

原著論文

## 群馬県に生息するニホンイノシシのDNA解析

高橋遼平<sup>1</sup>・石黒直隆<sup>2</sup>・姉崎智子<sup>3</sup>・本郷一美<sup>1</sup>

<sup>1</sup>総合研究大学院大学 先端科学研究科 生命共生体進化学専攻 〒240-0193 神奈川県三浦郡葉山町 (湘南国際村)  
e-mail: takahashi\_ryouhei@soken.ac.jp  
<sup>2</sup>岐阜大学 応用生物科学部 獣医学課程 食品・環境衛生学研究室 〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸1-1  
<sup>3</sup>群馬県立自然史博物館 〒370-2345 群馬県富岡市上黒岩1674-1

**要旨:** 群馬県に生息する62個体のニホンイノシシ (*Sus scrofa leucomystax*) のDNA試料とデータベース由来の家畜ブタ・イノシシの塩基配列情報を用いて分子系統学的解析を行った。解析にはミトコンドリアDNA (mtDNA) D-loop領域及びGlucosephosphate isomerase-processed pseudogene (*GPIP*遺伝子) の塩基配列を用いた。解析の結果、東吾妻の2個体よりヨーロッパ型のmtDNAハプロタイプが検出された。また群馬県東部由来の9個体よりヨーロッパ型*GPIP*遺伝子型を検出した。これらの結果から、群馬県に生息するニホンイノシシ集団に欧米家畜ブタ品種からの遺伝子流入が生じた可能性が示唆された。

**キーワード:** ニホンイノシシ, イノブタ, mtDNA, *GPIP*遺伝子

## DNA analyses of the Japanese wild boar from Gunma prefecture

TAKAHASHI Ryohei<sup>1</sup>, ISHIGURO Naotaka<sup>2</sup>, ANEZAKI Tomoko<sup>3</sup> and HONGO Hitomi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Evolutionary Studies of Biosystems, School of Advanced Sciences, The Graduate University for Advanced Studies (SOKENDAI), Shonan Village, Hayama, Miura-gun, Kanagawa, 240-0193, Japan

<sup>2</sup>Laboratory of Food and Environmental Hygiene, Veterinary Medicine, Faculty of Applied Biological Science, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu, 501-1193, Japan

<sup>3</sup>Gunma Museum of Natural History, 1674-1 Kamikuroiwa, Tomioka, Gunma, 370-2345, Japan

**Abstract:** We examined the phylogenetic relationship of 62 Japanese wild boars (*Sus scrofa leucomystax*) from Gunma prefecture, with nucleotide sequences of domestic pig breeds and wild boars derived from a database. Mitochondrial (mt) DNA D-loop region and Glucosephosphate isomerase-processed pseudogene (*GPIP*) nucleotide sequences were used in the analysis. A single European mtDNA haplotype was detected in 2 samples from Higashi-Agatsuma. Furthermore, we detected *GPIP*\*4, specific allele for Euro-American domestic pigs, in 9 samples from eastern Gunma. From these results, we conclude that the gene flow could have taken place from Euro - American domestic pigs to Japanese wild boars.

**Key Words:** Japanese wild boar, Inobuta, mtDNA, *GPIP*

## はじめに

群馬県に生息するニホンイノシシ (*Sus scrofa leucomystax*) に欧米家畜ブタ品種や、ニホンイノシシと欧米家畜ブタ品種との交配種であるイノブタからの遺伝子流入が生じている可能性を検討するため分子系統学的解析を行った。本研究では特に群馬県東部の状況を把握するため、太田市の試料を中心とした全62個体のニホンイノシシを解析した。解析にはミトコンドリア (mt) DNA D-loop領域と Glucosephosphate isomerase-processed pseudogene (*GPIP*遺伝子) を用いた。世界の家畜ブタ及びイノシシは分子系統学的にアジア型とヨーロッパ型に大別される事が知られており、上述した2つのDNAマーカーによってニホンイノシシは通常アジア型に分類される (Okumura *et al.*, 2001; Ishiguro *et al.*, 2002)。一方で欧米家畜ブタ品種は基本的にヨーロッパ型のmtDNAハプロタイプと *GPIP*対立遺伝子を持つため (e.g. Giuffra *et al.*, 2000)、過去に野生のニホンイノシシが欧米家畜ブタ品種やイノブタと交雑を起こしていた場合、ニホンイノシシの集団内からヨーロッパ型のmtDNAハプロタイプや *GPIP*対立遺伝子が検出される可能性がある。なお、それぞれのDNAマーカーの特性については高橋ほか (2010) に記した。

