

醋酸甲羥孕酮及左炔諾孕酮利用於圈養台灣獼猴生殖控制之研究

The effects of medroxyprogesterone acetate and levonorgestrel in the reproductive control of captive *Macaca cyclopis*

余品奐¹ 翁嘉駿² 郭鴻志^{3*} 季昭華^{1*}

Pin-Huan Yu¹, Chia-Chun Weng², Hung-ChihKuo^{3*} and Chau-Hwa Chi^{1*}

¹ 國立台灣大學獸醫專業學院 10672 台北市大安區基隆路三段 153 號

² 行政院農業委員會林務局 10050 台北市杭州南路 1 段 2 號

³ 國立嘉義大學獸醫學系 60054 嘉義市新民路 580 號

¹ School of Veterinary Medicine National Taiwan University, No.153, Sec. 3, Keelung Rd., Da'an Dist., Taipei City 106, Taiwan

² Forestry Bureau, No. 2, Hangchou S. Rd., Sec. 1, Taipei City, Taiwan

³ Department of Veterinary Medicine, National Chiayi University, No.580, Xinmin Rd., West Dist., Chiayi City 600, Taiwan

*通訊作者: chie@ntu.edu.tw, hjkuo@mail.ncyu.edu.tw

*Corresponding author: chie@ntu.edu.tw, hjkuo@mail.ncyu.edu.tw

摘 要

台灣獼猴(*Macaca cyclopis*)為台灣特有種，近來隨著棲地開發及族群擴張，其與人類生活空間重疊情形日增，並衍生許多衝突。本研究目的以簡單實用與非侵入性的操作方式控制臺灣獼猴的動情週期，期望可以達到抑制臺灣獼猴繁衍過度之情形。本研究將成熟雌性之臺灣獼猴分為三組：第一組使用醋酸甲羥孕酮(medroxyprogesterone acetate)以肌肉注射方式給予；第二組左炔諾孕酮(levonorgestrel)以口服投予方式投藥；第三組為對照組。試驗進行前獼猴先依血漿中孕酮(progesterone)與雌二醇(estradiol)濃度、陰道抹片及性皮腫脹觀察動情週期的變化。於非交配季節觀

察雌性獼猴之動情週期平均為 28.29 ± 5.3 天，陰道細胞學與排卵週期具有週期性變化，但性皮腫脹程度及增紅程度並不明顯。試驗結果發現：第一組獼猴使用醋酸甲羥孕酮注射後 11 週，其血漿中孕酮濃度達到最高峰平均為 281.42 ± 51.18 ng/mL，顯著高於對照組與正常動情週期黃體期之濃度，但雌二醇變化不受影響，顯示試驗獼猴仍處於黃體階段。第二組獼猴使用左炔諾孕酮口服投予兩次後，口服後第 7 週其血漿中孕酮濃度到達最高峰平均值為 253.70 ± 50.11 ng/mL，顯著高於對照組表示可造成延遲排卵。試驗可知臺灣獼猴以肌肉注射醋酸甲羥孕酮可成功延長成熟雌猴之動情週期與排卵至少三個月，較適合做為野外獼猴非侵入性生育控制方法。

Abstract

This study was undertaken to develop a simple and practical method to control the time of ovulation in *Macaca cyclopis*. Group 1 ($n=6$) was treated with a single 150 mg intramuscular injection of medroxyprogesterone acetate (MPA) injectable suspension, while Group 2 ($n=5$) was treated with diets containing 0.3 mg levonorgestrel (LNG) given weekly to normally cycling female monkeys for 2 weeks, and Group 3 ($n=3$) remained untreated. Plasma concentrations of estradiol and progesterone, vaginal smear and conspicuous swellings were determined in order to estimate the estrus cycle. The average length of the normal menstrual cycle in the non-mating season was 28.29 ± 5.3 days. Vaginal smear, were observed in relation to ovulation. However, conspicuous swellings of the perineal skin and timing of ovulation are not obvious in females of *Macaca cyclopis* particularly during the middle stages of the ovarian cycle. Group 1 treated with MPA, ovulation occurred more than 120 days after medication. MPA administration resulted in a significant increase in plasma progesterone levels 11 weeks after medication (281.42 ± 51.18 ng/mL) and plasma estradiol values did not differ significantly in all monkeys. Group 2 was treated with LNG at 0.3 mg/weekly for two weeks, plasma progesterone level was significantly greater (253.70 ± 50.11 ng/mL) than those in the control group and the results indicated that ovulation occurred more than 28 days after the last administration in all monkeys. The results indicate that a single 150 mg IM dose of MPA could be applicable for delaying ovulation, and suggest that MPA is a more proper way of non-invasive reproductive control for the wild *Macaca cyclopis*.

關鍵字：臺灣獼猴、生殖控制、醋酸甲羥孕酮、左炔諾孕酮

Key words: *Macaca cyclopis*, reproductive control, medroxyprogesterone acetate, levonorgestrel

收件日期：2013 年 10 月 30 日

接受日期：2014 年 3 月 21 日

Received: October 30, 2013

Accepted: March 21, 2014

緒 言

臺灣獼猴(*Macaca cyclops*)在分類上屬於靈長目(Primates)、獼猴科(Cercopithecidae)、獼猴屬(*Macaca*)，為臺灣特有種，日行性且為群居生活的野生動物。對環境的適應性強，從平地到海拔 3,600 m 間各類林地中皆可發現，但以 500 至 1,500 m 的闊葉林較為常見 (鹿野 1929; Kuroda 1940; McCullough 1974)，分佈範圍主要集中在中央山脈與海岸山脈地區各個鄉鎮，估計全島臺灣獼猴約 10,404 群(李等 2002)。猴群大小由數隻到數十隻不等，但一般以 20 至 30 隻為多，且有隨著海拔升高而下降的趨勢。以調查所得平均猴群個體數 25 隻推算，全島臺灣獼猴數量約有 25 萬隻。

臺灣獼猴之動情週期相關研究方面，Peng 等人於 1973 年觀察為 29.4 ± 15.5 天(Peng *et al.* 1973a)，Chen 等人於 1990 年觀察結果為 27.8 ± 2.9 天(Chen *et al.* 1990)，季等人於 1997 年研究則為 27.3 ± 8.9 天(季等 1997)，由上述結果得知，成熟之雌性臺灣獼猴如同人類一樣具有動情週期，但與人類不同的是，臺灣獼猴具有顯著交配季節，臺灣獼猴的交配季(Mating season)為每年的 9 月至隔年的 2 月，生育期(Birth season)為每年的 4 月至 6 月(Hsu *et al.* 2000)，妊娠期(Gestation period)約為 162 天(Peng *et al.* 1973a; Peng *et al.* 1973b)。臺灣獼猴適應力強，原本從平地到高山到處可見牠們的蹤跡且數量不斷的在增加與分群，外加氣候的變遷與人為開墾與濫伐等破壞了臺灣獼猴的棲息地等，使得臺灣獼猴危害農作物及攻擊登山客的事件始終受到媒體的關注。

