ニホンヤマネの種内多型の維持機構の解明

生態環境科学専攻　生態遺伝学講座
博士後期課程２年　安田俊平　（指導教官　鈴木仁）

はじめに

ニホンヤマネ（*Glirulus japonicus*）は、日本の本州・四国・九州・隠岐島後に生息する日本固有の小型哺乳類である（Abe *et al*., 2005）。齧歯目（Rodentia）ヤマネ科（Gliridae）に属し（Corbet and Hill, 1991）、日本産の哺乳類の中で最古参の種とも考えられている（Dobson and Kawamura, 1998）。広葉樹林帯に棲息し、漿果や昆虫を採食し、日内休眠や冬眠を行うという特徴を持つ（湊, 2000; 中島, 2001）。1975 年に国の天然記念物に指定され、その保全が図られている（Abe *et al*., 2005）。種内の多様性を解析したこれまでの研究から、1) 山梨と和歌山の個体間に毛色などの形態学的特性に変異がある（湊, 1986）、2) 長野・山梨・福井・和歌山・高知の５地点５個体の遺伝的解析の結果、”山梨/長野”・”福井”・”和歌山”・”高知”の４つの古い系統の存在する（Suzuki *et al*., 1997）、3) 下顎骨の形態において、”関東/東北”・”関西”・”九州”の３グループが存在する（名嘉真 and 土屋, in press; 名嘉真, 私信）、などの知見が得られている。しかしながら、これらの知見は断片的であり、ニホンヤマネの遺伝的構造の総合的な理解には至っていない。また、繁殖様式などの生態学的知見も未だ十分には得られていない。本研究は、集団内多型や集団間の遺伝的交流を定量化し、保全基盤としての ESU（Evolutionarily Significant Unit: Frankham *et al*., 2002）を確立し、それと同時に種内多型の維持機構を解明する事を目的とした。さらに、新たにマイクロサテライトマーカーの開発を行い、遺伝的多様性を解析するともに、保全を議論する上で必要な情報となりうる生態学的研究も行った。

材料と方法

現在保有するニホンヤマネサンプル（肝臓・筋肉・培養皮膚・体毛など）のミトコンドリア DNA の cytochrome *b* 遺伝子前半 322 bp を解析し、オオヤマネ（*Glis glis*）を外群とし、木村２変数法（Kimura two-parameter method: Kimura, 1980）による遺伝的距離を用いて近隣結合法（NJ tree: Saitou and Nei, 1987）で系統樹を作成し、ニホンヤマネのグループ分けを行った。また、確認された各集団から 1 個体を選び、cytochrome *b* 遺伝子全領域である 1140 bp の系統樹を作成し、それぞれの集団の系統関係を推定した。さらに、ヤマネ科の化石情報を参考に、それぞれの系統の成立年代を推定した。遺伝的多様性解析としては、多型を示す核 DNA のマイクロサテライト領域７座位の断片長も解析し、下顎骨形態で見られたグループ間で遺伝的な分断化の有無を確認した。

また、上記のマイクロサテライトマーカーを用いて、山梨県の清里産ニホンヤマネの兄弟とその母親を調べ、その父親が単数なのか複数なのかの確認を行った。さらに、ニホンヤマネは、複数個体が集団で冬眠や日内休眠を行う事があり、同一巣箱に集合している個体間の血縁関係の有無について確認を行った。

結果

ミトコンドリア DNA の cytochrome *b* 遺伝子 322 bp を解析し、系統樹を作成した結果、Clade I（青森・秋田・岩手・山形）・Clade II（長野・山梨・静岡・群馬・栃木・福島・神奈川）・Clade III（和歌山・岐阜）・Clade IV（福井・鳥取）・Clade V（高知・徳島・愛媛）・Clade VI（広島・山口・佐賀・長崎・宮崎・熊本）・Clade VII（石川）の遺伝的に異なる７つの地域集団が確認された（図１）。また、1140 bp の解析から、始めに九州系統

が分岐し、後に残りの６系統がほぼ同時に分岐したことが示された。九州系統と他の系統の間には、約 10%の塩基置換が存在し、他の６集団間では約７％の塩基置換が認められ、九州系統が約 500 万年前、その他の系統が約 320 万年前に成立したと推定された。

