

猕猴的生殖生理及科研应用

魏 振 年

(福建省计划生育科学技术研究所)

1925 年美国耶鲁及 1927 年苏联苏呼米建立猴试验基地,提供了许多猕猴的基本知识,使非人灵长类动物迅速地选择作为有关生殖生物

学研究的动物模型,特别是猕猴(*Macaca mulatta*) 的生殖生理特性,研究得更为详尽,如月经周期 28 天,经量/体重比率,性激素周期变化

的图型,一胎妊娠,分娩及哺乳过程等与人类极为接近。在生殖生物学研究方面的重要性,是其他种类动物所无法替代的。苏联科学家把猴类称之为人的实验替身。长期以来,我国节育药研究没有发挥这方面的优势,一些不成熟药物直接在人身上试用,使个人及国家受到不应有的损失。在国际学术交流中有损国家声誉,近几年来国际卫生组织及国外学者反复在我国学术会议上要求,节育药临床前必须通过非人灵长类试验,我国从1985年正式实施人新药审批办法,大大提高了猕猴在实验动物中的地位。

福建地处亚热带,山高林密,气候温和,雨量丰富,河流密布,森林宽广茂密,野果众多,为猴子提供了足够的食物和良好的生存条件,因而蕴藏着丰富的猴类资源。

美国 NIH 于 1980 年就其所属七大灵长类动物中心,20 年工作总结非人灵长类特别适于下述研究,生殖生物学、人口控制、母婴关系、新生儿疾病、免疫病、肿瘤、智力障碍、营养、传染病、心血管病、环境卫生、中枢神经系统疾病和行为科学等。

猕猴的寿命为 30 岁左右,雄猴约 5—6 岁具有生育力,雌猴约 4 岁生产第一胎,20—22 岁失去生育力,在其一生中可分娩 15—17 胎。

雌性猕猴生殖器官

原猴和眼镜猴是双角型子宫,猿和人是单室,人宫底通常是扁平的,但猕猴和大猩猩的宫底是圆的,猕猴宫颈高度弯曲,甚至与宫体成直角,造成刮宫取内膜及置入宫内节育器的困难。灵长类于其他动物重要的生殖生理区别,就是子宫内膜有周期性脱落变化,产生了月经,这就突出了用此猴研究月经生理的优势。

宫颈分内外两部分,内子宫颈管长 15 毫米,外子宫颈突入阴道内,颈管长约 24 毫米,子宫肥厚程度随着月经周期而变化,非妊娠期子宫长度很少超过 22 毫米,猕猴穹窿几乎是子宫的两倍长,阴道下段加宽成为深的漏斗状,为阴道内检查及收集经血造成一定困难。相反,狭小的阴道口,又使阴道药环及其它阴道剂型药

物不易脱落,是此类研究良好的动物模型。

性周期变化

月经周期,同人类一样,性周期的长度是从周期出血第一天计算到下一个周期出血的前一天,平均 28 天,平均 2—6 天,出血量 0.051—1.321 毫升/公斤体重,与人类月经失血量和体重比率 (Shaw 1972) 非常接近。周期可分卵泡期(约 13 天),也称不规则可变阶段;黄体期(15 天),十分恒定。

严格而言,人和一些非人灵长类不表现发情(或不明显),性周期与月经周期是同意的,低等哺乳类动物只表现发情,猕猴的性周期介于人和低等哺乳类之间,表现月经周期存在发情现象,主要有性冲动(求偶现象)周期性变化,在月经周期的第九天开始性冲动,到排卵期达到高峰,雌猴在性冲动敏感期间常接近雄猴,与其坐在一起,替雄猴翻毛,接受雄猴爬跨和交配。由于猕猴性冲动与受精时间之间关系不明显,所以排卵时间的确定尚需其他指标做参考,试述如下:

(一) 性皮肤变化 性皮肤是猕猴生殖生理的特征之一,有的学者认为^[10],可把性皮肤看作第二性征,且是雌猴的特性,可引起雄猴的注意,是雄猴接受排卵雌猴的信号,有利于及时交配受孕,生育延绵种族。

