

令和 4 年 6 月 26 日現在

機関番号：32689

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06432

研究課題名(和文) 日本列島の形成過程における両生類の移動経路の解明

研究課題名(英文) The study of migration of amphibians during formation of Japan islands

研究代表者

中村 正久 (NAKAMURA, MASAHIKA)

早稲田大学・理工学術院総合研究所(理工学研究所)・その他(招聘研究員)

研究者番号：40130025

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：日本国内195箇所で採集したツチガエルのミトコンドリア12S rRNA遺伝子の塩基配列を基に作成した分子系統樹から、ツチガエルは5つの地方集団に分けられることが判明した。また、九州のツチガエル(*Glandirana rugosa*)は全て西日本集団と考えられていたが、西日本集団とは系統的に異なり、新種と思われる集団で、ヒムカガエル(*G. nakamurai*)と命名した。更に、195箇所で採集したツチガエルのミトコンドリア12S rRNA遺伝子の塩基配列を基に時系列分子系統樹を作成して、日本列島形成過程における両生類(ツチガエル)の国内移動経路を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本列島形成過程における陸上小型歩行動物の国内移動経路を明らかにした報告はない。ユーラシア大陸由来の陸上小型歩行動物の国内移動は周囲の地形によって大きな影響を受ける。本研究は日本列島形成過程における陸上小型歩行動物(カエル)の移動経路を明らかにした。これは今までに誰も成し得なかった研究成果である。カエルの移動経路によって、日本列島形成過程における地形変化を推測することができる。従って、本研究で得られた研究成果は古地理学分野のみならず、カエルが棲息できた環境も分かるため、古地理学及び環境学分野の発展に大きく貢献する。

研究成果の概要(英文)：The Japanese wrinkled frog *Glandirana rugosa* is separated into five genetically different groups. One group in western Japan is further divided into three subgroups, found in Kyushu, Shikoku, and western Honshu. We collected *G. rugosa* frogs at 195 sites in Japan and determined nucleotide sequences of the mitochondrial 12S and 16S rRNA genes for phylogenetic analysis. We found five local groups of frogs. In addition, we found another group in southeastern Kyushu that did not cluster with any of the pre-existing five groups of *G. rugosa* on the phylogenetic trees. The frogs in the new group and *G. rugosa* in Kyushu were designated a new species, named *G. nakamurai*. When a time-laps phylogenetic tree was constructed based on nucleotide sequences of mitochondrial 12S and 16S rRNA genes of *G. rugosa*, it showed a new migratory route of this frog during formation of Japan islands. The result would contribute to understand geographical changes during formation of Japan islands.

研究分野：分子生殖生物学

キーワード：日本列島の形成 陸上小型歩行動物 ツチガエル 国内移動経路 時系列分子系統樹 ミトコンドリアDNA 12S rRNA遺伝子 古地理

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

今から約 2500 万年前、アジア大陸の東端の一部が離れ、日本列島の形成が始まった。日本列島は繰り返し訪れた氷河期によって、大陸と何度も陸続きになったため(図 1 平朝彦(1990)を改変)陸上小型歩行動物は大陸と日本列島の間を行き来することができた。大陸から日本に移動した小型歩行動物は地形に大きな影響を受けながら日本列島を移動したと考えられる。従って、

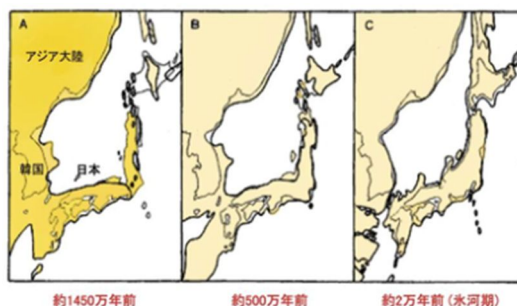


図 1 日本列島形成時の古地理図

日本列島形成過程における陸上小型歩行動物の国内移動経路を解明することができれば、当時の日本列島の地形を理解する上で貴重な情報になる。ところが、移動経路に関する研究報告はない。本研究の開始当時、日本全国(北海道と沖縄県を除く)に分布している無尾両生類のツチガエルは、単一種と考えられていた。しかし実際はそうではなく、ミトコンドリア DNA の塩基配列に基づいて構築した分子系統樹、性連鎖 DNA マーカー及び性染色体の形状によってツチガエルは、5 つの地方集団(West, East, Central, North, West-Central)で構成されていることが分かった(図 2; Oike et al. 2017)を転写)。そこで、日本国内に



図 2 ツチガエル地方集団の分布図

におけるツチガエル地方集団の詳細な分布図を作成するため、日本各地でツチガエルを採集して各個体のミトコンドリア DNA を解析した。その過程で時系列分子系統樹を作成すれば、ツチガエルの国内移動経路が分かると考えるに至った。

