

印旛沼流域のメダカの起源

尾田正二 (博士 (理学))

東京大学大学院新領域創成科学研究科 准教授

NPO 法人四街道メダカの会

日本めだかトラスト協会

1 メダカとは

メダカは、私たちヒトと同じ脊椎動物として生命科学や基礎医学の研究の現場でモデル動物として活躍しています。例えば、光るクラゲの遺伝子を遺伝子組換えした光るメダカは私たちの体の中で起こっている様々な生理現象を可視化できるので、病気の原因を明らかにする研究などで盛んに利用されています (図 1)。



図 1 光る遺伝子組換えメダカを含む様々な研究用メダカ

メダカは北海道を除く日本の淡水域にひろく分布しています。分類学的にはダツ目メダカ科になり、コイやフナよりサンマ、トビウオに近い種類です¹⁾。メダカの学名は *Oryzias latipes* と言い、イネ；*Oryzias* の周りにいる幅広いヒレ；*latipes* の魚という意味になります。

日本に住むメダカのご先祖様は 400 万年以上昔に中国大陸から朝鮮半島を介して日本列島に渡ってきたと考えられています。大陸から稲作が伝わって以来 3 千年余、体が小さいメダカにとって水田は格好のすみかとなり、稲作が暮らしの中心であった日本人にとって身近な存在でした²⁾。しかし、高度成長期以降の日本では、農薬、農地改良、減反など稲作は大きく変容し、外来種の侵入などもあってメダカの生活環境は激変しました。その後、絶滅の危険が増大しているとして、環境省が発表したレッドデータブックにおいて絶滅危惧 II 類に指定されました。

日本のメダカは日本海側に分布する北日本集団メダカ (*O. sakaizumii* キタノメダカとも呼ばれます) と、太平洋側と山陰地方に分布する南日本集団 (ミナミメダカ) の大きく 2 つに別れます。さらに朝鮮半島東岸地域のメダカ (東韓集団) と朝鮮半島西側から中国大陸・台湾に生息するメダカ (中国・西韓集団；*O. sinensis* と呼ばれることもあります。) とも遺伝的に違いがあります (図 2)³⁾。

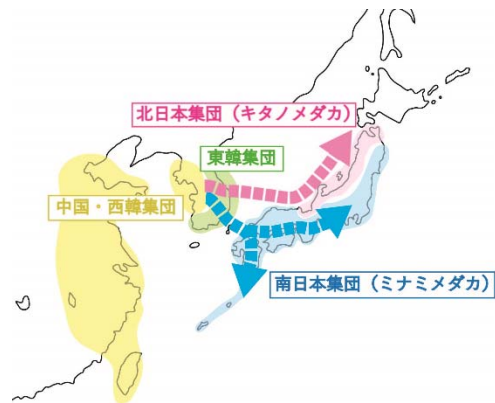


図 2 日本列島に住むメダカは 400 万年以上も昔に朝鮮半島経由で大陸からやってきた

2 メダカの採取と DNA 鑑定方法

メダカもヒトも、一つ一つが 0.01 mm くらいの小さな細胞がたくさん集まってできている多細胞生物です。その細胞全てがミトコンドリアという細胞内小器官を 100 個以上持っていて、そこで生きていくためのエネルギーを酸素を使って作っています (呼吸と言います)。太古の昔に好気性細菌が細胞に取り込まれて共生をはじめたと考えられているミトコンドリアは、細胞の核 DNA とは別に独自の DNA を持って細胞の中で分裂・増殖します。メダカでもヒトでも、ミトコンドリアは母親だけから引き継がれます。そこで、ミトコンドリアの DNA を解析することによって、母方の家系を知ることができます。新潟大学の酒泉満博士と竹花佑介博士 (現・長浜バイオ大学) は日本中の野生メダカのミトコンドリアのシトクロム *b* という遺伝子を調査して、日本の野生メダカの「家系図」 (専門的には系統樹といいます) をつくり、南日本集団メダカを 11 の系譜 (クレード BI ~B XI) に分けました^{4,5)}。この「家系図」にあてはめることによって、野生のメダカの由来を推定することができるようになり、また同時に、野生で生息しているメダカが実は最近になって人間によって放流されたメダカであることも推測できるようになりました。

