

令和 3 年 5 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16211

研究課題名(和文) ゲノムと形態に基づくニホンザルの東西分化モデルの検証と寒冷地への局所適応の解明

研究課題名(英文) Phylogeographic history and local adaptation in Japanese macaques: application of population genomics and morphometrics

研究代表者

伊藤 毅 (Ito, Tsuyoshi)

京都大学・霊長類研究所・助教

研究者番号：20711485

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、ニホンザルにおける遺伝的地理的多様性とその形成プロセスを推定した。ニホンザルは、中国のアカゲザル、インドのアカゲザル、タイワンザルのクレードと姉妹関係にあることが示された。ニホンザル種内では、中部地方を境界として北東と南西のグループに別れること、それらの間に遺伝子流動があったことが示唆された。最終氷期最盛期には、日本列島の南岸の限られた地域(レフュジア)に分布していた可能性が高い。ニホンザルの系統地理的多様性は、主に、氷期のレフュジアへの隔離に伴う東北-南西分岐とその後の集団間遺伝子流動によって形成されたと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高い地域多様性と固有性を併せ持つ日本列島の動植物は、生物地理学的に重要な研究対象として世界的に注目を集め、これまでも多くの知見が蓄積されてきたが、比較的短期間に起こったとされる地域集団間の分岐と交流、日本列島の多様な環境に対する適応進化のプロセスについては、十分に理解されていなかった。本研究の成果は、日本列島における動物の地理的多様性の形成過程に関する理解の一助となるとともに、ニホンザルの地域集団の保全にも役立つことが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study we investigated the geographic patterns of genetic variation in Japanese macaques and the processes that underlie them. Japanese macaques show a sister group relationship with a clade comprising Chinese rhesus, Indian rhesus, and Taiwanese macaques. Japanese macaques comprise major northeastern and southwestern clades, with a boundary located near central Japan, and gene flow between the northeastern and southwestern lineages was detected. Refugia during the LGM were estimated to be distributed in limited areas along the south coasts of the Japanese archipelago. Phylogeographic variation of Japanese macaques is likely due mainly to northeast-southwest divergence, which resulted from withdrawal into refugia during the glacial period, and subsequent gene flow.

研究分野：生物多様性

キーワード：系統地理 生態ニッチモデリング 集団遺伝 ゲノム コンピュータ断層撮影

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高い地域多様性と固有性を併せ持つ日本列島の動植物は、生物地理学的に重要な研究対象として世界的に注目を集め、これまでも多くの知見が蓄積されてきた。しかし、比較的短期間に起こったとされる地域集団間の分岐と交流、日本列島の多様な環境に対する適応進化のプロセスについては、十分に理解されていない。

2. 研究の目的

本研究は、屋久島から下北半島に至る広範な環境に分布する日本固有のニホンザルを対象に、核ゲノムの多数の遺伝マーカーを用いることで、地域集団間の遺伝的交流を含めた集団史と系統を高解像度に推定する。また、ここで得られた系統・集団史の情報を考慮に入れることで、形態に見られる地理的変異の再評価を行い、その形成に自然選択が働いた可能性を検証する。さらに、ゲノムワイド環境関連解析と外れ値検定により、寒冷地への進出に伴った適応遺伝子候補を検出する。

3. 研究の方法

(1) ゲノムワイド塩基多型解析と生態ニッチモデリング解析を用いて、ニホンザルの系統関係、集団史、過去分布の推定を行った。当初の予定通り、ニホンザルの4集団(山形、高浜、嵐山、若桜)21個体のサンプルについて、double digest restriction-site associated DNA sequencing (ddRAD-seq)によるライブラリ作成を行い、次世代シーケンサーによる配列解読を行った(配列解読は外注による)。既に得られていたニホンザルの6集団(下北、群馬、滋賀、高知、幸島、屋久島)81個体および近縁種3種(アカゲザル、タイワンザル、カニクイザル)11個体のサンプルの配列データと合わせて、一塩基多型の探索を行った。この多型情報に基づいて、各集団の遺伝的多様性、集団構造、系統関係の推定を行った。また、集団間の遺伝子流動の有無について検定を行った。生態ニッチモデリング解析により、ニホンザルの最終氷期最盛期における分布を推定した。

