

雌性川金丝猴尿中生殖激素变化的研究

戚汉君 梁 冰 鲍文永 贾玉春

(北京濒危动物驯养繁殖中心, 北京, 102602)

浜夏樹

(日本神户市王子动物园)

Nancy M. Czekala Nancy C. Harvey

(圣地亚哥动物学会, 加利福尼亚, 美国)

摘 要

用人促黄体生成素/绒毛膜促性腺激素诊断药盒及雌激素诊断药盒, 定期测定 4 只雌性川金丝猴尿中黄体生成素和绒毛膜促性腺激素的活性及其与雌激素含量的关系。实验证明, 两种人用诊断药盒可以测出金丝猴尿中的促黄体生成素 (LH)/绒毛膜促性腺激素 (CG) 及雌激素 (E) 的变化情况。基本上反映了金丝猴的卵泡形成、排卵和黄体生成的时间以及妊娠的情况。LH/CG 及 E, 每月有一个大的峰值, 其后 1—4 天内有月经或尿潜血出现。妊娠初期 LH/CG 急剧上升, 持续一个月达到最高峰后即急剧下降。E 在 LH/CG 下降后开始升高, 持续 3—4 个月达到最高峰, 高峰下降后半个月左右分娩, 分娩后重新升高, 但低于原水平。

金丝猴的繁殖行为, 主要表现为邀配和交配, 9—12 月频率最高。根据 LH/CG 曲线的变化可以推断受精的大约日期。

关键词 川金丝猴; 促黄体生成素; 绒毛膜促性腺激素; 交配; 雌激素

金丝猴 (*Rhinopithecus roxellanae*) 的生殖生理及生殖激素特点至今尚缺少系统的研究。通过对其生殖激素和行为的测定和分析, 将可以了解动物的卵巢功能、卵泡形成、排卵、黄体生成、月经周期及妊娠状态等。为此, 我们于 1992—1993 年对 4 只雌性川金丝猴 (*Rhinopithecus roxellanae roxellanae*) 进行了繁殖生理、内分泌和行为方面的研究, 试图探讨其繁殖特点。

材料和方法

1. 尿样的采集 对 4 只川金丝猴, 从 1992 年 6 月至 1993 年 4 月逐日或每周分别采集晨尿一次。其方法是在排尿后立即用注射器从地面上吸取尿液, 收集在洁净试管内, 保存在低温冰箱 (—20 C) 或者立刻检验尿中的 LH/CG 和 E 的浓度及肌酐含量 (Cr-Creatinine)。

尿中 LH/CG 测定, 采用日本持田制药株式会社生产的“尿中微量 LH/CG 测定试剂 HI-GONAVIS” (创造批号 116)。E 测定系采用同一厂家生产的“HI-ESTROTEC”试剂

* 本文于 1993 年 12 月 27 日收到, 1994 年 11 月 5 日收到修改稿

(制造批号 031)。

测定尿中的肌酐反应物为: 0.4N 苦味酸, 0.75N 氢氧化钠及 0.01ml/ml 的肌酐标准液。

2. 操作程序 尿样 0.01ml 加蒸馏水 0.99ml。吸 0.1ml 上述尿样 (1:100) 和蒸馏水或标准工作液 0.01mg/ml 加到反应板小孔内, 各 4 孔, 每孔 0.1ml。然后每孔各加 0.05ml 苦味酸和氢氧化钠, 在 37℃ 经 15 分钟后用 MR-600 型酶标读数仪阅读计数, 参考波长为 630, 工作波长为 490。整个反应和阅读均在 45 分钟内进行。每毫升尿中肌酐毫克数 (mg/ml) = 样品透光率 (O.D. 值) - 空白 O.D. 值 / 标准平均 O.D. 值 - 空白 O.D. 值。