メダカの DNA 鑑定の手順を図 3 に示します。メダカの体の一部（尾ひれだけでも可）を採取して薬品を使ってそこから DNA を抽出します。この中にミトコンドリアの DNA も入っています。次に、PCR 法によってシトクロム *b* 遺伝子の DNA だけを増幅し、サンガー法^(注1)でシトクロム *b* 遺伝子の塩基配列を調べます。PCR 反応の際にシトクロム *b* 遺伝子の DNA だけと結合するプライマー^(注2)（Forward primer : 5' -AGG ACC TGT GGC TTG AAA AAC CAC-3' , Reverse primer : 5' - TYC GAC YYC CGR WTT ACA AGA CCG-3' ; W=AorT, Y=CorT, R=AorG）を使うことで、シトクロム *b* 遺伝子の DNA だけを 300 億倍以上に増幅出来ます。メダカがどの系譜のシトクロム *b* 遺伝子をもっているかを調べれば、そのメダカの由来を判定できます⁴⁾。

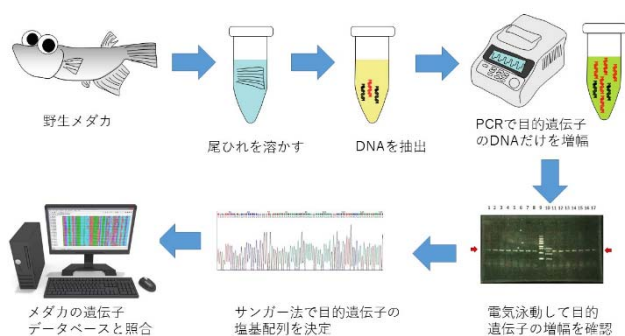


図 3 メダカの鑑定の実験手順

PCR(Polymerase Chain Reaction)法は、DNA を増幅する方法です。1983 年に米国の生化学者キャリー・マリリスによって発明され、今では世界中の研究室に普及しています。皆さんもご存知のとおり、PCR 法は新型コロナウイルスの感染検査でも使われています。新型コロナウイルスの検出では、感染が疑われる被検者の鼻粘膜や唾液を採取し、(新型コロナウイルスは RNA ウィルスなので) RNA を抽出します。新型コロナウイルスの RNA だけに結合するプライマーを使って PCR 反応を行うと、新型コロナウイルスの RNA が含まれている場合には新型コロナウイルスの RNA から増幅が起こって陽性と判定されます⁶⁾。また、DNA 鑑定では個体の識別も可能です。フィールドで採取した糞便から DNA を抽出して野生のサルの群れの研究に役立てられるなど、野生動物の生活史の研究や生態学の調査で広く利用されています^{7,8)}。ヒトでも、唾液、汗などの体液から犯人を特定したり、あるいは親子鑑定に使われています。今では刑事ドラマでも当たり前に出てくる法医学の方法ですが、実用化されてまだ 30 年しか経って

