

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2012～2015

課題番号：24405013

研究課題名(和文) 野生ハツカネズミの歴史的拡散の時空間把握と局所適応遺伝子の探索

研究課題名(英文) Spatial and temporal analyses on the historical dispersals and natural selection in the house mouse *Mus musculus*

研究代表者

鈴木 仁 (Suzuki, Hitoshi)

北海道大学・地球環境科学研究科(研究院)・教授

研究者番号：40179239

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：私たちはハツカネズミ(*Mus musculus*)の進化史理解のため、第8染色体上の毛色関連遺伝子 *Mc1r* を含む近隣7遺伝子のハプロタイプ構造の解析を行った。その結果、3亜種グループの中東・インドにおける自然分布域を特定するとともに、インド亜大陸内の亜種 *castaneus* が空間的に2系統存在することを明らかにした。また、歴史的放散前に亜種内、亜種間の遺伝的交流が存在したことも判明した。さらに、この遺伝子領域のうち、*Mc1r* において塩基多様性のレベルの著しい低下があり、選択的スイープ現象の存在が示唆され、*Mc1r* 遺伝子への自然淘汰の関与があったと考えられた。

研究成果の概要(英文)：We examined genetic variation in house mice and provide insight into the ancient divergence of the three subspecies groups, *castaneus* (CAS), *domesticus* (DOM), and *musculus* (MUS) in Middle East and India. We examined seven tandemly arranged nuclear genes on chromosome 8. STRUCTURE analysis suggested subdivision of CAS into two main haplogroups within the Indian subcontinent. Single-gene networks revealed gene-specific architecture for subgrouping in CAS and allelic exchange among subspecies, suggesting that the earlier onset of allopatric divergence in the predicted homeland and subsequent intermittent admixing via gene flow within and between subspecies groups. A comparison of the levels of nucleotide diversity among the gene regions revealed a less divergent state in the chromosome region containing *Mc1r* and its adjacent genes, indicative of a selective sweep, suggesting the involvement of natural selection in the *Mc1r* allelic variation.

研究分野：系統地理学

 キーワード：ハツカネズミ ヒト随伴動物 選択的スイープ 自然選択 毛色関連遺伝子 ハプロタイプ構造解析
 アジア農耕史 二次的接触

1. 研究開始当初の背景

ハツカネズミ (*Mus musculus*) は多数の実験室系統が樹立され、そのゲノム解読、そして生物医学研究への活用とその有用性は計り知れない。一方で野生ハツカネズミの自然史は、人類史を知る上でも興味深いが、日本列島への移入経路も含め依然不明な点が多い。また、ヒトの集団で近年盛んに行われている地域集団における自然選択の関与の研究は本種においては極めて限られていた。

ユーラシアの野生ハツカネズミはミトコンドリア DNA (mtDNA) の解析から主として3つの亜種グループ、DOM (西ヨーロッパ亜種) CAS (南アジア亜種)、MUS (北ユーラシア亜種) が存在し、そもそもはインドあるいはイランを起源として人類の拡散とともに広域に展開したと考えられている。しかし、その起源地 (ホームランド) における遺伝的多様化の状況や、どのような地域 (ソースエリア) からの分散が起きたのか、さらにはどのような時期に拡散が生じたかについては詳細な解析はなされていなかった。

ハツカネズミの場合は現代における人為的移入も考慮しなければならない。mtDNA 塩基配列の解析では現代における移入か、歴史的かについては判断が難しい。そこで、考案されたのが、組換え現象に着目した 10^6 塩基対レベルの長さの染色体「ハプロタイプ構造解析法」である (Nunome et al. 2010)。これは交雑後、移入された断片の長さは組換えにより世代とともに短くなっていくという原理に基づき、移入されたハプロタイプ断片の大きさを測ることで、交雑の経過時間を推定するという手法である。この手法を加え、ハツカネズミの時空間の進化的動態と空間移動に伴う自然選択の関与の有無を検討することが喫緊の課題であった。