通常性皮肤变化开始于卵泡增生期,是由雌激素作用的结果,排卵日达到最肿胀和颜色最鲜艳,有些个体肿胀部位十分广泛,除生殖器部位、肛门区外,脸、乳头、臀部、腹部、腹侧,甚至全身皮肤浅红。青春期和年轻猴明显,生殖季节更显著。

(二) 基础体温 猕猴在排卵周期中,晨肛温呈双相,排卵日约升高 2℃ 左右,并直到下次月经来潮仍然保持较高水平。

(三) 阴道细胞学变化 1935 年 Dayis 和 Hartman 采用阴道粘膜活组织检查法,每周检查一次,发现阴道细胞有明显的周期性变化,1969 年 Wan 和 Balin 研究 58 只猕猴,观察到 85% 阴道细胞涂片与卵巢功能呈正相关,

1970年, Mauro 研究 38 只猕猴与人的阴道涂片上皮细胞类型比较方面做了更深入研究。猴子阴道细胞分四种: 无核鳞状上皮细胞, 表层上皮细胞, 中层上皮细胞及副基底上皮细胞。一般来说, 猕猴整个周期内细胞成份变异比人类来得大而明显。

(四) 血清生殖激素动态变化 卵泡期开始时血清 FSH 水平升高, 导致一组卵泡发育, 虽然人猴大约 20—50 个初级卵泡发育到次级卵泡^[9], 但猴于完成发育之前, 除 2 个卵泡留下来, 其余全部退化, 一个直径到约 1 毫米之前也发生闭锁, 另外一个继续进入第三阶段, 而人卵巢内只存活的一个次级卵泡继续发育, 体积较大。

FSH 直到即将排卵前形成高峰, 其水平约为先前浓度的两倍, 此后水平下降, 在黄体期阶段始终保持于较低的基线水平, LH 的水平在卵泡期早期比较平稳, 即将到中期之前稍升高, 继之, 出现一个极大的 LH 峰, 约达基线的 10 倍, 峰值后 24 小时内出现排卵。

E₂ 大体来说周期第九天开始上升, 排卵前出现高峰, 雌激素水平猴与人类类似, 但有二点显著不同: 1. 绝大多数猴雌激素周期中峰与 LH 中峰同时发生, 而人类 E₂ 周期中峰通常先于 LH 峰 (Corker 1969); 2. 人能观察到黄体期血 E₂ 峰值, 但在猴仅偶尔见到 (Hokchikiss, 1971), 本所资料 16% 雌猴见到 E₂ 峰值^[3]。

Neill (1967) 比较猕猴和妇女整个月经周期中的血浆孕酮水平, 两者图型基本一致, 但定量比人高 3—4 倍。

近年来我所^[3] 对福建猕猴进行血清 E₂ 及 P31 个正常周期测定, E₂ 第一峰前值平均 $122.37 \pm 49.86 \text{ pg/ml}$, 第一峰值平均 $372.66 \pm 168.21 \text{ pg/ml}$, 仅有 5 个周期出现第二峰值, 平均 $279.91 \pm 97.46 \text{ pg/ml}$ ($P < 0.01$), P 值卵泡期平均 $0.71 \pm 0.46 \text{ ng/ml}$, 黄体峰值平均 $6.047 \pm 3.307 \text{ ng/ml}$ 。

雄性的生殖生理

主要内容包括精液的凝结, 射精量和精子

浓度的变化, 精液的生化特性, 精子发生, 交配活动等季节性变化, 猕猴的精液的凝结, 对精子活动提供一种保护机制, 在阴道五分钟内开始液化, 约 30% 液化, 人与猴不同之处, 在射精后 20 分钟内便完全液化^[1]。

血清雄激素未成熟雄猴平均值为 $135 \pm 66 \text{ ng/ml}$, 成熟雄猴平均值为 $670 \pm 35.9 \text{ ng/ml}$ (Benett, 1973), 阉割可在半小时内显著地降低, 5 小时可降至 20%, 13 周时可降低 100 倍 (Pal, 1971)。成熟雄猴性腺摘除 1—2 天内血浆 LH 逐渐上升, 第 15—20 天上升 10 倍, 皮下植入含雌激素的硅胶囊, 使 LH 水平缓慢降至控制的水平, 这些结果符合性腺与垂体间的负反馈概念 (Alkinson, 1970)。

