



日本中央競馬会
特別振興資金助成事業



受精卵の取り扱いによって 効率的に日本在来馬や セラピーホースを生産する技術

凍結精液による人工授精・受精卵移植法
および受精卵凍結方法の手引



令和5年3月

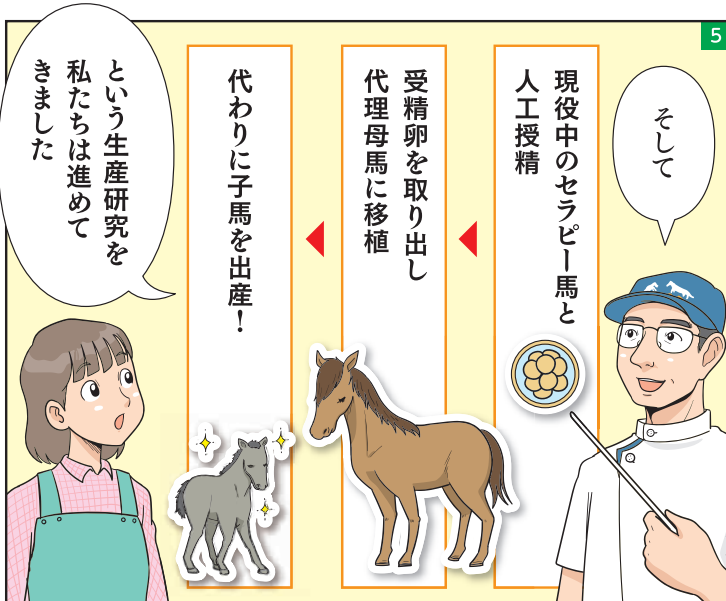
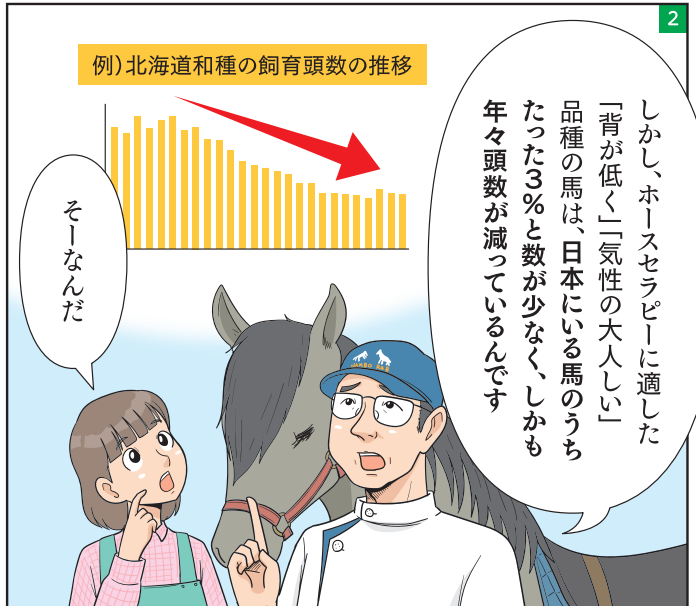
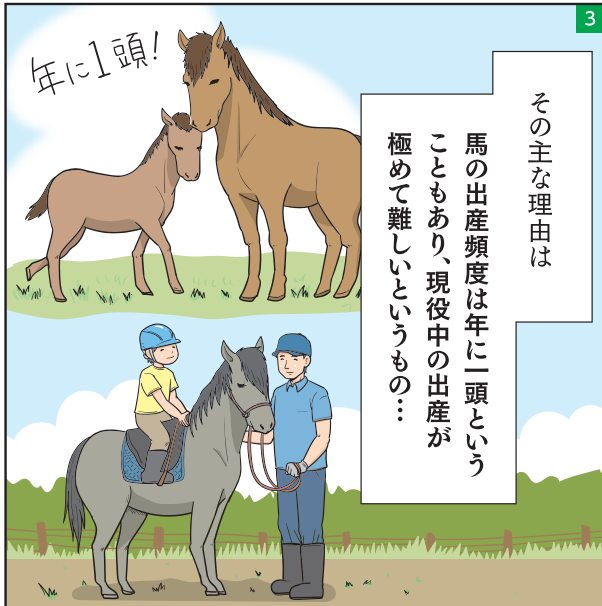
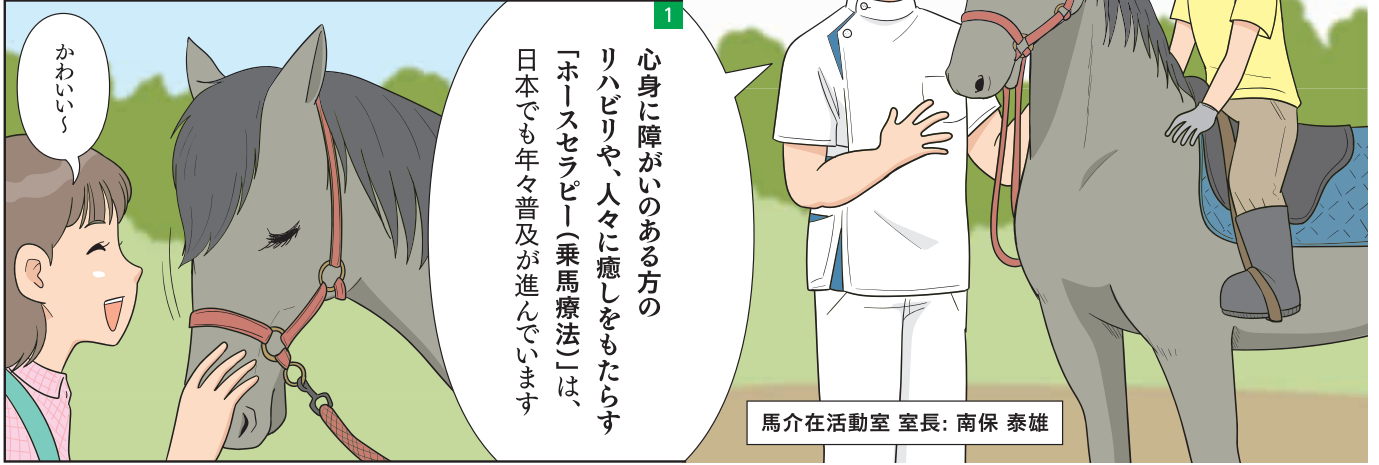
国立大学法人 帯広畜産大学

ホースセラピー普及への貢献と 減少する日本馬を守る活動

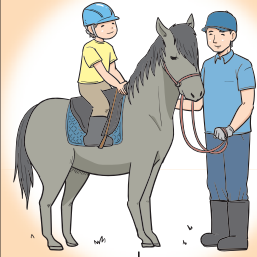
帯広畜産大学



障がい者や高齢者・初心者に安全な乗用馬の生産研究 令和4年版

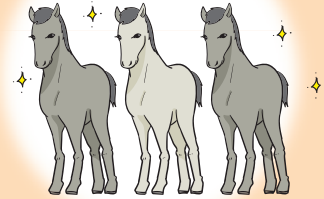


この技術によって、母馬は現役で働きながら



年に何頭ものホースセラピーに適した子馬の誕生が可能になったのです！

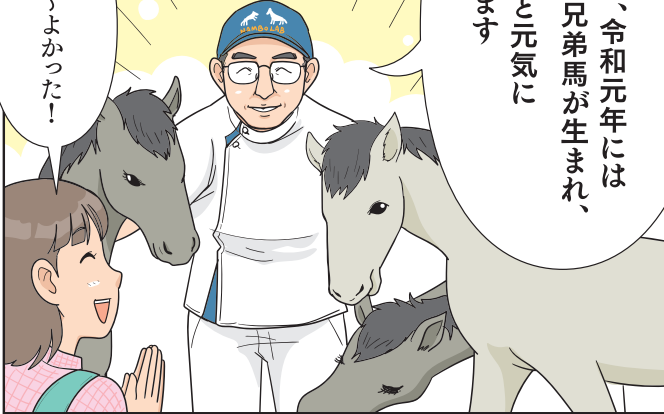
へえ



国内初の快挙!

その結果、令和元年には3頭の全兄弟馬が生まれ、スクスクと元気に育っています

わあ、よかった!



その後も子馬は生まれ続け、令和4年の時点で計10頭に

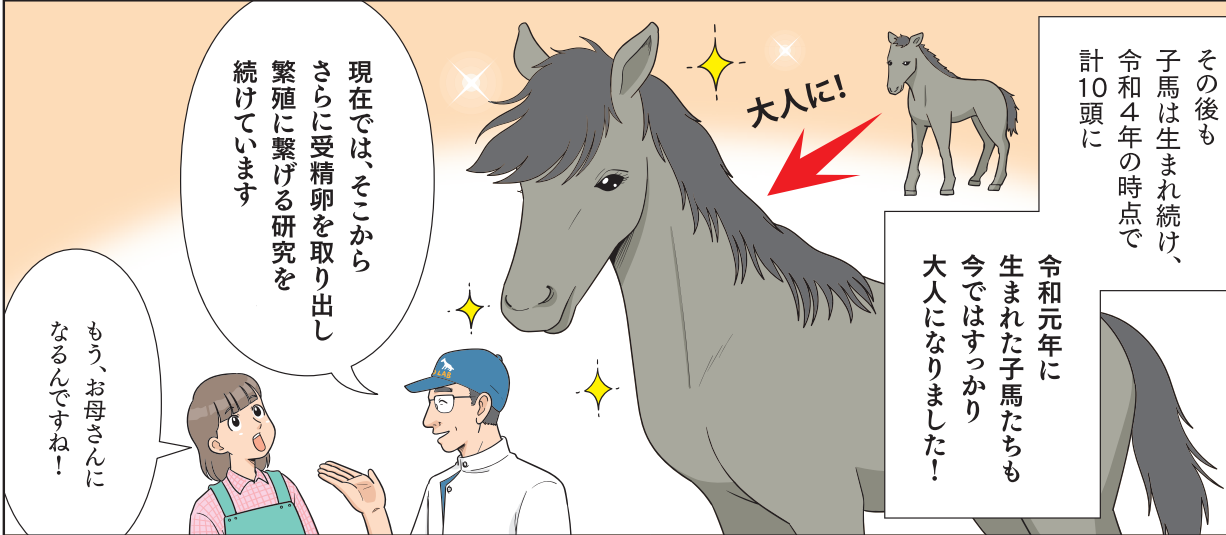
令和元年に生まれた子馬たちも今ではすっかり大人になりました!

大人に!

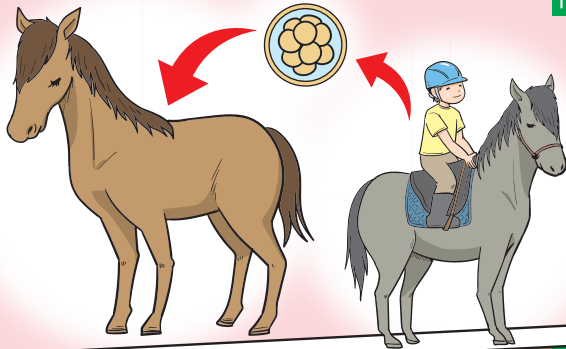


現在では、そこからさらに受精卵を取り出し繁殖に繋げる研究が続いています

もう、お母さんになるんですね!



