

熊本県八代郡泉村京丈山洞穴より産出したニホンオオカミ 全身骨格標本のAMS¹⁴C年代

南 雅代¹⁾・北村 直司³⁾・中村俊夫²⁾

1) 名古屋大学年代測定資料研究センター（日本学術振興会特別研究員）

〒464-8602 名古屋市千種区不老町

Tel: 052-789-2578, Fax: 052-789-3095

E-mail: minami@eps.nagoya-u.ac.jp

2) 名古屋大学年代測定資料研究センター

〒464-8602 名古屋市千種区不老町

Tel: 052-789-2578, Fax: 052-789-3095

E-mail: g44466a@nucc.cc.nagoya-u.ac.jp

3) 熊本市立熊本博物館

〒860-0007 熊本市古京町3-2

Tel: 096-324-3500, Fax: 096-351-4257

E-mail: JDQ05760@nifty.ne.jp

〈要旨〉熊本県泉村京丈山の石灰岩洞穴より、ニホンオオカミとされるほぼ完全な1個体分の全身骨格が1976年から1977年にかけての調査で発見された。今回、この標本と国立科学博物館所蔵のニホンオオカミ全身骨格等と骨学的な比較検討を行い、あわせて放射性炭素(¹⁴C)法を使って、骨の年代測定を行った。本研究では、骨試料からタンパク質であるコラーゲンを抽出し、さらに骨の有機物としてより根元的であるアミノ酸集合体を抽出し、それらの物質に含まれる炭素について、名古屋大学に設置されているタンデトロン加速器質量分析計を用いて年代測定を実施した。その結果、京丈山ニホンオオカミ標本はがっしりした体格のニホンオオカミであり、全身骨格がそろった標本としては本邦2例目の最古のものであることが確認された。また、アミノ酸集合体の¹⁴C年代は380±90 yr BPと得られ、室町から江戸初期に遡る可能性が示された。

Key words : ニホンオオカミ, 全身骨格, 熊本県, 江戸初期, ¹⁴C年代,
加速器質量分析, AMS, アミノ酸

1. はじめに

熊本県にオオカミがいたことは、1758年の肥後藩主細川重賢の動物の写生本『毛介綺煥』の中のオオカミの図や江戸時代の肥後国五ヶ荘圖志（村次，1836）の中に"山犬"として記述されていることから確かである。

熊本県内でオオカミが標本として発見されたのは最近のことであり、今回の京丈山標本は2例目にあたる。第1標本は、1969年11月26日に熊本洞穴研究会メンバーが熊本県八代郡泉村矢山岳の石灰岩縦穴から発見したニホンオオカミの頭蓋骨と下顎骨である（吉倉，1969）。この標本は、後期更新世のものとして、現在国立科学博物館地学研究部が所蔵している。第2標本が今回年代測定を実施した京丈山標本である。1976年12月10日熊本商科大学（当時）探検部が、第1標本の発見場所と同じ泉村において、京丈山南東約1.5kmおよび南南西約2kmに広がる比較的幅広い緩傾斜の山地に存在するワナバノ洞穴郡およびそのなかのワナバノ谷第1洞穴を調査し、そこからニホンオオカミとされる頭蓋骨と下顎骨を発見した。発見された化石骨は熊本博物館に寄贈された。この発見に刺激され、翌年の1977年4月5～8日にかけて熊本洞穴研究会・熊本博物館・熊本日日新聞社・熊本放送主催による合同調査が行われた（熊本洞穴研究会，1977）。この結果、頭部以外の骨も採集された。しかし、発見直後から、この頭部以外の骨は熊本県を離れた研究機関で保管されてきた。1998年5月、頭部以外のこれらの骨が熊本博物館に返されたのを機に、国立科学博物館所蔵のニホンオオカミ全身骨格等と骨学的な比較検討を行い（附表1～3）、あわせて放射性炭素 ^{14}C 法を使って骨の年代測定を実施した。ここでは主として、京丈山ニホンオオカミの全身骨格の一部（指骨）に関して行った ^{14}C 年代測定の結果について報告する。

