

國立臺灣大學獸醫專業學院獸醫學研究所

博士論文

Graduate Institute of Veterinary Medicine

College of Veterinary Medicine

National Taiwan University

Doctoral Dissertation



以生殖控制進行台灣獼猴族群管理之適用性-保育醫學之  
實踐

Evaluation of reproduction control as a method of population  
management in Formosan macaque (*Macaca cyclopis*) -  
Conservation Medicine in Practice

余品奐

Pin Huan Yu

指導教授: 季昭華 博士

Advisor: Chau Hwa Chi, Ph.D.

中華民國 104 年 1 月

January 2015

國立臺灣大學博士學位論文口試委員會審定書



以生殖控制進行台灣獼猴族群管理之適用性-保育醫學之  
實踐

Evaluation of reproduction control as a method of population  
management in Formosan macaque (*Macaca cyclopis*) -  
Conservation Medicine in Practice

本論文係余品奐(D99629003)在國立臺灣大學獸醫學研究所完成  
之博士學位論文，於民國104年1月19日承

下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

\_\_\_\_\_ (簽名)

(指導教授)

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

所長： \_\_\_\_\_ (簽名)

## 謝辭



從小就喜歡動物，卻沒有想到投入這個領域後，在獸醫系一待就待了 11 年半，我想，我很享受這學習的過程，也打從心底喜歡自己的研究工作。

這 11 年來，我受到的幫助太多太多，感謝從森林系丁宗蘇老師到動物園金仕謙園長的鼓勵讓我開始進入獸醫學系。而在大學時代領著我進入野生動物領域的郭俊成主任則開啟了我對野生動物醫療的憧憬及眼界。我還記得自己是個莽撞不經世事的小屁孩，謝謝你們的包容。

研究所進入季昭華老師的實驗室是我研究生涯的開端，謝謝季老師如師如父的指導我，訓練我，相信我。吳應寧老師也從大學時期便一路提攜我，指點我大小事，包容我的不成熟，在這要再特別跟老師說一聲謝謝、對不起。然而這個研究和我的研究人生如果沒有郭鴻志老師的幫忙，也絕對成不了氣候。此外我還要感謝蘇璧伶老師，蘇秀惠老師，林務局翁嘉駿大哥以及在計畫的支持，王守民大哥在此研究上的幫助與建議。

在研究室待了七年半，前前後後也麻煩了好多好多實驗室的伙伴，從有革命情感的炎道，到特有生物中心的老吳阿官，及芸姍，雯鈴，鉅宇，彥霖，祈鈞，志純，加力，依婷，儒頤，晉嘉，惠淳，吊嘎，以琳，傑凱我們一起南北奔波不知道幾輪，一起為相同的理想努力，把事情做到最好，謝謝你們的心與力的投入。還有郭鴻志老師的研究生們，雖然我無法一一說出你們的名字，但仍然由衷感謝你們，尤其是冠鈞哥您。

還有太多太多朋友們，長輩們，對不起沒有一一提到你們的名字，謝謝你們。

最後，是我的家人，其實我一直不知道最勞苦功高的家人為什麼總是被放在最後，謝謝你們一路上來的支持與照顧，常常不能好好跟你們說上幾句話，其實心裡也很難受。還有我的女朋友思穎，平常的肉麻話我都說給妳聽了，但還是要說句辛苦了，謝謝妳一直在我旁邊陪伴我，幫我緊張幫我高興幫我想辦法，如果沒有妳我一定沒辦法

堅強這麼久。

還有在我的人生中遇到的所有的動物們，你們是我一輩子的牽掛，謝謝你們，我會繼續努力的。



## 中文摘要



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。這之間包含了野生動物生態學、生物學、公共衛生、人畜共同傳染病、獸醫學等範疇，此一問題事實上是一牽涉人類、動物、生態健康的保育醫學議題，需不同領域的專業人士共同合作方能有效、全面且平衡的解決問題。本研究將從獸醫學及保育醫學的觀點切入，並與保育生物學、野生動物學、生態學專家共同合作，研究不同生殖控制方法對於台灣獼猴族群管理之適用性以及探討保育醫學如何在這樣的實際案例中落實。

台灣獼猴是在獼猴屬下十九個種中被認識的最少的品種之一，雖然針對其他獼猴之卵巢週期及生殖荷爾蒙已進行了相當透徹的研究，但對於台灣獼猴生殖荷爾蒙所知仍有限。因此，本研究的第一個部份目的是了解台灣獼猴之生殖生理以及卵巢週期中卵巢及性荷爾蒙的變化。自 2013 年二月至 2013 年十一月，11 隻雌性成年台灣獼猴選入此研究，獼猴於月經的第一天，以及其後的第 4、7、10、11、12、13、14、15、16、18、20、22、24、27 日在麻醉下進行採血並針對雌二醇及孕酮濃度分析。在月經的第一天及其後的每六天進行一次內視鏡觀察，但在排卵期則每天進行。卵巢週期，濾泡期及黃體期的長度分別為  $29.2 \pm 1.3$  天、 $13.3 \pm 2.1$  天及  $14.1 \pm 1.3$  天，同時我們比較血清中荷爾蒙濃度變化與內視鏡觀察之發現：雌二醇濃度的高峰為  $290 \pm 12.7$  pg/ml，並可預測排卵將在其後的 24-48 小時內發生；孕酮在排卵後 8 天上升至最高值  $9.13 \pm 1.78$  ng/ml，接著逐漸下降。此資料可做為台灣獼猴性荷爾蒙之參考值，並對未來的研究有所裨益。

第二部份的研究目的以簡單實用與非侵入性的操作方式控制台灣獼猴的動情週期，期望可以達到台灣獼猴之生殖抑制。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確定有正常之動情週期。隨後將 14 隻成熟雌性之台灣獼猴分為三組：第一組以肌肉注射方式給予醋酸甲羥孕酮

(medroxyprogesterone acetate)第二組以口服方式投予左炔諾孕酮(levonorgestrel);第三組為對照組。觀察雌性獼猴之動情週期平均為  $28.29 \pm 5.3$  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，其血漿中雌二醇及孕酮濃度均顯著受到抑制，三個月平均分別為  $23.07 \pm 4.99$  pg/ml 及  $0.47 \pm 0.15$  ng/ml，顯著低於對照組正常動情週期之性荷蒙濃度，顯示試驗獼猴之發情週期受到抑制。第二組獼猴使用左炔諾孕酮口服投予兩次後，僅一個體出現延遲排卵現象，此時雌二醇及孕酮之平均濃度分別為  $30.58 \pm 7.62$  pg/ml 及  $0.22 \pm 0.02$  ng/ml，顯著低於對照組。估計之排卵時間離最後一次投藥後約 59 天。由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，而左炔諾孕酮之效力受受試個體投藥時之生殖週期影響，因此醋酸甲羥孕酮較適合做為野外獼猴非侵入性生育控制之方法。

第三部份為內視鏡輸卵管結紮做為台灣獼猴生殖控制之安全性評估及術後追蹤。研究中 19 隻成年雌性台灣獼猴在麻醉下其輸卵管以 2.7 毫米內視鏡系統進行電燒及截斷。我們記錄術中之併發症，並以客觀的方法對術中出血進行評分。術後監控兩個週期的血清性荷爾蒙趨勢以確定卵巢功能。在術後的 2 至 13 個月，19 隻獼猴中的 8 隻則再次進行內視鏡觀察；並客觀地針對輸卵管及生殖系統的發炎狀態進行評分。實驗中沒有記錄到任何嚴重的麻醉及手術併發症。荷爾蒙分析則顯示術後仍有正常的卵巢週期，且其模式仍與參考值相仿。術後生殖系統的發炎反應為有限到低度的，並且低於其他在獼猴使用之輸卵管阻斷方法。因此利用 2.7 毫米硬鏡系統於台灣獼猴之輸卵管結紮是安全且有效率的方法，且相較於其他已知的節育技巧造成更少的術後併發症。

總計此研究共與 13 個公私立單位進行合作，其中包含三所學術單位不同領域的專家，進行圈養及野生台灣獼猴之節育及野放追蹤，落實保育醫學中一個地球、一體健康的概念。節育效果則以肌肉注射醋酸甲羥孕酮及內視鏡輸卵管結紮為首選，但野外工作需考慮季節、棲地、動物等因素，仍有待更多經驗讓工作流程更有效率。綜合本研究結果，透過建立台灣獼猴性荷爾蒙之基礎值，我們評估對於台灣獼猴最適合的節

育方法，內視鏡輸卵管結紮提供安全、永久且有效的節育方法，長期來說，在野生動物的族群管理上是較為實際且有效率的選擇。

關鍵辭：台灣獼猴，保育醫學，生育控制，內視鏡，荷爾蒙，生殖週期。



## Abstract

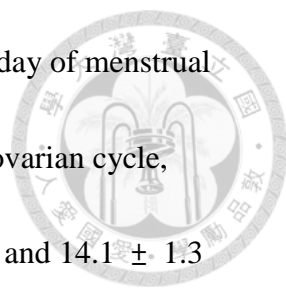


The Formosan macaque (*Macaca cyclopis*) is a primate native to Taiwan

As in other countries, conflicts between humans and macaques in Taiwan are a public health concern. This issue also covers other subjects like wildlife ecology, biology, zoonotic disease and veterinary medicine which involve the health of human, animal and ecosystem as a conservation medicine topic. Professionals from different area are needed to solve this problem thoroughly, effectively and balance. This study will starts from the aspect of veterinary medicine and conservation medicine and cooperate with professionals from biology, zoology and ecology, to investigate the applicability of different strategy in Formosan macaque and how does the spirit of conservation medicine conduct in this case.

The Formosan macaque is considered one of the least known among the 19 extant species of the genus *Macaca*. Although studies of reproductive hormones and the ovarian cycle have been extensively conducted on other macaques, there is little information of Formosan macaques. The purpose of the first part of present study was to establish information about the reproductive physiology of Formosan macaques. From February 2013 to November 2013, 11 wild adult female Formosan macaques were selected for the study. Blood sampling from anesthetized macaques started on the day of first menstrual bleeding and was performed on days 4, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24, and 27 afterwards.

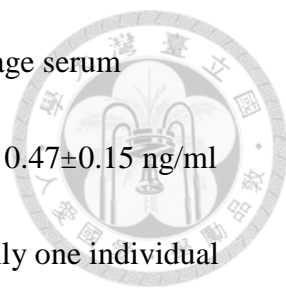




Laparoscopic examination was carried out every six days after the first day of menstrual bleeding, and daily during the periovulatory stage. The duration of the ovarian cycle, follicular phase and luteal phase was  $29.2 \pm 1.3$  days,  $13.3 \pm 2.1$  days and  $14.1 \pm 1.3$  days respectively. In addition, changes in serum levels of sex hormones were compared with endoscopic observations; the peak serum level of estradiol was  $290 \pm 12.7$  pg/ml, and predicted an ovulation episode within 24–48 hours. Serum progesterone rose to a peak of  $9.13 \pm 1.78$  ng/ml eight days after ovulation and then declined gradually. The data may be considered as reference values associated with the ovarian cycle in Formosan macaques.

Hopefully, the study will be beneficial to further studies and the conservation of this endemic species in Taiwan.

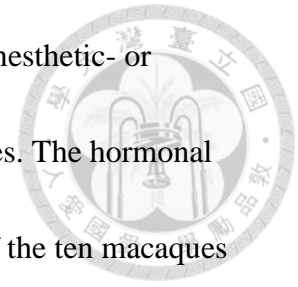
In the second part of present study, we evaluate noninvasive methods of reproductive control in Formosan macaque. All macaques in the study were tested for the cyclicity of serum level of progesterone and estradiol, vaginal smear and the swollen of perineal sex-skin to make sure all females are in normal ovarian cycle. 14 female adult Formosan macaques were divided into three groups: group one was injected with medroxyprogesterone acetate intramuscularly, group two was given levonorgestrel orally and group three was control group. The duration of ovarian cycle was  $28.29 \pm 5.3$  days, there was cyclicity in vaginal smear and sex hormones. But the change in perineal sex skin was not prominent. Our study shows that after using MPA in Formosa macaque, serum



estradiol and progesterone level were prominently suppressed, the average serum concentration of estradiol and progesterone were  $23.07 \pm 4.99$  pg/ml and  $0.47 \pm 0.15$  ng/ml respectively during the three months suppression. In the LNG group, only one individual demonstrated delay in ovulation. The average serum estradiol and progesterone concentration was  $30.58 \pm 7.62$  pg/ml and  $0.22 \pm 0.02$  ng/ml respectively during this period, which was prominently lower than control group. The estimated ovulation time was 59 days later than last day of medication. This study demonstrates that MPA intramuscular injection could successfully suppress estrus cycle for at least three months, and the efficacy of LNG is affected by the stage of ovarian cycle upon the time of dosing. Therefore, MPA is a more suitable choice for medical population control in *Macaca Cyclopis* in the field.

In the third part of the study, we evaluated the safety and postsurgical outcomes of endoscopic salpingectomy for sterilization of female Formosan macaques (*Macaca cyclopis*) as a method of population control. Nineteen adult female Formosan macaques were included in our study. The fallopian tubes of each anesthetized macaque were cauterized and excised endoscopically using a 2.7-mm rigid endoscope system. We recorded the complications encountered, and objectively scored the amount of hemorrhage throughout the procedure. Postoperative ovarian function was evaluated by monitoring the serum levels of sex hormones in ten of the macaques for two ovarian cycles following the salpingectomy. Two to 13 months later, eight of the 19 macaques underwent laparoscopy for the objective evaluation

of inflammation at the surgical sites on the fallopian tubes. No major anesthetic- or surgical-associated complications were observed in any of the macaques. The hormonal evaluation showed cyclic ovarian function after salpingectomy in all of the ten macaques examined, and the parameters were coMPARable to those of other macaque species. The long-term postoperative level of inflammation at the surgical site was minimal to low, and was lower than that reported for other tubal occlusion techniques used in macaques. The use of a 2.7-mm rigid endoscope for salpingectomy in macaques is safe and efficient, with fewer postoperative complications than coMPARable sterilization techniques.



In this study, we cooperate with thirteen different public or private facilities which include three academic facilities. Together we conducted contraception in captive and wild macaque, release to the wild and follow up. Fulfill the concept one planet, one healthy of conservation medicine. The outcome of contraception is better with the usage of medroxyprogesterone acetate and endoscopic salpingectomy. However, multiple factors such as season, habitat and animals should be considered in field work, more experience is expected to fluent the protocol. In conclusion, hormone study is fundamental to many researches, we evaluate the suitability of different contraceptive methods through the establishment of sex hormones of Formosan macaques. Endoscopic salpingectomy provides safe, effective and permanent contraceptive method. It is a more practical and efficient approach in the wild animal management.

Key words: Formosan macaque (*Macaca cyclopis*), conservation medicine, reproduction control, endoscopic salpingectomy, hormone, ovarian cycle

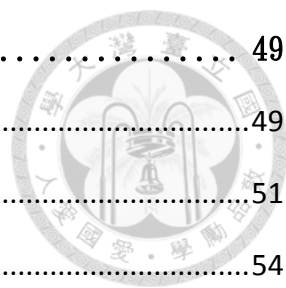


# 目錄



國立臺灣大學博士學位論文口試委員會審定書 .....	I
謝辭 .....	II
中文摘要 .....	IV
Abstract .....	VII
目錄 .....	XII
圖目錄 .....	XIV
表目錄 .....	XV
第一章 序論 .....	1
第一節 保育醫學及獸醫學 .....	1
第二節 台灣獼猴之保育現況及人猴衝突 .....	2
第三節 野生動物的生殖控制 .....	3
第四節 野生動物內視鏡之發展 .....	5
第二章 圈養台灣獼猴內視鏡觀察之卵巢週期及血清中性荷爾蒙之變化 .....	7
第一節 緒言 .....	7
第二節 材料與方法 .....	9
第三節 結果 .....	13
第四節 討論 .....	15
第三章 醋酸甲羥孕酮(medroxyprogesterone acetate)及左炔諾孕酮(levonorgestrel)利 用於圈養台灣獼猴( <i>Macaca cyclopis</i> )生殖控制之研究 .....	22
第一節 緒言 .....	22
第二節 材料及方法 .....	28
第三節 結果 .....	31
第四節 討論 .....	34

<b>第四章 內視鏡輸卵管結紮切除術利用於台灣獼猴生殖控制之研究.....</b>	<b>49</b>
第一節 緒言.....	49
第二節 工作描述.....	51
第三節 工作案例.....	54
第四節 結果.....	58
第五節 討論.....	61
<b>第五章 綜合討論.....</b>	<b>74</b>
第一節 保育醫學之執行.....	74
第二節 節育效果.....	75
第三節 未來研究方向及建議.....	77
<b>第六章 結論.....</b>	<b>80</b>
<b>參考文獻.....</b>	<b>81</b>



## 圖目錄



圖 2.1 台灣獼猴在卵巢週期中雌二醇及孕酮之分泌模式.....	19
圖 2.2 內視鏡觀察下台灣獼猴之卵巢及濾泡於卵巢週期間的連續性變化.....	21
圖 3.1 台灣獼猴藥物生殖控制，受試期間控制組之雌二醇及孕酮之升降模式.....	40
圖 3.2 台灣獼猴月經期陰道抹片.....	41
圖 3.3 台灣獼猴濾泡期陰道抹片.....	42
圖 3.4 台灣獼猴排卵期陰道抹片.....	43
圖 3.5 台灣獼猴黃體期陰道抹片.....	44
圖 3.6 台灣獼猴肌肉注射甲羥醋酸孕酮後血中性荷爾蒙起伏模式.....	45
圖 3.7 台灣獼猴口服左炔諾孕酮後血中性荷爾蒙起伏模式.....	47
圖 4.1 內視鏡輸卵管結紮之相關設置.....	68
圖 4.2 內視鏡輸卵管結紮過程.....	70
圖 4.3 獼猴輸卵管結紮癒合後傷口情形.....	71
圖 4.4 內視鏡輸卵管結紮後三個月輸卵管組織病理切片.....	72

## 表目錄



表 2.1 使用於卵巢週期觀察之內視鏡器械.....	18
表 3.1 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..	39
表 4.1 19 隻進行內視鏡輸卵管結紮之台灣獼猴及術後追蹤資料.....	65
表 4.2 年齡，體重，動物來源對出血評分，發炎評分造成的影響以及出血評分和發炎 評分間的交互關係.....	67





# 第一章 序論

## 第一節 保育醫學及獸醫學

保育醫學是近十幾年來新興的一門科學。在過去的專業領域中，對於人、動物、與地球生態系間的健康管理是各司其職。但隨著目前生態健康問題愈趨複雜，過去對於健康議題各個擊破的策略已經無法有效且完全的解決問題。人們開始意識到生態、人類與動物健康其實有著密不可分的關聯，且人類對地球的影響事實上會再度對人類造成影響。因此，一種新的醫學概念因應而生：即是主張應同時考慮到三者的健康，並以整個生態系的健康為目標的保育醫學。它可以涵蓋人類健康、公共衛生、流行病學、毒物學、生態學、獸醫學與保育生物學等範疇，並需要許多不同領域的專業人士一同合作來達成目標(Meffe, 1999)。

獸醫於保育醫學所扮演的角色由獸醫學的精神可知一二：臨床獸醫學是一門紮實的應用科學，專注於預防及主動的解決問題。直到近年為止，相對於獸醫學的預防及介入，保育生物學則著重在描述及觀察了解(Osofsky *et al.*, 2000)。因此對於野生動物獸醫師來說，同時擁有醫療背景及專業知識又會在工作上接觸各式的野生動物及棲地環境，其於保育醫學中所扮演的角色：”應用醫療來增加野生動物及生態系保育的範疇”就更顯吃重。(Deem *et al.*, 2000)。這樣的觀點提供了更廣義的去探究並反應所有的健康議題，化解醫學及環境科學間的界線，並且付予野生動物獸醫師更多元的管道如：族群健康評估、人畜共同傳染病、疾病篩檢及檢疫、繁殖計畫、疾病診斷、監控及管理計畫、開發中國家之醫療建設、瀕危動物之原地或異地保育、政策規畫等去幫助野生動物，也加深這門科學的深度(Jakob-Hoff and Warren, 2012)。

最後，以 Osofsky 的這句話來進一步反映獸醫師的專業對保育工作所帶來的觀念刺激以及在保育醫學中扮演之舉足輕重的角色”重症的臨床問題需要大量的診斷計畫、多面向的治療計畫、清晰的溝通及短期、長期的監控，而岌岌可危的保育問題不會需

要的更少” (Osofsky *et al.* 2000)



## 第二節 台灣獼猴之保育現況及人猴衝突

臺灣獼猴 (*Macaca cyclopis*) 為臺灣特有種，在分類上屬於靈長目 (Primates)、獼猴科 (Cercopithecidae)、獼猴屬 (*Macaca*)，為，為群居生活的日行性野生動物。對環境的適應性強，從平地到海拔 3,600 公尺間各類林地中皆可發現，但以海拔 500 至 1,500 公尺的闊葉林較為常見 (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，且隨著海拔升高而有下降的趨勢。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。

獼猴是靈長類中對環境適應最成功的一屬，加上人口的擴張及棲地破壞，就如同其他國家，人猴衝突已是生物多樣性保育最難解的問題之一 (Priston and McLennan, 2013)。人猴衝突在台灣也是一個公眾議題，並造成相當的損失，其衝突可分類為農林畜產作物損失、雙方間的攻擊事件、路倒、建築物破壞以及近來引發關注的人畜共同傳染病問題 (Fagerstone, *et al.*, 2006)。非人靈長類由於其基因，生理學及行為上與人類極為相似，因此是人畜共通傳染病的重要感染源，在台灣，包括瘧疾 (黃, 2009)、猿猴 B 病毒 (蔡, 2014; 陳等, 2009)、結核病 (連等, 2009) 等均有由獼猴傳染給人的疑慮。