ホースセラピーに適した馬の受精卵を取り出して代理母馬に移植する生産方法は



代理母馬の発情周期や健康状態に合わせるため

受精卵の採取と移植の『タイミング合わせが非常に困難』というのが大きな課題でした

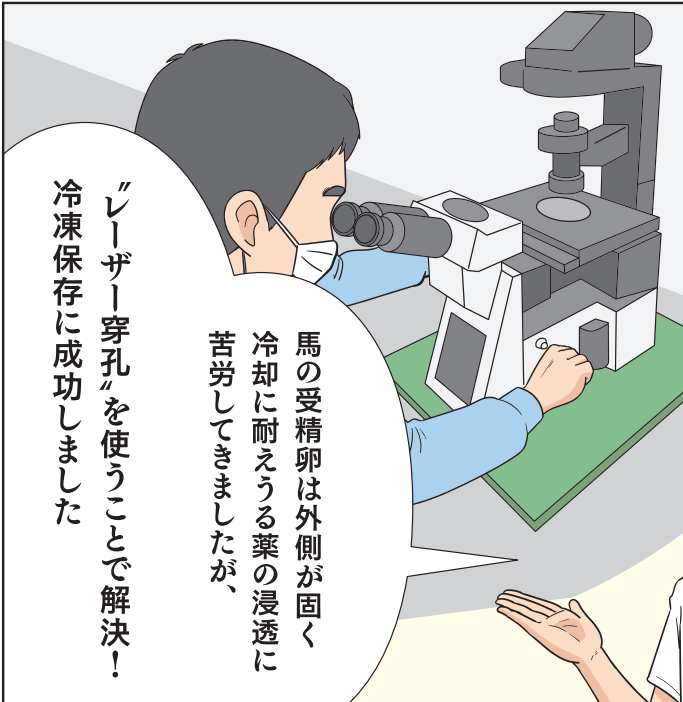


実はその間、私たちは『世界初』となる成功をおさめました

世界初!



そこで、
これまで難しかった
『受精卵の凍結保存』
に挑戦！



馬の受精卵は外側が固く
冷却に耐えうる薬の浸透に
苦労してきましたが、

「レーザー穿孔」を使うことで解決！
冷凍保存に成功しました

これにより、現役馬に負担をかけず
大量の受精卵を凍結保存



代理母馬の状態に合わせて移植でき、
より効率的な繁殖が可能に！



そして、ついに世界初！
レーザー穿孔による
凍結受精卵の移植で

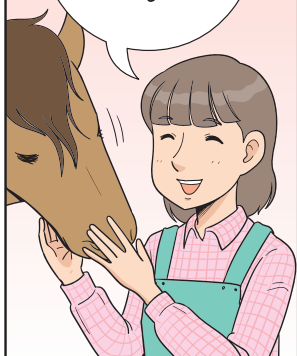
令和3年8月、
無事2頭が出産に成功！

世界初！！

翌年（令和4年）8月にも
2頭の子馬が誕生しました



セラピー馬や
代理母馬の負担も
減りそうですね！



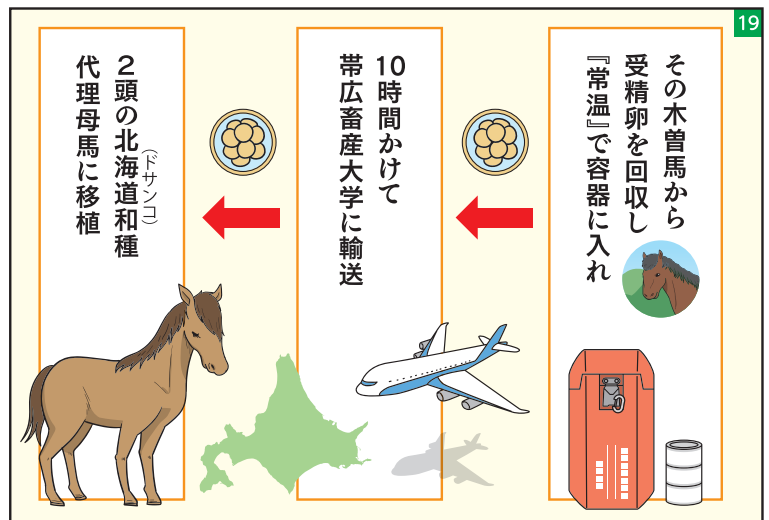
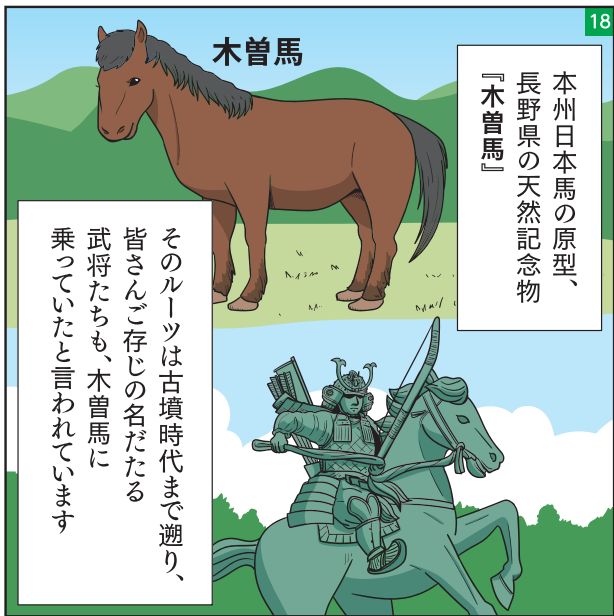
私たちは、今後も
この技術を発展させ、
ホースセラピーに
向いている馬を増やし

心身に障がいがある方や
初心者、高齢者が

もっともっと
馬と触れあう機会を
増やしていきます！

素敵ですね





この取り組みに関するお問い合わせ先

帯広畜産大学 グローバルアグロメディシン研究センター 教授/馬介在活動室 室長 南保 泰雄
〒080-8555 帯広市稲田町西2線11番地 E-mail:ynambo@obihiro.ac.jp http://univ.obihiro.ac.jp/~dosanko/



目次

はじめに

1 日本在来馬の歴史と現状	1
2 ホースセラピーに適した日本在来馬	1
3 馬受精卵移植の利点と残された課題	2
4 事業の目的と概要	3

凍結精液人工授精の手順について

1 排卵誘発剤の投与から人工授精後の検査までの流れ	4
2 排卵誘発剤と投与のタイミング	4
3 人工授精のタイミング	5
4 外陰部の消毒	5
5 複数本ストロー精液の融解	6
6 子宮角深部授精法と体部授精法	6

受精卵移植の概要と手順について

1 受精卵移植の利点	8
2 受精卵移植回収の手順	8
3 新鮮受精卵の輸送方法	13
4 受精卵の移植方法	14

受精卵の凍結方法

1 従来馬受精卵凍結	15
2 ピエゾドリルによる受精卵の穿孔法	16
3 レーザー顕微鏡による受精卵の穿孔法	16
4 凍結方法および融解・培養法	17

受胎しない理由とその対処法

なぜ受胎しないか	19
1 凍結精液の質	19
2 牝馬のステータス	19
3 牝馬のマネージメント	20

若馬の馴致方法紹介	21
-----------	----

北海道和種の妊娠全期間胎子検査法と流産予知	24
-----------------------	----

はじめに

1 日本在来馬の歴史と現状

日本に古くから存在する日本在来馬、それは日本の歴史を受け継ぐ宝、といっても過言ではない貴重な馬の品種である。

魏志倭人伝には、邪馬台国には馬がない、と記載されている点からも、日本には元々馬は飼養されていなかったと考えられている。どのように日本に馬が渡来したか、諸説はあるものの、4-5世紀ごろに朝鮮半島を経由して馬が徐々に導入され、「牧」と呼ばれる繁殖牧場が点在するようになり、水が豊富で緑に覆われた日本の土地に適応し、急速にその数を増やしていったと考えられている。平安から鎌倉時代にかけて、馬は武家社会の爆発的な発展を後押しし、戦（いくさ）になくてはならない軍事機器にもなった。鎖国が続き250年間大きないくさがなかった江戸時代には、在来馬が農工商産業を支え、庶民も利用する交通手段、担い手として広がった。

日本在来馬は2020年に8品種の合計1570頭のみが日本馬事協会に登録され、日本で飼養されている馬のたった2%を占めるに留まっている。明治時代に国内に約1,500,000頭いたと考えられる日本在来馬は、明治から昭和時代の富国強兵策の中で、種馬統制法や去勢法などの法律規制により淘汰が進み、飼養頭数が激減する結果となった。そのような情勢の中で去勢しなくても比較的小となしい馬であった日本在来種馬が、戦後まで日本の離島やへき地で生存し、8種の在来種馬として生き残った。言い換えるならば、日本の歴史を受け継いだ宝の馬である。日本在来馬の新しい利活用方法を創出するとともに、その生産性を向上させる研究事業を計画・実施することは、馬を介した社会貢献として極めて重要な事業となると考えられる。

2 ホースセラピーに適した日本在来馬

近年動物介在活動（Animal Assisted Activity）に注目が集まっており、ホースセラピーや体験乗馬といった馬介在活動のイベントが増加している。

障がい者や初心者を対象とする乗馬では、競馬や馬術競技で使用される馬とはまた異なる特性を持つ馬が必要とされる。体高が130-140cmのポニーや、大人しく、周囲の変化や音に動じない性質を持つ馬が最適であるが、日本においてこのような特性を持つ馬の飼養頭数は海外と比較してきわめて少数である。日本在来種馬は総じて体高が低く背中幅が広く、初心者でも乗りやすい安定した体格である。サラブレッドであれば驚いてしまうような大きな物音や動きにも物怖じせず、平然としている馬が多い。日本在来種馬は、前述のような馬介在活動に適した体格や性質を持ち合わせて

帯広畜産大学で実施している馬介在活動
(帯広市との連携事業)



障がい者乗馬



適応指導教室 馬の総合体験学習

いると言える。馬を利用した乗馬やふれあいは、心身に障がいをもつ方をはじめ、高齢者の運動機能改善、不登校生徒への動機づけ、現在のストレス社会において疲弊している社会人への癒しの提供など多種多様な活動として注目され、馬の利活用を推進する家畜増殖目標（農林水産省、令和2年）に合致するものと考えられ、帯広畜産大学においても、障がい者乗馬や適応指導教室 馬の総合体験学習を帯広市と連携して実施している。

3 馬受精卵移植の利点と残された課題

馬は典型的な季節繁殖性を有し、かつ妊娠期間が11ヶ月と長く、また、1分娩に1頭の子馬を出産するため、牛や豚などの家畜と比較すると極めて生産効率の低い家畜である。現状の生産方法には限界があり、その問題を解決する手段として、牛の生産で近年普及されている生殖補助技術を利用することが最も効果的と考えられる。牛とはその目的や繁殖特性が異なるものの、馬では冷蔵希釈精液や、近年入手が可能となった外国からの輸入凍結精液を用いた人工授精により、目的とする形質をもつ家畜改良が可能であることや、受精卵移植により別の雌馬の子宮に移植することにより、他の馬に分娩させることができる。また、発情周期は3週間であることから、複数回の受精卵移植を実施することにより、1年に複数頭生産することが可能となる。しかしながら、サラブレッド生産国となっている我が国の現状では、生殖補助技術の使用がまったく許されていないサラブレッド生産界からの技術伝達は難しい状況にあった。