いません。ちなみに一番最初に DNA 鑑定による個体識別が行われた動物は、ヒトではなくて競走馬でした。

令和元年度、NPO 法人四街道メダカの会は、公益財団法人印旛沼環境基金の助成を受けて、四街道市内(成山地区)のメダカの DNA 鑑定を行いました⁹⁾。でも、実施には大きな問題がありました。関東平野のメダカの系譜は難問で、結果の解釈が難しいのです。研究者によるこれまでの研究の結果では、日本列島の南日本集団メダカは、北九州を起点として種内分化しながら西から東に進出したようです^{4,5)}。この結果に従うと、関東平野に西日本の、例えば瀬戸内地方のメダカがいるのはとても不自然です。でも、実際、関東平野には瀬戸内地方のメダカと同じ系譜のメダカがたくさん住んでおり、それらはヒトの手で西日本から関東に連れてこられて放流された可能性が考えられます。例えば、地域のメダカが少なくなったのでお店で購入したヒメダカを放流したとか(ヒメダカの出身地は奈良県と愛知県が多い)、家でヒメダカを飼っていたが飼えなくなったので殺すのはかわいそうだから近くの池に放流した、という話が実際にありました。あるいは江戸時代にはすでにメダカが庶民の愛玩動物として飼われていましたので²⁾、参勤交代で国元のメダカをお土産に江戸にもってきちゃった？ってことも考えられます。その当時からマニアが色変わりの突然変異メダカを系統維持していたようです(その代表が今のヒメダカです)。もっとも昔の弥生時代には、稲作の広がりとともにメダカが水田と一緒に西から東に広がった可能性もあり得ます。ヒトにとっては3千年もの大昔であっても、400 年以上日本にいるメダカにとってはつい最近の話です。とにかく、「やってみなはれ」で、今回メダカ研究の鬼門に挑戦しました。

3. 印旛沼流域(四街道市)のメダカのDNA鑑定

四街道メダカの会が保全している四街道市成山地区から採取した野生メダカ 15 匹のシトクロム *b* 遺伝子を解析しました(図 4)。



図 4 千葉県四街道市内のメダカ採取地と採取した野生メダカ

その結果、クレード BI グループに属する茨城県水戸市メダカと同じ遺伝子配列を持つ8個体と、関東平野の利根川流域（埼玉県妻沼町、吉見町、群馬県前橋市など）にひろく分布するクレードB VII グループに属する7個体から構成されていました（図5）。そこで、以下の理由から、成山地区のメダカは四街道地域に土着のメダカ個体群である可能性が高いと考えられました。

クレード BI メダカは関東地方を中心に東日本の太平洋岸に広く分布するメダカです（図6）⁴⁾。その昔、メダカが日本列島を進出して行った過程では遺伝子の突然変異が少しずつ蓄積していきました。従って、遠く離れて生息するメダカ個体群ほど遺伝的に離れることになります。逆に、近くで生息しているメダカ個体群は、共通のご先祖様から分家してまだ時が浅いので遺伝的に近く、系統樹での位置も近くなります。つまり、系統樹の中での位置関係と生息場所の地理的な位置関係は基本的に一致するのが自然です。水戸市メダカに近い個体が成山メダカの中に見つかったことは、成山メダカが四街道地域にもともと居た土着のメダカである可能性が高いことを意味します。もしも、日本の全く離れた場所に生息しているメダカと近縁であったとすると、そのメダカは最近（と言っても過去数百年か、もっと昔かもしれません）になって人間の手で運ばれてきたと考えるのが自然です。

クレードB VII メダカは瀬戸内地方と関東地方とにひろく分布するメダカです（図7）⁴⁾。先の議論から、過去には関東地方においてクレードB VII メダカが見つかり、瀬戸内地方から人為的に移入してきたメダカと判断されました。しかし、最近になってクレードB VII メダカの中に、関東地方にもともと自然にいる個体群があることがわかってきました¹¹⁾。関東地方ではクレードB VII メダカが埼玉県吉見町、旧妻沼町および群馬県前橋市で採集されています⁴⁾。四街道地域が利根川の下流域であることを考えれば、埼玉県、群馬県に分布するクレードB VII メダカが生息することは、むしろ自然であると考えられます。なぜなら、江戸時代以前には毎年のように利根川が氾濫していましたし、約6千年前までは縄文海進と言って海岸線が内陸深く埼玉県にあったからです。利根川流域に分布するクレードB VII メダカと、海岸線経由で水戸のクレードBI メダカが四街道で合流し、現在の四街道の土着のメダカの祖先となったことは容易に想像できます。関東平野の野生メダカのDNA鑑定が難しい理由は、クレ

ードVII メダカのように西日本にいないはずのメダカが関東平野にかなりの数が住んでいるからです。弥生時代以降ヒトの手による攪乱が加えられてきたにしても、その攪乱の程度が大きすぎるように思えます。そこで、そのようなことが自然で起きる可能性がないかを考えてみました。