大部份的人猴衝突皆與地區性的獼猴數量上升有關，例如市郊，公園，保護區等。在日本獼猴 (*Macaca fuscata* 及 *M. mulatta*) 與狒狒 (*Papio anubis*) 的研究資料皆顯示，食用人類食物的猴群 (接受餵食或撿拾人類食物殘渣) 比起野生猴群有較高的生殖率，母猴的始生殖年齡下降，生殖間隔縮短，以及死亡率下降等現象 (Thierry, 2007; Muroyama and Yamada, 2010)，而族群成長率高於野生族群 (Sugiyama and Ohsawa, 1982)。而生活於人類活動區域的台灣獼猴猴群，其行為與活動也證實受人為活動的影響而可能產生如：食性與活動模式的改變、活動範圍與行進路線的改變，以及生理與

生殖上的改變(沈，2008；張等，2013；王，2009)。

因應地區性的族群數量上升，各式有關獼猴族群控制的策略也受到廣泛的討論(Priston and McLennan, 2013)：包含人員教育、餵食區設置、問題動物重新安置、緩衝區的規畫、垃圾管理、撲殺，但皆無法達到有效或令人滿意的效果，部份甚至有礙人民的觀感而終止執行(Hambali, *et al.*, 2012；Fagerstone, *et al.*, 2006)。而生殖控制因為在不影響死亡率的情況下讓目標的受孕受到控制，進而降低其生育率，所以逐漸受到重視，同時也被大眾認為是較為人道的方法，接受度及執行率皆增加(Fagerstone, *et al.*, 2006)：從 1982-2010 年總計有 460 篇與生殖控制相關的報告，其數字從八零年代每年一到四篇上升到過去十年來每年平均 27.3 篇報告(Massei, 2014)。因此，本研究針對台灣獼猴進行生殖控制適用性之評估，並於衝突的熱點實際執行生殖控制工作，期望可建立有效的工作模式並累積相關資料及經驗，以做為台灣獼猴生殖控制之基礎資料並助於降低人猴衝突的發生率及此物種之保育。

### 第三節 野生動物的生殖控制

節育已是哺乳類動物生殖管理的一個部份，節育計畫也早已納入動物照護手冊及重大計畫之中，除此之外，所有的動物園及水族館都使用節育技術來控制園內的動物生殖狀況。此外，傳統的野生動物管理辦法因可能造成生命危險已逐漸為大眾所詬病，所以生殖控制的概念逐漸成形且應用(Fagerstone, *et al.*, 2006)。然而生殖控制的研究發展依舊相對緩慢，除了公眾壓力之外，發展一有效率且符合投資效益的系統依舊困難，另外對於生殖控制這項技巧的錯誤觀念也容易讓人產生誤解及不信任。

沒有一種生殖控制方法適用於所有的野生動物，或適用於不同環境下的同一種動物。不同的動物生理、行為乃至於不同的生態破壞都會影響生殖控制方法的選擇。野生動物的生殖控制無法取代其他的管理辦法並且可能有一定的限制尤其是在市區或市郊。在大部份的方法中，都沒有辦法快速的降低族群數量，所以其造成的破壞無法在短期內改善。本研究將探討台灣獼猴應用不同的生殖控制方法，從動物，棲地到執行面等的適用性。

根據美國動物園協會對靈長類生殖控制的建議，節育方法主要可分為手術節育及化學節育，而化學節育方面則以合成性的孕酮最常見，考慮野生族群中台灣獼猴的生殖模式，雌猴也會與群外公猴交配，因此結紮公猴之效益小於母猴，因此將以雌猴生殖控制為主要的研究方向。

永久性的節育最適合不建議繼續生殖的個體，卵巢切除完整的移除性腺及性荷爾蒙波動、消除發情行為及第二性徵。目前沒有資料證實在長壽的野生動物如巨猿類進行卵巢移除會發生長期的副作用如：骨質疏鬆，但由人類的研究或許可以有合理的懷疑。輸卵管結紮或阻斷對於性荷爾蒙與病理變化無關的動物是合適的選擇之一，例如：靈長類。但對於肉食獸來說則不適合，因為雌二醇及孕酮重覆上升的循環會刺激形成乳房腫瘤，子宮感染或腫瘤(Cheryl and Boutelle, 2012)。

可逆的生殖控制最常見的是類固醇的荷爾蒙，合成的孕酮已被證實可有效的應用在所有受試的哺乳類動物。它可以藉由對黃體生成素的負回饋抑制排卵，但它同時會造成子宮頸黏液的增厚所以精液的運送會受到阻礙，並影響著床(Diczfalusy, 1968)。由於需要高劑量才能達到抑制排卵的效果，所以沒有良好投藥的動物仍然會排卵。合成的孕酮無法完全壓制濾泡的生長，所以在此同時分泌的雌二醇可能會刺激身體或行為上的發情特徵，但這並不能做為節育效果的判斷標準(Brache *et al.*, 1990)。

Depo-Provera (medroxyprogesterone acetate, Pharmacia and Upjohn, Bridgewater, NJ) 是野生動物最常使用的合成性孕酮之一，因為它可以注射所以可利用吹箭的方式投予，它特別適合季節性發情的動物例如原猴類，或是不易麻醉的動物如長頸鹿，河馬，或在緊急狀態時使用。因為各種合成性的孕酮與醣皮質激素及雄性素的受體親和性不同，而且也可能有種別差異，所以其中一個副作用是糖尿病的症狀，就如同懷孕時孕酮上升造成的懷孕性糖尿病。

同上述的原因，使用合成性孕酮的另外一個考量便是其雄性素的親和性，Levonorgestrel (LNG)在所有合成性孕酮當中有最高的雄性素受體親和性，並且因為其對脂肪和心血管系統的不良影響而被認為有安全的考量(Sitruk-Ware, 2000)。

合成性孕酮在某些物種可以幫助維持懷孕，但卻也有在懷孕早期造成胚胎重吸收

的報告(Ballou, 1996)。在白尾鹿合成性孕酮可能因為抑制子宮平滑肌收縮而影響生產(Plotka, 1989)，但在靈長類則沒有影響，這樣的差別可能是因為除靈長類以外的動物在生產前的孕酮會下降，但靈長類則不見此情形(Asa, 2005)。

只有少數的研究提及節育後的行為變化：卵巢摘除及腦下垂體促效劑會使交配行為完全消失；合成性孕酮在高劑量時可能抑制發情；在人使用 MPA 後會出現情緒改變、沈鬱及精神不濟。但在貓科動物的研究則在使用 MGA 後變得較溫馴。在群體行為方面，在狒狒，絨猴，及獅子都沒有觀察到個體或群體在使用 MGA 後有行為上的改變(Cheryl and Boutelle, 2012)。

#### 第四節 野生動物內視鏡之發展

內視鏡一辭顧名思義讓我們得以用相對低侵入性的方法檢查身體內部構造，內視鏡的發展始於 19 世紀，並在 20 世紀達到頂峰(Divers, 2013)。野生動物與伴侶動物不同，沒有專門為特定品種設計的血清學診斷工具，尤其是鳥類及爬蟲類，在疾病診斷上往往只停留在器官的形容，例如肝病、腎病。內視鏡提供低侵入性的方法獲取生檢組織，從而得到最終診斷，因此可以提供針對性的治療來提高成功率。在動物園及野生動物也有相同的情況，因此內視鏡已是野生動物提供精緻準確醫療不可或缺的標準配備。

內視鏡的硬鏡系統已在獸醫領域被證實是個有用的工具，其所提供的優勢包括以放大的影像清晰的觀察內部構造、得到生檢組織做為實驗室診斷樣本、增加執行低侵入性手術的能力(Tams, 1999; McCarthy, 2005)。在野生動物醫療的領域，診斷性內視鏡的應用始於鳥類，但已獲得廣泛的接受且應用在各種野生動物。

內視鏡的節育手術在野生動物曾被應用於鳥類(Hernandez-Divers SJ, 2007)、爬蟲類 (Hernandez-Divers SJ, 2010)、象、犀牛(Stetter and Hendrickson, 2012)、野牛(Kumar, 2013)等動物，這些野生動物均受惠於內視鏡手術之低侵入、少疼痛、癒合時間短、感染機會低等優點，並克服體型限制且可以在野外執行。因此，本研究選用內視鏡輸卵管結紮方法做為手術節育節育之執行項目，並將評估內視鏡輸卵管結紮在台灣獼猴之

適用性。

綜合上述，本研究將針對台灣獼猴之生殖控制進行手術及藥物之適用性評估，並同時應用於野生台灣獼猴，以評估其生殖控制之效益。



## 第二章 圈養台灣獼猴內視鏡觀察之卵巢週期及血清中性

### 荷爾蒙之變化



#### 第一節 緒言

高等靈長類動物因其在演化上與人類親緣關係接近，所以吸引了各研究領域的高度興趣。而在這層生物機制的相似性賦予非人靈長類的極高的研究價值。尤其是非人靈長類生殖生物學的研究在近十年來大量增加(Shimizu, 2008)。其中以獼猴為實驗模組的研究常被用來針對卵巢週期控制、子宮內膜異位、無排卵性不孕、骨質疏鬆症、壓力相關不孕、更年期生理及相關代謝性異常的研究(Weinbauer *et al.*, 2008)。除此之外，為了解決在非洲及亞洲的人與獼猴間的衝突(Priston and McLennan, 2013)，各式根據獼猴生殖生物學之基礎研究所衍生出來的節育策略也被提出。

台灣獼猴是台灣的原生種，它是在獼猴屬下十九個種中被認識的最少的品種之一(Hsu *et al.*, 2010)，雖然針對日本獼猴 (*Macaca fuscata*)，長尾獼猴(*Macaca cynomolgus*)及恆河猴(*Macaca mulatto*)之卵巢週期及生殖荷爾蒙已進行了相當透徹的研究(Shimizu, 2008)，但對於台灣獼猴生殖荷爾蒙所知仍有限，因此，本研究的目的是針對台灣獼猴之個體做連續的血清中雌二醇及孕酮的測定以了解生殖中荷爾蒙的變化。同時，藉由陰道抹片先確定生殖週期，我們得以內視鏡觀察卵巢週期並與荷爾蒙數值之變化相比

較。此研究將對獼猴之生殖生理多添一筆資料，同時對於此台灣之本土種之保育更有助益。







## 第二節 材料與方法

### 動物

自 2013 年二月至 2013 年十一月，19 隻圈養於宜蘭野生動物保育中心之野生的成年雌性台灣獼猴，動物來源包括孤兒、野生動物救傷及政府沒入。當地長期觀察野生族群之生物學家在獼猴被送入中心時會辨認每隻獼猴並編號、觀察記錄面部及肢體特徵。所有的猴子均分籠飼養於半開放的室外環境，溫、溼度及光週期則為自然調控。所有的猴子均接受理學檢查、血液學及血清生化學檢查以確保個體的健康。食物方面則包含一天兩餐的猴科飼料、水果、吐司及蔬菜，水則任飼，但在進行手術的前 12 小時則禁食禁水。

### 麻醉

全身麻醉是由肌肉注射 0.03 mg/kg 的 Dexmedetomidine hydrochloride (Dexdomitor<sup>®</sup>, Pfizer, New York, NY, USA) 及 3 mg/kg 的 Tiletamine-Zolazepam (Zoletil<sup>®</sup>, Virbac, Carros, France) 來進行誘導，在進行氣管插管及靜脈留置針上針後，麻醉是由 1% Propofol (Lipurool, B. Braun Melsungen, Melsungen, Germany) 以 0.4ml/kg/min 的速率進行維持。當獼猴沒有自發呼吸或是周邊血液氧氣濃度小於 90% 時則插管給予正壓呼吸。在手術中，四肢的縮回反射、肌肉張力、下顎張力、心跳、血氧、血壓及體溫則加以監控。術後，皮膚以 4-0 polydioxanone 以皮內包埋縫法縫合，並肌肉注射與 Dexmedetomidine hydrochloride 等體積之 Atipamizole (Antisedan<sup>®</sup>, Orion, Espoo, Finland) 以解除麻醉。

## 卵巢週期觀察

抽血前先以陰道抹片確定循環週期，接著新週期的抽血始於月經的第一天，以及其後的第 4、7、10、11、12、13、14、15、16、18、20、22、24、27 日 (Weinbauer *et al.*, 2008)。整個流程中，獼猴皆以肌肉注射 0.02 mg/kg

Dexmedetomidine hydrochloride 及 1 mg/kg tiletamine-zolazepam 導入在輕度麻醉或重度鎮靜的狀態下，接著以 2.5ml 針筒及 25G 針頭由股靜脈抽血 1 到 2ml。血液檢體在抽血後隨即以 3000 轉離心 15 分鐘，採集血清然後保存在 -20°C 冰箱。最後肌肉注射與 Dexmedetomidine hydrochloride 等體積之 Atipamizole 以解除麻醉。排卵則是以內視鏡觀察並配合荷爾蒙的資料一同做卵巢週期變化之探討。

本研究中濾泡期定義從月經開始到觀察排卵當天；黃體期則定義為排卵當天到下一個週期開始之前，在一些猴子，麻醉會持續幾小時以觀察到排卵，若未觀察到排卵，則排卵日定為觀察到卵巢上的出血斑的前一日。並記錄完整的卵巢週期、月經、濾泡期及黃體期的日數。

## 荷爾蒙測定

血清中的孕酮及雌二醇濃度則分別以 Advia Centaur Progesterone Assay (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) 及 Advia Centaur estradiol Assay (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) 測量，測量方法則依照原廠操作說明書於兩個濃度下進行三重覆。

## 內視鏡

內視鏡觀察(表 2.1)在月經的第一天及其後的每六天進行一次，但在排卵期則每天

進行。在麻醉下，每隻動物以背側躺平躺於手術檯上並且頭朝手術檯的後方，雙腳及尾巴均延伸朝檯前並以枕頭墊起骨盆部，使生殖系統垂降至腹腔中，內視鏡塔則置於整個手術單位的最前方。



內視鏡孔道緊貼於腹中線肚臍後方，器械孔道則位於內視鏡孔道的後外側方，但位於輸卵管前方之身體兩側。在製造內視鏡孔道時，於腹中線肚臍後方以刀片切出一0.2 公分的傷口，隨後以氣腹針(Veress pneumoperitoneum needle (62120J, Karl Storz, Tuttlingen, Germany)穿過白線。此時必須格外注意以避免穿刺腹腔內的臟器或血管。一旦氣腹針放置完成，腹腔便以充氣機(Electronic Endoflator System (26430508-1, Karl Storz, Tuttlingen, Germany)充二氧化碳氣體直至腹內壓到達 12 毫米汞柱。充氣完成後，移除氣腹針，帶針套管(30114GK, Karl Storz, Tuttlingen, Germany)則從同一傷口穿入腹壁，此時將內視鏡(Hopkins telescope, 64018BSA, Karl Storz, Tuttlingen, Germany)伸入套管中直到可以藉由螢幕清楚觀察腹腔。在檢查腹腔後，切開器械孔道處的皮膚，帶針套管進入腹壁的過程則由內視鏡監控。其後由器械孔道放入 3-毫米組織鉗(curved Kelly forceps, 30322MDS, Karl Storz, Tuttlingen, Germany)。以組織鉗分離並觀察卵巢，接著記錄其所處卵巢循環之階段。再以同樣的方法檢查及記錄另一側的卵巢。以內視鏡詳細檢查是否出血後移除套管、移除內視鏡、完成洩壓，此時需小心腸繫膜勿意外牽扯入皮下空間(DVD by P. Martelli entitled "Endoscopic Tubectomy in Macaques", Karl Storz-Endoskope, 2009)。

術後，皮膚以 4-0 polydioxanone 以皮內包埋縫法縫合，並肌肉注射與

Dexmedetomidine hydrochloride 等體積之 Atipamizole (Antisedan<sup>®</sup>, Orion, Espoo, Finland)

以解除麻醉，並肌肉注射 0.1mg/kg 的 Meloxicam (Mobic, Boehringer-Ingelheim,

Ingelheim, Germany) 及 40000 IU/kg of penicillin G procaine (Penicillin G, China

Chemical and Pharmaceutical, Taichun, Taiwan) 做為術後的止痛及抗生素以避免感染。

### 統計

雌二醇最高值的當日於資料呈現時定為第 0 天，而濾泡期及黃體期的日數則相對於 0 遞減及遞增。同一日的荷爾蒙數值則整理在一起進行統計，極端值則設定為當同一日的同一組數值中，最極端的兩個值與其相鄰的值的差大於整組數字差距的 1/3 以及當數字為標準差的三倍以上時加以刪除 (Lumsden and Mullen, 1978; Healy, 1979; Harris and Boyd, 1995; Solberg, 1999)。

敘述統計及變數的分布則以 SAS, vers. 8.2 (SAS Institute, Cary, NC, USA) 檢視，每日將得到一組平均值及標準差，以柯史法 (Kolmogorov-Smirnov test) ( $p < 0.05$ ) 檢視資料是否為常態分布 (Lumsden and Mullen, 1978)。若為常態分布，則參考值在總數據量小於 40 個時則為組中的最大及最小值；若大於 40 個則為中央 95% (平均值  $\pm$  2 倍標準差) 之區間 (Solberg, 1999)。



### 第三節 結果

#### 卵巢週期


在本研究期間，總共於 11 隻雌猴中記錄了 57 個完整的卵巢週期。每隻獼猴在這期間分別經歷了 4 至 6 個週期。卵巢週期的長度為  $29.2 \pm 1.3$  天，其中最長及最短的日數分別為 34 及 23 天；月經期持續  $3.4 \pm 0.6$  天，其中最長及最短分別為 5 天及 3 天；以內視鏡觀察的濾泡期為  $13.3 \pm 2.1$  天，最長及最短天數分別為 18 及 9 天；黃體期為  $14.1 \pm 1.3$  天，最長及最短天數分別為 17 及 12 天。

#### 血清中性荷爾蒙濃度

在濾泡期的早期，雌二醇濃度維持低值(50–100 pg/ml)直到第-8 日，慢慢上升到 100–150 pg/ml。接著，則在第 0 天到達頂端值約 290 pg/ml。在頂端值之後，快速的於第 3 天降到最低點(圖 2.1)。在濾泡期期間，孕酮則處在最低值( $<0.6$  ng/ml)。直到第-1 及-2 天，孕酮濃度才開始上升。孕酮的最高值約在第 8 天達到最高值 5–10 ng/ml，並且在月經期前相對穩定的維持約 7 天，才逐漸下降進入濾泡期(圖 2.1)。

#### 內視鏡檢查

未發育的濾泡之活性大約在第-6 至-7 日可以觀察到，此時濾泡約為 2-3 毫米半透明之球體突出於卵巢表面(圖 2.2-AB)，直到第-3 至-4 天，濾泡開始快速的生長直到排卵前的 24 至 48 小時，此時濾泡頂端變得透明且其內包含了濾泡液，其大小也長到了約 5 至 6 毫米，周圍被緻密的微血管所包覆(圖 2.2-C)。排卵時，濾泡的頂端會出現散發的紅點，紅點會逐漸的擴張最後龜裂，濾泡液從此處排出，剛開始濾泡液呈透明隨



後變得血紅(圖 2.2-DE)。在某些獼猴，濾泡液的排出很突然但也有些獼猴整個過程花了約 30 分鐘。排卵後，濾泡塌陷，排卵前包覆濾泡的微血管再次出現，排卵點也變得清晰可見。排卵後的 48 小時，新鮮的黃體生成但外觀呈出血樣(血體)。紅色，圓形，果凍樣的血體被包覆在微血管中。血體的大小差異度大，但與排卵時濾泡上的裂隙大小相關(圖 2.2-FG)。排卵後 72 小時，血體的基部開始出現部份的黃體化，黃體在此時漸漸由粉紅色變為黃色。發育成熟的黃體之外觀呈黃色且有清晰的血管圍繞(圖 2.2-H)。


一直到第 7 至第 8 天，黃體仍明顯的突出於卵巢的表面，於第 13 至 14 天，它開始退化，退行性變化持續到剩餘的卵巢週期結束最後形成一個疤痕。然而，黃體形成的疤痕直到下一個週期仍可見突出於卵巢表面(圖 2.2A)。

#### 第四節 討論



” 卵巢三角” 一辭指的是靈長類月經週期中濾泡，卵以及黃體三個時期(Goodman and Hodgen, 1983)。此週期包含濾泡在濾泡期成熟，排卵，以及黃體在黃體期生成，接著黃體消退及月經。月經出血的第一天常被定義為卵巢週期的第一天(Weinbauer *et al.*, 2008)。在食蟹猴的研究中，分析總共 647 個週期，其平均週期長度為 29.2 天(範圍 22-37 天) (Shaikh and Cheng, 1978)。其他的研究則有平均  $30.2 \pm 1.4$  (範圍 29–35) 天及  $35.9 \pm 1.6$  (範圍 26–45) 天的報告(Butterstein *et al.*, 1997; Attia 1998)。

恆河猴的平均週期長度從 25.5 天到 29.5 天;而日本獼猴則為 26 到 31 天(Bosu *et al.*, 1973; Johnson and Phoenix, 1983; Aso *et al.*, 1977)。而本研究中台灣獼猴的平均卵巢週期為  $29.2 \pm 1.3$  天(範圍 23–34 天)。月經出血日數方面，食蟹猴的報告從 1 至 8 天均有，但 85% 的週期只有約 3-5 天的月經出血(Shaikh *et al.*, 1978)。在台灣獼猴，月經出血期間為  $3.4 \pm 0.6$  天，範圍也同為 3-5 天，其完整的週期長度規律的在一個月左右，這和其他品種的獼猴及人類女性大致相同。然而，必須注意的是在部份的非人靈長類在生殖功能上會依其生活棲地的緯度高低表現出明顯的季節性差異。日本獼猴及恆河猴便因為生殖活性上有明顯的季節模式不同而與其他高等靈長類相比較特出，在非繁殖季時，其性荷爾蒙的分泌及性腺活動會完全停止(Nigi, 1975; Ghosh and Sengupta, 1992; Herndon *et al.*, 1987; Herndon *et al.*, 1996)；而食蟹猴則表現出不受季節影響的生殖表現。在第一次月經後，正常的排卵週期終年持續而且性腺激素及性類固醇的分泌則表現出典型的模式(Shimizu, 1996)。台灣獼猴的繁殖季是介於九月至隔年二月，而生




