

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：12702

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K01193

研究課題名(和文)ニホンオオカミとイヌとの交雑種?いわゆるヤマイヌの存在を探る動物考古学的研究

研究課題名(英文)Osteological and genetic analysis of Jamainu specimens from the point of view of the crossbreed events between Japanese wolves and domestic dogs

研究代表者

石黒 直隆 (Ishiguro, Naotaka)

総合研究大学院大学・先端科学研究科・客員研究員

研究者番号：00109521

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ニホンオオカミは古くからオオカミやヤマイヌと呼ばれてきた。江戸時代にシーボルトが蒐集した標本も含め海外の博物館に保管されている標本6点と日本で確認されたニホンオオカミの標本についてミトコンドリア(mt)DNA解析を行った。その結果、シーボルトのヤマイヌと呼ばれた標本のmtDNAは、ニホンオオカミ型であった。一方、ヤマイヌの標本は、形態的にニホンオオカミと少し異なることから、イヌとの交雑の可能性を強く示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

シーボルトが蒐集した標本を含めて海外の博物館に保管されているニホンオオカミの標本のmtDNA解析は、本研究が初めてである。これまでシーボルトコレクションのヤマイヌの正体は不明であったが、本研究によりヤマイヌはニホンオオカミ型のmtDNAを有することが明らかとなった。これにより、当時ヤマイヌと呼ばれていた動物は、ニホンオオカミがあるいはイヌとの交雑種であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Japanese wolves (*Canis lupus hodophilax*, Temminck, 1839) has been called as Ookami or Jamainu. We examined mitochondrial DNA (mtDNA) sequences from five Japanese wolf specimens found in Japan, three specimens from Museum fur Naturkunde in Berlin and three specimens (Jentink a, Jentink b and Jentink c) in Siebold collection of Naturalis Biodiversity Center in Leiden. The mitochondrial genome of the type specimen of *hodophilax* (Jentink c) called as Jamainu in the Siebold collection was included in the cluster of Japanese wolves. Although mitochondrial lineage of Jentink c is Japanese wolf, the morphological features and the size of Jentink c specimen are different from those of other Japanese wolves indicates that the crossbreed events between Japanese wolves and domestic dogs might be occurred in the past.

研究分野：動物考古学

キーワード：ニホンオオカミ イヌ ミトコンドリア DNA 系統解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 絶滅した日本のオオカミの標本とこれまでの経緯

明治中期まで、北海道にはエゾオオカミ (*Canis lupus hattai*, Kishida 1931) が、本州、四国、九州にはニホンオオカミ (*Canis lupus hodophilax*, Temminck 1839) が棲息していた。ニホンオオカミの剥製は、国立科学博物館、東京大学農学部、和歌山県立自然博物館、オランダ・ライデン自然史博物館 (Naturalis Biodiversity Center in Leiden) に4体存在する。ニホンオオカミのタイプ標本は、ライデン自然史博物館に保管されている標本で、江戸時代に長崎出島に滞在したドイツ人医師シーボルトが日本滞在中に蒐集 (シーボルトコレクション) し、オランダに送ったもので、当時のライデン博物館館長の Temminck により *Canis hodophilax* と命名されたものである。シーボルトは、当時「ヤマイヌ」と呼ばれていた動物を「オオカミ」と区別して飼育し、その後オランダに送ったが、幾つかの手違いより、それを受け取った Temminck は、シーボルトから送られた標本 (頭骨3標本と1体の剥製標本) を一括して *Canis hodophilax* と命名した。この命名が、長年、ニホンオオカミの分類学上の混乱を招いてきた。ライデン自然史博物館には、現在、3点の標本 (Jentink a, Jentink b, Jentink c) と1体の剥製標本が存在する。

(2) 「オオカミ」と「ヤマイヌ」の呼び名

ニホンオオカミは、古くから「オオカミ」、「オイヌ」、「オカメ」、「ヤマイヌ」など地域によっては、いろいろな名前と呼ばれてきた。当時、それらを区別する明確な基準はなかった。しかし、江戸時代は本草学 (小野蘭山の「本草綱目啓蒙」に代表される中国の薬学: そこでは「狼」オオカミと「豺」ヤマイヌを区別していた) の影響もあり、シーボルトは「オオカミ」と「ヤマイヌ」を異なる動物と認識し、長崎出島で飼育してオランダに送ったようである。

