遺伝子からみたイリオモテヤマネコと ツシマヤマネコの渡来と進化起源

増 田 隆 一*

Phylogeny and Evolutionary Origin of the Iriomote Cat and the Tsushima Cat, based on DNA Analysis

Ryuichi MASUDA *

Abstract

The richness of fauna diversity is seen on the Japanese Islands, which range through 3,000 km. When and from where have the animals immigrated to Japan? Also, for understanding natural history of the Japanese Islands, it is very important to investigate evolutionary history and origin of animals distributed on each island. While the evolutionary questions have been paleontologically and geologically examined so far, some of them are still unclear. Recent development of molecular phylogenetic study provides a reliable sight to understanding evolutionary history and origin of species. Advantageously, molecular study can analyze phylogeny of living species without fossil data.

In Japan, two wildcats, the Iriomote cat and the Tsushima cat, live on the Iriomote Island and the Tsushima Island, respectively, where land bridges between the Asian continent and the Japanese Islands were present in the past time. To know evolution of these wildcats gives us useful information for better understanding of natural history of the Japanese Islands. Moreover, because both the wildcats are now endangered, it is now strongly needed to understand phylogenetic status of them for conservation and management. For the reason, we investigated molecular phylogeny of the two wildcats based on mitochondrial DNA sequences, and revealed that both the wildcats are very closely related to the leopard cat *Felis bengalensis*, which is widespread throughout Asia. Furthermore, from the DNA data, the Iriomote cat and the Tsushima cat were estimated to have diverged from the continental leopard cat approximately 200,000 and 100,000 years before present, respectively. The dates estimated by molecular data were in concordance with formation dates of the Ryukyu Arc and the Tsushima Island, respectively. These results suggest that geographic barrier has led fixation of some unique morphological characters into each cat population, while the two Japanese wildcats are still genetically close to the continental leopard cat.

* 北海道大学理学部附属動物染色体研究施設

* Chromosome Research Unit, Faculty of Science, Hokkaido University

Key words : Iriomote cat, Tsushima cat, mitochondrial DNA, molecular phylogeny, evolution, divergence time, geographic isolation

キーワード : イリオモテヤマネコ, ツシマヤマネコ, ミトコンドリアDNA, 分子系統, 進化, 分岐年代, 地理的隔離

I. はじめに

南北 3,000 km 以上にわたって弧状に連なる日本列島。その北端である北海道は亜寒帯の千島列島につながり、南に点在する南西諸島は亜熱帯にまで及んでいる (図1)。そして、これらの弧状列島は多様な生物相を有している。いったい、日本列島の島々に分布する生き物たちは、いつ、どこからやってきたのだろうか？

この進化の謎へのアプローチは、従来、日本列島の古地理と化石記録に基づく研究によってなされてきた。しかし、最近では現在生きている生物 (現生種) の遺伝子 (DNA) を比較解析することにより、その進化ルーツを解明したり種や集団の分岐年代 (あるいは渡来時期) を推定できるようになった。このような遺伝子データに基づいて生物の進化を探る研究分野を「分子系統学」とよんでいる。この新しい研究領域から得られる成果は、従来の地質学的・古生物学的データと照らし合わせることにより、生物進化の謎解きに新しい光を与えている。筆者らは、分子系統学的解析に基づき、日本に分布する哺乳類の進化・起源と渡来時期を探索している。

II. 分子系統学とは

分子系統学について、もう少し説明することにしてしよう。この学問分野において前提となることは、「4種の塩基 (A, G, C, T) によって構成される DNA は、生命の誕生以来、親から子へ脈々と受けつがれてきた遺伝情報であり、そこには生物進化の歴史が塩基の変化 (突然変異) として刻み込まれている」ということである。つまり、DNA は「分子化石」と考えることもできる。したがって、ある2つの生物種を比べた場合、DNA 塩基配列のちがいが大きい程、両種が種分化してから時間が長いこと、すなわち、進化距離が離れている

図1 南北 3,000 km 以上にわたって弧状に連なる日本列島。

南西諸島の西表島および、日本と朝鮮半島の間に位置する対馬には、各々イリオモテヤマネコ、ツシマヤマネコが生息している。

Fig. 1 Map of Japan Islands.