殖季則是介於四月至六月(Hsu *et al.*, 2000)，但台灣獼猴是否是季節性繁殖的爭論仍未有定論。本研究呈現了台灣獼猴的卵巢週期於非繁殖季時仍然持續而非完全的靜止。因此，我們推測台灣獼猴的生殖模式與食蟹猴、蜘蛛猴相同，其週期與季節無關而是與富饒多產的時節相關(Dang, 1977；Cerda-Molina *et al.*, 2006)。然而，這項推論仍待更深入的研究來證明。

排卵前的濾泡生長是由促濾泡激素的分泌上升開始(Zeleznik, 2001)。在內視鏡下，濾泡的生長可以在月經後約七日開始觀察的到。在此同時，血清中雌二醇的濃度仍低，大約在 50 到 100 pg/ml 之間。在日本獼猴，濾泡的生長約開始於卵巢週期的第 9 到第 10 天。此時的雌二醇濃度大約與台灣獼猴相同，但低於食蟹猴(Shimizu, 2008)。濾泡期的長度在恆河猴、食蟹猴及日本猴約為 12 到 15 天(Shimizu, 2008)。台灣獼猴的濾泡期長度也落在此範圍內。然而，雌二醇的最高值在各種間則有不同：在食蟹猴及恆河猴約為 350 pg/ml；台灣獼猴及日本獼猴則為 290–300 pg/ml。

顆粒層細胞的黃體化在排卵後的幾小時便已開始(Weinbauer *et al.*, 2008)。本研究中，內視鏡可在排卵後 72 小時看到黃體化，此點與日本獼猴相似。而黃體期的長度在各種間也相似，分別是恆河猴 14-17 天(Shimizu, 2008)，日本獼猴 10.5 到 15.1 天(Nigi, 1977)，以及台灣獼猴 12.8-15.4 天。其孕酮分泌的模式也與其他獼猴幾近相同。然而，孕酮的高值則較接近食蟹猴且略高於恆河猴及日本獼猴。

內視鏡觀察卵巢週期已經在不同的非人靈長類(Dukelow, 1975; Nigi, 1977)及狗被報告過(Wildt *et al.*, 1977)，而人類的排卵過程也已被觀察過(Lousse and Donnez, 2008)。






在兩篇非人靈長類的報告中皆提到，重覆的內視鏡觀察不會影響正常的卵巢週期，除非黃體被醫源性的破壞了則黃體期可能會縮短(Nigi, 1977)。除此之外，重覆的麻醉及採血也被證明不會影響正常的卵巢週期(Hotchkiss *et al.*, 1971; Stabenfeldt and Hendrickx, 1973; Channing *et al.*, 1977, Aidara *et al.*, 1981)。在本研究中，沒有黃體在內視鏡檢查中被意外的破裂，因此我們藉由內視鏡觀察及荷爾蒙分析得以一窺台灣獼猴卵巢週期的連續性變化，並且得到與日本獼猴類似的結果。

綜合上述，本研究的荷爾蒙分析是根據獼猴的建議標準所設計，同時也考慮了會影響正常荷爾蒙週期的因子並加以避免(Weinbauer, 2008)。本研究所呈現的資料應可做為飼養下台灣獼猴荷爾蒙濃度的參考值，而其結果也與現今所知的獼猴生殖生理相符。希望本研究可以對未來更多的人類或非人靈長類之研究有所助益並幫助到此台灣本土種的保育工作之進行。

表 2.1 使用於卵巢週期觀察之內視鏡器械

Table 2.1 Endoscopic equipment used in ovarian cycle observation



Rigid endoscopy equipment (Karl Storz GmbH & Co. Tuttlingen, Germany)
64018BSA, Hopkins telescope, 2.7 mm x 18 cm, 30°
30114GK, 3.5-mm graphite and plastic cannula with valve and stopcock, and trocar
30322MDS, 3-mm short curved Kelly dissecting and grasping forceps, plastic handle without ratchet
495NVL, Fiber optic light cable, with 90° deflection to the instrument, 3.5 mm, 300 cm
62120J, Veress pneumoperitoneum needle, 10 cm
20043101-020, Tele pack NTSC
26430508-1, Electronic Endoflator Set

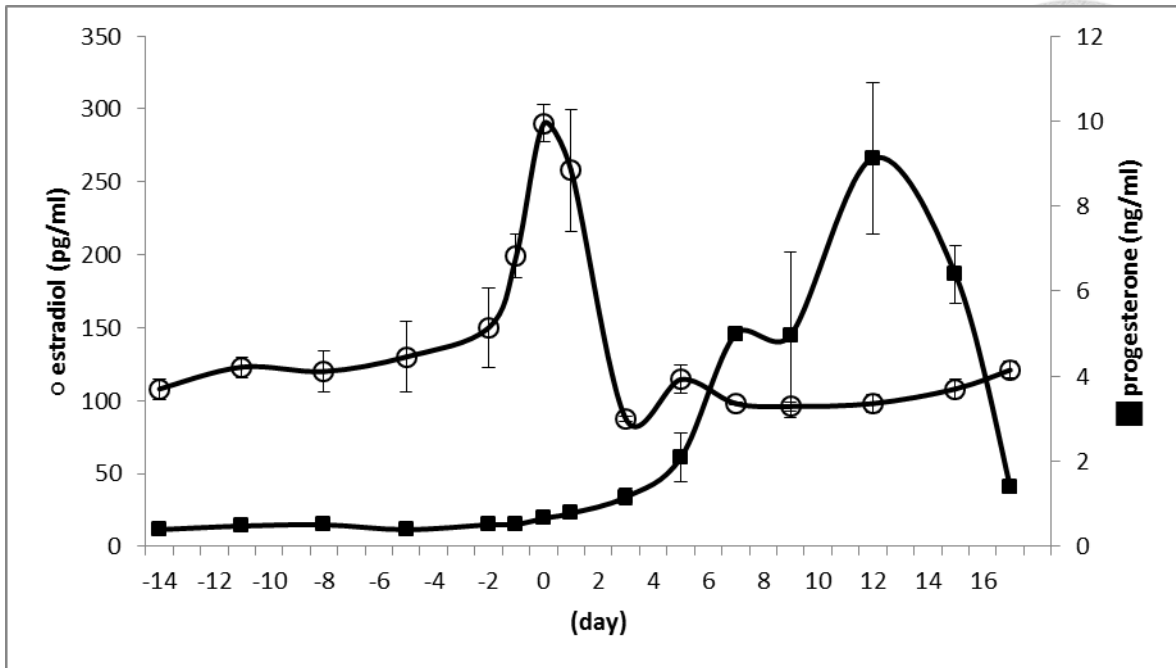
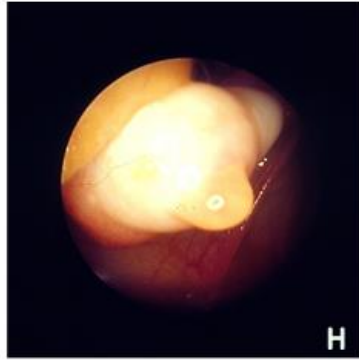
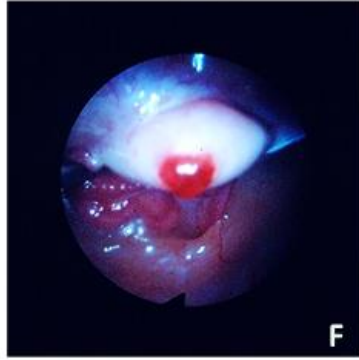
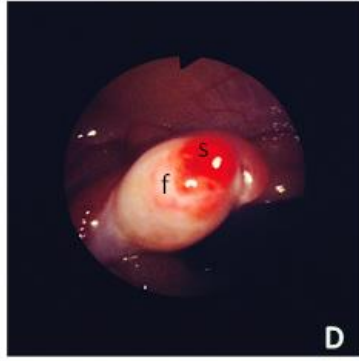
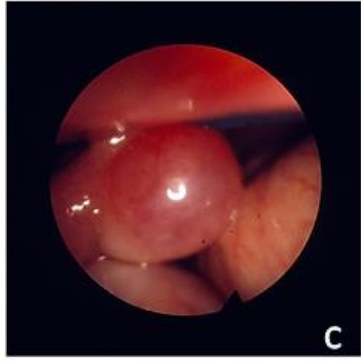
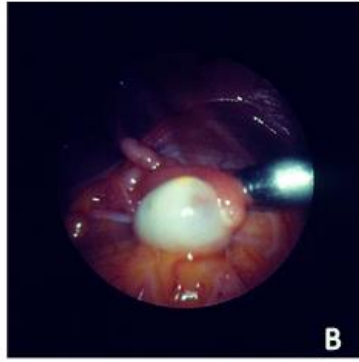
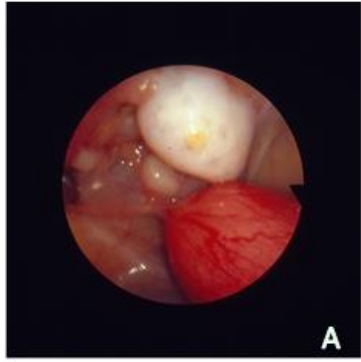


圖 2.1 台灣獼猴在卵巢週期中雌二醇及孕酮之分泌模式。雌二醇達到頂端值當日設定為第 0 天，而濾泡期和黃體期的日數則以此日為基準往後及往前推算。

Figure 2.1 Endocrine profiles of estradiol and progesterone during the ovarian cycle in the Formosan macaque. The day of the estrogen peak is denoted as day zero, and the durations of the follicular and luteal phases are counted relative to that time point.






圖2.2 內視鏡觀察下台灣獼猴之卵巢及濾泡於卵巢週期間的連續性變化。2.2-A. 在月經期間，黃體雖然比較小且淡色，仍然可見於卵巢的表面，旁邊可見到小且未發育的濾泡。2.2-B.在週期的第七天，可見一個生成中，半透明的濾泡突出於卵巢表面。2.2-C. 排卵前的24-48小時，濾泡變大且呈粉紅色，表面有密布的微血管。2.2-DE. 排卵：成熟的濾泡(f)表面可見非常清晰的血管分布。排卵點(s)像個紅色的水泡於濾泡表面突出。而排卵後濾泡液流出，則可見到卵巢表面的排卵斑形成。2.2-FG. 排卵後的48小時，紅色果凍樣的血體於排卵點處形成。2.2-H. 排卵後七天，一個成熟的黃體生成。

Figure 2.2A–F Laparoscopically observed sequential changes in the ovary and follicle during the normal ovarian cycle of adult female Formosan macaques (*Macaca cyclopis*). A. During menstrual bleeding, the corpus luteum was still visible on the surface of the ovary, although smaller and lighter in color. A small and undeveloped follicle can also be seen. B. On the 7<sup>th</sup> day of the menstrual cycle, a developing, semi-transparent and protruded follicle was seen on the surface of the ovary. C. At 24–48 hours before ovulation, the follicle was pink and larger, with a dense distribution of surface capillaries. D–E. Ovulation: a remarkably prominent vascular pattern was observed on the mature follicle (f). A stigma (s) was seen protruding like a reddish bleb from the follicular surface. A hemorrhagic plaque will be formed after drainage of follicular fluid. F–G. At 48 hours after ovulation, a red and jelly-like corpus hemorrhagica was formed at the site of follicular rupture. H. At 7 days after ovulation, a mature corpus luteum has formed.

### 第三章 醋酸甲羥孕酮(medroxyprogesterone acetate)及

### 左炔諾孕酮(levonorgestrel)利用於圈養台灣獼猴(*Macaca cyclopis*)生殖控制之研究

#### 第一節 緒言

臺灣獼猴 (*Macaca cyclopis*) 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 公尺間各類林地中皆可發現，但以 500 至 1,500 公尺的闊葉林較為常見 (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  $29.4 \pm 15.5$  天 (Peng *et al.*, 1973a)，Chen 等人於 1990 年觀察結果為  $27.8 \pm 2.9$  天 (Chen *et al.*, 1990)，季等人於 1997 年研究則為  $27.3 \pm 8.9$  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。



藥物生殖控制用於野生動物族群管理的案例不在少數，其原因除了如上所述的衝突外，包括草食動物如鹿、馬造成的原生植物；肉食動物造成的獵物品種的生存壓力、外來種動物造成的原生種動物生存競爭如澳洲的狐狸、歐洲的貂以及小型嚙齒類動物所帶來的傳染病及公共衛生問題，這些動物也都有在特定地區進行藥物生殖控制之研究報告 (Jewgenow *et al.*, 2006 ; Killian *et al.*, 2004)。然而，在選擇合適的生殖控制策略前必須先了解目標物種的族群年齡層分布動態、繁殖系統、繁殖季及內分泌特色。在族群年齡層分布動態方面，所謂 r-strategy 指的是幼年動物容易夭折，族群為彌補此損失以提高生殖率代替，在這樣的系統中，因為族群結構早已具備承受提高死亡率所帶來的衝擊—提高生育率，所以適合的族群控制方法為生殖控制；另一方面 K-strategy 指的是幼仔死亡率所以出生率低的族群，在這樣的族群中，提高死亡率則具有族群控制的效果；繁殖系統方面，一夫一妻制及一夫多妻制的動物，都適合針對公畜或公母一起進行生殖控制，但多妻多夫制的動物，則適合將目標放在母畜上，因為研究證實必須要有 95% 以上的公畜都不具生殖力，才有可能降低族群數量。繁殖季及內分泌特色則提供藥物選擇時針對藥效作用時間及特定內分泌資料進行篩選 (Jewgenow *et al.*, 2006)。而台灣獼猴在分類上因幼猴於第一年的死亡率高達 37.5% (蘇，2012)，屬於 r-strategy；多夫多妻制，所以適合以生殖控制的方針對母猴進行節育，而因其生殖內分泌資料與人類接近，所以我們選

擇長效的人類女性避孕藥物為實驗的首選。




合適的野生動物生殖控制藥物需具有：1. 對動物之生理、動物福利、及行為不具  
有或僅有可接受之副作用；2. 只需單一劑量即有效；3. 不影響已懷孕或哺乳中的動物；  
4. 藥物或投與藥物過程相對不昂貴；5. 不會有具生物活性之殘留物進入食物鏈或環境  
中；6. 可以遠距投藥；7. 具種別特異性等特徵，但沒有任何一種藥物可以完全符合上  
述的特徵，獸醫師僅能依情況選擇最適合的藥物進行投藥(Massei, 2014)。而根據美國動  
物園協會針對靈長類節育之建議，以合成性孕酮為首選，並刪除僅有包埋劑型  
(Etonorgestrel)、需重覆投藥(Proligestone)及無法遠距投藥(Melengestrol acetate)之藥物  
後，以醋酸甲羥孕酮及左炔諾孕酮為首選。

醋酸甲羥孕酮(Medroxyprogesterone acetate; MPA)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(*Macaca mulatta*)注射同  
樣劑量的 MPA，並檢測後續血液中 MPA、雌二醇及孕酮的濃度，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(*Macaca 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  $161 \pm 17$  天的效果；Shimizu 同時對一群自由放養的日本獼猴皮下注射 MPA，第一年對 15 隻雌性日本獼猴(*Macaca fuscata*)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; Novikova *et al.*, 2007)。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(*Macaca fascicularis*)也有類似的研究報告，若每天將 50 $\mu$ 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 paella*)已經交配過後一小時內，使用口服或是皮下注射 0.75 mg LNG，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 70mg LNG 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(*Macaca mulatta*)的子宮內，每天釋放 25 $\mu$ 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，然而相關之研究在臺灣獼猴尚呈闕如，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情，以討論獼猴生殖控制之  
可行性。





## 第二節 材料及方法

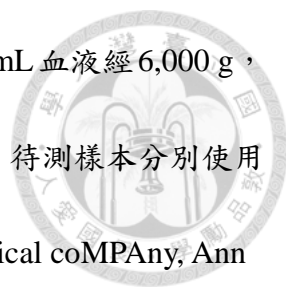
飼養於南投縣政府名間苗圃(南投縣名間鄉大老巷 101 號)6 - 15 歲之臺灣獼猴 17 隻，其中包含雌猴 15 隻及誘發雌猴發情之雄猴 2 隻，所有獼猴均單一籠飼於不鏽鋼保定籠(100 cm × 76 cm × 76 cm)內，每天餵飼兩餐，包含水果與猴科飼料等食物。雖所有雌猴均為性成熟母猴，為確保各年齡層之雌猴平均分配於各組，雌猴依體重、牙齒、外觀進行分組：第一組 6 隻以肌肉注射長效型 MPA( Depo-Provera<sup>®</sup>, Pfizer, Kalamazoo, USA )進行試驗；第二組 4 隻以口服方式投予 LNG( Microgynon 30, Bayer Schering 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 5 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，試驗獼猴於移籠後進行一次抽血健康檢查，並以陰道抹片監測動情週期三至四個循環，再進行分組監控與給藥計畫如下。

### 建立臺灣獼猴之動情週期監控

受試母猴於實驗期間每隔 5 日進行一次檢查，母猴於大腿外側肌肉注射 4 mg/kg Zoletil<sup>®</sup> 50(Zoletil<sup>®</sup>, 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<sup>®</sup> Progesterone EIA Kit (Cayman Chemical coMPAny, Ann Arbor, USA) 與 Cayman Chemical<sup>®</sup> Estradiol EIA Kit (Cayman Chemical coMPAny, Ann Arbor, USA) 檢測血中孕酮與雌二醇濃度。測量方法則依照原廠操作說明書於兩個濃度下進行三重覆。

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<sup>®</sup>, 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。

#### 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 4 隻雌猴進行口服方式投予 LNG 進行試驗，劑量為 0.3 毫克/次/五日，投予兩次，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，分析其影響動情週期之效果與效期。受試獼猴於投藥時均同時進行陰道抹片檢查以了解其所處之卵巢週期。第三組之 5 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 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。

#### 統計分析



為了比較投藥後的排卵時間，LNG 組中雌二醇達到頂端值當日設定為卵巢週期的第 0 天，而濾泡期及黃體期的日數則相對於此日而類推。排卵時間則估計為雌二醇達到頂端值後的兩天(Saldarini *et al.* 1972)。投藥後延遲排卵日數則以投予 LNG 的最後一天到估計的排卵時間來計算。

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* value < 0.05 顯示兩組數據之間具顯著差異，若 *p* value < 0.01 則顯示具極顯著差異。



### 第三節 結果

#### 臺灣獼猴動情週期之內分泌與陰道細胞學變化

試驗開始後實驗雌性臺灣獼猴( $n = 15$ )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  $28.29 \pm 5.3$  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( $n = 15$ )的結果發現，動情週期平均為  $28.04 \pm 3.0$  天(表 3.1)。

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  $27.94 \pm 3.34$  pg/mL -  $473.87 \pm 102.6$  pg/mL 間循環，約為每4週為一個週期(圖 1)；孕酮部分，則介於  $0.28 \pm 0.06$  ng/mL -  $2.18 \pm 0.38$  ng/mL 間，且與雌二醇相同，皆約為4週一個循環(圖 3.1)。

於麻醉採血的同時進行陰道抹片檢查，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 3.2)；至濾泡期角化細胞增加(圖 3.3)，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 3.4)，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，並伴隨孕酮的上升，至動情前可見白血球再次出現(圖

3.5)。



### 藥物給予後內分泌與動情週期變化

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。結果發現注射後其血漿中雌二醇及孕酮濃度均顯著受到抑制，MPA 造成的生殖抑制於注射後最短可維持約 3 個月；最長則可維持約 4.5 個月或更久(圖 3.6)。三個月平均分別為  $23.07 \pm 4.99$  pg/ml (11.8pg/ml – 53.7 pg/ml) 及  $0.47 \pm 0.15$  ng/ml (0.21 ng/ml – 1.67 ng/ml) 與對照組具有顯著性降低( $p < 0.01$ )，平均下降了 450.8 pg/ml 及 1.71 ng/ml，且不論注射時受試獼猴處在卵巢週期的哪一階段都有相同的結果。其後孕酮與雌二醇才緩慢恢復活性及卵巢週期，但在一個體 F13，其雌二醇於 3.8 個月後開始回升，但孕酮仍處於受抑制的低值(3.6-F)。

另一組處理組針對 4 隻雌猴以口服方式投予 LNG 進行試驗，劑量為 0.3 毫克/次/週，投予兩次，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。口服 LNG 其孕酮與雌二醇之血清濃度檢測結果顯示 LNG 之效果受到受試個體投藥時所處之卵巢週期影響：其中 F7 在濾泡期(第-2 日)及黃體期(第 3 日)投藥；F11 在黃體期(第 9 日及第 14 日)投藥；F 14 在黃體期(第 2 日及第 7 日)投藥均無效，個體持續維持卵巢週期。F15 在濾泡期(第-14 日及第-9 日)投藥，僅 F15 出現延遲排卵情形，其估計之排卵時間距離最後一次投藥後約 59 天，較預定排卵時間延後 47 天。在此期間，F15 之雌



二醇及孕酮之平均濃度分別為  $30.58 \pm 7.62 \text{ pg/ml}$  ( $19.8 \text{ pg/ml} - 38.5 \text{ pg/ml}$ )及  $0.22 \pm 0.02$   
ng/ml ( $0.27 \text{ ng/ml} - 0.21 \text{ ng/ml}$ )，顯著低於對照組( $p < 0.01$ )(圖 3.7)。