(3) ニホンオオカミに関する形態的および遺伝学的研究の経緯

Temminck による *Canis hodophilax* との命名後、国内の研究者においても形態的な計測から *Canis lupus hodophilax* ではなくて、ニホンオオカミは日本の固有種としての *Canis hodophilax* の学名が支持されてきた。一方、石黒ら (Zool. Sci. 26, 765 - 770, 2009) は、ミトコンドリア DNA (mtDNA) の解析から、ニホンオオカミは、固有種ではなく、タイリクオオカミの一亜種であることを明らかにした。シーボルトが記載した「ヤマイヌ」は、ニホンオオカミとは異なる動物なのか? また、ニホンオオカミは、日本の固有種なのか? が議論されてきた。

2. 研究の目的

シーボルトは、大阪天王寺で「オオカミ」と「ヤマイヌ」を異なる動物として認識し購入した。Temminck は、シーボルトから送られた標本を固有種として *Canis hodophilax* と命名した。また、日本の研究者の中にも、この学名を支持して固有種としてきた。シーボルトが残した「ヤマイヌ」の標本は、遺伝的にどのような動物だったのか? が長年疑問とされてきた。本研究の目的は、これまでの研究の経緯を基礎に、「ヤマイヌ」は、ニホンオオカミと同じ動物であるのか? ニホンオオカミとは別の動物であるのか? あるいはニホンオオカミとイヌの交雑種であるのか? を遺伝的に明らかにすることである。特に以下の点に関して詳細に検討した。

(1) シーボルトが「ヤマイヌ」とした骨標本は、ニホンオオカミの通常の骨標本と比べると小型であり、イヌとの交雑の可能性があることから、骨標本の形態的な特徴について詳細に調査した。

(2) 遺伝的には、mtDNA の D-loop の 600bp 解析と mtDNA ゲノム解析から「ヤマイヌ」とされる標本を遺伝学的に分析した。

(3) イヌとニホンオオカミとの交雑の可能性については、核ゲノム解析にて検討した。

3. 研究の方法

(1) 解析した海外の骨標本: ライデン自然史博物館に保管されているシーボルトコレクションの骨標本3点 (Jentink a: RMNH.MAM.39182, Jentink b: RMNH.MAM.39183, Jentink c: RMNH.MAM.39181) とベルリン自然史博物館 (Museum für Naturkunde in Berlin) の骨標本3点 (ZMB_Mam_22326, ZMB_Mam_42983, ZMB_Mam_48817) を解析した。

(2) 国内の骨標本: 2017年~2020年に解析したイヌ科の骨標本10点である。

(3) 形態的計測: 基本的には、頭蓋骨と下顎骨を中心に形態的な計測と特徴を調査した。頭蓋骨は、最大頭骨長、基底最大長、頬骨幅、吻幅で、下顎骨は、上顎第4前臼歯長と下顎第1臼歯長であり、これまで報告されている計測値を参考とした。また、ニホンオオカミの特徴とされる口蓋骨後縁正中部の湾入、頭蓋骨の左右の前翼孔の分岐と鼓室胞の扁平の状態を調査した。

(4) mtDNA の解析と系統解析：骨標本から骨粉を採取後、常法に従って骨に残る残存遺伝子を分離・精製し、PCR 法にて mtDNA の D-loop600bp を増幅した。増幅した mtDNA からニホンオオカミの特徴を判別すると共に、8 塩基の挿入/欠失の有無によりグループ A(挿入)とグループ B(欠失)に分別した。また、mtDNA ゲノムについては、次世代シーケンサにて解析し、近隣接合法による系統解析から、イヌやタイリクオオカミとの遺伝的な関係を明らかにした。

4. 研究成果

(1) シーボルトコレクションの骨標本の解析：解析した標本 3 点の結果を表 1 に示した。

3 つの骨標本の内

Jentink a は以前から指摘があるように mtDNA 型はイヌ型であった。一方、Jentink b と Jentink c はニホンオオカミ型であり、8 塩基欠失を示すグループ B であった。頭蓋最大長が通常のニホンオオカミと比べて小さい Jentink c の mtDNA がニホンオオカミ型を示したことは、ヤマイヌという特別な動物は存在しなかったことを示している。その一方で、mtDNA は母系遺伝することから、ヤマイヌ(Jentink c)は、ニホンオオカミの血を引いているものの、ニホンオオカミ自体なのか？あるいはイヌとニホンオオカミの交雑によるものなのか？は、核ゲノム解析の結果を待たねばならない。(最近の核ゲノムの解析から、Jentink c 標本はニホンオオカミとイヌとの交雑種であることが明らかとなった。)

表 1. オランダ・ライデンの国立自然史博物館のニホンオオカミの骨標本 3 点

標本番号	RMNH.MAM.39182	RMNH.MAM.39183	RMNH.MAM.39181
標本略名	Jentink a	Jentink b	Jentink c (タイプ標本)
分類	イヌ	ニホンオオカミ	ヤマイヌ
頭蓋骨最大長 mm	209.5	223	186
下顎 第 1 臼歯長 mm	20.5	26	20
口蓋骨後縁正中部	わずかに突出	湾入	湾入
mtDNA 型	イヌ型	ニホンオオカミ型	ニホンオオカミ型
8 塩基の挿入/欠失		欠失(グループ B)	欠失(グループ B)