尿中 LH/CG、E 的含量用尿中的肌酐量加以处理, 最后得到 LHIU/Crmg, CGIU/Crmg, Eng/Crmg 进行统计、比较。

3. 行为统计 记录统计雌猴全天的邀配和交配的次数, 接近和理毛次数等。搜集掉在地板上的精液凝块进行镜检, 其他个体行为和社群行为另行统计。

结 果

4 只金丝猴有 2 只怀孕, 2 只未孕。

8704 号雌金丝猴, 1992 年 5 月随一成年雄性金丝猴赴日本神户市王子动物园供合作研究。从 6 月开始每日采集晨尿至 1992 年 11 月。用前面介绍的方法测定尿中的 LH、CG、E 及 Cr。然后根据试剂说明换算出 LHIU/Crmg, CGIU/Crmg 及 Eng/Crmg。

6 月 29 日, E 的峰值为 33.33ng/Crmg。6 月 30 日邀配高峰达 12 次/天, 交配 9 次/天。7 月 5 日出现明显的月经。6 月 29 日、7 月 5 日及 7 月 10 日三天尿潜血阳性。7 月 24 日, E 又一峰值出现, E=32.26ng/Crmg, 但没有邀配和交配行为。8 月 6 日 E 值为 24.24ng/Crmg, 8 月 12 日呈现明显月经和尿潜血阳性, 直到 9 月 3 日才正式恢复邀配行为, 高达 20 次/天, 交配 5 次/天。9 月 11 日至 13 日呈现明显月经和尿潜血阳性。9 月 24 日开始测尿中 LH 及 CG, LH=0.051 6IU/Crmg, CG=0.020 7IU/Crmg。9 月 26 日 LH=0.465IU/Crmg, CG=0.186IU/Crmg, E=27.91ng/Crmg。当天邀配 4 次, 交配 1 次。此后直到 10 月 1 日又无交配行为。10 月 2 日交配 5 次, 显微镜观察掉在地板上的精液凝块时见到大量精子。10 月 9 日 LH=0.07IU/Crmg, CG=0.028IU/Crmg, E=122.32ng/Crmg。10 月 11 日 LH 则急剧上升至 0.749IU/Crmg, CG=0.299 6IU/Crmg, E=0。10 月 20 日 LH=1.25IU/Crmg, CG=0.5IU/Crmg, E=25ng/Crmg。邀配 14 次, 交配 11 次。尿潜血阳性但没见到月经。11 月 4 日 LH=0.342IU/Crmg, CG=0.136IU/Crmg, E=68.376ng/Crmg。11 月 9 日 LH=1.869IU/Crmg (1.869IU/l), CG=0.747 7IU/Crmg (747.7IU/l), E=186.9ng/Crmg。11 月 11 日 LH=1.379IU/Crmg, CG=0.551IU/Crmg, E=27.586ng/Crmg。11 月 19 日开始下降至 LH=0.741IU/Crmg, CG=0.296IU/Crmg, E=74.07ng/Crmg。11 月 20 日邀配 20 次、交配 15 次。11 月 21 日尿潜血阳性。11 月 24 日 LH=0.187IU/Crmg, CG=0.074 8IU/Crmg, E=37.383ng/Crmg。邀配 16 次、交配 14 次。11 月 30 日 LH=0.066 7IU/Crmg, CG=0.026 6IU/Crmg。邀配 11 次、交配 9 次。从 12 月份至 4 月份采用 EIA (ENZYME-IMMUNDASSAY) 方法检尿中的雌二醇 (ESTRADIOL, E₂)。E₂ 的资料其峰值在 9 月 25 日出现 11 187pg/ml 以后, 12 月 16 日 E₂=10 652pg/ml, 12 月 29 日 E₂=10 269。1 月 9 日 E₂ 达到

20454pg/ml, 1月12日 $E_2=24\ 681\text{pg/ml}$, 1月19日 $E_2=13\ 899\text{pg/ml}$, 2月6日 $E_2=27\ 961\text{pg/ml}$, 2月13日 $E_2=14\ 940\text{pg/ml}$, 2月17日 $E_2=17\ 424\text{pg/ml}$, 2月22日 $E_2=26\ 041\text{pg/ml}$, 2月28日 $E_2=10\ 878\text{pg/ml}$, 3月8日至4月8日峰值均在10 486—18 091pg/ml之间波动, 4月14日下降至8 412pg/ml, 4月20日 $E_2=4\ 869\text{pg/ml}$, 4月21日正常分娩, 生一雌婴, $E_2=2\ 445\text{pg/ml}$ 。(图1、图2)。