#### 第四節 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  $29.4 \pm 15.5$  天 (Peng *et al.*, 1973a)，Chen 等人於 1990 年觀察結果為  $27.8 \pm 2.9$  天 (Chen *et al.*, 1990)，季等人於 1997 年研究則為  $27.3 \pm 8.9$  天 (季等, 1997)，Nigi 等人觀察日本獼猴動情週期為  $26.3 \pm 5.4$  天 (Nigi, 1975)、Dukelow 等人觀察食蟹猴  $30.9 \pm 4.8$  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  $28.79 \pm 8.34$  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  $27.86 \pm 3.44$  天與  $28.21 \pm 2.61$  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)。

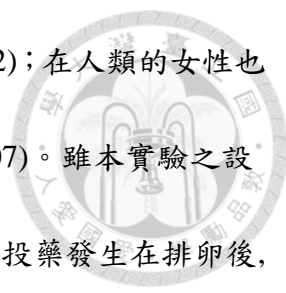
試驗進行觀察臺灣獼猴於正常動情週期下其性皮腫脹的變化，結果其腫脹及增紅程度並不明顯，不似黑猩猩與狒狒般有明顯的性皮腫脹 (Wildt *et al.*, 1977; Deschner *et al.*, 2004)，雖然臺灣獼猴雌猴在繁殖季中會有外觀變化，但變化的部分及程度，會因個體而有所差異，包括：性皮的腫脹及增紅、臉部膚色的增紅、或少部分個體甚少有外觀的變化 (季, 1996)。因此，若於野外進行試驗時，以性皮腫脹變化程度或面部的泛紅腫脹作為動情週期的觀察指標可能會有所差異。而陰道細胞學檢查，除糞便汙染

與劉氏染色液產生之非特異性結合的染色顆粒易影響診斷外，可順利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。

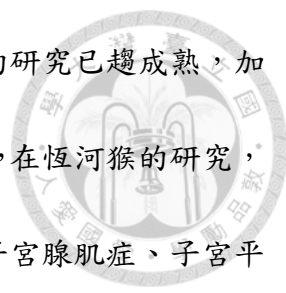


根據恆河猴的研究(Mora *et al.*, 1976)，在與本研究相同劑量下，MPA 於血中濃度可在注射當日便快速上升並在十日左右達到高鋒，但其抑制性荷爾蒙的效果則在注射隔日即可觀察到，同時，在恆河猴可維持 86 至 174 天的生殖週期抑制。在荷爾蒙數值方面，雌二醇濃度於血中 MPA 濃度最高值期間之平均值為 33.9 pg/ml，而孕酮則小於 1 ng/ml，這些結果皆與台灣獼猴所得之資料相仿。此外，針對 F13 之孕酮未隨雌二醇一同回升的情形，在恆河猴中也有一例，並於注射後的第 128 天回升，此後則回到正常的卵巢週期。由高雄壽山地區進行野生臺灣獼猴生殖行為研究中發現，該地區臺灣獼猴交配高峰期為 11 月至 12 月(黃, 2003)，此與圈養下的台灣獼猴觀察結果相似(李, 1997; 李, 2002)，因此，將本實驗結果應用於野外族群應同樣可以得到生殖控制的效果。由試驗可知，MPA 對於成熟雌性臺灣獼猴能夠維持至少三個月的生殖抑制，加上以肌肉注射做為給藥途徑之優點均適合做為台灣獼猴生殖控制在野外工作的選擇。

目前已知 LNG 的效果在不同的生殖週期投藥有不同的結果 (Nakama *et al.*, 2012; Nagle *et al.*, 2009)，在排卵前 8 小時以上或濾泡在 5 毫米以下時，投予兩次 2 毫克的口服 LNG，使用間隔 8~9 小時，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，連續 13 天投予 50 微克的 LNG，可以得到延遲排卵的效果，雖然在黃體期(16-29 天)有顯著較佳的結果，但不論是在哪



個生殖週期開始投予皆至少有 12 天的延遲效果(Nakama *et al.*, 2012)；在人類的女性也證實，於排卵後投藥只有很小或近乎沒有效果(Novikova, *et al.*, 2007)。雖本實驗之設計與上述之條件不完全一致，但在結果方面則相吻合：F7 之第二次投藥發生在排卵後，所以沒有效果；F11 與 F14 雖皆在黃體期投藥，但投藥均不在效果最佳之 16-29 天範圍內，且投藥週期並未如上述研究連續給藥或間隔 9 小時那般密集，因此沒有收到效果可能與血中濃度無法有效維持有關。而 F15 則在濾泡期初期，即開始給予，且根據台灣獼猴內視鏡之研究，濾泡在排卵前 24-48 小時才會成長至 5mm，因此不論是在濾泡大小或是投予時間上均可解釋延遲排卵之結果。荷爾蒙方面，捲尾猴於-2 日開始投藥觀察到雌二醇之高峰值下降了 31%，孕酮則全程顯著低於對照組，本實驗中 F15 之雌二醇高峰值較對照組下降了 79%，全程平均值下降了 76.9%，而孕酮同樣全程顯著低於對照組( $p < 0.01$ )。荷爾蒙受抑制之比例不同，可能來自劑量的差異，以及新世界猴與人類及舊世界猴在血中荷爾蒙濃度上的差異(Nagle *et al.*, 2009)，但依舊得到相似的結果。由研究結果可以得知，雖然左炔諾孕酮可以做為成年雌性的台灣獼猴藥物生殖控制的選擇，但必須在正確時機口服給與 LNG 方能達到延長排卵週期的效果：所以若期望得到延遲排卵週期的效果，則需於每次排卵週期開始時即給予口服 LNG；若期望避免投予時機造成的誤差，則需連續投藥；尤其是此藥的藥效短於台灣獼猴之交配季長度，如何調整劑量以維持長期及穩定的血中濃度，更是延長生殖控制效果的最重要環節。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，並確保目標獼猴可以連續性食入此藥，在野生動物處理上相對較不實際。



藥物安全性方面，在研究過程中，合成性孕酮使用於靈長類的研究已趨成熟，加上獼猴之生殖生理與人類女性相近，因此藥物使用之副作用也相同，在恆河猴的研究，使用單純孕酮衍生物之生殖控制藥物，可以降低子宮內膜異位、子宮腺肌症、子宮平滑肌瘤及子宮內膜癌肉之發生率(Valerio, 1989)；在巨猿類也證實生殖控制藥物的使用與生殖系統之病理變化發生率無關(Bolton *et al.*, 2012)，在本研究中，獼猴之外觀行為及體重均沒有明顯的變化，顯示此二藥物可安全的使用於台灣獼猴。但以荷爾蒙類製劑使用於野生動物時，仍需考量長期曝露於類固醇對於野生動物福利、環境、及食物鏈的影響 (Massei and Cowan, 2014)。

綜合上述，藉由藥物進行台灣獼猴之生育控制是有效的方法，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。



表 3.1 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 3.1 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

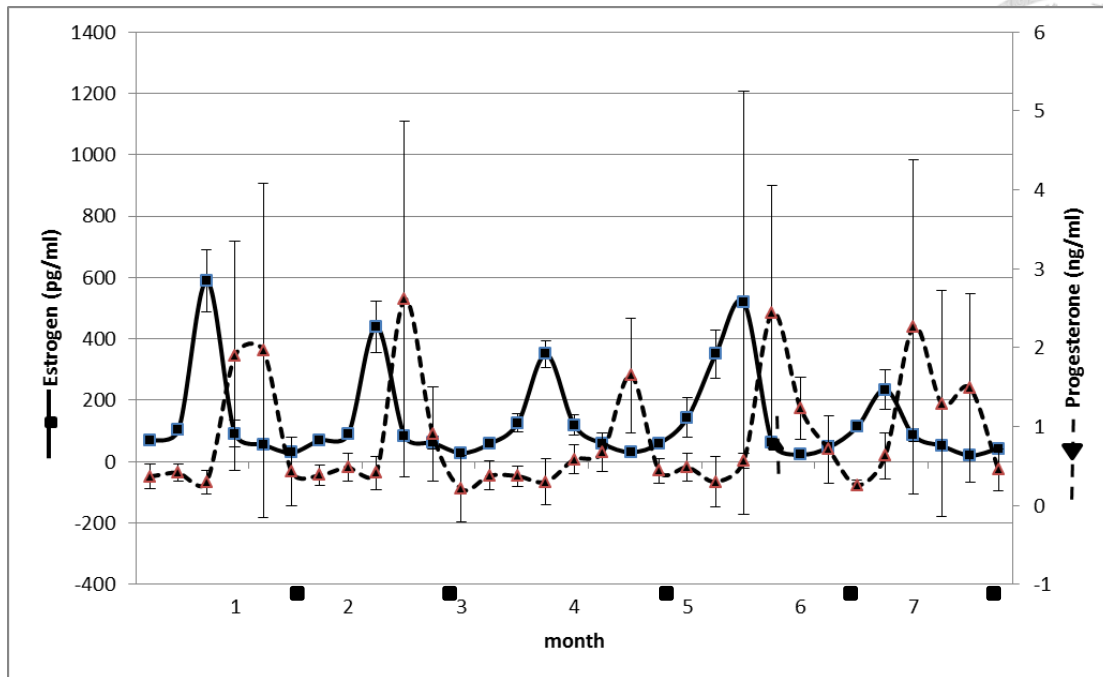


圖 3.1 台灣獼猴藥物生殖控制，受試期間控制組之雌二醇及孕酮之升降模式。圖中座標軸下方■指示月經日期，顯示受試獼猴處於規律的生殖週期。平均的雌二醇最低值及最高值分別為 3.34pg/ml 及 473.875 pg/ml；平均的孕酮最低值及最高值分別為 0.289ng/ml 及 2.184ng/ml，可做為藥物生殖控制效果之對照比較。

Figure 3.1 Hormone pattern of Formosan macaque, control group. ■ symbol at the bottom reflect the day of menses indicate regular cycle is demonstrated. The average peak and nadir value of estradiol concentration was 3.34pg/ml and 473.875pg/ml. The average peak and nadir value of progesterone concentration was 0.289ng/ml and 2.184ng/ml. The data could serve as reference value as compared to the test groups.



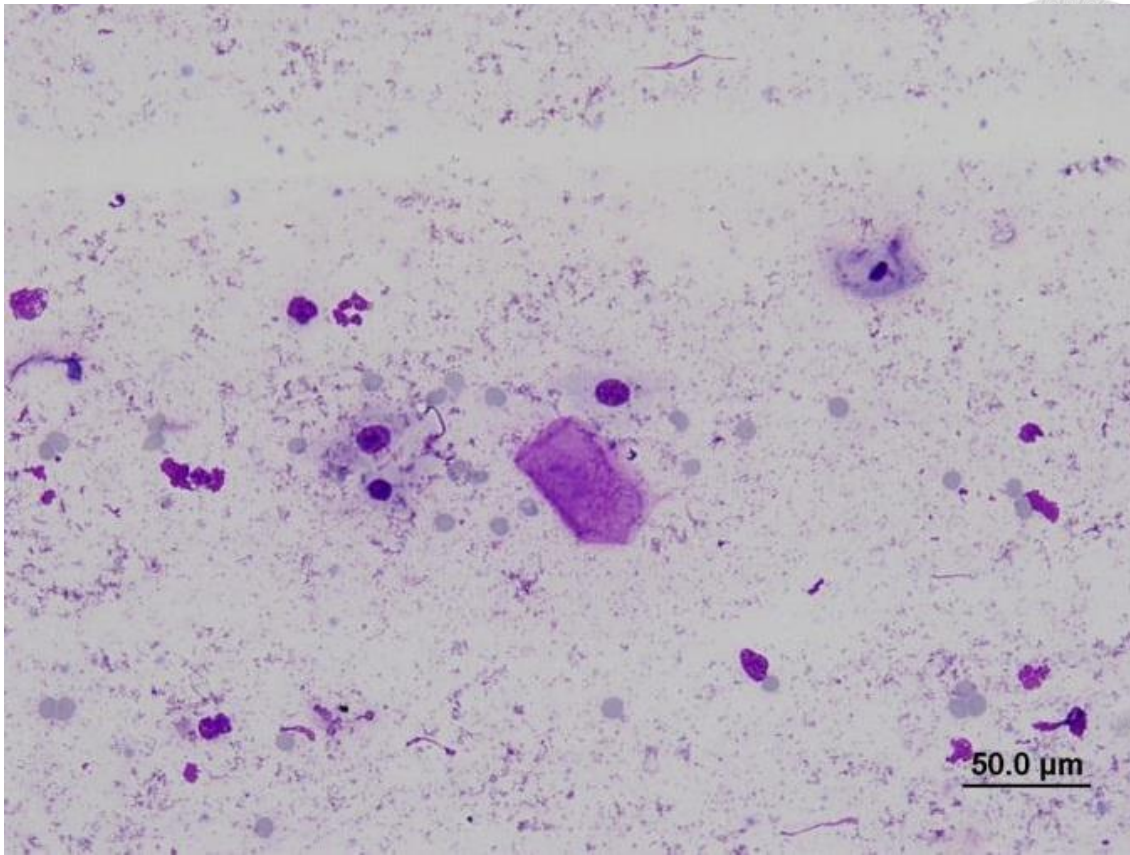


圖 3.2 台灣獼猴月經期陰道抹片。鏡檢下可見多量的白血球與紅血球，而未完全角化的中間層細胞較多，角化鱗狀上皮細胞較少。(劉氏染色, 400 倍)

Figure 3.2 Vagina smear of Formosan macaque under 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)

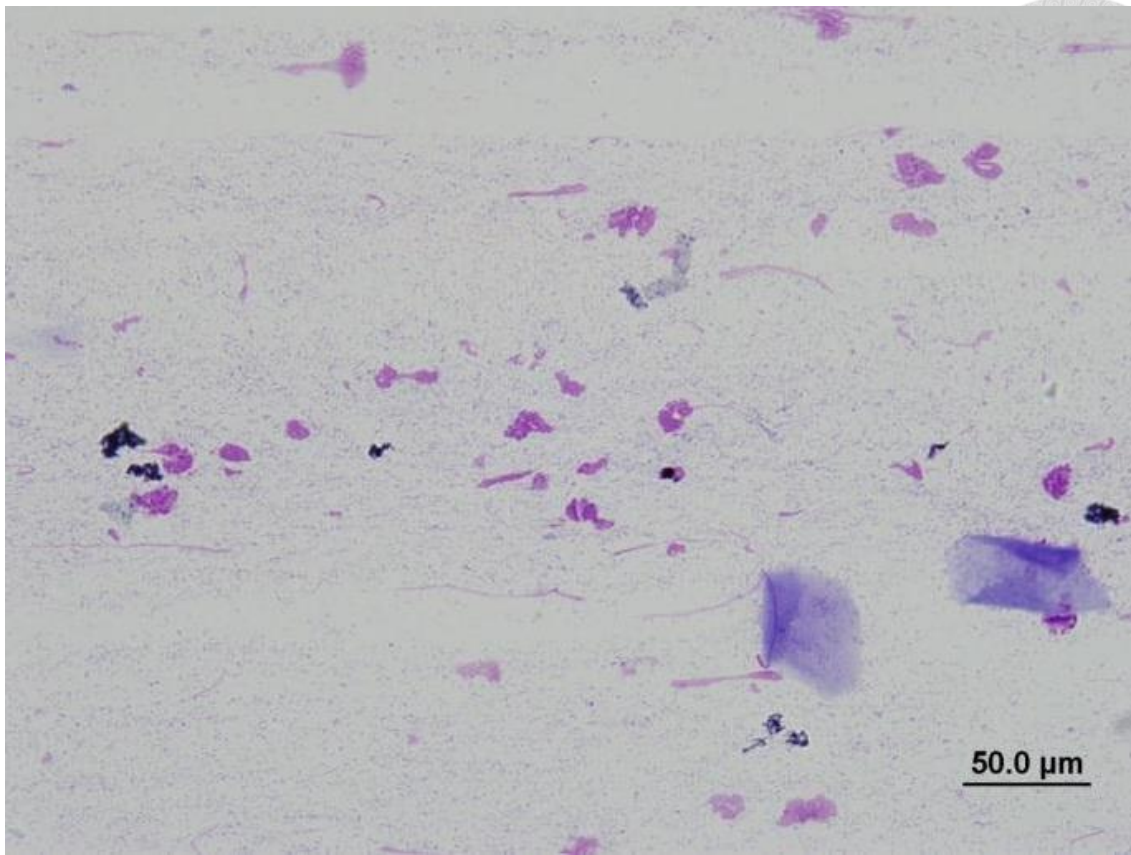


圖 3.3 台灣獼猴濾泡期陰道抹片。鏡檢下可見角化之表層細胞增加，未見紅血球及白血球。(劉氏染色, 400 倍 )

Figure 3.3 Vagina smear of Formosan macaque under follicular phase. There are increase amount of cornified squamous epithelium cells but without red blood cells and white blood cells. (Liu's stain, 400X )

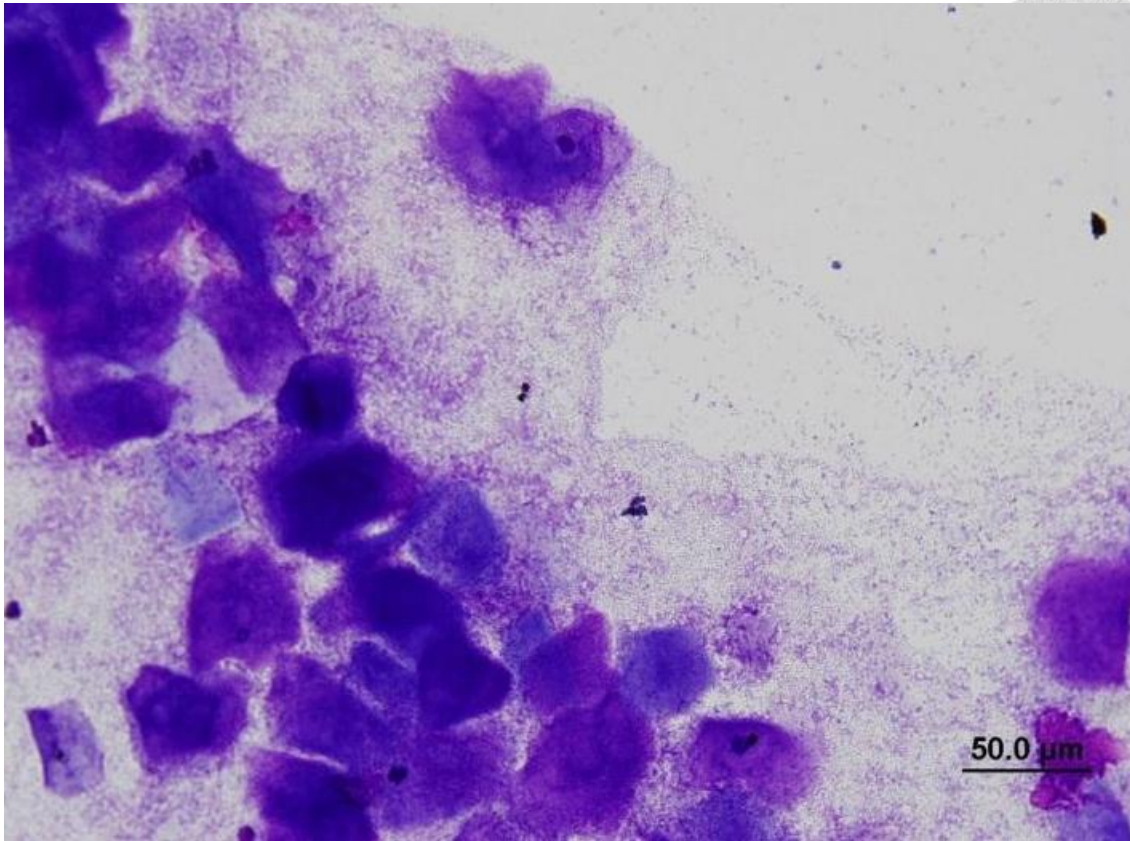


圖 3.4 台灣獼猴排卵期陰道抹片。鏡檢下可見表層細胞數量達到最高峰，大量核濃縮之角化上皮細胞。(劉氏染色, 400X)

Figure 3.4 Vagina smear of Formosan macaque under ovulation phase. Epithelium cells peak at this stage. Large amount of cornified squamous epithelium cell with condensed nucleus could be seen microscopically. (Liu's stain, 400X )