醋酸甲羥孕酮(Medroxyprogesterone acetate; MPA) 是一種人工合成的孕激素，為黃體酮衍生物，作用類似於黃體酮，但孕激素

作用較強，無雌激素作用(Schindler *et al.* 2003)，全球約有五億人使用它作為避孕用途(Morrison *et al.* 2012)。MPA 可做成口服藥錠或是肌肉注射及皮下注射等劑型，因藥物為微結晶狀態，因此可以在注射之後從組織中緩慢釋放，而有較長的作用時間(Mishell 1996)。MPA 作用於子宮內膜，促進黏膜的增殖分泌，通過對下視丘的負迴饋，抑制促黃體激素、促腎上腺皮質激素及其他生長因素的釋放，使卵泡不能發育成熟，抑制卵巢的排卵過程(Mishell 1996)。

MPA 在非人類靈長類的應用方面，Mora 等人對四隻恆河猴(*M. mulatta*)注射同樣劑量的 MPA，並檢測後續血液中 MPA、雌二醇及助孕素的濃度，發現其曲線與成年婦女相似(Mora *et al.* 1976)。Hild-Petito 等人對八隻恆河猴給與 MPA 皮下注射 30mg 後，於 10、30、60、118 及 146 天進行陰道生檢，檢查陰道上皮細胞的厚度、數量和型態，比較給藥前後的生檢結果，發現給藥後的結果與給藥前濾泡期及黃體期的結果沒有顯著差異，此類藥物主要會造成陰道上皮細胞變薄，並且在療法結束後能很快回復，而能夠順利控制生殖週期(Hild-Petito *et al.* 1998)。另外在其他種類的獼猴方面，Shimizu 對五隻食蟹獼猴(*M. fascicularis*)皮下注射 15 mg/kg 的 MPA，能夠產生抑制生殖週期及排卵長達 161 ± 17 天的效果；Shimizu 同時對一群自由放養的日本獼猴(*M. fuscata*)皮下注射 MPA，第一年對 15 隻雌性日本獼猴施打劑量 7.5mg/kg，仍然有交配以及產子現象，隔年更改劑量為 19.4mg/kg，對同樣族群的五隻雌性獼猴施打，受試的獼猴在當季便沒有交配行為，也未產子(Shimizu 1996)。

左炔諾孕酮(Levonorgestrel; LNG)屬於人

工合成孕激素分類中的 19-Nortestosterone 衍生物類(Schindler *et al.* 2008)。LNG 廣泛的使用於臨床高效合成避孕藥，於臨床上有口服製劑、子宮內節育器、皮下埋植劑和靜脈注射形式以供使用，為目前最理想的避孕藥之一(Moore *et al.* 1995; Munro *et al.* 1996)。其避孕之作用機轉為：使子宮內膜腺體數量變少、腺體直徑縮小不利於受精卵著床，在性行為發生後 3-10 小時內給予 0.4mg 會在 3 小時後下降精子在子宮腔中的數量、在 5 小時後使子宮頸黏液鹼化使精子活動下降、在 9 小時後子宮頸黏液黏滯度上升，在體內黃體激素濃度到達高峰前給予會抑制促性腺激素分泌而使動情素、孕激素、子宮頸黏液的分泌下降以及降低性荷爾蒙結合球蛋白的數量(Landgren *et al.* 1994)。LNG 在靈長類的使用結果依種別與方法不盡相同，在某些研究中確實指出了他有延遲排卵的功能。在 Nagle 等人的研究中，發現在排卵前 8 小時以上使用相隔 8~9 小時，兩次 2mg 的口服 LNG，可以抑制卷尾猴(*Cebus capucinus*)的卵從濾泡中釋放，若是已經排卵則沒有效果(Nagle *et al.* 2009)。在食蟹猴也有類似的研究報告，若每天將 50 μ g 的 LNG 混在飼料中，可以延長動情週期的長度，但相同的概念也一樣在這個研究中發生，在動情週期中(25-35 days)的 16-29 天使用比起在其他階段使用更可以有效的延長動情週期(Nakama *et al.* 2012)。另外，由 Ortiz 等人所作的研究更明確的顯示使用 LNG 時間點的重要性，他們指出，卷尾猴(*Cebus apella*)已經交配過後 1 小時內，使用口服或是皮下注射 0.75 mgLNG，無法影響其懷孕率。雖然有抑制排卵的功能，但也僅限於濾泡大小不超過 5mm 的階段(Ortiz 2004)。除了口服給予，聖路易斯動物園做了一些有關 LNG 的使用研究，利用皮下方式將

含有 70mgLNG 的小管植入白面僧面猴(*Pithecia pithecia*)皮下，可以完全地阻止排卵至少 8 個月(Savage *et al.* 2002)。在絨頂檉柳猴(*Saguinus oedipus*)中，利用含有 LNG 的膠體打入皮下，也有類似的結果(Wheaton *et al.* 2010)。還有另外一種運用方式是將覆蓋 LNG 的子宮內避孕器放入恆河猴的子宮內，每天釋放 25 μ g，可以影響到子宮腺體的發育以及基質的厚度，對動情週期也有一定程度的影響(Wadsworth *et al.* 1979)

綜合上述，使用注射 MPA 或口服 LNG 之方式在靈長類的動物能夠有效發揮藥物特性，藉由抑制排卵及延長動情週期之方式達到生殖控制的效果，然而相關之研究在台灣獼猴尚呈闕如，因此本計畫研究動機與目的將針對臺灣獼猴建立初步之動情週期資料，並且以口服 LNG 或肌肉注射 MPA 方式，測試其影響動情週期之情形，藉此推估適合給藥時間。利用此種非侵入式方法改變臺灣獼猴動情週期，以討論獼猴生殖控制之可行性。