## 試料と方法

### 1. 試料及びDNAの抽出作業

DNeasy<sup>®</sup> Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を用いて、ニホンイノシシの肉片約25mgからDNAを抽出した。本研究で用いた試料の採取地及び性別は以下に続く解析結果と併せ、表1に示した。

### 2. mtDNA D-loop領域の解析

抽出されたDNAより polymerase chain reaction (PCR) 法にて mtDNA D-loop領域を増幅した。PCRには AmpliTaq Gold<sup>®</sup> 360 Master Mix (Applied Biosystems by Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) を使用した。またプライマーには mit112 (5'-GCGCACAAACATACAAATATGCG) と mit1214 (5'-ACGCACGTTATGTCCCGTA) を使用し、577-578bpを増幅した。PCR条件は94℃ で10分間の加熱後に、熱変性94℃ 30秒、アニーリング61℃ 30秒、伸長反応72℃ 30秒を30サイクル行い、最終伸長反応は72℃ 5分間とした。PCR産物中の過剰プライマーを ExoSAP-IT (USB Corporation, Cleveland, Ohio, USA) により除去した後、ダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定した。決定された塩基配列のうち557-558bpに、データベース National Center for Biotechnology Information (NCBI) 由来の世界の家畜ブタ・イノシシの塩基配列情報 (563-572bp) 61種類 (表2) を加え、近隣結合 (NJ) 法 (Saitou and Nei, 1987) により解析を行った。解

析には Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software Version 4.0 (MEGA 4) (Tamura *et al.*, 2007) を使用し、ClustalW (Thompson *et al.*, 1994) によりアラインメントを行った。なお解析時に比較するサイトは pairwise deletion により決定した。本研究で用いる領域内の塩基置換の程度は1%前後と小さいため、塩基置換の補正は行わず p-distance を用いて NJ 系統樹を作成した。この際外群にはイボイノシシ (AB046876) の塩基配列情報を用い、統計学的有意性の検証は Bootstrap法 (1000回繰り返し) で行った。

表1. 解析に用いたニホンイノシシ試料の情報及び解析結果

試料番号 <sup>1)</sup> (受入No.)	雌雄	採取地域	mtDNAハプロタイプ <sup>2)</sup>	<i>GPIP</i> 遺伝子型	備考 <sup>4)</sup>
VM08-159	female	甘楽町	Okayama.D588	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-1	female	桐生	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-4	female	高山村	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-23	female	東吾妻	SWB6	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	mtDNA:569bp
VM09-24	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 4	
VM09-68	female	高山村	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-79	female	高山村	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-80	female	東吾妻	SWB6	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3a/GPIP</i> <sup>-</sup> <i>3a</i>	
VM09-81	female	東吾妻	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-83	female	東吾妻	Gunma5	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-129	female	東吾妻	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-130	female	長野原	J3	- <sup>3)</sup>	
VM09-131	female	高山村	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-132	female	東吾妻	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-133	female	東吾妻	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-137	female	甘楽町	J8	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-143	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3/GPIP</i> <sup>-</sup> 4	
VM09-149	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> <i>3a</i>	
VM09-150	female	中之条	Gunma5	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-153	female	嬭恋村	Gunma5	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3a/GPIP</i> <sup>-</sup> <i>3a</i>	
VM09-158	female	中之条	J3	- <sup>3)</sup>	
VM09-183	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>4/GPIP</i> <sup>-</sup> 4	
VM09-185	female	中之条	Gunma5	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-186	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-209	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-210	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3or3a/GPIP</i> <sup>-</sup> <i>3or3a</i>	<i>GPIP</i> :421bp
VM09-211	female	太田	J10	- <sup>3)</sup>	
VM09-212	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3a/GPIP</i> <sup>-</sup> 4	
VM09-213	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 4	
VM09-229	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	mtDNA:547bp
VM09-230	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	mtDNA:549bp
VM09-311	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-312	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 4	
VM09-313	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	mtDNA:548bp
VM09-314	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-315	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3a/GPIP</i> <sup>-</sup> 4	
VM09-316	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-317	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-318	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-320	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-322	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-323	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3a/GPIP</i> <sup>-</sup> <i>3a</i>	
VM09-324	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-359	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3/GPIP</i> <sup>-</sup> 4	
VM09-365	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-366	female	太田	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-367	female	太田	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-368	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 4	
VM09-369	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-370	female	高山村	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-373	不明	安中	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	毛色:金,白
VM09-384	female	長野原	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-392	female	太田	J3	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-393	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-401	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
VM09-402	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
VM09-405	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	mtDNA:509bp
VM09-415	female	太田	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	
vm09-416	不明	桐生	J12	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>3or3a/GPIP</i> <sup>-</sup> 4	<i>GPIP</i> :554bp
vm09-420	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	
vm09-421	male	中之条	Gunma5	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 3	毛色:金,白
vm09-433	female	太田	J10	<i>GPIP</i> <sup>+</sup> <i>1/GPIP</i> <sup>-</sup> 1	