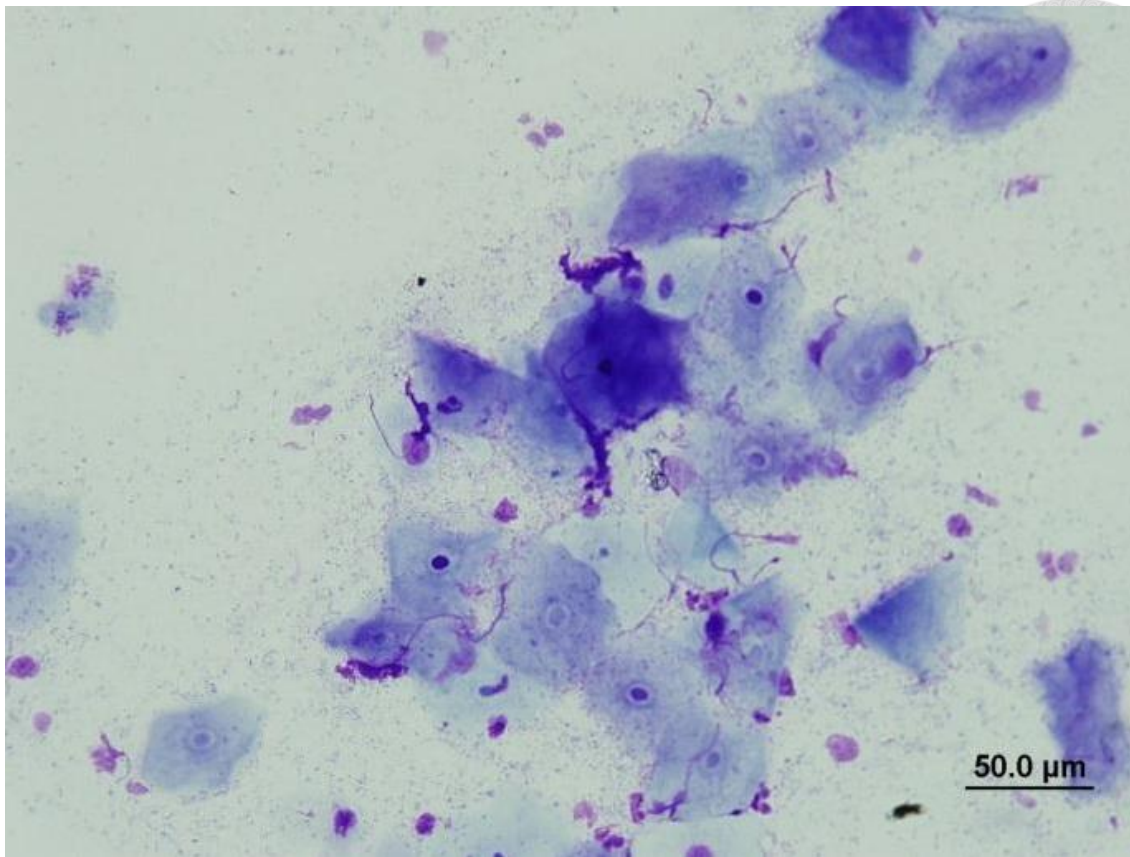


圖 3.5 台灣獼猴黃體期陰道抹片。鏡檢下可見表層細胞漸減，而中間層細胞漸增，至月經前可見白血球再次增加。(劉氏染色, 400 倍)

Figure 3.5 Vagina smear of Formosan macaque under luteal phase. The number of epithelium cells decreased and replaced by mid zone cells. The number of white blood cells will increase again before menstrual phase. (Liu's stain, 400X )

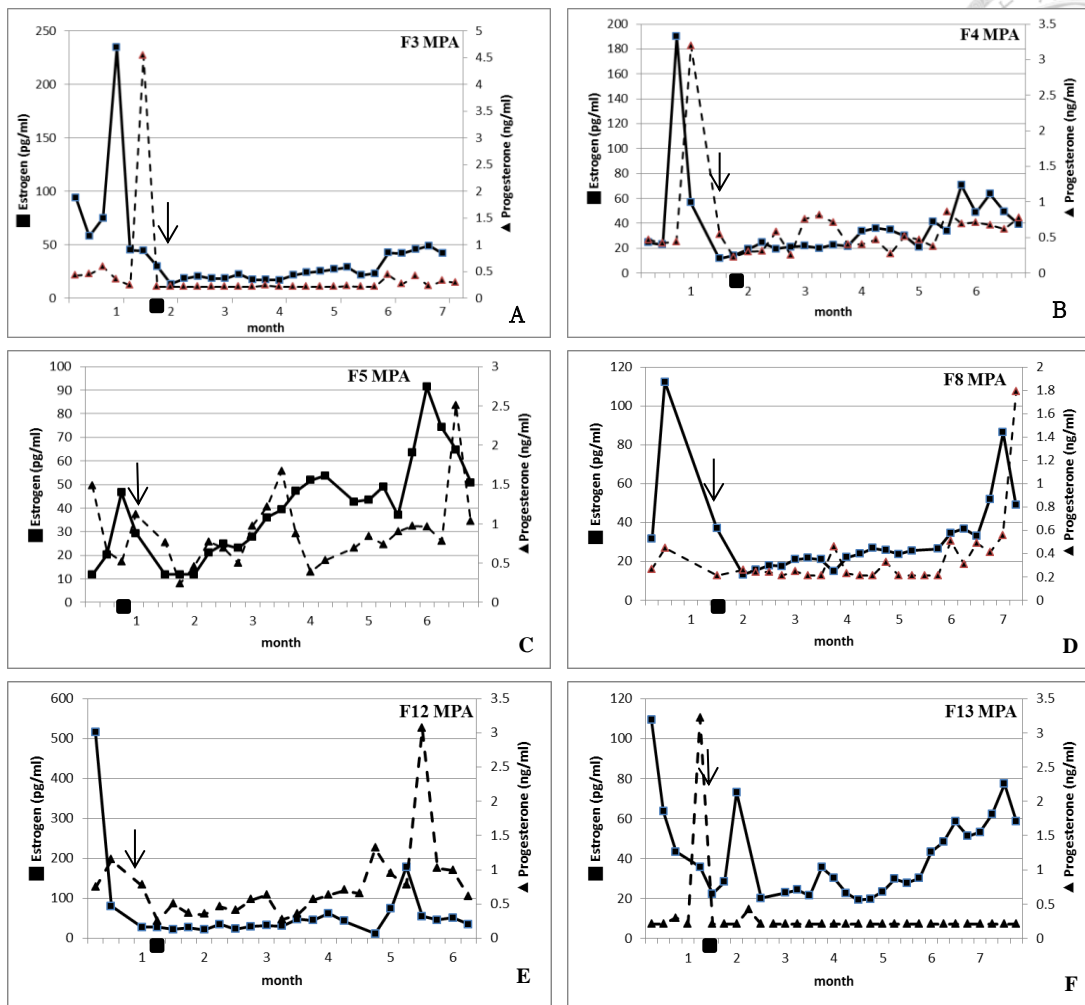
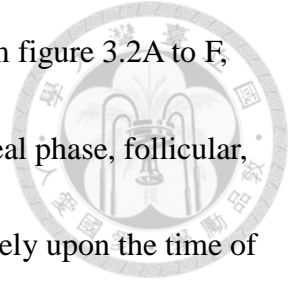


圖 3.6 台灣獼猴肌肉注射甲羥醋酸孕酮後血中性荷爾蒙起伏模式。六隻雌性台灣獼猴肌肉注射 150mg 甲羥醋酸孕酮後每 5 日血中雌二醇及孕酮起伏模式，箭頭指示藥物注射時間點；座標軸下方■則指示月經日期。由圖-A-F 注射時獼猴分別處於濾泡期早期或黃體期晚期，黃體期，濾泡期，黃體期，黃體期及濾泡期，不論在何時期注射均可達到生殖週期抑制的效果，並可維持 3-4.5 個月，三個月平均之血中雌二醇及孕酮濃度分別為  $23.07 \pm 4.99$  pg/ml (11.8pg/ml – 53.7 pg/ml) 及  $0.47 \pm 0.15$  ng/ml (0.21 ng/ml – 1.67 ng/ml) 皆與注射藥物前之變化與對照組具有顯著性降低 ( $p < 0.01$ )。

Figure 3.6 Hormone pattern of Formosan macaque after intramuscular injection of Medroxyprogesterone acetate. Serum estradiol and progesterone level was test every five days after six females injected with 150mg MPA. Arrow head indicate the time point of

medication and ■ symbol at the bottom reflect the day of menses. From figure 3.2A to F, the test macaque was under early follicular phase or late luteal phase, luteal phase, follicular, luteal phase, luteal phase and follicular phase of ovarian cycle respectively upon the time of medication. Suppression of ovarian cycle could be observed in all females and last for 3-4.5 months. The average serum estradiol and progesterone concentration during the three months suppression was  $23.07 \pm 4.99$  pg/ml (11.8pg/ml – 53.7 pg/ml) and  $0.47 \pm 0.15$  ng/ml (0.21 ng/ml – 1.67 ng/ml) respectively. Which are significantly lower than control group ( $p < 0.01$ ).



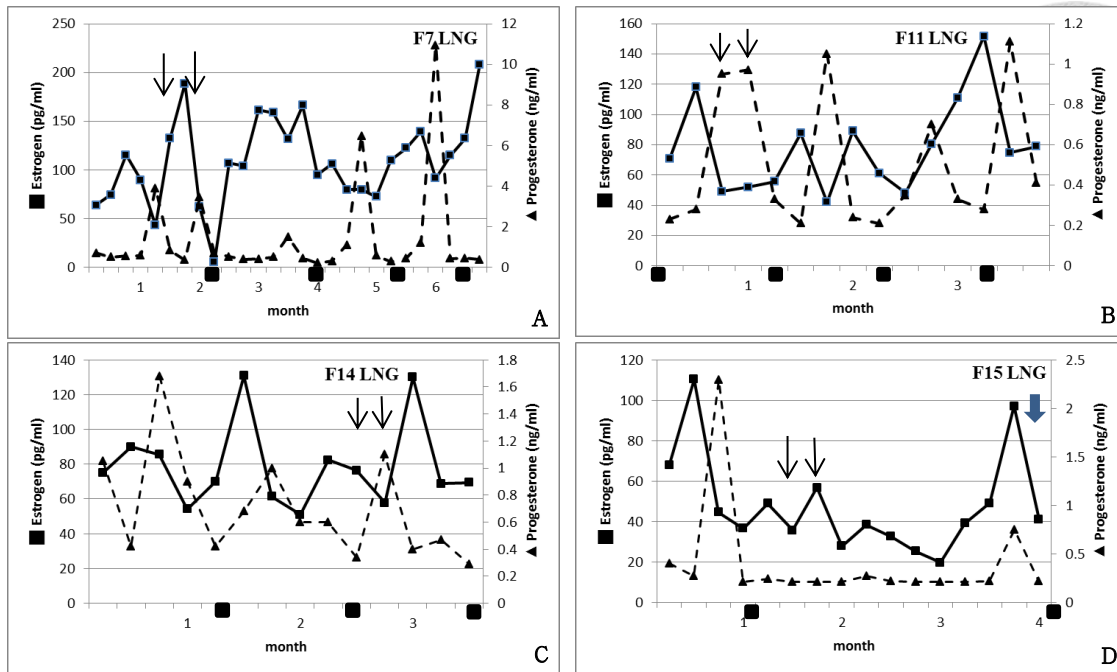
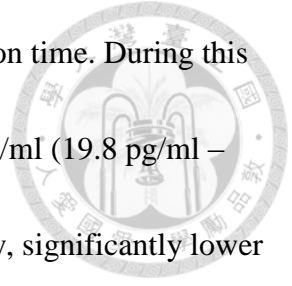


圖 3.7 台灣獼猴口服左炔諾孕酮後血中性荷爾蒙起伏模式。四隻雌性台灣獼猴口服  $300 \mu\text{g}$  左炔諾孕酮後每 5 日血中雌二醇及孕酮起伏模式，箭頭指示藥物服用時間點；■ 則指示月經日期。由圖-A-F 注射時獼猴分別處於濾泡期(第-2 及 3 日)，黃體期(第 9 及 14 日)，黃體期(第 2 及 7 日)及濾泡期(第-14 及-9 日)。僅 F15 出現延遲排卵情形，估計之排卵時間距離最後一次投藥後約 59 天，較預定排卵時間延後 47 天，此時期，F15 之雌二醇及孕酮之平均濃度分別為  $30.58 \pm 7.62 \text{ pg/ml}$  ( $19.8 \text{ pg/ml} - 38.5 \text{ pg/ml}$ ) 及  $0.22 \pm 0.02 \text{ ng/ml}$  ( $0.27 \text{ ng/ml} - 0.21 \text{ ng/ml}$ )，顯著低於對照組( $p < 0.01$ )。

Figure 3.7 Hormone pattern of Formosan macaque after oral medication of lenovoprogestosterone. Serum estradiol and progesterone level was test every five days after four females medicated with  $300 \mu\text{g}$  LNG. Arrowhead indicates the time point of medication and ■ symbol reflect the day of menses. From figure 3.3A to D, the test macaque was under follicular face (day -2 and 3), luteal phase (day 9 and 14), luteal phase (day 2 and 7) and follicular phase (day -14 and -9) of ovarian cycle respectively upon the time of medication. Only F15 show delay ovulation. The estimated ovulation time was 59

days after last day of medication and 47 days later than original ovulation time. During this period, the average estradiol and progesterone value was  $30.58 \pm 7.62$  pg/ml (19.8 pg/ml – 38.5 pg/ml) and  $0.22 \pm 0.02$  ng/ml (0.27 ng/ml – 0.21 ng/ml) respectively, significantly lower than control group ( $p < 0.01$ ).





## 第四章 內視鏡輸卵管結紮切除術利用於台灣獼猴生殖控

### 制之研究



#### 第一節 緒言

台灣獼猴為台灣原生的靈長類，屬於猴科的一員，他們對各種環境都有高度的適應性，從海拔 100 到 3600 公尺的闊葉、針葉或針闊葉混合林、竹林、草地都可以見到他們的蹤跡(Hsu and Lin, 2001)。就如同其他國家，人猴衝突在台灣也是一個公眾議題，並造成相當的損失，因此，各式的有關獼猴族群控制的策略也受到廣泛的討論(Priston and McLennan, 2013)。

現有針對獼猴的節育策略是根據人類與獼猴在生殖系統型態學、內分泌學、荷爾蒙受器等的相似性衍生而來(Buse *et al.*, 2008)，在人，利用輸卵阻斷技術來節育始於 1970 年代(Westhoff and Davis, 2000)，而開腹手術是此手術的經典操作，然而，從 1980 年代起內視鏡的介入則漸漸受到歡迎，而最早在獼猴使用內視鏡觀察生殖系統的研究則可以追溯到 1970 年代的日本獼猴(Nigi, 1977)。綜合了上述的研究，獼猴的生殖系統解剖、生理、內分泌如今已被詳加研究(Buse *et al.*, 2008; Weinbauer *et al.*, 2008)，而獼猴內視鏡輸卵管結紮術則是在這些研究的基礎下誕生。

自從 Martelli (2009)首次發表在香港的內視鏡結紮計畫，內視鏡輸卵管結紮已經成

功的應用在長尾獼猴及恆河猴的生殖控制(Shek and Cheng, 2010)。內視鏡輸卵管結紮術是以雙極電燒的方式燒灼並阻斷輸卵管的通路(EngenderHealth, 2002)，它提供了高效率且終生的避孕，並且已被許多國家利用於獼猴之生殖控制(Kumar and Kumar, 2012; Martelli, 2009)。本研究之目的在於評估台灣獼猴利用母猴內視鏡輸卵管結紮的方式進行生殖控制之適用性，並同時達到地區或人猴衝突熱點之生殖控制的探討。



## 第二節 工作描述



所有的操作程序均由瀕臨絕種野生動物利用委員會核准，並且符合林務局於 2011 年公布之野生動物保育法。

### 麻醉

全身麻醉是由肌肉注射 0.03 mg/kg 的 Dexmedetomidine hydrochloride (Dexdomitor<sup>®</sup>, Pfizer, New York, NY, USA) 及 3 mg/kg 的 Tiletamine-Zolazepam (Zoletil<sup>®</sup>, Virbac, Carros, France) 來進行誘導，在進行氣管插管及靜脈留置針上針後，麻醉是由 1% Propofol (Lipurool, B. Braun Melsungen, Melsungen, Germany) 以 0.4mg/kg/min 的速率進行維持。當獼猴沒有自發呼吸或是周邊血液氧氣濃度小於 90% 時則給予正壓呼吸。在手術中，四肢的縮回反射、肌肉張力、下顎張力、心跳、血氧、血壓及體溫則加以監控。

### 內視鏡輸卵管結紮

內視鏡輸卵管結紮是由同一名獸醫師搭配其他野生動物獸醫師共同執行，每隻動物以背側躺平躺於手術檯上並且頭朝手術檯的後方，雙腳及尾巴均延伸朝檯前並以枕頭墊起骨盆部使生殖系統垂降至腹腔中，內視鏡塔則置於整個手術單位的最前方(圖 4.1)。

內視鏡孔道緊貼於腹中線肚臍後方，器械孔道則位於內視鏡孔道的後外側方，但位於輸卵管前方之身體兩側。在製造內視鏡孔道時，於腹中線肚臍後方以刀片切出一 0.2 公分的傷口，隨後以氣腹針(Veress pneumoperitoneum needle (62120J, Karl Storz,

Tuttlingen, Germany)穿過白線。此時必須格外注意以避免穿刺腹腔內的臟器或血管。

一旦氣腹針放置完成，腹腔便以充氣機(Electronic Endoflator System (26430508-1, Karl Storz, Tuttlingen, Germany)充二氧化碳氣體直至腹內壓到達 12 毫米汞柱。

充氣完成後，移除氣腹針，帶針套管(30114GK, Karl Storz, Tuttlingen, Germany)則從同一傷口穿入腹壁，此時將內視鏡(Hopkins telescope, 64018BSA, Karl Storz,

Tuttlingen, Germany)伸入套管中直到可以藉由螢幕清楚觀察腹腔(圖 4.2A-B)。在檢查

腹腔後，切開器械孔道處的皮膚，帶針套管進入腹壁的過程則由內視鏡監控，並以同

樣的方法完成第三個套管的放置。其後由器械孔道放入 3-毫米組織鉗( curved Kelly

forceps, 30322MDS, Karl Storz, Tuttlingen, Germany) 及 3-毫米雙極電燒鉗 (Manhes

bipolar coagulating forceps , 26184HCS, Karl Storz, Tuttlingen, Germany)。

以組織鉗提起輸卵管並以雙極電燒鉗電燒輸卵管的兩端直到它變成白色，代表學液供應被阻斷，對側的輸卵管也用相同的方式進行燒灼(圖 4.2C-D)。在燒灼後，兩側

的輸卵管分別以內視鏡剪刀(30321MWS, Karl Storz, Tuttlingen, Germany)剪下一段 1 公

分的段落(圖 4.2E)，並從套管自腹腔移除此段落(圖 4.2F)。以內視鏡詳細檢查止血是否

以完成後移除套管(圖 4.2G-H)、移除內視鏡、完成洩壓，此時需小心腸繫膜勿意外牽

扯入皮下空間(DVD by P. Martelli entitled "Endoscopic Tubectomy in Macaques", Karl

Storz-Endoskope, 2009)。

術後，皮膚以 4-0 polydioxanone 以皮內包埋縫法縫合，並肌肉注射與

Dexmedetomidine hydrochloride 等體積之 Atipamizole (Antisedan<sup>®</sup>, Orion, Espoo, Finland)

以解除麻醉，並肌肉注射 0.1 mg/kg 的 Meloxicam (Mobic, Boehringer-Ingelheim, Ingelheim, Germany) 及 40000 IU/kg of penicillin G procaine (Penicillin G, China Chemical and Pharmaceutical, Taichun, Taiwan) 做為術後的止痛及抗生素以避免感染。





### 第三節 工作案例

#### 背景

雖然內視鏡輸卵管結紮已被有效應用於獼猴之生殖控制(Kumar and Kumar, 2012; DVD by P. Martelli entitled "Endoscopic Tubectomy in Macaques", Karl Storz-Endoskope, 2009),但關於此技術應用於獼猴之手術安全性及術後併發症的發生率並未被深入的評估,因此本研究的目標在記錄統計內視鏡輸卵管結紮相關的術中及術後併發症,並了解內視鏡輸卵管結紮對於台灣獼猴卵巢功能的長期影響。

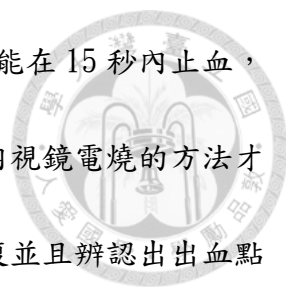
#### 動物

自 2012 年十二月至 2014 年一月,19 隻圈養於宜蘭野生動物保育中心之野生的成年雌性台灣獼猴,動物來源包括孤兒、野生動物救傷及政府沒入。當地長期觀察野生族群之生物學家在獼猴被送入中心時會辨認每隻獼猴並編號、觀察記錄面部及肢體特徵。所有的猴子均分籠飼養於半開放的室外環境,溫、溼度及光週期則為自然調控。所有的猴子均接受理學檢查、血液學及血清生化學檢查以確保個體的健康。食物方面則包含一天兩餐的猴科飼料、水果、吐司及蔬菜,水則任飼,但在進行手術的前 12 小時則禁食禁水。

#### 評估

##### 術中評估

術者在術中以 1 到 5 的分級來評估出血量,同時記錄出血點。第 1 級代表沒有出血;第 2 級的出血的特徵則為出血能夠馬上且自動的停止,只在周邊器官上留下微量



的血跡且沒有可見的凝血塊，定義為有限量的出血；緩慢的出血且能在 15 秒內止血，可見凝血塊，則為第 3 級出血；第四級的出血則是出血點需要以內視鏡電燒的方法才能止血，但無須開腹；第五級的出血則指出嚴重的出血必須要開腹並且辨認出出血點才能止血。術中其餘的併發症也同樣會被記錄。


### 術後追蹤及組織病理學評估

為了確定內視鏡輸卵管結紮的效果以及結紮後輸卵管因慢性進行性的炎症反應再癒合之危險性，七隻仍在圈養下的獼猴及一隻在野外重複捕捉的台灣於第一次手術後的 2 到 13 個月再次進行內視鏡評估，麻醉及內視鏡步驟則如前所述，檢查雙側輸卵管截斷後的各兩個斷端並且記錄一切不正常的現象。術者依據一到五級評估輸卵管的四個斷端及生殖器官之發炎等級。

