮脂。此外我们在白香中还发现了个别干酪样不规则团块,其结构和大小与成熟麝香中的团块类似,这与倪荷芳^[8]关于皮脂表面光滑无云团形结构的表述稍有不一致,这是因为本研究中的白香来源于香囊中,林麝香腺上皮细胞依然能通过巨顶浆分泌少量团块物质,而倪荷芳^[8]研究中皮脂来源于香囊外。

此外,鉴于麝鼠香与麝香有类似的化学成分和药理作用,且在颜色上与白香类似,本研究也对麝鼠香的超微结构进行了观测。尽管麝鼠香水分较大,镀金效果较差,在电镜下较为模糊,但依然能隐约观测到呈星云状,放大后呈现为葡萄状样颗粒簇,单一颗粒大小约 0.5~2 μm,这与白香中的葡萄状样颗粒类似。在 400 倍光镜下,麝鼠香呈现出与猪油一致的散开状颗粒样,因此推测麝鼠香中大多为脂肪颗粒。

在香囊排泄孔方面,毕书增等^[4]发现香腺排泄管开口于香囊颈管部,并将初香输入香囊腔内,而香囊内壁为角化复层鳞状上皮层。在本研究中,我们除了发现香囊颈部多个约 2 mm² 的小孔外,还首次在香囊内壁发现了 20~100 μm 的小孔。这些排泄小孔的直径与麝香中云状团块的直径接近,这说明香腺细胞分泌的初香和皮脂腺分泌的皮脂是由颈部和香囊内壁的排泄小孔进入香囊内,从而进一步熟化的。

本研究为麝香超微结构的直观展现,对开展麝香的分泌熟化机制和质量评价提供参考,但由于样品采集困难且极其珍贵,有待后续进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京:中国医药科技出版社,2020.
- [2] 中国中医研究院中药研究所. 全国中药成药处方集 [M]. 北京:人民卫生出版社,1962.
- [3] 郑程莉,蒋桂梅,吴杰,等. 圈养林麝产麝香中麝香酮含量测定分析 [J]. 中国现代中药,2020,22(12): 2021-2025, 2052.
- [4] 毕书增,颜于宏,秦在贤,等. 原麝麝香腺囊解剖和组织学的初步研究 [J]. 野生动物保护与利用,1980,1(1): 14-18.
- [5] 盛佩蒂,毕书增,沈琰,等. 麝香分泌机理和提高麝香产量的研究麝香腺囊的生长发育和麝香分泌、形成的研究 [J]. 南通大学学报(医学版),1981(2): 10-14.
- [6] 毕书增,沈琰,朱定轩,等. 麝泌香盛期麝香腺超微结构和麝香分泌研究 [J]. 兽类学报,1985,5(2): 81.
- [7] 毕书增,胡龙,颜于宏,等. 我国三省区麝香真伪扫描电镜观察和麝香形成及质量鉴别研究 [J]. 南通大学学报(医学版),1992,12(1): 1-3.
- [8] 倪荷芳. 麝香分泌形成和真伪的扫描电镜鉴别研究 [J]. 中药新药与临床药理,1999,10(5): 306-308.
- [9] 苏宏娜,李学学,孔苑琳,等. 壮药材“滇桂艾纳香”常混淆的基原植物假东风草和东风草的鉴别研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版),2022,44(2): 57-68.
- [10] 李复东,洪沂生,邓文明,等. 麝的泌香规律 [J]. 中药材科技,1980,4(4): 12-18.
- [11] 尹淑媛,戴卫国. 雄激素诱导林麝二次泌香实验研究 [J]. 兽类学报,1991,11(1): 9-12.