

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：13501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K20942

研究課題名（和文）古代DNA研究が切り開く更新世の絶滅大型哺乳類の解明

研究課題名（英文）The way of life in the Pleistocene extinct mammals elucidated by ancient DNA

研究代表者

瀬川 高弘（Segawa, Takahiro）

山梨大学・大学院総合研究部・講師

研究者番号：90425835

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では更新世オオカミおよびヒグマの化石標本から古代DNA解析をおこない、これまで未知であった系統的位置づけや渡来経路と時期などを解明した。本州から発掘された更新世後期のヒグマ化石からDNA解析などにより、本州のヒグマが14万年程前にユーラシア大陸北部から本州に到達した古い系統に属する未知の集団だったことを明らかにした。また、更新世後期と完新世前期のオオカミの標本からゲノムDNAなどの解析結果から、従来のニホンオオカミの起源に関する定説を覆し、更新世の日本列島にはこれまで知られていない古い系統の大型オオカミが生息していたことや、ニホンオオカミの進化史を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本列島は基本的にユーラシア大陸から隔離された島弧でありながら、氷期の海水準低下期に断続的に陸続きになるという特殊な地理的環境である。こうした環境であったからこそ、今回の成果は大陸集団では検出できない時間軸を伴った生物地理学的な挙動まで解明できた。後期更新世以前（1万2000年以前）の日本列島にはヒグマ、オオツノジカ、ナウマンゾウといった様々な大型哺乳類が生息していた。それらは大陸から断続的に渡来した結果、「重層的」に集団の置き換えりが起こった歴史を持つ可能性があり、今後の研究の重要なテーマの一つになり、日本列島における哺乳類相の進化史の解明が進むと期待される。

研究成果の概要（英文）：This study conducted ancient DNA analyses of Pleistocene wolf and brown bear fossils to elucidate their phylogenetic position, migration route, and timing of arrival, which were previously unknown. DNA analysis of late Pleistocene brown bear fossils excavated from Honshu revealed that the brown bears of Honshu belonged to an unknown group originating from an older lineage. This lineage arrived in Honshu from northern Eurasia approximately 140,000 years ago. Furthermore, we conducted ancient DNA analyses on fossils of a giant Pleistocene wolf dating back 35,000 years, as well as a Japanese wolf from 5,000 years ago. Our findings revealed that the Japanese wolf, a small-bodied extinct subspecies, resulted from hybridization between the Pleistocene wolf in Japan and continental wolf lineages. The complex colonization history of ancient wolves involved repeated migration events.

研究分野：古代DNA

キーワード：古代DNA 絶滅動物 ニホンオオカミ 更新世オオカミ 本州ヒグマ

1. 研究開始当初の背景

現在の本州に生息する陸生大型動物は、ニホンジカ、ニホンカモシカ、ツキノワグマの僅か3種類しかいない。しかし、後期更新世以前(1万2000年以前)の本州には、ヒグマ、バイソン、オオツノジカ、ナウマンゾウといった多様な大型哺乳類が生息していたことが化石記録から分かっている。それらはユーラシア大陸に生息する集団とどのような遺伝的關係にあったのか、またいつどのような経路で渡来したのか、そしてなぜ本州から絶滅したのか? このように大型動物の由来を理解することは、現在の日本列島の生物相の成り立ちを理解する上で必要不可欠である。

現在の日本列島ではヒグマは北海道にしか生息していない。しかし化石記録からは、34万年前から2万年前にかけてヒグマが本州に広く分布していたことが知られている。大型肉食動物であるヒグマは日本列島の過去の生態系を理解する上で極めて重要な動物である。しかし断片的な化石からは、本州のヒグマがどの系統に属するのか、いつどの経路をたどって日本列島に渡来したのかは全く分かっていない。現在の北海道のヒグマは3つの系統(道南、道東、道央-道西系統)に分けられることが知られており、それぞれの系統が独立に北海道に入ってきたと考えられている。したがって更新世にユーラシア大陸のヒグマがサハリン経由で北海道に到達する機会は何度もあったと考えられる。ところが北海道と本州との間に位置する津軽海峡は現在の水深が-130m前後と大変深いため、たとえ寒冷期における海水準低下にあっても陸橋が形成されてそこを渡れた可能性は低いと考えられている。また北海道と本州とでは現在の動物相が大きく異なることから、津軽海峡は動物相の分布境界線(ブラキストン線)と呼ばれている。そのため、研究者の間では、北海道のヒグマはサハリン経由で、本州のヒグマは朝鮮半島経由で渡来した可能性が長く議論されてきた。