2. 実験

ニホンオオカミの指骨試料は硬くしっかりしており、保存状態が良好であったと思われる。指骨試料の内部には空洞があり、炭化した黒片と灰色の粉が入っていたため、これらを取り除いた。炭化黒片、灰色粉、骨本体はそれぞれ蒸留水中で繰り返し超音波洗浄し、さらに0.2N NaOH中で超音波洗浄を行って、アルカリ水溶液に可溶な不純物を除去した。蒸留水で洗浄後、試料を凍結乾燥した。指骨本体は表面をカッターナイフによって削り取って、残りをステンレス乳鉢で粉砕した。

指骨内部の炭化黒片、指骨表面部を削り取ったもの、指骨全体を粉砕したものは各々マグネティックスターラーで攪拌させながら1.0N HCl中、4℃で24時間脱灰させた後、酸に不溶成分を遠心分離し、蒸留水で洗浄して凍結乾燥した。炭化黒片は試料の量が少なかつたため、脱灰のみで処理を終了した。

指骨表面部を削り取ったもの、指骨全体を粉砕したものについては、脱灰試料に6N HClを加え、アルミニウムブロックヒーター内で110℃で24時間反応させて加水分解した。加水分解物中の固有物は遠心分離した後、ガラスフィルターで吸引ろ過して除いた。

さらにコラーゲン加水分解物をXAD-2樹脂を詰めたカラムに通し、6N HCl でアミノ酸集合体を溶出させた。XAD処理されたアミノ酸成分はロータリーエバポレーターで濃縮後、凍結乾燥した。以上の操作は南・中村（1997）に詳しい。

指骨全体の骨粉末については、ゼラチンコラーゲン抽出も行った。粉末試料をセルロースチューブ中で、1.2N HClを用いて一晚、4℃で脱灰した。純水を用いて透析してHClを除去した後、チューブの内容物を遠心分離した。この沈殿に純水を加え、90℃で10時間加熱した後、溶液を吸引ろ過して回収し、凍結乾燥してゼラチンコラーゲンを得た。また、チューブの上澄み液は吸引ろ過して回収し、凍結乾燥して可溶性ゼラチンを得た。

このようにして得られた各成分から、以下の手順に従い、CO₂とN₂の精製を行った。直径6mmの短いバイコール管に線状酸化銅と試料を入れ、石英綿で軽くふたをしてから線状銀線を加えた。直径9mmのバイコール管に線状還元銅を入れた上に、試料の入った6mmバイコール管を入れ、真空封管した。これを約2時間850℃に加熱した後ゆっくりと冷却して、コラーゲン中の炭素を酸化してCO₂に、窒素をN₂に変えた。真空ラインにおいて、まずはじめに、線状モレキュラシーブス（13X, 1/16）を用いてN₂を分離した。その後、液体窒素（-196℃）、液体窒素で冷却したエタノール（約-100℃）、ペンタン（-128℃）を冷媒として用いてCO₂を精製した。このCO₂を鉄-水素還元法によりグラファイト化し（Kitagawa et al., 1993）、名古屋大学年代測定資料研究センターに設置されているタンデトロン加速器質量分析計を用いて¹⁴C年代測定を行った。なお、分取した一部のCO₂と全N₂について、気体用質量分析計（MAT-252）によりδ¹³C、δ¹⁵N値を測定した。また、CNコーダー（柳本製、MT-700）により炭素および窒素含有量を測定した。

3. 結果

指骨内部の炭化黒片、指骨表面部を削り取ったもの、指骨全体を粉砕したものについて、用いた試料の量および脱灰後得られた収量、収率を表1に示す。指骨全体を粉砕したものについては、試料の一部(B)をゼラチンコラーゲン抽出法に用いた。得られたゼラチンコラーゲンおよび可溶性コラーゲンの収量、収率もあわせて示した。

表1 ニホンオオカミ指骨試料から抽出された各成分の収量(mg)および収率(%)

	試料 (mg)	脱灰成分 の収量	ゼラチンコラ ーゲンの収量	可溶性コラー ゲンの収量
指骨内部の炭化黒片	27.4	19.7 (71.9%)		
指骨表面部	165.0	20.2 (12.2%)		
指骨全体	A	433.8	55.7 (12.8%)	
	B	969.2	51.0 (5.26%)	0.7 (0.07%)

新鮮な骨から抽出したコラーゲンにおいてはゼラチンコラーゲンの含有率が高く、それに対して、年代が古い骨化石においては可溶性コラーゲンの含有率が高くなる傾向が一般的に見られる。本試料においては、ゼラチンコラーゲンの収率が5%以上もあり、可溶性コラーゲンはほとんど得られなかったことから、保存状態が極めて良好であったことがわかる。指骨内部の炭化黒片は、脱灰後の収量が72%と非常に高かった。