\*1. 群馬県立自然史博物館における試料番号を示した。

\*2. NCBIに登録されている同一ハプロタイプ名を示した。なお、それぞれのAccession No.は表2に示した。

\*3. 解析に必要である配列長を得る事ができなかった。

\*4. 分析配列長が他試料よりも短い場合は配列長を、その他毛色に関する情報を示した。

### 3. GPII 遺伝子の解析

抽出されたDNAからPCR法にてGPII遺伝子を増幅した。プライマーにはGiuffra *et al.* (2000) から GPII1 (5'-TGCAGTTGAGAAGGACTTTACTT) と GPII4 (5'-GTATCCCAGATGATGTCATGAAT) を使用し、784bpを増幅した。PCRはアニーリング温度を58℃に変更した点を除き前述のmtDNA D-loop領域の増幅と同条件で行った。ExoSAP-ITによるPCR産物の精製後、ダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定し、それらの対立遺伝子をIshiguro *et al.* (2002) に従いアジア型とヨーロッパ型に分類した。なお遺伝子型がヘテロ (異型接合体) であった個体については、マルコフ連鎖モンテカルロ法 (MCMC) をアルゴリズムに使用する「PHASE version2.1」(Stephens *et al.*, 2001, Stephens and Donnelly, 2003) を用いて、集団の遺伝子型情報からヘテロ個体のハプロタイプを推定した。解析時の初期値はソフトウェアのデフォルト設定に従った。

## 結 果

### 1. mtDNA D-loop領域の解析

#### 1-1. ハプロタイプの決定

全62個体のうち57個体のmtDNA D-loop領域の増幅に成功し、7つのハプロタイプを検出した。これらのハプロタイプは、NCBIに登録されている塩基配列との相同性検索により既知のものである事が判明した (表1)。なお解析に用いたNCBI由来のハプロタイプ情報は後述の解析に使用した塩基配列情報と共に表2に、検出された塩基の変異は表3に示した。全試料のうち5試料は他の試料よりも決定された塩基配列が短かったため (509-554bp) 全ての変異を確認する事はできなかったが、配列の相同性からそれぞれが前述の7ハプロタイプに含まれる可能性が高い事が示唆された (表1)。

なお高橋 (2010) ではGunma A-Fの6ハプロタイプが検出されたが、解析方法に誤りが存在したため再解析を行った。再解析後のGunma A-Fと今回検出された7ハプロタイプの対応関係は以下の通りである: Gunma A→J3; Gunma B→Gunma 5; Gunma C→J8; Gunma D・E→J10; Gunma F→SWB6; 本研究のみで検出→J12・Okayama.D588 (以下本文ではD588と略す)。

#### 1-2. データベース由来の世界の家畜ブタ、イノシシのmtDNA D-loop領域との比較

本研究で検出した7ハプロタイプに、NCBIより取得した塩基配列情報を加えてNJ系統樹を作成した (図1)。系統樹作成に使用したNCBIのハプロタイプには、ニホンイノシシ544個体由来の23ハプロタイプ (J1-J23) (Ishiguro *et al.*, 2002 & 2008; Watanobe *et al.*, 2003; Ishiguro and Nishimura, 2005) に世界各地の家畜ブタ・イノシシ由来の38ハプロタイプを加えた合計61ハプロタイプを使用した (表2)。

この結果、本研究で検出された5つのハプロタイプは先行研究で多くのニホンイノシシから検出されているGunma5やJ3, 8, 10, 12であった。特に太田・桐生の群馬県東部試料からはJ10が多数検出された (40個体中23個体, 以下23/40と記述)。本研究ではその他の地域からJ10は検出されておらず、高橋ほか (2010) でも松井田由来の5個体のみでしか確認されていない。

また本研究ではニホンイノシシから一般的に検出されるハプロタイプを多数検出した一方で、東吾妻由来の2個体から欧米系統の家畜ブタ・イノシシが作るクラスターに属するハプロタイプSWB6が確認された (図1)。さらに甘楽町の1個体からは、アジア型に属すものの欧米家畜ブタ品種であるデュロック種からの検出が確認されているハプロタイプD588も検出された。