生殖季节性变化

猕猴的生殖活动存在季节性变化, 是众所周知的现象, 其主要表现如下:

(一) 分娩 几乎每个月都有分娩, 但有一个主要的分娩季节, 印度北部野生条件下 4—5 月或 9 月, 驯养条件下, 苏呼米 3—5 月, 昆明观察 109 例, 93.6% 2—6 月分娩, 其中 71.56% 在 3—5 月为高峰期。

(二) 月经周期 昆明猕猴全年行经, 但 10 月至次年 1 月较高, 占 58.1—81.5%, 这是雌猴发情交配和受孕的主要季节, 2—3 月行经 51.9—60%, 但 8—9 月仅 2 例分娩, 可能与无排卵周期有关。

(三) 性皮肤肿胀 生殖季节雌性猕猴性皮肤肿胀较明显, 颜色较鲜艳, 而非生殖季节肿胀较弱, 颜色较浅, 雄猴亦然。

(四) 交配活动 雌雄猴交配活动几乎全年都有, 而 8 月至次年 1 月间每月交配和射精次数较多, 其中 9—11 月为高峰期, 与雌猴月经周期的高峰期基本吻合。

(五) 睾丸大小 Sade (1964) 对 86 只猕猴进行 189 次睾丸测量 (左侧睾丸长度加宽径), 8—12 月是大睾丸季节, 1—7 月是小睾丸季节。

(六) 精液变化 10—12 月生殖季节精液

和体积、总精子数和活力明显高于非生殖季节1—7月,精子的畸形率和死亡率明显降低。

人工诱发排卵及恢复睾丸功能

猕猴生殖活动的季节性变化,是其不足之处,如能采用人工方法诱发排卵或恢复睾丸功能,在非生殖季节排卵受孕,可在非生殖季节,应用猕猴开展生殖生物学及节育药物有关科学研究。

人工诱发排卵主要方法有,同源或异源脑垂体抽提物, HMG, HHG, HCG, PMSG, LH-RH 等。

(一) 同源或异源脑垂体抽提物 [Simpson 等 1955 和 Wagenen 等 1957]。

脑垂体 40% 酒精抽提物 2.5 毫克,日二次周期第 5—9 天,继之 40% 酒精抽提物 1.5 毫克,加 HCG 600 IU (国际单位),日二次共 4 天。

5 只猴子均排卵,成年猴排出 2—12 个卵子,未成年猴单个排卵,每次实验需 8—22 个猴垂体,绵羊垂体需多用 10 倍重量。

(二) HHG, HMG, HCG^[6] HHG、HMG 系含 FSH/LH 不同比率制剂,用夏季闭经猴及去垂体猴进行试验。

HHG 或 HMG 42—150 IU 每日一次×10—12 天。

HCG 或 HHG 1000 或 2000 IU 于第 12 或第 13 天一次肌注。闭经猴用含 LH 35 IU/日,去垂体猴需用 LH 75 IU 可诱发单个或超量排卵,作者结论在卵泡期减少,FSH 剂量和诱发排卵用 HHG 可避免超排现象。

(三) PMSG+HCG^[2] PMSG 1550—2200 IU 分 4—8 天处理,随后 HCG 2500 IU 一次静脉注射,24 小时内出现超量排卵。

(四) PMSG + HCG + PGE^[7]

PMSG 100 IU 周期第 4—7 天

200IU 周期第 8—11 天

HCG 4000 IU 周期第 12 天

PGE₂ (或 E₂) 5 毫克周期第 13 天。

大部分排卵发生在注射 PG 后 24—48 小

时内,排卵数 1—29 个。

(五) HMG + 消炎痛 + HCG^[8] HMG (含 FSH 及 LH 各 37.5 IU) 肌注每日一次×8 次;消炎痛 5 毫克/公斤/天(小剂量组),10 毫克/公斤/天(大剂量组),每日一次×7 次(给 HCG 前 5 天开始),且于第 4、7、10、11 (偶尔 14) 抽血查 E₂、F₂ 及 P。

