

분변내 스테로이드 호르몬의 측정을 통한 멸종 위기 침팬지의 번식형태와 임상적용

정소영¹ · 김미영¹ · 정유정¹ · 장유니¹ · 임양묵¹ · 윤용달^{2,*}

¹서울대공원 동물연구실, ²한양대학교 자연과학대학

The Reproductive Patterns and Clinical Application of Endangered Common Chimpanzees by Monitoring the Steroid Hormone Measurements in Fecal Samples

So-Young Jung¹, Mi-Young Kim¹, Yu-Jeong Jeong¹, Yu-ni Jang¹,
Yang-Mook Lim¹ and Yong-Dal Yoon^{2,*}

¹Dept. of Wild Animal Research, Seoul Zoo, Gwacheon 427-080, Korea

²Dept. of Biology, College of Natural Sciences, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

ABSTRACT : To monitor the reproductive patterns of endangered common chimpanzee including annual reproductive cycle, amenorrhea, breeding season, and pregnancy diagnosis, Time-Resolved Fluorescence Immuno Assay (TR-FIA) was used to trace MRH (estradiol, progesterone, testosterone) and human chorionic gonadotropin (HCG). In result of this research, age was not the important factor in determining the reproduction capability in common chimpanzee; it was rather greatly influenced by the combination of various factors such as individual's fertilizing ability, presence of obstetrical diseases, the pattern of mating behavior, and the mental communication under the introduction of a mating partner. This research will play an important role in operating conservation project for common chimpanzees and can be extended also for shedding new light on understanding human menopause and obstetrical diseases.

Key words : Pan troglodytes, Fecal hormones, Fluoroimmunoassay, Estradiol, Progesterone

요 약 : 멸종 위기에 처한 침팬지에서 연중번식주기와 무월경, 번식주기, 임신진단을 포함한 번식형태를 관찰하기 위하여 형광항체 분석법을 사용하여 에스트라디올, 프로그스테론, 테스토스테론 호르몬 대사산물과 인간융모성 성선자극호르몬을 측정하였다. 본 연구결과, 침팬지의 번식능력은 연령이 번식에 중요한 영향을 주는 인자가 아니며, 개체별 번식능력의 차이, 산과질환의 유무, 배우자와 합사한 조건에서 나타나는 성적행동의 차이 같은 여러 가지 요인이 복합적으로 작용한다는 것을 알 수가 있었다. 본 연구는 침팬지의 종보전과 인간과 연관된 폐경과 산과질환을 연구하는데도 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

서 론

침팬지는 영장목 성성이과에 속하는 동물로 서식지 파괴와 밀렵을 통한 개체수 감소로 인하여 국제협약에 의거하여 CITES 부속서 I(멸종위기 1급)로 지정되어 보호받고 있다

(CITES, 2009; IUCN, 2009). 이 종은 국제협약에 따라 유인원류의 반출입이 금지되고 있어, 유전적 다양성 확보를 위하여 자국 내 보유하고 있는 침팬지의 번식이 중요한 과제로 떠오르고 있다.

서울동물원 번식생리연구팀은 멸종 위기에 처한 로랜드고릴라, 오랑우탄과 함께 침팬지의 유전적 다양성 확보와 개체증식 연구를 위하여 2006년부터 유인원류 종보전연구를 시작하였다. 연구의 일환으로 분변내 스테로이드호르몬대사산물을 사용한 생식주기연구를 진행하였다(Schwarzenberger et

* 교신저자: 서울특별시 성동구 행당동 17 한양대학교 자연과학대학.
(우) 133-791, (전) 02-500-7172, (팩) 02-500-7998, E-mail: ydyoon@hanyang.ac.kr

al., 1996). 혈액과 소변은 분변내 호르몬대사산물 비교를 위하여 보조자료로 제시하였다.

본 연구를 통하여 연령과 질병에 따른 번식주기에 대한 영향과 포유기간 중 발생하는 긴무월경, 외형적인 발정주기 및 번식행동에 대한 연관성에 대한 연구를 실시하여 침팬지의 번식에 대한 과학적인 자료와 임상적용을 제시하고자 하였다(Graham et al., 2005).

