

DOI: 10.13376/j.cblls/2022159

文章编号: 1004-0374(2022)11-1456-09

# 非人灵长类动物模型在女性不孕症研究中的运用

王家洁, 杨祺颖, 石 宏\*

(昆明理工大学, 灵长类转化医学研究院, 省部共建非人灵长类生物医学国家重点实验室, 昆明 650500)

**摘 要:** 不孕症是当今影响人类生活和健康的三大主要疾病之一, 中国最新的统计数据显示女性不孕症的发病率已高达 18%。虽然已经发现了许多不孕症的潜在致病基因, 但尚不清楚不孕症的分子机制以及致病通路。动物模型是研究人类疾病不可缺少的实验工具。非人灵长类动物 (non-human primates, NHPs) 模型是与人亲缘性最高的动物模型, 其中猕猴和食蟹猴是实验室最常用的非人灵长类动物模型, 与人类约有 95% 以上的基因同源性, 且与人类生殖特征、生殖周期等极其相似。相较于小鼠、大鼠等不能完全代表不孕症临床表型的模式生物来说, NHPs 模型是研究不孕症的最佳选择。该文就 NHPs 模型在女性不孕症中的运用进行了总结, 进一步对 NHPs 模型的应用提出一些思考, 望为生殖健康的相关研究提供参考。

**关键词:** 非人灵长类动物模型; 女性不孕症; 猕猴; 食蟹猴

**中图分类号:** R-332; R711.6 **文献标志码:** A

## The use of non-human primate models in female infertility research

WANG Jia-Jie, YANG Qi-Ying, SHI Hong\*

(Institute of Primate Translational Medicine, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

**Abstract:** Infertility is one of the three major diseases affecting the healthy life of human beings. The latest statistics in China showed that the incidence of female infertility had reached 18%. There were plentiful potential pathogenic genes for infertility, but the molecular mechanism and pathogenic pathway of infertility are still unclear. Animal models are indispensable experimental tools for studying human diseases. Non-human primates (NHPs) model is the animal model with the highest affinity with humans. Among them, rhesus macaques and cynomolgus monkeys are the most commonly used non-human primate models in the laboratory. Compared with humans, non-human primates have up to 95% gene homology, and their reproductive characteristics and reproductive cycles are similar to human's. Compared with the mouse, rat, and other model organisms that cannot fully represent the clinical phenotype of human infertility, non-human primate models are the best choice for the study of infertility. This article summarized the application of non-human primate models in infertility, and further put forward some thoughts on the application of non-human primate models, hoping to provide references for related research on reproductive health.

**Key words:** non-human primates (NHPs) models; female infertility; macaques monkeys; cynomolgus monkeys

进入 20 世纪后, 对实验动物的研究开启了每一次医学研究的新里程<sup>[1]</sup>。由于伦理限制, 很难对人类的生殖系统进行深入的研究, 因此与人类生命相关的生物医学问题包括受孕、生殖健康等必然受到严格审批, 且有关于生殖医学新的诊断和治疗方法往往很难评估。人类繁殖是一个独特的生物学过程, 与大鼠 (*Rattus norvegicus*)、小鼠 (*Mus musculus*)、猪 (*Sus scrofa*)、绵羊 (*Ovis aries*) 的繁殖都不同, 只

有 NHPs 如类人猿 [大猩猩 (*Gorilla*)、黑猩猩 (*Pan troglodytes*)]、狒狒 (*Baboon*)、恒河猴 (*Macaca mulatta*)、食蟹猴 (*Macaca fascicularis*) 等与人类有着相似的生

收稿日期: 2022-03-29; 修回日期: 2022-05-21

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1003200, 2018YFC1003203)

\*通信作者: E-mail: shih@lpbr.cn

殖解剖学和生理学以及相似的繁殖过程<sup>[2-7]</sup>。NHPs 是人类的近亲, 是与人类亲缘性最高的物种且具有相似的基因组。在过去几十年里, 随着其他实验动物在女性生殖疾病研究方面的局限性越来越强, NHPs 开始进入研究人员的视野, 逐渐被运用到卵巢疾病、子宫疾病、子宫移植、妊娠疾病、早产、分娩、环境因素对生殖的影响等的科学问题研究上。虽然使用 NHPs 的研究费用很高以及部分伦理问题存在争议, 但 NHPs 在生殖医学研究中的使用很大程度地提高了我们对于人类生殖内分泌和生殖调节系统基本规律的了解和认知, NHPs 是女性生殖健康及女性不孕症相关研究的宝贵模型。

不孕症这种疑难杂症在国内外都被高度关注, 在全球范围内被认为是一个主要的公共卫生安全问题, 也是最困扰育龄夫妇的难题, 它直接影响了家庭幸福<sup>[8]</sup>。由于其不可预测和不可控的性质, 不孕症是育龄夫妇心理困扰的主要来源<sup>[9]</sup>。据估计, 它影响了全世界 8%~12% 的育龄夫妇, 其中女性不孕症占 70%~80%, 全球每年约有 5 000 万对夫妇患有不孕症<sup>[10]</sup>。2017 年, 我国有一项调查研究发现, 我国的不孕不育症发病率达到 10%~15%<sup>[11-12]</sup>。据国家统计局的数据显示, 截止 2021 年, 不孕不育症发病率已经上升到 18%<sup>[13]</sup>。不孕症依旧是女性沉重的社会负担, 我国不孕症的发生情况已不容乐观且已经成为国家高度重视的社会问题。而 NHPs 模型可以很好地模拟人类不孕症的临床表现并呈现出相似的医治效果, 本文对 NHPs 模型在女性不孕症中的研究现状进行概述。