2. 研究の目的

本研究では、新規に確立されたハプロタイプ構造解析法も適用し、分子系統地理学的手法

を用い、遺伝子流動や浸透交雑の時空間動態を把握し、ハツカネズミの進化史の正確な理解をめざす。具体的には、(1) 広域拡散前の地理的分化と地域間浸透交雑の解明、(2) 広域拡散のルートの解明と拡散後の遺伝的分化と二次的接触の把握、(3) 毛色変異に着目し、毛色関連遺伝子の遺伝的多様性消失を指標とする自然選択の関与の検討という3つの目的を持つ。

3. 研究の方法

ミトコンドリア DNA (mtDNA) の変異の解析に基づき、遺伝子系譜の状況把握から人類のユーラシア大陸の歴史的移動に伴う移動経路の把握と、拡散前の自然分布域の特定を行う。特に、集団内の mtDNA の塩基多様度の解析から一斉放散現象の有無を検討し、(タウ) 値を一斉放散の指標として扱う。値は、総当たりで比較した配列の塩基置換の個数の中央値を示すもので、この値を比較することで放散時期の新旧について論じることが可能となる。さらに信頼における進化速度をあてがうことで、放散年代の推定が可能となる。mtDNA の進化速度は時間依存的でどの進化速度を活用するかは議論のあるところであるが、日本産アカネズミ類集団の一斉放散を古環境の変動時期にリンクさせ求めて得られた精度の高いと思われる進化速度を参照した (Suzuki et al., 2015)。また、核遺伝子の解析では隣接する7つの遺伝子に焦点を当て、それぞれの遺伝子の塩基配列の解析を行い、連結しハプロタイプ構造を特定する。これにより、集団の系統学的位置づけを行うことができ、さらに組換え体の吟味により、集団間の二次的接触に関する情報を得ることができる。さらに、このハプロタイプ構造解析において、それぞれの遺伝子の塩基多様度を比較することで選択的スイープ (selective sweep) 現象を探索し、自然選択の有無について検討する。

4. 研究成果

(1) ハツカネズミの起源地における自然史

ミトコンドリアDNA(mtDNA)の解析において、ハツカネズミの種内には5つのmtDNAの主要系統が存在し、その系統関係を明らかにした。一般的に良く知られている3つの主要な亜種系統、*Mus musculus castaneus* (CAS)、*M. m. domesticus* (DOM)、*M. m. musculus* (MUS)に加え、アラビア半島固有の亜種 *M. m. gentilulus* (GEN)、そしてネパールに固有の系統 (NEP; 亜種名は不特定) である。GENについては、アラビア半島産サンプルの収集ができず、移入系統とされるマダガスカル産サンプルで代用した。mtDNAの主要系統の地理的分布を考慮すると、アラビア半島からネパールまで広い地域に自然分布していたものと推察された。

核遺伝子を用いた種内分化に関する調査においては、mtDNAとは少し異なる状況把握ができた。ユーラシア産の100個体について、第8番染色体末端付近の200 kb領域の7個の遺伝子に対し、小断片(500 bp)の塩基配列の解析を行った。7つの遺伝子の配列を連結し、ネットワーク図を描くと、グルーピングとしては、CAS、DOMおよびMUSの主要3亜種のみが認められ、CASは2つの亜系統が存在した(Kodama *et al.*, 2015)。ネパールのハプロタイプは北インドやパキスタンのCASハプロタイプと近縁であり(CAS-I)、アラビア半島から移入したとされるマダガスカル産ハツカネズミの核遺伝子の解析からはCASと類縁性があることが示唆された。以上のことより、ハツカネズミの主要3亜種の地域系統群の遺伝的分化は、mtDNAが示唆するよりも古い時代(170万年前)に分化し始めた可能性が高いことが判明し、これまでの他の核遺伝子の研究から示唆されていたことを支持する結果となった(Suzuki *et al.*, 2004; Nunome *et al.*, 2010)。

核遺伝子とmtDNAの比較で明らかとなっ

た分岐時間の不一致性は、170万年前に分岐した3亜種系統間において、約40万年前にmtDNAの遺伝子移入がおき、ホームランド全域において、1つのタイプのmtDNAで置き換わってしまったと考えることで説明は可能である。亜種間の遺伝子移入は核ゲノムにおいても同様の兆候が認められた(Kodama *et al.*, 2015)。以上のことから、ハツカネズミは遺伝的分化の長い歴史を持ち、なおかつ地域集団間での遺伝的交流を随時行い、いわゆる「網状進化」という過程を経るなかで、今日認められるモザイク状のゲノム構造が構築されるに至ったと理解することができた。

