

更新世化石の放射性炭素年代測定と古代DNA解析による本州に生息していたヒグマの起源の解明

瀬川 高弘*¹
Segawa Takahiro

甲能 純子*²
Kohno Ayako

西原 秀典*³
Nishihara Hidenori

門叶 冬樹*⁴
Tokanai Fuyuki

甲能 直樹*²
Kohno Naoki

1. はじめに

現在の本州に生息する陸生大型哺乳類は、ニホンジカ、ニホンカモシカ、ツキノワグマのわずか3種類しかいません。しかし、後期更新世以前（1万2,000年前）の本州には、ヒグマ、バイソン、オーロックス、オオツノジカ、ヘラジカ、トラ、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ます。しかしそれらがユーラシア大陸に生息する集団とどのような遺伝的関係にあったのか、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、についてはほとんど明らかになっていません。こうした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立を理解する上で必要不可欠です。

現在の日本列島ではヒグマ (*Ursus arctos*) は北海道にしか生息していません。しかし更新世の化石記録からはかつてヒグマが本州全域に生息していたこと、またそれらが北海道の個体よりもはるかに大きかったことが分かっています (図1)。しかし本州のヒグマがどのような系統で、いつどこから来たのかといった、進化の歴史についてはほとんど分

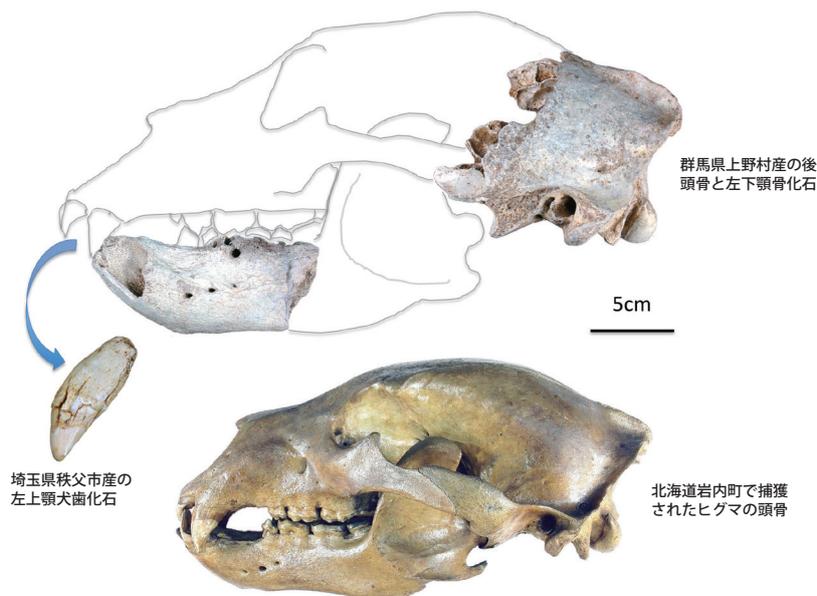


図1 本研究で分析した本州産のヒグマ化石の標本写真

上：後期更新世後期に絶滅した本州ヒグマの雌個体（3万2,500年前）、左中：本州ヒグマの雄個体（1万9,300年前）、下：北海道南部に生息するヒグマの雌個体

©安藤 梢

かっていませんでした。

遺跡等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す。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ります。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ました。本研究では最先端の古代 DNA 分析技術を駆使して、3万2,500年前の本州産ヒグマ化石から古代 DNA の分析に成功しました¹⁾。これは日本国内最古の試料からの古代 DNA 研究になります(2022年4月時点)。

2. 動物化石の放射性炭素年代測定法について

動物化石の放射性炭素年代測定を行って得られる情報は、その動物がどのような時代に生息し何を食べていたのかを知ることができるだけでなく、時間軸上で形態学的な変化の方向や変化の速度を捉えたり、更にはその動物の地理的分散の様相を考察する上で大変重要な鍵となります。

動物化石の年代推定は、1990年以前では放射性炭素年代よりも化石が産出した地層の地質年代や共産した植物及び文化遺物から示唆された年代に基づいてなされていました。そのため、地殻変動や洪水等による後天的な地形の変化や堆積物の移動の影響を受けた場所では、同じ場所から産出した化石であっても共産物との間にしばしば年代のズレが生じてしまうことになり、そういった曖昧さを残したまま信憑性に欠ける議論になってしまうことが少なくありませんでした。また、動物は一般に寒冷環境下で大型化することが知られている(いわゆるベルグマンの法則)ことから、動物個体が大型だと寒冷期(氷河期)の化石と見なされることも多々ありましたが、このことを仮定して年代推定をしてしまうことで、環境変動と動物個体の形態や生態の変化の関係性を議論することが循環論にもなっていました。それにも関わらず、このように放射性炭素年代法以外の方法で年代推定がされてきた理由の1つに、当時の年代測定法では年代測定に膨大なサンプル量が必要で、特に考古学的意味合いを持つ動物化石についてはサンプリングが標本の破壊につながることから敬遠されてきたことが挙げられます。しかしなが