若斷端輕楚可見、沒有任何發炎反應的證據則分類為一級；若斷端可見但呈現充血、水腫或被疤痕組織所包覆則評分為二級；若卵巢及輸卵管斷端均被疤痕組織所包覆，但其餘的生殖器官仍可以觀察的到則為輕度發炎，評分為三級；若腸繫膜和生殖器官間有沾黏，但沒有腹膜炎的症狀則為中度發炎，評分為四級；若器官間皆沾黏且出現腹膜炎的症狀如：腹水、蓄膿則為重度發炎，評分為五級。

所有斷端皆分開評估，所以每隻母猴會得到四個分數，除此之外，斷端皆如前述的方法進行輸卵管採樣，每個採樣的組織會以 10% 的福馬林固定並送到國立台灣大學比較病理研究所進行組織病理學評估。

### 內分泌分析



為了評估術後卵巢功能，十九隻獼猴中的十隻於輸卵管結紮後的兩個月進行週期的血中性荷爾蒙測量，抽血前先以陰道抹片確定循環週期，接著新週期的抽血始於月經的第一天，以及其後的第 4、7、10、11、12、13、14、15、16、18、20、22、24、27 日 (Weinbauer *et al.*, 2008)。整個流程中，獼猴皆以肌肉注射 0.02mg/kg Dexmedetomidine hydrochloride 及 1 mg/kg tiletamine-zolazepam 導入在輕度麻醉或重度鎮靜的狀態下，接著以 2.5 毫升針筒及 25G 針頭由股靜脈抽血 1 到 2 毫升。最後肌肉注射與 Dexmedetomidine hydrochloride 等體積之 Atipamizole 以解除麻醉。


血液檢體在抽血後隨即以 3000 轉離心 15 分鐘，採集血清然後保存在 -20°C 冰箱，血清中的孕酮及雌二醇濃度則分別以 Advia Centaur Progesterone Assay (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) 及 estradiol enzyme immunoassay kit manufactured by Cayman Chemical (Ann Arbor, MI, USA) 測量，測量方法則依照原廠操作說明書於兩個濃度下進行三重覆。

### 統計分析

為了清楚呈現資料，血清中雌二醇測到最高值的日期定為第 0 天，而濾泡期及黃體期的日數則相對於此日，計算及記錄每日的雌二醇濃度、孕酮濃度、卵巢週期、黃體期、濾泡期的平均及標準差。

預測性統計及資料分布針對不同變數包括年紀、體重、動物來源、出血級數及發炎級數做統計分析，首先以 Kolmogorov-Smirnov test ( $P < 0.05$ ) 確定變數是否為常態分布，若資料為常態分布，則以雙因子變異數分析 (ANOVA) ( $P < 0.05$ ) 了解不同變數包括





年紀、體重、動物來源對出血級數及發炎級數造成的影響以及出血級數與發炎級數的交互作用。若資料不是呈常態分布，則以多樣本中位數差異檢定 (Kruskal-Wallis test) 來做上述的比較。皮爾森積差相關係數(Pearson's rho)則在當出血級數及發炎級數均為常態分布時用於分析兩者間的關聯；另一方面斯皮爾曼等級相關係數(Spearman's rho)則用於當變數為非常態分布時。



#### 第四節 結果

本研究共包含了 19 隻雌性台灣獼猴，其平均體重為  $6.75 \pm 2.5$  公斤，根據體重、齒式或牙齒狀態及長期追蹤當地猴群的生態學家之指認，平均年齡為估計為 7.2 歲(表 4.1)。所有的獼猴在手術前均通過健康檢查，並且在術前術後沒有顯著的體重變化。野地環境救傷的個體則在研究完成後盡速野放，野放後根據當地生物學家的觀察，未見到不正常的進食或社交行為。

##### 術後併發症

在八例進行術後內視鏡追蹤的個體中，其皮膚及腹壁皆已癒合，未觀察到任何的異常或是感染的症狀，當初切創的傷口只留下一小疤痕(圖 4.3)。32 個斷端中的 24 個是可以辨認的，而平均的發炎級數為 1.59(表 4.1)。因為變數均為常態分布，所以多樣本中位數差異檢定 (Kruskal-Wallis test) 用於評估年紀、體重、動物來源對發炎級數造成的影響，結果在不同的年紀、體重及動物來源下，發炎級數無顯著差異。同樣的，斯皮爾曼等級相關係數(Spearman's rho)則用於確定出血的嚴重度是否影響發炎程度，因兩者皆為非常態分佈，結果出血的程度與發炎程度沒有相關，而上述的所有 P 值均為雙尾的(表 4.2)。在所有的斷端中，沒有任何一個位置的發炎級數是大於 3 的。在一隻個體因大網膜及脂肪與子宮、輸卵管沾黏而無法分離，造成雙側斷端均無法辨認；另有一例為觀察輸卵管時造成輕微出血而停止因此給予 3 級分；另一例為腸繫膜於手術切創處嵌入皮下空間，此傷口已癒合且腸繫膜也已經固定無法分離。然而，腸繫膜的血液循環並沒有被影響，且此個體沒有任何不適的臨床症狀，更重要的是，生殖系

統及斷端的觀察並沒有被影響。

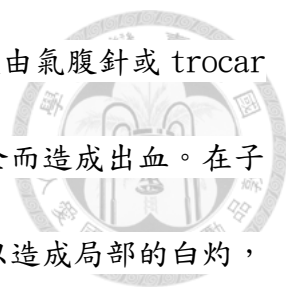
輸卵管的生檢得以在兩隻個體中執行，兩個體的輸卵管在發炎的分級上均為1級，其餘個體的斷端則因為輸卵管與其周邊組織無法以簡單的燒灼及切除來分離而未執行。在切片下，由外側的漿膜層到中間的肌肉層到內側的黏膜層均可以清楚的分辨且無發炎的跡象，這樣的結果與內視鏡觀察的評分是一致的(圖 4.4)。

### 術後內分泌評估

根據十隻進行術後追蹤的個體之陰道抹片及荷爾蒙分析的結果顯示一卵巢週期平均為  $28.21 \pm 2.6$  日，最長及最短的卵巢週期分別為 32 日及 24 日。平均的濾泡期為  $12.7 \pm 2.6$ ，最長及最短的濾泡期分別為 16 及 9 日。平均的黃體期為  $14.3 \pm 1.8$  日，最長及最短的黃體期分別為 17 及 12 日。雌二醇及孕酮的最高值分別為  $338.7 \pm 27.96$  pg/ml 及  $8.94 \pm 1.1$  ng/ml。整體來說，在進行術後追蹤的個體中，沒有觀察到嚴重的短期或長期的手術相關併發症、不良的生理反應或行為改變。

### 術中併發症

術中併發症包括出血、子宮燒灼及入針困難，相較於人類進行相同的手術，其常見的併發症包括：消化道損傷、膀胱損傷、子宮穿刺、非預期的開腹手術及出血，獼猴內視鏡輸卵管結紮之併發症類似且輕微，其中 65%之獼猴完全無術中併發症，且子宮燒灼及入針困難僅分別各一例，雖有 25%之獼猴出現術中出血之併發症，但平均出血級數為 1.36(表 4.1)，且不同的年齡、體重及獼猴來源與出血之程度無顯注差異，且記錄到的出血量為有限或少量的，其中有兩隻獼猴之出血點沒有被分辨出來，但出血都



是只有 2 級；在另外的兩個病歷中，出血來自於大網膜，推測應是由氣腹針或 trocar 進入腹腔時造成的傷害；此外，則有兩個病歷因為輸卵管燒灼不全而造成出血。在子宮燒灼的病歷中，因為電燒鉗之尖端意外的碰觸到子宮表面，所以造成局部的白灼，但未出血，其中沒有任何一個病歷需要依靠開腹手術來校正醫源性的併發症。

術後追蹤方面，89%的獼猴沒有任何併發症，此外無傷口感染或縫線破壞等觀察被記錄，其餘術後併發症包括脫毛及一隻約 18 歲母猴於術後沒有繼續追蹤到資料，推測已死亡。

綜合上述，內視鏡輸卵管結紮在台灣獼猴雖有副作用，但發生的種類與人類相仿且均為輕微至有限的副作用，證明其適用性極高，未來隨著結紮的技術更進步以及獼猴年齡、體型善加選擇，併發症可望再降低且更安全。

## 第五節 討論



節育已是哺乳類動物生殖管理的一個部份，節育計畫也早已納入動物照護手冊及重大計畫之中，除此之外，所有的動物園及水族館都使用節育技術來控制園內的生殖 (Cheryl and Boutelle, 2012)。獼猴的節育計畫可以分類為可逆的及永久的 (Cheryl and Boutelle, 2012)，目前已有超過四十種可逆的節育方法用於靈長類，其中大多數與類固醇性荷爾蒙有關，此外也包含了免疫性節育及機械性節育等方法 (Porton and Dematteo, 2005)。然而，有效的可逆型節育依靠的是精準及定時的投藥，但此法在野生動物相對是不實際的。相反的，雖然手術介入例如卵巢切除、輸卵管切除皆需要捕捉、麻醉、儀器購買及保養等額外的花費，但因節育的結果是永遠的，所以長期看來反而更加有效益。

相較於輸卵管結紮，卵巢切除術在日本獼猴已被證明會改變其社會及焦慮行為等負面的影響，因此，永久性的節育方法例如輸卵管結紮或生殖道阻塞是比較適合靈長類的，因為他們的生殖荷爾蒙與病理變化無關 (Cheryl and Boutelle, 2012)。除此之外，內視鏡科技的發展讓術者可以進行低侵入性的手術，在達到外科治療目的的同時可以減少大範圍開創造成的併發症與死亡風險 (Kim *et al.*, 2013)。而這對於野生動物的好處可由本計畫中的獼猴在術後均沒有明顯傷口且癒合快速而看出。

在一篇報導中討論了內視鏡卵巢摘除相較於內視鏡輸卵管摘除於獼猴節育之適用性，文中認為內視鏡輸卵管摘除因為出血量少、發炎少且手術時間較短所以是比較適合的節育選擇 (Kumar and Kumar, 2012)。此外，在卵巢摘除後要回復已是不可能，但

內視鏡輸卵管吻合術雖然在獼猴仍沒有報導，卻是人類節育後解決不孕的方式之一 (Jayakrishnan and Baheti, 2011; Yashoda, 2012)。



根據人類進行輸卵管結紮的研究顯示，節育失敗通常與技術的失敗或輸卵管再連通有關。輸卵管再連通、子宮角懷孕及輸卵管-腹壁瘻管造成異位懷孕是輸卵管結紮失敗的主要原因(Awonuga *et al.*, 2009)，而術後修復過程中活躍的輸卵管炎及過度的增生是造成輸卵管再連通及輸卵管子宮內膜異位推測的病理機制之一(Ong *et al.*, 2004)。同時，在人進行輸卵管結紮後的一到兩年失敗率約為 0.2%到 0.9% (Trussell *et al.*, 1990)。根據在肯亞共 15 年包含 12000 人的回溯性調查顯示，在術後第一年的整體失敗率 (0.4%)比第二年(0.1%)高(Ruminjo and Lynam, 1997)。基於上述的調查結果，此研究在第一次內視鏡輸卵管結紮後的 2 到 13 個月進行第二次的內視鏡評估，並藉由發炎評分來探討術後燒灼的輸卵管斷端之暢通性。我們可以觀察到 75%的斷端並且沒有任何輸卵管再連通的現象。

輸卵管在結紮或夾鉗後曾有發生病理變化的報告，12 隻恆河猴在進行開腹輸卵管結紮手術的 6 個月後犧牲，其探討分別使用 Madlener、Wood、或 Filshie Clip 三種方法進行結紮的差別，病理檢查顯示分別只有 50%、70%及 0%的輸卵管巨觀下為正常形態，而依據不同的技巧卻有 30%到 100%的個體有輕微至嚴重的沾黏(Gupta, 1986)。雖然在本研究中，僅有兩隻個體的輸卵管經過病理的檢查，但從病理檢查下無明顯發炎反應可見與內視鏡檢查之發炎分級呈現一致性。整體來說，75%的斷端其發炎分級均小於 2，且平均的發炎級數為 1.59。綜合上述的結果，我們可推論，內視鏡輸卵管結紮

在術後的 2 到 13 個月相較於其他結紮技巧呈現較佳的反應。然而，內視鏡觀察評分的準確性及其與病理檢查的一致性仍需更進一步的研究。



性荷爾蒙對於獼猴社會行為的重要性已被完整的研究記錄(Colemana, 2011)。輸卵管結紮至目前為止尚無記錄顯示對於人類或靈長類之性荷爾蒙有不良的影響(Colemana, 2011; Fagundes *et al.*, 2005)。除此之外，早前的研究也證實了重覆的內視鏡操作並不影響正常的生殖週期(Dukelow, 1975; Nigi, 1977)。在本研究中證實了內視鏡輸卵管結紮對台灣獼猴的性荷爾蒙週期沒有不良影響，除此之外，受試個體之卵巢週期、濾泡期、黃體期與其他已發表之獼猴資料相仿(Shimizu, 2008; Weinbauer, 2008)。

在人類，輕微血腫及傷口感染是最常見的早期術後併發症(Priston and McLennan, 2013)，除此之外，子宮外孕曾經報導發生在結育後的十年間，而根據十年的累積統計數字，尤其在人的各種外科結育方法中，最高的發生率則是發生在輸卵管雙極電燒後，約為每 1000 例手術有 17.1 次子宮外孕(Peterson *et al.*, 1997a)。子宮蓄膿在獼猴曾被報告與惡性腫瘤及荷爾蒙治療相關(McCarthy *et al.*, 1989; Strozier *et al.*, 1972)，雖然在獼猴性腺的荷爾蒙活性不造成病理變化(Cheryl and Boutelle, 2012)，但輸卵管結紮與子宮蓄膿之間是否有關聯目前仍不清楚。在這次的計畫執行期間，沒有觀察到傷口的血腫或感染，但在獼猴節育後，長期的影響例如子宮外孕或子宮蓄膿的發生率如何，則需要更進一步的研究追蹤。

總結上述，在這次的計畫我們可以歸納出內視鏡輸卵管結紮對於台灣獼猴來說是一個安全的節育選擇，僅有少數的併發症並和人類進行相類似的手術雷同。未來若可

以累積更多經驗並適當選擇節育的候選人，併發症的發生率可望再有效下降(Westhoff and Davis, 2000)。然而其他長程的併發症如子宮外孕及子宮蓄膿則需要更進一步的研究。





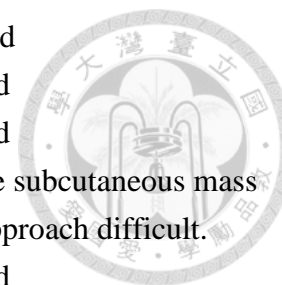
表 4.1 19 隻進行內視鏡輸卵管結紮之台灣獼猴及術後追蹤資料



Table 4.1 Information of 19 Formosan macaques that underwent endoscopic salpingectomy and post-surgery follow up

No.	Age (yr)	Body weight (kg)	Source	Hemorrhagic score/site/procedure	Other complications	Recheck time after salpingectomy (mos)	Inflammatory score	Notes
1	7	6.6	WC	1	No	13 months	1/1/1/1	Released and Recaptured Mesentery entrapment
2	8	8.7	WC	2/NI/NI	No	NE	NE	Released
3	5	4.7	WC	1	No	NE	NE	Released
4	10	9	WC	1	No	NE	NE	Released
5	5	4.4	WC	1	No	NE	NE	Released
6	10	8.7	WC	1	No	NE	NE	Released
7	8	7.6	orphan	1	No	3	2/2/3/3	Sheltered
8	8	8.5	orphan	1	No	3	1/1/3/3	Sheltered
9	3	3.2	C	1	No	3	1/1/3/3	Sheltered
10	5	4	C	1	No	3	1/1/1/1	Sheltered, biopsy was allowed
11	5	4.2	C	4/fallopian tube/cut fallopian tube	Uterus cauterization	3	1/1/1/1	Sheltered, biopsy was allowed
12	5	4.8	WC	1	No	3	1/1/1/1	Sheltered
13	5	4.6	WC	2/NI/NI	No	NE	NE	Sheltered
14	8	9.5	WC	2/mesentery/entry of trocar	No	NE	NE	Sheltered
15	10	11.2	WC	1	No	2	2/1/3/3/	Sheltered

16	5	5.1	WC	1	No	NE	NE	Sheltered
17	3	5.1	WC	1	No	NE	NE	Released
18	10	7.5	WC	1	No	NE	NE	Released
19	18	11	WC	2/mesentery, fallopian tube/entry of Veress needle, cauterization	Difficult entry of Veress needle	NE	NE	Multiple subcutaneous mass made approach difficult. Released



註腳：19 隻台灣獼猴於 2012 年 12 月至 2014 年 1 月進行內視鏡輸卵管結紮，動物的年齡，體重，飼養狀況及術中，術後的客觀評分皆記錄於此表。發炎評分的評分順序為右側遠端/右側近端/左側近端/左側遠端。C: 政府沒入; WC: 野生救傷; NI: 未辨認; NE: 未評估。

表 4.2 年齡，體重，動物來源對出血評分，發炎評分造成的影響以及出血評分和發炎評分間的交互關係



Table 4.2 The effect of Age, body weight, source on hemorrhagic and inflammatory score and the interaction between hemorrhagic score and inflammatory score

	Tests of Normality	Hemorrhagic score	Inflammatory score	Interaction
Age	0.021	Kruskal-Wallis Test: Chi-square=5.509, P=0.357, N=19	Kruskal-Wallis Test: Chi-square=6.401, P=0.171, N=8	-
Body weight	0.016	Kruskal-Wallis Test: Chi-square=3.162, P=0.87, N=19	Kruskal-Wallis Test: Chi-square=7, P=0.221, N=8	-
Source	0	Kruskal-Wallis Test: Chi-square=0.955, P=0.620, N=19	Kruskal-Wallis Test: Chi-square=2.661, P=0.264, N=8	-
Hemorrhagic score	0	-	-	Spearman's rho: Correlation coefficient = -0.354, P= 0.390, N=8
Inflammatory score	0.17	-	-	

註腳：預測性統計以及資料分布之分析資料，以柯史法(Kolmogorov-Smirnov test) ( $P < 0.05$ ) 確定變數是否為常態分布。以多樣本中位數差異檢定 (Kruskal-Wallis test) ( $P < 0.05$ ) 了解不同變數包括年紀、體重、動物來源對出血級數及發炎級數造成的影響以及以皮爾森積差相關係數(Pearson's rho) 了解出血級數與發炎級數的交互作用。



圖 4.1 內視鏡輸卵管結紮之相關設置。內視鏡塔，麻醉裝置(包括點滴幫浦，都普勒血壓儀，血氧機)，獼猴的躺位，術者，麻醉師的位置皆如圖所配置。

Figure 4.1 The sets up of endoscopic salpingectomy. The endoscopic tower, anesthetic devices (syringe pump, Doppler and oximeter), macaque, surgeons, and anesthetist for endoscopic salpingectomy of Formosan macaques are oriented as in the picture.

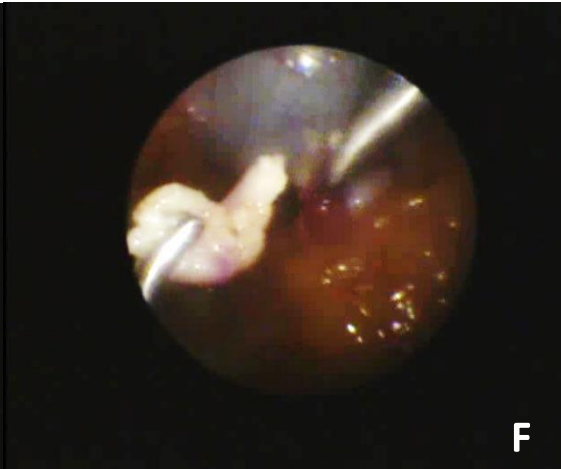
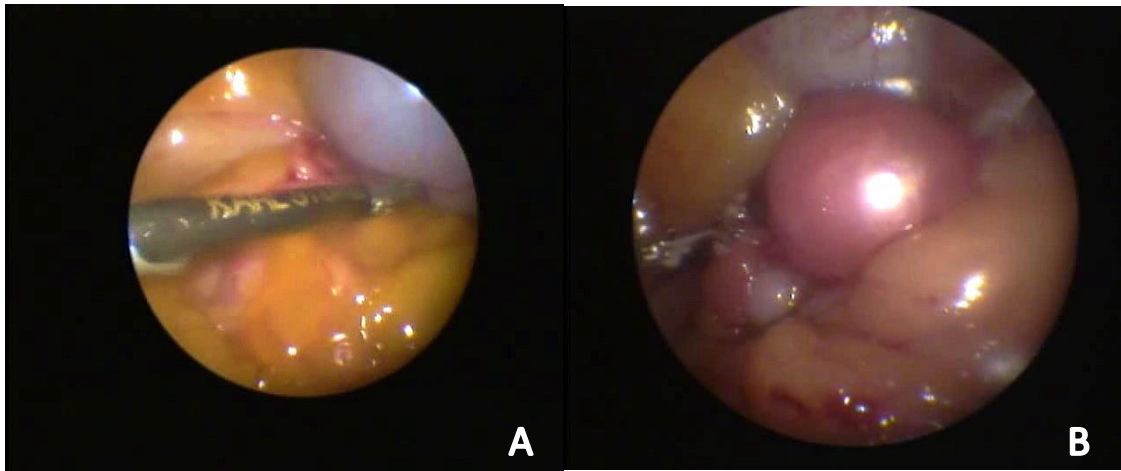


圖 4.2 內視鏡輸卵管結紮過程。A-B.將內視鏡(Hopkins telescope, 64018BSA, Karl Storz, Tuttlingen, Germany)伸入套管中直到可以藉由螢幕清楚觀察腹腔，子宮時常被包覆在腸繫膜及其脂肪之下，需將其移位後方能觀察到子宮及生殖器官。C-D. 以組織鉗提起輸卵管並以雙極電燒鉗電燒輸卵管的兩端直到它變成白色，代表學液供應被阻斷，對側的輸卵管也用相同的方式進行燒灼。E-F. 在燒灼後，兩側的輸卵管分別以內視鏡剪刀剪下一段 1 公分的段落，並從套管自腹腔移除此段落。G-H. 以內視鏡詳細檢查斷端是否分離，並確定止血是否以完成後移除套管、移除內視鏡、完成洩壓，此時需小心腸繫膜勿意外牽扯入皮下空間。

Figure 4.2 The procedures of endoscopic salpingectomy. A-B. A Hopkins telescope was inserted through the 3.5-mm graphite and plastic cannula until the abdominal cavity was visible in the video monitor. C-D. The tube was held with the Kelly forceps, and thermally coagulated at both ends using the bipolar forceps until the tissue turned white, indicating that the blood supply had been occluded. The contralateral tube was coagulated using the same procedure. E-F. After coagulation, a section of each tube  $\geq 1$  cm in length was resected using 3-mm endoscopic scissors with serrated, curved, double-action jaw. The tube was completely severed, and the resected section was removed from the abdominal cavity via the cannula. G-H. The trocars were removed while the surgical sites were observed internally using the telescope to ensure adequate hemostasis had occurred. The telescope was withdrawn, and the pressure was relieved. Care was taken to ensure that the mesentery was not pulled into the subcutaneous space as the trocar was removed through the portal site



圖 4.3 獼猴輸卵管結紮癒合後傷口情形。傷口癒口後僅見微小疤痕，顯示此低侵入性傷口對獼猴之影響極小。

Figure 4.3 Healing of incisions after endoscopic salpingectomy in Formosan macaque. There are only small scars observed which indicate that the minimal invasiveness nature of endoscopic salpingectomy had little effect on the macaque.