表2. 解析に使用したデータベース由来のハプロタイプ情報

Population, breed	Haplotype	Accession No.	
Japanese wild boar	Gunma 5	AB059652	
	J1	D42173	
	J2	AB055222	
	J3	D42174	
	J4	D42178	
	J5	AB015085	
	J6	D42171	
	J7	AB015086	
	J8	AB041468	
	J9	D42176	
	J10	D42172	
	J11	AB041469	
	J12	AB041471	
	J13	AB041467	
	J14	AB041472	
	J15	AB041473	
	J16	AB015084	
	J17	AB071706	
	J18	AB071707	
	J19	AB188576	
	J20	AB188577	
	J21	AB302179	
	J22	AB302180	
J23	AB302181		
Satsuma Ryukyu wild boar	Satsuma	AB015091	
	RWB1	AB015087	
	RWB2	AB015088	
	RWB3	AB015089	
	RWB4	AB015090	
Okinawa native pig	RWB5	D42184	
	Okinawa native	AB015092	
	Korean wild boar	KWB1	AY879784
		KWB2	DQ191212
		KWB3	DQ191214
KWB4		DQ191219	
Jeju native pig	Jeju native	AY24380	
<i>Sus scrofa taiwanensis</i>	TWB1	EF606873	
	TWB2	EU008087	
Taoyuan pig	Taoyuan	DQ534707	
Lanyu pig	Lanyu	DQ518915	
Laiwu black	Laiwu black	EU979126	
	VWB1	AB326933	
	VWB2	AB326934	
Vietnamese wild boar	VWB3	AB326935	
	Thai native pig	Thai native1	FM244469
	Thai native2	FM244473	
Duroc	Okayama. D588	AB041487	
	Duroc1	AY232876	
	Duroc2	AY232880	
Hampshire	Hampshire1	AB041488	
	Hampshire2	AY429460	
Iberian pig	Iberian	AY232850	
	Italian wild boar	IWB1	AB015094
IWB2		AB015095	
Landrace	Landrace1	AY232885	
	Landrace2	AY463069	
Large white	Large white	AY463070	
	Pietrain	AY230820	
Spanish wild boar	SWB1	AY232869	
	SWB6	AY232873	
Warthog	Warthog	AB046876	