存在しなかったことを示している。その一方で、mtDNA は母系遺伝することから、ヤマイヌ(Jentink c)は、ニホンオオカミの血を引いているものの、ニホンオオカミ自体なのか？あるいはイヌとニホンオオカミの交雑によるものなのか？は、核ゲノム解析の結果を待たねばならない。(最近の核ゲノムの解析から、Jentink c 標本はニホンオオカミとイヌとの交雑種であることが明らかとなった。)

(2) ベルリン自然史博物館の骨標本の解析：解析した標本 3 点の結果を表 2 に示した。

ベルリン自然史博物館に保管されている骨標本の 3 点は、形態的にはニホンオオカミのサイズである。3 点の骨標本の内、1 点を除いて mtDNA 分析ではニホンオオカミ型を示した。標本 22326 は 8 塩基の挿入を有するグループ A であり、標本 48817 は 8 塩基を欠失したグループ B であった。また、ベルリン自然史博物館には、標本 48817 のものと思われる毛皮が保管されており、保存状態も良好であった。

表 2. ドイツ・ベルリン自然史博物館のニホンオオカミの骨標本 3 点

標本番号	ZMB_Mam_22326	ZMB_Mam_42983	ZMB_Mam_48817
旧名	An25546		
分類	ニホンオオカミ	ニホンオオカミ	ニホンオオカミ
頭蓋骨最大長 mm	214	202	欠損により計測不能
下顎 第 1 臼歯長 mm	右 25.2	右 25.2	右 22.1
口蓋骨後縁正中部	湾入	湾入	湾入
mtDNA 型	ニホンオオカミ型	増幅できず不明	ニホンオオカミ型
8 塩基の挿入/欠失	挿入(グループ A)	不明	欠失(グループ B)

(3) 解析した国内の骨標本について：

2017 年～2020 年にかけて国内で見つかったり、DNA 分析の依頼があったイヌ科の動物の骨標本 10 点に関して、形態的な計測と mtDNA 分析を行った。分析した 10 点の内、5 点がニホンオオカミであることが明らかとなった。5 点についての詳細を下記する。また、これまでに「ヤマイヌ」といわれてきた骨標本についても mtDNA 解析をおこなった。

JW275: 島根県で見つかった江戸時代の標本である。頭骨全体を頭皮が覆っており、頭蓋骨の詳細な計測ができなかった。下顎骨の一部が皮の内部に埋もれていることが CT 解析により明らかとなった。mtDNA は 8 塩基の欠失したグループ B に属した。mtDNA ゲノムまで解析が可能であった。

JW286: 岩手県で見つかった上顎骨先端部である。形態的にはニホンオオカミの形状を示した。mtDNA 分析では、8 塩基を欠失したグループ B であった。

JW289: 岩手県で見つかった個人が所有する上顎骨先端部で、JW286 と同様の形態を示した。mtDNA 型は 8 塩基を欠失したグループ B に属した。

JW290: 岩手県の「狼酒」から見つかった骨片である。形態的な特徴から骨盤の左座骨結節と同定された。現生犬の形態的な比較から大型のニホンオオカミに由来することが推測された。長く塩分の多い「狼酒」に漬かっていたことから、mtDNA の増幅が困難であった。mtDNA は

8塩基を欠失したグループBに属した。

JW292: 奈良県吉野郡のもので、長く岸田日出男が保管していた頭蓋骨である。下顎骨はない。頭蓋骨全長は212mmであり、ニホンオオカミとしては中型である。ニホンオオカミの特徴である口蓋骨後縁正中部の湾入、頭蓋骨の左右の前翼孔の分岐や鼓室胞の扁平が観察された。mtDNA型は8塩基を欠失したグループBであった。

「ヤマイヌ」と呼ばれる骨標本：神奈川県南足柄市に保管されている「ヤマイヌ」と呼ばれる骨標本に関して形態的観察とmtDNA分析を行った。詳しい形態的な調査は小原 巖と中村一恵によりなされているが、頭蓋骨全長は196mmとニホンオオカミに比べて小さく、頭蓋骨の特徴もイヌに近かった。また、mtDNAはイヌ型であった。

