

タイの人々との共存をめざしたアジアゾウの分子・集団遺伝学的 研究と保護管理

Molecular and population genetic studies and conservation management of the Asian elephants for coexistence with Thai people

研究代表者：増田 隆一

Chief Investigator: Ryuichi Masuda

北海道大学理学部附属動物染色体研究施設・助手

Assistant Professor, Chromosome Research Unit, Faculty of Science,
Hokkaido University

The objectives of the present study were to make the field survey for understanding the status of wild and domestic elephants (*Elephas maximus*) and the relationships between elephants and Thai people, as well as to investigate the genetic characteristics of Thai elephant populations for the conservation and management. We actually observed the wild elephants walking in the forests of the Khaoyai National Park (central Thailand), and got some ecological data. Then, in the mountainous area of Mae Hong Song province (northern Thailand), we visited the Karen tribe villages to make the field survey of wild elephants and the interview of the relationships between Karen people and wildlife. Although the sampling of wild elephants was very hard, molecular and cytogenetic examinations involving mitochondrial DNA phylogeny, major histocompatibility complex (MHC) polymorphism, and karyotypes are currently in progress to evaluate genetic characteristics of domestic elephants. In addition, we understood the activities of the Thai Elephant Conservation Center located at Lampang, northern Thailand.

1. 研究目的

本研究の目的は、東南アジア、特にタイにおける家畜ゾウおよび野生ゾウの現状を把握すること、および遺伝的特徴と集団の遺伝的多様性を明らかにし、種の保全をめざした保護管理対策を構築することである。タイを含めて東南アジアにおいては古来、労役・宗教・戦闘などを通してゾウと人々は深くかかわってきた。しかし近年、環境保全のため森林伐採が禁止され、材木運搬の労力であった家畜ゾウの仕事が激減し、家畜ゾウ集団をいかに管理・繁殖させていくかが大きな問題となっている。一方では森林伐採のため生息域が分断・孤立化するとともに、象牙採取のため乱獲されてきた野生ゾウ集団は絶滅の危機に瀕している。タイでは、1980年には約5,200頭の家畜ゾウ、約2,500頭の野生ゾウが記録されていたが、1994年には家畜ゾウ約3,600頭、野生ゾウ約2,000頭に減少している(Lair, 1997)。家畜ゾウな

らびに野生ゾウの集団ではともに、近交化とそれに伴う繁殖力・免疫力の低下が懸念されるため、現在の遺伝的多様性を把握し、多様性の維持・回復をめざした家畜ゾウの個体数管理、野生ゾウの移動放獣計画・捕獲繁殖計画・野生復帰計画を慎重に進める必要がある。本研究の最終目標はアジアゾウ集団の健全な回復と保護管理を支援するものであり、その成果はタイのみにとどまらず、東南アジア全域において個体数が減少しているアジアゾウの保護活動に活用できるものと期待される。

2. 研究経過

2.1 タイにおける野外調査

1997年9月にタイ側共同研究者であるチェンマイ大学理学部生物学科Dr. Jiraprapa RungsiyanondおよびDr. Daoroon Kangwanpongを北海道大学理学部附属動物染色

体研究施設に招聘し、アジアゾウの遺伝子・染色体研究に関する分析技術の修得、研究情報の交換、および今後の野外調査・遺伝子分析に関する計画討論を行った。

その計画にしたがい、1998年3月に代表者・増田がタイを訪問し、タイ側の共同研究者とともに野生ゾウの調査を行った。まず、マヒドン大学繁殖学センターDr. Boripat Siriaroonratとともにタイで最も古いカオヤイ国立公園を訪れ、ゾウの生息地を観察・調査した。その後、チェンマイ大学Dr. D. Kangwanpongらのグループが加わり、タイ北部山岳地帯（メーホンソン郡）において野生ゾウ生息地の野外調査を行った。その際、山岳少数民族カレン族の村々も訪れて聞き取り調査を行い、ゾウなどの野生生物および自然環境と共存して生活を営んでいるカレン族の習慣・文化を調査することができた。これらの野外調査の際、野生ゾウの体毛などのサンプリングを試みた。さらに、タイ北部ランバン市に設置されているタイ国立ゾウ保護センターにおいて、野生ゾウ・家畜ゾウの保護・管理の現状および将来の課題・展望について議論した。