재료 및 방법

1. 연구대상종

2006년부터 9월부터 2007년까지 8월까지 1년 동안 서울동물원에서 사육되고 있는 암컷 침팬지 3수(A, B, C)에 대한 분변을 수거하여 성호르몬 대사산물연구를 실시하였다. 이를 기초로 하여 2010년에 임신개체 C와 비임신개체 D를 사용하여 임신에 따른 성호르몬 변화 연구를 실시하였다. 한국 침팬지혈통대장과 북미침팬지혈통대장에 의하여 A와 B는 37와 41세로 평균수명에 도달한 노령 암컷 그룹으로, C와 D는 9세와 11세로 젊은 암컷 그룹으로 분류하였다(Ross, 2003; KRCS, 2010).

연구그룹은 기후와 날씨조건에 따라 야외 방사장과 접근할 수 있는 보온조치가 된 실내 방사장에서 사육되었다. 연구기간 중 개체 C를 제외하고 암컷과 수컷들은 낮 시간 동안에는 같이 있고, 밤에는 각자의 내실로 분리되어 사육하였다. 사료로는 국제종정보시스템(ISIS)과 서울동물원의 사료운영 지침에 따라 우유와 요구르트, 영장류 전용사료, 삶은 계란, 바나나, 계절과일과 비타민첨가제가 먹이로 제공되었다.

2. 분변 수거 및 호르몬 분석

분변 샘플은 2006년 9월부터 2007년 8월까지 주 2회, 2010년 2월부터 2010년 3월까지 주 5회 수집하여 48시간 동안 냉동 건조시켰다(Model FDU-2100, EYLEA Co, Japan). 건조된 분변은 분말화하여 플라스틱 병(Model Plastic tube, Phoenix Co. U.S.A)에 넣어 분석 전까지 초저온 냉동고에 -80°C 로 저장하였다(Model 995, Thermo Forma Co. U.S.A).

분변가루 2 g과 Ether 10 ml, PBS 2 ml를 혼합하여 10분 동안 shaking한 후, -80°C 의 초저온 냉동고에서 24시간 동안 두었다. 호르몬 추출액이 포함된 Ether만을 분리하여 질소분주 후 1~2방울이 남은 상태에서 Tris 1 ml로 치환하였

다. 치환된 호르몬 대사산물 원액은 신뢰성 있는 분석을 위하여, 적정 희석배율을 위한 기준농도 실험을 실시하였다(Atsalis, 2004). 프로게스테론 샘플은 5~10배로 희석하였고, 에스트라디올과 테스토스테론은 발정기와 임신기에 따라 1~2배 희석을 사용하여 형광항체분석을 실시하였다.

3. 자료 분석

침팬지의 월경주기는 에스트라디올과 프로게스테론의 분비량에 의하여 계산되었다. 프로게스테론이 최저점에서 상승하는 시점과 프로게스테론 최고농도를 보이는 시점을 기준으로 하여 월경주기를 측정하였다(Atsalis and Margulis, 2006).

모든 분석 자료는 평균±표준편차로 표기하였다. 샘플은 매일 수거된 것이 아니기 때문에 자료는 이들의 평균 수치로 계산되었다. 개체별로 수거된 기간과 간격 모두 다르고, 종에 따라 확보된 개체수가 자료를 일반화하기에는 부족하여 연구 자료는 개체별 통계자료로 제시하였다.

결 과

1. 노령 암컷 그룹에서의 번식주기

연구개체 A는 서울동물원에 반입 2년 후부터 번식을 시작하여 서울동물원에서의 첫 번식연령은 17세를 기록하였다. 그러나 보고된 침팬지의 성성숙연령(10.8세)과 첫 분만연령(12.7세)을 고려할 때(Coe et al., 1979; Deschner et al., 2004), 이전 동물원에서 첫 번식하였을 가능성이 있다. 총 8회에 걸쳐 번식을 하였고, 2007년 폐사하기 전까지 번식기록을 가지고 있다. 연구기간 중 분만한 새끼는 다음날 폐사하여 자연포육에 실패하였다. 새끼폐사 후 에스트라디올의 농도는 0.92 ± 0.48 ng/g을 유지하여 저점을 이루었으나, 75일 후 에스트라디올 농도가 7.70 ng/g으로 상승하면서 월경이 다시 관찰되었다(Fig. 1). 에스트라디올 최고농도 상승 5일 후 프로게스테론 최고농도 상승이 관찰되었으며, 505.54 ng/g을 기록하였다. 2007년 3월에 에스트라디올 상승이 다시 관찰되었다. 그러나 2006년 12월부터 2007년 1월, 2007년 3월 에스트라디올 상승이 관찰된 이후의 20일간의 분변 샘플을 수거하지 못하여 이 개체의 월경주기에 대하여서는 산출하지 못하였다. 2007년 4월 폐사 전까지 월경혈이 관찰되었고 성호르몬의 주기적 분비도 유지되었다.