The Iriomote cat and the Tsushima cat are distributed on Iriomote Island and Tsushima Island, respectively.

ことを意味しており、その距離は種の系統関係を反映する。いわば、DNA のちがいを “ものさし” にして、生物間の距離を測るのである。また、比べる生物が、たとえばネコ科の仲間、イヌ科の仲間というように、近縁種どうしであれば、注目する DNA 領域において塩基が変化 (置換) する速さ (進化速度) は、ほぼ一定であることが知られ

ている。この性質は「分子時計」とよばれる。進化距離と分子時計に基づき、生物間の分岐年代を推定することができるのである。DNA データに基づいて地理的に隔離された島集団と大陸集団との分岐年代を推定することは、その島と大陸が分断された年代を分析する地質学分野にも重要な資料を与えてくれる。さらに、祖先化石のデータがないような生物種についても、分子系統学的手法を導入することにより、その系統進化と分岐年代を推定することができるという利点がある。

また、最近の DNA 分析技術の発達 は分子系統学の発展にも大いに貢献している。特に、遺伝子増幅法 (PCR: polymerase chain reaction) (Mullis *et al.*, 1986; Saiki *et al.*, 1988) は、微量の生物組織 (米粒程度の組織, 1 滴の血液, 体毛など) から分析可能な量まで DNA を増幅させることができる革命的技術である。PCR 法による産物を用いた塩基配列決定法 (PCR 産物ダイレクトシーケンス法) (Gyllenstein and Erlich, 1988; Kocher *et al.*, 1989) を用いることにより、迅速に塩基配列を決定することができるようになった。そのため、PCR 産物ダイレクトシーケンス法は、系統樹作成法を含めた分子進化学的理論の進展とともに、分子系統学の急速な発展の一翼を担っている。

本稿では、筆者らが行なっているイリオモテヤマネコおよびツシマヤマネコの分子系統と分岐年代の推定に関する研究成果を紹介したい。

III. 従来のイリオモテヤマネコとツシマヤマネコの系統分類学的位置

わが国には、ネコ科としてイリオモテヤマネコとツシマヤマネコの 2 種が生息しているが、その進化と渡来については、これまでに、アジア大陸との関係から論議されてきた。しかし、いまだに明確な解答は得られていない。

イリオモテヤマネコは、1965 年に南西諸島の西表島においてその存在が確認された。Imaizumi (1967) は形態学的分析に基づき、このヤマネコを新属新種 *Mayailurus iriomotensis* と命名した。今泉ほか (1977) は、イリオモテヤマネコの頭骨

の特徴が中新世後期に中国大陸に出現したメタイルス属 *Metailurus* に類似していることを指摘し、イリオモテヤマネコは中新世後期から鮮新世前期 (今からおよそ 1,000 万年から 500 万年前) にメタイルス属から分かれたものとしている。そして、イリオモテヤマネコがアジア大陸から西表島へ渡来した時期を 300 万年以上前と想像している。また、イリオモテヤマネコは 1967 年国の天然記念物に、1972 年には特別天然記念物に指定された。その後、Wurster-Hill *et al.* (1987) によって、イリオモテヤマネコの核型 (染色体数と分染パターン) はベンガルヤマネコ *Felis bengalensis* のものと区別がつかない程一致していることが報告された。ベンガルヤマネコはインドから東南アジア、中国、極東地域にかけたアジア大陸、および近隣の島々に広く分布するヤマネコで、その形態の地域変異も多様であることが知られている。東南アジアのベンガルヤマネコと比べると、イリオモテヤマネコの外観上の特徴は、長い胴体、短い脚と尾である。また、その体毛色は暗い斑紋を伴う茶褐色であるのに対し、東南アジアのベンガルヤマネコでは、黄色の地に黒色斑を伴っている。一方、これまでに海外の分類学者からはネコ科の分類に関していくつかの報告がなされているが、それらの中で、イリオモテヤマネコの分類学的位置は必ずしも定まったものではない。Imaizumi (1967) によるイリオモテヤマネコの 1 属 1 種説を採択しているのは Ewer (1973) のみで、他の研究者はイリオモテヤマネコを独立種 *Felis* (または *Prionailurus*) *iriomotensis* と認めながらも、イリオモテヤマネコとベンガルヤマネコ *Felis bengalensis* を共通の属に分類している (Hemmer, 1978; Leyhausen, 1979; Nowak, 1991)。また、Wozencraft (1993) はイリオモテヤマネコの形態的特徴がベンガルヤマネコの種内変異内に入るものと考え、両者を同種としている。このように、イリオモテヤマネコの系統進化はいまだ明確には解明されていない。