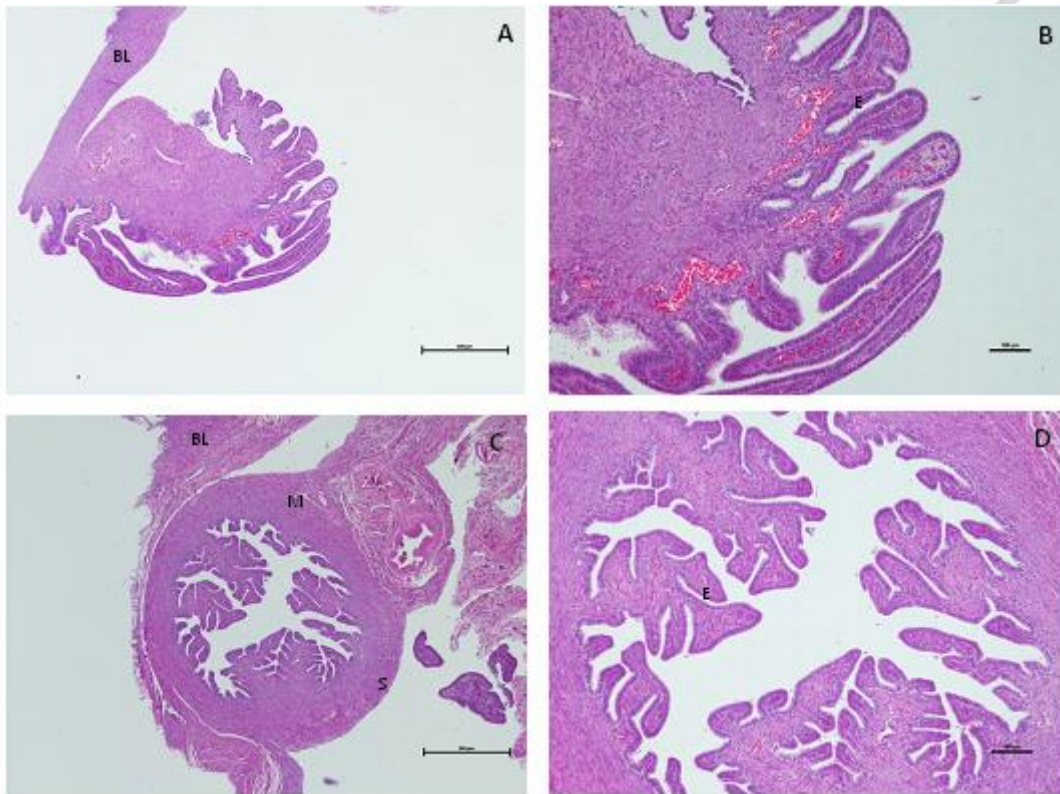
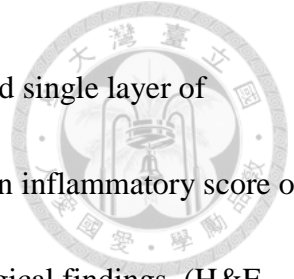


圖4.4 內視鏡輸卵管結紮後三個月輸卵管組織病理切片。為了確定第二次內視鏡檢查發炎評分之準確性，輸卵管的斷面在術中進行生檢。(A,C)組織病理檢查可見正常的輸卵管結構包括肌肉層(M)，漿膜層(S)，並延續到擴韌帶(BL)，且沒有觀察到發炎細胞。(H&E染色，比例尺= 500  $\mu\text{m}$ ； $\times 40$  倍放大)。(B,D)微觀下之黏膜層皺折及單層的上皮細胞，無發炎反應證據。這些斷面皆在內視鏡下評分為1級發炎反應，與組織病理下的檢查相符。(H&E染色，比例尺= 100  $\mu\text{m}$ ； $\times 40$  倍放大)

Figure 4.4 To confirm the accuracy of the inflammatory score during repeated endoscopic examination, the cut ends of the fallopian tubes were biopsied. (A and C) Histopathological examination revealed normal fallopian tube structure in the muscular wall (M) and the vascular supporting tissue of the serosa (S), which is continuous with the broad ligament (BL), and no inflammatory cells were observed in the hematoxylin and eosin (H&E) stained sections (bar = 500



$\mu\text{m}$  at  $\times 40$  magnification). (B and D) Micrographs of the mucosal folds and single layer of epithelial cells with no signs of inflammation. These ends were assigned an inflammatory score of 1 during the visual inspection, which was consistent with the histopathological findings. (H&E stained, bar =  $100 \mu\text{m}$  at  $\times 40$  magnification).





## 第五章 綜合討論

### 第一節 保育醫學之執行

在本研究中，保育醫學之議題為人猴衝突造成的連串問題，生態系健康的問題來自人口擴張，郊區、保護區或公園的區域成為人與猴共同的活動區域，加上不當的餵食或互動關係也促使部份地區獼猴族群數上升，形成惡性循環。動物的健康問題來自人猴衝突下包括陷阱、攻擊事件造成的獼猴受傷。此外，部份台灣獼猴所帶源之疾病為人畜共同傳染病，則帶來人的健康的顧慮。此問題涵蓋保育生物學、公共衛生、人畜共同傳染病、動物學、人類健康等範疇。在民眾教育、餵食管理、問題動物重新安置等措施之效果皆有限的情況下，有賴透過各單位的合作分工進行台灣獼猴生殖控制之評估。

在單位合作方面，合作單位包括公立機構：國立宜蘭大學、國立嘉義大學、國立屏東科技大學、台南市政府、台東市政府、壽山動物園、新北市政府；私立機構包括：私立東海大學、南投苗圃、台南頑皮世界、斗六聖多福中學、南化獼猴爺爺等。單位之角色可粗分為生殖控制執行團隊及收容單位，生殖控制之團隊可再細分為南化之手術節育計畫包括屏東科技大學蘇老師進行族群觀察、結構分析及結紮數量評估和術後追蹤；東海大學林老師負責架設陷阱、捕捉及野放；台灣大學進行手術，目前的合作模式由捕捉組先行出隊，獸醫在獼猴捕捉後 12 小時到現場進行節育，再由觀察組進行標記，手術隔日野放。二水的荷爾蒙結育計畫則同樣由屏東科技大學蘇老師進行族群觀察、結構分析、個體辨認及後續追蹤，台灣大學及嘉義大學進行荷爾蒙注射。節育的需求由市政府、收容單位或地方單位向林務局反映，再轉交台大團隊出隊進行節育手術。

此外，本研究中也於台南市、台東市、高雄市舉辦生殖控制之說明及示範會議，將此技術及思維推廣至各地，同時教育生殖控制在整體人猴衝突之保育醫學事件中的角色及限制。

因此在整體效益上除生殖控制外也有保育醫學之教育推廣意義。

綜觀團隊中包括獼猴生態專家、生物學家、野生動物獸醫師、生命科學專家及地方教育單位等。原本各自屬於棲地工作者，實驗室人員，醫療人員，藉由單位間的溝通，合作及分工，再配合原地的短期及長期的監控及異地的資料分析進行此保育醫學計畫。

## 第二節 節育效果

本研究中台灣獼猴之母猴輸卵管結紮共進行 30 隻，研究個體 19 隻，野外個 11 隻；荷爾蒙注射 51 隻，研究個體 11 隻，野外個體 40 隻

### 內視鏡輸卵管結紮

節育效果以頑皮世界及南化野生獼猴為主要追蹤對象，在台南頑皮世界之獼猴於公母進行輸精管及輸卵管結紮後，繼續同籠飼養，由於結紮時間為四月，獼猴未處於繁殖季，所以結紮前沒有交配之疑慮，四隻雌猴於結紮後至今經過兩個交配季，都沒有出現懷孕及生殖現象，由此可知達到節育效果；另一方面，在南化於 2013 年節育之四隻母猴中，三隻於 2014 年有產仔之記錄，一隻未繼續追蹤，由仔猴出生時間回推母猴交配及懷孕之時間應與結紮時間重疊，所以推測母猴應於結紮前已懷孕，但子宮尚未出現可由內視鏡偵測到之變化，因此 2014 年度提早至九月進行結紮，但逢山區龍眼結果，降低陷阱效率，所以沒有進行捕捉。故至 10 及 11 月份才陸續進行三隻雌猴之節育，但捕捉效率已不如 2013 年。

由上述記錄可知，若內視鏡輸卵管結紮可在非繁殖季進行，由頑皮世界之例子可知則可達到良好的節育效果，而野生獼猴結紮第一年之成功與否仍受季節、山區環境及捕捉效率之影響。另外可知，內視鏡輸卵管結紮於懷孕初期並不影響懷孕之狀態。2013 年結紮之母猴於結紮後的第二年是否生產將持續追蹤，假設節育措施完全停止受試母猴之生殖，由屏科大蘇老師進行之族群變動模擬結果顯示，2015 年猴群內個體數將低於 2014 年的數量，或低於未進行生殖控制的數量。顯見內視鏡輸卵管結紮之族群控制效果。

### 醋酸甲羥孕酮(medroxyprogesterone acetate, MPA)之注射

由圈養之台灣獼猴試驗可知，醋酸甲羥孕酮較適合野外台灣獼猴於生殖控制之應用，因此於2013年12月至2014年1月期間於二水豐柏步道進行了20隻成年母猴之醋酸甲羥孕酮施打，以吹箭或麻醉槍進行注射，直接將3ml 藥劑推入肌肉中(在回收針頭(筒)時，經由針頭帶有獼猴毛髮及針筒內無剩餘藥劑，確認藥劑已完全注射入肌肉中)。

2013年12月至2014年3月間，由屏東科技大學蘇老師團隊進行觀察，從受試個體在猴群中的活動並無可由外觀形體或行為上察覺之異狀，並持續觀察到受試個體之交配行為，顯示MPA 對雌性獼猴沒有造成可依靠外在或行為觀察判定的副作用。總計20隻接受MPA注射的母猴中有19隻母猴生產，僅1隻受試母猴未生殖。顯示以注射MPA進行野生台灣獼猴母猴之生殖控制並未達到預期節育成效。

以獼猴懷孕時間162天(Peng *et al.*, 1973)反推其受孕時間, 在定期觀察之主要族群中的14隻受試母猴中，12隻母猴之受孕時間皆早於MPA注射時間，且推測受孕時間在2013年11月14日至12月29日間，僅有分別在2014年7月初及8月中旬生殖之2隻母猴，反推其受孕時間是落在接受MPA注射(2013年12月9日)之後，且在2014年1月及2月也都觀察到交配行為，推論此二個體是在1月及2月受孕，因此，8月生產的母猴可能是在MPA之藥效過後才又發情，受孕，此與圈養獼猴效期維持三個月之結果相符。

為克服上述之缺點，2014年提早至10月進行20隻成年雌猴之荷爾蒙注射，並將進行進一步追蹤。


#### **左炔諾孕酮(lenovoprogesterone)之口服**

由圈養台灣獼猴之資料可知，左炔諾孕酮之口服效果與口服當下個體之生殖週期有絕對的關係。但在野外的個體，預先確定其所處之生殖週期是相對不實際的，因此此藥物較適用於動物園等圈養個體之使用，而非野生的台灣獼猴。

另外，因為左炔諾孕酮之延遲發情間隔在本研究所使用的劑量及投藥間隔下僅59天，不適合繁殖季維持約半年長的台灣獼猴。

#### **公猴輸精管結紮**

除了母猴的輸卵管結紮外，本研究在捕捉同時若有雄性成猴同籠，則進行輸精管結紮，



研究其間共進行 35 隻公猴的輸精管結紮，並將野生個體野放進行術後追蹤。結果不論是在圈養或是野生環境，公猴在術後均適應良好，未出現傷口感染或任何行為外觀上的異常，然而，本研究並未針對公猴之性荷爾蒙及睪丸、輸精管做術前及術後的比較及採樣，因此無法以更客觀科學的角度在公猴之安全性及適用性，這將是未來除了長期監控之外的進一步研究方向。

### 第三節 未來研究方向及建議

#### 荷爾蒙參考值

本研究中，排卵時間的判斷是由內視鏡觀察得來，以內視鏡觀察的好處是可以精確得到排卵時間，且得以詳細描述卵巢週期間的濾泡變化，然而，在大部份的荷爾蒙研究中，黃體生成素的快速升高是做為排卵時機的指標，且侵入性較內視鏡更低，同時也是許多荷爾蒙生殖控制藥物的監控項目之一，因此，未來在進行荷爾蒙基礎研究或生殖控制的同時，黃體生成素的參考值之建立將非常有價值。

本研究進行的時間是在台灣獼猴的非繁殖季並且只侷限於一個地域，若能透過更長時間的荷爾蒙研究並比較繁殖季與非繁殖季性荷爾蒙的差異，亦或是比較台灣北部與南部地區不同氣候下獼猴發情時間、交配季節及相關的荷爾蒙差異，將提供更多台灣獼猴生殖生理的資訊。

#### 內視鏡輸卵管結紮

本研究初步證明內視鏡輸卵管結紮對於台灣獼猴無短期及長期的副作用影響，但術後是否如人類產生子宮外孕等併發症則需更進一步的追蹤及研究。

2014 年度在野外捕捉方面，獼猴不若以往容易中籠，且多為幼猴中籠，影響整體效益。此可做為往後在其他地區進行結紮計畫之借鏡，提升效益之方法也許必須在第一年便以大型的陷阱一網打盡並進行節育，以避免隔年獼猴對陷阱之戒心提高。同時在結紮時機的選擇上，

仍需配合考量棲地狀況及繁殖季之起始時間，以求在第一年便能達到生殖控制的目的。

### 藥物控制


以控制生殖的藥劑施用於野外獼猴族群的研究到目前為止仍相當有限(Shimizu, 2012)，其適用性與成效仍需要收集實際的試驗資料後，方能進一步評估。由本研究得到的經驗將可以讓未來的實驗設計及方向更趨精進，在本研究中，採樣時間為每隔五日進行採樣，然而五日一次的採血雖可以觀察到荷爾蒙的起伏與週期，卻容易錯過僅維持24小時的高峰值，因此在條件允許的情況下，採血間隔或可縮短至三日一次，同時配合月經的時間及經期長度之記錄，可以更有效推測動情週期及排卵時間，進而了解藥物效果。

在投予醋酸甲羥孕酮的實驗中，投藥後的追蹤共進行五個月，部份個體未能精準掌握MPA投藥後抑制生殖週期的最長時間，以及投藥後生殖週期的回復狀況，未來，延長追蹤時間，並配合檢驗血中藥物濃度，將更有助於了解此藥物用於台灣獼猴之規範及適用性。

同時，因為內視鏡觀察對於台灣獼猴之安全性已在本研究中受到證實，因此，在投藥的同時，進行內視鏡觀察，記錄投藥後卵巢變化及濾泡之消長或健康，將更有助於我們了解藥物於台灣獼猴生殖系統之作用狀況。

而由此次MPA注射進行獼猴生殖控制之數據顯示未能達到生殖控制的成效。但為改善以MPA注射進行台灣獼猴母猴生殖控制之效率，建議應在9月中旬至10月底間完成注射作業，以避免注射到已受孕母猴。而考量藥效過後母猴仍可能再可受孕的時期，建議可在隔年1至2月期間追加一劑，並可增加試驗對照組比較施打二次與僅施打一次之差異，以降低試驗失敗的機率，而可以有效減少嬰猴的產出。

雖然LNG在本研究中沒有呈現讓人滿意的生殖控制效果，但本研究也證實了台灣獼猴對於LNG之生殖生理反應與其他靈長類的研究相仿。而根據白面僧面猴(*Pithecia pithecia*) (Savage *et al.*, 2002)、絨頂檉柳猴(*Saguinus oedipus*)(Wheaton *et al.*, 2010)、恆河猴(*Macaca mulatta*)(Wadsworth *et al.*, 1979)的研究，以包埋或緩慢釋放劑型投予LNG仍可以達到長期生殖抑制的效果，未來也值得進一步的研究分析。



不論是以內視鏡輸卵管結紮或是荷爾蒙節育均需考慮於術後或藥物注射後對於族群互動、交配競爭、公猴及母猴擇偶、體態分析、疾病、壽命及族群分布等在生理、行為方面的長期影響，目前為止雖有少數報告討論到節育後因為能量不需消耗在生育上，所以動物之身體狀況提升，因而壽命較未節育之動物延長；以及在負子鼠節育後的母鼠會吸引體態較差之雄性在棲息地上的重疊的現象(Massei and Cowan, 2014)，但實際對於生殖控制、族群管理甚至動物本身之影響為何仍無具體的報告，這些將是在執行節育計畫的後續研究上非常重要的監控評估工作。

## 第六章 結論



綜合以上討論，長期來說內視鏡輸卵管結紮對於野生的台灣獼猴來說是一個較適合的節育選擇，因它僅有少數的併發症並和人類進行相類似的手術雷同。但野外進行內視鏡輸卵管結紮的效率受捕捉效率的影響；反觀以吹箭注射MPA無需捕捉，所以在短期的執行上較易得到成果，但因藥效較短，需於繁殖季每年甚至每三個月追加劑量，所以長期的效益勢必下降。但若將兩種方法互補，以內視鏡輸卵管結紮永續而穩定的進行生殖控制，搭配注射MPA之方法做為短期、緊急且大量需求或棲地進行捕捉不易時之補救性節育選擇，則可以收到截長補短的加成效果。而以侵入性手術進行野生動物節育，則需考量其永久性的生殖控制對野生動物族群之後續影響，包括永久性節育是否將造成猴群年齡結構或互動性改變，以及族群遺傳結構是否將失去多樣性，都需要較常長期的研究加以探討，方能瞭解其影響程度與重要性。而這依舊仰賴保育醫學之精神，需不同領域的專家共同投入方能達成。

以生殖控制進行野生動物族群管理不乏成功的案例(Druce *et al.*, 2011; Naugle *et al.*, 2002; Massei & Cowan, 2014)，本研究雖然尚未能確切瞭解所使用之試驗方式對整體台灣獼猴生殖控制之成效，但能透過參考圈養獼猴之試驗經驗實際應用於野外操作生殖控制，建立與改善作業流程、模擬族群變化趨勢，並評估不同生殖控制方式對特定區域獼猴族群控制之適用性。未來仍需要長期的後續生殖追蹤監控以估算確切生殖控制效益，所得資料可回饋用於修正族群管理目標及節育作業流程並有助於此物種之保育工作。



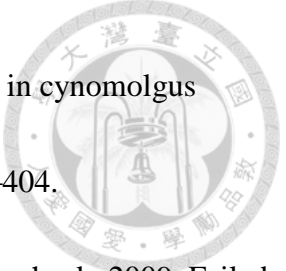
## 參考文獻



1. 王常宇。2009。柴山地區台灣獼猴活動範圍與移動距離之研究。碩士論文。國立屏東科技大學。
2. 沈祥仁。2008。人類食物對柴山台灣獼猴(*Macaca cyclopis*)取食模式之影響。碩士論文。國立屏東科技大學。
3. 李玲玲、吳海音、張仕緯、徐芝敏、摩悌。2002。臺灣獼猴現況調查。引自：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。
4. 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: 371-376。
5. 李昭華。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。
6. 李昭華、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。
7. 連偉成，盧彥伶，陳婉青，陳宜君。2009。結核病。自：人畜共通傳染病第二版編輯委員會，人畜共通傳染病臨床指引第二版。行政院衛生署疾病管制局。台北市。205-208。
8. 陳豪勇，許清曉，張博揚，黃立民。2009。疱疹B病毒感染症。自：人畜共通傳染病第二版編輯委員會，人畜共通傳染病臨床指引第二版。行政院衛生署疾病管制局。台北市。52-56。



9. 鹿野忠雄。1929。臺灣哺乳類分布及習性。動物學雜誌 41: 332-340。
10. 黃志堅。2003。壽山地區臺灣獼猴之生殖行為。碩士論文。國立中山大學生命科學研究所。
11. 黃卓智。2009。台灣地區非人靈長類動物B型肝炎和瘧疾之盛行率及親緣關係。博士論文。國立屏東科技大學獸醫學系。
12. 張仕緯、張簡琳玫、許善理、劉嘉顯。2013。台南縣台灣獼猴之族群現況與危害農作物情形。台灣生物多樣性研究 15: 165-183。
13. 蔡佳容。2014。以威脅恐懼為訴求之解說內容對遊客餵食野生獼猴的抑制成效。碩士論文。南華大學旅遊管理碩士班。
14. 蘇秀惠。2013。二水、名間地區台灣獼猴生態及作物危害調查。行政院農業委員會林務局保育研究計畫報告。
15. Aidara D, M Badawi, C Tahiri-Zagret, 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 atys lunulatus*). Journal of Reproduction and Fertility 62: 475-481.
16. Aso T, T Tominaga, K Oshima. and K Matsubayashi. 1977. Seasonal changes of plasma estradiol and progesterone in the Japanese monkey (*Macaca fuscata fuscata*). *Endocrinology* 100: 745-750.

