Pregnancy Diagnosis by the Ultrasonographical Device and Observation of Fetal Growth in the Squirrel Monkey (*Saimiri sciureus*)

Hayato NARITA, Masaaki HAMANO and Fumiaki CHO*

*The Corporation for Production and Research of Laboratory Primates,
and *Tsukuba Primate Center for Medical Science, The National Institute of Health,
Hachimandai, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, 305, Japan.*

(Received 22 December 1987/Accepted 13 May 1988)

This paper describes usefulness of the ultrasonographical device (USD) for the diagnosis of pregnancy and the observation of fetal growth in the squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) conceived under group breeding conditions. Pregnancy was diagnosed on the basis of the detection of gestational sac (GS) in the uterus. The GS was first detected 127 ± 10 days before delivery. The heart beat of embryo was detected around 114 days before delivery. It was able to judge conditions of fetal growth by measuring the size of GS and the biparietal diameter. No difference in uterine size between non-pregnant and pregnant animals was observed 135 days before delivery.

超音波診断装置によるリスザルの妊娠診断と胎仔の発育観察

成田 勇人・浜野 政章・長 文 昭*

社団法人予防衛生協会

*国立予研筑波医学実験用霊長類センター

実験動物としてのサル類の繁殖・育成を効率よく進めて行くうえで早期妊娠診断法の確立は重要な課題である。当センターでは、カニクイザルの妊娠診断を子宮触診法により交配後5週目に [2]、また、血中の絨毛性生殖腺刺激ホルモンの測定により交配後3ないし4週目に [6] 実施している。また、最近超音波診断装置 (Ultrasonographical Device, USD) によって胎齢17~23日の間に妊娠診断が可能であることを報告した [1]。この USD 法は繁殖の現場での操作の容易さからも優れた方法である。そこで、USD 法をカニクイザルよりも小型のサル的一种で実験動物として繁殖生理学等の分野で有用性の高いリスザルの妊娠診断に適用することを試みた。リス

ザルは、カニクイザルでみられるような月経周期は認められないので、それによる交配適期の推定は不可能である。そして、簡便な交配適期の推定法は未だ確立されていない。このようなことから、リスザルの交配には雌雄の長期同居方式を採用することが多い [3, 4]。その為、特に早期妊娠診断法の確立が必要である。さらに、雌雄長期同居方式では妊娠日を特定できないために、胎仔の成長過程を正確に把握することや妊娠個体を適切に管理することは容易ではない。

本報告は、リスザルでの早期妊娠診断の為に USD 法を適用した結果を述べるものである。なお、合わせて USD 法によりリスザルの胎仔の発育を観察した結果に

について報告する。

材料及び方法

I 動物と交配方式：対象とした動物は、ボリビア原産の野生由来の雌雄の成熟リスザル(*Saimiri sciureus*)雄15頭、雌40頭である。動物は、入荷後11週間の検疫期間を経て筑波医学実験用霊長類センターの繁殖コロニーにおいて種ザルとして使用されているものである。交配は、雄1頭と雌3～5頭との長期同居方式によった。本観察期間中に妊娠した個体数は24頭であり、それらはすべて正常分娩した。

II 飼育条件：飼育室の照明条件は、白色蛍光灯と植物用蛍光灯ホルムクス（ナショナル製）あるいは、サンラインビューティー（日立製）の5時点灯、19時消灯の14時間明10時間暗である。空調条件としては、100%の新鮮空気を1時間に12回換気し、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ の温度と $60 \pm 10\%$ の湿度を保持した。飼料は1頭当り、午前中にリンゴ・ミカン各50gを給与し、午後にはウズラの卵1ヶと固型飼料（オリエンタル酵母製A型）50gを水で膨潤させて与えた。飲水は、自動給水装置により自由に摂取させた。収容ケージは、ステンレススチール製金網ケージで45cm（幅）×60cm（奥行）×60cm（高さ）のものを使用した。雌雄の長期同居時は、このケージを2台もしくは4台連結したものを使用し、妊娠が判明してからは個別飼育とした。

III 妊娠診断及び計測：妊娠診断及び子宮・胎仔の計測は、超音波診断装置（アロカ社製 SSD-125 電子リニア型、7.5 MHz 探触子）を用いて無麻酔下で行った。

子宮内に妊娠のう（Gestational Sac, GS）が認められた場合妊娠と判断し、その後さらに胎芽内の心拍動を確認した。妊娠診断は、リスザルの交尾期（12月より翌年の6月まで）には週1回行い、それ以外の時期は2週毎に行った。妊娠と判定されてから分娩までの間、週に1回もしくは2週に1回、以下のごとく計測を実施した。すなわち、妊娠早期には子宮及びGSの長径と短径であり、妊娠中期・後期（分娩前110日以降）には胎仔の頭部大横径（Biparietal Diameter, BPD）である。また、対照として35頭の子宮の大きさを計測した。