## 1 非人灵长类动物模型的生殖特性

人类生物学的研究进展依赖于动物研究结果的总结与推测, 从与人类状况相关性的角度上看, 最好的物种选择是人类本身, 但在人类受试者身上进行大部分实验研究是不符合伦理道德的, 所以使用实验动物模型是人类健康与疾病研究的必然选择。NHPs 模型与人类在遗传上有近 95% 的同源性, 是与人类有密切系统发生关系的物种, 在遗传生化、生理和解剖学上具有许多与人类相同的特征、相同的基因, 且这些基因在相似的遗传背景下具有相关的遗传表型。利用 NHPs 模型去研究人类的健康与人类疾病发生发展问题, 将会是从基础研究到临床转化研究的最佳模式<sup>[14-16]</sup>。

科研人员研究女性的生殖调节功能时采用了许多的啮齿类动物(大鼠、小鼠、家兔)、大小哺乳

类(绵羊、猪)动物模型, 这些模型的运用极大地促进对雌性生殖的理解。在雌性生殖领域有明显的比较生物学特征, 导致各物种间雌性生殖存在巨大差异<sup>[17-18]</sup>。因此, 为了深入地研究女性生殖健康, 动物模型的选择就需要聚焦到与人类是近亲的 NHPs 模型上。不断有研究证明, NHPs 与人类有着相似的基本生殖生物学特征——包括激素、神经、胎儿的发育调控、生殖器官等关键方面<sup>[19-20]</sup>。具体的研究内容主要包含下丘脑垂体神经内分泌活动<sup>[21]</sup>, 卵巢的循环功能, 输卵管、子宫、阴道等生殖道, 月经周期, 怀孕期间母体与胎儿直接的发育调控, 以及生殖、衰老、绝经等。在对 NHPs 雌性生殖健康相关问题研究中发现了用其他模型没有发现的问题, 比如在对猕猴排卵卵泡转录组的研究中发现了在使用小鼠模型中不明显的活动, 包括白血病抑制因子在排卵中的关键作用<sup>[22]</sup>。这些研究都证明非人灵长类研究对人类基础生殖生物学框架的构建做出了贡献。

NHPs 是研究女性生殖健康和女性不孕症的最佳选择。其中包括猕猴、食蟹猴和狒狒等一直是生殖生物学研究中常用的重要实验动物。食蟹猴和猕猴的寿命分别为 30 岁和 40 岁, 食蟹猴相较于猕猴体型小巧很多<sup>[23]</sup>。雌性食蟹猴的性成熟在 46 个月左右, 雌性猕猴的性成熟在 35 个月左右。食蟹猴、猕猴都存在与人类相似的月经周期, 以及相似的激素控制子宫内膜增殖分化和脱落来响应连续的雌激素和孕激素变化的反应。卵泡期持续 12~14 d, 黄体期持续 14 d 左右<sup>[24]</sup>。食蟹猴和猕猴的正常妊娠大约 160~170 d。食蟹猴的优势在于它性情温顺, 按月排卵且不受季节影响, 因此食蟹猴被认可用于避孕试验<sup>[19]</sup>。相较于猕猴曲折的子宫颈, 狒狒的子宫颈与人类的更加相似, 如果需要将药剂递送到子宫腔的研究一般会选择狒狒<sup>[25]</sup>。

## 2 女性不孕症非人灵长类动物模型相关研究

### 2.1 女性不孕症诊断标准

不孕是生殖系统的疾病, 世界卫生组织定义其为伴侣在 12 个月或是更久的规律无避孕性行为, 同时没有其他可能会导致不受孕的原因(例如哺乳或是产后无月经), 而无法怀孕。不孕症包括怀孕和分娩的含义, 也就是说, 它包括无法怀孕、无法足月怀孕或无法活产的情况。

### 2.2 女性不孕症主要分类

根据诊断标准, 女性不孕不育可基本分为原发性和继发性: 原发性是指患者在性成熟后在从未妊

娠或流产的情况下,经过正常备孕过程1年以上无法怀孕称为原发性不孕不育症;继发性是指患者曾有过怀孕现象(包括正常妊娠、早产、流产和妊娠位置不正确、葡萄胎等)后,患者再次备孕一年以上出现不孕现象称为继发性不孕不育症。

根据主要病因可以将女性不孕症分为输卵管性不孕、排卵障碍性不孕、子宫因素的不孕症、免疫性不孕,以及不明原因的不孕。

(1) 输卵管性不孕:输卵管性不孕症在不孕妇女中占比是30%~50%,在暴露输卵管黏膜的手术中,患者黏膜非常脆弱,容易受到损伤感染,病变的输卵管上原本的纤毛会消失,输卵管的正常运动会发生障碍,且输卵管会发生阻塞,与周围组织黏连,输卵管不通阻塞是女性不孕的重要原因<sup>[26]</sup>。其中最常见的情況是盆腔感染,是一种因生殖道感染导致的继发性不孕<sup>[27]</sup>。

(2) 排卵障碍性不孕:由许多内分泌性疾病所导致的慢性排卵障碍,在不孕妇女中占比是20%~25%。月经不规律、闭经是这类病症的主要临床表现<sup>[28]</sup>。

(3) 子宫内膜异位症不孕:是一种慢性、炎症性、雌激素依赖性疾病,在不孕妇女中占比25%~50%。患者会出现月经紊乱、生化或免疫功能障碍,因此导致子宫内膜组织无法从腹腔中清除,从而使其黏附到腹膜结构上,进而导致腹膜黏连,输卵管、卵巢以及子宫等生殖道环境出现黏连,也使得受精卵的运行受到严重的影响<sup>[28]</sup>。

(4) 免疫性不孕:指因免疫因素导致的不孕,占女性不孕症的10%~30%,患者的机体对下丘脑、垂体、卵巢轴等任一组织抗原产生免疫,会产生非器官特异性自身抗体和器官特异性自身抗体。如最常见的患者体内产生抗精子抗体进而导致患者不孕的现象<sup>[29]</sup>。