核 DNA のマイクロサテライトマーカーの解析では、下顎骨形態の解析から発見された３集団”関東/東北”・”関西”・”九州”間で、遺伝的な分断化が検出された。特に、ミトコンドリアの結果と同じく、九州集団の分化の程度が大きく、*Fst* の値は”関東/東北”・”関西”間で 0.0226（P=0.002）であるのに対して、”関東/東北”・”九州”間では 0.0390（P=0.0003）、”関西”・”九州”間では 0.0439（P=0.0003）であった（図２）。

同様に、マイクロサテライトマーカーを用いた血縁関係の調査では、現段階では調査出来たのは２家族のみであるが、どちらも１匹の雄が父親となっているようであった。また、同一巣箱で日内休眠をしていた複数個体間で、兄弟、もしくは親子であるという血縁関係はあまり見られず、いわゆる他人同士が同じ巣箱を利用しているようであった。

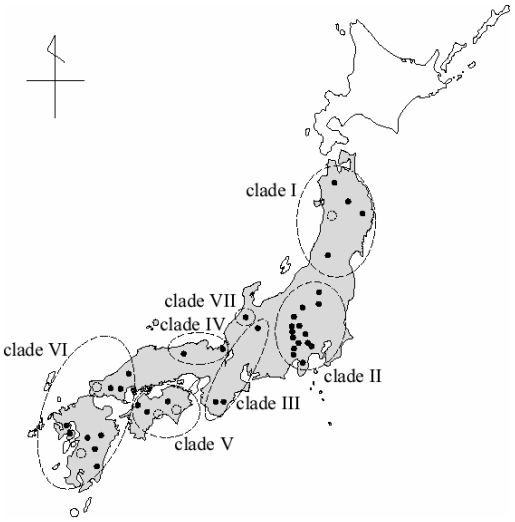

図１：cytochrome *b* 遺伝子 322 bp の解析から判明したグループ。小さな点線の丸は、採集地点が県単位でしか分からなかったもの。

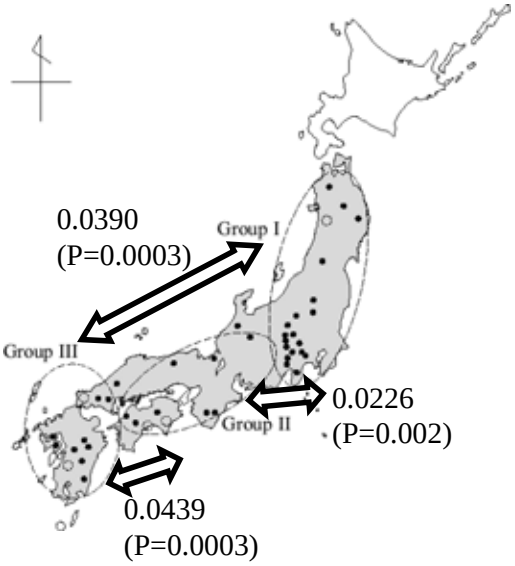

図２：マイクロサテライト７座位の解析による集団の分断化を *Fst* で示す。Group I が”関東/東北”、Group II が”関西”、Group III が”九州”をそれぞれ表す。

考察

今回のミトコンドリア DNA の解析で、ニホンヤマネの遺伝的構造の大枠を把握する事が出来た。日本列島には、７つの地域特異的グループがそれぞれ排他的に存在し、長期間に渡ってミトコンドリア DNA の交流が断たれていることが示された。また、その起源は第三紀終盤にまで遡る。つまり、氷期と間氷期が繰り返された第四紀の間、途絶えることなく各地でそれぞれの系統が生存してきた事が示唆された。一般的に、日本産の哺乳類は、東北地方の集団は氷河期が終わった後に成立したと考えられており、実際にムササビ（*Petaurista leucogenys*）の研究でそのような傾向が観測されているが（Oshida *et al.*, 2001）、今回の結果から、ニホンヤマネはそのような傾向を示さない事が示唆された。また、九州を除くニホンヤマネの系統がほぼ同時に成立している事から、化石からは数 10 万年前までしか遡れないニホンヤマネの歴史は（Kawamura, 1989）、実際にはそれより遙かに古く、第三紀には日本列島に棲息していた事が示唆された。また、九州系統が最初に成立している事から、ニホンヤマネは日本の南部に移入した後に日本列島に拡散したと考えることができる。

核 DNA のマイクロサテライト解析では、サンプル数の不足によりミトコンドリア DNA 解析で発見された系統間での解析ができず、下顎骨の形態調査より検出された集団間での遺伝的分断化を議論するのみであったが、