2.2 遺伝的分析

1998年12月に、タイ・マヒドン大学のDr. B. Siriaroonratを北海道大学理学部附属動物染色体研究施設に招聘し、DNA分析技術の習得と改良を行った。その間、Dr. B. Siriaroonratは東京農工大学獣医学科も訪れ、ゾウの繁殖生理学に関する情報交換を行った。Dr. B. Siriaroonratは、マヒドン大学繁殖学センターにおいて、北海道大学で修得した分析法を基盤にして、ミトコンドリアDNA多型および性別判定に関するPCR（遺伝子増幅法）と塩基配列の決定を行った。同時に、タイ各地の家畜ゾウについて、体毛などのサンプリングを行った。また、チェンマイ大学においては、ミトコンドリアDNA分析、染色体分析およびその分析技術の改良を行った。北海道大学においては、日本各地の動物園の協力を得て、アジアゾウおよびアフリカゾウ（対象種）についてDNA分析を行った。

3. 研究成果

3.1 野外調査

カオヤイ国立公園では、野生ゾウの生息地である熱帯性の森林および塩分を補給する含塩分地帯の状況などを調査した。さらに、夜間の調査において、偶然にも野生ゾウの群に出会い、数メートルの間近まで接近して詳細な観察を行うことがで

きた（図1）。ここでは、通常よりも短い尾をもつ集団（数頭のメス成獣および子どもより構成されていた）を発見した。これは形態異常と考えられ、カオヤイ国立公園の集団内の近交化が進行し、劣性遺伝形質が表現化してきた可能性が示唆された。現在までのところ、これらの野生ゾウ集団のサンプリングは成功していないが、糞および落下した体毛などのサンプルを用いて、集団内の遺伝的多様性を明らかにすることが必要である。

タイ北部メーホンソン郡の山岳地帯における野外調査では、野生ゾウの痕跡（2頭分の足跡、なぎ倒された竹林、体をこすりつけた木の幹など）を発見することができた。アジアゾウの肩高は「前脚の足跡の円周」の2.5倍であるといわれており、私たちが発見した足跡の円周(90 cm, 115 cm)から推定すると、2頭のゾウの肩高は、各々、約2.3 mおよび2.8 mと推定された。さらに、少数民族カレン族の村々を訪問し、聞き取り調査を行った結果、過去10年以上に渡って、周辺に2頭ないし3頭の野生ゾウが生息していたが、1頭は数年前に死亡した可能性があるということだった。この人々は山岳地帯の自然にとけ込みながら自給自足の生活を営み、生態系におけるゾウの存在を認めていた。しかし、野生ゾウは人を襲わないが、農繁期には農作物や納屋を襲うことがあるため、ゾウの存在を無条件に喜んでいるわけでもなかった。今後、他の地域から野生ゾウを移入し放獣する計画もあるというが、上記の理由から、住民全員がその計画に賛成しているわけではなく、野生動物管理者と住民との対話を綿密に行う必要があると思われる。メーホンソン郡で行った調査内容については、英文学術誌に投稿発表した（発表論文1）。

タイ国立ゾウ保護センターにおいても、そのスタッフと私たちは、野生ゾウと家畜ゾウに関する保護管理の問題点について議論することができた。このセンターの主な活動は、保護された野生ゾウおよび家畜ゾウの疾病・けがの治療、そのリハビリテーション、移動式病院、ゾウ使いの教育・トレーニングである。さらに、労役の必要がなくなったゾウの再就職として、観光用の公開ショーやエコツアーの森林トレッキングも行われている。さらに、繁殖個体を使った野生復帰計画も進んでいる。ここは、タイにおけるゾウ保護の中心的施設であり、今後さらに、センターとの研究協力体制を密にしていく必要がある。このセンターの活動紹介および保護管理上の問題点や議論の内容は、英文学術誌に投稿発表した（発表論文2）。

elephants at Huay Poo Ling, Mae Hong Son Province, Thailand with notes on their status. Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine 4: 65-71.

2. Lungka, G., Siriaronrat, B., Kangwanpong, D., and Masuda, R. (1999) Activities and status of the Elephant Conservation Center of Lampang, Thailand. Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine 4: 39-43.