材料及方法

本研究利用飼養於南投縣政府名間苗圃(南投縣名間鄉大老巷 101 號)6 - 15 歲之臺灣獼猴 16 隻，其中包含雌猴 14 隻及誘發雌猴發情之雄猴 2 隻，所有獼猴均單一籠飼於不鏽鋼保定籠(100 cm \times 76 cm \times 76 cm)內，每天餵飼兩餐，包含水果與猴科飼料等食物。雖所有雌猴均為性成熟母猴，為確保各年齡層之雌猴平均分配於各組，雌猴依體重、牙齒、外觀進行分組：第一組 6 隻以肌肉注射長效型 MPA(Depo-Provera[®], Pfizer, Kalamazoo, USA)進行試驗；第二組 5 隻以口服方式投予 LNG(Microgynon 30, Bayer Schering Pharma

AG, Weimar, Germany)進行試驗，投予時將 LNG 錠劑加入食物中餵食，並確定完全食入；第三組共 3 隻作為對照組，持續監測發情週期之血液中的孕酮與雌二醇濃度。實驗期間自民國 101 年 12 月至 102 年 7 月止共進行 8 個月的時間，試驗獼猴於移籠後每個月月底進行一次抽血健康檢查，共監測四個月期間，再進行分組監控與給藥計畫如下。

一、建立臺灣獼猴之動情週期資料庫：

受試母猴於實驗期間每隔 5-7 日進行一次健康檢查，母猴於大腿外側肌肉注射 4 mg/kg Zoletil® 50(Zoletil®, Virbac, Carros, France)，於 30 - 50 分鐘的麻醉時間內進行外觀觀察、血液樣本採集及陰道抹片檢查的工作。

外觀觀察乃針對雌猴之性皮腫脹與否進行觀察及描述。

血液樣本採集是以 23 號頭皮針，於後肢靜脈採集約 3 - 4 mL 的血液，分別進行荷爾蒙濃度檢測及健康檢查：檢測血中孕酮與雌二醇濃度則將採得 2 mL 血液經 6,000 g，10 分鐘離心後，取血清分裝於離心管於 -80 °C 保存已備分析之用。待測樣本分別使用商業化套組 Cayman Chemical® Progesterone EIA Kit (Cayman Chemical company, Ann Arbor, USA) 與 Cayman Chemical® Estradiol EIA Kit(Cayman Chemical company, Ann Arbor, USA) 檢測血中孕酮與雌二醇濃度。操作流程如產品資訊。
(<https://www.caymanchem.com/pdfs/582601.pdf>,
<https://www.caymanchem.com/pdfs/582251.pdf>)

陰道抹片檢查則是以沾生理食鹽水之棉花棒直接插入陰道內輕輕移動且轉動，取出後直接塗抹於載玻片上再以劉氏染色法(Liu's stain A and B, ASK®, Taipei, Taiwan)染色隨後將玻片烘乾，以二甲苯封片後，利用光學顯微鏡觀察陰道上皮細胞的變化。

二、不同避孕藥劑影響其動情週期之情形：

將三組雌猴分別做下述利用：第一組 6 隻雌猴進行肌肉注射 MPA 進行試驗，劑量為 150 毫克/次，投予一次，利用酵素免疫分析法檢驗血液中的孕酮與雌二醇濃度變化。第二組之 5 隻雌猴進行口服方式投予 LNG 進行試驗，劑量為 0.3 毫克/次/週，投予時間兩週，利用酵素免疫分析法檢驗血液中的孕酮與雌二醇濃度變化，分析其影響動情週期之效果與效期。第三組之 3 隻雌猴作為對照組並給予口服投與安慰劑(維他命)與注射生理鹽水，三組於投藥後持續以每 5 至 7 日抽血一次之頻率監測血液中的孕酮與雌二醇濃度，分析其影響動情週期之效果與效期。

三、藥物安全性：

從投藥前四個月開始取每月麻醉採集之血樣進行健康檢查並做為投藥後每月採集之血液檢查結果之比較基準，同時與台灣獼猴之血液學參考值比較(李，1994)以做為藥物對於受試獼猴整體健康狀況影響之評估。檢驗項目包含(一)全血球計數：採得 0.5 mL 血液注入含有乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetate; EDTA)的真空採血管中，上下均勻混合血液後，取適量血液利用全自動血球分析儀(Medonic CA530 Vet 9 Parameter System, Boule Medical AB, Stockholm, Sweden)進行紅血球總數、血容比、血紅素、平均紅血球血紅素、平均紅血球血紅素濃度、血小板及白血球項目分析。(二)血清生化學與血中離子濃度檢驗：採得 1.5 mL 血液注入含有肝素(heparin)的真空採血管中，上下均勻混合血液後，將血液經 6,000g，10 分鐘離心後，取 1 mL 血清分裝於檢體杯中，分別利用自動血清生化分析儀(Hitachi 705 Automatic Analyzer, Boehringer

Mannheim Diagnostic, Houston, USA) 檢測鹼基磷酸酶、天門冬胺酸轉胺酶、丙胺酸轉胺酶、總膽紅素、血尿素氮、總膽固醇、肌酸酐、肌酸激酵素、血糖、磷、總蛋白質、乳酸去氫酵素、谷氨酰轉胺酶等項目並以血中離子濃度分析儀(Biolyte 2000 Na⁺, K⁺, Cl⁻/Li⁺ Electrolyte Analyzer, Biocare corporation, Taoyuan, Taiwan) 進行分析血中鈉、鉀、氯離子濃度。

四、統計分析：

使用 SPSS 進行統計分析。以 paired *t*-test 比較注射及口服前後雌二醇及孕酮差異性，若 $p < 0.05$ 顯示兩組數據之間具顯著差異，若 $p <$

0.01 則顯示具極顯著差異。

結 果

臺灣獼猴動情週期之內泌素與陰道細胞學變化

試驗開始後實驗雌性臺灣獼猴($n=14$)由血液與血清生化學的數據判斷，試驗動物仍處於輕微脫水、緊迫與適應環境階段，因此動情週期內分泌素變化並不明顯，若以三次動情週期觀察時，其動情週期平均為 28.29 ± 5.3 天，若以正常飲食與環境適應後進行觀察，於連續二次正常動情週期($n=14$)的結果發現，動情週期平均為 28.04 ± 3.0 天(表 1)

表 1. 14 隻成熟雌性臺灣獼猴依陰道抹片及外陰部觀察所得之連續三次動情週期

Table 1. Three consecutive reproductive cycles of mature female *Macaca cyclopis* based on vaginal swab and appearance