ニホンオオカミ(*Canis lupus hodophilax*)は、日本列島にのみ生息していたハイロオオカミ(*Canis lupus*)の絶滅した亜種である。ニホンオオカミは、オオカミ信仰としても知られるように古来より日本人に畏敬の念をもたれてきた動物であったが、1905年に確認されたのを最後に絶滅した。ニホンオオカミは、平均頭骨長が約196mm、歯(下顎第一大臼歯, m1)の長さが約24mmと、現存ならびに絶滅した世界中のハイロオオカミの中でも極めて小柄な亜種である。これは島嶼化の結果であると考えられているが、このニホンオオカミの進化史はほとんど分かっておらず大きな未解決問題の一つである。ニホンオオカミの最古の遺骸は9000年前まで遡ることができるため、それ以前にニホンオオカミの祖先がユーラシア大陸から日本列島に移動してきたと考えられている。一方で、2万年より前には世界最大級のオオカミが日本列島に生息していたことが分かっている(図1)。この本州の更新世オオカミの歯(下顎第一大臼歯, m1)は、最大で34.5mmにも達する。現生のハイロオオカミのm1が24.0~33.5mm、大陸の更新世のオオカミ化石でも28.1~33.4mmの範囲であることから、日本列島の更新世オオカミは地史的な記録における全てのハイロオオカミの中で最大級であったことが分かっている。

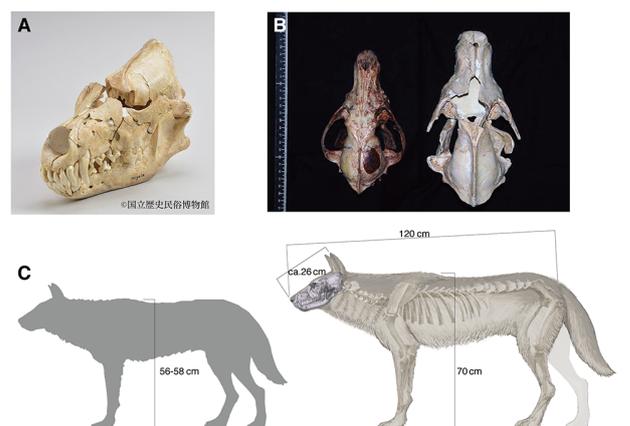


図1 本研究で分析した本州に生息していた更新世オオカミとニホンオオカミ

(A) 今回分析した栃木県産の更新世オオカミの頭骨

(B) 神奈川県で捕獲された標準的なニホンオオカミの標本(*Canis lupus hodophilax*) (左) と更新世オオカミ (右) との頭骨サイズの比較

(C) ニホンオオカミ (左) と更新世オオカミ (右) の体格の差異

2. 研究の目的

かつて日本列島には多種多様な中型・大型の哺乳類が生息していた。しかしその多くが更新世後期(12万年-1万年前)に日本列島各地で絶滅し、その存在は化石でしか知ることができない。本研究では、古代DNA分析技術を用いて、更新世に絶滅した本州の大型哺乳類の化石標本からDNA解析をおこない、これまで未知であった大型絶滅動物の系統や、渡来経路と時期、さらに集団遺伝学的解析から、個体数の歴史的な変動を解明する。

遺跡などから出土した過去の動物や古人骨から DNA を分析する古代 DNA 研究は、過去の動物や人類の系統や進化を知る上でとても有力な方法である。しかし日本は高温多湿かつ酸性土壌が多く、化石に残存している DNA の保存状態は極めて悪い環境にある。そのため技術的な難しさから、日本の古代 DNA 研究は、世界と比べると大幅に遅れていた。本研究では、最先端の古代 DNA 解析技術を用いて、3 万 2,500 年前のヒグマ化石、ならびに 3 万 5000 年前の巨大な更新世オオカミ、5000 年前の縄文時代のニホンオオカミ標本から古代 DNA 解析を行った。これは現地点での日本国内最古の試料からの古代 DNA 研究になる。