高橋ほか

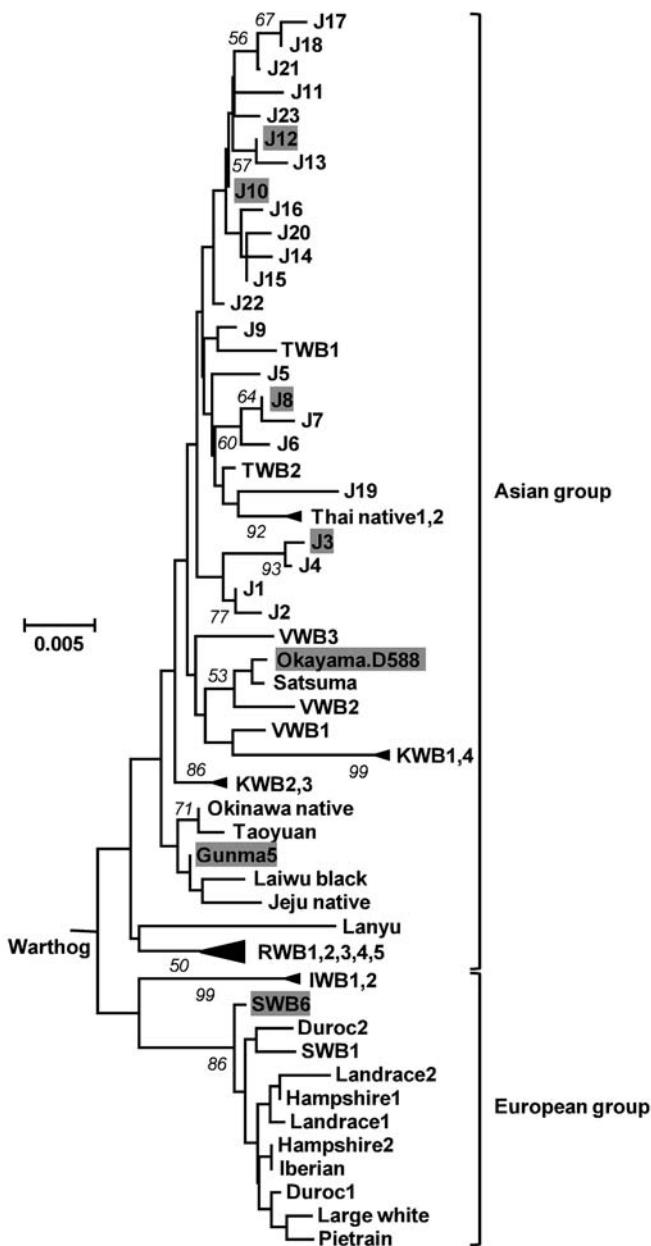


図1. 本研究で検出したハプロタイプ及び世界のイノシシ・家畜ブタのmtDNA D-loop領域のNJ系統樹

本研究で検出したハプロタイプを灰色で塗りつぶした。イタリック体の数字はブートストラップ値 (%) を示す (50%以上のみを表示, 1000回繰り返す)。各ハプロタイプの情報は表2に示した。なお、同一の系統・品種のみで形成されるクラスターについては黒で塗りつぶした三角 (◀) を用いてまとめて表示した (ニホンイノシシを除く)。

## 2. GPIIP 遺伝子の解析

62個体のうち57個体の解析が完了した。VM09-130, VM09-158, VM09-211の3個体は解析に必要な配列長を得る事ができなかった (表1)。本研究では4つのGPIIP対立遺伝子を検出した (表4)。Ishiguro *et al.* (2002) に従い各対立遺伝子を分類した結果、太田由来の8個体からヨーロッパ

型対立遺伝子 (GPIIP\*4) を検出した。なお、ヨーロッパ型 mtDNA ハプロタイプ (SWB6) を持つ個体を含め、群馬県東部以外の地域の試料はその全てがアジア型対立遺伝子を保持していた (表1)。また配列長が不十分であったVM08-210とVM09-416について解析された塩基配列の相同性を確認した結果、桐生由来のVM09-416もヨーロッパ型対立遺伝子であるGPIIP\*4を保持している可能性が示唆された (表1)。

表4. 本研究で検出された各GPIIP対立遺伝子の情報

		Nucleotide positions <sup>*2</sup>										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	Allele frequencies	
Asian type	GPIIP*1	G	G	G	C	A	G	A	C	C	0.57	
	GPIIP*3	A	.	.	.	.	T	T	.	.	0.26	
	GPIIP*3a	A	A	.	.	.	T	T	.	.	0.08	
European type	GPIIP*4	A	.	A	.	G	C	T	T	A	0.09	

塩基配列長が他個体より短いVM09-210, VM09-416以外の57個体について記載した。

\*1. 対立遺伝子名 (Allele) はIshiguro *et al.* (2002) に準拠した。

\*2. 本研究の169番塩基座は高橋ほか (2010) の表3のNucleotide position No.105に相当する。

## 考 察

本研究では群馬県に生息するニホンイノシシについて mtDNA D-loop 領域及びGPIIP遺伝子の解析を行った。解析の結果、東吾妻由来のニホンイノシシ2個体からヨーロッパ型のmtDNAハプロタイプ (SWB6) を検出した (表1)。世界の家畜ブタとイノシシのmtDNAハプロタイプはアジア型とヨーロッパ型に大別でき、ニホンイノシシはアジア型を保持する事が知られている。このことから、過去に群馬県の野生のイノシシ集団に、欧米家畜ブタ品種もしくはイノブタからの遺伝子流入が生じた可能性が考えられた。先行研究である高橋ほか (2010) でも東吾妻からはヨーロッパ型ハプロタイプが複数検出されているため、同様のハプロタイプを保持する個体・集団が東吾妻周辺地域に生息していると考えられる (図2)。

また、同じくmtDNA D-loop領域の解析ではデュロック種由来のハプロタイプであるD588が甘楽町の試料より検出された。デュロック種を含む多くの欧米家畜ブタ品種はその改良にアジアの家畜ブタを用いている事が知られおり (張ほか, 1993), アジア型のmtDNAハプロタイプを有する欧米家畜ブタ品種も多数確認されている (Okumura *et al.*, 2001; Fang and Andersson, 2006)。ニホンイノシシからは一般的に確認されないD588が野生のイノシシより検出された事から、アジア型ハプロタイプを持つ家畜ブタによるニホンイノシシへの遺伝子流入が生じている可能性も推察された。