No.	1st (days)	2nd(days)	3rd(days)
F03	37	29	27
F04	37	27	32
F05	37	27	27
F06	19	29	27
F07	35	34	27
F08	16	29	29
F10	29	34	32
F11	37	22	29
F12	29	27	29
F13	22	27	24
F14	22	27	29
F15	15	22	32
F17	34	29	24
F18	34	27	27
average	28.79	27.86	28.21
STD	8.34	3.44	2.61

使用商業化套組偵測對照組血液中雌二醇與孕酮濃度；在雌二醇部分，其血液中濃度介於 118.78 ± 22.70 pg/mL- 224.33 ± 8.76 pg/mL 間

循環，每 4 週為一個週期(圖 1)；孕酮部分，則介於 97.51 ± 19.83 ng/mL- 161.88 ± 26.84 ng/mL 間，且與雌二醇相同，皆為 4 週一個循環(圖 2)。

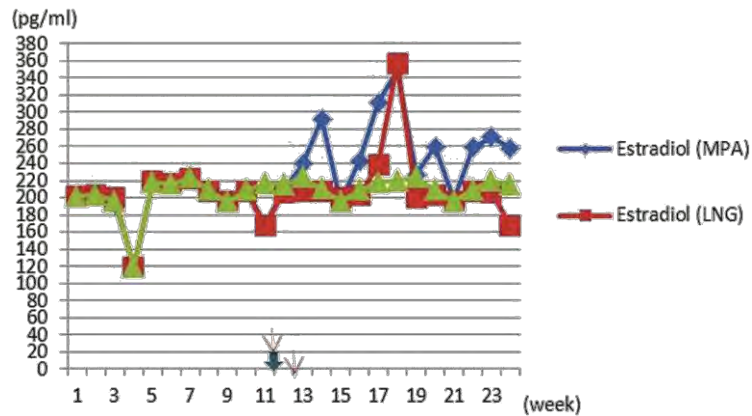


圖 1. 受試台灣獼猴之雌二醇變化情形，實線箭頭為 MPA 投藥時間；虛線箭頭則為 LNG 投藥時間。由圖可見三組雌猴之雌二醇於投藥前具極高之相關性，並且每四週出現一次高峰。投藥後 MPA 組之雌二醇有統計上不顯著之升高但仍與對照組同時維持四週一次高峰之週期；但 LNG 組則於第 13 週未見雌二醇之上升且延遲至第 17 週才上升顯示有延後發情之情形。

Fig. 1. Weekly estradiol concentrations of *Macaca cyclopis* from different treatment groups. There is high consistency between three groups before treatment and 4-weeks cycle is prominent. After medication, the estradiol concentration of MPA group had insignificant elevation but still poses 4-weeks cycle as the control group. However, the LNG group had delayed elevation until week 17, which showed delayed estrus.

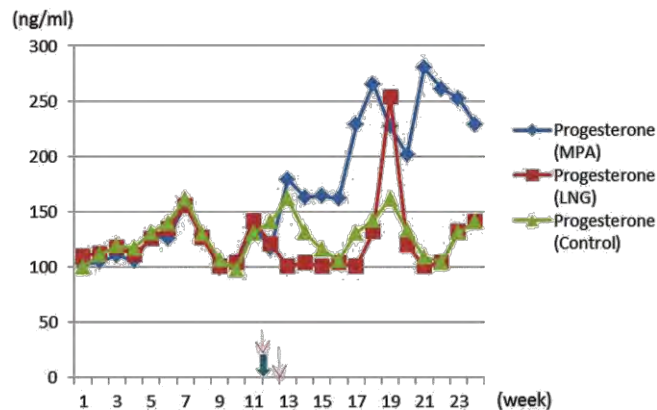


圖 2. 受試台灣獼猴之孕酮變化情形，實線箭頭為 MPA 投藥時間；虛線箭頭則為 LNG 投藥時間。由圖可見三組雌猴之孕酮於投藥前具極高之相關性，並且每四週出現一次高峰。MPA 組於投藥後孕酮即開始上升且至第 23 週仍維持高值，顯示獼猴處於黃體期；而 LNG 組則於第 13 週未出現應有的高峰且延至第 19 週才出現，顯示有延後發情之情形。

Fig. 2. Weekly progesterone concentrations of *Macaca cyclopis* from different treatment groups. There is high consistency between three groups before treatment and 4-weeks cycle is prominent. After medication, the progesterone concentration of MPA group had gradual elevation until week 23, which showed the females are in the luteal phase. However, the LNG group had delayed elevation until week 19, which showed delayed estrus.

於麻醉採血的同時進行陰道抹片檢查，利用棉棒刮取陰道上皮塗抹於玻片上，且利用劉氏染色進行細胞染色，使用顯微鏡觀察。觀察發現性成熟的雌猴其陰道上皮與犬貓等哺乳動物類似，可分成三種不同的上皮細胞：基底細胞區(basal zone)、中間層細胞區(mid zone)，及角化鱗狀上皮細胞。綜觀此三層細胞隨動情素的濃度消長亦與其他哺乳動物相似：動情時陰道抹片可見多量的白血球與紅血球，而未完全角化之中間層細胞數量較多，角化鱗狀上皮

細胞數量較少(圖 3)，至濾泡期角化細胞增加(圖 4)，在排卵期間，角化鱗狀上皮細胞達到最高點，於鏡檢下可見大量核濃縮之角化上皮細胞(圖 5)，此時動情素之濃度也達到最高峰。於黃體期表層細胞漸減，而中間層細胞漸增，此時動情素濃度快速下降，並伴隨黃體素的上升，至動情前可見白血球再次出現(圖 6)。而投藥後內泌素與陰道抹片之細胞相間的相關性則敘述於下文。