ホームランドにおける3つの主要亜種グループの空間構造をみみると、その境界線は主要な山脈上にあることが分かる。イラク西部のザグロス山脈がDOMとCASを東西に分割し、カスピ海南部とイラン北部を分けるアルボルズ山脈およびアフガニスタン北部のヒンドークシュ山脈がCASとMUSを南北に分断する。これらのことから、地形的な要因によって亜種間の遺伝的分化が促されてきたことが推測される。CASは広大な地域にホームランドが存在し、一方、DOMおよびMUSは明瞭にホームランドを特定できないが、DOMはイラク西部域に、そしてMUSはカスピ海南部沿岸域の比較的狭い地域にそれぞれ存在したものと推察され、山脈および草原の配置といった空間構造がハツカネズミの自然分布域における遺伝的空間構造に大きな影響を与えたものと思われた。

(2) ハツカネズミのヒトに随伴した広域拡散と日本列島の農耕史との関連性

一方、アジア南東域を中心に分布するハツカネズミのCASの動態に関しても新しい知見が得られた。広域拡散によって分布拡大したと思われる地域より収集されたmtDNAの*Cytb*の塩基配列の解析により、CASの広域拡散イベントは2回の「一斉放散」によって特

徴づけられることが判明した (Suzuki *et al.*, 2013)。第一次一斉放散に関与したハプロタイプの集まり (クラスター) を CAS-1 と称すると、このクラスターの分布域は南・北東インド、バングラデッシュ、ミャンマー、インドネシア、南中国に加え、予想外なことに、東北中国およびロシア沿海州まで及ぶことが分かった。集団拡大指標値 τ は 1.7 であり、*Cytb* の進化速度を 10-20% として計算すると、第一次一斉放散が始まったのは 3800-7600 年前であると推定された。この時期はアジアにおける農業技術の展開とも関連しており、その影響がロシア沿海州にも及んだものと思われた。一方で、この時期に日本列島にハツカネズミが分布を拡大した証拠は mtDNA の解析結果の中からは得られていない。

mtDNA の解析結果において注目すべきは、mtDNA クラスターの CAS-1 は、地域性を示すサブクラスター CAS-1a を内包することである。この CAS-1a は興味深いことに北部北海道、東北地方 (本州北部) を含め、中国南部 (桂林・昆明で代表される) およびサハリン南部からのハプロタイプを包含する。これにより、mtDNA においては南中国から日本列島にハツカネズミの移入があり、さらに南サハリンまで移入が起きたことが明瞭に示された。この「第二次一斉放散」が生じた時期は *Cytb* 配列の比較に基づく変異量の割合から、1900-3800 年前と思われる。この時期は、稲作が長江に沿って発展した時期に相当し、双方の間で関連性があると思われた。最近の大規模なゲノムの調査では、中国南部の珠江 (Pearl River) は栽培イネの開発の舞台であった可能性が高いことが示されている (Huang *et al.*, 2012)。日本列島への人類とハツカネズミの移入がアジアにおける農耕文明の発展および南中国におけるイネ栽培システムの展開といった事象とどのような関連があったかについては今後の重要な検討事項の 1 つである。

mtDNA のサブクラスター CAS-1a は前述の

ように日本列島を通過しサハリン南部まで到達している。興味深いのは、東北、北海道、南サハリンで、それぞれ地域固有のハプロタイプグループを形成していることである。このことは、これらの地域への CAS ハツカネズミの移入は、現代的な移入ではなく、先史時代に日本列島に移入してきたという考えが正しいことを強く裏付ける結果となっている。