高橋ほか

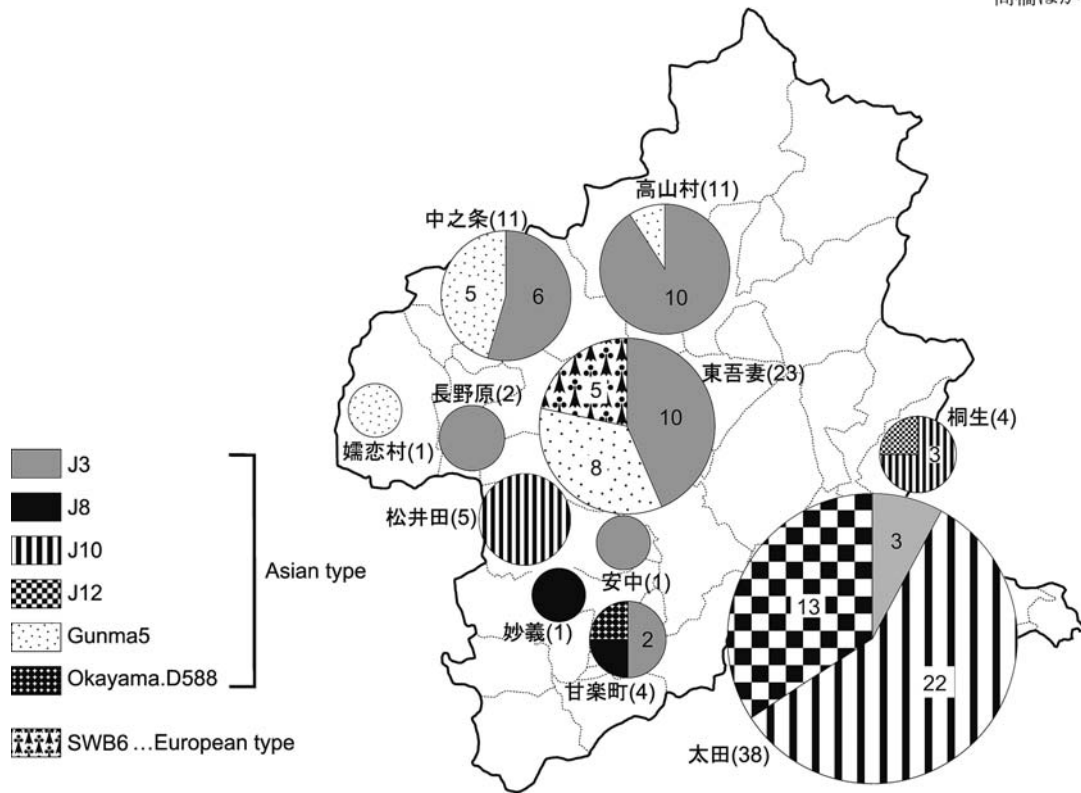


図2. mtDNAハプロタイプ分布図

高橋ほか (2010) による結果を加えた計101個体についてmtDNAハプロタイプの地域分布を記載した。地域名の後のカッコ内の数字は個体数を示す。

高橋ほか

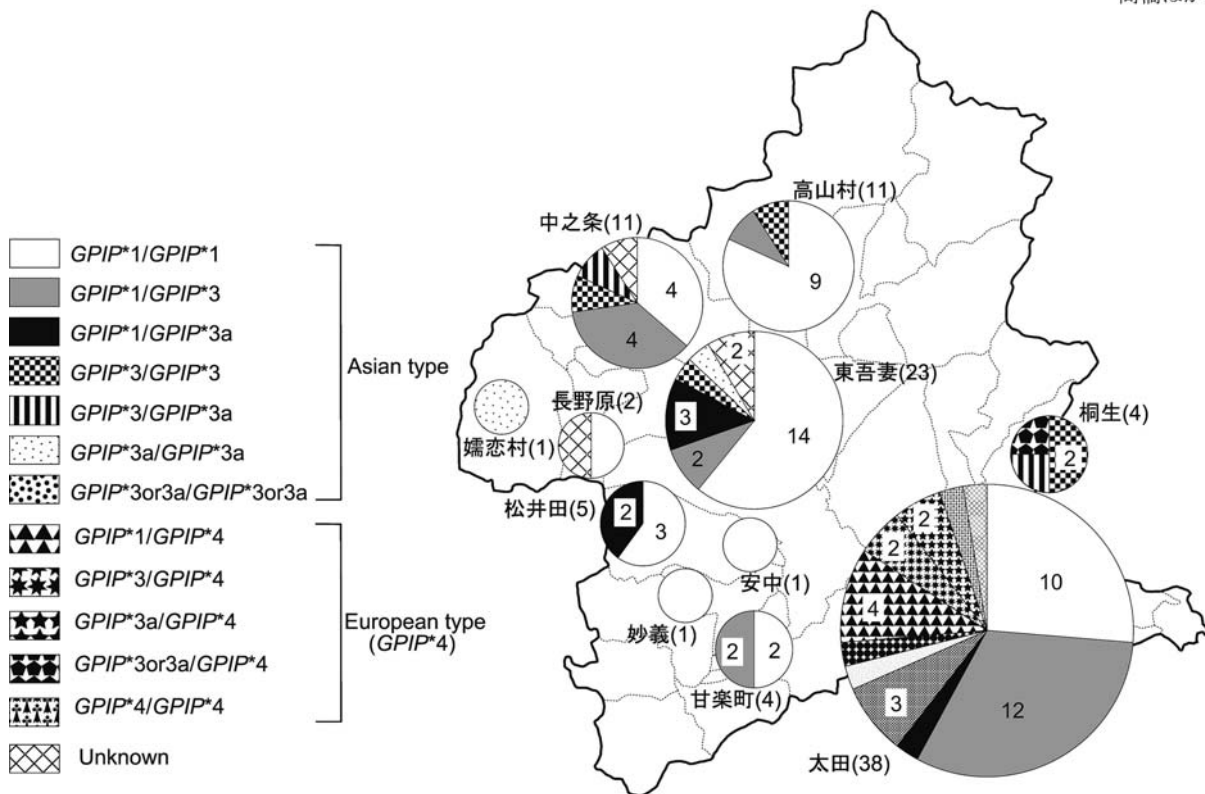


図3. GPIP 遺伝子型分布図

図2と同じく、高橋ほか (2010) による結果を加えた計101個体についてGPIP遺伝子型の地域分布を記載した。地域名の後のカッコ内の数字は個体数を示す。



*GPIP* 遺伝子の解析では、前述したSWB6やD588を持つ個体を含む多くの個体がアジア型対立遺伝子を保持していた。その一方、群馬県東部の太田と桐生由来の9個体のニホンイノシシからヨーロッパ型の対立遺伝子である *GPIP\*4* が確認された。群馬県内でヨーロッパ型の対立遺伝子が確認されたのは本研究が初であり、その全てが群馬県東部から検出されたという点は興味深い(図3)。また *GPIP\*4* を検出した9個体の全てがアジア型(ニホンイノシシ)のmtDNAハプロタイプを保持していたことから、*GPIP\*4* を持つオスの家畜ブタやイノブタ、ニホンイノシシとメスのニホンイノシシ間で交雑が生じた可能性がある。群馬県では養豚業が現在も盛んであることや、1960年代後半から80年代にかけてはイノブタ生産も行われていた。したがって発生時期の特定は困難であるが、本研究結果から欧米家畜ブタ品種に由来する個体から野生のニホンイノシシへの遺伝子流入が生じた可能性は高いと考えられる。