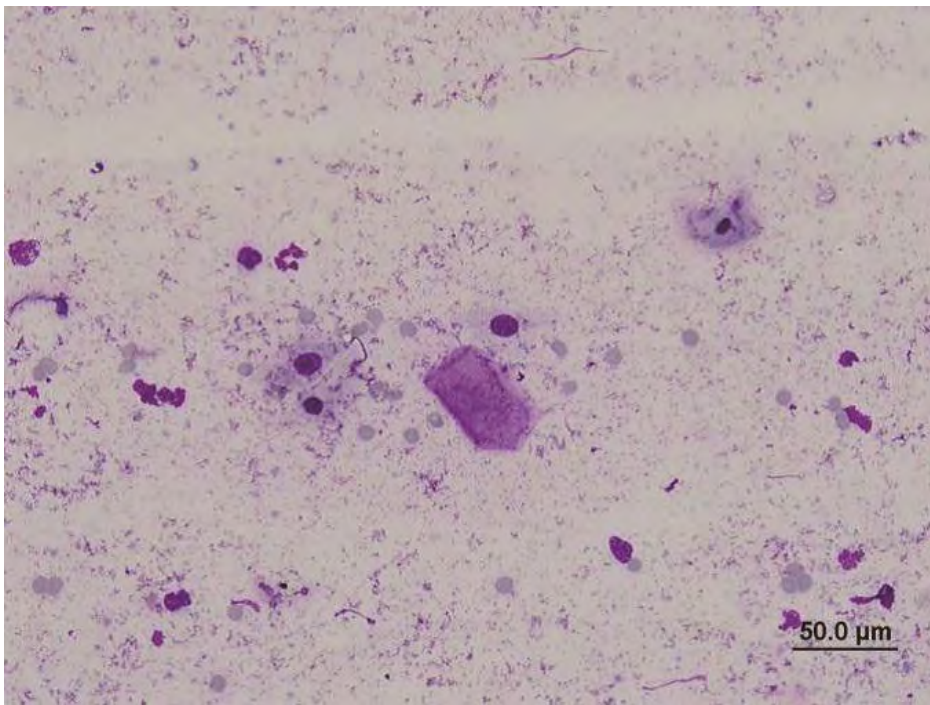


圖 3. 月經期，可見多量的白血球與紅血球，而未完全角化的中間層細胞較多，角化鱗狀上皮細胞較少。(Liu's stain, 400X)

Fig. 3. Menstrual phase. Marked white blood cell and red blood cell could be seen. Uncornified mid zone cells are more than cornified squamous epithelium cells. (Liu's stain, 400X)

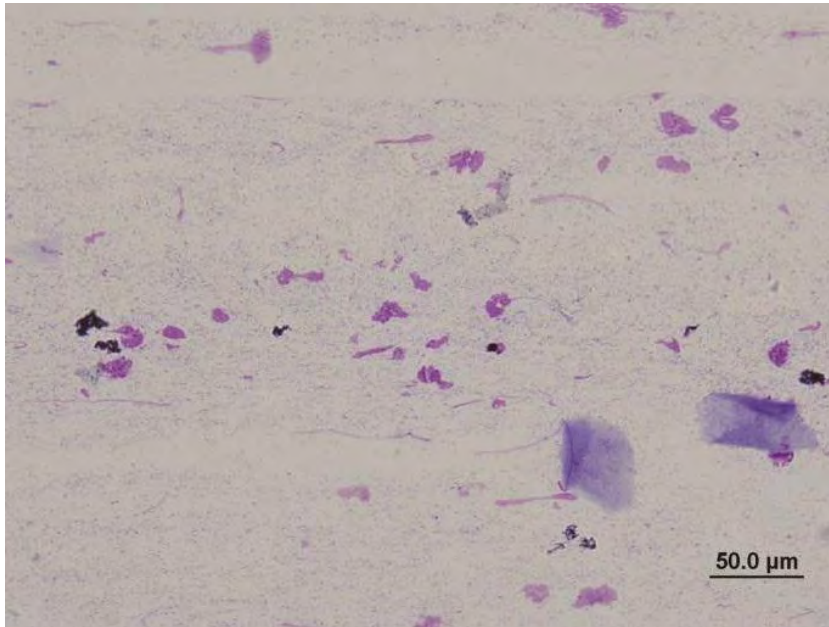


圖 4. 濾泡期，角化之表層細胞增加，未見紅血球及白血球。(Liu's stain, 400X)

Fig. 4. Follicular phase. There are increase amount of cornified squamous epithelium cells but without red blood cells and white blood cells. (Liu's stain, 400X)

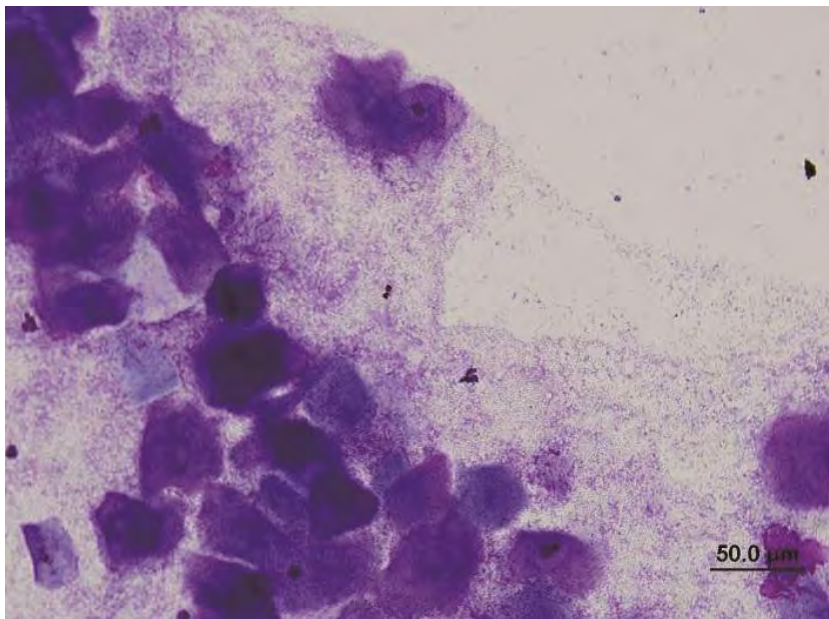


圖 5. 排卵期，表層細胞數量達到最高峰，鏡檢下可見大量核濃縮之角化上皮細胞。(Liu's stain, 400X)

Fig. 5. Ovulation phase. Epithelium cells peak at this stage. Large amount of comified squamous epithelium cell with condensed nucleus could be seen microscopically. (Liu's stain, 400X)