5.2 学会発表

1. Srikummool, M., Kangwanpong, D., Rangsiyanan, J., Parinyapattanaboot, T., Pruksakorn, S., Mahasavangkun, S., Siriaronrat, B.: Karyotypes and mitochondrial D-loop DNA sequences in captive Asiatic elephants (*Elephas maximus*). The 11st

Nation Genetics Congress of Thailand, October 6-8, 1999, Suranaree Technology University, Nakornrachasima, Thailand.

5.3 引用文献

- Noro, M., Masuda, R., Dubrovo, I.A., Yoshida, M.C., and Kato, M. (1998) Molecular phylogenetic inference of the woolly mammoth *Mammuthus primigenius*, based on complete sequences of mitochondrial cytochrome *b* and 12S ribosomal RNA genes. Journal of Molecular Evolution 46: 314-326.
- Lair, R.C. (1997) Gone Astray: The Care and Management of the Asian Elephant in Domesticity. FAO Regional Office for Asia and the Pacific (RAP) Publication. Bangkok, 300 pp.

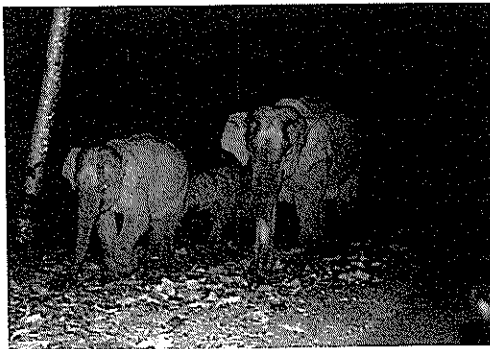


図1. カオヤイ国立公園で出会った野生ゾウの群。小さな子どもを守るようにして移動していた(1998年3月)。夜間の撮影。

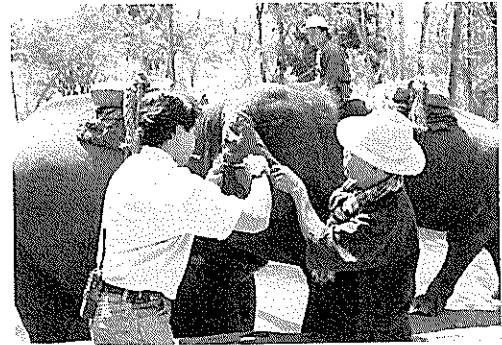


図2. タイ国立ゾウ保護センターの獣医(左)によるゾウの採血。ゾウ使い(右)のサポートにより、採血中もゾウは暴れることがない。この血液を用いて、血液培養、染色体標本作製、DNA分析などが行われる。

	10	20	30	40	50	60
Asian1	CTCATCAACC	CTGTAGTTGT	GTCCTGCAGTA	ATTGTCCACC	TGGCCCTCT	TGTAATCCAT
Asian2	...A...C.C...	...C.C...	...G...G...	...A.G...GTC	...C.CC...G	
African1	...C...C...	...C...	...A.C...	...C...T.G.C	...C...G	
	70	80	90	100	110	120
Asian1	GATCTCCTTC	TGGCCGTFCC	AGTGTCTCAGC	ACTCCGCCCG	CCCAGCTCCG	TCACCCGCCCT
Asian2	..G.....T..ATATACACAC	
African1	.G.....GC...G..TTC.G.....AC					
	130	140	150	160	170	180
Asian1	GTACTCCCCC	ACGTCGCTGT	CGAAGCGCAC	GTACTCCTCC	CGGTGTAGA	AGTATCTGTC
Asian2	..G.....CT...A...	..AG.....T.....C.G				
African1	.A.....G..AG.....T.....C.G					
	190	200	210	220	230	237
Asian1	CAAATACCGC	ACGCGCTCCG	TCCCGTTGGT	GAAGTGACAC	TCGTGCTTAG	TCTGCTC
Asian2	G...AG..T..C...T.....AGC...C	CG...CA				
African1	..C.A.....C.....ACC...T	G...CA				

図3. 主要組織適合抗原遺伝子複合体(MHC) クラスII DRBの塩基配列。アジアゾウの対立遺伝子2つ(Asian1, 2)およびアフリカゾウの対立遺伝子1つ(African1)を比較した。

3.2 遺伝的分析

野生ゾウのサンプリングについては、予想以上に困難であった。偶然に野生ゾウが捕獲された際には、体毛や血液などをサンプリングできるネットワークづくりをタイ側研究者が中心となって行っている。チェンマイ大学では、糞からのDNA抽出法を試みており、この手法が確立すれば、野生個体からのDNA採取はかなり進展するものと思われる。