(5) 不明原因的不孕:即一对不孕夫妇所检查的各项指标都正常,而不孕原因又无法解释的时候,即诊断为不明原因的不孕症。主要有以下几方面:子宫因素不孕;不良的宫颈分泌物影响;未破裂卵泡黄素化综合征;腹膜巨噬细胞功能异常;腹腔液中抗氧化功能受损<sup>[30]</sup>。

目前,对于临床上的女性不孕,病因通常都是多病因结合的复杂模式,治疗比较困难。为清楚了解导致不孕的病因、发病进程及发病机制,甚至为临床提供合理的治疗方式及研发药物等,基于灵长类动物模型来研究该疾病是最理想的解决手段。

## 2.3 女性不孕症非人灵长类动物模型研究现状

追溯NHPs在研究女性不孕症中的研究历程:第一次研究是在1981年提出了NHPs的体外受精和胚胎移植<sup>[31]</sup>;1986年利用NHPs研究配子输卵管移植<sup>[32]</sup>;1990年利用狒狒模型尝试研究免疫避孕疫苗<sup>[33]</sup>,同年尝试用猕猴模型作为同源透明带肽免疫反应疫苗的模型<sup>[34]</sup>;1999年使用猕猴模型尝试解释人类和非人灵长类动物卵母细胞发育和成熟的控制机制<sup>[35]</sup>,同年使用狒狒模型作为子宫移植的动物模型开启了子宫移植相关研究的序章<sup>[36]</sup>;2002年NHPs被用于构建辅助生殖的模型<sup>[37-38]</sup>。

2004年,总结了NHPs作为生殖衰老模型的优势及典范作用,并使用猕猴模型作为生殖衰老模型进行雌性月经周期的研究<sup>[39-40]</sup>。2006年,开始使用狒狒模型对子宫内膜异位症进行系统研究<sup>[41]</sup>,同年也有借助NHPs来研究环境毒物对女性生殖功能的影响<sup>[42]</sup>。2007年首次报道了患有自发性子宫腺肌病的黑猩猩病例<sup>[43]</sup>。2010年对于使用NHPs进行子宫以及胚胎的研究引起了广泛关注,涉及多个研究方向,例如NHPs胚胎信号的反应、NHPs发育胚胎的运输、NHPs外卵泡的发育与移植以及NHPs的子宫自体移植等<sup>[3,44-49]</sup>。

2012年至今,日本的Kisu团队一直使用食蟹猴模型进行子宫移植相关方面的研究,如2018年利用免疫结合分子治疗NHPs模型的子宫内膜异位症,2020年在食蟹猴模型中开发子宫移植模型的实验技术<sup>[50-57]</sup>。近两年,他们将NHPs和最新技术结合,利用单细胞转录组首次绘制了食蟹猴卵巢衰老的图谱,并使用单细胞RNA测序分析(RNA sequencing)鉴定了人卵巢皮层中的雌性生殖干细胞<sup>[58-63]</sup>。

纵观NHPs将近40年的研究历程,相比于NHPs在其他疾病中的研究,NHPs在不孕症中的研究成果不足百篇,全面且系统性的研究少之又少。随着技术的发展,应用NHPs模型,我们可以对女性不孕症进行多学科多角度深层次的分析。这将有助于NHPs的资源在应用中最大限度地提高科学收益和转化适用性,也是今后相关研究的主流方向。在之前的研究中,运用NHPs动物模型揭示女性不孕症疾病机理的成功案例越来越多,本文主要利用几个典型的不孕症以及代表性研究来阐述研究模式的可借鉴之处。

## 2.4 非人灵长类动物的女性不孕症模型

### 2.4.1 子宫内膜异位症

子宫内膜异位症(endometriosis, EM)在生育期

妇女中比较高发, 痛经、不孕、子宫异常出血等是它的主要临床表现<sup>[64]</sup>。据估计, EM 影响多达 10% 的育龄妇女, 迄今为止, 没有针对 EM 的治愈性或预防性疗法<sup>[65]</sup>。因为 EM 在临床就诊前就已经确立, 导致它的病因很难追溯<sup>[66]</sup>。NHPs 是子宫内膜异位症研究中最相关的动物模型, 在 NHPs (狒狒、恒河猴和食蟹猴) 中诱发的子宫内膜异位症在宏观和微观的观察下都与女性的自发性子宫内膜异位症相似, 且因为它们在卵巢和子宫结构功能方面的月经周期与女性相当, 这些动物会有月经, 激素控制子宫内膜增殖、分化和脱落, 以响应连续的雌激素和孕激素的暴露和退出<sup>[66]</sup>。因此, NHPs 在子宫内膜异位症研究中的运用就显得至关重要。

第一个 NHPs 子宫内膜异位症的模型由 Te Linde 和 Sccott 于 1950 年构建<sup>[67]</sup>, 它基于自体移植子宫内膜碎片。之后几十年里, D'hooghe 等<sup>[68]</sup> 和 Sillem 等<sup>[69]</sup> 分别于 1994 年和 1996 年用阻塞子宫颈和移植子宫内膜组织的办法进行过构建。宗利丽等<sup>[70]</sup> 于 2003 年通过子宫内膜植入成功构建了猕猴 EM 模型。Nishimoto 等<sup>[71]</sup> 系统地进行了食蟹猴的筛选、诊断、分组和监测。他们首次揭示血清 CA125 水平与 EM 猴子的巧克力囊肿存在相关性, 这一发现与人类的 EM 报道是一致的; 同时, 发现磁共振成像可以检测出较大的囊性病变并提供囊肿体积的信息, 有时还可以检测出由于视野受阻而无法通过腹腔镜监测的病变。并且他们首次在 NHPs 中发现可以将月经期食物消耗的变化设置为与 EM 相关的生物学参数, 为后续的 NHPs 的 EM 研究提供了参考依据<sup>[60]</sup>。