一方、長崎県の対馬には、わが国のもう 1 つのヤマネコであるツシマヤマネコが生息している。ツシマヤマネコは、1966 年に長崎県の天然記念物

に、1971年には国の天然記念物に指定されている。しかし、このツシマヤマネコについても、その系統分類学的位置と進化はいまだに明らかにされていない。ここで確認しておくべきことは、ツシマヤマネコはこれまでに、「独立亜種」とも「独立種」とも認められたことがないことである。つまり、ツシマヤマネコは常に極東産ヤマネコ（英名: Amur cat）の“1 集団”と考えられてきた。極東産ヤマネコの特徴は、東南アジア産ベンガルヤマネコに比べて、体が大きく、体毛の斑紋が薄色であることである。極東産ヤマネコが「南方系のベンガルヤマネコ」の亜種（*F. bengalensis euptilura*）とされるときは、ツシマヤマネコにも同じ亜種名が与えられる。また、極東産ヤマネコが独立種（*F. euptilura*）とされれば、自動的にツシマヤマネコの学名も *F. euptilura* となってきた。このように、大陸のヤマネコについても形態的相違に基づき、*bengalensis* と *euptilura* の分類と系統進化が論議されてきたが、これまでに明確な結論は出されていないのである。

IV. イリオモテヤマネコとツシマヤマネコの遺伝子解析と分子系統

そこで筆者らは、イリオモテヤマネコおよびツシマヤマネコの系統進化上の位置を明らかにするため、核 DNA より数倍以上速い進化速度をもつ（Brown *et al.*, 1979）ミトコンドリア DNA（mtDNA）を“ものさし”にして、分子系統学的解析を行なった。細胞核 DNA と比べた場合の mtDNA の特徴は、母系遺伝する、組み換えを起こさない、分子サイズが小さい、などの点である。mtDNA の中でも、比較的塩基配列が保存され種間の系統解析に都合のよい 12S rRNA 遺伝子領域およびチトクローム b 遺伝子領域について、PCR 産物ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、他のネコ科 Felidae 動物種のデータと比較した（Masuda *et al.*, 1994; Masuda and Yoshida, 1995）。計 12 頭のイリオモテヤマネコおよび計 2 頭のツシマヤマネコについて調べた結果、上記 2 種の遺伝子において個体変異は検出されなかったが、他のネコ科動物種との間では種々

の種間変異がみられた。

まず、12S rRNA 遺伝子の 373 塩基において、イリオモテヤマネコの配列はツシマヤマネコのもので全く同一であった。さらに、この配列は調べた東南アジア産ベンガルヤマネコ 6 頭のうちの 5 頭と全く同じであった。もう 1 頭のベンガルヤマネコでは、301 番目の部位で 1 塩基の置換 C→T（0.3 %、1/373 塩基）がみられただけであった。これに対し、イリオモテヤマネコ・ツシマヤマネコ・ベンガルヤマネコと他のネコ科動物種との間では 1 % 以上のちがいがみられた。