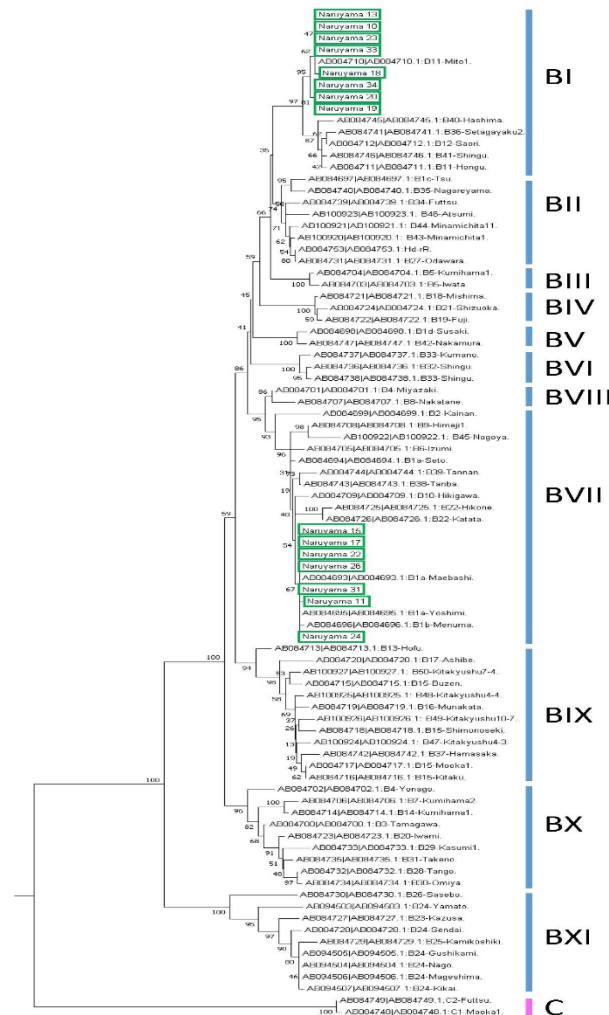


図5 南日本集団メダカ（ミナミメダカ）の系統樹における四街道メダカの系統的位置

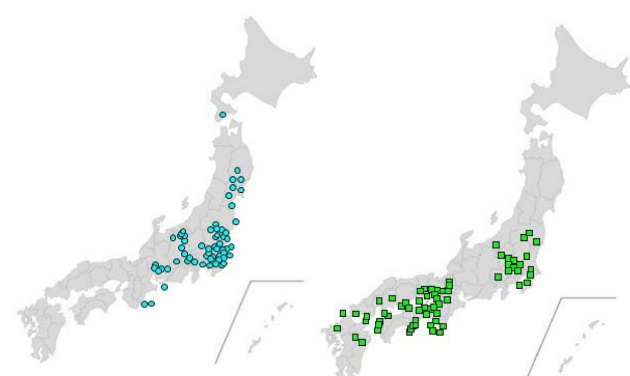


図6 クレードBIのメダカの分布 (Takehana et al., 2003 をもとに作図)