3. 研究の方法

群馬県上野村と埼玉県秩父市から産出した 2 つのヒグマ化石標本内部から無菌的に試料を採取し、放射性炭素年代測定、炭素・窒素の安定同位体比の測定、ならびに DNA の抽出と次世代シーケンサーによる塩基配列の解読、バイオインフォマティクス解析や分子進化解析をおこなった。

栃木県佐野市から産出した更新世オオカミとニホンオオカミ化石標本の内部から試料を採取し、放射性炭素年代測定、炭素・窒素の安定同位体比の測定、ならびに DNA 抽出と次世代シーケンサーによる塩基配列の解読、バイオインフォマティクス解析や分子進化解析をおこなった。

4. 研究成果

(1) 本州にかつて生息していたヒグマの起源の解明

ヒグマ化石の放射性炭素年代測定から、それぞれ化石の年代が 3 万 2,500 年前と 1 万 9,300 年前（後期更新世後期）であることが明らかになった。また安定同位体比の濃度分析から、本州のヒグマは肉食性が非常に強かったことが示された。

3 万 2,500 年前の化石標本から得られたミトコンドリア DNA 情報について系統解析をおこなった結果、この本州のヒグマは北海道や他のどの地域にも知られていない未知なる系統であったことが分かった。また、本州のヒグマはその姉妹系統である北海道南部のグループから約 16 万年前に分岐したことが分かった。本州のヒグマの化石は 34 万年前（中期更新世＝チバニアン）のものがみついていることから、従来は本州のヒグマはそれより前に渡来して後期更新世まで生息し続けたと考えられてきた。しかし今回分析した本州ヒグマが道南グループと分岐したのが 16 万年前であったことから、34 万年前のヒグマと 3 万 2,500 年前のヒグマは異なる系統であることが分かった。このことは、本州にヒグマが少なくとも 2 回渡ってきたことを意味している。一般にユーラシア大陸から本州への移住機会は少ないと考えられてきたため、これは極めて意外な結果となった。すなわち、ユーラシア大陸から日本列島への大型哺乳類の移動は従来考えられていたより頻繁に起こっていた可能性が示唆された。

さらに、本州のヒグマの移動ルートの推定もおこなった。ユーラシア大陸から本州へ移動できるルートとしては、北海道から津軽海峡を越えて本州に南下する経路、あるいは朝鮮半島から朝鮮海峡と対馬海峡を越えて九州そして本州へ移動する経路の 2 つが考えられる。本研究の統計的推定では、本州ヒグマと道南ヒグマの共通祖先がサハリン周辺に分布していたと推測された。そのため、道南ヒグマの祖先集団がサハリンルートで北海道に入り、さらにその集団の一部が津軽海峡を渡って本州へ渡った可能性が高いことが示唆された。

(2) ニホンオオカミの起源を解明

オオカミ化石標本からの放射性炭素年代測定から、化石の年代が 3 万 5000 年前（後期更新世）と 5000 年前（完新世）であることが明らかになった。また安定同位体比の分析から、3 万 5000 年前の更新世オオカミは 5000 年前のニホンオオカミと比較して、炭素と窒素の安定同位体比が高い値を示したことから、巨大な更新世オオカミはニホンオオカミよりも強い肉食性で大型草食哺乳類を捕食していたことが推察された。

3 万 5000 年前の大型の更新世オオカミから得られたミトコンドリア DNA 情報について系統解析をおこなった。その結果、これまで本州・四国・九州には絶滅したニホンオオカミの 1 亜種しか生息していなかったと認識されてきたが、この更新世オオカミは既知のニホンオオカミとは全く異なる系統であり、現生のオオカミ系統よりも古くに分岐した系統であることが示された。絶滅した古い系統である更新世オオカミは、これまでシベリアやアラスカなどの亜寒帯などからしか報告がなかったが、その更新世オオカミ系統の一部が日本列島にまで到達していたことが初めて明らかになった。

さらにより詳細なオオカミ集団の歴史を調べるために、5000 年前のニホンオオカミと 3 万 5000 年前の更新世オオカミの核ゲノム配列を現生のオオカミや絶滅した更新世の大陸のオオカミとともに解析した。その結果、ニホンオオカミは、3 万 5000 年前の日本の更新世オオカミと大陸のオオカミの双方から遺伝的な寄与を受けて成立したという強い証拠が見つかった。ミトコンドリア DNA ではニホンオオカミが大陸の現生オオカミの系統に含まれることが示されたが、これは現生オオカミの祖先に近い系統からの遺伝子の流入を反映した結果と考えられる。この結果から、ニホンオオカミが複数の系統の交雑によって成立したことが明らかになった。