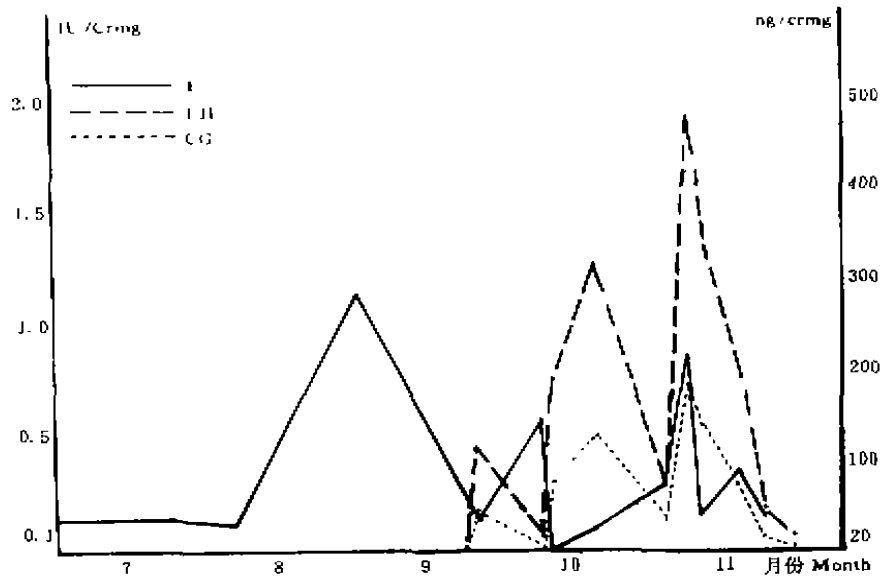


图1 金丝猴 8704 怀孕初期 LH/CG 及 E 的变化

Fig. 1 Change of LH/CG and E in initial stage of pregnancy for snub-nosed monkey 8704

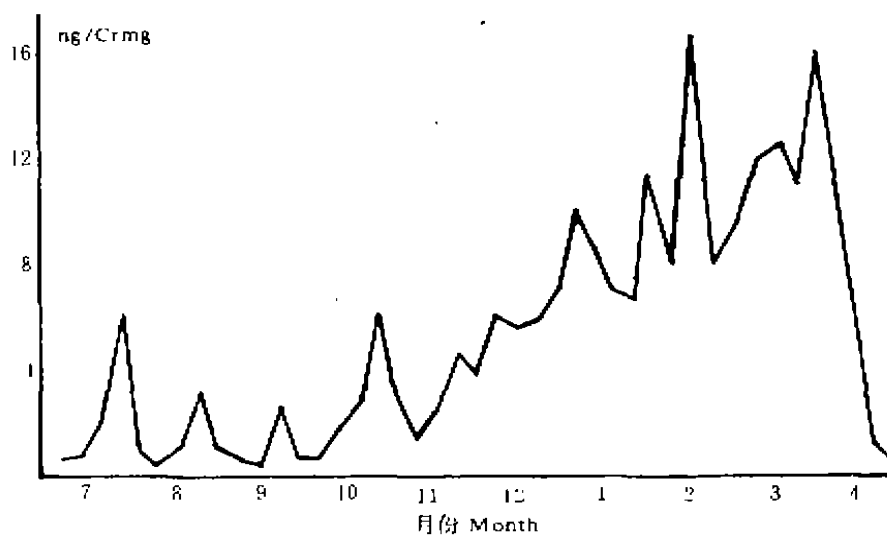


图2 金丝猴 8704 怀孕前后 E_2 的变化

Fig. 2 Change of E_2 around pregnancy for snub-nosed monkey 8704

8712号雌金丝猴与雄猴8709号同笼, 为怀孕妊娠中后期。1993年1月开始测尿中

• E_2 用 ELA 检查的正常参考值 (pg/ml): 女性卵泡期为 10—147, 排卵前期为 110—387.7, 黄体期为 27.3—247, 妊娠 3 个月为 108.1—1 360, 6 个月为 677—17 028, 9 个月为 2 413—27 158。摘自酶联免疫雌二醇 ELA 法血中雌二醇测定试剂说明书。