Kennedy 等<sup>[72]</sup> 回顾了 2007—2011 年之间 EM 的诊断记录, 记录中包含 EM 雌性猕猴腹部探索性医学手术。该手术结果表明在某些情况下, 手术(卵巢切除术或卵巢子宫切除术)能治愈患有 EM 的猕猴。该研究为临床卵巢切除术的实施提供了重要支持, 但猕猴与人之间还存在生理差异和免疫功能的不同<sup>[73]</sup>, 而鉴于外科手术总体成功率有限, 在临床上的使用还任重道远。之后的几年里关于用 NHPs 来探索 EM 的研究仿佛戛然而止。

直到 2018 年, Hufnagel 等<sup>[59]</sup> 使用免疫结合因子结合腺病毒载体递送系统尝试治疗狒狒的 EM, 结果也显示免疫结合因子的治疗显著地减少了子宫内膜异位症病变的数量和体积。这项研究提示我们传统动物模型与新兴实验技术的结合是可行的。2019 年, 有研究探索了天然子宫内膜异位症食蟹猴

的疼痛相关行为和大脑的激活反应, 结果表明患有自然发生的 EM 的食蟹猴存在中枢致敏和相关疼痛行为<sup>[74]</sup>。从表型入手也是常用的研究思路, 从报道能看出中枢神经系统功能的改变可能是未来机制研究和开发新疗法的重点。2022 年有一篇最新报道, 从与 EM 相关的免疫和微生物表型入手, 诱导橄榄狒狒 EM, 用以验证 EM 病变的产生导致免疫和微生物动力学的改变, 证明了狒狒 EM 的诱导导致免疫转向炎症谱和改变黏膜微生物谱, 这是因为产生炎症介质而导致炎症的形成。<sup>[75]</sup> 这项研究表明, 在人类 EM 中, 免疫和微生物分析可能会成为新的诊断工具。该研究也表明疾病动物的表型可与交叉学科联合, 从而能丰富模型的完整性, 这样完整研究的模式值得学习。

#### 2.4.2 沙眼衣原体感染导致的盆腔炎

盆腔炎 (pelvic inflammatory disease, PID) 见于女性上生殖道, 沙眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*, CT) 感染与约 26%~62% 的急性输卵管炎病例有关<sup>[76]</sup>, PID 如不能及时治愈会产生诸多不良后果, 包括不孕、异位妊娠、输卵管卵巢脓肿和慢性盆腔疼痛<sup>[77]</sup>。而 CT 是与 PID 相关的最常见病原体之一<sup>[78]</sup>。通过有效地使用 PID 的灵长类动物模型, 可以研究衣原体感染基本的免疫机制、发病机理和干预策略<sup>[58]</sup>。豚尾猴是首选的生殖器衣原体感染的灵长类动物模型, 其阴道菌群非常类似于女性且体型大小适中, 且自然易感沙眼衣原体<sup>[79-80]</sup>。

2018 年, Eastman 等<sup>[58]</sup> 使用狒狒模型评估了左炔诺孕酮释放子宫内系统 (LNG-IUS) 对 CT 感染的 PID 的发展的影响。他们在有 LNG-IUS 和无 LNG-IUS 的狒狒的宫颈中接种 CT, 结果发现使用 LNG-IUS 影响了对感染的局部免疫反应, 会导致 CT 的清除延迟, 并可能改变生殖道免疫环境, 为妇女临床 LNG-IUS 的使用提供依据。

阻断人类衣原体感染最可行的手段当属疫苗防治, 世界卫生组织 (WHO) 和美国国立卫生研究院 (NIH) 已将 CT 鉴定为需要疫苗的性传播感染, 一种候选疫苗已进入 I 期临床试验<sup>[81]</sup>。猕猴也已被用于模拟 CT 感染和比较带有和不带有毒力质粒的分离株。反复感染后产生免疫力说明该模型对评估疫苗接种率有用<sup>[82]</sup>, NHPs 在 CT 疫苗开发中发挥极大的作用。在给人类施用疫苗之前, 还可以用 NHPs 测试这些免疫优势抗原预防衣原体感染的能力<sup>[83]</sup>。

#### 2.4.3 多囊卵巢综合征

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS)

是育龄期妇女常见的内分泌及代谢紊乱疾病，与焦虑、抑郁等心理问题有极大的关系<sup>[63]</sup>，因为 PCOS 能导致激素水平改变、代谢异常、下丘脑功能障碍等，现在普遍认为 PCOS 缺陷已经超出了卵巢疾病的范围。它在女性中的发病率高达 15%<sup>[48]</sup>，其病因尚不清楚。据研究发现，超过 70% 的 PCOS 发病机制具有遗传原因<sup>[41]</sup>，虽然全基因组关联研究确定了与 PCOS 相关的 20 多个基因相关区域的突变或多态性<sup>[84]</sup>，但是能被记录功能的相关基因只有一两个。由于 PCOS 似乎具有复杂的多基因遗传，因此全基因组关联研究可能需要更大的人群规模。

由于缺乏动物模型中自然发生的 PCOS，导致研究受限严重。在过去的几年里，许多动物模型被开发出来，有效地显示了 PCOS 的一些特征。由于 PCOS 是一种多因素疾病，一个能够描述 PCOS 所有症状条件的模型将是最理想的。但现有的所有模型大多无法在人类 PCOS 的症状特征与自身之间建立直接关系。人类 PCOS 的模拟、模型的成本、选择性和可重复性、诱导的方便性和诱导时间等问题是开发合适的 PCOS 动物模型的重要因素。NHPs 中猕猴具有独特价值，用于 PCOS 的猕猴模型能够提供相关发育年表。PCOS 猕猴模型的病理生理学研究能帮助理解人类 PCOS 的机制和起源<sup>[3]</sup>。天然存在 PCOS 的猕猴有望被用于基因组研究，将基因变异与特定的 PCOS 相关功能障碍联系起来，因此具有潜在的治疗性干预措施。