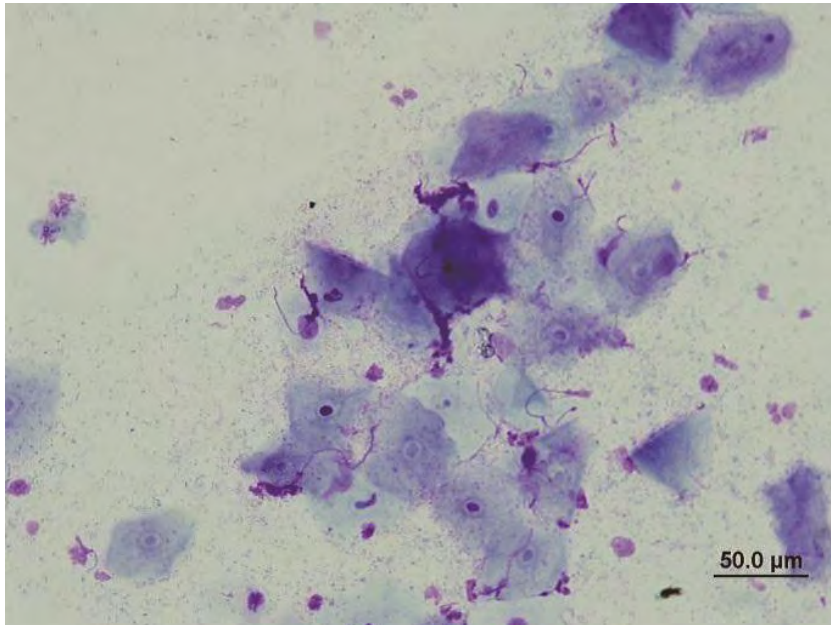


圖 6. 黃體期，表層細胞漸減，而中間層細胞漸增，至月經前可見白血球再次增加。(Liu's stain, 400X)
Fig. 6. Luteal phase. The number of epithelium cell decreased and replace by mid zone cells. The number of white blood cells will increase again before menstrual phase. (Liu's stain, 400X)

藥物給予後內分泌素與動情週期變化

6 隻雌性臺灣獼猴以肌肉注射 MPA 進行試驗，劑量為 150 毫克/次，投予一次後，試驗獼猴每週進行採血並以酵素免疫分析法檢驗血液中的雌二醇與孕酮濃度變化。結果發現注射後孕酮的變化由 103.96 ± 27.59 ng/mL 每週顯著的上升至注射後第 7 週與第 8 週，分別為 228.67 ± 26.88 ng/mL 與 265.22 ± 35.04 ng/mL，至注射後 11 週孕酮濃度上升至 280.18 ± 21.67 ng/mL，皆與注射藥物前之變化與對照組具有顯著性升高 ($p < 0.01$)，且於注射後 14 週孕酮濃度仍為 229.10 ± 20.13 ng/mL ($p < 0.01$)，代表試驗臺灣獼猴仍處於黃體階段(圖 2)。而雌二醇的濃度變化於注射前為 209.33 ± 5.86 pg/mL，注射後雌二醇濃度則介於 168.67 ± 62.69 pg/mL 至 349.43 ± 27.81 pg/mL(無顯著性差異)，每四

週固定的週期性變化，對於投予之 MPA 並未產生影響(圖 1)。

陰道細胞學的變化則發現注射 MPA 後，試驗臺灣獼猴 ($n = 6$) 皆處於黃體期與濾泡期階段，顯微鏡檢查主要均以中間層細胞與角化之表層細胞為主，無明顯動情角化之變化。會陰部之性皮與顏色則無明顯腫脹與增色的改變。

另一組處理組於實驗開始第 11 週及第 12 週針對 5 隻雌猴以口服方式投予 LNG 進行試驗，劑量為 0.3 毫克/次/週，投予時間 2 週，利用酵素免疫分析法檢驗血液中的孕酮與雌二醇濃度變化。口服 LNG 其孕酮與雌二醇之血清濃度檢測結果顯示，雌二醇於口服後第 5 週時開始爬升由給藥前 207.84 ± 5.14 pg/mL 爬升至 238.60 ± 35.71 pg/mL ($p < 0.05$)，於口服後第 6 週時達高峰 357.32 ± 65.70 pg/mL，於口服後

第 7 週($p < 0.01$)下降至 199.40 ± 34.75 pg/mL，並維持至口服後第 10 週輕微上升(圖 1)；孕酮部分，則至口服後第 7 週才由給藥前的 104.16 ± 30.84 ng/mL 上升至 253.70 ± 50.11 ng/mL($p < 0.01$)，且於口服後第 8 週時下降至 120.20 ± 12.26 ng/mL，並維持至口服後第 11 週開始緩慢爬升(圖 2)。陰道細胞學的變化則發現口服方式投予 LNG 後，試驗臺灣獼猴($n=5$)皆處於黃體期階段，顯微鏡檢查主要均以中間層細胞為主，且無觀察到明顯的性皮腫脹與顏色改變。

藥物安全性及臺灣獼猴健康檢查數值變化

針對本次實驗之雌猴進行稱重，投藥前體重為 4.06 ± 0.76 Kg，而投藥後的最後一次檢查之體重為 4.78 ± 0.99 Kg，兩者無顯著差異；而在投藥後全血球計數結果則如下：紅血球 $5.11 \pm 0.53 \times 10^6/\mu\text{L}$ ，血容比 $34.16 \pm 3.13\%$ ，血紅素 11.73 ± 1.04 g/dL，平均紅血球容積 67.01 ± 3.66 fL，平均紅血球血紅素 23.07 ± 1.53 pg，平均紅血球血紅素濃度 34.43 ± 1.34 ，血小板 $428.32 \pm 75.83 \times 10^3/\mu\text{L}$ 與白血球 $13.30 \pm 5.67 \times 10^3/\mu\text{L}$ 。此外，檢測血清生化學結果如下：ALR 4.67 ± 0.53 IU/L，鹼基磷酸酶 314.20 ± 211.91 IU/L，天門冬胺酸轉胺酶 47.73 ± 28.47 IU/L，丙胺酸轉胺酶 101.17 ± 84.98 IU/L，總膽紅素 0.35 ± 0.14 mg/dL，血尿素氮 26.24 ± 8.07 mg/dL，總膽固醇 135.93 ± 32.94 mg/dL，肌酸酐 1.16 ± 0.24 mg/dL，肌酸激酵素酶 85.00 ± 40.56 IU/L，血糖 56.46 ± 29.31 mg/dL，磷 3.96 ± 1.00 mmol/L，總蛋白質 8.19 ± 1.01 g/dL，乳酸去氫酵素 427.94 ± 145.04 mmol/L 與谷氨酰轉胺酶 77.40 ± 36.30 IU/L。雌猴檢測血中離子濃度結果如下：鈉 141.41 ± 9.25 mmol/L，鉀 3.71 ± 0.29 mmol/L 與氯 107.50 ± 8.34 mmol/L。