IV USDによる計測値の信頼性：USDによるBPDの計測値の信頼性を見るために出生前 $2.6 \text{ 日} \pm 2.4 \text{ 日}$ （平均 $\pm$ S.D.）の胎仔（雌雄各4頭）を計測した。同一個体を出生直後（24時間以内）に無麻酔下で保定し、ノギスを用いてBPDを計測した。

V 統計学的処理：計測項目のうちGSの長径及び短径は対数変換（自然対数）し、その他の項目は計測値をそのまま用い、分娩前日数との対応を調べた。GS及び子宮の計測値については、分娩前日数との相関係数も算出した。また、妊娠子宮の大きさの一次回帰式を求め非妊娠時の子宮の大きさの平均値と比較した。USDによる胎仔のBPDの計測値及びそれらの出生後のBPDの計測値については、対応のあるt検定を施した。

成 績

GSが初めて検出できた時期は、分娩前 $127 \text{ 日} \pm 10 \text{ 日}$ であった。この時期のGSは子宮内に米粒大の黒斑として認められるが、その確認には熟練を要した（Fig. 1）。

Fig. 1. An image of gestational sac (the arrow) detected on the 140th day before delivery

Fig. 2. An image of gestational sac (the arrow) detected on the 120th day before delivery

Fig. 3. An image of a fetus on the 95th day before delivery. Biparietal diameter of the fetus was indicated by the distance of two crosses (8.6mm)

Fig. 4. Correlation between the natural logarithmic value of major axial length (mm) of gestational sac and the number of day before delivery ($p<0.01$)

Fig. 5. Correlation between the natural logarithmic value of minor axial length (mm) of gestational sac and the number of day before delivery ($p<0.01$)

しかし、それから約2週間後になるとGSは明らかに大きくなり比較的容易に識別できるようになった。また、同じ頃には心拍動も確認できるようになった (Fig. 2)。さらに、それから約1週間たつと頭部及び体幹部の識別も可能となった。しかし、GS及び子宮の全体像は撮影不能となった (Fig. 3)。GSの長径及び短径の変化は Figs 4・5 の通りである。測定値の自然対数値は、分娩前130日から100日までの期間で、分娩前日数と有意な相関が認められた。相関係数は長径では 0.834 ($p<0.01$) また、短径では0.802 ($p<0.01$) であった。他方、BPDの測定は分娩前105日ごろから行った。分娩前105日ごろから分娩前30日ごろまでは顕著に増加したが、それ以

Fig. 6. Change of the fetal biparietal diameter according to number of day before delivery

Fig. 7. Correlation between the natural logarithmic value of major axial length (mm) of uterus and the number of day before delivery ($p<0.01$) Mean with standard deviation for the lengths of non-pregnant uteri was represented in the figure.

降はほぼ一定の値を示すようになった。この計測値に対数曲線をあてはめたとこ相関係数は、0.904($p<0.01$)と高度に有意となった (Fig. 6)。また、子宮の長径及び短径の変化は Figs 7, 8 に示すように GS の長径及び短径の変化と同じく分娩前日数と有意な相関が認められた。相関係数は長径では 0.777 ($p<0.01$) また、短径では0.754 ($p<0.01$) であった。分娩前135日ごろになると非妊娠時の子宮よりも大きくなりはじめた。

また、出生直前の胎仔のUSD法による計測値と、同じ動物の出生直後のノギスによる計測値を Table 1 に示す。出生直後の計測値の方がわずかに大きな値が得られた。雌雄それぞれで測定値の差の検定を行ったところ有意ではなかった ($p>0.05$)。

Fig. 8. Correlation between the natural logarithmic value of minor axial length (mm) of uterus and the number of day before delivery ($p<0.01$) Mean with standard deviation for the lengths of non-pregnant uteri was represented in the figure.

Table 1. Comparison of biparietal diameters (BPD) between the fetuses and the newborns

Sex	Number of animals	BPD (mm)	
		Fetus ¹⁾	Newborn ²⁾
Female	4	28.6±0.6 ³⁾	29.6±1.4 ⁴⁾
Male	4	28.8±0.4	30.1±1.6
Total	8	28.7±0.4	29.8±1.6

1) 2.6±2.4 days before delivery
2) on the day of birth
3) measured by USD
4) measured by biometrically with slide calipers