帯広畜産大学では、平成29年度から令和元年度にかけて、安全に実施可能な乗馬の資源確保が非常に難しい状況を鑑み、国内で24年間実施されてこなかった馬の受精卵移植（胚移植）の手法を、障がい者乗馬ならびに在来馬の生産に利用可能か否かを科学的に実証するために、日本中央競馬会畜産振興事業の助成により「障がい者乗馬ならびに在来馬の生産法確立事業」を実施していた（令和元年度完了）。その



事業実施において、衛生条件が確立されたフランス国からの輸入が可能となった馬凍結精液に着目し、障がい者乗馬の用途に適していると考えられる、コネマラポニー種の凍結精液を利用し、人工授精と受精卵移植技術を用いて、2019年に3頭の全きょうだい（牝1頭、牝2頭）の生産に成功した。さらに2020年にも前年度に実施した受精卵移植により、3頭の全きょうだい（牝3頭）を生産した。この事業により、1頭の牝馬から同一年度に複数の受胎・出産の実績を上げたことは評価に値するものであった。また、受精卵移植によって純血の北海道和種が生産されたことは、日本に8種類存在する日本在来馬の中でも登録数が少ない希少種の生産にも応用が期待される技術であり、その道筋を立てる上で重要なステップを克服したことは価値ある研究成果と解される。

一方、上述の事業を通じて、受精卵移植が普及されるうえでの問題点も浮上した。すなわち、

- 1) 馬の受精卵移植技術が帯広畜産大学のみでの利用では普及されないこと→普及の重要性、
- 2) 南北に長い日本において、日本在来馬受精卵の遠隔地移送が可能であるか不明であること→希

少な馬、貴重な馬の受精卵輸送を伴う移植による生産、
3) 同期化して移植をされる代理母（レシピエント）が豊富に飼養されている状況でないと移植が実施できずに終わること→受精卵の半永久保存の必要性、
の3点が課題となり、今後体制を整備し、技術を開発する検討が必要であることが示唆された。受精卵移植の研究開発は、質の高い馬生産のツールであり、目的達成で満足する事象ではないことはいうまでもない。国内に馬の受精卵移植技術を継承・普及させ生産現場に利用されるように指導することは、障がい者乗馬の振興等、馬の多様な利活用が叫ばれている馬事振興の基盤整備の中でも、性格のおとなしい馬の生産そのものが社会福祉につながる事業となり、研究開発された生殖医療技術は極めて有用性の高い手法となりうる。

4 事業の目的と概要

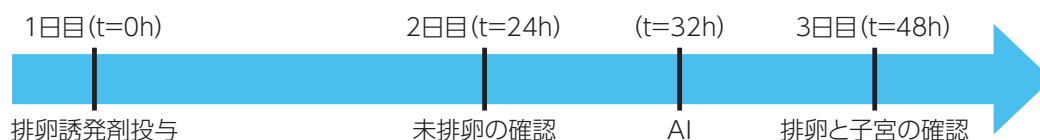
令和2年度から4年度にかけて、日本中央競馬会特別振興資金助成事業「受精卵による障がい者乗馬等の生産法確立事業」として実施された事業において、馬の人工授精、受精卵移植技術を普及定着・発展させるために、

馬凍結受精卵作成技術の確立、
馬受精卵の遠隔輸送移植、
馬受精卵移植技術の普及、

に関する調査研究を実施し、社会に貢献する乗馬づくりおよび希少な在来馬の保存のため、受精卵を用いた生殖補助医療を発展させ、馬を介した持続的福祉活動の実現を目指すものである。

凍結精液人工授精の手順について

1 排卵誘発剤の投与から人工授精後の検査までの流れ



本事業では上記のように排卵誘発剤投与から人工受精後の検査を行った。

まず、1日目に排卵誘発剤の投与にふさわしい子宮、卵巣の状態であることを確認し、誘発剤を投与する。これにより、投与後36~48時間で排卵することが見込まれる。次に2日目の午前に主席卵胞が排卵していないことを確認し、

午後に人工授精を行った。3日目に排卵と子宮の状態を確認する。この時に、子宮内に貯留液が確認された場合などは治療を考慮する。未排卵であった場合にはあらゆる可能性を考慮する必要がある。4日目も治療などが行われた場合は経過観察することが望まれる。

2 排卵誘発剤と投与のタイミング

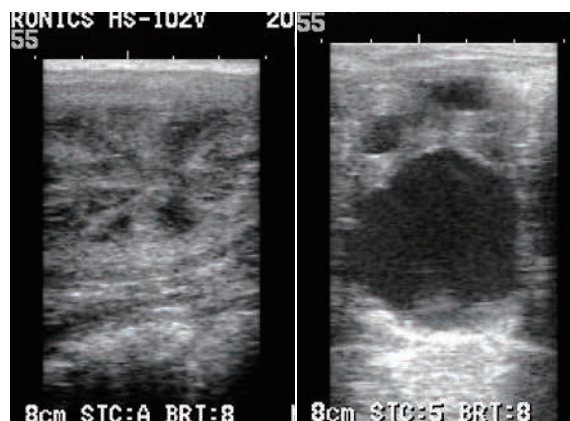
凍結精液を用いたAIを行う場合、以下のような排卵誘発剤の使用が必要である。以下に示す投与量は我々が北海道和種（350kg~450kg）に使用した投与量である。

- hCG（ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン）
商品名：ゴナトロピン3000
投与量、方法：1500~2000IUを静脈内投与
- Deslorelin（GnRH analog）
※輸入品（日本では未承認）
投与量、方法：0.4~0.75ml（1.5mg/ml）を筋肉注射



ゴナトロピン3000 (hCG)

hCG投与のタイミングとしては、子宮の浮腫グレードが0~5のうち3（子宮全体の明らかな浮腫像）以上で主席卵胞の直径が35mm以上で行うことが推奨される。hCGは、複数回の投与により効果が減弱するため、1シーズンで2回までの使用とした。推奨される投与量は1500~3300IUである。hCG投与により24~48h後に排卵がおおよそ起こる。



浮腫グレード3の子宮像 直径35mm程度の主席卵胞

3 人工授精のタイミング

凍結精液を用いた人工授精の場合は特に、精子を注入した時間と排卵の時間の間隔を最小限にすることが大切となる。一般に凍結精液を用いたAIは排卵の12h前から6h後の間に行うことが望ましい。本事業においては、排卵誘発剤投与から32h後にAIを実施している。

今回AIを目的とした北海道和種9頭に対し

て、2種の排卵誘発剤とその投与後にエコーを用いて排卵（黄体の形成）を確認できるまでの時間をまとめた（表1）。なお排卵誘発剤の投与時間はいずれも午前8時前後であり、投与のタイミングはいずれも主席卵胞の大きさが 35 mm程度で子宮の浮腫グレードが2または3のときであった。

表1 各誘発剤投与後の排卵までの時間

	～48hに排卵 (そのうち～24hに排卵)	～48hに排卵しない	合計
hCG (1500～2000IU) i.v.	25 (3)	2	27
Deslorelin (0.6～1.1mg) i.m.	26 (5)	2	28

表1より午前8時にhCGないしはDeslorelinを投与した場合、93% (25/27、26/28) の確率で48hまでに排卵していた。hCG投与から48h

以内に排卵しなかった2例のうち、1例はそのシーズンでの3回目の投与によるものであった。

4 外陰部の消毒

用意するもの

スポンジ、お湯、イソジンスクラブ、アルコール類スプレー等



外陰部洗浄に用いるもの▶

消毒の流れ



5 複数本ストロー精液の融解

用意するもの

ストロー切ばさみ、保温性水筒、温度計、ウォーターバス、アル綿、秒針つき時計、ピンセット 2つ等

凍結精液人工授精用カテーテルを子宮角深部に挿入出来次第、精液の融解に取り掛かる。液体窒素中のストローを冷やしたピンセットで取り出し、すぐに水温37～38.5℃に調整されたウォーターバス（保温性の水筒でも可能）に入れる。ストローは融解開始から30秒後にもう一つの冷やしていないピンセットで取り出す。

ストローを取り出したら表面の水気をとり、よく絞ったアル綿で拭う。アル綿であらかじめ消毒したストロー切ばさみで所定の場所を切り、ストローをカテーテル内に入れ、マンドレル（心棒）で押し込む。ストロー内の精液を完全に押し出したら慎重にカテーテルからストローを取り出し、破損やストロー内の精子の残存などの異常がないことを確認する。（この時カテーテルは動かないよう注意する）

この操作を使用するストローの本数分だけ繰り返す。（ウォーターバスの水温に注意し、ハサミやマンドレルなど使用する器具はその都度



コットンの入っていない側を端から3～4mmのところで切る
よく絞ったアル綿で消毒する)

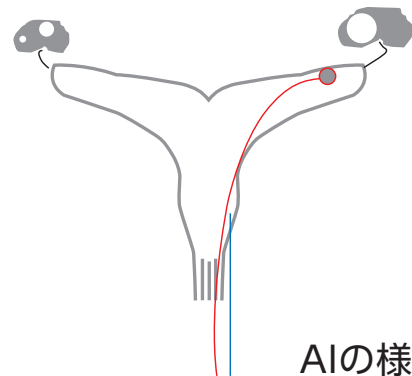
最後のストロー内の精液を注入し終わったら、カテーテルを慎重に抜き出し、部品に破損がないか、カテーテル内に精子が溜まっていないかなどを確認する。

6 子宮角深部授精法と体部授精法

凍結精液を用いた人工授精では、体部授精法よりも子宮角深部授精法が基本的に推奨されている。

体部授精法：子宮体部に精液を注入する

子宮角深部授精法：排卵前後の卵巢側子宮角深部に精液を注入する



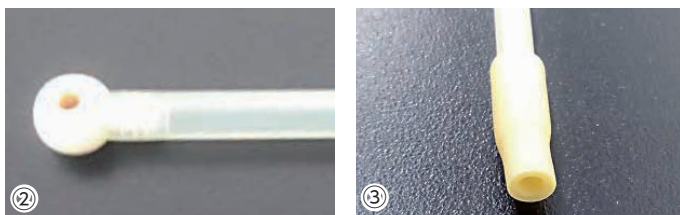
赤：子宮角深部授精法 青：体部授精法

子宮角深部授精法の方法

凍結精液人工授精用のカテーテルを、排卵すると予測される卵胞のある側の子宮角深部へと挿入する。滅菌された直検手袋を装着した手でカテーテルの先端部を包み、カテーテルが外陰部や膣内に触れないように注意しながら子宮内部へと挿入する。子宮頸管を通過するときは挿入した指をガイドにして、さらにカテーテル自体の湾曲を利用して目標側の深部へやさしく挿入する。

カテーテルをできるだけ深部に挿入したのち、膣内の手を直腸内に挿入し、カテーテルと子宮の位置関係を確認する。このときカテーテルを挿入する角とは反対側の子宮角を直腸越しに持ち上げると、カテーテルが目標の子宮角へ挿入されていることを確認できるとともに、カ