次に、チトクローム b 遺伝子はどうであろうか。この遺伝子は上記の 12S rRNA 遺伝子よりもさらに速い進化速度をもっていることが知られている。ここでもやはり、イリオモテヤマネコ・ツシマヤマネコ・ベンガルヤマネコの 3 者は、互いに極めて類似した塩基配列をもっていることが明らかとなった（Masuda and Yoshida, 1995）。まず、ベンガルヤマネコ 6 頭の間で個体差はみられなかった。イリオモテヤマネコとベンガルヤマネコの間では 2 塩基（0.5 %、2/402 塩基）の置換がみられた（図 2、表 1）。1 つは 108 番目の部位にあり、コドン（1 つのアミノ酸をコードする 3 つの塩基）の変化は CTG→CTA（イリオモテヤマネコ→ベンガルヤマネコ）という同義突然変異（これらのコドンがコードするアミノ酸はともにロイシンで、塩基配列はアミノ酸配列に影響を与えない）であった。もう一方の置換は 354 番目部位を含む ATA→ATG で、これも同義突然変異（両コドンはメチオニンをコードしている）であった（図 2、表 1）。ツシマヤマネコとベンガルヤマネコの間では、354 番目の部位を含むコドンにおいて、ATA→ATG（ツシマヤマネコ→ベンガルヤマネコ）の置換がみられ（0.25 %、1/402 塩基）、これも同義突然変異であった（図 2、表 1）。イリオモテ・ツシマ・ベンガルヤマネコのチトクローム b 遺伝子領域において観察された 0.25～0.5 % の塩基置換率は、他のネコ科動物種の種内変異（個体変異）に相当する値である。また、他の食肉目 Carnivora であるニホンイタチおよびニホンタヌキのチトクローム b 遺伝子において検出される個

図 2 チトクローム b 遺伝子領域の塩基配列 (402塩基). (Masuda and Yoshida, 1995 より)
最上段から, イリオモテヤマネコ, ツシマヤマネコ, ベンガルヤマネコ, オオヤマネコ, イエネコの配列を並べた. 点はイリオモテヤマネコと同じ塩基を示す. 矢印は, イリオモテツシマ-ベンガルヤマネコ間で置換のみられる 108 番目および 354 番目の部位を示す.

Fig. 2 Alignment of cytochrome b nucleotide sequences of the Iriomote cat, Tsushima cat, leopard cat, lynx, and domestic cat.
Dots indicate identity with nucleotides of the Iriomote cat. Arrows show nt 108 and 354, where nucleotide substitutions occurred among the Iriomote cat, Tsushima cat, and leopard cat.

表 1 イリオモテヤマネコ, ツシマヤマネコおよびベンガルヤマネコのチトクローム b 遺伝子領域 (402塩基) における塩基置換. (Masuda and Yoshida, 1995より)

Table 1 Nucleotide substitutions in the cytochrome b gene region (402 bases) of the Iriomote cat, Tsushima cat, and leopard cat

動物名	塩基の部位	
	108番目	354番目
イリオモテヤマネコ	G	A
ツシマヤマネコ	A	A
ベンガルヤマネコ	A	G

体変異も同程度 (1%前後またはそれ以下) であった (増田, 1994; Masuda and Yoshida, 1994a, b)。それに対して, イリオモテヤマネコ・ツシマ

ヤマネコと他のネコ科との塩基置換率は 5%以上となった。

ここで, 各種間の進化距離からイリオモテヤマネコ・ツシマヤマネコのネコ科における系統関係を調べてみよう。図 3 は, 近隣結合法 (Saitou and Nei, 1987) に基づいて作成したチトクローム b 遺伝子の分子系統樹である (Masuda and Yoshida, 1995; Masuda *et al.*, in press)。これは無根系統樹で, 種間の枝の道のりが進化距離 (塩基置換数) を表わしている。また, 樹上の数値 (%) はブーツストラップ値 (Felsenstein, 1985) で, この値が大きい程 (最高 100%) その枝分かれの信頼度が高い。樹形から明らかなように, 調べたネコ科は大きく, アジア産ヤマネコ類, 南米産ネコ類 (オセロット系列), イエネコ系列, パンセラ属 *Panthera* を含む大型ネコ類のグループに