考 察

USD 法での画像の解像力は、用いる超音波の周波数に大きく影響される。我々はカニクイザルの場合 5MHz の探触子を用いたが、今回のリスザルの場合、それよりも解像力の優れた 7.5 MHz の探触子を用いた。その結果、リスザルで早期妊娠診断が可能であると判断した。診断は子宮内の GS の存否の確認、さらにその後に観察できる心拍動の確認によって行うことができた。この方法はカニクイザルで、すでに我々が行った報告と同じである[1]。リスザルで、GS の存在が初めて検出された日の平均値は、分娩前 127 日であった。この時期はカニクイザルで GS が確認される時期（胎齢 20 日、平均妊娠期間 165 日）よりやや遅い時期であった[1]。しかも、リスザルの場合この時期の GS の存在の断定が困難な例もあった。しかし、分娩前 114 日になると、GS の存在は黒い画像として明らかに識別可能となる。以上のことから、我々は、リスザルの場合分娩前 114 日程度で妊娠診断が可能であると判断している。妊娠にともない GS の長径及び短径とも指数関数的に増大した。他方、BPD は妊娠の経過とともに、ほぼ直線的に増加したが、分娩前 30 日を過ぎたころからほぼ一定の値を示すようになった。したがって、妊娠早期の胎仔の成長は、GS の変化によって正確に評価でき、妊娠中期から後期の胎仔の成長は BPD の測定によって評価が可能である。また、BPD がほぼ一定の値を示すようになる時点からおおよそ 1 カ月後に出産することが判明したため分娩予知も可能となった。

ところで、USD による BPD の計測値の信頼性を見るために、同一個体で分娩近い時期（分娩前 2.6 日 ± 2.4 日）と分娩後 24 時間以内での計測値の比較を行った。分娩直前の USD による計測値は、分娩後 24 時間以内にノギスで測った値より僅か 1 mm 程度小さかった（Table 1）。この時期の計測日による差（出生日と出生前 3 日程度）は BPD の成長速度から判断して、無視しようと思われる。ともあれ、USD による BPD の測定値は十分に信頼できると言える。

ところで、妊娠にともなう子宮の大きさも指数関数的に増加した。計測値の自然対数値と分娩前日数との間の直線回帰は高度に有意（ $p < 0.01$ ）であった。

リスザルの妊娠期間は、産地によって異なる可能性が示唆されている[4]が、162 日[5]あるいは 155 日[3]という報告があり、おおよそ 160 日前後と推定される。

ところで、USD 法を用いることによって分娩前 114 日程度でリスザルの妊娠診断が可能であることが今回の成績より明らかになったわけであるが、このリスザルの妊娠診断判定可能時期は、前述の推定妊娠期間より妊娠 6 ないし 7 週目ということになる。カニクイザルの妊娠診断が USD 法により約 3 週目で可能である[1]ことに對し、リスザルの場合はそれよりも遅れるものの、本法によって比較的早期に妊娠診断が可能であることが明らかとなった。さらにまた、この方法によってリスザル胎仔の成長過程の観察を容易に行うことができ、妊娠個体や胎仔の健康管理に利用し得ることが示された。

要 約

実験用リスザルの妊娠診断と胎仔の発育観察の為の超音波診断装置（USD）の有用性について検討を加えた。妊娠診断は、子宮内の胎のう（GS）の検出によって行ったが、初めての検出日は分娩前 127 日 ± 10 日であった。さらに、分娩前 114 日ごろには胎仔心拍動も確認された。また、GS の長径及び短径、胎仔の頭部大横径（BPD）の計測により胎仔の発育を観察した。妊娠子宮が非妊娠子宮より大きくなったことが検知できる時期は、分娩前 135 日ごろであった。

文 献

- [1] 長 文昭・成田勇人・小野孝浩・本庄重男（1987）. 超音波診断装置によるカニクイザルの早期妊娠診断と胎仔の発育観察, 実験動物, **36**, 223-228.
- [2] Honjo, S., Fujiwara, T., and Cho, F. (1975). A comparison of breeding performance of individual cage and indoor gang cage systems in cynomolgus monkeys. In *Contemporary Primatology* (ed. by S. Kondo, M. Kawai and A. Ehara). pp. 98-105. S. Karger, AG. Basel, Switzerland.
- [3] Jarosz, S. J., Kuehl, T. J., and Dukelow, W. R. (1977). Vaginal cytology, induced ovulation and gestation in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Biol. Reprod.*, **16**, 97-103.
- [4] Kerber, W. T., Conaway, C. H., and Smith, D. M. (1977). The duration of gestation in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Lab. Anim. Sci.*, **27**, 700-702.
- [5] Lorenz, R., Anderson, C. O., and Mason, W. A. (1973). Notes on reproduction in captive squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *Folia Primatol.* (Basel), **19**, 286-292.
- [6] Yoshida, T., Suzuki, K., Cho, F., and Honjo, S. (1987). Serum chorionic gonadotropin levels determined by radioreceptor assay and early diagnosis of pregnancy in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *Am. J. Primatol.*, **12**, 101-106.