연구개체 A와 달리 B는 동물원에 반입된 이후 임신 및 분

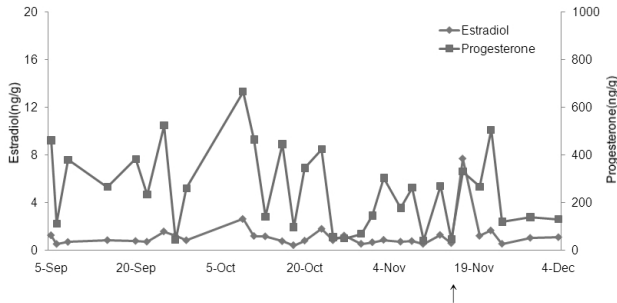


Fig. 1. The cycle of reproductive hormones in non-lactating female.
The female Chimpanzee (A) did not attend lactating by the lost of baby after delivery. The concentration of estradiol was basal line until 75 days after delivery. It was significantly increased after 75 days of delivery (see arrow). The peak concentration of progesterone appeared in 5 day after peak concentration of estradiol.

만 기록을 가지고 있지 않았다. 만성적인 서혜부 탈장과 수컷과의 합사 거부 등 질병 및 행동학적 문제로 인하여 번식이 이루어지지 않았다. 2006년부터 실시된 생태행동관찰에서도 월경혈 등 생리주기가 육안적으로 관찰되지 않는 개체이었다. A와 같은 기간 동안에 분변내 성호르몬 대사산물 분석을 실시하였다(Fig. 2). 그러나 사육실 공사로 인하여 샘플을 수거하지 못한 2월에 대하여서는 자료를 제시하지 못하였다.

연구개체 B의 연간 성호르몬그래프에서 에스트라디올은 9월과 10월에 5.53과 3.06 ng/g으로 상승하였고, 프로게스테론은 각각 518.1 ng/g과 241.7 ng/g으로 상승하였다. 10월 이후부터 다음해 5월까지 에스트라디올 평균 농도는 0.70±0.35 ng/g을 유지하였다. 육안적인 생태관찰에서는 호르몬 분석기간 중 음부종대와 월경혈이 관찰되지 않았다. 2007년 8월

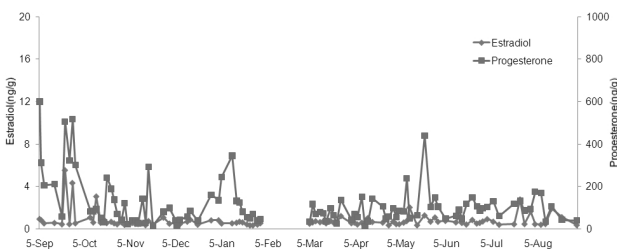


Fig. 2. The annual cycle of reproductive hormones in female Chimpanzee (B) with amenorrhea and non-mating behavior. The concentrations of reproductive hormones in fecal samples showed basal line except September and October, 2006. It had disease of chronic inguinal hernia.

분변을 통한 번식생리연구 종료 후 생태관찰은 지속되었으나, 2008년 4월 폐사 전까지 연구개체 A와는 달리 교미행동과 월경혈이 관찰되지 않았다.