図 3 近隣結合法によるチトクロームb遺伝子の分子系統樹。
(Masuda and Yoshida, 1995; Masuda *et al.*, in press より改作)
種と種をつなぐ線の道のりが進化距離であり、その距離が短い程、近縁であることを表わしている。進化距離には、二変数法 (Kimura, 1980) によって補正した1部位当たりの塩基置換数 (スケールは目盛付き棒線) を用いた。枝上の数値 (%) は、1,000 回繰り返したときのブートストラップ値 (Felsenstein, 1985) で、値が大きい程 (最高 100 %) 枝分かれの信頼度が高い。アジア産ヤマネコ類が、ひとつのグループを形成している。その中でも、イリオモテ-ツシマ-ベンガルヤマネコが極めて近縁であり、これら3者のグループは 100 % の信頼度をもって支持された。外群として、ネコ科に近いハイエナ科を用いた。

Fig. 3 Molecular phylogenetic tree of cytochrome b sequences constructed by the neighbor-joining method.

Distance between species and species shows phylogenetic relationships between them. Numbers of nucleotide substitutions per site (indicated by scale) estimated using the Kimura's two parameter method were used as the distance. Bootstrap values above branches were derived from 1,000 replications. Close relationship between the Iriomote cat, Tsushima cat, and leopard cat was supported with 100 % bootstrap value.

分かれた。この分子系統は、従来の形態分類とはほぼ一致する。アジア産ヤマネコ類 (イリオモテ, ツシマ, ベンガル, マレーヤマネコ, スナドリネコを含む) のグループは、高い信頼度 (ブートストラップ値 75 %) をもって支持された。これらアジア産ヤマネコ類は、従来の分類においてもプリオナイルス属 *Prionailurus* (または亜属) として1つのグループにされることが多い。その中でも、イリオモテ-ツシマ-ベンガルヤマネコ3者のグループは、信頼度 100 % をもって支持され、かつ、これら3者が互いに極めて近縁であること

が明白である。また、これら3者とマレーヤマネコおよびスナドリネコとの進化距離は約 4~5 % 程度であるのに対し、これら3者与其他のネコ科とは 10 % 前後またはそれ以上の進化距離があった。

また, Suzuki *et al.* (1994) は細胞核内のリボソーム DNA 領域における制限酵素断片長多型を分析し、イリオモテヤマネコとベンガルヤマネコ (シベリア産) の間で変異のないことを報告している。

以上述べてきた分子系統解析の結果は、イリオモテヤマネコとツシマヤマネコがアジア大陸に分

表 2 イリオモテヤマネコ、ツシマヤマネコ、ベンガルヤマネコおよびその他のネコ科種間の塩基置換率 (観察値). (Masuda *et al.*, 1994; Masuda and Yoshida, 1995より)

Table 2 Percentage differences of the cytochrome b nucleotide sequenses among the Iriomote cat, Tsushima cat, leopard cat, and other feline species.

種名	1	2	3	4	5	6	7
1. イリオモテヤマネコ	0	0.25	0.5	10.4	11.2	13.2	12.9
2. ツシマヤマネコ		0	0.25	10.7	11.2	13.4	13.2
3. ベンガルヤマネコ			0	11.0	11.4	13.7	13.4
4. オオヤマネコ				0	11.9	13.7	11.4
5. イエネコ					0	12.2	12.4
6. ユキヒョウ						0	6.7
7. ト ラ							0

布するベンガルヤマネコに遺伝的に極めて近縁であることを示し、両ヤマネコをベンガルヤマネコと同種に扱う分類を支持している。両ヤマネコの形態的特徴と進化距離を考慮すると、*iriomotensis* と *euptilura* は *Felis bengalensis* の亜種名として扱われるのが妥当と思われる。