(2) CTを用いた形態データの収集を行った。群馬県立自然史博物館および京都大学霊長類研究所に所蔵される骨格標本を使用し、約250個体分の頭蓋と下顎のCT撮影を行った。また、得られたCTデータをデータベース(Digital Morphology Museum, KUPRI)に登録した。

(3) ニホンザルの4集団(屋久島、幸島、高知、山形)13個体のサンプルについて、全ゲノムリシーケンスを行い(外注)、クオリティコントロールとアカゲザル参照配列へのマッピングを行った。

4. 研究成果

(1) 多型探索とフィルタリングの結果、常染色体113,665、X染色体3,794、Y染色体133の一塩基多型情報が得られた。系統解析の結果、ニホンザルは、アカゲザルの中国集団、アカゲザルのインド集団、タイワンザルが分岐するより前に、それらの共通祖先から分岐したことが示された。ニホンザルは、アカゲザル、タイワンザル、カニクイザルなどの近縁種と比べて、塩基多様度が低いことが分かった。ニホンザルの種内では、屋久島集団が極めて低い塩基多様度を示す他は、どの集団も同程度の塩基多様度を示した。すべての集団において、塩基多様度は、常染色体よりもY染色体ではるかに低く、X染色体はそれらの中間的な値を示した。遺伝的集団構造解析の結果、ニホンザルは、東(下北、山形、群馬)、西(滋賀、高浜、嵐山、若桜、高知、幸島)、屋久島の3つのグループに分化していることが示された。クラスター解析の結果、屋久島集団は東グループよりも西グループとの類似性が高いことが示された。近隣結合法、最尤法、SVDquartets法によって推定された常染色体の系統樹も、クラスター分析で観察された東西分化パターンを支持した。ただし、X染色体の系統樹では、西グループの単系統性は支持されなかった。また、集団間の遺伝子流動を仮定した集団レベルの系統解析や多型頻度スペクトラムに基づく集団史推定などにおいては、屋久島集団の系統的位置に関して十分な統計的支持が得られず、今後の検討課題として残された。本研究で観察された東西グループの境界(中部地方)は、ミトコンドリアDNAで報告されていた境界(中国・近畿地方)よりも東に位置しており、両グループ間に遺伝的交流があった可能性が示唆される。実際、多型頻度のパターンも、集団間に遺伝子流動があった可能性が高いことを示しており、とくに境界に近い集団でその痕跡が顕著に見られた。生態ニッチモデリングの結果、ニホンザルは、氷期の最盛期には日本列島の南岸の限られた地域(レフュジア)に分布域を後退させていたことが示された。おそらく、こうしたレフュジアへの隔離が引き金となって東西分化構造が形成され、その後分布を拡大する過程で、集団間の遺伝子流動が広まったと考えられる。本研究の成果は、東アジアにおける動物の地理的多様性の形成過程に関する理解の一助となるとともに、ニホンザルの地域集団の保全にも役立つことが期待される。これらの研究成果を報告した論文は、*Journal of Biogeography*に掲載された(Ito et al. 2021)。

今後、得られた多型データを活用して、ゲノム中の自然選択の痕跡を探索することが期待される。

関連する研究として、アカゲザルとカニクイザルの自然交雑帯の形成過程に関する論文を発表した (Ito et al. 2020)。この論文では、アカゲザルとカニクイザルが分岐後に二次的に接触して交雑帯を形成したこと、一部のアカゲザルタイプの対立遺伝子がカニクイザルの集団に広く浸透していることを明らかにした。

(2) ニホンザルの頭蓋と下顎の CT 撮影を終え、一部のデータについてはデータベースへの登録も完了した。また、CT 画像データから自動的にサーフェス (メッシュ) データを生成するパイプラインを作成した。これにより、今後の画像処理における大幅な効率化が期待できる。今後、未登録のデータについてもデータベースへの登録を進めるとともに、形態の地理的多様性の形成要因を推定する解析を行う予定である。本研究で取得した CT データはすべてデータベースに公開するため、教育研究の用途に広く活用されることが期待される。