ニホンオオカミ指骨試料から抽出したコラーゲン、他の炭素含有物のC/N比、 $\delta^{13}\text{C}$ 値、 $\delta^{15}\text{N}$ 値および ^{14}C 年代測定結果を表2に示す。 ^{14}C の半減期としてはLibbyの半減期5,570年を用いた。 ^{14}C 年代値は、西暦1950年を過去へ遡った年数として与えられる。

C/N比は、指骨内部の炭化黒片を除いて3.0前後の値が得られた。純粋なコラーゲンのC/N比は3.2前後であるので(Hare and von Endt, 1990)、抽出成分をコラーゲンと考えると問題はない。しかし、指骨内部の炭化黒片は17.1という大きくはずれたC/N比を示し、コラーゲンではないことがわかる。

ニホンオオカミ試料から抽出したコラーゲンの $\delta^{13}\text{C}$ 値は-18.9~-17.8‰と得られた。骨に含まれるタンパク質コラーゲンの $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値は、摂取した食物を反映するため、食性解析が可能である。図1に食料資源の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ の分布を示す。骨コラーゲンは、摂取したタンパク質よりも $\delta^{13}\text{C}$ で約3‰、 $\delta^{15}\text{N}$ で約5‰の濃縮があることが多い(南川, 1993)。したがって、ニホンオオカミの食物の $\delta^{13}\text{C}$ 値は約-22‰と考えられ、温帯域の森林植物やイネ・コムギなどのC3植物(-27‰前後)の値よりも高い。この要因として、アワ・ヒエ・キビなどの穀類を含むC4植物(-11‰前後)と海産物(-15‰前後)の2つが考えられる。ニホンオオカミのコラーゲンの $\delta^{15}\text{N}$ 値は+6.5~+7.0‰、すなわち食物の $\delta^{15}\text{N}$ 値は約+2‰と考えられ、これは植物の窒素同位体比に等しいことから、ニホンオオカミのコラーゲンが比較的高い $\delta^{13}\text{C}$ 値を示したのは、C4植物を食していたためと考えられる。

指骨内部に存在した炭化黒片と灰色粉末の $\delta^{13}\text{C}$ 値は-26~-27‰とC3植物の値を示し、+4‰という $\delta^{15}\text{N}$ 値もC3植物の値を示している。このことから、指骨内部に含まれていた炭化物質はコラーゲンではなく、植物片であることが明らかとなった。なぜ、指骨内に植物片が含まれていたのかは疑問である。

^{14}C 年代値は、modernから380 yr BPの値を示した。指骨の表面部を取り除いた後、全体を粉砕した試料のXAD-2樹脂処理した加水分解成分が、最も古い年代値を与えた。この成分が有機物による汚染の影響が一番少なく、最も信頼できる年代値を与えると考えられる。この成分において得られた 380 ± 90 yr BPの年代値を樹輪校正曲線を用いて暦年代に換算した結果、

1448AD-1528AD / (50.2%)

1552AD-1633AD / (49.8%)

となった。京丈山ニホンオオカミは、室町から江戸初期に遡る可能性が示された。

表2 京丈山ニホンオオカミの指骨試料から抽出したコラーゲン，他の炭素含有物のC/N比， $\delta^{13}\text{C}$ 値， $\delta^{15}\text{N}$ 値および ^{14}C 年代値

試料	炭素含有量 (%)	窒素含有量 (%)	C/N比	$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}$ (‰)	^{14}C 年代 (yr BP)
指骨内部の炭化黒片						
DBP	51.0	3.0	17.1	-27.1	+4.1	200 ± 80
指骨内部の灰色粉末	---	---	---	-25.9	---	----
指骨表面部						
DBP	41.5	14.5	2.9	-18.8	+7.0	40 ± 90
XAD	25.0	---	---	-17.8	+6.8	80 ± 200
指骨全体						
DBP	44.5	15.9	2.8	-18.9	+6.7	modern
XAD	26.3	9.8	2.7	-17.9	+6.5	380 ± 90
GC	44.5	15.9	2.8	-18.7	+6.8	260 ± 90

注)