#### 2.4.4 子宫因素不孕症

子宫因素不孕症是由于子宫缺失或无功能而导致无法怀孕和维持子宫内妊娠，最常见的原因是子宫中存在平滑肌瘤，如果需要进行子宫切除手术，则会导致不孕。任何导致子宫切除手术的情况都会导致子宫因素不孕症。除此之外，子宫畸形以及宫腔黏连的情况也会导致子宫因素不孕症，这些患者可能会感到生活质量的下降和女性身份的丧失。她们成为母亲的唯一选择是收养。

2012 年，Braundmeier 等<sup>[85]</sup>对狒狒和绵羊进行了详细的研究，研究改进了血管吻合术的手术操作后，一组雌性狒狒的自体子宫移植后 60% 的狒狒恢复了月经，但是交配期间没有怀孕，可能是由于输卵管堵塞造成的<sup>[86]</sup>。2012 年，日本 Kisu 实验室开始使用食蟹猴模型研究子宫移植，直到今天研究还在继续，他们对食蟹猴基础实验的成果有：探究了子宫缺血或再灌注损伤不会引起形态学或生物学变化、在食蟹猴中实现了自体子宫移植后的首次

妊娠和分娩、在食蟹猴中实现同种异体子宫移植后的首次妊娠和分娩、建立了食蟹猴子宫排斥诊断标准、开发了食蟹猴子宫移植模型的技术<sup>[50, 52, 54-57, 87-89]</sup>。Kisu 实验室的研究工作体现了研究的连续性，他们构建了一个庞大深远的研究体系，是不孕症这个领域里仅有的长时间系统研究。

### 3 机遇与挑战

截止目前，已经对 NHPs 物种的基因组进行了全基因组测序 (whole genome sequencing, WGS)。其他猕猴物种以及狒狒、非洲绿猴和狨猴的 WGS 研究正在进行中<sup>[90-91]</sup>。这些数据为理解 NHPs 的生理特征及其潜在的遗传基因提供了重要的基础。全基因组关联分析 (GWAS) 的结果将使我们能够检测基因编码的差异和相似性，从而也提高了我们检测基因型和疾病之间真正的因果关系及其对不孕症研究的影响能力。Peng 等<sup>[92]</sup>收集了 NHPs 参考转录组资源 (NHPRTR, <http://nhprtr.org/>)，NHPRTR 包括来自造血或免疫系统组织、大脑亚区域和生殖组织 (卵巢和睾丸) 的组织特异性 RNA-seq 数据，为 NHPs 的研究提供更加全面的转录组参考。Wang 等<sup>[61]</sup>利用单细胞转录组获得了第一个全面的年轻和老年 NHP 卵巢的单细胞转录组图谱，拓宽了我们对灵长类动物卵巢中细胞特性和细胞类型特异性基因特征的理解。

拓宽 NHPs 的研究路径，我们可以利用生物信息学对非人类灵长类动物的遗传信息、复杂网络、生物学功能进行预测和分析。此外，通过基因数据库的分析，可以方便筛选和研究必需基因对 NHPs 生殖发育的调控。利用单细胞转录组等技术对 NHPs 进行分析有助于深入了解相关的基因调节网络。可以在生理或病理情况下连续追踪不孕症相关基因表达的动力学变化。

目前存在 NHPs 的专项研究结束后 NHPs 作为研究对象无后续研究使用情况，或是因为研究条件限制导致研究的终止等的情况，可以尝试建立资源共享的一些机构或联盟，可以规避上述不必要的资源浪费，以及能够进行创新合作。在临床转化方面，可以让相关的外科医生参与 NHPs 的手术，能最大程度模拟临床情况。

### 4 小结

自 2004 年以来，女性生殖健康的研究取得了重大的进展，但是女性生殖健康的相关基础和应用

研究的需求仍居高不下。目前, 全球人口已达到了80亿, 基数虽然庞大, 但是许多国家已经进入了人口负增长的阶段。国务院第七次人口普查的数据反映出了我国育龄妇女规模下降, 这其中存在女性不孕症导致的生育问题。生殖健康是非常重要的部分, 攻克生殖健康的疑难杂症是提高生殖健康水平的必经之路。

除了不孕症导致的生育问题, 越来越多的证据表明, 环境因素、社会生活变化等会对生育产生不利影响。为了提高生殖干预的功效, 动物模型是必要的, 利用NHPs创建的人类疾病模型, 能更加完整地模拟人类的疾病, 也能更加完整地模拟疾病的发生发展过程。文中提供了NHPs作为女性不孕症研究的动物模型的示例, 这些研究增加了我们对不孕症领域女性生殖健康障碍原因和治疗的理 解, 上面的讨论证明NHPs研究对人类基础生殖生物学框架的构建做出了贡献, 证明NHPs是研究女性生殖健康和疾病的最佳选择。虽然将NHPs纳入生物医学研究存在高成本和专业资源的挑战, 但它们的纳入可以在直接改善女性生殖健康、间接追溯各类女性生殖疾病病因等方面推进生育和不育研究。当然对于NHPs实验操作的伦理安全同样重要。

关于人类生命健康的科学问题一直是科学研究的核心和指向标, 运用NHPs模型, 去探索研究生命的发生、发展、发育、衰老、意识与行为等科学问题是 有望靠近人类生命健康核心问题, 运用NHPs模型去研究复杂疾病的致病机制, 揭开众多疾病的真实面貌, 不仅能推进生命科学技术在疾病治疗领域的发展进程, 还能为人类健康提供有力保障, 最终促进国家的生命医学研究以及临床治疗的发展, 为国家人口健康宏观决策提供科学依据。

正如上面所讨论的, 对于不孕症的预防方法及治疗方法都有待深入研究。研究工作一直需要往前推进, 很庆幸坚持不懈的研究给人类带来了辅助生殖的技术, 经过无数科学家的努力现在辅助生殖技术已经相当完备。2022年2月21日, 北京市多部门发布通知, 在全国率先将16项辅助生殖技术服务纳入医保, 新政策将于3月26日起执行。这对于广大的不孕不育患者是很大福音, 也是对众多科研工作者们很大的肯定。