ら、1990年以降になると年代測定法の技術の進歩にともなって、年代測定に必要なサンプル量は大幅に減少しました。例えば、歯牙や骨の炭素年代測定には、1950年頃は約2,200g、1960年頃は約100~150gものサンプル量が必要でしたが、1985年頃になるとAMS測定法の出現に伴い約0.2~5gのサンプル量まで少なくなり、実用性も増してきました²⁾。

余談ですが、最近は標本の所蔵機関から、たとえ標本が展示等に用いられていたとしてもサンプリング部位が分からないように完全に復元するのではなく、研究に貢献した証と今後の利用のためサンプリングの形跡を残すこと(無着色のままや、敢えて修復しない等)を求められることも多くなりました。かつてはサンプリングのために何度も複雑な手続きを踏んだにも関わらず、それでも「標本の見栄えが悪くなる」と許可されなかったこともあったのが信じられないような話です。

3. ヒグマ化石からの放射性炭素年代測定

今回の研究で年代測定を行った群馬県上野村と埼玉県秩父市から産出した2個体のヒグマのサンプル量は、それぞれ0.88gと0.78gであり、1円玉の大きさである1gよりも少ない分量でした。放射性炭素年代測定を行うためのコラーゲン抽出の工程では、はじめに標本の全長や幅等の大きさやプロポーションに関わる計測ポイントを破壊することのないようサンプリング部位を決め、サンプリングの後で正確に修復もできるよう、あらかじめサンプリング予定部位を写真撮影してエクザファイン(GC社パテタイプ)等の歯科用印象材にて型取りします。標本の切削時には、サンプリング部位が高温になってタンパク質の変性が起きないように注意を払う必要があります。そのため、測定試料は低速高トルク回転のエンジンを用いて粉末の状態の試料としてサンプリングしました。サンプリング後の欠損部位は、先の写真と型取りした原型を参考に石膏で復元して着色しました。展示等に用いられない研究資料の場合は、どこからサンプリングをしたのか分かるよう、少し色を変えて着色することもあります。採取した試料は、はじめに0.1N NaOH水溶液で10分間洗浄してアルカリ可溶性有機物を除去した後、超純水にてpH6~7になるまで洗浄を繰り返します。24時間の

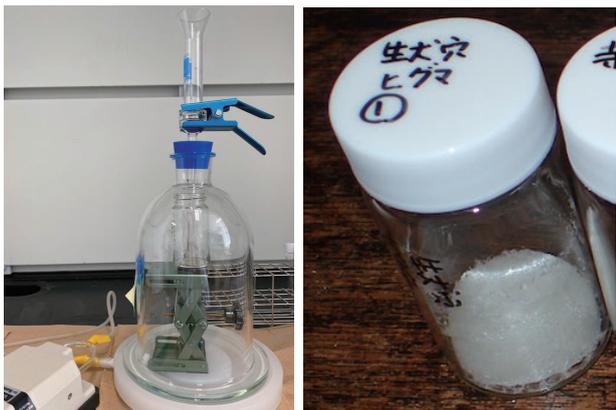


図2 ヒグマ化石からのコラーゲン抽出するための吸引濾過装置 (左), 抽出されたコラーゲン (右)

凍結乾燥の後、あらかじめ煮沸洗浄しておいたセルロースチューブに収集し、500 ml の 1.2 N HCL 水溶液にて 22 °C の室温で攪拌しながら 24 時間の脱灰し、再び超純水にて中和します。その後、セルロースチューブ内の試料をねじ口試験管に回収して遠心分離した後、上澄み液と残留物とに分けて、24 時間凍結乾燥します。凍結乾燥後の残留物は、不溶性コラーゲン (gelatin collagen) を抽出するために超純水を加え、アルミブロックバスにて 95 °C で 12 時間保温し、遠心分離して上澄み液を吸引濾過した後、再び凍結乾燥してコラーゲンを収集しました (図 2)。

コラーゲン抽出後は、山形大学高感度加速器質量分析センターにて、コラーゲンを元素分析計とガラス真空ラインで構成されるグラファイト調整システムによりグラファイト化します。その後、加速器質量分析計 (YU-AMS:NEC 製 1.5SDH) を用いて放射性炭素年代を測定し、得られた ^{14}C 濃度について同位体分別効果の補正を行った後、 ^{14}C 年代と暦年代を算出しました。