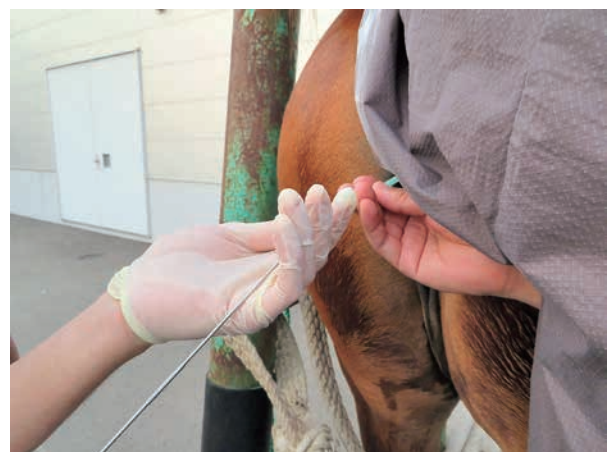
テーテルをさらに深部へ挿入しやすくなる。最終的にはカテーテルの先端を触診し、子宮角先端までカテーテルを深く挿入する。また、人工授精中は子宮の収縮によってカテーテルが排出されないよう注意する。



カテーテルの全体 (①) と
細部 (先端：②、ストローを入れる側：③)



カテーテルに融解したストローを差し込んでいる



マンドレル (心棒) でストローを押し込んでいる

受精卵移植の概要と手順について

1 受精卵移植の利点

- ・競技やセラピーホースとして活躍する馬が役割を継続しながら、あるいは日常的な練習や訓練を行いながらその馬の子馬を生産できる
- ・1頭の母馬から年に複数頭の子馬の生産が可能
- ・子宮の疾患や老齢が理由で妊娠できない牝馬の子馬の生産も可能である
- ・お産に慣れた馬が初産や出産経験に乏しい馬の代わりに出産することで、出産リスクを低減できる
- ・生体を移動、輸入する必要がない
- ・交尾感染による伝染性疾患を予防できる

2 受精卵回収の手順

受精卵移植までの流れ

受精卵移植をする場合にはドナーとレシピエントの発情周期の同期化が必要となる。具体的にはレシピエントの排卵日がドナーの排卵日に比べて-1~+3日（レシピエントがドナーの排卵日と比較して1日前から3日後までに排卵する条件）であることが望ましい。

発情周期の同期化のためには、黄体を退行させるPGF₂α製剤（以下PG）やhCG（商品画像は前項参照）・GnRHなどの排卵誘発剤の投与が必要不可欠となる。

PGは前回の排卵日の5~10日後に投与した。具体的には0.1mgのPGF₂α類縁体クロプロステノールを筋肉内投与した。

PGを投与する際の卵巣の状態によってその

後の排卵日に7~12日と幅があり、また投与する際に成熟卵胞が存在する場合、発情行動がみられる前に排卵してしまうことがある。そのためPGを投与する際もエコーにて卵巣状態を確認し、おおよそ何日後に排卵するかを予想することが重要である。



PGF₂α製剤

Day0	・前回の排卵日
Day 5~10	・PG投与（おおよそ同一日にドナーとレシピエントに投与できる状態が望ましい） ・投与時の卵巣の状態から何日後に排卵誘発剤を投与するか予想する

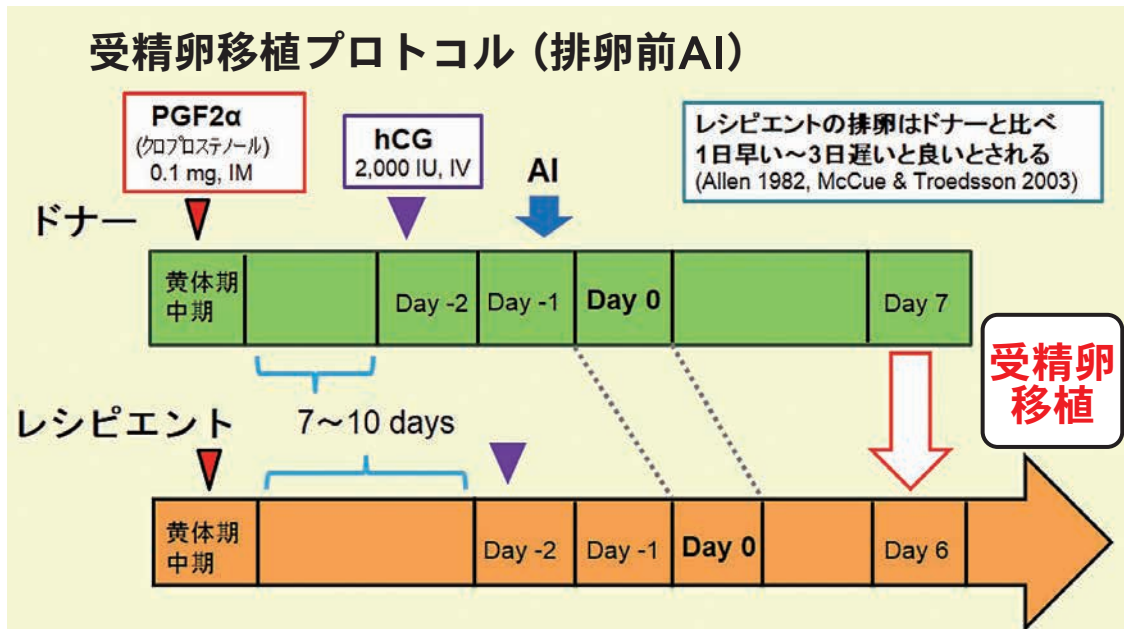
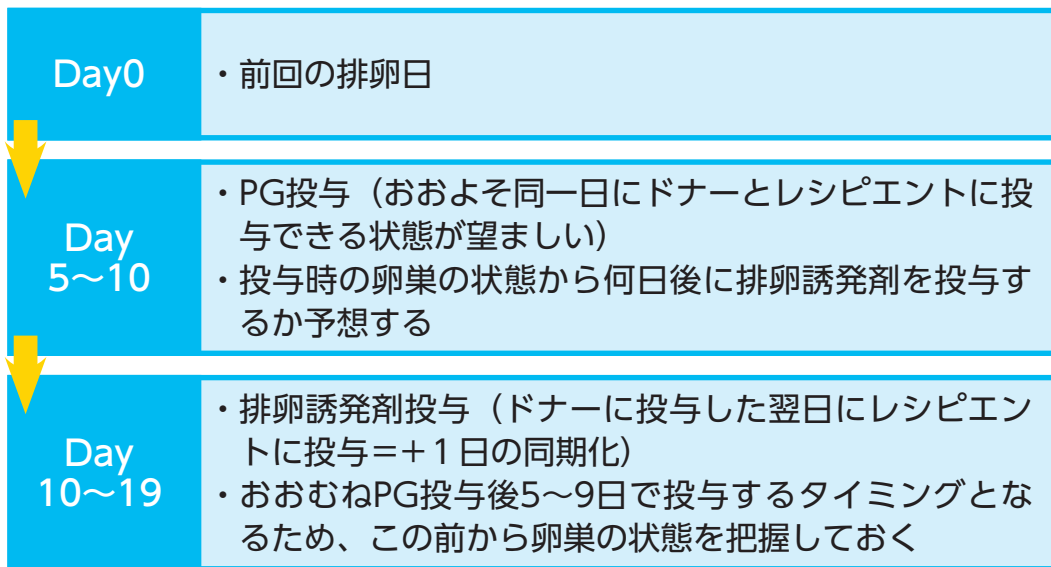
前述したとおり、ドナー・レシピエント間の発情周期の同期化のためにはPGのみではなく、hCGやGnRHなどの排卵誘発剤の使用も必要となる。

投与の詳しいタイミングはAIの資料に記した。

投与方法としては、hCGの場合は2000IUを

静脈内投与、GnRHの場合はデスロレリンとして0.6mgを筋肉内投与した。レシピエントへの排卵誘発剤の投与はドナーに投与した翌日に行った。

これらの製剤を用いることでレシピエントの排卵日をドナーの-1~+3日（特に+1~+2日が望ましい）に収めることが大切となる。

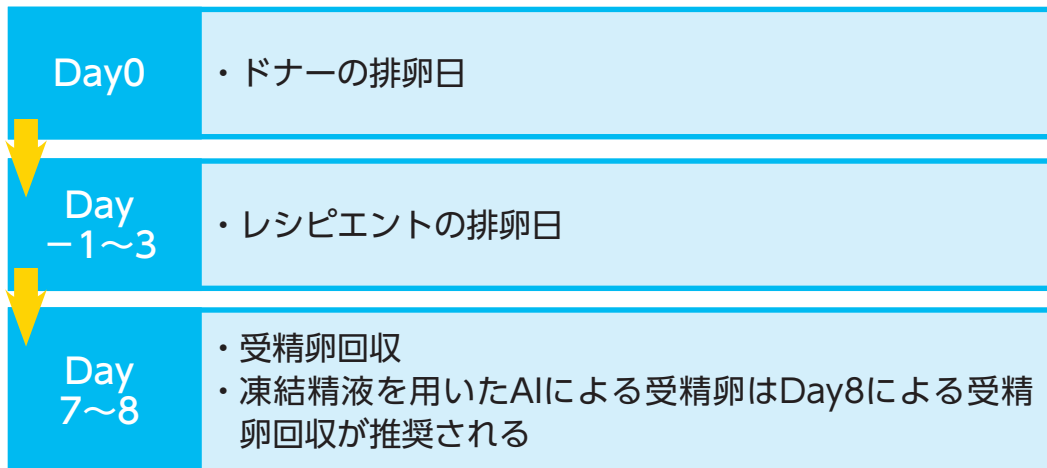


AIは排卵誘発剤投与の32時間後に行い、その後排卵確認を行った。

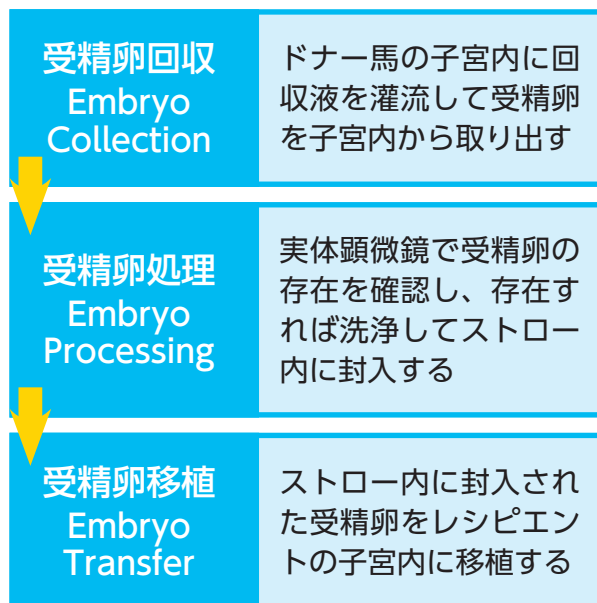
受精卵移植の手順

馬の受精卵は排卵後6～6.5日後に子宮に到達するといわれており、7～9日での回収率は排卵後6日での回収率よりも高いとされている。そのため、受精卵移植はドナーの排卵日の