V. イリオモテヤマネコの分岐年代と西表島の形成年代との比較

ここで、これまでに得られた塩基配列に基づいてネコ科における遺伝子の進化速度を計算し、イリオモテヤマネコ-ベンガルヤマネコ間の分岐年代を推定してみよう。ネコ科を含む食肉目については化石データおよび生化学・分子生物学的分析により、各種間の分岐年代が推定されている (Wayne *et al.*, 1991)。それによると、イエネコとトラの分岐年代は今からおよそ 450 万年前である。いま、分子進化学的に $T=D/2V$ (T : 分岐年代, D : 進化距離, V : 進化速度) が成り立つ。よって、塩基置換速度がネコ科内ではほぼ一定と仮定すると、イエネコとトラのチトクローム b 遺伝子の塩基置換が 12.4 % である (表 2) ことから、ネコ科のチトクローム b 遺伝子の塩基置換速度 (V) は $1.38\%/100$ 万年 [= $12.4\%/(2 \times 450$ 万年)] と算出される。次に、イリオモテヤマネコとベンガルヤマネコとの間の塩基置換は 0.5 % である (表 2)。したがって、両ヤマネコの間 (T) はおよそ 18 万年 [= $0.5\%/(2 \times 1.38\%/100$ 万年)] 前と計算される。また、哺乳類全般を通し

でのチトクローム b 塩基配列の多様度は、100 万年当たり少なくとも 2.5 % と報告されている (Meyer *et al.*, 1990; Irwin *et al.*, 1991) ので、この値を用いると両ヤマネコの間 (T) は 20 万年 [= 100 万年 $\times 0.5\%/2.5\%$] 以内と推定される。このように、2つの異なる方法によって算出された両ヤマネコの間 (T) はよく一致した。

一方、最近の木村ほか (1992) の海洋地質学的調査によって、今からおよそ 24 万~2 万年前には琉球弧とアジア大陸との間で断続的に陸橋が形成されていたことが明らかになってきた。このように、南西諸島の地質学的形成年代が分子系統学的に得られたイリオモテヤマネコ-ベンガルヤマネコの間 (T) と一致することは、筆者らの分子系統学的分析の高い信頼性を示すものである。事実、西表島から西方約 200 km の地点に位置する台湾にはベンガルヤマネコに分類されるヤマネコが分布しており、陸続きの時代には両ヤマネコの祖先集団の間で遺伝的交流があったのであろう。

今泉ほか (1977) は、イリオモテヤマネコの頭骨形態がメタイルス属に類似しているとみなし、イリオモテヤマネコが今から 300 万年以上前にアジア大陸から西表島へ渡来したと想像している。しかし、筆者らが分子系統学的データに基づいて算出した渡来時期は約 20 万年前後という新しいものであり、これは南西諸島の陸橋に関する最近の新しい知見によっても支持される。また、筆者らの遺伝子分析は、イリオモテヤマネコの祖先がアジア大陸に現存しているベンガルヤマネコ集団

であることを強く裏付けた。

「なぜ南西諸島の島々の中で西表島にのみヤマネコが生息しているのか」は今のところ不明である。沖縄県教育委員会（1985）の報告書によると、西表島の東北東約 140 km の地点にある宮古島ではイリオモテヤマネコかどうかは定かではないが、ヤマネコと思われる化石が発見されている。今後、南西諸島における詳細な古生物学的調査が進めば、イリオモテヤマネコの祖先の渡来経路に関する謎が解き明かされるであろう。

VI. ツシマヤマネコの分岐年代と対馬の形成年代との比較

さて、ツシマヤマネコとベンガルヤマネコの分岐年代はどうであろうか。チトクローム b 遺伝子における、ツシマヤマネコ-ベンガルヤマネコ間の塩基置換は、イリオモテヤマネコ-ベンガルヤマネコ間の値の半分、すなわち 0.25 % である（表 2）。これを基にして、上述のイリオモテヤマネコの分岐年代推定と同様の手順をふめば、ツシマヤマネコがベンガルヤマネコと分岐したのは、今からおよそ 9~10 万年前と推定される。一方、大嶋（1990, 1991）は、海水準の変動に基づいて日本列島周辺の海峡形成年代を推定している。それによると、対馬を挟む対馬海峡および朝鮮海峡が形成されたのは、およそ 10 万年前である。この海峡形成年代は、筆者らが遺伝子データから求めたツシマヤマネコ-ベンガルヤマネコの分岐年代と一致している。この結果は、対馬が形成されるまでには、ツシマヤマネコの祖先と大陸のベンガルヤマネコの集団との間で遺伝的交流があったことを物語っている。事実、対馬が朝鮮海峡を挟んで向かい合う朝鮮半島には、ベンガルヤマネコが分布している。また、対馬の隣に位置する済州島（韓国）（図 1）にもヤマネコが生息していたが、ごく最近、生息域の破壊により絶滅したといわれる。なぜ、ツシマヤマネコは九州・本州などに分布していないのかは謎である。ツシマヤマネコ集団が対馬に渡来したときには、すでに形成された対馬海峡によって行く手を阻まれたのかもしれない。対馬にはシベリアイタチなど大陸と共通する動物