討 論

臺灣獼猴之動情週期相關研究方面，Peng 等人於 1973 年觀察為 29.4 ± 15.5 天(Peng *et al.* 1973a)，Chen 等人於 1990 年觀察結果為 27.8 ± 2.9 天(Chen *et al.* 1990)，季等人於 1997 年研究則為 27.3 ± 8.9 天(季等，1997)，Nigi 等人觀察日本獼猴動情週期為 26.3 ± 5.4 天(Nigi 1975)、Dukelow 等人觀察食蟹猴 30.9 ± 4.8 天(Dukelow 1975)。而本次的試驗研究中發現，試驗臺灣獼猴經長途運輸、緊迫、適應環境與輕度脫水等情況導致第一次動情週期徵候並不明顯，第一次完整動情週期平均為 28.79 ± 8.34 天，顯示個體間差異較大，飼養約一個月後，因適應新的環境與充足食物及飲水後，第二次與第三次動情週期則趨於穩定，平均分別為 27.86 ± 3.44 天與 28.21 ± 2.61 天，個體間差異逐漸減小，與前人研究之結果亦為相似。此外試驗獼猴為籠飼飼養模式，因此以麻醉方式每週進行採血，而依據前人研究，多次的麻醉及靜脈抽血不會對性週期造成任何有意義的改變(Hotchkiss *et al.* 1971; Stabenfeldt and Hendrickx 1973; Channing *et al.* 1977; Aidara *et al.* 1981)。

於試驗進行觀察臺灣獼猴正常動情週期時其性皮腫脹的變化，結果其腫脹及增紅程度並不明顯，不似黑猩猩與狒狒般有明顯性皮腫脹(Wildt *et al.* 1977; Deschner *et al.* 2004)，本次試驗結果與季等人之研究相似，認為臺灣獼猴雌猴在交配季中會有外觀變化，但變化的部分及程度，會因個體而有所差異，或是性皮的腫脹及增紅，或是臉部膚色的增紅，也有少部分個體甚少有外觀的變化。性皮腫脹增紅期，多在經血前或後半個月，而此時與雄猴間的交配及配對關係亦較頻繁(季 1996)。因此，若

於野外進行試驗時，以性皮腫脹變化程度作為動情週期的觀察指標可能會有所差異。

於本次試驗中，陰道細胞學檢查若能降低糞便汙染與進行劉氏染色時非特異性結合的染色顆粒外，可順利以顯微鏡方式觀察以作為卵巢週期性變化的佐證，若同時配合內分泌素(孕酮與雌二醇)的分析下，可以充分掌握正確的排卵時間與動情週期。

針對高雄壽山地區進行臺灣獼猴生殖行為研究中發現，該地區臺灣獼猴交配高峰期為 11 月至 12 月(黃 2003)，此與季等人(1997)及李等人(2002)對圈養台灣獼猴觀察結果相似。因此，配合本實驗結果，MPA 對於試驗成熟雌性臺灣獼猴能夠維持三個月以上的黃體期，成功降低其發情頻率與有效延長動情週期，且以肌肉注射之給藥途徑與藥物半衰期長等均為 MPA 適用於野外工作的優點。因此，每年 8 至 11 月間於野外使用 MPA 進行避孕，應可順利達到抑制臺灣獼猴繁衍過度之情形。

Nakama 等人於 2012 年發表文獻表示給予口服避孕藥物(LNG)，可有效延長排卵週期，由原先 16 - 29 天，延長 26 至 36 天 (Nakama *et al.* 2012)，而根據本實驗之結果顯示，在給予口服 LNG 後，不論雌二醇(口服後第 5 週)或孕酮(口服後第 7 週)均延遲 4 週才上升；顯示口服給於 LNG 確實能有效延長排卵週期；然而根據本次實驗在口服後第 10 至第 12 週之結果中，雌二醇與孕酮同時出現上升之情形，顯示口服給與 LNG 雖能達到延長排卵週期，然而藥效過短，若想有效延長排卵週期，則需於每次排卵週期開始時皆給予口服 LNG。因此於田間以口服方式投予 LNG 的方式可能必須以密集的投予方式，但又未能確保該隻臺灣獼猴可以連續性食入此藥，因此若以此藥進行田間試驗可能必須改變其投藥方式。

由李於 1994 年檢測臺灣獼猴之血液學與血清生化學正常值與本次實驗中的檢測值比較可得知：在全血球計數中，血容比略低於前次研究，白血球數值高於前次研究；而在血清生化學方面，其數值範圍則均落於參考值範圍內，同時由體重資料也未觀察到明顯波動，由此可知，兩藥物於獼猴之使用並未見到血清生化學上的副作用，也沒有於人類使用常見的如食慾不振、體重起伏等副作用。

綜合上述，藉由藥物進行台灣獼猴之生育控制是安全有效的方法，且以 MPA 較為可行，然而野外工作的進行，尚需配合野生族群之發情週期及分布狀況設計最佳的投餌時機及數量以達到最大效率，而此尚仰賴更進一步且大規模的野外研究。

謝 誌

本研究感謝行政院農委會林務局協助計畫執行，同時感謝國立嘉義大學郭鴻志老師及研究室團隊傾力相助。

引用文獻

- 李玲玲、吳海音、張仕緯、徐芝敏、摩悌。2002。臺灣獼猴現況調查。臺灣獼猴保育與經營管理研討座談會成果報告。行政院農業委員會林業試驗所。8 - 33。
- 李衛民。1994。台灣獼猴(Formosan rock macaque) 於人工飼養環境下之血液學與血液化學之探討。中華獸醫誌 20(4): 371-376。
- 季昭華。1996。臺灣獼猴生殖生理與人工繁殖應用之探討。博士論文。國立臺灣大學獸醫學系研究所。