7日または8日後に行った。また凍結精液を用いたAIによる受精卵の回収は通常の排卵後7日ではなく、8日後が推奨されている。



受精卵移植のおおまかな手順は下図の通りである。

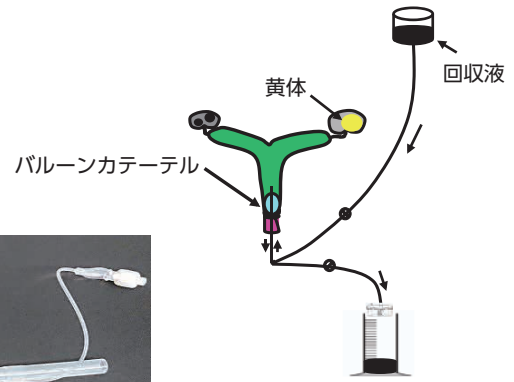


今回行った回収法は子宮からの非外科的な子宮頸管経由法である。

また使用した回収液は図のものである（エンブリオテック、日本全薬工業株式会社、福島県郡山市）。回収液は使用前に37℃に保温しておく。

馬（ドナー）を柙馬に保定したのち卵巣と子宮の所見をとり、AIの際と同じ方法で外陰部を消毒する。よく消毒したら、滅菌された直検手袋（本学ではEOガス滅菌を使用）でバルーンカテーテルを子宮内まで挿入する（この時カテーテルが子宮外に触れ子宮内を汚染しないように注意する。また、挿入する前にバルーンが正常に膨らむかを確認するとともに、カテーテル内を回収液で満たしておく）。





バルーンカテーテルを子宮内に挿入後、直腸検査によってバルーンの位置を確認しつつ膨らませ、カテーテルを子宮頸管頭側に固定する。カテーテルを子宮内に固定したら、図のようにカテーテルとチューブ、フィルターカップが正しく連結されていることを確認し回収作業を始める。

回収液をY字チューブとカテーテルを通して子宮内に灌流させ、可能な限りたくさんの回収液を子宮内にプールさせる。馬が不快感を示し

始めたのをみてY字チューブのクリップを操作し、子宮内にプールした回収液をフィルターに通過させる。受精卵が子宮内に到達していれば、受精卵は回収液とともに子宮から流出しフィルターで回収されるはずである。

なお、写真上ではフィルターを通った回収液はバケツに捨てているが、同一個体で回収液中に上皮細胞などの異物が過度に混入していない場合は再度回収液をバッグに戻し、再利用する方法もある。



使用した器具

- *バルーンカテーテル
(Jorgensen Laboratories, Inc CO, USA等)
- *Y字チューブ
(SPI-MFG, TX, USA等)
- *フィルターカップ
(70 um pore)
(EZ-Way Filter, SPI-MFG等)

北海道和種の場合、子宮に一度に灌流できる回収液量は個体にもよるがおよそ2L (1袋) であった。

図は操作後のフィルターカップの様子である。受精卵が回収できていた場合、受精卵はフィルターを通過しないため、カップ内にとどまり存在するはずである。

注意点として回収液の液面がカップの蓋につかないように必要以上に動かさないようにする必要はある。

今回子宮内への灌流は1度の回収につき3回行った（回収液はのべ約6L使用）。2回目の灌流が終わり次第一度フィルターカップ内を確認し、受精卵が採れていない場合に3回目の灌流を行った。その際はカップを別のものに交換し、3回目の灌流液を子宮から回収する際はオキシトシン25IUを筋肉内投与した。

完全な回収

Y字チューブとカテーテル内の回収液をすべて回収するためにバルーンカテーテルを右図のように高く上げる。

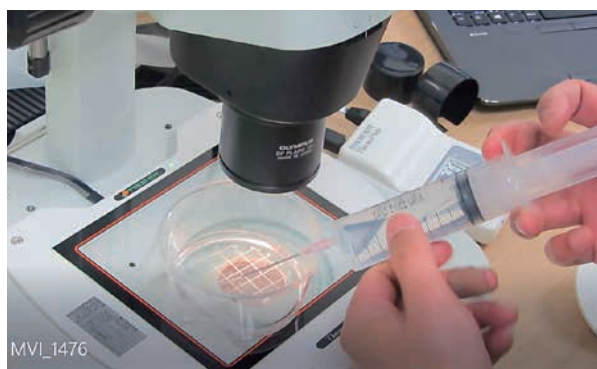
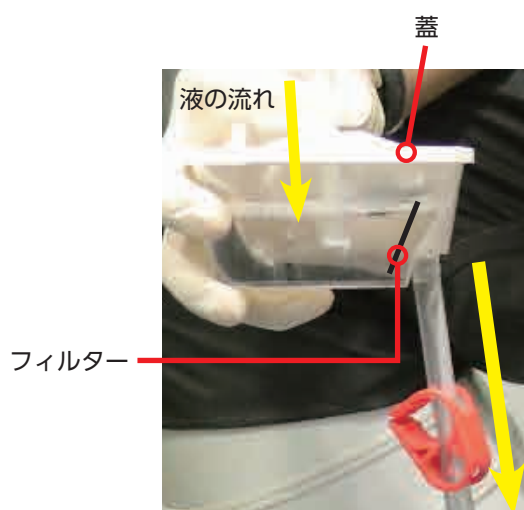
フィルターカップ内の側面に回収液をかけて洗浄する。

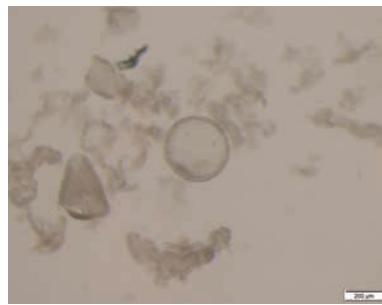
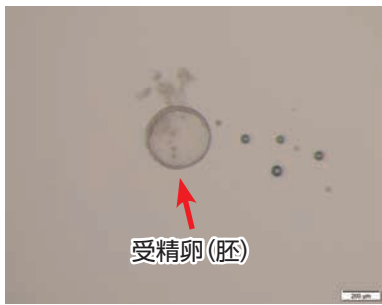
液体中を実体顕微鏡で観察する。

Day6~9に回収した受精卵はカップの底に沈んでいるはずである。受精卵が確認出来たらその大きさを測定し、ステージおよびグレードを評価する。

(G1 : Excellent、G2 : Good、G3 : Fair、G4 : Poor)

受精卵移植に適した大きさは直径150~1000 μm とされる。





確認された受精卵は下図の holding mediaを用いて、ペトリ皿上で5段階で洗浄する。

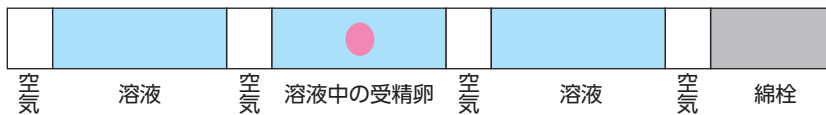


(holding media, ABT360, 1615 NE EASTGATE BLVD, SEC H PULLMAN, WA 99163 USA)

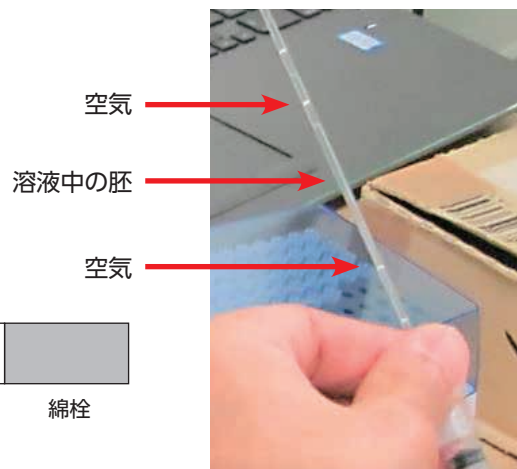


洗浄した受精卵を模式図のように0.25mLの滅菌されたストローに封入する。

この封入の仕方によって、受精卵を確実にレシピエントの子宮内に輸送できる。



ストローの模式図



3 新鮮受精卵の輸送方法

ストローに受精卵を封入したら、予め保温しておいた保温剤とストローを輸送容器の庫内に固定する。今回使用した輸送容器は右図のものである。適切な数の蓄熱剤を使用することで、庫内を20℃に維持しながらの輸送が可能となる。



馬卵子輸送容器 (EquOcyte, Hamilton BioVet)



定温輸送容器 (BioBox, スギヤマゲン)

輸送容器を持ち、飛行機や列車を乗り継いで目的地まで移動する。飛行機内へは手荷物として容器を持ち込んだ。

今回の輸送スケジュールの例を以下に示す。長野県木曾町を朝8時頃に出発し、飛行機や列車を乗り継いで約9時間で約1500kmの距離を移動する。



4 受精卵の移植方法

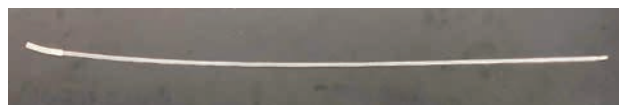
事前にレシピエントの卵巣および子宮の所見をとり、外陰部を洗浄、フルニキシメグルミン(1.1mg/kg)とメデトミジンを静脈内投与しておく。回収の同日中に目的地に到着し、受精卵移植用カテーテルによる非外科的手法で子宮体部に移植する。受精卵移植用カテーテルには右図のものを使用した。

このときレシピエントの子宮頸管を刺激するとPGが産生され移植後の妊娠が維持されにくくなるため、子宮頸管に過度に触れずに刺激しないようカテーテルを挿入した。事前のフルニキシメグルミン投与も同様の目的である。

移植から5日目又は6日目に超音波検査により初回妊娠診断を行った。



受精卵の直径800 μ m未満
牛用YTガン (Yamanetech Co., Nagano, Japan)



直径800 μ m以上
DIUI sheath for 0.25 ml straw, sterilized,
individually packed (Minitüb GmbH)

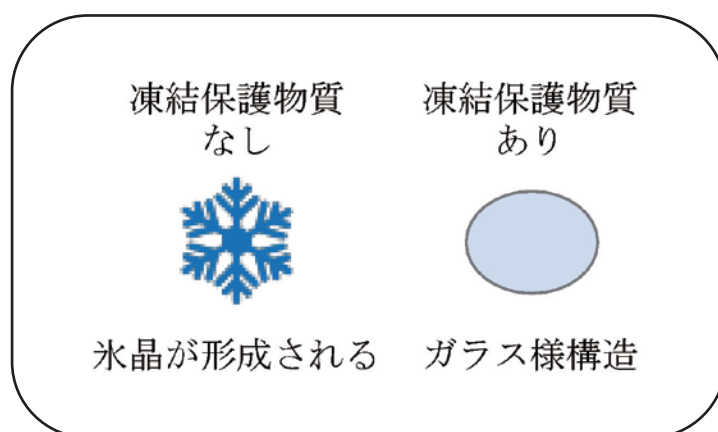
受精卵の凍結方法

1 従来の馬受精卵凍結方法

ガラス化

ガラス化は受精卵の超急速凍結法であり、特別な設備を必要としないため受精卵の保存方法として広く利用されている。受精卵を段階的に高濃度の凍結保護物質に浸漬することにより受精卵は脱水される。胞腔液が凍結保護液へと置換され「ガラス様構造」をとり受精卵はガラ

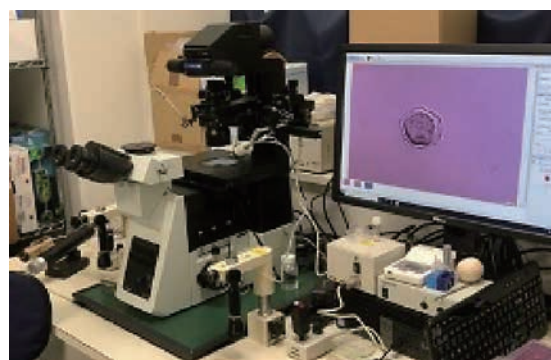
ス化される。これにより凍結時に細胞内に氷晶が形成されず、急な氷晶形成による受精卵の損傷を防ぐことができる。そのため、ガラス化はその他の凍結方法と比較して物理的なダメージが少ない。(Patrick M. McCue & Edward Squires, *Equine Embryo Transfer*, 2015)