2. 성성숙기에 도달한 암컷 그룹

사육환경에서 침팬지는 영양 및 환경조건에 의하여 야생보다 조금 빠른 7.7~9.3세에 성성숙에 도달하는 것으로 보고되고 있다(Coe et al., 1979). A를 모체로 하여 태어난 C는 연구 당시 9세였으며, A와 B를 연구하는 기간 동안 같이 분변 샘플을 확보하여 분석하였다. C는 사육사의 생태관찰을 통하여 월경혈이 관찰되었으며, 육안적인 월경주기는 28~30일 사이였다. 침팬지의 유전적 다양성 확보를 위하여 C는 새로 반입된 수컷과의 합사가 진행되었다. 이로 인하여 연구기간 중 수거된 분변 샘플은 수컷과 혼재되어 있어서 이 기간 중 연간 호르몬 분석결과는 본 연구결과로 제시하지 않았다. Fig. 3은 수컷과 합사되지 않고 분리되었던 30일간의 수거된 분변 샘플을 통하여 분석된 연구개체 C의 성호르몬 변화 그래프이다. 28일의 생리주기를 보이며, 이것은 사육사의 생태관찰로 얻어진 월경주기와 일치하였다.

이 기간 중의 에스트라디올 최고농도는 14.02 ng/g, 프로게스테론 최고농도는 810.12 ng/g을 보였다. A의 3월에 상승된 발정기시 에스트라디올 최고농도 10.82 ng/g, 프로게스테론 최고농도 637.42 ng/g을 비교할 때 이 개체는 성성숙기에 도달하였음을 보여준다. 연구기간 중 수컷과의 합사 프로그램은 계속 진행되었다. 그 결과 C는 2009년 8월에 번식에

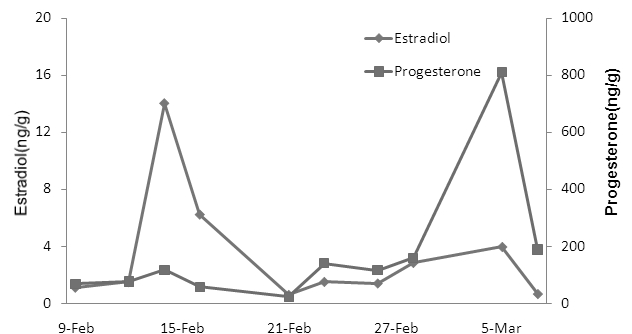


Fig. 3. The estrus cycle in 7-year-old matured female. These results were based on the fecal sample from February 9 to March 9, 2007. The period of estrus cycle was 28 days. The peak concentration of progesterone was increased after 7 day of peak of estradiol.

성공하였다.

D는 2009년 반입부터 시작된 생태관찰에서 음부종대와 월경혈이 육안적으로 관찰되어 번식능력이 있는 것으로 추정된 개체이다. 이동시 얻어진 혈액에서 인간용모성성선자극호르몬(β -HCG)과 프로게스테론 분석을 실시하였다. 호르몬분석자료와 X-ray 촬영을 통하여 진단된 임신한 개체(C)와 비임신한 개체(D)의 성호르몬 분비의 변화를 Table 1에서 제시하고 있다.

혈청 프로게스테론 농도는 임신하지 않은 개체에 비하여 임신한 침팬지에서 30배 상승하였다. 그러나 다른 측정단위를 사용하는 혈청 프로게스테론 농도와 기존의 연구된 분변 프로게스테론 농도와의 비교를 위하여 이에 대한 상관계수 연구가 필요하다.

연구개체의 X-ray 촬영은 본 연구결과의 신뢰도를 부여하였다. 자궁에서 발육하고 있는 새끼의 골화 정도와 자궁내 태아의 크기는 연구대상 개체의 임신 여부와 임신월령을 제시하였다. 성성숙에 도달한 C와 함께 월경혈 등 발정행동이 관

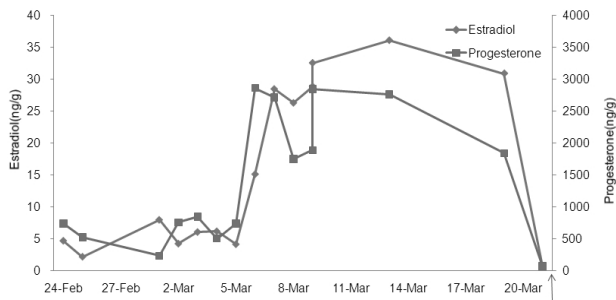


Fig. 4. Profiles of reproductive hormones in pregnant female Chimpanzee (D). The concentrations of progesterone and estradiol kept of the ovulation and leuteal phase until February. The levels of reproductive hormones were increased 5~8 times at March (last month of pregnancy). Arrow indicate the day of delivery.