(4) ニホンオオカミの系統解析

今回の解析でmtDNAゲノム解析まで進めていくことができた骨標本は、海外標本の3標本(ライデンの国立自然博物館のJentink bとJentink cとベルリン自然史博物館のZMB_Mam_48817)と国内の2標本(JW275とJW292)である。これまでに解析を終えている8標本を含めて合計で13標本のニホンオオカミを用いて、タイリクオオカミとの系統関係を近隣結合法で解析した。その結果を右図に示した。ニホンオオカミは、単系統を示して独立した一群にまとめられ、8塩基の挿入を有するグループAと欠失のグループBに分かれた。グループAとBは、Dループの8塩基挿入/欠失以外にも9箇所塩基置換が観察された。しかし、グループAとグループBでの生息域や分布域に大きな違いはみられなかった。

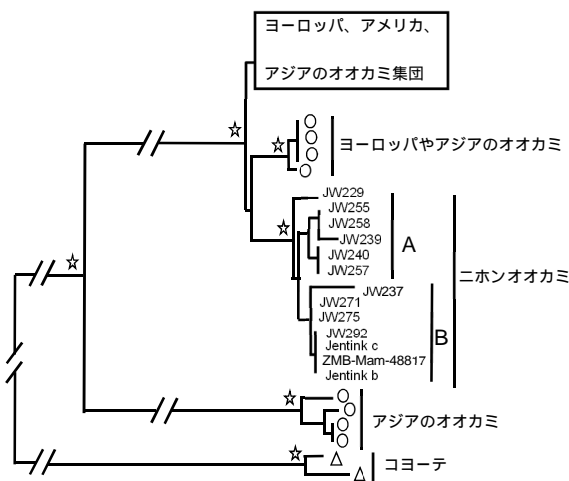


図 ニホンオオカミとタイリクオオカミとの系統関係の略図
コヨーテを外群にした時のmtDNAゲノムの近隣結合法

：ブートストレップが95%以上を示す。

(5) まとめ

ニホンオオカミは、古くから「オオカミ」や「ヤマイヌ」などと呼ばれてきた。シーボルトは蒐集した2個体の動物標本を「オオカミ」や「ヤマイヌ」として区別したことから、2種類の犬科の動物が日本に棲息したのではないかと推測された。今回、ライデン自然史博物館に保管されているシーボルトコレクションの3標本のmtDNA解析をすることにより、「ヤマイヌ」とされてきたJentink c標本のmtDNAは、ニホンオオカミ型であることが明らかとなった。これにより、「ヤマイヌ」と言う種類の動物は棲息しないことが明らかとなった。また、「ヤマイヌ」とされるJentink cは、形態的な特徴やその後の核ゲノム解析から、イヌとオオカミの交雑種である可能性が高いと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shuichi Matsumura, Yohey Terai, Hitomi Hongo and Naotaka Ishiguro	4. 巻 38
2. 論文標題 Analysis of the mitochondrial genomes of Japanese wolf specimens in the Siebold collection, Leiden	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 60-66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2108/ZS200019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Naotaka Ishiguro, Yasuo Inoshima and Motoki Sasaki	4. 巻 79
2. 論文標題 Computed tomography examination and mitochondrial DNA analysis of Japanese wolf skull covered with skin	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1292/jvms.16-0429	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 石黒直隆、松村秀一、寺井洋平、本郷一美	4. 巻 74
2. 論文標題 オオカミやマイヌと呼ばれたシーボルトが残したニホンオオカミ標本の謎	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本獣医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 389-395
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 3件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木千尋、佐々木基樹、都築直、茅野光範、石黒直隆、山田一考、遠藤秀紀、菊池智景、菊池薫、北村延夫
2. 発表標題 ニホンオオカミ（ <i>Canis lupus hodophilax</i> ）頭蓋内部構造の定量的および形態学的解析
3. 学会等名 日本獣医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石黒直隆
2. 発表標題 謎につつまれた動物 - ニホンオオカミ-
3. 学会等名 第23回紀伊半島研究会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石黒 直隆
2. 発表標題 ニホンオオカミの古代ゲノム
3. 学会等名 日本遺伝学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石黒直隆
2. 発表標題 絶滅した動物-ニホンオオカミの謎-
3. 学会等名 日本獣医師会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木千尋、佐々木基樹、都築 直、茅野光範、石黒直隆、山田一孝、遠藤秀紀、菊地智景、 菊地 薫、北村延夫
2. 発表標題 CTを用いたニホンオオカミ (Canis lupus hodophilax) 頭蓋の定量的解析
3. 学会等名 日本哺乳類学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	本郷 一美 (Hongo Hitomi) (20303919)	総合研究大学院大学・先導科学研究科・准教授 (12702)	
研究 分担者	寺井 洋平 (Terai Yohey) (30432016)	総合研究大学院大学・先導科学研究科・助教 (12702)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携 研究者	松村 秀一 (Matsumura Shuichi) (30273535)	岐阜大学・応用生物科学部・教授 (13701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------