#### [参 考 文 献]

- [1] 李明华, 何昭阳, 郑永唐. 人类AIDS的研究替身——非人灵长类动物模型. 自然杂志, 2005, 27: 5
- [2] D'hooghe TM, Mwenda JM, Hill JA. The baboon as a nonhuman primate model for the study of human reproduction. *Gynecol Obstet Invest*, 2004, 57: 1-60
- [3] Abbott DH, Rogers J, Dumesic DA, et al. Naturally occurring and experimentally induced rhesus macaque models for polycystic ovary syndrome: translational gateways to clinical application. *Med Sci (Basel)*, 2019, 7: 7-12
- [4] Cardoso-Moreira M, Sarropoulos I, Velten B, et al. Developmental gene expression differences between humans and mammalian models. *Cell Rep*, 2020, 33: 108308
- [5] Estes JD, Wong SW, Brenchley JM. Nonhuman primate models of human viral infections. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18: 390-404
- [6] Huber HF, Jenkins SL, Li C, et al. Strength of nonhuman primate studies of developmental programming: review of sample sizes, challenges, and steps for future work. *J Dev Orig Health Dis*, 2020, 11: 297-306
- [7] Saravanan C, Flandre T, Hodo CL, et al. Research relevant conditions and pathology in nonhuman primates. *IJAR J*, 2020, 61: 139-66
- [8] Van Der Poel SZ. Historical walk: the HRP special programme and infertility. *Gynecol Obstet Invest*, 2012, 74: 218-27
- [9] Kiesswetter M, Marsoner H, Luehwink A, et al. Impairments in life satisfaction in infertility: associations with perceived stress, affectivity, partnership quality, social support and the desire to have a child. *Behav Med*, 2020, 46: 130-41
- [10] Elhussein OG, Ahmed MA, Suliman SO, et al. Epidemiology of infertility and characteristics of infertile couples requesting assisted reproduction in a low-resource setting in Africa, Sudan. *Fertil Res Pract*, 2019, 5: 7
- [11] 杨冷, 钱菁璐. 用爱与责任, 为难孕难育家庭敲开好“孕”之门[N]. 京江晚报, 2021.08.31
- [12] 刘勇星, 张洁. 基于1980-2017年中国不孕症患病率研究的生育惯例探讨. *医学与社会*, 2022, 35: 7
- [13] 林涛. 我国育龄夫妇不孕不育率达12%至18%[EB/OL]. <http://news.cctv.com/2021/09/15/ARTIIDbSJoYzNDSmM7d-XFni210915.shtml>
- [14] 季维智, 邹如金, 商恩缘. 非人灵长类在生物医学研究中的应用及其保护. *动物学研究*, 1996, 17: 509-19
- [15] 魏景宽, 王正波. 非人灵长类帕金森病模型研究进展. *生命科学*, 2020, 32: 7
- [16] 李鹏承, 万海峰, 李伟. 非人灵长类胚胎工程研究进展. *生命科学*, 2020, 32: 3
- [17] Chaffin CL, Vandervoort CA. Follicle growth, ovulation, and luteal formation in primates and rodents: a comparative perspective. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2013, 238: 539-48
- [18] Jiang Z, Dong H, Zheng X, et al. mRNA levels of imprinted genes in bovine *in vivo* oocytes, embryos and cross species comparisons with humans, mice and pigs. *Sci Rep*, 2015, 5: 17898
- [19] Peluffo MC, Stanley J, Braeuer N, et al. A prostaglandin E2 receptor antagonist prevents pregnancies during a