对照组 13 个周期有 11 个周期排卵。

消炎痛小剂量组 8 个周期有 5 个周期排卵,与对照期无显著差异。

消炎痛大剂量组 9 个周期仅有一次排卵,且是延迟排卵, P < 0.005。说明前列腺素合成酶抑制剂消炎痛有抑制排卵作用。

(六) LH-RH^[9] 6 只未成熟母猴(11—15 个月),用 LH-RH 1ng/分,6 分钟/每小时,静脉脉冲或灌注几天后,FSH, LH, 继之 E₂ 逐渐上升,均出现排卵性月经。当停止此治疗方案,动物迅速回到不成熟状态,说明性成熟不是取决于垂体和卵巢,而是神经内分泌调控系统,丘脑 F 部脉冲式释放 LH-RH。7 只成熟母猴破坏丘脑下部,脉冲式灌注同上法,2—3 天后,FSH, LH, 继之 E₂ 上升,4 只猴子出现排卵性月经,停止给药,垂体及卵巢功能即消失。

以上资料说明,非生殖季节雌猴可通过不同方法诱发排卵。

雄性非生殖季节睾丸功能低下,科学家也在努力通过人工药物刺激,试图达到恢复睾丸发育,如:

(七) LH-RH^[10] 非生殖季节雄猴用高活性 LH-RH 脉冲式皮下灌注,可达到类似正常生殖季节睾丸功能活动,发生射精。

LH-RH 100 ng 每 96 分钟一次皮下注射×1 周,继之每天一次皮下注射 100ng×1 周,反复替换,共用药 7 周,皮下脉冲式注射前后,测量睾丸容量,自发性射精的频率,及用电刺激射精后精液各项指标及各项激素,结果达到正常指标。

妊娠与分娩

猕猴妊娠早期常出现类似月经周期的阴道

出血现象,有人称之为子宫内膜破坏性出血。昆明猕猴妊娠期为 168 ± 7 天。妊娠并发症主要是流产和死产,占总妊娠 17.8%, 双胎率 2.6%, 类似于 1.15%, 胎位不正臀位高达 12%(人是 4%), 婴猴常发生贫血和细菌性肺炎, 死亡率较高, 不孕症 15—30%, 亦较人(10—15%)为高。

人类的分娩不存在昼夜节奏性, 光线不会抑制妇女的分娩活动, 妇女的分娩通常是白天和黑夜各占一半, 可是, 光线会抑制猴的分娩活动, 大多数在夜里进行, 且常在上半夜, 最短分娩时间 42 分钟, 最长 4 时 45 分。在苏呼米养猴场当上午发现分娩阵缩停止, 立即把它安全转移到黑房, 帮助它尽快恢复阵缩和结束分娩, 有利于母婴安全。在分娩前一些天改变昼夜节奏时, 可使分娩从黑夜转到白天, 有助于探讨分娩活动和机制。

参 考 文 献

- [1] 欧阳子焯等 1987 孕马血清促性腺激素和氯米酚对猕猴超排卵效果的观察 动物学报 33(3): 204—209.
- [2] Balin H. et al 1969 A study of induction of ovulation in Macaca-Mulatta. *J. Repr. Med.* 2: 273.
- [3] Batta S. K. and others 1978 Ovulation induction by gonadotropin and prostaglandin treatment of rhesus monkeys and observations of the Ova. *Bio. Repr.* 18: 264—278.
- [4] Breckwoldt, M. and others 1971 Induction of ovulation in noncycling and hypophysectomized rhesus monkeys with various human gonadotropins. *Fert. Steril.* 22: 451—455.
- [5] Knobil E. et al 1980 Control of the Rhesus Monkey Menstrual Cycle: Permissive Role of Hypothalamic Gonadotropin-Releasing Hormone *Science* 207: 21 March, 1371
- [6] Wildt, L. et al 1980 Experimental Induction of Puberty in the Infantile Female Rhesus Monkey *Science* 207: 21 March, 1373.
- [7] Wickings, E. J. et al 1981 Stimulation of pituitary and testicular functions with LH-RH agonist or pulsatile LH-RH treatment in the rhesus monkey during the non-breeding season *J. Repr. Fert.* 63: 129.
- [8] Wallach, Edward E. 1975 The Effect of Indomethacin on HMMG-HCG Induced Ovulation in the Rhesus Monkey *Prostaglandins* 9(4): 645.