찰된 D는 사육침팬지의 유전적 다양성을 위하여 신규 반입된 수컷과의 합사되었다. 그 결과 2010년에 2월에 D는 인간 임신진단키트와 분변 프로게스테론 측정에 의하여 임신이 진단되었다. 이 시기에 수거된 분변 에스트라디올과 프로게스테론 그래프는 Fig. 4와 같다.

개체 D의 임신 6개월령 평균 프로게스테론 농도는 621 ± 211 ng/g이었다. 이것은 연구개체 A와 C의 배란 후 프로게스테론 최고농도와 차이를 보이지 않았다. 임신 7개월부터 분만 전까지는 에스트라디올은 5~6배, 프로게스테론은 5~8배 이상 상승하고, 분만 전 두 호르몬은 하강하였다.

고 찰

침팬지는 종의 발생과 분류학상 인간과 가장 유사성이 높은 동물로서, 인간과의 유전자 차이는 1.5% 이내로 알려져 있다(Meder, 2004). 이들의 월경과 생식주기는 인간의 생식주기와 유사성을 보이고 있어 연구가치가 높은 종이나, 야생동물의 특성상 이들에 대한 접근이 쉽지 않았다(Wallis, 1985; Deschner and Boesch, 2006; Wagener, 2006). 동물원에서 사육되고 있는 동물에 대한 연구는 이들의 숨겨진 번식주기를 규명하는데 중요한 역할을 한다고 보고되고 있다(Schwarzenberger et al., 1996).

지금까지 보고된 번식행동 연구에서 침팬지는 월경에 따른 음부종대가 다른 유인원류에 비하여 육안 확인이 용이하다고 알려져 있다(Harcourt et al., 1980; Deschner et al., 2004). 그러나 월경혈이 관찰되지 않는 침팬지의 경우에는 외부생식기 변화 관찰만으로 이들의 정확한 번식주기와 능력을 진단하기 어렵다. 침팬지와 같이 연구된 오랑우탄의 연구성과에서 보는 바와 같이 육안 검사만으로는 생식능력진단이 불충분하였다(Jung, 2010). 개체의 생식능력을 과학적으로 실시하여 연령에 따른 번식능력, 수컷과의 합사, 동물사 관리, 개체별

Table 1. The relative levels of Progesterone and β -HCG during pregnancy

Individual	The status of pregnant	The concentration of Progesterone (ng/ml)	The concentration of β -HCG (mIU/ml)	Remark
C	○ (5 months)	67.8	120	-
D	×	2.6	-	-

The levels of progesterone and β -HCG was measured using serum. The concentration of progesterone in pregnant female was 30 fold higher than non-pregnant female. The concentration of β -HCG was only measured in pregnant female. The month of pregnancy was estimated with ossification in the film of X-ray.

차이 등을 진단하기 위하여 분변을 사용한 호르몬분석연구를 실시하였다(Schwarzenberger et al., 1996; Schwarzenberger, 2007).

이와 함께 분만 후 분비되는 프로락틴에 의하여 성주기가 억제되는 것으로 알려진 무월경(Graham et al., 2005)과 임신시 성호르몬 변화에 대하여 과학적인 자료를 제시하고자 본 연구를 실시하였다.

침팬지는 분만 후 새끼의 생존 여부에 따라 평균 4.86(2.41 ~ 5.69)년 동안 무월경증 또는 분만 사이 간격이 발생하거나 재발정이 관찰된다고 보고되고 있다(Wallis, 1997). 장기간의 무월경 기간은 분만 후 새끼를 포유하게 되면 포유기간 동안 발정이 억제되기 때문이라고 보고되고 있다(Mcneilly, 1975). 본 연구결과, 포유에 실패한 연구개체 A는 75일 만에 에스트라디올의 상승을 보이며 재발정을 보였다. 이것은 포유에 성공하여 발정이 관찰되지 않은 오랑우탄의 에스트라디올 분비억제와 대조적이다(Jung, 2010). 그러나 재발정 전까지 저점을 유지한 에스트라디올과 달리 변동이 관찰된 프로게스테론의 변화에 대하여서는 재발정을 지시하는데 있어 프로게스테론이 미치는 영향에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