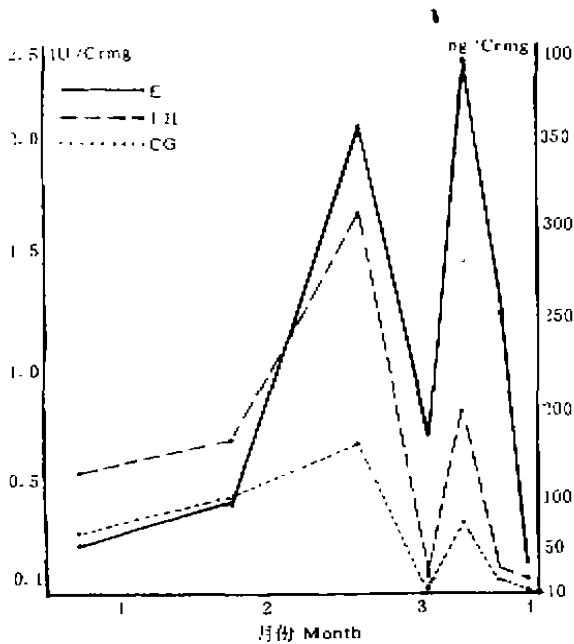


图3 金丝猴 8712 怀孕后期 LH/CG 及 E 的变化
Fig. 3 Change of LH/CG and E in later stage of pregnancy for snub-nosed monkey 8712

E、LH 及 CG，每周一次，直到 4 月 15 日。1 月 7 日 E=51.2ng/Crmg、LH=0.645 IU/Crmg、CG=0.258IU/Crmg。2 月 8 日 E=69.4ng/Crmg、LH=0.694 IU/Crmg、CG=0.277 IU/Crmg。到 3 月 4 日 E 上升至 365.9ng/Crmg、LH=1.626IU/Crmg、CG=0.650IU/Crmg。3 月 18 日 E 的峰值一度下降，E=155.0ng/Crmg、LH=0.077 IU/Crmg、CG=0.031IU/Crmg。3 月 25 日复升至 E=393.7ng/Crmg、LH=0.787 IU/Crmg、CG=0.305IU/Crmg。4 月 2 日 E=256.7ng/Crmg、LH=0.128 IU/Crmg、CG=0.051 IU/Crmg。4 月 5 日晨正常分娩产一雌婴。产后 4 月 8 日 E=24.66ng/Crmg、LH=0.061 IU/Crmg、CG=0.024 IU/Crmg。4 月 15 日 E=8.264ng/Crmg、LH=0.413IU/Crmg、CG=0.165IU/Crmg (图 3)。