本研究において、前述の核遺伝子の解析データを吟味した結果、日本列島の CAS タイプに関連して興味深い事実がみつかった

(Nunome *et al.*, 2010)。すなわちインドネシア、フィリピン、南中国など二次的拡散した地域からのハプロタイプはどれも均質な配列を共有し、ネットワーク図において互いに集約されるが (CAS サブグループ D)、北日本の CAS のハプロタイプは例外であり固有の配列を持つ。これまで調査したパキスタン、インドのホームランドからも、北日本固有のハプロタイプ配列は今のところ見つかっていない。では、北日本で散見されるこのユニークな CAS 配列はどこからやってきたのであろうか。すでに述べたように、北日本の CAS 型 mtDNA は南中国から渡来したと考えざるを得ない状況である。したがって、日本列島の CAS 系統は南中国由来のものと、それとは異なるどこか別の地域由来 (例えばインド亜大陸の未調査地域) の 2 つの渡来により成り立っている可能性があると考えるのが節約的であると思われる。このように日本列島における CAS の進化的プロセスの理解はそのソースエリアの特定も含めて未だ不十分であると言わざるを得ない現状ではあるが、その一方で今後の研究の進展具合では、日本の農耕史に絡む興味深い知見の取得も可能であり、その期待は大いに高まっている状況である。

(3) 毛色変異と自然選択の関与

上述の第 8 染色体上の毛色関連遺伝子 *Mclr* を含む近隣 7 遺伝子のハプロタイプ構造の解

析データを活用し、遺伝子ごとの塩基多様度を比較したところ、7 遺伝子座の中央に位置する *Mc1r* において塩基多様度の顕著な低下が認められた。この結果は、選択的スweep現象の存在を示唆し、*Mc1r* 遺伝子に対する自然淘汰の痕跡であると考えられた(Kodama et al., 2015)。ハツカネズミという種全体で多様度が低下していたため、人類に随伴した広域拡散が生じる前のイベントであったと思われる。したがって、環境変動といった集団サイズに大きな影響を与える要因により、一斉放散的イベントによる遺伝的多様性の低下もあったが、自然選択による遺伝的多様性の低下も合わせてあり、双方が複雑にからみあい、現在のハツカネズミのゲノムの多様性が構築されたものと総括的に理解することが可能である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9 件)

Sakuma Y, Ranorosoa MC, Kinoshita G, Shimoj H, Tsuchiy K, Ohdachi DS, Arai A, Tanaka C, Ramino H, Suzuki H: Variation of the coat color controlling genes *Mc1r* and *Asip* in the house mouse *Mus musculus* from Madagascar. *Mammal Study* 査読有 2016 (in press).

Suzuki Y, Tomozawa M, Koizumi Y, Tsuchiya K, Suzuki H: Estimating the molecular evolutionary rates of mitochondrial genes referring to Quaternary Ice Age events with inferred population expansions and dispersals in Japanese Apodemus. *BMC Evolutionary Biology* 査読有 2015;15:187. 10.1186/s12862-015-0463-5

Chingangbam DS, Laishram JM, Suzuki H: Molecular phylogenetic characterization of common murine rodents from Manipur, Northeast India. *Gene & Genetic Systems* 査読有 2015;90(1):21-30 10.1266/ggs.90.21

Suzuki H, Yakimenko V, Usuda D, Frisman F: Tracing the eastward dispersal of the house mouse, *Mus musculus*. *Genes and Environment* 査読有 2015;88(3):155-164. 10.1186/s41021-015-0013-9

Kodama S, Nunome M, Moriwaki K, Suzuki H: Ancient onset of geographical divergence, interpopulation genetic exchange, and natural

selection on the *Mc1r* coat-colour gene in the house mouse (*Mus musculus*). *Biological Journal of the Linnean Society* 査読有 2015;114:778-794. 10.1111/bij.12471

Nunome M, Suzuki H, Moriwaki K: Historical introduction of Japanese wild mice, *Mus musculus*, from South China and the Korean Peninsula. *Animal Systematics, Evolution and Diversity* 査読有 2014; 29: 267-271. 10.5635/ASED.2013.29.4.267

Suzuki H: Evolutionary and phylogeographic views on *Mc1r* and *Asip* variation in mammals. *Genes & Genetic Systems* 査読有 2013;88(3):155-164. 10.1266/ggs.88.155

Suzuki H, Nunome M, Kinoshita G, Aplin KP, Vogel P, Kryukov AP, Jin M-L, Han S-H, Maryanto I, Tsuchiya K, Ikeda H, Shiroishi T, Yonekawa H, Moriwaki K: Evolutionary and dispersal history of Eurasian house mice *Mus musculus* clarified by more extensive geographic sampling of mitochondrial DNA. *Heredity* 査読有 2013;111:375-390. 10.1038/hdy.2013.60