연구개체 B는 A와 함께 노령그룹의 개체였으며(Ross, 2003), 사육사의 관찰과 번식행동을 통하여 번식능력이 이상이 있을 것으로 추정하였던 개체였다. 이 개체의 번식호르몬 그래프는 노령의 불규칙한 주기를 보이는 암컷 고릴라의 프로게스테론그래프와 유사하였다(Atsalis and Margulis, 2006). 2007년 6월부터 프로게스테론분비 그래프는 주기를 보이지 않는 폐경기의 암컷 고릴라 그래프로 변화하고 있다. B의 성호르몬 분석결과, 에스트라디올의 상승이 9월(5.5 ng/g)과 10월(3.0 ng/g)에 관찰되었으나, 이후 기간에는 번식능력을 보인 A와 C와 달리 저점을 유지하여 폐경과 산과질환 가능성을 보였다. 야생동물에서 장기간 번식을 보이지 않는 개체의 경우, 수컷에 대한 교미장이나 산과질환에 의한 가능성이 크다고 보고되고 있다(Hermes et al., 2006).

Polatti(2000)는 사람에서 폐경기에 접어들면 성호르몬 감소로 자궁근종을 보이는 예가 증가할 수 있으며, Maruo(2003)은 폐경 후 분비되는 프로게스테론이 인간 자궁근종에서 성장인자로 작용한다고 보고하고 있다. 연구개체 B의 경우 에스트라디올 분비량은 감소하였으나, 2006년 9월부터 2007년 1월까지의 프로게스테론의 분비가 높게 유지되었다. 연구종료 1년 후 폐사한 B의 자궁검경 결과, 자궁조직이 비정상적

으로 증대된 자궁근종을 관찰되어 이러한 호르몬 변화가 자궁근종의 성장을 촉진시킨 것으로 추정하고 있다. 이것은 호르몬분석연구가 임상자료 활용가능성이 있음을 제시하였다.

본 연구결과는 고릴라와 오랑우탄과 마찬가지로 침팬지도 연령보다 개체별 질환에 따라 번식능력에 영향을 받고 있음을 제시하고 있다(Harcourt et al., 1980; Atsalis and Margulis, 2006).

젊은 암컷 2수(C, D)에 대한 연구는 암컷의 성성숙 여부와 함께 임신진단에 본 연구가 효과적으로 사용될 수 있음을 제시하고 있다(Table 1, Fig. 4).

그러나 임신시 배란기 및 황체유지기 수준으로 유지되던 에스트라디올과 프로게스테론이 임신 마지막월령에 5~6배 이상 상승하였다가 분만 전 하강하는 것을 규명하기 위하여 연구기간 및 임신개체의 확대를 통하여 추가적인 연구가 필요하다. 향후 지속적인 호르몬 분석연구를 통하여 번식장애를 가진 개체의 치료와 인공수정 및 자연교미를 통한 번식유도를 실시하고, 발정주기 및 임신진단의 정확성 향상과 빠른 진단을 위한 분석기술을 연구할 것이다.

본 연구에 사용된 침팬지는 혈통 및 사육관리를 위하여 암수 분리 사육을 실시하였다. 그러나 침팬지 무리의 사회성 강화와 무리훈련을 위하여 2010년 5월부터는 사육관리하고 있는 암수 침팬지 전두수를 무리사육하고 있다. 이를 통하여 침팬지 월경주기 동기화 등 암수분리사육과 그룹사육시 침팬지의 번식능력 변화에 대한 연구와 오랑우탄의 연구사례에서 보고된 바와 같이 번식에 영향을 주는 정신적 교감에 대한 연구를 실시할 예정이다(Wallis, 1985; Anderson et al., 2006).

침팬지에 대한 번식주기 연구성과는 이들의 종보전을 위한 번식연구자료와 번식능력에 영향을 주는 관련 질환 진단 자료로 제공될 것이며, 인류의 기원과 발생 그리고 관련 질병을 연구하는데 중요한 역할을 할 것이다(Wagener, 2006). 이와 함께 과학적인 번식계획운영에 따라 국내 보유하고 있는 침팬지의 종보전과 종다양성을 확보할 수 있는 중요한 대안으로 떠오를 것이다.