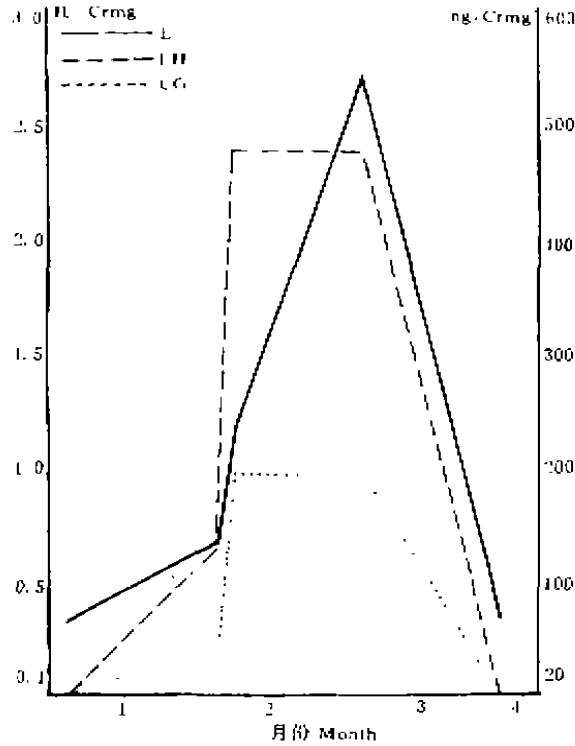


图4 老龄金丝猴 8714 LH/CG 及 E 的变化
Fig. 4 Change of LH/CG and E for senile snub-nosed monkey 8714

8714 号金丝猴与雄猴 8709 同笼，是非怀孕金丝猴。从 1 月开始测定尿中的 LH、CG 及 E，每周一次。1 月 4 日 LH=0、CG=0、E=51.72ng/Crmg。2 月 5 日 LH=0.628IU/Crmg、CG=0.251 IU/Crmg、E=125.7ng/Crmg。2 月 8 日 LH=2.380IU/Crmg、CG=0.952 IU/Crmg、E=238.7ng/Crmg。3 月 4 日 LH=2.366 IU/Crmg、CG=0.946 IU/Crmg、E=532.5ng/Crmg。3 月 11 日明显月经，尿潜血阳性。4 月 2 日 LH=0、CG=0、E=63.69ng/Crmg (图 4)。

8722 号金丝猴与雄猴 8711 同笼，也是非怀孕金丝猴，年仅 4 岁。1992 年 8 月第一次发现月经，9 月与成年雄猴同笼。1993 年 1 月开始检测尿中 LH、CG、E，每周一次。1 月 13 日 LH=0.165IU/Crmg、CG=0.066IU/Crmg、E=52.98ng/Crmg。1 月 25 日 LH=0.735IU/Crmg、CG=0.294IU/Crmg、E=29.4ng/Crmg。2 月 25 日 LH=0.072 IU/Crmg、CG=0.029

1IU/Crmg、E=14.53ng/Crmg。3 月 18 日 LH=1.127IU/Crmg、CG=0.451IU/Crmg、

E=28.17ng/Crmg。4月15日 LH=0.772IU/Crmg, CG=0.309IU/Crmg, E=23.16ng/Crmg。此间没见过月经(图5)。

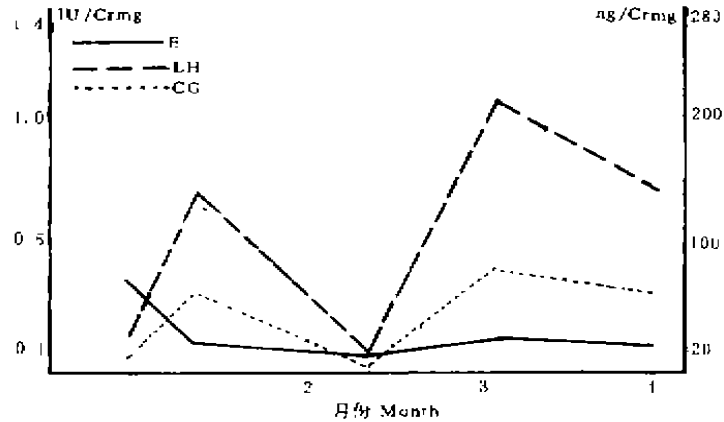


图5 金丝猴 8722 (3岁) LH/CG 及 E 的变化

Fig. 5 Change of LH/CG and E for snub-nosed monkey 8722 (three years old)

讨 论

本研究采用红血球凝集反应的免疫学方法检测金丝猴尿中的 LH、CG 的生物学活性和雌激素 E 的含量。实践表明二者均能检出金丝猴尿中的促黄体生成素 LH 和绒毛膜促性腺激素 CG 及雌激素 E 的变化。