2. 研究の目的

アジア大陸の東端から離れた陸地が長い間に様々な地理的变化を経て日本列島が形成された。日本列島の形成過程で大陸由来の両生類は山脈や大河の形成など様々な地理的变化の影響を受けながら国内を移動したと考えられる。本研究は、日本列島の形成過程における両生類の国内移動経路を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

日本全国でツチガエルを採集して、各個体の肝臓からミトコンドリア DNA を抽出後、12S 及び 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を決定した(Oike et al., 2017)。北海道に棲息するツチガエルは食用鯉の移入に伴って移された国内移入種であることが分かっているため(斉藤和範, 2002)解析には含まれていない。また、ツチガエルは沖縄県に棲息していないので採集地には含まれていない。国内 195 箇所採集したツチガエルのミトコンドリア DNA の塩基配列を基に時系列分子系統樹を作成した。

4. 研究成果

本研究の研究成果を以下(1)-(4)に示す。

(1) 日本国内 195 箇所採集したツチガエルのミトコンドリア 12S rRNA 遺伝子の塩基配列を決

定し、それを基に RAxML 分子系統樹を作成した。その分子系統樹と性連鎖 DNA 分子マーカーを用いて得られた結果から、日本のツチガエルは 5 集団に分けられることが判明した(図 1: Oike et al., 2017)。

(2) 九州に棲息するツチガエル (*Glandirana rugosa*) は全て西日本 (West) 集団に入ると考えられていたが、ミトコンドリア DNA の塩基配列の解析によって、九州南東部 (図 3: Oike et al. (2020)より転写) に棲息するツチガエル類似集団 (se-Kyushu) は、ツチガエル西日本集団とは系統が異なり、新種の可能性が高い (Oike et al. 2020)。



図 3 se-Kyushu 集団の分布図 (白丸;ツチガエル西日本集団 緑丸;se-Kyushu 集団)

(3) (2)で得られた九州南東部の新集団を詳細に調べた。その結果、ツチガエルとは別の種と判断し、和名を日向ガエル(ヒムカガエル)、学名を *Glandirana nakamurai* と命名した (図 4: Nakamura et al.(2022)より転写)。この種は、ZooBank (<https://zoobank.org/References/13692B57-A3B9-461D-AA23-BBOCA0D45D7F>)に登録済である。

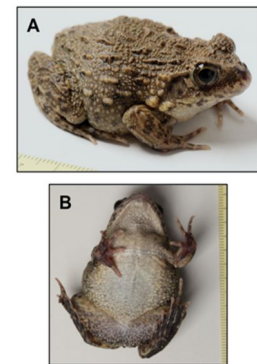
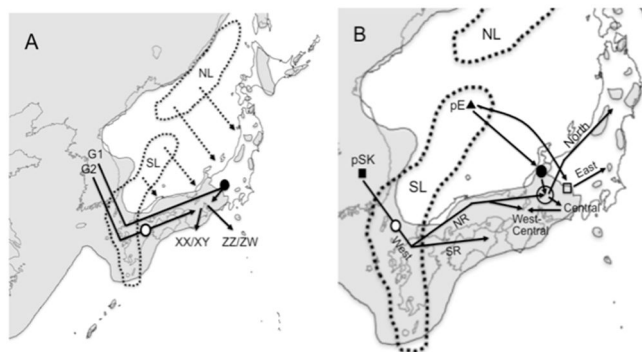


図 4 日向ガエルの背(A)及び腹(B)面図

(4) 国内 195 箇所で採集したツチガエルのミトコンドリア 12S 及び 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を決定し、それらを基に時系列分子系統樹を作成した。その結果、日本列島形成過程における両生類(ツチガエル)の国内移動経路が明らかになった。移動経路の詳細は未発表のため、公表できない。移動経路の概略を図 5(Oike et al. (2017)より転写)に示した。日本列島が形成される過程でアジア大陸の東端から南北 2 つの陸地 (SL 及び NL) が離れて現在の位置まで移動した。北の陸地 (NL) の殆どは海中に沈んでいた。また、NL と SL の間にはフォッサマグナ