桑山崇・布目三夫・鈴木仁: 組換現象に着目した集団ハプロタイプ構造解析法— 分かれと出会いの系統地理学— タクサ 査読有 2012;32:7-12. ISSN 13422367

[学会発表](計 11 件)

Suzuki H: The long journey of the house mouse (*Mus musculus*) to the Japanese Islands The 5th International symposium on Asian Vertebrate Species Diversity (AVIS) 2015年12月15-18日 Chulalongkorn University, Bangkok (Thailand)

鈴木仁・島田朋史・Thida Lay Thwe・Khin Myat Myat Zaw・片倉賢: ミャンマー産ハツカネズミ亜属 (subgenus *Mus*) の地理的分布と多様化機構 日本動物学会第86回大会 2015年9月17-19日朱鷺メッセ(新潟県新潟市)

Suzuki H: Colonization History of the House Mouse *Mus musculus* in East Asia Vth International Wildlife Management Congress (IWMC) 2015年7月26-30日札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)

鈴木仁・Saw Bawm・Thida Lay Thwe・片倉賢・土屋公幸: ハツカネズミ属の系統分化に

おけるミャンマーの空間的役割 日本遺伝学会第86回大会 2014年9月18日 長浜バイオ大学 (滋賀県長浜市)

磯部美優・布目三夫・鈴木仁: ハツカネズミ (*Mus musculus*) における5S ribosomal DNA (5S rDNA) の進化動態 日本遺伝学会第86回大会 2014年9月17日 長浜バイオ大学 (滋賀県長浜市)

佐藤淳・布目三夫・友澤森彦・鈴木仁: 日本の哺乳類の毛色変異 日本動物学会第85回大会・第10回色素シンポジウム 2014年9月13日 東北大学 (宮城県仙台市)

鈴木仁: ヒトが関わるハツカネズミの東アジアにおける分散 日本変異原学会第85回大会 招待講演: 望月喜多司記念シンポジウム 変異と進化を考える:我々はどこから来たのか、どこへ行くのか 2013年11月29日 岡山コンベンションセンター (岡山県岡山市)

鈴木仁・児玉紗也香・桑山崇・森脇和郎: インド亜大陸における野生ハツカネズミの遺伝的分化と浸透交雑 日本遺伝学会第85回大会 2013年9月19日 慶応義塾大学 (神奈川県横浜市)

鈴木仁・Saw Bawn・片倉賢 ミャンマー産ネズミ亜科4種の分子系統学的把握 第29回日本霊長類学会・日本哺乳類学会2013年度合同大会 2013年9月6日 岡山理科大学 (岡山県岡山市)

桑山崇・布目三夫・森脇和郎・鈴木仁 日本列島の南方系ハツカネズミ(CAS subspecies group)系統の起源 第84回日本遺伝学会 2012年9月26日 九州大学 (福岡県福岡市)

桑山崇・布目三夫・森脇和郎・鈴木仁 日本における野生ハツカネズミ *Mus musculus* の浸透性交雑の検出 日本哺乳類学会2012年度大会 2012年9月21日 麻布大学 (神奈川県相模原市)

〔図書〕(計 4 件)

佐藤淳: 日本のネズミの起源-分子系統学的考察- 日本のネズミ 多様性と進化 (本川雅治 編) 東京大学出版会 2016(印刷中)

鈴木仁: ハツカネズミの起源と由来 - 日本のネズミ 多様性と進化 (本川雅治 編) 東京大学出版会 2016 (印刷中)

Sato JJ: A review of the processes of mammalian faunal assembly in Japan - insights from molecular phylogenetics. Species Diversity of Animals in Japan, edited by M. Motokawa and H. Kajihara. Springer Japan. 2016. (in press)

Suzuki H, Achimadi AS: A comparative zoogeographic view on the animal biodiversity of Indonesia and Japan. Tropical Peatland Ecosystems, Edited by Mitsuru Osaki, Nobuyuki Tsuji. 10.1007/978-4-431-55681-7_13

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

特になし

6. 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 仁 (SUZUKI, Hitoshi)

北海道大学・地球環境科学研究所・教授
研究者番号: 40179239

(2)研究分担者

佐藤 淳 (SATO, Jun)

福山大学・生命工学部・准教授
研究者番号: 80399162