遺伝的分析については最終的な結論までには至っていないが、チェンマイ大学、マヒドン大学、北海道大学において現在進行中である。

チェンマイ大学では、国立ゾウ保護センターと協力して、ゾウ血液の培養条件の設定、培養した白血球からの染色体標本の作製、および核型分析を行った(図2)。少量の血液と培養液による培養法を確立し、確実に染色体標本を得ることができるようになった。その標本について、各種の染色体分染法を施し、染色体分析(核型分析)を行った。まず、アジアゾウの体細胞の染色体数が56本(2n=56, XY)であることを確認した。性染色体以外の27対の常染色体のうち、4対がサブメタセントリック染色体、2対がメタセントリック、21対がテロセントリックまたはアクロセントリックであった。さらに、国立ゾウ保護センターで飼育されている家畜ゾウ集団について、血液からDNA抽出を行い、ミトコンドリアDNAコントロール領域をPCR増幅し、部分的な塩基配列を決定した。個体間で比較したところ、ゾウ保護センター内では個体変異が見られなかった。これは、この集団の創始者効果を表しているのかもしれない。さらに他個体および他の遺伝子(チトクロムbなど)についても現在分析中である。以上の分析結果は、タイ側共同研究者グループにより、本年(1999年10月)に開催される第11回タイ国遺伝学会において発表報告される予定である(学会発表1)。

マヒドン大学においては、オスY染色体特異的遺伝子SRYの分析を行っている。Dr. B.Siriaronratは北海道大学に滞在中、SRYに関する適切なPCR条件を見いだした。さらにマヒドン大学において、その塩基配列を決定した。この塩基配列をもとに、糞DNAからのSRY遺伝子増幅による性別判定を試験中である。

北海道大学においては、アジアゾウおよびアフリカゾウについて、主要組織適合抗原遺伝子複合体(MHC)クラスII DRB遺伝子領域のPCR増幅とそのPCR産物のクローニングおよび塩基配列を行い、いくつかの対立遺伝子を同定した(図3)。

哺乳類では個体変異の大きいことが知られており、今後の多様性評価のDNAマーカーとして有効であると思われる。また、私たちの研究室では、これまでにシベリア永久凍土層から発掘された絶滅種マンモス(約2万5千年前のもの)組織からのDNA分析にも成功しており(Noro *et al.*, 1998)、その際分析したアジアゾウ・アフリカゾウのミトコンドリアDNAチトクロムb遺伝子および12SリボソームRNA遺伝子の全塩基配列と比較しながら、アジアゾウの地域多様性を解析している。

4. 今後の課題と発展

野外調査は、計画通り遂行することができた。野生ゾウを間近に観察したり、カレン族の村々で聞き取り調査できるなど、予想以上の成果が得られた。また、あらためて海外、特に熱帯地方における野外調査が大変でかつ重要であることを感じた。電気も水道もないタイ北部山岳地帯における野生ゾウ生息域調査は、チェンマイ大学、タイ国立ゾウ保護センター、NGO、カレン族の人々などの多大な協力に支えられて行ったものであり、関係者には深く感謝している。また、家畜ゾウに比べ野生ゾウのサンプリングは難航している。今後はタイ側共同研究者が中心となって、タイの関係諸機関と綿密な連絡を取り合って進めていきたい。

一方、遺伝的分析について、日本側の遺伝子分析技術をチェンマイ大学およびマヒドン大学へ伝授することができたことは大きな成果であった。最終的な集団レベルの多様性評価までにはもう少し時間がかかるが、タイおよび日本において、血液培養の簡便法、各種分染法による染色体分析、コントロール領域などのミトコンドリアDNA分析、性別判定のためのSRY遺伝子およびMHC遺伝子のPCR増幅法などの基礎的技術を確立し、共同研究を発展させる基礎固めをすることができた。今後は、タイ側と綿密な連絡を取りながら、家畜ゾウおよび野生ゾウのサンプル数を増やし、着実に多様性評価のデータ蓄積していきたい。

最後になりましたが、今回研究助成していただきました日産科学振興財団に深く御礼申し上げます。

5. 発表論文リスト

5.1 原著論文

1. Siriaronrat, B., Angkawanish, T., Kangwanpong, D., and Masuda, R. (1999) A survey report on wild