また群馬県東部では県内の他の地域では検出されないか、もしくは検出頻度が非常に低いmtDNAハプロタイプJ10、J12や*GPIP*対立遺伝子型*GPIP\*4*が高頻度で確認された。このことから、群馬県東部と県内の他地域ではイノシシ集団の成立や移動に関して異なる動態が生じている可能性がある。例えばJ10は関東平野東部に高頻度(52/61個体)で確認されている(永田ほか, 2006)。このことから群馬県東部と関東平野東部のイノシシ集団が同一祖先集団に由来する可能性や、両地域間で遺伝的交流が存在する可能性が考えられる。さらにはこれら2仮説のどちらもが群馬県東部と関東平野東部のイノシシ集団の成立に関わっているため、両地域に共通してJ10が検出される可能性も考えられる。

またJ12は日本の広範囲で検出されるハプロタイプであるが、群馬県ではこれまでに1/76個体しか検出されていない(Watanobe *et al.*, 2003; 高橋ほか, 2010)。群馬県東部と隣接する栃木県足利地域ではJ12が6/7個体検出されているが(永田ほか, 2006)、静岡県・岐阜県では1/26個体(Watanobe *et al.*, 2003)、そして東京都では0/125個体(遠竹ほか, 2003; 永田ほか, 2006)と近隣地域では一般的に検出頻度が非常に低い。このことから、J12が群馬県東部やその近隣地域に元々自然分布していたかどうかは不明である。Ishiguro and Nishimura (2005)によればJ12は四国地域にて高頻度で検出されており(77/189個体)、九州でも3/42個体が検出されている(Watanobe *et al.*, 2003)。これらのことからJ12が群馬県外から流入したハプロタイプである可能性も考えられるが、流入源の特定や拡散過程の復元は困難である。この問題の解明にはJ12を保持するイノシシ集団の自然分布域を全国レベルで明らかにする必要がある。