감사의 글

본 연구는 환경부의 멸종 위기에 처한 야생동물의 종보전을 위한 서식지 외 보전기관으로 지정된 서울동물원 야생동물종보전사업의 번식생리연구로 수행되었다. 서울동물원의 유인

원류 복원프로젝트를 통한 수의사 및 사육사의 도움과 한양대학교의 번식생리연구 기술지원에 의하여 이루어진 것입니다.

인용문헌

- Atsalis S, Margulis SW, Bellem A, Wielenowski N (2004) Sexual behavior and hormonal estrus cycles in captive aged Lowland gorilla (*Gorilla gorilla*). *Am J Primatol* 62:123-132.
- Atsalis S, Margulis SW (2006) Sexual and hormonal cycles in Geriatric gorilla (*Gorilla gorilla*). *Int J Primatol* 27(6):1663-1687.
- Coe CL, Connolly AC, Kraemer HC, Levine S (1979) Reproductive development and behavior of captive female chimpanzee. *Primates* 20(4):571-582.
- Deschner T, Heistermann M, Hodges K, Boesch C (2004) Female sexual swelling size, timing off ovulation and male behavior in wild west African chimpanzee. *Horm Behav* 46:204-215.
- Deschner T, Boesch C (2006) Can the patterns of sexual swelling cycles in female Tai chimpanzee be explained by the cost-of-sexual attraction hypothesis? *Int J Primatol* 28(2):389-406.
- Graham CE, Struthers EJ, Hobson WC, Macdonald T, Faiman C, Buckman MT, Collins D (2005) Postpartum infertility in common chimpanzees. *Am J Primatol* 24(3): 245-255.
- Harcourt AH, Fossey D, Stewart KJ, Watts DP (1980) Reproduction in wild gorillas and some comparisons with chimpanzees. *J Reprod Fertil Suppl* 28:59-70.
- Hermes R, Hildebrandt TB, Walzer C, Goritz F, Patton ML, Silinski S, Anderson MJ, Reid CE, Wibblet G, Tomasova K, Schwarzenberger F (2006) The effect of long non reproductive periods on the genital health in captive female white rhinoceroses (*Ceratotherium simum simum*, *C. s. cottoni*). *Theriogenology* 65:1492-1515.
- Jung SY (2010) The annual reproductive cycle of endangered primates by monitoring the steroid hormone measurements in fecal samples. A graduation thesis. Doctor of Science, Hanyang University, pp1-86.
- Maruo T, Matsuo H, Shimomura Y, Kurachi O, Zhijian G, Nkago S, Tamada T, Chen W, Wang J (2003) Effects of progesterone on growth factor expression in human uterine leiomyoma. *Steroids* 68:817-824.
- McNeilly AS (1975) Lactation and the physiology of prolactin secretion. *Postgrad Med J* 51:231-235.
- Meder A (2004) The genus *Gorilla* and gorillas in the wild. A contribution to EEP gorilla husbandry guideline. pp1-12.
- Polatti F, Viazzo F, Colleoni R, Nappi RE (2000) Uterine myoma in postmenopause : a comparison between two therapeutic schedules of HRT. *Maturitas* 37:27-32.
- Ross S (2003) North American regional studbook of the chimpanzee (*Pan troglodytes*). Lincoln Park Zoo:1-7.
- Schwarzenberger F, Mostl E, Palme P, Bamberg E (1996) Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Ani Reprod Sci* 42:515-526.
- Schwarzenberger F (2007) The many uses of non-invasive faecal steroid monitoring in zoo and wildlife species. *Inter Zoo Yearbook* 41:52-74.
- Wagener JS (2006) "Loss of estrus" and concealed ovulation in human evolution : a reevaluation. Illinois Wesleyan University. pp1-34.
- Wallis J (1985) Synchrony of estrus swelling in captive group-living chimpanzee (*Pan troglodytes*). *Int J Primatol* 6(3):335-350.
- 2009 Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES). www.cites.org download 14 April 2010.
- 2009 IUCN redlist of threatened species. www.redlist.org downloaded 14 April 2010.
- 2010 Korea Regional chimpanzee studbook(KRCS). 1 October 2010.

(Received 21 May 2011, Received in revised form 8 April 2011, Accepted 14 June 2011)