垂体分泌的 LH 和促卵泡素 FSH 可直接参与卵巢功能的调节。LH 在早卵泡期协同 FSH 刺激卵泡生长和产生雌激素，在晚卵泡期稳定增加，到排卵前期出现高峰参与卵泡成熟、卵泡破裂和排卵，并对下丘脑的释放因子起反馈作用。通常认为 hLH 高峰后 12—36 小时排卵，如果受孕，7—8 天孕卵着床，9—12 天血中 hCG 开始出现。怀孕猕猴血清中的 mCG 在妊娠 18—20 天时快速上升，22 天时达到 26IU/ml，以后快速下降(王淑贞等, 1980)。按上述说法，金丝猴 8704 在 1992 年 9 月 26 日尿中 LH 出现的峰值，可能这是排卵前期的高峰，10 月 10—11 日 CG 出现峰值，11 月 9—11 日达到最高峰。这与猕猴的受孕过程相符。又据 RIA 测得的 E₂ 的资料，从 1992 年 12 月到 1993 年 4 月的 E₂ 峰值的波动，也符合在怀孕中后期应有的变化。整个过程为 201—203 天。

雌性激素的生物合成，在受孕前，雌酮与雌二醇主要是由卵巢分泌，雌三醇则为外周的代谢物。妊娠期雌激素的主要来源是胎儿—胎盘单位。在妊娠 6 周前，雌二醇还是由卵巢分泌，但自第 7 周起，这作用已转到胎盘。雌二醇就很快上升，在第 10 周已 7 倍于月经周期黄体期高峰的浓度(王淑贞等, 1980)。金丝猴 8712 号于 1993 年 4 月 5 日分娩一雌婴。从 1 月份到 4 月份 E 的峰值是从 51.2ng/Crmg 上升到 393.7ng/Crmg，而后下降，这和 8704 的 E₂ 在怀孕后期相似，均在较高的水平上波动。而 LH/CG 却在低水平上波动。

从两只怀孕金丝猴的生殖激素变化，可以看出金丝猴也和其他灵长类一样，怀孕早期 LH/CG 峰值高；后期 E 峰值高。

金丝猴 8714 和 8722 是 2 只非孕金丝猴，从测得的生殖性激素结果，反应了峰值的周期性，即卵泡形成、排卵及黄体生成的周期性。8714 此过程在上旬，而 8722 似乎是在中旬。

总之，金丝猴的生殖性激素特点与其它非人灵长类相似 (Czekala 等, 1981)。

实验测得的 LH/CG 及 E 的浓度, 反映了金丝猴的卵泡形成、排卵和黄体生成等生理状态。可以看出 LH/CG 和 E 与行为之间有着一定的关连。行为峰值在 LH 及 E 分泌峰值的前后出现, 若没有怀孕, 其峰值过后几天便是月经或尿潜血出现, 基本上是每月呈现一次周期变化。当然不同个体有一定的差异, 有时一个月出现两次峰值或尿潜血状态。邀配和交配等性行为从 9 月以后其频率明显增加, 随生殖激素峰值而变化直到 12 月份, 其他月份则不明显, 即其行为有明显的季节性。雄性也是在这个季节才有交配、射精行为, 在 8 月份以前虽见有交配, 但见不到射精的痕迹, 有时只是雌性邀配而得不到雄性的交配要求, 可见繁殖的季节性与雄性有一定关系, 不光是雌性生殖激素的影响。

妊娠初期 E 乃由卵巢产生, 所以性行为仍然频频进行, 尿中可出现潜血, 只在怀孕中后期才消失。当然尿潜血阳性并不一定是月经的反映, 如交配次数过频造成阴道损伤或先兆流产等也可出现。