さらに、群馬県東部では*GPIP\*4*を持つイノシシが9個体確認されたが、これらはJ10(6/9個体)もしくはJ12(3/9個体)のいずれかのmtDNAハプロタイプを保持していた(表

1)。前述の通り、J10とJ12は群馬県の東部地域以外では検出されないか、もしくは検出頻度が非常に低いハプロタイプである(図2)。このような、ヨーロッパ型の*GPIP\*4*と県内の他地域では検出頻度の低いJ10・J12を併せ持つ個体は群馬県東部に特異的である。この特異的分布から、群馬県東部でイノシシやイノブタの商業利用や、家畜ブタの改良を目的とした他地域からのイノシシ・家畜ブタの導入が生じていた可能性も考えられる。この問題を明らかにするには試料数を増加したさらなる解析に加え、畜産史等を通じた検証も行う必要がある。

## 謝 辞

本研究は「群馬県八王子丘陵イノシシ個体数調整事業」の一環で回収されたサンプルを使用して行われた。また本研究は科研費(22300306)の助成を受けたものである。

## 引用文献

- Fang, M., and Andersson, L. (2006): Mitochondrial diversity in European and Chinese pigs is consistent with population expansions that occurred prior to domestication. *Proceedings of the Royal Society B*, **273**: 1803-1810.
- Giuffra, E., Kijas, J.M.H., Amarger, V., Carlborg, Ö., Jeon, J.-T., Andersson, L. (2000): The Origin of the Domestic Pig: Independent Domestication and Subsequent Introgression. *Genetics*, **154**: 1785-1791.
- Ishiguro, N., Naya, Y., Horiuchi, M., Shinagawa, M. (2002): A Genetic Method to Distinguish Crossbred Inobuta from Japanese Wild Boars. *Zoological Science*, **19**: 1313-1319.
- Ishiguro, N., Nishimura, M. (2005): Genetic profile and serosurvey for virus infections of Japanese wild boars in Shikoku island. *The Journal of Veterinary Medical Science*, **67**: 563-568.
- Ishiguro, N., Inoshima, Y., Suzuki, K., Miyoshi, T., Tanaka, T. (2008): Construction of three-year genetic profile of Japanese wild boars in Wakayama prefecture, to estimate gene flow from crossbred Inobuta into wild boar populations. *Mammal Study*, **33**: 43-39.
- 永田純子・丸山哲也・浅田正彦・落合啓二・山崎晃司・山田文雄・川路則友・安田雅俊(2006): 栃木県および近隣県におけるイノシシの遺伝学的特徴. *野生鳥獣研究紀要*, **32**: 58-62.
- Okumura, N., Kurosawa, Y., Kobayashi, E., Watanobe, T., Ishiguro, N., Yasue, H., Mitsuhashi, T. (2001): Genetic relationship amongst the major non-coding regions of mitochondrial DNAs in wild boars and several breeds of domesticated pigs. *Animal Genetics*, **32**: 139-147.
- Saitou N. and Nei M. (1987): The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, **4**: 406-425.
- Stephens, M., Smith, N.J., Donnelly, P. (2001): A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *American Journal of Human Genetics*, **68**: 978-989.
- Stephens, M., Donnelly, P. (2003): A comparison of Bayesian methods for haplotype reconstruction. *American Journal of Human Genetics*, **73**: 1162-1169.

- 高橋遼平・石黒直隆・姉崎智子・本郷一美 (2010) : 群馬県に生息するニホンイノシシのmtDNA D-loop領域およびGPIP遺伝子の多型解析 . 群馬県立自然史博物館研究報告, **14**: 37-44.
- Tamura K., Dudley J., Nei M. and Kumar S. (2007) : MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, **24**: 1596-1599.
- Thompson J.D., Higgins DG. and Gibson T.J. (1994) : CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position - specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, **22**: 4673-4680.
- 遠竹行俊・宮崎亜紀子・青塚正忠 (2003) : 東京都西部におけるニホンイノシシ個体数増加の原因について. 東京都林業試験場年報, 平成15年(2003)年度版: 51-52.
- Watanobe, T., Ishiguro, N., Nakano M. (2003) : Phylogeography and Population Structure of the Japanese Wild Boar *Sus scrofa leucomystax*: Mitochondrial DNA Variaton. *ZOOLOGICAL SCIENCE*, **20**:1477-1489.
- 張仲葛・李錦鈺・張曉嵐 (1993) : 中国豚の優秀な品種特性とその世界の養豚業への貢献. 日本養豚学会誌, **30**:1-10.