関連する研究として、CT 画像処理方法の違いが形態測定誤差に与える影響を評価した論文を発表した (Ito 2019)。この論文では、一般的に利用されているグローバル閾値法よりも分水嶺法による画像セグメンテーションが優れたパフォーマンスを発揮することを示した。また、ニホンザルの飼育個体と野生個体の形態を比較することで、環境の変化が下顎の形態に与える影響 (表現型可塑性) を評価した論文を発表した (Kamaluddin et al. 2019)。

(3) 研究を進める上で、屋久島集団の遺伝的多様性が極めて低く、形態的にも遺伝的にも顕著に分化しているといった興味深い点が観察されたこと、また屋久島集団の系統的位置については更なる検討が必要であることがわかったため、屋久島集団を中心に全ゲノムリシーケンスを行うこととした。屋久島 (7)、幸島 (2)、高知 (2)、山形 (2) について、NovaSeq 6000 による 150 ペアエンドシーケンスを行った (外注)。NCBI データベースからダウンロードした、アカゲザルとタイワンザルの配列データも含めて、クオリティコントロール、アカゲザル参照配列へのマッピング、PCT 重複リードの除去等のバイオインフォマティクス解析を進めた。今後、多型の探索を進め、そのデータに基づいて、系統関係の再評価ならびに集団サイズの変化や遺伝子流動を含む集団史の推定を行う予定である。また、屋久島集団において、分子進化のほぼ中立説が予測するようなパターンが観察されるかどうかを調べる。屋久島集団をテストケースとして、集団のボトルネックがゲノムと形態にどのような影響を与えるのかに関する知見が得られることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Ito Tsuyoshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Effects of different segmentation methods on geometric morphometric data collection from primate skulls	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods in Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 1972 ~ 1984
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/2041-210X.13274	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 Kamaluddin Siti Norsyuhada, Tanaka Mikiko, Wakamori Hikaru, Nishimura Takeshi, Ito Tsuyoshi	4. 巻 6
2. 論文標題 Phenotypic plasticity in the mandibular morphology of Japanese macaques: captive?wild comparison	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Royal Society Open Science	6. 最初と最後の頁 181382 ~ 181382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsos.181382	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 Ito Tsuyoshi, Kanthaswamy Sreetharan, Bunlungsup Srichan, Oldt Robert F., Houghton Paul, Hamada Yuzuru, Malaivijitnond Suchinda	4. 巻 33
2. 論文標題 Secondary contact and genomic admixture between rhesus and long tailed macaques in the Indochina Peninsula	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Evolutionary Biology	6. 最初と最後の頁 1164 ~ 1179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jeb.13681	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 Ito Tsuyoshi, Hayakawa Takashi, Suzuki-Hashido Nami, Hamada Yuzuru, Kurihara Yosuke, Hanya Goro, Kaneko Akihisa, Natsume Takayoshi, Aisu Seitaro, Honda Takeaki, Yachimori Syuji, Anezaki Tomoko, Omi Toshinori, Hayama Shin-ichi, Tanaka Mikiko, Wakamori Hikaru, Imai Hiroo, Kawamoto Yoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Phylogeographic history of Japanese macaques	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biogeography	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jbi.14087	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伊藤毅, 早川卓志, 橋戸南美, 田中美希子, 濱田穰, 栗原洋介, 半谷吾郎, 兼子明久, 夏目尊好, 愛洲星太郎, 本田剛章, 谷地森秀二, 姉崎智子, 新宅勇太, 近江俊徳, 羽山伸一, 今井啓雄, 若森参, 川本芳
2. 発表標題 核ゲノムの系統から見直すニホンザルの形態変異と進化史
3. 学会等名 日本進化学会第21回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤毅, 木村亮介, 濱田穰, 若森参, 手塚あゆみ, 永野惇, 川本芳
2. 発表標題 ゲノムワイドSNPを利用した和歌山タイワンザル交雑個体群の集団史推定
3. 学会等名 第35回日本霊長類学会大会
4. 発表年 2019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
---------	---------