- preclinical contraceptive trial with female macaques. *Hum Reprod*, 2014, 29: 1400-12
- [20] Warren WC, Harris RA, Haukness M, et al. Sequence diversity analyses of an improved rhesus macaque genome enhance its biomedical utility. *Science*, 2020, 370: 6523
- [21] Plant TM. A comparison of the neuroendocrine mechanisms underlying the initiation of the preovulatory LH surge in the human, Old World monkey and rodent. *Front Neuroendocrinol*, 2012, 33: 160-8
- [22] Murphy MJ, Halow NG, Royer PA, et al. Leukemia inhibitory factor is necessary for ovulation in female rhesus macaques. *Endocrinology*, 2016, 157: 4378-87
- [23] Weinbauer GF, Niehoff M, Niehaus M, et al. Physiology and endocrinology of the ovarian cycle in macaques. *Toxicol Pathol*, 2008, 36: 7-23
- [24] Yun JW, Kim YY, Ahn JH, et al. Use of nonhuman primates for the development of bioengineered female reproductive organs. *Tissue Eng Regen Med*, 2016, 13: 323-34
- [25] Jensen JT, Hanna C, Yao S, et al. Transcervical administration of polidocanol foam prevents pregnancy in female baboons. *Contraception*, 2016, 94: 527-33
- [26] Liu J, Larsen U, Wyshak G. Prevalence of primary infertility in China: in-depth analysis of infertility differentials in three minority province/autonomous regions. *J Biosoc Sci*, 2005, 37: 55-74
- [27] Vander BM, Wyns C. Fertility and infertility: definition and epidemiology. *Clin Biochem*, 2018, 62: 2-10
- [28] Ahn SH, Monsanto SP, Miller C, et al. Pathophysiology and immune dysfunction in endometriosis. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 795976
- [29] 王喜梅. 免疫性不孕症的诊断与治疗. *现代中西医结合杂志*, 2007, 16: 2252-3
- [30] 刘学勤. 中国中西医专科专病临床大系 肝胆病诊疗全书[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001
- [31] Kreitmann O. *In vitro* fertilization and embryo transfers in non human primates (author's transl). *Pathol Biol (Paris)*, 1981, 29: 503-11
- [32] Asch RH, Balmaceda JP, Wong PC, et al. Gamete intrafallopian transfer (GIFT): use of minilaparotomy and an individualized regimen of induction of follicular development. *Acta Eur Fert*, 1986, 17: 187-93
- [33] Gupta SK, Koothan PT. Relevance of immuno-contraceptive vaccines for population control. I. Hormonal immunocontraception. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 1990, 38: 47-60
- [34] Mahi-Brown CA. Primate response to immunization with a homologous zona pellucida peptide. *J Reprod Fert* Suppl, 1996, 50: 165-74
- [35] Fazleabas AT, Kim JJ, Srinivasan S, et al. Implantation in the baboon: endometrial responses. *Semin Reprod Endocrinol*, 1999, 17: 257-65
- [36] Schramm RD, Bavister BD. A macaque model for studying mechanisms controlling oocyte development and maturation in human and non-human primates. *Hum Reprod*, 1999, 14: 2544-55
- [37] Witkin SS, Linhares IM. *Chlamydia trachomatis* in subfertile women undergoing uterine instrumentation: an alternative to direct microbial testing or prophylactic antibiotic treatment. *Hum Reprod*, 2002, 17: 1938-41
- [38] Hewitson L, Schatten G. The use of primates as models for assisted reproduction. *Reprod Biomed Online*, 2002, 5: 50-5
- [39] Brenner CA, Nichols SM, Jacoby ES, et al. Non-human primates as a model for reproductive aging and human infertility. *Gynecol Obstet Invest*, 2004, 57: 21-3
- [40] Kaplan JR, Manuck SB. Ovarian dysfunction, stress, and disease: a primate continuum. *ILAR J*, 2004, 45: 89-115
- [41] Vink JM, Sadrzadeh S, Lambalk CB, et al. Heritability of polycystic ovary syndrome in a Dutch twin-family study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91: 2100-4
- [42] Hastings JM, Fazleabas AT. A baboon model for endometriosis: implications for fertility. *Reprod Biol Endocrinol*, 2006, 4: S7
- [43] Barrier BF, Allison J, Hubbard GB, et al. Spontaneous adenomyosis in the chimpanzee (*Pan troglodytes*): a first report and review of the primate literature: case report. *Hum Reprod*, 2007, 22: 1714-7
- [44] Smits J, Dolmans MM, Donnez J, et al. Current achievements and future research directions in ovarian tissue culture, *in vitro* follicle development and transplantation: implications for fertility preservation. *Hum Reprod Update*, 2010, 16: 395-414
- [45] Banerjee P, Fazleabas AT. Endometrial responses to embryonic signals in the primate. *Int J Dev Biol*, 2010, 54: 295-302
- [46] Sobek A, Jr, Tkadlec E, Hladíková B, et al. Is there a declining trend in ovarian function among infertility clinic patients. *Hum Reprod*, 2010, 25: 127-32
- [47] Nichols S, Harvey A, Gierbolini L, et al. Long-distance transportation of primate embryos developing in culture: a preliminary study. *Reprod Biomed Online*, 2010, 20: 365-70
- [48] March WA, Moore VM, Willson KJ, et al. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod*, 2010, 25: 544-51
- [49] Enskog A, Johannesson L, Chai DC, et al. Uterus transplantation in the baboon: methodology and long-term function after auto-transplantation. *Hum Reprod*, 2010, 25: 1980-7
- [50] Kisu I, Mihara M, Banno K, et al. A new surgical technique of uterine auto-transplantation in cynomolgus monkey: preliminary report about two cases. *Arch Gynecol Obstet*, 2012, 285: 129-37
- [51] Kisu I, Banno K, Mihara M, et al. Uterus transplantation in nonhuman primates. *Fertil Steril*, 2013, 100: e3
- [52] Kisu I, Banno K, Mihara M, et al. Current status of uterus transplantation in primates and issues for clinical application. *Fertil Steril*, 2013, 100: 280-94
- [53] Kisu I, Mihara M, Banno K, et al. Uterus allotransplantation in cynomolgus macaque: a preliminary experience with non-human primate models. *J Obstet Gynaecol Res*, 2014, 40: 907-18
- [54] Kisu I, Kato Y, Yamada Y, et al. Organ perfusion for uterus