群馬県上野村と埼玉県秩父市から産出した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は 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りました。また安定同位体比の濃度分析から肉食性の大型哺乳類では $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ の割合が大きくなるので、本州のヒグマは肉食性が非常に強かったことが示されました (図 3)。

4. ヒグマ化石からの古代 DNA 分析

古代 DNA 解析とは、化石等古い時代の生物に由来する標本に残された微量の DNA 配列を解析する手法です。近年の古代 DNA 解析技術の発展により様々な絶滅生物や古人類の進化系統解析に用いられるようになってきました。ただし、古代 DNA がどれほど良い状態で残っているかは標本の保存状態に

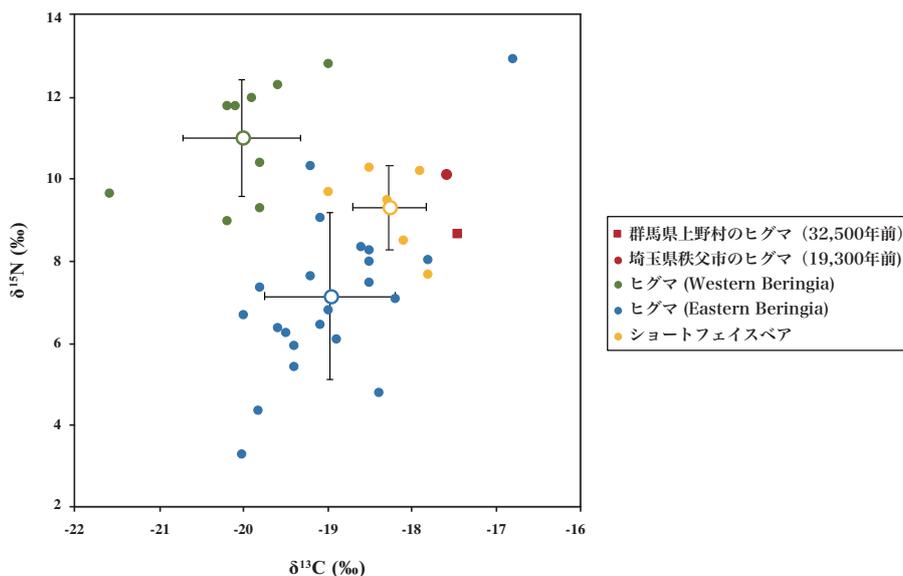


図3 炭素と窒素の安定同位体比のプロット

各開放円及び棒グラフは、それぞれ各集団の平均値及び標準偏差を表す。本州ヒグマ以外の同位体データは、先行研究^{3,4)}から取得した

大きく左右されます。ヒグマ化石標本内部から無菌的に試料を採取し、DNA抽出を行い、次世代シーケンサーによる塩基配列の解読を行いました。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行った結果、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りました。また、本州のヒグマはその姉妹系統である北海道南部(道南)のグループから約16万年前に分岐したことも分かりました(図4)。

本州のヒグマの化石は34万年前(中期更新世=チバニアン)のものが見つかっていることから、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ました。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りました。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ます。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りました。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ました。

更に、本州のヒグマの移動ルートの推定も行いました。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つが考えられます。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ました。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、更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ました(図5)。