直径300 μ m以下の小さな受精卵はよく脱水されるため、ガラス化の成功率が高いとされている。直径300 μ m以上の大きな受精卵は胞腔が大きく、栄養膜の外側が「カプセル」という馬受精卵に特異的な構造によって覆われているために、凍結保存が難しい。このような構造的特徴が凍結保護物質の受精卵内への浸透(胞腔液の凍結保護溶液への置換)と受精卵の収縮を困難にしている。

胞腔液を凍結保護物質へ置換し、馬の大きな受精卵をガラス化するために、カプセルと栄養膜をピエゾドリルにより穿孔する。本研究ではこれに加えてレーザーによる穿孔を行った。ピエゾドリルとレーザーによる穿孔を組み合わせることで、良好な成績を得ることができた。これらの手順には専門的な顕微操作装置が必要である。(Rajabi-Toustani, Watanabe *et al.*

2021)



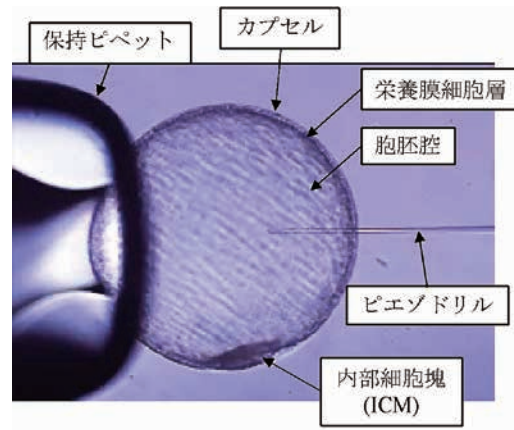
レーザー穿孔装置を搭載した
マイクロマニピュレーター

Lykos-DTS: Hamilton Thorne
PMM-150FU: Prime Tech

ガラス化前にこのような手順を経ることで、直径300 μ m以上の拡張期胚盤胞であってもガラス化が可能である。

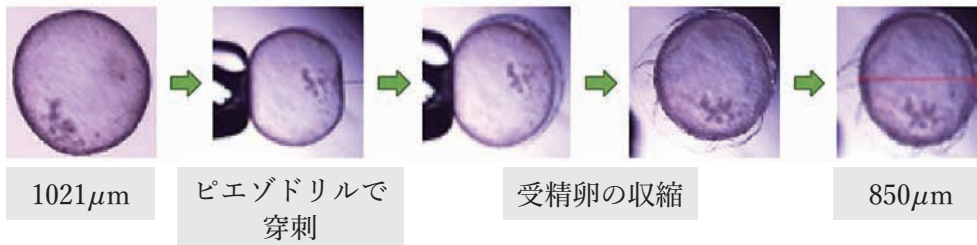
2 ピエゾドリルによる受精卵の穿孔法

受精卵を保持ピペットで吸引することで固定したのち、ピエゾドリルによりカプセルと栄養膜を穿孔する。この際、内部細胞塊(inner cell mass ; ICM)とその付近を穿孔しないよう注意する。穿孔後、受精卵が収縮するまで5分程度待つことが重要である。収縮しないまたは収縮が弱い場合は、1度目と同様の手順で2度目の穿孔を行う。



ピエゾドリルによる受精卵の穿孔

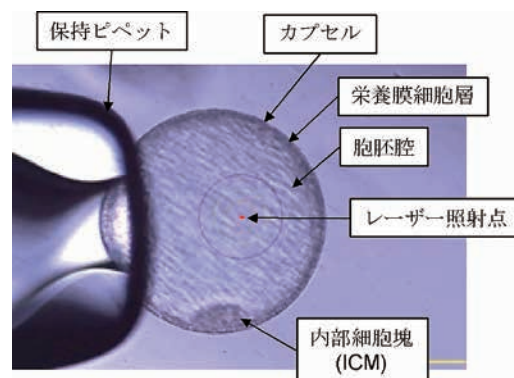
ピエゾドリルによる受精卵の穿孔と収縮の様子



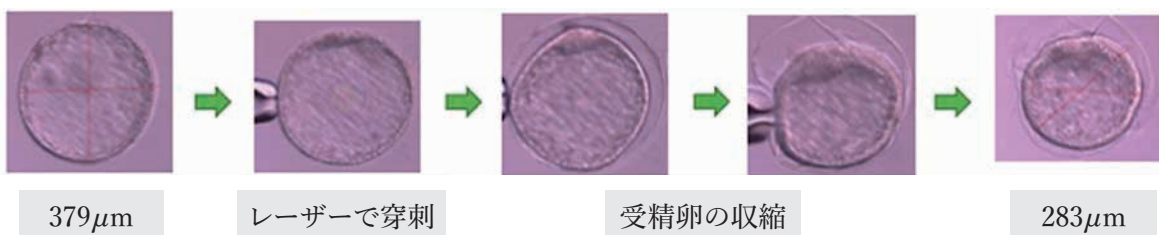
本研究ではDay8に回収された直径1021 μm の受精卵をピエゾドリルで穿孔し、直径850 μm にまで収縮させることができた

3 レーザー顕微鏡による受精卵の穿孔法

レーザーによる穿孔もピエゾドリルと同様の手順である。固定後、内部細胞塊付近を避けて照射部位を設定し穿孔を行う。



レーザーによる受精卵の穿孔と収縮の様子



本研究ではDay7に回収された直径379 μm の受精卵にレーザー穿孔を実施し、直径283 μm にまで収縮させることができた

4 凍結方法および加温・培養法

ガラス化・加温溶液

以下の溶液を予め作成しておく。

• 基本の溶液

Medium199(SIGMA life science)+1%ペニシリン・ストレプトマイシン溶液(Penicillin – Streptomycin Mixed solution, ナカライテスク株式会社) +FBS代替血清(US FetalClone III 500ml, Heat Inactivated、GE ヘルスケア・ジャパン株式会社)

• ガラス化溶液

Equilibration solution (ES):基本の溶液+7.5%エチレングリコール(EG:和光純薬工業株式会

社)+7.5%DMSO(和光純薬工業株式会社)

Vitrification solution (VS):基本の溶液+15%エチレングリコール+15%DMSO+0.5Mスクロース

• 加温溶液

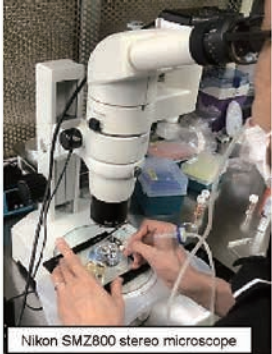
Thawing solution(TS):基本の溶液+1M スクロース(和光純薬工業株式会社)

Dilution solution (DS):基本の溶液+0.5M スクロース

Washing solution (WS):基本の溶液

凍結

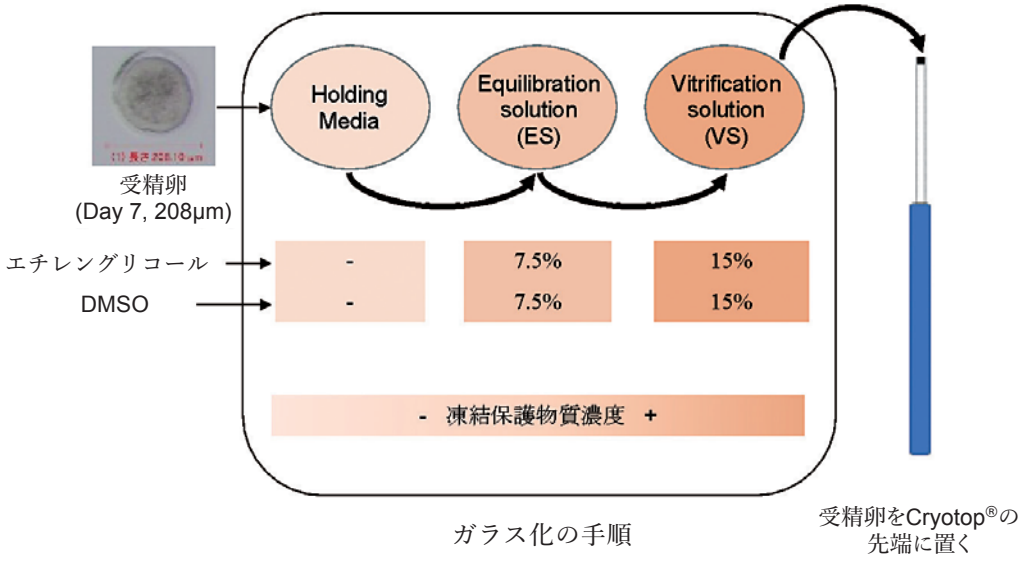
穿刺した受精卵を約5mlのESに移し、形態を顕微鏡下で観察しながら、十分に脱水されるまで浸漬する(最大20分間)。十分に受精卵が収縮したのち、約5mlのVSに移し、45秒程で受精卵凍結デバイス「Cryotop® (Kitazato Supply Co.)」に受精卵と最小限のVSを乗せ、液体窒素に入れる。受精卵をVSに入れてから液体窒素に入れるまでの時間は60秒とする。



ESとVSの中で
受精卵が凍結保護物質を吸収する



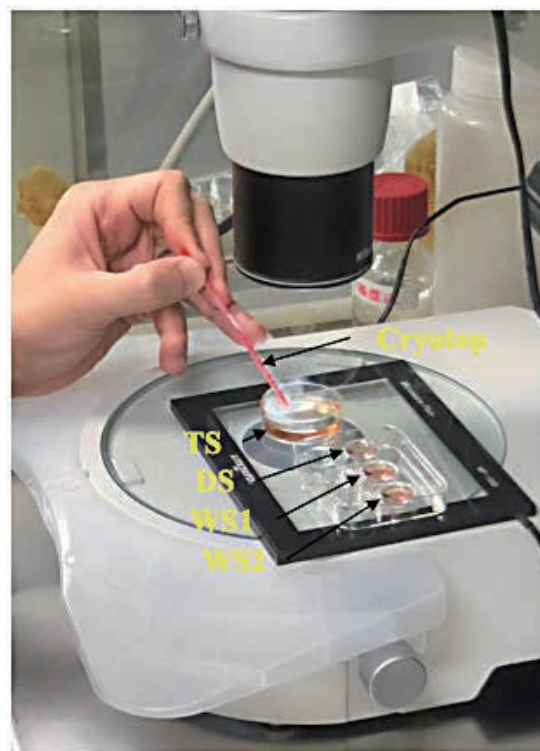
受精卵をcryotopの上ののせ、
液体窒素内へ投入する



加温

レシピエントの排卵後約6日目に移植を実施する。受精卵が乗ったCryotop® のキャップを外し、37℃に加温したTSに直接入れてCryotop®から受精卵を遊離させる。受精卵の形態を観察しつつ、1分間受精卵を浸漬する。そののち、細胞内へ急速に水分子が入り込むのを防ぐために、少量のTSとともに受精卵をDSへ移す。DSに3分間浸漬したのち、少量のDSとともに受精卵をWS1に移し、5分間浸漬する。最後に新しいWS1に移し、さらに5分間浸漬する。受精卵をWS1に入れたまま、37℃のインキュベーターに入れ、1時間培養する。培養した受精卵をHolding mediaに移し、移植を行う。