それぞれの集団間で、大きな遺伝的分断化が起きている事が示された。特に、ミトコンドリアと同じく、九州集団と他の集団との間での遺伝的分断化が非常に大きく、形態学的調査も考慮すると九州集団が他の集団と異なる ESU に属する可能性を強く示唆している。同様に、下顎骨研究で発見された”関東/東北”・”関西”グループについても、集団間で遺伝的分断化が起こっている事から、それぞれを独立した ESU とするのが妥当であると考えられる。この集団間には、日本アルプスのような地理的な障壁が存在し、それが原因の１つとなって遺伝的交流が乏しくなったと考えられる。事実、同所的に棲息している小型哺乳類であるアカネズミ（*Apodemus speciosus*）やヒミズ（*Urotrichus talpoides*）でも同様の傾向が発見されている（Tsuchiya *et al*., 1973; Harada *et al*., 2001）。しかし、それぞれの集団は複数の地域特異的なミトコンドリア系統を保有しており、今後、それぞれのミトコンドリア系統がなぜ維持されているのか、生態学的な側面からも研究していく必要があるものと思われる。特に、繁殖様式は、ニホンヤマネと同所的に棲息しているが地域特異的な系統が見られないヒメネズミ（Suzuki *et al*., 2004）などで研究が進んでおり（Ohnishi *et al*., 2000）、それらの種との比較検討を今後行う必要がある。加えて、誕生場所からの拡散距離の雌雄差などの調査も今後進める必要があると考えられる。

参考文献

Abe H., Ishii N., Itoo T., Kaneko Y., Maeda K., Miura S., and Yoneda M. (2005) A Guide to the Mammals of Japan. Tokai University Press, Japan.

Corbet G. B., and Hill J. E. (1991) A World List of Mammalian Species. Third eds. Oxford University Press, New York.

Dobson M., and Kawamura Y. (1998) Origin of the Japanese land mammal fauna: allocation of extant species to historically-based categories. Quaternary Research (第四紀研究), 37: 385-395.

Frankham R., Ballou J. D., and Briscoe D. A. (2002) Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, United Kingdom.

Harada M., Ando A., Tsuchiya K., and Koyasu K. (2001) Geographical variations in chromosomes of the greater Japanese shrew-mole, *Urotrichus talpoides* (Mammalia: Insectivora). Zoological Science, 18: 433-442.

Kawamura Y. (1989) Quaternary Rodent Faunas in the Japanese Islands (Part 2). Memoirs of the Faculty of Science, Kyoto University, Series of Geology and Mineralogy, 54: 1-235.

Kimura M. (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution, 16: 111-120.

Ohnishi N., Saitoh T., and Ishibashi Y. (2000) Spatial genetic relationships in a population of the Japanese wood mouse *Apodemus argenteus*. Ecological Research, 15: 285-292.

Oshida T., Ikeda K., Yamada K., and Masuda R. (2001) Phylogeography of the Japanese giant flying squirrel, *Petaurista leucogenys*, based on mitochondrial DNA control region sequences. Zoological Science, 18: 107-114.

Saitou N., and Nei M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution, 4: 406-425.

Suzuki H., Minato S., Sakurai S., Tsuchiya K., and Fokin I. M. (1997) Phylogenetic position and geographic differentiation of the Japanese dormouse, *Glirulus japonicus*, revealed by variations among rDNA, mtDNA, and the *Sry* gene. Zoological Science, 14: 167-173.

Suzuki H., Shumpei P. Yasuda, Sakaizumi M., Wakana S., Motokawa M., and Tsuchiya K. (2004) Differential geographic patterns of mitochondrial DNA variation in two sympatric species of Japanese wood mice, *Apodemus speciosus* and *A. argenteus*. Genes and Genetic Systems, 79: 165-176.

Tsuchiya K., Moriwaki K., and Yosida T. H. (1973) Cytogenetical survey in wild populations of Japanese wood mouse, *Apodemus speciosus* and its breeding. Experimental Animals Tokyo, 22: 221-229.

名嘉真咲菜, 土屋公幸 (2006) ニホンヤマネ（*Glirulus japonicus*）の下顎骨形態にみられる地理的変異（Geographic variation of mandible in the Japanese dormouse *Glirulus japonicus*）Animate, in press.

湊秋作 (1986) ニホンヤマネの生態 平凡社.