- 1) DBP: Decalcified Bone Powder; 骨試料を塩酸で脱灰した成分
- 2) XAD: XAD resin-treated hydrolysate fraction; XAD樹脂処理した加水分解成分
- 3) GC: Gelatin collagen

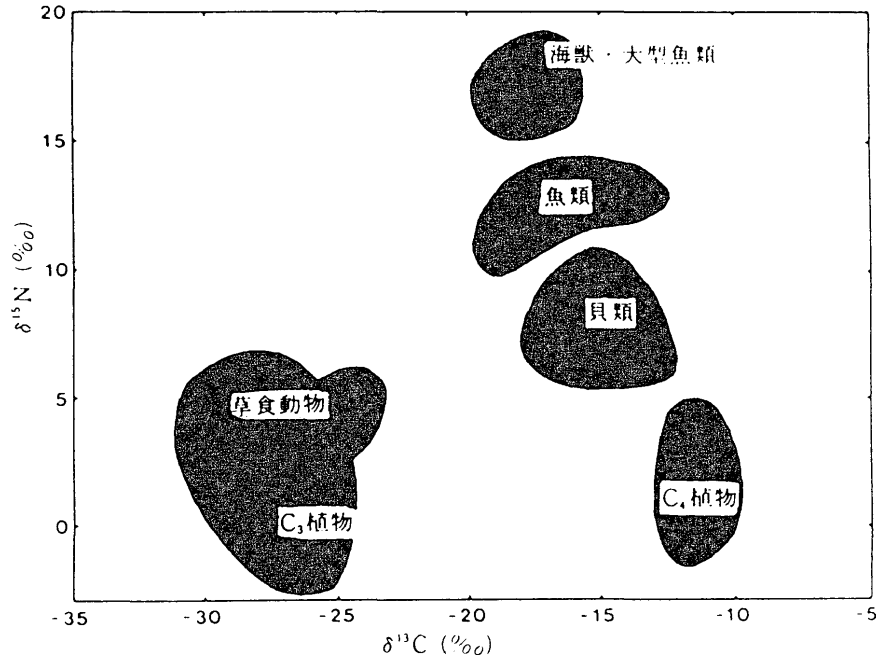


図1 食資源の $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ の分布

謝 辞

ゼラチンコラーゲン抽出は、名古屋大学年代測定センターの太田友子氏に実施していただいた。記して謝意を表す。なお、この研究には、文部省科学研究費補助金（特別研究員奨励費、代表者：南 雅代、課題番号：10003150）の一部を使用した。

参考文献

- Hare, P. E. and von Endt, D. (1990) Variable preservation of the organic matter in fossil bone. Annual Report of Director of the Geophysical Laboratory, Carnegie Institute, Washington, 1989-1990, Geophysical Laboratory, Washington D.C., 115-118.
- Kitagawa, H., Masuzawa, T., Nakamura, T. and Matsumoto, E. (1993) A batch preparation method for graphite targets with low background for AMS ^{14}C measurements. Radiocarbon, 35, 295-300.
- 熊本洞穴研究会 (1977) 京丈山の洞窟群総合学術調査報告. 土龍, 7 : 1-54.
- 南 雅代・中村俊夫 (1997) 骨化石試料に対する信頼度の高い ^{14}C 年代, 炭素同位体比測定を試み. 名古屋大学加速器質量分析計業績報告, VIII, 247-253.
- 南川雅男 (1993) アイソトープ食性解析法. 日本第四紀学会編：第四紀試料分析法. 2. 研究対象別分析法. 東大出版会. 404-414.
- 村次常眞 (1836) 肥後国五ヶ荘圖志. 日本庶民生活史料集成 (三一書房) 9 : 371-389.
- 吉倉 真 (1969) 人吉・五木・五家荘地区の鳥獣類. 人吉球磨五木五家荘地区自然公園候補地学術調査報告書, p.68-111, pl.7