図7 クレードBVIIのメダカの分布

4. まとめ

400 万年前以上の昔に朝鮮半島からメダカが初めて日本にやってきて北九州に住み始め、その後日本の津々浦々に広がって行きました。その時のメダカの直系の子孫が今もそのまま日本の津々浦々に住んでいると考えがちですが、違います。日本列島の太平洋岸ではプレート境界型の大地震（南海トラフ地震）が定期的に発生します。メダカが日本に移り住んで 400 万年の間に、大津波が何度も何度もあったはずで、大津波のたびに太平洋側の海岸域のメダカは海に流されました。でも、ダツ目のメダカはもともと海出身なので、海水でも生きていけます。そのうち運良く海岸にたどり着いたメダカはもともとそこにいた土着のメダカと交配して子孫を残したはずで、加えて、メダカ属は南のインドネシアで生まれました。メダカ属の中で一番北に進出したのが日本のメダカです。もともと南国出身のメダカは日本の冬をギリギリ耐えて越冬しています。氷河期にはメダカの分布は大きく南に後退し（寒い地方にいたメダカ個体群は絶滅して、暖かい南の地方にいたメダカだけが生き残った）、暖かい間氷期になるとメダカは日本列島を再び北へと進出し、また氷河期になると南にいたメダカだけが生き残って、を 400 万年の間に繰り返してきたと考えられます。最後の氷河期が終わったのはつい 1 万年前です¹¹⁾。今我々が眼にしているメダカは、最後の氷河期が終わった後に改めて日本列島に広がったメダカたちの子孫と考えるべきです。関東平野は非常に特殊な地形です。多摩川、荒川、利根川などが毎年氾濫してつくった巨大堆積平野であり、本州では他に例がありません¹²⁾。そこに住んできたメダカは洪水と大津波と気候変動で 400 万年の間激しくシャッフルされてきたと考えられます。ですので、最近になって人為的に放流されたのか、もともと自然状態でそうなのか、実際には DNA 鑑定では判断ができない場合が多々ありますし、メダカの歴史を考えれば、判断できない場合が多々ある方がむしろ自然と言えます。

DNA 鑑定はとても強力でとても有用な方法です。野生メダカ以外でも、ドジョウなどの魚類、ゲンゴロウなどの希少な昆虫類、鳥類、哺乳類など動物植物問わず全ての生物を対象として種の同定や生活史の解明が可能になり、野生生物の知られざる暮らしが次々に明らかになりつつあります^{5,8)}。同時に、DNA 鑑定は万能ではありません。いつも正しい答えが出る訳ではありません。DNA 鑑定の結果をみて答えを

出すのは、私たち人間だからです。今は正しいと思っている答えが間違っていることもあり得ます。だからこそ、謙虚に真摯に問題を考え続けることが必要です。それによって正しい答え、より深い物事への理解に至ることができます。最初は、日本の野生メダカの地理的分布と系統樹での位置関係はきれいに一致するはずとシンプルに考えていました。でも、関東平野のクレード VII メダカのように一致しないメダカを深く捉えることによって、メダカの激動の歴史に触れることができました。印旛沼流域を含む関東地方のメダカの系譜の複雑さは、日本の厳しい自然環境で生き抜いてきたメダカの波乱万丈な歴史を物語っていたのでした。

【参考文献】

- 1) 岩松鷹司：メダカ学全書、大学教育出版（2018）
- 2) 岩松鷹司：メダカと日本人、青弓社（2002）
- 3) 酒泉満：メダカの系統と種内構造、蛋白質核酸酵素、45(17) 2909-2917（2000）
- 4) Takehana et al. : Zoological Science, 20, 1279-1291（2003）
- 5) 渡辺勝敏・高橋洋 編：淡水魚地理の自然史 北海道大学出版社（2010）
- 6) 病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver2.9.1 国立感染症研究所（2020）
- 7) 河村正二、サルの色覚が教えてくれること、日経サイエンス、36(10)、53-55（2006）
- 8) 増田隆一・阿部永 編著、動物地理の自然史、北海道大学出版社、（2005）
- 9) NPO 四街道メダカの会：成山と山梨小のメダカの DNA を調べてみました、めだか新聞 110 号（2020）
- 10) 入口ら：関東地方におけるミナミメダカ集団の在来ミトタイプ再検討、魚類学雑誌、64、11-18（2017）
- 11) 中川毅：人類と気候の 10 万年史、講談社ブルーバックス（2017）
- 12) 山崎春雄・久保純子：日本列島 100 万年史、講談社ブルーバックス（2017）

（注 1）サンガー法

フレデリック・サンガーらにより開発された DNA の塩基配列決定法。ダイデオキシ法とも呼ばれる。

（注 2）プライマー

DNA ポリメラーゼに DNA 鎖を合成させる際には、鋳型となる DNA 鎖の他に、複製される新しい DNA 鎖のもととなる短い DNA 鎖が必要である。PCR 反応では化学的に合成した短いオリゴヌクレオチド（通常は 20 塩基程度）を使用する。