培養後も受精卵の大きさが元に戻らない場合、さらに24時間培養を継続してから移植を行う。



受胎しない理由とその対処法

なぜ受胎しないか

凍結精液を使ったAIでは、

①凍結精液の質、②牝馬のステータス、③牝馬のマネジメントが妊娠率に大きく影響を及ぼす。

1 凍結精液の質

精子が先体反応を起こすためには細胞内へのCa²⁺の流入が必要であるが、凍結、融解することによって細胞内のCa²⁺濃度が上昇してしまうため、Ca²⁺の流入が起こりづらくなる。凍結の方法や種牡馬の種類によって、融解後の受胎能力に差が生じる。ストロー内の精子数や運動性も大切ではあるが、その精液が凍結精液として受胎実績があるか否かが情報として大切である

と推察する。

下の表は、今回北海道和種9頭、日本スポーツホース種1頭、中半血種1頭に排卵誘発剤を静脈内投与したのちに行った発情期でのAIの結果を、使用した凍結精液ごとに分類した表である。今回使用した精液は全て、輸入凍結精液(コネマラポニー種)のものであった。

	受精卵回収		受精卵回収率
	+	-	
Stallion1	3	11	21.40%
Stallion2	14	16	46.70%
Stallion3	5	20	20%

表：使用した凍結精液と受精卵回収率

2 牝馬のステータス

J.C. Samperの研究によれば、7歳以下の未経産馬、8歳以上の未経産馬、子馬のいない馬、子馬がいる馬の排卵後14日目での妊娠率はそれぞれ、68.8、37.2、56.2、59.3%であった。また、牝馬の年齢は受精卵回収率に影響を及ぼすといわれる。

凍結精液を用いたAIを行うときは、その前に必ずその馬の発情周期を観察して、若い未経産馬以外は子宮内の細胞診や細菌培養を行うべきである。若くても子宮内に貯留液が見られる場合も同様の診断を行うべきである。

細菌検査や細胞診で異常が見られた場合の馬の治療は、本来の抗菌活性の高い発情期にすべきであり、処置後も貯留液がないか必ず確認すべきである。また処置後、排卵した5~7日後にPGを投与し、発情を回帰させるべきである。(子宮内感染が疑われ処置後最初の発情での妊娠率は38.5%と低い)

3 牝馬のマネジメント

前項に挙げた牝馬の年齢や細菌感染などは受精卵回収率を低下させる大きな要因であるが、若齢で顕著な繁殖障害が無いような状態の良い牝馬であっても繰り返し受精卵が回収できないことがある[M. L. H. Campbell 2014]。

①受精卵回収の繰り返し

子宮灌流による内膜への刺激が急性の子宮内膜炎を引き起こし、それを繰り返すことが慢性の退行性変化に繋がると考えられている[Hoffman *et al.* 2009]。他にも、ドナーとして使われる牝馬自身は出産しないために子宮頸管の拡張能力が弱くなり、子宮内の自浄能力が低下して子宮内膜炎になりやすくなるという可能性も指摘されている。

②発情周期の調整の繰り返し

生殖補助医療では正確に発情周期を調整するためにしばしばPGが投与される。PG投与により子宮が低プロゲステロン高エストロジオール環境に十分暴露されないまま排卵してしまうことは、初期の胚発生過程に悪影響を及ぼす可能性がある。しかしPG投与は広範に行われているため、大きな問題ではないと考えられる。

③熱ストレス

Mortensenら は[Mortensen *et al.* 2009]、同一馬群において高温多湿環境下で運動を行

い体温が上昇した期間と非運動期間の受精卵回収率を比較した。前者では34%、後者で63%となり、環境や運動による熱ストレスは回収率を低下させることが示唆された。

④運動ストレス

馬では、運動のストレスにより血中コルチゾール濃度が上昇することが知られている。コルチゾール濃度の上昇は血中の黄体形成ホルモン濃度を低下させるため、排卵の遅延や排卵間隔の延長を引き起こす[Kelley *et al.* 2011; Smith *et al.* 2012]。

Smithらによると[Smith *et al.* 2012]、軽種馬にAIと受精卵回収を行ったところ、受精卵回収率は運動群で43%、非運動群で67%となった。この研究では、運動は受精卵回収率を低下させるというだけでなく、特に排卵前後期間の運動が受胎の過程へ悪影響を及ぼす可能性が指摘されている。

⑤輸送ストレス

輸送は短距離の移動であっても血中コルチゾール濃度を上昇させるため、運動と同様に受精卵回収率を低下させる要因となりうる[Fazio *et al.* 2008][Fazio *et al.* 2013]。また、黄体期と非発情期における輸送で強いストレス応答が確認されている[Tischner *et al.* 2006]。

まとめ

今回どさんこ、乗用馬へのAIを行い、52回の受精卵回収を試み、合計19個の受精卵を回収した。

今回、乗用馬のドナーとして使用した牝馬の多くは現役の乗用馬や競技馬として使用されていたため、供試期間中に強度の高い運動や大会への出場、輸送などを行っていた。

精液性状の不良、牝馬の低ボディコンディション、子宮内膜炎といった顕著な低受胎率の原因が認められる際はまずその原因を取り除くべきであるが、原因のわからない不受胎が連続する場合は、上記のストレスなどについてのマネジメントを考慮する必要があると考えられている。

若馬の馴致方法紹介

1 馬と人との信頼関係

人に触られるのを、馬が抵抗なく受け入れられるようになることは、乗用馬、セラピーホース、競走馬など、すべての馬に最低限必要なことです。

信頼関係を築く第一歩として、子馬の時から日常的な手入れを通じて、馬とコミュニケーションをとることを心掛けましょう。ブラシをかけたりする普段の手入れの時間も信頼関係を作るのに大切な時間で、手入れをする中で馬はリラックスし、人との作業でも緊張感や警戒心が下がります。この毎日の積み重ねが馬と人間の上に信頼関係を生み、人のそばにいる時の馬の行動が落ち着いてリラックスしたものになります。理想は毎日ですが、人手や仕事量によっては毎日子馬の手入れをする時間を確保することが難しい場合は、1週間に1回は集中的に子馬に触る時間を持つようにすると良いでしょう。

子馬のブラッシングについては、いきなり固いブラシだと嫌がる馬もいるので、最初は柔らかいブラシを使ったり、手で全身をくまなく触るようにするだけでも良いでしょう。子馬に物理的な接触・刺激に慣れさせるという意味もあります。

また、子馬の頃から尻尾を掴んで上にあげる練習をしておきましょう。尻尾を掴まれるのを嫌う馬もいて、検温など（健康管理の為の作業中）の際に、後ろ脚で蹴られて怪我をする可能性もあります。人に触られるのを、馬が抵抗なく受け入れられるようになることは大事なことです。馬を扱った経験が無い初心者の人は、馬を撫でようとして急に手を出したり、近付いてきたりするなど、経験者から見ると危ないと思うような行動をとってしまう恐れがあります。事前に体を触られることに慣らしておくことで事故や怪我を防ぐことができます。まったくの初心者や子供を乗せる扱いやすいセラピーホースとして利用する場合は、馬のどこを触っても、蹴らない、噛まないようにすることが必要です。体を触られることに慣れていない、あるいは苦手な馬は、そのプレッシャーから逃れるために、突然動いたり、後ろ脚で蹴るなどの反応が出てしまいます。1歳馬になると、サラブレッドなどの品種は体格も大きくなり、後ろ脚で蹴られれば人馬ともに怪我の危険があります。成長して体が大きくなってからは人間よりはるかに力が強くなるので、できるだけ早い時期から取り組み、本格的に人と関わる1歳くらいまで継続することが大切です。

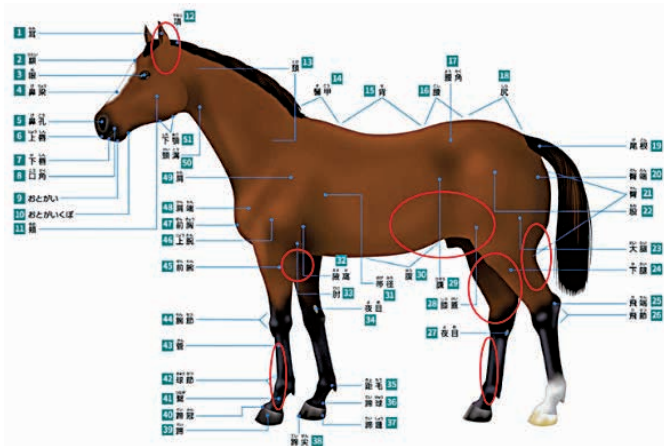
もちろん、すでに成長した馬であっても、人が触ることに慣れさせることは可能です。馬の性格によっては2、3日ですぐに慣れることもあれば、1か月～半年の長い時間がかかる馬もいます。馬の許容範囲や寛容さの違いもありますが、もともと馬は臆病で警戒心の強い動物です。一方で、賢くて学習能力の高い動物でもあるため根気よく繰り返していくことでたいていのことは次第に慣れていくものです。

馬の品種や馬の性格によって変わってきますが、図に○で示した箇所は触られるのが苦手な馬が多いので、子馬のうちから慣らしておく良いでしょう。

例：ひばら、腹、肘の内側、膝より下の管骨、うなじ（無口やハミをつけるのに耳の後ろになにか掛けることに慣れていると良い）など、皮膚が薄い、皮膚の下がすぐ骨、筋肉や脂肪があまりついて

いないところは嫌がることが多いです。R4年度に畜大で生まれた日本在来馬の木曾馬の子馬は、生まれた時からおとなしく、どこを触っても嫌がらない馬でした。これは個体差がありますが、サラブレッドなど繊細な性格の馬は図で示した箇所を触られるのを嫌がる馬も多い印象です。最初嫌がった

としても、毎日触っていれば慣れてくるので、とにかく継続して人が馬に触っていることが大切です。



競走馬・馬体の名称 JRAより
<https://www.jra.go.jp/kouza/thoroughbred/mechanism/body/>



2 何をする時でも、右からでも左からでも同じことができるようにする

どんな状況でも対応できるように、馬が驚いたり警戒しそうなことは、あらかじめ馴致調教で慣れさせておくことでより安全な乗馬を提供することが出来るようになります。セラピーホースとして乗馬会で初心者や障がい者の方を乗せる場合、いろいろな障がいを持った方々の予期せぬ症状や行動に対応できるように、馬を左右の両側からコントロールできることが欠かせません。

馬を曳く場合は、左側で曳くのが一般的です。馬装や騎乗も左側からすることが一般的になっています。しかし、馬の右側に立って曳き馬をしたり、右側からの馬装や騎乗も問題はありません。調教の際は、右側に立って曳き馬をしたり、右側から乗る練習なども取り入れると良いでしょう。

馬は左側からのアプローチには慣れていますが、馬は左側で完璧に出来るからといって、右側からでもすぐにできるようになることはありません。どんな馬でも右側からのアプローチも一から教えておかなければなりません。そうでなければ、右側から何かされるのを嫌がる馬になってしまいます。したがって、馬の左右からアプローチすることを、日頃から馬に意識づけしておく良いでしょう。馬は小さな向きの変化などにも良く気づくし、見る角度が変わると、それが人間には同じ動き（単純に左右を逆転した動き）だと思ふことも、馬にとっては全く別のもので感じられるのです。馬を馴致調教する担当者は、馬の目線で考えて右と左で同じことが出来るよう馬に教えておくことが大切です。