- 季昭華、朱俊享、林安仲。1997。臺灣獼猴性週期之生殖生理變化與腹腔鏡觀察。動物園學報 9: 15-28。
- 鹿野忠雄。1929。臺灣哺乳類分布及習性。動物學雜誌 41: 332-340。
- 黃志堅。2003。壽山地區臺灣獼猴之生殖行為。國立中山大學生命科學研究所。
- Aidara, D., M. Badawi, C. Tahiri-Zagret and C. Robyn. 1981. Changes in concentrations of serum prolactin, FSH, oestradiol and progesterone and of the sex skin during the menstrual cycle in the mangabey monkey (*Cercocebus atylus*). Journal of Reproduction and Fertility 62: 475-481.
- Channing, C.P., S. Fowler, B. Engel and K. Vitek. 1977. Failure of daily injections of ketamine HCL to adversely alter menstrual cycle length, blood estrogen, and progesterone levels in the rhesus monkey. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 155: 615-619.
- Chen, Y. Y. and T.H. Lin. 1990. Fecal progesterone in Taiwan monkey (*Macaca cyclopis*) during the menstrual cycle and pregnancy. Taipei zoo bulletin 3: 41-47.
- Deschner, T., M. Heistermann, K. Hodges and C. Boesch. 2004. Female sexual swelling size, timing of ovulation, and male behavior in wild West African chimpanzee. Hormonal Behavior 46:204-215.
- Dukelow, W.R. 1975. The morphology of follicular development and ovulation in non-human primates. Journal of Reproduction and Fertility. Supplement 22: 23-51.
- Hild-Petito, S., R. S. Veazey, J. M. Lamer, J. R. Reel and R. P. Blye. 1998. Effects of two progestin-only contraceptives, Depo-Provera and Norplant-II, on the vaginal epithelium of rhesus monkeys. AIDS research and human retroviruses, 14 Suppl 1, S125-130.
- Hotchkiss, J., L.E. Atkinson and E. Knobil. 1971. Time course of serum estrogen and luteinizing hormone (LH) concentrations during the menstrual cycle of the rhesus monkey. Endocrinology 89: 177-183.
- Hsu, M. J., J. F. Lin and G. Agoramoorthy. 2000. Occurrence of twins in wild Formosan macaques, *Macaca cyclopis*, at Mt. Longevity, Taiwan. Folia Primatol (Basel) 71:154-156.
- Kuroda, M. 1940. A monograph of the Japanese mammals. The Sanseido Co. Ltd., Tokyo.
- Landgren, B. M., A. R. Aedo, E. Johannisson, and S. Z. Cekan. 1994. Pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of vaginal rings releasing levonorgestrel at a rate of 27 µg/24 hours: A pilot study. Contraception 49(2): 139-150.
- McCullough, D. R. 1974. Status of large mammals in Taiwan. Tourism Bureau, Taipei.
- Mishell, D. R. 1996. Pharmacokinetics of depot medroxyprogesterone acetate contraception. Journal of Reproductive Medicine 41(5):381-390.
- Moore, L. L., R. Valuck, C. McDougall and W. Fink. 1995. A comparative study of one-year weight gain among users of medroxyprogesterone acetate, levonorgestrel

- implants, and oral contraceptives. *Contraception* 52(4):215-219.
- Mora, G., E. D. Johansson. 1976. Plasma levels of medroxyprogesterone acetate (MPA), estradiol and progesterone in the rhesus monkey after intramuscular administration of Depo-Provera. *Contraception* 14: 343-350.
- Morrison, C. S., S. Skoler-Karpoﬀ, C. Kwok, P. L. Chen, J. van de Wijgert, M. Gehret-Plagianos, S. Patel, K. Ahmed, G. Ramjee, B. Friedland and P. Lahteenmaki. 2012. Hormonal contraception and the risk of HIV acquisition among women in South Africa. *Aids* 26(4):497-504.
- Munro, C. J., L.S. Laughlin, T. VonSchalscha, D.M. Baldwin and B.L. Lasley. 1996. An enzyme immunoassay for serum and urinary levonorgestrel in human and non-human primates. *Contraception* 54(1):43-53.
- Nagle, C.A., M. M. Lahoz, M. M. Porta, M. Torres, T. Manzur and Z. Farinati. 2009. Suppression of ovulation by a synthetic progestin in the capuchin monkey. *Journal of Medical Primatology* 38: 340-346.
- Nakama, K., A. Akune, N. Kawate, M. Takahashi, T. Inaba, H. Sameshima and H. Tamada. 2012. Delay of ovulation due to diets containing levonorgestrel in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Journal of Veterinary Medical Science* 74: 1453-1460.
- Nigi, H. 1975. Menstrual cycle and some other related aspects of Japanese monkeys (*Macaca fuscata*). *Primates* 16:207-216.
- Ortiz, M.E. 2004. Post-coital administration of levonorgestrel does not interfere with post-fertilization events in the new-world monkey *Cebus apella*. *Human Reproduction* 19:1352-1356.
- Peng, M. T., Y. L. Lai, C. S. Yang and H. S. Chiang. 1973a. Formosan monkey (*Macaca cyclopis*): present situation in Taiwan and its reproductive biology. *JikkenDobutsu* 22: 447-451.
- Peng, M. T., Y. L. Lai and C. S. Yang. 1973b. Reproductive parameters of the Taiwan Monkey (*Macaca cyclopis*). *Primates* 14: 201-214.
- Savage, A., D. S. Zirofsky, S. E. Shideler, T. E. Smith and B. L. Lasley. 2002. Use of levonorgestrel as an effective means of contraception in the white-faced saki (*Pithecia pithecia*). *Zoo Biology* 21:49-57.
- Schindler, A. E., C. Campagnoli, R. Druckmann, J. Huber, J. R. Pasqualini, K. W. Schweppe, W. Karl and J. H. H. Thijssen. 2003. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas* 46, Supplement 1: 7-16.
- Schindler, A. E., C. Campagnoli, R. Druckmann, J. Huber, J. R. Pasqualini, K. W. Schweppe, W. Karl and J. H. H. Thijssen. 2008. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas* 61(1-2):171-180.
- Shimizu, K., Y. Takenoshita, F. Mitsunaga and M. Nozaki. 1996. Suppression of ovarian function and successful contraception in macaque monkeys following a single injection of medroxyprogesterone acetate. *Journal of Reproduction and Development*

42(2):147-155.

- Stabenfeldt, G. H. and A. G. Hendrickx. 1973. Progesterone studies in the *Macaca fascicularis*. *Endocrinology* 92: 1296-1300.
- Wadsworth, P. F., R. Heywood, D. G. Allen, R. J. Sortwell and R. M. Walton. 1979. Treatment of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) with intrauterine devices loaded with levonorgestrel. *Contraception* 20: 177-184.
- Wheaton, C. J., A. Savage, A. Shukla, D. Neiffer, W. Qu, Y. Sun, and B. L. Lasley. 2010. The use of long acting subcutaneous levonorgestrel (LNG) gel depot as an effective contraceptive option for cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*). *Zoo Biology* 30: 498-522.
- Wildt, D. E., L. L. Doyle and S. C. Stone. 1977. Correlation of perineal swelling with serum ovarian hormone levels, vaginal cytology, and ovarian follicular development during the baboon reproductive cycle. *Primates* 18: 261-270