金丝猴生殖激素的研究, 对进一步了解其生殖生理和繁殖特点, 以及作为妊娠监测手段应用于动物饲养和繁殖都是有意义的。

参 考 文 献

- 王淑贞主编. 1981. 妇产科理论与实践. 上海, 上海科学技术出版社.
- 施少清, 董琳, 陈玉村, 冯丹丹. 1988. 大熊猫雌性个体发情期生殖内分泌变化的研究. 兽类学报, 8 (1): 1-6.
- 陈服官主编. 1989. 金丝猴研究进展. 西安, 西北大学出版社.
- Czekala N M, Benirschke K, McClure H, Lasley B L. 1983. Urinary Estrogen Excretion During Pregnancy in the Gorilla (*Gorilla gorilla*), Orangutan (*Pongo pygmaeus*) and the Human (*Homo Sapiens*). *Biology of Reproduction*, 28: 289-294.
- Czekala N M, Hodges J K, Lasley B L. 1981. Pregnancy Monitoring in Diverse Primate Species by Estrogen and Bioactive Luteinizing Hormone Determinations in Small Volumes of Urine. *J Med Primatol*, 10: 1-5.

THE HORMONE CHANGE IN THE URINE OF FEMALE STUB-NOSED MONKEYS

QI Hanjun LIANG Bing BAO Wenyong JIA Yuchun

(Beijing Center for Breeding Endangered Animals, Daxing, 102602)

Naphuka Hama

(Kobe Oga Zoo, Japan)

Nancy M. Czekala Nancy C. Harvey

(The Zoological Society of San Diego, California, U. S. A.)

Abstract

The relationship between the content of estrogen and the activity of luteinizing hormone (LH) and chorionic gonadotropin (CG) was presented in two pregnant and two non-pregnant stub-nosed monkeys (*Rhinopithecus roxellanae*) tested with human estrogen and LH/CG diagnostic reagents in regular time. The results demonstrated the two reagents used in human had a certain cross-reaction in stub-nosed monkeys, and they

basically represented the follicle forming, ovulating and luteinizing time in these monkeys. The estrogen peak range was in 29ug/ml to 532.5/ml. Several days later after the hormone peak, menses appeared and lasted one to four days. The interval between peaks is 20—30 days. Estrogen increased in a month after pregnant and was a double or more higher than the normal. It disappeared with LH/CG half a month before parturition in their urine, and reappeared after parturition. The LH/CG peak is 2500IU/750IU/ml. LH/CG increased in early pregnancy, and was a double or more than normal, but decreased in a month. Similar with estrogen, they disappeared half a month before parturition, and reappeared after that.

Key words Snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellanae*); Luteinizing hormone; Chorionic gonadotropin; Mating; Estrogen

(上接第 105 页)

A. barakshin 作为种的分类地位是稳定的, Bannikov (1954, 《蒙古人民共和国哺乳动物志》) 和 Rossolimo 等 (1994, 兽类学报 14 (2): 86—99) 均有详细描述。从第三上臼齿咀嚼面图案, 可与分布于天山山地的银色高山麝 (*A. argentatus*) 有显著区别, 且 *A. barakshin* 的尾也较短, 不及体长的 30%。我们的标本只有体长的 20.6%, 与分布于青藏高原及西祁连山山地的斯氏高山麝 (*A. stoliczkanus*) 相比较, *A. stoliczkanus* 的听泡显著小, 其量度通常小于 8mm (冯祚建等, 1986, 西藏哺乳类)。 *A. barakshin* 是单型种, 目前尚无亚种分化的报道。

A. barakshin 在国外主要分布于蒙古人民共和国戈壁阿尔泰山和蒙古阿尔泰山向北到俄罗斯境内图瓦山地。在中国境内目前仅在大哈甫提克山有记录, 推测整个北塔山山系可能均有分布。

标本捕自海拔 2500m 中山山地草原裸岩地带。同时捕获的还有社会田鼠 (*Microtus socialis*)、灰仓鼠 (*Cricetulus migratorius*) 和小林姬鼠 (*Apodemus sylvaticus*)。

关键词 中国; 新纪录; 高山麝;

Key words China; New record; Mountain vole;

侯兰新 (西北民族学院, 兰州, 730030) 薛世来 (新疆哈密地区治蝗办)

马良贤 王学锋 卡米力 (新疆哈密地区巴里坤蝗虫鼠害测报防治站)