- transplantation in non-human primates with assumed procurement of a uterus from a brain-dead donor. *Transplant Proc*, 2016, 48: 1266-9
- [55] Kisu I, Banno K, Matoba Y, et al. Basic research on uterus transplantation in nonhuman primates in Japan. *J Obstet Gynaecol Res*, 2018, 44: 1871-81
- [56] Kisu I, Emoto K, Masugi Y, et al. Clinical features of irreversible rejection after allogeneic uterus transplantation in cynomolgus macaques. *Sci Rep*, 2020, 10: 13910
- [57] Kisu I, Banno K, Obara H, et al. Experimental techniques for the development of a uterus transplantation model in cynomolgus macaques. *J Obstet Gynaecol Res*, 2020, 46: 2251-60
- [58] Eastman AJ, Bergin IL, Chai D, et al. Impact of the levonorgestrel-releasing intrauterine system on the progression of *Chlamydia trachomatis* infection to pelvic inflammatory disease in a baboon model. *J Infect Dis*, 2018, 217: 656-66
- [59] Hufnagel D, Goetz TG, Hu Z, et al. In vivo immunocytoreduction treatment results in regression of red lesions in a non-human primate (*Papio anubis*) model of endometriosis. *Reprod Biol*, 2018, 18: 109-14
- [60] Laganà AS, Garzon S, Franchi M, et al. Translational animal models for endometriosis research: a long and windy road. *Ann Transl Med*, 2018, 6: 431
- [61] Wang S, Zheng Y, Li J, et al. Single-cell transcriptomic atlas of primate ovarian aging. *Cell*, 2020, 180: 585-600. e19
- [62] Tan Q, Liu H, Xu J, et al. Integrated analysis of tumor-associated macrophage infiltration and prognosis in ovarian cancer. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13: 23210-32
- [63] Light RS, Chilcot J, McBride E. Psychological distress in women living with polycystic ovary syndrome: the role of illness perceptions. *Womens Health Issues*, 2021, 31: 177-84
- [64] Laganà AS, Vitale SG, Trovato MA, et al. Full-thickness excision versus shaving by laparoscopy for intestinal deep infiltrating endometriosis: rationale and potential treatment options. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 3617179
- [65] Grümmer R. Translational animal models to study endometriosis-associated infertility. *Semin Reprod Med*, 2013, 31: 125-32
- [66] Story L, Kennedy S. Animal studies in endometriosis: a review. *ILAR J*, 2004, 45: 132-8
- [67] Te Linde RW, Scott RB. Experimental endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*, 1950, 60: 1147-73
- [68] D'hooghe TM, Bambra CS, Suleman MA, et al. Development of a model of retrograde menstruation in baboons (*Papio anubis*). *Fertil Steril*, 1994, 62: 635-8
- [69] Sillem M, Hahn U, Coddington CC, et al. Ectopic growth of endometrium depends on its structural integrity and proteolytic activity in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) model of endometriosis. *Fertil Steril*, 1996, 66: 468-73
- [70] 宗利丽, 李亚里, 汪龙霞. 子宫内膜异位症猕猴动物模型的建立. *南方医科大学学报*, 2003, 23: 1006-9
- [71] Nishimoto A, Netsu S, Okabayashi S, et al. Spontaneous endometriosis in cynomolgus monkeys as a clinically relevant experimental model. *Hum Reprod*, 2018, 33: 1228-36
- [72] Kennedy LH, Nowland MH, Nemzek JA. Surgical treatment of spontaneous endometriosis in rhesus macaques (*Macaca mulatta*): 11 cases (2007-2011). *J Am Vet Med Assoc*, 2019, 254: 1454-8
- [73] Matarese G, De Placido G, Nikas Y, et al. Pathogenesis of endometriosis: natural immunity dysfunction or autoimmune disease. *Trends Mol Med*, 2003, 9: 223-8
- [74] Yano M, Matsuda A, Natsume T, et al. Pain-related behavior and brain activation in cynomolgus macaques with naturally occurring endometriosis. *Hum Reprod*, 2019, 34: 469-78
- [75] Le N, Cregger M, Fazleabas A, et al. Effects of endometriosis on immunity and mucosal microbial community dynamics in female olive baboons. *Sci Rep*, 2022, 12: 1590
- [76] Howie SE, Horner PJ, Horne AW. *Chlamydia trachomatis* infection during pregnancy: known unknowns. *Discov Med*, 2011, 12: 57-64
- [77] Brunham RC, Gottlieb SL, Paavonen J. Pelvic inflammatory disease. *N Engl J Med*, 2015, 372: 2039-48
- [78] Dietz WH. The response of the US centers for disease control and prevention to the obesity epidemic. *Annu Rev Public Health*, 2015, 36: 575-96
- [79] Patton DL, Sweeney YC, Rabe LK, et al. The vaginal microflora of pig-tailed macaques and the effects of chlorhexidine and benzalkonium on this ecosystem. *Sex Transm Dis*, 1996, 23: 489-93
- [80] Patton DL, Sweeney YC, Paul KJ. A summary of preclinical topical microbicide rectal safety and efficacy evaluations in a pigtailed macaque model. *Sex Transm Dis*, 2009, 36: 350-6
- [81] Qu Y, Frazer LC, O'connell CM, et al. Comparable genital tract infection, pathology, and immunity in rhesus macaques inoculated with wild-type or plasmid-deficient *Chlamydia trachomatis* serovar D. *Infect Immun*, 2015, 83: 4056-67
- [82] Fritze KM, Lijek R, Chackerian B. Applying lessons from human papillomavirus vaccines to the development of vaccines against *Chlamydia trachomatis*. *Expert Rev Vaccines*, 2018, 17: 959-66
- [83] Randall A, Teng A, Liang X, et al. A primary *Chlamydia trachomatis* genital infection of rhesus macaques identifies new immunodominant B-cell antigens. *PLoS One*, 2021, 16: e0250317
- [84] Puttabyatappa M, Cardoso RC, Padmanabhan V. Effect of maternal PCOS and PCOS-like phenotype on the offspring's health. *Mol Cell Endocrinol*, 2016, 435: 29-39
- [85] Braundmeier A, Jackson K, Hastings J, et al. Induction of endometriosis alters the peripheral and endometrial regulatory T cell population in the non-human primate. *Hum Reprod*, 2012, 27: 1712-22
- [86] Johannesson L, Enskog A, Dahm-Kähler P, et al. Uterus transplantation in a non-human primate: long-term follow-up after autologous transplantation. *Hum Reprod*, 2012, 27:



- 1640-8
- [87] Kisu I, Banno K, Yanokura M, et al. Indocyanine green fluorescence imaging in the pregnant cynomolgus macaque: childbearing is supported by a unilateral uterine artery and vein alone. *Arch Gynecol Obstet*, 2013, 288: 1309-15
- [88] Kisu I, Banno K, Matoba Y, et al. Keio uterus transplantation research: from basic research toward future clinical application. *Keio J Med*, 2022, 71: 33-43
- [89] Kisu I, Ishigaki H, Emoto K, et al. Long-term outcome and rejection after allogeneic uterus transplantation in cynomolgus macaques. *J Clin Med*, 2019, 8: 1572
- [90] Yan G, Zhang G, Fang X, et al. Genome sequencing and comparison of two nonhuman primate animal models, the cynomolgus and Chinese rhesus macaques. *Nat Biotechnol*, 2011, 29: 1019-23
- [91] Rogers J, Gibbs RA. Comparative primate genomics: emerging patterns of genome content and dynamics. *Nat Rev Genet*, 2014, 15: 347-59
- [92] Peng X, Thierry-Mieg J, Thierry-Mieg D, et al. Tissue-specific transcriptome sequencing analysis expands the non-human primate reference transcriptome resource (NHPRTR). *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: D737-42