今回の結果から考えられるニホンオオカミの進化的起源は次のようになる (図2)。まず大陸に生息していた更新世オオカミ系統の一つが5万7000年前～3万5000年前の間に日本列島へ渡り、ユーラシア大陸とは異なる孤立した系統を形成していた。日本列島で発見されている巨大な更新世オオカミの化石がこれにあたる。その後3万7000年前～1万4000年前の間に、現生オオカミの祖先やシベリアの一部の更新世オオカミと遺伝的交流を持つオオカミが日本列島へ渡った。日本列島では少なくともこの2つの系統が交雑することでニホンオオカミが成立し、その後大陸と隔離された地理的環境下で繁栄したと考えられる。このようにニホンオオカミは複雑な遺伝的起源によって極めてユニークなゲノム情報を持つに至ったことが明らかになった。



図2 本研究結果から推定されたニホンオオカミの起源

(A) 日本の更新世オオカミは5万7000年前～3万5000年前の間に日本列島に移動した。
 (B) シベリアの更新世オオカミと現生オオカミの祖先系統と遺伝的交流を持つオオカミが、約3万7000年前～1万4000年前の間に日本列島に移動した。
 (C) 交雑の結果、複数のオオカミ系統のゲノムを持つニホンオオカミが成立した。最終氷期以降、日本列島のオオカミは大陸のオオカミから地理的に完全に隔離され、本州・四国・九州で生存していたが、1900年代初頭に絶滅した。
 色の異なるオオカミは異なる集団を示す。破線の矢印は、北または南からの移動経路の可能性を示している。表示されている日本地図は、最終氷期最盛期の海や海岸線の地形を反映している。地図の緑の部分は大陸氷塊の蓄積により海面が120 m低下した場合の陸域を示している。

<引用文献>

Takahiro Segawa, Takahiro Yonezawa, Hiroshi Mori, Ayako Kohno, Yuichiro Kudo, Ayumi Akiyoshi, Jiaqi Wu, Fuyuki Tokanai, Minoru Sakamoto, Naoki Kohno, Hidenori Nishihara (2022) Paleogenomics reveals independent and hybrid origins of two morphologically distinct wolf lineages endemic to Japan. *Current Biology*, 32, 2494-2504

Takahiro Segawa, Takahiro Yonezawa, Hiroshi Mori, Ayumi Akiyoshi, Morten E. Allentoft, Ayako Kohno, Fuyuki Tokanai, Eske Willerslev, Naoki Kohno, Hidenori Nishihara (2021) Ancient DNA reveals multiple origins and migration waves of extinct Japanese brown bear lineages. *Royal Society Open Science* 8, 210518.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Segawa Takahiro, Yonezawa Takahiro, Mori Hiroshi, Akiyoshi Ayumi, Allentoft Morten E., Kohno Ayako, Tokanai Fuyuki, Willerslev Eske, Kohno Naoki, Nishihara Hidenori	4. 巻 8
2. 論文標題 Ancient DNA reveals multiple origins and migration waves of extinct Japanese brown bear lineages	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Royal Society Open Science	6. 最初と最後の頁 210518 ~ 210518
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1098/rsos.210518	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Segawa Takahiro, Yonezawa Takahiro, Mori Hiroshi, Kohno Ayako, Kudo Yuichiro, Akiyoshi Ayumi, Wu Jiaqi, Tokanai Fuyuki, Sakamoto Minoru, Kohno Naoki, Nishihara Hidenori	4. 巻 32
2. 論文標題 Paleogenomics reveals independent and hybrid origins of two morphologically distinct wolf lineages endemic to Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 2494 ~ 2504
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cub.2022.04.034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	甲能 直樹 (Kohno Naoki) (20250136)	独立行政法人国立科学博物館・地学研究部・グループ長 (82617)	
研究分担者	米澤 隆弘 (Yonezawa Takahiro) (90508566)	東京農業大学・農学部・准教授 (32658)	

6. 研究組織（つづき）

	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	西原 秀典 (Nishihara Hidenori) (10450727)	東京工業大学・生命理工学院・助教 (12608)	

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