が分布しているため、このような種についても分析を進めることにより、対馬の動物の渡来と進化がさらに明らかになってくるものと考ええる。

VII. ま と め

以上紹介した日本産ヤマネコの分子系統に関する研究成果をまとめると、次の 2 点になる。

1) ミトコンドリア DNA の分子系統学的解析により、イリオモテヤマネコおよびツシマヤマネコが、ネコ科においてアジア大陸のベンガルヤマネコと遺伝的に極めて近縁であることが明らかになった。その進化距離は、他のネコ科動物種の種内変異に相当した。しかし、日本産ヤマネコは、各々、西表島と対馬において独自の進化をとげ、特徴的な形態・性質をもっていることから、貴重なヤマネコ集団であることは明らかであり、保護管理していく必要がある。

2) DNA データに基づき、イリオモテヤマネコ-ベンガルヤマネコ間およびツシマヤマネコ-ベンガルヤマネコ間の分岐年代を推定すると、各々、今からおよそ 20 万年前ならびに 10 万年前と算出された。これらの分岐年代は、各々、西表島を含む南西諸島および対馬の地質学的形成年代とほぼ一致した。遺伝子分析から推定される分岐年代と地質学的データとの統合が、日本列島の地史を考察する上で有効であることが示された。

今後は、さらに、日本列島に分布する生物種と大陸の生物種とを分子系統学的に比較解析していくと同時に、地質学的・古生物学的知見と照らし合わせることにより、日本列島への生物の渡来と進化および日本列島の地史がより明らかにされていくものと考ええる。

謝 辞

貴重な標本をご提供いただきました以下の方々に深く御礼申し上げます：伊澤雅子助教授（琉球大学理学部）、阿久沢正夫教授（鹿児島大学農学部）、岡田雄一氏（長崎県対馬支庁）、伊東員義氏、鈴木 仁氏（東京都上野動物園）、小松 守氏（秋田市大森山動物園）。また、貴重なご助言をいただきました米田政明博士（自然環境研究センター）に感謝いたします。本研究の一部は、文部