が存在し、フォッサマグナが陸地になる 図 5 日本列島形成過程におけるツチガエルの移動 300 万年前まで脊椎動物は SL 経路から NL へ移動することができなかった。ツチガエル 4 地方集団の性染色体の形状 (Miura et al., 1997) から、直接の証拠はないものの推測されていた移動経路を以下に述べる。図 5A に示す様に、グループ 1 (G1) のツチガエル東日本 (East) 集団 (オスヘテロ XX/XY 型) は、グループ 2 (G2) の West 集団 (オスヘテロ XX/XY 型) に先立って大陸から日本に移動した。2 つのグループは中央部で交配し、その結果、North 集団 (メスヘテロ ZZ/ZW 型) と Central 集団 (オスヘテロ XX/XY 型) が生まれた。2 つの性決定様式 (XX/XY 型と ZZ/ZW 型) が生まれた理由は研究目的ではないため、ここでは説明を省く。本研究成果は、2 つのグループが大陸から朝鮮半島を経由して日本に移動したのではなく、日本各地で採集したツチガエルのミトコンドリア DNA の塩基配列に基づいて作成した時系列分子系統樹は新しい経路を示していた (投稿準備中)。図 5B に示す様に、SL 東端付近に棲息していた原型 East 集団 (pE) は SL の移動と共に大陸から離れた。一方、原型韓国集団 (pSK) は大陸と日本列島が陸続きの時に大陸から日本に移動して西日本 (West) 集団として確立した。West 集団の国内移動は、本州の日

本海側を移動する(NR)集団と四国を東に移動する(SR)集団に別れた。日本海側を移動した West 集団は East 集団と東海地方で交配・拡散して、North 集団と Central 集団が生まれたと考えられる。この研究によって、ツチガエルの日本列島形成過程における国内移動経路が明らかになった。この研究成果は古地理学及び環境学分野の発展に大きく貢献すると思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Masahisa Nakamura	4. 巻 1
2. 論文標題 Dr. Siebold and six species of Japanese frogs.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bulletin of the Herpetological Society of Japan	6. 最初と最後の頁 72-78
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 -
1. 著者名 M. Nakamura, Y. Nakamura, A. Oike, K. Tojo, T. Suzuki, E. Ito	4. 巻 7.1
2. 論文標題 A new frog species of the genus Glandirana from southeastern Kyushu, Japan (Anura Ranidae).	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 EC Veterinary Science	6. 最初と最後の頁 11-23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.31080/ecve.2022.07.00462.	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 -
1. 著者名 Masahisa Nakamura, Akira Oike, and Etsuro Ito	4. 巻 4
2. 論文標題 Sex reversal induced by steroid hormones in Glandirana rugosa frogs.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JSM Sexual Medicine	6. 最初と最後の頁 1056-1058
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Masatake Mochizuki, Yoriko Nakamura, and Masahisa Nakamura	4. 巻 5
2. 論文標題 Taxonomic identity of four groups of Glandirana rugosa (Anura, Ranidae) in Japan revealed by the complete mitochondrial genome sequence analysis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mitochondrial DNA part B: Resources	6. 最初と最後の頁 3721-3722
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/23802359.2020.1833772	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 A. Oike, M. Mochizuki, K.Tojo, T. Matsuo, Y. Nakamura, S. Yasumasu, E. Ito, T.Arai, and M. Nakamura	4. 巻 37
2. 論文標題 A phylogenetically distinct group of <i>Glandirana rugosa</i> found in Kyushu, Japan.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Zool Sci	6. 最初と最後の頁 193-202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2108/zs190007	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 Akira Oike, Yoriko Nakamura, Etsuro Ito, and Masahisa Nakamura	4. 巻 333A
2. 論文標題 A threshold dosage of estrogen for male-to-female sex-reversal in <i>Glandirana rugosa</i> frogs.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Exp Zool	6. 最初と最後の頁 652-659
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2108/zs190007	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 Mika Ikegame et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 Melatonin is a potential drug for the prevention of bone loss during space flight.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pineal Research	6. 最初と最後の頁 e12594
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jpi.12594	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 M. Kodama, M. Yoshida, M. Endo, T. Kobayashi, A. Oike, S. Yasumasu, and M. Nakamura	4. 巻 60
2. 論文標題 Nanos3 of the frog <i>Rana rugosa</i> : molecular cloning and characterization.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Develop Growth and Differ	6. 最初と最後の頁 112-120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12421	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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 大池 輝, 伊藤悦朗, 安増 茂樹, 中村 正久
2. 発表標題 ツチガエルの性決定・性分化に対するエストロゲン及びエストロゲン合成酵素の役割
3. 学会等名 日本動物学会第90回大阪大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Oike A, Watanabe K, Yasumasu S, Ito E, Nakamura M
2. 発表標題 Origin of sex chromosomes in six groups of <i>Rana rugosa</i> frogs inferred from a new sex-linked DNA marker
3. 学会等名 Eighth International Symposium on Vertebrate Sex Determination (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大池輝、伊藤悦朗、安増茂樹、中村正久
2. 発表標題 ツチガエルにおける新しいZW集団の起源
3. 学会等名 (社)日本動物学会関東支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大池 輝、安増茂樹、中村依子、伊藤悦郎、中村正久
2. 発表標題 Glandi rana属に新種のカエル？
3. 学会等名 (社)日本動物学会札幌大会（地震で開催地が東京に変更）
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------