5. 今後の展開

北海道と本州を隔てる津軽海峡は、ブラキストン線と呼ばれる生物相の重要な境界であり、更新世に

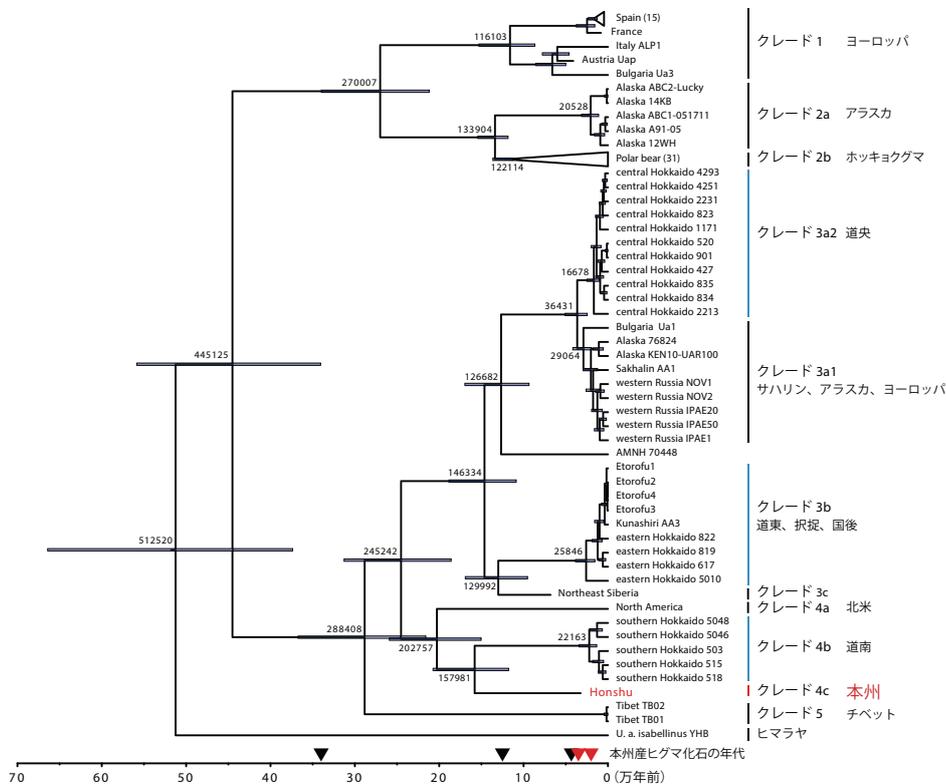


図4 ミトコンドリアDNA解析に基づく系統樹

水色の縦線が北海道の現存個体群、赤色の縦線が本州の絶滅個体群を示す。赤字の▼印は本研究で分析した本州ヒグマの化石年代、黒字の▼印はこれまでに推定された本州ヒグマの化石の年代を示す



図5 本州ヒグマの移動ルートの推定

祖先集団が後期更新世以前にサハリンを経由して北海道に移動し（青熊）、その一部（赤熊）が更に津軽海峡を南下して本州に入ってきた（赤実線矢印）。この図では、ヒグマが朝鮮半島を経由して移動した可能性も示してある（赤の破線矢印）。地図の緑の部分は大陸氷塊の蓄積により海面が120m低下した場合の陸域を示している

それを超えて移住した哺乳類はわずかな例外を除いてほとんど知られていません。その例外的な事例が、14万年前頃の海水準低下期に本州から北海道へ渡ったナウマンゾウとオオツノジカです。この年代は本研究で推定された本州ヒグマと道南ヒグマの分岐年代（15.8万年前）と極めて近いことが分かりました。そのため、14万年前の海水準低下期に陸地が極めて近づいた結果、ナウマンゾウとオオツノジカが北上すると同時に、ヒグマは北海道から本州へ南下した可能性が高いと推測されます。これは今回の放射性炭素年代測定と古代DNA分析から明らかになった、従来考えられたことのない新しい仮説となります。

ヒグマの化石は本州から多数見つかっていましたが、34万年前の化石と今回の3万2,500年前の化石が直接的な祖先-子孫の関係にない全くの別集団である可能性はこれまで想像すらされていませんでした。しかし本研究から、更新世の日本列島では系統の古い動物が島弧に隔離されるたびに島弧内で繁栄し、一方で哺乳類の渡来は従来考えられてきた以上に頻繁にあったことが明らかになりました。日本列島は世界でも特殊な地理的環境にあり、ユーラシア大陸と基本的に隔離された島弧であるものの、寒冷期の海水準低下の時期のみ大型哺乳類の渡来が可能であったと考えられます。特に食物連鎖の頂点に近い大型肉食哺乳類の度重なる渡来は当時の本州の生態系に多大な影響を及ぼしたと考えられ、日本列島の生物相の成立ちが従来考えられてきた以上に複雑であったことが考えられます。

このように今回の成果は、放射性炭素年代法による厳密な年代決定と近年飛躍的に発展した古代DNA分析技術を古い更新世の化石に応用できたことで得られました。今後これらの技術を更に応用し、日本列島における更新世の様々な哺乳類の移動と絶滅史を明らかにすることで、氷河期の環境変動が現在の日本列島の哺乳類の多様性にどのような影響をもたらしたのかを明らかにすることに繋がると期待されます。

参考文献

- 1) Segawa, *et al.*, *Royal Society Open Science*, 8:210518 (2021)
- 2) 中井信之ほか, 名古屋大学加速器質量分析計業績報告書, V.3, 7-28 (1992)
- 3) Barnes, *et al.*, *Science*, **295**, 2267-2270 (2002)
- 4) Rey-Iglesia, *et al.*, *Sci. Rep.*, **9**, 4462 (2019)

(*¹ 山梨大学総合分析実験センター, *² 国立科学博物館地学研究部, *³ 東京工業大学生命理工学院, *⁴ 山形大学高感度加速器質量分析センター)