省科学研究費および稲盛財団助成によってサポートされました。

文 献

- Brown, W.M., George, M.Jr. and Wilson, A.C. (1979): Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 1967-1971.
- Ewer, R.F. (1973): *The carnivores*. Cornell Univ. Press, New York, 494p.
- Felsenstein, J. (1985): Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, **39**, 783-791.
- Gyllenstein, U.B. and Erlich, H.A. (1988): Generation of single-stranded DNA by the polymerase chain reaction and its application to direct sequencing of the HLA-DQA locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 7652-7656.
- Hemmer, H. (1978): The evolutionary systematics of living Felidae: Present status and current problems. *Carnivore*, **1**, 71-79.
- Imaizumi, Y. (1967): A new genus and species of cat from Iriomote, Ryukyu Islands. *J. Mamm. Soc. Japan*, **3**, 75-108.
- 今泉吉典・今泉忠明・茶畑哲夫 (1977): イリオモテヤマネコの生態及び保護に関する研究, 第三次報告. 環境庁, 129p.
- Irwin, D.M., Kocher, T.D. and Wilson, A.C. (1991): Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *J. Mol. Evol.*, **32**, 128-144.
- Kimura, M. (1980): A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, **16**, 111-120.
- 木村政昭・松本 剛・中村俊夫・大塚裕之・西田史朗・青木美澄・小野朋典・段野洲典 (1992): 沖縄トラフ東縁ケラマ鞍部の潜水調査—ウルム氷期の陸橋か? —. 第8回しんかいシンポジウム報告書, 107-133.
- Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Pääbo, S., Villablanca, F.X. and Wilson, A.C. (1989): Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 6196-6200.
- Leyhausen, P. (1979): *Cat behavior*. Garland STPM Press, New York, 340p.
- 増田隆一 (1994): 食肉類におけるミトコンドリアDNAの塩基配列解析: PCR法の活用と分子系統への応用—イリオモテヤマネコおよびイタチ科を中心にして—. 哺乳類科学, **34**, 81-89.
- Masuda, R. and Yoshida, M.C. (1994a): A molecular phylogeny of the family Mustelidae (Mammalia, Carnivora), based on comparison of mitochondrial cytochrome b nucleotide sequences. *Zool. Sci.*, **11**, 605-612.
- Masuda, R. and Yoshida, M.C. (1994b): Nucleotide sequence variation of cytochrome b genes in three species of weasels *Mustela itatsi*, *Mustela sibirica*, and *Mustela nivalis*, detected by improved PCR product-direct sequencing technique. *J. Mamm. Soc. Japan*, **19**, 33-43.
- Masuda, R. and Yoshida, M.C. (1995): Two Japanese wildcats, the Tsushima cat and the Iriomote cat, show the same mitochondrial lineage as the leopard cat *Felis bengalensis*. *Zool. Sci.*, **12**, 655-659.
- Masuda, R., Yoshida, M.C., Shinyashiki, F. and Bando, G. (1994): Molecular phylogenetic status of the Iriomote cat *Felis iriomotensis*, inferred from mitochondrial DNA sequence analysis. *Zool. Sci.*, **11**, 597-604.
- Masuda, R., Lopez, J.V., Pecon Slattery, J., Yuhki, N. and O'Brien, S.J. (in press): Molecular phylogeny of mitochondrial cytochrome b and 12s rRNA sequences in the Felidae: Ocelot and domestic cat lineages. *Mol. phylogenet. Evol.*
- Meyer, A., Kocher, T.D., Basasibwaki, P. and Wilson, A.C. (1990): Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature*, **347**, 550-553.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. and Erlich, H. (1986): Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **51**, 263-273.
- Nowak, R.M. (1991): *Walker's mammals of the world*. 5th ed. Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, 1629p.
- 大嶋和雄 (1990): 第四紀後期の海峡形成史. 第四紀研究, **29**, 193-208.
- 大嶋和雄 (1991): 第四紀後期における日本列島周辺の海水準変動. 地学雑誌, **100**, 967-975.
- 沖縄県教育委員会 (1985): 沖縄県文化財調査報告書第68集. ビンザブ: ビンザブ洞穴発掘調査報告, 184p.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, H., Horn, G.T., Mullis, K.B. and Erlich, H.A. (1988): Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, **239**, 487-491.
- Saitou, N. and Nei, M. (1987): The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, **4**, 406-425.
- Suzuki, H., Hosoda, T., Sakurai, S., Tsuchiya, K., Munechika, I. and Korabiev, V.P. (1994): Phylogenetic relationship between the Iriomote cat and the leopard cat, *Felis bengalensis*, based on the ribosomal DNA.

- Japan. J. Genet.*, **69**, 397-406.
- Wayne, R.K., Van Valkenburgh, B. and O'Brien, S.J. (1991): Molecular distance and divergence time in carnivores and primates. *Mol. Biol. Evol.*, **8**, 297-319.
- Wozencraft, W.C. (1993): Order Carnivora. In Wilson, D.E. and Reeder D.M. eds.: *Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference*. 2nd ed. Smithsonian Institution Press, Washington, 279-348.
- Wurster-Hill, D.H., Doi, T., Izawa, M. and Ono, Y. (1987): Banded chromosome study of the Iriomote cat. *J. Hered.*, **78**, 105-107.
- (1995 年 11 月 20 日受付, 1996 年 2 月 19 日受理)