なぜなら、セラピーホースと



して身体障がい者を乗せようとしたときに、不自由な箇所によっては右側から騎乗した方が良い場合も考えられますし、乗馬会の時に馬を曳く担当者が馬場の中心に立つインストラクターの指示が聞きやすいように、馬の右側に立って曳き馬をする（時計回りで馬場を回る場合内側に立つ）ことがあるからです。またサイドウォーカーが馬の左右について歩くため、右側のサイドウォーカーが乗り手の補助をする際に馬の右側で安全に活動することができるようになります。

3 若馬の馴致調教の考え方

馬の調教方法について、このやり方でやれば絶対にできる、というようなことは残念ながらありません。どれが正解でどれが間違いということもありません。馬の馴致調教は、色々なひとの考え方や方法があり、また調教する人間の性格・体力・腕力や、馬の性格などによっても合うやり方は違ってきます。馬の性格や行動の理由を探り、馬との接し方を振り返りながら、自分と馬に合った方法を見つけていく必要があります。馬のトレーニングについての新旧様々な技術に触れ、それを自身にどう適用し、馬との関係づくりにどのように役立てていくのかを柔軟に考えることが大切です。いろいろな人のやり方に触れ、本や動画を参考にしたり、トレーナーの講習会に参加して実際に自分自身で体験してみてください。

【おすすめの書籍】

馬のきもち HOW TO THINK LIKE A HORSE チェリー・ヒル (著), (発行)エクイネット

馬のこころ 脳科学者が解説するコミュニケーションガイド ジャネット・L・ジョーンズ (著), 尼丁千津子 (翻訳)

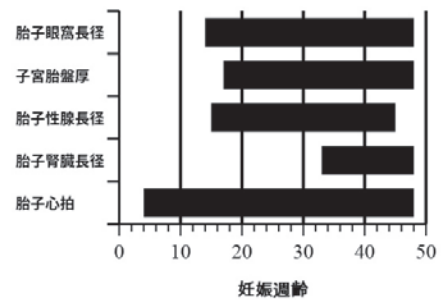
4 プレッシャー&リリース ～馬の調教は頭のトレーニング

調教とは、馬に意識づけしていくことです。馬の調教ではプレッシャー&リリースでいろいろなことを条件付けします。

特に大事なのはプレッシャーをリリースするタイミング（瞬間）です。適切なタイミングでリリースしなければ、馬は今、何を求められているのかを理解できません。草食動物である馬はプレッシャーに立ち向かうのではなく、本能的にそれから逃れるように考えて行動する動物です。人間が何かの行動を取らせることを目的に馬にプレッシャーを与える時、馬が人間の指示通りに従えばプレッシャー（不快な事）が与えられない、リリース（安全で快適な環境）が与えられるという事を理解することが大切です。最初から完璧を求めると失敗してしまうので、ちょっとでも人が望むような行動をしたらその瞬間に即リリースすること。出来ていない場合は絶対にリリースしないことが重要です。リリースするタイミングを間違えれば、馬は人間が間違っただけで教えたことも、あまりに素早く学習してしまうでしょう。段階を踏んで、このリリースを明確に示すことが重要です。

北海道和種の妊娠全期間胎児検査法と流産予知

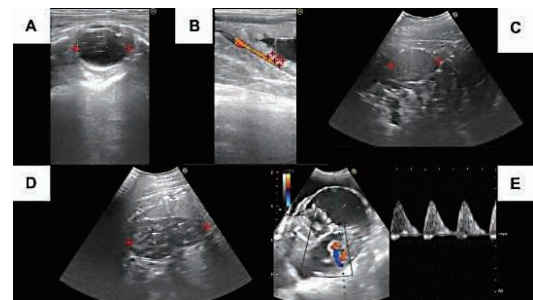
馬の妊娠期間は平均335日と言われている。妊娠期間の胎児の健康をモニタリングすることは安全に出産を迎えるうえで最も重要な事である。馬の妊娠期間は大きく分けて妊娠開始から妊娠240日、妊娠240日から妊娠300日および妊娠300日から出産まで三つの期間があり、それぞれの期間において注意すべき点が異なる。また妊娠全期間の胎児検査手段として、経直腸および経腹壁超音波胎児検査法（胎児眼窩長径、胎児心拍、子宮胎盤厚、胎児性腺長径、胎児腎臓長径）と母体ホルモン測定法（プロジェステロンとエストラジオール濃度）がよく使用される（Gao *et al.* 2022）。



妊娠全期間胎児検査指標検査可能期間

妊娠開始から妊娠240日

胎児生存を判断する一番重要な指標として胎児心拍がある。胎児心拍は妊娠5週から経直腸より胎児の心臓および臍帯から測定することが出来る。妊娠9週からピークになり、その後出産まで段々下降する。眼窩長径は馬の大きさをあわす最も測定しやすい胎児成長指標として、妊娠10週から出産まで、経直腸より測定できる。胎児眼窩長径は胎齢が進むに連れて大きくなる。子宮内ストレスや子宮内感染により胎児の成長は制限され、眼窩長径の成長速度も遅くなる。子宮胎盤厚は胎盤機能を評価する指標の一つであり、また馬の流産を予知する重要な指標である。妊娠13週から出産まで経直腸より測定でき、胎齢が進むに連れて厚くなる。



A胎児眼窩長径、B子宮胎盤厚、C胎児性腺長径、D胎児腎臓長径、E胎児心拍測定

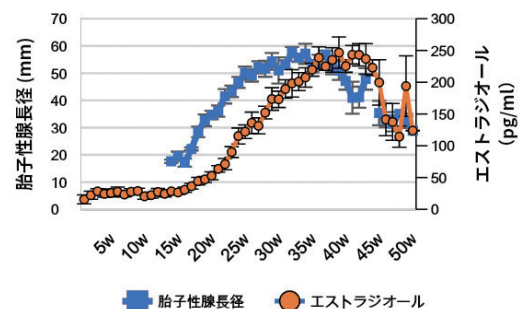
また妊娠6週から母体の卵巣における副黄体の生成を測定することが出来る。副黄体の生成にはかなり個体差があり、副黄体の数は1個から5個以上見られることもある。そのため、この時期の母体血中プロジェステロン濃度およびeCG濃度にもかなりのばらつきが見られる。しかしながら、副黄体の生成による胎児の成長への影響は今のところ見られていない。

妊娠50日から妊娠100日の期間は胎児性別判断に最も適した時期である。2Dおよび3D超音波検査により胎児生殖突起と臍帯および後肢との位置関係から胎児の性別を確認することが出来る。妊娠100日以降は胎児のサイズが大きくなるため、生殖突起による性別判断は困難となる。

妊娠240日から妊娠300日

この時期はもっとも流産発生率が高い時期である。上行性胎盤炎は流産を起こす要因の一つである。定期的な超音波検査とホルモン測定は上行性胎盤炎を早期発見するための有用な方法である。子宮胎盤厚の異常な上昇あるいは浮腫並びにプロジェステロン濃度の上昇は上行性胎盤炎を示唆する。早期に上記の流産兆候を発見することが治療の成功率に大きく影響する。

またこの時期では胎児性腺と胎児腎臓は経腹壁超音波検査により検査出来る。胎児性腺と母体エストラジオール濃度の間には正の相関が見られた。



胎児性腺長径と母体エストラジオール濃度は正の相関を示している

妊娠300日から出産

胎児性腺はこの時期ではサイズがかなり小さくなり、測定が困難になる。胎児の目と腎臓は妊娠後期における重要な成長指標になる。母体血中プロジェステロン濃度の上昇が見られ、分娩前では一気に下降する。またエストラジオール濃度は徐々に下降する。

「受精卵による障がい者乗用馬等の生産法確立事業」で得られた成果発表

論文発表

- Evaluating the use of piezo manipulator, laser or their combination for blastocoel cavity puncture to improve cryopreservation outcomes of large equine embryos. Rajabi-Toustani R, Watanabe H, Tsogtgerel M, Gao Y, Canbo L, Haneda S, Cheong SH, Nambo Y. *Reprod Domest Anim.* 2021 Oct;56(10):1358-1362.
- Ultrasonographic examination of equine fetal growth parameters throughout gestation in pony for Equine-Assisted Therapy. Gao Y, Hannan MA, Murata K, Rajabi-Toustani R, Nambo Y. *J Vet Med Sci.* 2022 Jan 7;84(1):74-81.
- First Kiso pony foal produced via transfer of long-distance shipped fresh embryo to Hokkaido native pony. Reza Rajabi-Toustani, Munkhtuul Tsogtgerel, Yuanzhi Gao, Canbo Li, Miou Sakato, Shingo Haneda, Soon Hon Cheong and Yasuo Nambo. *J. Reprod Dev.* In press

学会発表

- 小格馬やおとなしい乗用馬の積極的利用について考えよう！一馬の多様な利活用を推進する一を企画、「受精卵移植による馬の生産法確立と展望」（南保泰雄 2020年日本ウマ科学会 オンライン）
- 受精卵移植によって受胎した北海道和種馬の超音波診断装置による妊娠全期間胎子検査指標（高遠之 2020年、163回日本獣医学会学術集会、オンライン）
- 馬の生殖補助医療と繁殖特性（南保泰雄 2021年、第62回日本卵子学会 2021発表、オンライン）
- Improvement of equine embryo cryopreservation via laser assisted micromanipulation (Reza Rajabi, 2021年 CRYO、オンライン)
- ブルーライトマスクによる北海道和種雌馬の春季繁殖移行期における早期排卵誘発(高遠之、2021年、第164回日本獣医学会学術集会、オンライン)
- Horse Embryo Transfer and Cryopreservation (南保泰雄 2021年、the Korean Society of Animal Reproduction and Biotechnology, オンライン)
- レーザー穿孔とピエゾドリル技術によるウマ受精卵のガラス化保存法の成功（李燦波、2021年日本ウマ科学会学術集会、オンライン）＝優秀発表賞受賞
- 受精卵の遠隔輸送による希少日本在来種馬生産法の確立（坂戸美桜、2021年日本ウマ科学会学術集会発表、オンライン）
- Successful Cryopreservation of Large Equine Embryos Using a Combination of Laser Assisted Technology and Piezo Manipulator Resulting in Pregnancy. (南保泰雄、2022, international Congress on Animal Reproduction, Bologna, Italy)
- 木曾馬受精卵の室温遠隔輸送による子馬生産の成功（坂戸美桜、2022年日本獣医学会学術集会、オンライン）
- 北海道和種馬の妊娠全期間における母体子宮動脈血流指標の変化（高遠之、2022年日本獣医学会学術集会、オンライン）
- 移植成功率の高いウマ胚盤胞期胚の凍結保存法の確立（渡部浩之、2022年日本ウマ科学会学術集会、）



本パンフレットは、日本中央競馬会特別振興資金助成事業「受精卵による障がい者乗用馬等の生産法確立事業」の情報発信事業として作成されています。

執筆者

南保 泰雄（帯広畜産大学臨床獣医学分野産業動物獣医療学系 教授）
羽田 真悟（帯広畜産大学臨床獣医学分野産業動物獣医療学系 准教授）
渡部 浩之（帯広畜産大学家畜生産科学分野生命科学系 准教授）



発行

国立大学法人北海道国立大学機構 帯広畜産大学

〒080-8555 北海道帯広市稲田町西2線11番地
帯広畜産大学 畜産フィールド科学センター 馬介在活動室