- 
17. Attia MA, 1998. Cyclic changes in genital organs and vaginal cytology in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 105: 399–404.
18. Awonuga AO, AN Imudia, VI Shavell, J Berman, MP Diamond, EE Puscheck. 2009. Failed femal sterilization: a review of pathogenesis and subsequent contraceptive options. *The Journal of Reproductive Medicine* 54: 541-547.
19. Bolton RL, NJ Masters, P Milham, RG Lea. 2012. Environment and reproductive dysfunction in captive female great apes (*Hominidae*). *Veterinary Record* 170: 676.
20. Bosu WTK, EDB Johansson and C Gemzell. 1973. Ovarian steroid patterns in peripheral plasma during the menstrual cycle in the rhesus monkey. *Folia. Primatologica* 19: 218-234.
21. Brache V, F Alvarez-Sanchez, A Faundes, A Faundes, AS Tejada, L Cochon. 1990. Ovarian endocrine function through five years of continuous treatment with Norplant subdermal contraceptive implants. *Contraception* 41: 169-177.
22. Buse E, M Zöller, E Van Esch. 2008. The macaque ovary, with special reference to the cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*). *Toxicologic Pathology* 36: 24S–66S.
23. Butterstein GM, Mann DR, Gould K, Castracane VD. 1997. Prolonged inhibition of normal ovarian cycles in the rat and cynomolgus monkeys following a single sc. injection of danazol. *Human Reproduction*. 12: 1409–1415.
24. Cerda-Molina AL, L Herna ´ndez-Lo ´pez , DL Pa ´ez-Ponce, S Rojas-Maya, R



- Mondrago ´n-Ceballos. 2006. Seasonal variations of fecal progesterone and 17b-estradiol in captive female black-handed spider monkeys (*Ateles geoffroyi*). *Theriogenology* 66: 1985–1993.
25. Channing CP, S Fowler, B Engel, 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.
26. Chaovisitsaree S, W Piyamongkol, S Pongsatha, C Kunaviktikul, N Morakote, W Chandarawong. 2004. Immediate complications of laparoscopic tubal sterilization: 11 years of experience. *Journal of the Medical Association of Thailand* 87: 1147–1150.
27. Chen YY, TH Lin. 1990. Fecal progesterone in Taiwan monkey (*Macaca cyclopis*) during the menstrual cycle and pregnancy. *Taipei zoo bulletin* 3: 41-47.
28. Cheryl A, S Boutelle. 2012. Contraception. In: Eric MR, ME Fowler, editors. *Fowler’s zoo and wild animal medicine*. St Louis: Saunders. p 8–12.
29. Colemana K, ND Robertson, CL Bethea. 2011. Long-term ovariectomy alters social and anxious behaviors in semi-free ranging Japanese macaques. *Behavioural Brain Research* 225: 317–327.
30. Dang DC. 1977. Absence of seasonal variation in the length of the menstrual cycle and the fertility of the crab-eating macaque (*Macaca fascicularis*) raised under natural daylight ratio.



- Annales de biologie animale, biochimie, biophysique 17: 1–7.
31. Deem SL, AM Kilbourne, ND Wolfe, RA Cook, WB Karesh. Conservation medicine. *Annals of New York Academic of Science* 916: 370-377, 2000.
32. Deschner T, M Heistermann, K Hodges, C Boesch. 2004. Female sexual swelling size, timing of ovulation, and male behavior in wild West African chimpanzees. *Hormonal Behavior* 46: 204-215.
33. Diczfalusy E: Mode of action of contraceptive drugs. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 100: 136-163, 1968.
34. Druce H C, Mackey RL, Slotow R. 2011. How immunocontraception can contribute to elephant management in small, enclosed reserve: Muryawana population as a case study. *PLOS One* 6: e27952.
35. Dukelow WR. 1975. The morphology of follicular development and ovulation in non-human primates. *Journal of Reproduction and Fertility* 22: 23–51.
36. EngenderHealth. 2002. Female Sterilization. In: EngenderHealth, editor. *Contraceptive sterilization: global issues and trends*. New York: EngenderHealth. p 139–160.
37. Fagerstone KA, LA Miller, KS Bynum, JD Eisemann, CA Yoder. 2006. When, where and for what wildlife species will contraception be a useful management approach. In: *Proceeding of 22nd Vertebrate Pest Conference*. Timm RM, JM O'Brien Eds. University of California, Davis.



p 45-54.

38. Fagundes ML, MC Mendes, MC Patta, R Rodrigues, AT Berezowski, MD de Moura, ME

Yazlle. 2005. Hormonal assessment of women submitted to tubal ligation. *Contraception* 71: 309–314.

39. Ghosh D, J Sengupta. 1992. Patterns of ovulation, conception and preimplantation embryo

development during the breeding season in rhesus monkeys kept under semi-natural conditions.

*Acta Endocrinologica (Copenhagen)*. 127: 168–173.

40. Goodman AL, GD Hodgen. 1983. The ovarian triad of the primate menstrual cycle. *Recent*

*Progression of Hormone Research* 39: 1–73.

41. Gupta AN, RN Chakravarti, S Yajumdar, MK Mapa, GI Dhall. 1986. Pathological changes in

fallopian tubes following three different kinds of occlusive techniques in primates.

*Contraception* 33: 245–255.

42. Harris EK, JC Boyd. 1995. *Statistical bases of reference values in laboratory medicine*. Marcel

Dekker, United State of America.

43. Healy MJR. 1979. Outliers in clinical chemistry quality-control schemes. *Clinical Chemistry*.

40: 675-677.

44. Hernandez-Divers SJ. 2010. *Endoscopy Equipment and Instrumentation for Use in Exotic*

*Animal Medicine*. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 13:171–185.




45. Hernandez-Divers SJ. 2010. Reptile Diagnostic Endoscopy and Endosurgery. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice*. 13: 217–242.
46. Hernandez-Divers SJ, SJ Stahl, GH Wilson, M McBride, SM Hernandez-Divers, T Cooper, N Stedman. 2007. Endoscopic orchidectomy and salpingohysterectomy of pigeons (*Columba livia*): an avian model for minimally invasive endosurgery. *Journal of Avian Medicine and Surgery* 21: 22–37.
47. Herndon JG, JJ Turner, MC Ruiz, DC Collins. 1987. Silent ovulation in Rhesus Monkeys (*M. mulatta*): Dissociation of hormonal and behavioral states. *Physiology and Behavior*. 40: 665-572.
48. Herndon JG, ML Bein, DL Nordmeyer, JJ Turner. 1996. Seasonal testicular function in male rhesus monkeys. *Hormonal. Behavior*. 30: 266–271.
49. Hild-Petito S, RS Veazey, JM Larner, JR Reel, RP 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.
50. Hotchkiss J, LE Atkinson, 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.
51. Hsu MJ, JF Lin, G Agoramoorthy. 2000. Occurrence of twins in wild Formosan macaques,



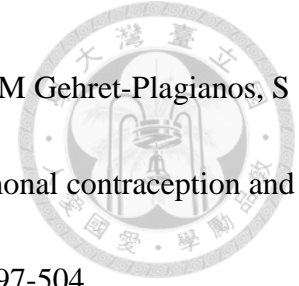
- Macaca cyclopis*, at Mt. Longevity, Taiwan. *Folia Primatologica* (Basel) 71: 154-156.
52. Hsu MJ, Lin JF. 2001. Troop size and structure in free-ranging Formosan Macaques (*Macaca cyclopis*) at Mt. Longevity, Taiwan. *Zoological Studies* 40: 49–60.
53. Jakob-Hoff R, KS. Warren. 2012. Conservation Medicine of Zoo Veterinarians. In: R. Miller E, ME Fowler editors. *Fowler’s Zoo and Wild animal medicine current therapy*. Saunders, St. Louis, p 15-23.
54. Jayakrishnan K, SN Batheti. 2011. Laparoscopic tubal sterilization reversal and fertility outcomes. *Journal of Human Reproductive Science* 4: 125–129.
55. Jewgenow K, M Dehnhard, TB Hildebrandt, F Go`ritz. 2006. Contraception for population control in exotic carnivores. *Theriogenology* 66: 1525–1529.
56. Johnson DF, CH Phoenix. 1978. Sexual behavior and hormone levels during the menstrual cycle of rhesus monkeys. *Hormonal Behavior*. 11: 160-174.
57. Kathleen AF, LA Miller, KS Bynum, DJ Eisemann, C Yoder. 2006. When, Where and for What Wildlife Species Will Contraception Be a Useful Management Approach? Proceeding of 22nd Vertebrate Pest Conference. University of California, Davis. p 45-54.
58. Kamarul H, A Ismail, SZ Zulkifli, BM Md-Zain, A Amir. 2012. Human-Macaque Conflict and Pest Behaviors of Long-Tailed Macaques (*Macaca fascicularis*) in Kuala Selangor Nature Park. *Tropical Natural History* 12: 189-205.



- 
59. Killian G, LA Miller, NK Diehl, J Rhyan, D Thain. 2004. Proceeding of 21st Vertebrate Pest Conference (RM Timm and WP Garenzel, Editor.) University of California, Davis: 263-268.
60. Kim YW, BJ Park, Kim Kim, DY Ro. 2013. Single-port laparoscopic salpingectomy for surgical treatment of tubal pregnancy: CoMPARison with multi-port laparoscopic salpingectomy. *International Journal of Medical Sciences* 10: 1073-1078.
61. Kumar V. 2013. Laparoscopic Sterilization of Female Wild Boars by Tubal Cauterization. *Veterinary Science and Medical Diagnosis*. 2: 4.
62. Kumar V, V Kumar. 2012. Clinical evaluation of laparoscopic sterilization techniques in female rhesus macaques (*macaca mulatta*). *Archives of Veterinary Science* 17: 20-16.
63. Kuroda M. 1940. A monograph of the Japanese mammals. The Sanseido Co. Ltd., Tokyo.
64. Landgren BM, AR Aedo, E Johannisson, SZ Cekan. 1994. Pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of vaginal rings releasing levonorgestrel at a rate of 27  $\mu\text{g}/24$  hours: A pilot study. *Contraception* 49: 139-150.
65. Lousse JC, J Donnez. 2008. Laparoscopic observation of spontaneous human Ovulation. *Fertility and Sterility* 90: 833-834.
66. Lumsden JH, K Mullen. 1978. On establishing reference values. *Canada Journal of CoMPARative. Medicine*. 42: 293-301.
67. Mark Stetter, DA Hendrickson. *Laparoscopic Surgery in the Elephant and Rhinoceros*. 2012.



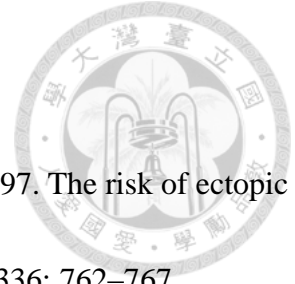
- In: Miller RE and ME Fowler, editors. Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy. Saunders, St. Louis. p 524-530.
68. Martelli P. 2009. Endoscopic tubectomy in Macaques (DVD). Karl Storz – Endoskope.
69. Massei G, D Cowan. 2014. Fertility control to mitigate human-wildlife conflicts: a review. *Wildlife Research* 41: 1-21.
70. McCarthy TC. 2005. Veterinary endoscopy for the small animal practitioner. St Louis (MO): Elsevier. p 624.
71. McCarthy TJ, FZ Beluhan, WA Bardawil, BT Bennet. 1989. Pyometra in a rhesus monkey secondary to prolonged therapy with medroxyprogesterone acetate. *Laboratory Animal Science* 39: 71-72.
72. McCullough DR. 1974. Status of large mammals in Taiwan. Tourism Bureau, Taipei.
73. Meffe GK. 1999. Conservation medicine. *Conservation Biology* 13: 953-954.
74. Tams TR. 1999. Small animal endoscopy. 2nd edition. Mosby, St Louis.
75. Mishell DR. 1996. Pharmacokinetics of depot medroxyprogesterone acetate contraception. *Journal of Reproductive Medicine* 41: 381-390.
76. Moore LL, R Valuck, C McDougall, W Fink. 1995. A coMPARative study of one-year weight gain among users of medroxyprogesterone acetate, levonorgestrel implants, and oral contraceptives. *Contraception* 52: 215-219.



77. Morrison CS, S Skoler-Karpoff, C Kwok, PL Chen, J van de Wijgert, M Gehret-Plagianos, S Patel, K Ahmed, G Ramjee, B Friedland, P, Lahteenmaki. 2012. Hormonal contraception and the risk of HIV acquisition among women in South Africa. *Aids* 26: 497-504.
78. Mora G, ED 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.
79. Muroyama Y, A Yamada. 2010. Conservation: present status of the Japanese macaque population and its habitat. In: Nakagawa N, M. Nakamichi, H Sugiura, editors. *The Japanese Macaques*. Springer, New York, p 143-164.
80. Munro CJ, LS Laughlin, T VonSchalscha, DM Baldwin, BL Lasley. 1996. An enzyme immunoassay for serum and urinary levonorgestrel in human and non-human primates. *Contraception* 54: 43-53.
81. Nagle CA, MM Lahoz, MM Porta, M Torres, T Manzur, Z, Farinati. 2009. Suppression of ovulation by a synthetic progestin in the capuchin monkey. *Journal of Medical Primatology* 38: 340-346
82. Nakama K, A Akune, N Kawate, M Takahashi, T Inaba, H Sameshima, H Tamada. 2012. Delay of ovulation due to diets containing levonorgestrel in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Journal of Veterinary Medical Science* 74: 1453-1460.



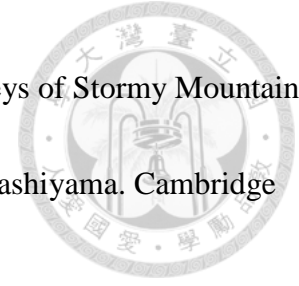
83. Naugle R, A Rutberg, H Underwood, J Turner, K Liu. 2002. Field testing of immunocontraception on white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) on fire Island National Seashore, New York, USA. *Reproductin Supplement* 60: 143-153.
84. Nigi H. 1975. Menstrual cycle and some other related aspects of Japanese monkeys (*Macaca fuscata*). *Primates* 16: 207-216.
85. Nigi H. 1977. Laparoscopic Observations of Ovaries Before and After Ovulation in the Japanese Monkey (*Macaca fuscata*). *Primates* 18: 243–259.
86. Novikova N, E Weisberg, FZ Stanczyk, HB Croxatto, IS Fraster. 2007. Effectiveness of levonorgestrel emergency contraception given before or after ovulation- a pilot study. *Contraception* 75: 112-118.
87. Ong NCS, PJ Maher, PJ Pyman, E Readman, S Gordon. 2004. Endosalpingiosis, an unrecognized condition: report and literature review. *Gynecological Surgery* 1: 11-14.
88. Ortiz ME. 2004. Post-coital administration of levonorgestrel does not interfere with post-fertilization events in the new-world monkey (*Cebus paella*). *Human Reproduction* 19: 1352-1356.
89. Peng MT, YL Lai, CS Yang and HS Chiang. 1973a. Formosan monkey (*Macaca cyclopis*): present situation in Taiwan and its reproductive biology. *Jikken Dobutsu* 22: 447-451.
90. Peng MT, YL Lai, CS Yang. 1973b. Reproductive parameters of the Taiwan Monkey (*Macaca*



- cyclopis*). Primates 14: 201-214.
91. Peterson HB, Z Xia, JM Hughes, LS Wilcox, LR Taylor, J Trussell. 1997. The risk of ectopic pregnancy after tubal sterilization. New England Journal of Medicine 336: 762–767.
92. Plotka ED, US Seal. 1989. Fertility control in deer. Journal of Wildlife Disease 25: 643-646.
93. Porton IJ, Dematteo KE. 2005. Contraception in nonhuman primates. In: Asa CS, IJ Porton, editors. Wildlife contraception: issue, methods and application. Baltimore: Johns Hopkins University Press. p 119–148.
94. Priston NEC, McLennan MR. 2013. Managing Humans, Managing Macaques: Human-Macaques Conflicts in Asia and Africa. In: Radhakrishna S, Huffman MA, Sinha A, editors. The Macaque Connection. New York: Springer. p 225–250.
95. Ruminjo JK, PF Lynam. 1997. A fifteen-year review of female sterilization by minilaparotomy under local anesthesia in Kenya. Contraception 55: 249–260.
96. Saldarini RJ, JM Spieler, JA Coppola. 1972. Plasma estrogens, progestins and spinnbarkeit characteristics during selected portions of the menstrual cycle of the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). Biology of Reproduction 7: 347–355.
97. Savage A, DS Zirofsky, SE Shideler, TE Smith, BL Lasley. 2002. Use of levonorgestrel as an effective means of contraception in the white-faced saki (*Pithecia pithecia*). Zoo Biology 21:



- 49-57.
98. Schindler AE, C CaMPAgnoli, R Druckmann, J Huber, JR Pasqualini, KW Schweppe, Karl W, JHH Thijssen. 2003. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas* 46, Supplement 1: 7-16.
99. Schindler AE, C CaMPAgnoli, R Druckmann, J Huber, JR Pasqualini, KW Schweppe, Karl W, JHH Thijssen. 2008. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas*, 61: 171-180.
100. Shaikh AA, Naqvi RH, Shaikh SA. 1978. Concentrations of oestradiol-17beta and progesterone in the peripheral plasma of the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) in relation to the length of the menstrual cycle and its component phases. *Journal of Endocrinology* 79: 1-7.
101. Shek CT, Cheng WWW. 2010. Population Survey and Contraceptive/Neutering Programme of Macaques in Hong Kong. *Hong Kong Biodiversity* 19: 4-7.
102. Shimizu K, Y Takenoshita, F Mitsunaga, 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: 147-155.
103. Shimizu K. 2008. Reproductive hormones and ovarian cycle of Macaques. *Journal of Mammalian Ova Research* 25: 122-126.
104. Shimizu K. 2012. Birth Control In Female Japanese Macaques At Iwatayama Monkey Park,



Arashiyama. In: Leca JB, MA Huffman, P Vasey, editors, *The Monkeys of Stormy Mountain 60 Years of Primatological Research on the Japanese Macaques of Arashiyama*. Cambridge University Press. New York. p 435-452.

105. Sitruk-Ware R. 2000. Progestins and cardiovascular risk markers. *Steroids* 65: 651-658.

106. Solberg HE. 1999. Establishment and use of reference values. In: Carl AB, RA Edward, editors. *Tietz textbook of clinical chemistry*. 3rd edition. WB Saunders, United States of America. p 336-356.

107. Stabenfeldt GH, AG Hendrickx. 1973. Progesterone studies in the *Macaca fascicularis*. *Endocrinology* 92: 1296-1300.

108. Osofsky SA, WB Karesh, SL Deem. 2000. Conservation medicine a vet perspective. *Conservation Biology* 14: 336-337.

109. Strozier LM, HM McClure, ME Keeling, LB Cummins. 1972. Endometrial adenocarcinoma, endometriosis, and pyometra in a rhesus monkey. *Journal of American Veterinary Medicine Association* 161: 704-706.

110. Sugiyama Y, H Ohsawa. 1982. Population dynamics of Japanese monkeys with special reference to the effect of artificial feeding. *Folia Primatologica* 39: 238-263.

111. Thierry B. 2007. The Macaques- A double-layered social organization. In: MacKinnon KC, M Panger, SK Bearder, editors, *Primates in perspective*. Oxford University, New



York. p 224-239.

112. Trussell J, RA Hatcher, W Cates, FH Stewart, K Kost. 1990. Contraceptive failure in the U.S.: An update. *Studies in Family Planning* 21: 51–54.
113. Valerio MG. 1989. CoMPARative aspects of contraceptive steroids: effects observed in the monkey. *Toxicologic Pathology* 17: 401-410
114. Wadsworth PF, R Heywood, DG Allen, RJ Sortwell, RM Walton. 1979. Treatment of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) with intrauterine devices loaded with levonorgestrel. *Contraception* 20: 177-184.
115. Weinbauer GF, M Niehoff, M Niehaus, S Srivastav, A Fuchs, E Van Esch, JM Cline. 2008. Physiology and Endocrinology of the Ovarian Cycle in Macaques. *Toxicologic Pathology* 36:7S–23S.
116. Westhoff C, A Davis. 2000. Tubal sterilization: focus on the U.S. experience. *Fertility and Sterility* 73: 913-922.
117. Wheaton CJ, A Savage, A Shukla, D Neiffer, W Qu, Y Sun, BL 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.
118. Wildt DE, CJ Levinson, SW Seager. 1977. Laparoscopic exposure and sequential observation of the ovary of the cycling bitch. *Anatomical Record* 189: 443–449.



119. Wildt DE, LL Doyle, SC 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.

120. Yashoda RA. 2012. A study on tubal recanalization. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India* 62: 179–183.

121. Zeleznik AJ. 2001. Follicle selection in primates: Many are called but few are chosen. *Biology of Reproduction* 65: 655–659.