附表1 発見された京丈山標本の骨の部位

骨の名称	採集個数	骨の部位 () 内は個数
頭蓋骨	1	
下顎骨	2	左(1)・右(1)
頸椎	6	第1～第4・第6・第7 頸椎
胸椎	9	第1・第6～第13胸椎
腰椎	5	第1～第4・第7 腰椎
仙椎	1	
尾椎	0	
肩甲骨	2	左(1)・右(1)
上腕骨	2	左(1)・右(1)
橈骨	2	左(1)・右(1)
尺骨	2	左(1)・右(1)
手根骨	0	
中手骨	9	左右の II III IV V と左右不明VI (1)
指骨 (基節骨)	3	部位は不明
指骨 (中節骨)	0	
指骨 (末節骨)	0	
大腿骨	2	左(1)・右(1)
脛骨	2	左(1)・右(1)
腓骨	2	左(1)・右(1)
踵骨	2	左(1)・右(1)
距骨	2	左(1)・右(1)
足根骨	2	左 (第3・第4足根骨)
中足骨	8	左右の II III IV V
趾骨(基節骨)	6	部位は不明
趾骨(中節骨)	2	左(1)・右(1)
趾骨(末節骨)	2	指骨 (末節骨) の可能性もあり?
膝蓋骨	0	
肋骨	19	13対のうち (右13本・左第.5,6,7,8,11,13肋骨)
骨盤	1	
陰莖骨	0	

〈比較〉

国立科学博物館 M-100 の全体的な骨格

頸椎数	7 個
胸椎数	13 個
腰椎数	7 個
尾椎数	17 個
肋骨	13 対

附表2 ニホンオオカミ頭蓋骨の計測比較

年代 標本番号	熊市博標本	国立科学博物館標本		
	京丈山産 (本研究)	福島県産 1870年頃	福井県産 1800年頃	東京都奥多摩産 記録なし
標本番号	1-109	M-100 ♂	M-1185	M-2669
部位	計測値 (mm)			
全長	218.8	214.3	----	202.4
基底全長	204.6	200.8	196.3	----
頬弓部幅	129.6	124.4	----	116.4
眼間部幅	43.3	34.9	37.9	34.1
後眼窩幅	43.7	32.7	36.1	33.8
犬歯部幅	40.2	40.1	40.0	36.5
後頭顆幅	38.9	39.1	40.2	----
口蓋長	102.7	98.6	97.3	94.7
後縁正中部湾入	あり	あり	あり	あり
頬歯列長	99.6	92.7	98.7	93.1
下顎長	160.8	156.6	156.5	----
P4長 (歯冠)	19.9	20.8	20.3	19.4
M1長 (歯冠)	23.5	24.5	24.0	22.4(R)
翼蝶骨管は二分?	○	×	○	○
眼窩角 (°)	45	44	38	34
前蝶形骨の形	十字型	十字型	十字型	十字型

注：口蓋長では口蓋長後縁正中部の湾入を含めない。

頬歯列長，下顎長，P4長，M1長は左側を測定した。

附表3 京丈山標本(1-109)と国立科学博物館標本(M-100)
の骨(頭骨以外)の計測結果

		京丈山産	福島県産
		1-109	M-100 ♂
部位		計測値 (mm)	
[肩甲骨]	全長	148.3	141.9
	肩甲棘最大長	128.3	122.7
	上部幅	73.5	72.5
[上腕骨]	全長	176.6	76.8
	上端最大前後径	46.3	44.6
	下端最大幅径	38.0	36.8
[橈骨]	全長	176.4	176.1
	上端最大幅	21.4	19.7
	下端最大幅	29.1	28.6
[尺骨]	全長	207.0	211.0
[大腿骨]	全長	191.4	192.2
	上端最横径	43.7	45.9
	転子窩直径	30.1	—
	下端幅	33.3	34.8
[環椎]	全長	43.5	43.5
[軸椎]	全長	58.7	—
[仙椎]	全長	49.7	—
[踵骨]	全長	48.5	—
[距骨]	全長	29.9	—
[中手骨]	全長	78.2	69.1
[中足骨]	全長	87.6	78.6

※末節骨(ツメ)は部位の同定が難しいため特定の部位での比較はできないが、M-100の方が小さい。

— : M-100 はマウントしてあるため測定不能。

〈参考〉国立科学博物館 M-100全身剥製の全体的な計測値

	計測値 (mm)
頭胴長	900
胴長	685
肩高	470
尾長	30

AMS ^{14}C age of Japanese wolf collected from the cave at Mt. Kyōzyō in Izumi-mura, Yashiro-gun, Kumamoto prefecture

Masayo MINAMI

Dating and Materials Research Center, Nagoya University (JSPS Research Fellow)

Tel: 052-789-2578, Fax: 052-789-3095, E-mail: minami@eps.nagoya-u.ac.jp

Naoshi KITAMURA

The Kumamoto Museum, Kumamoto City

Tel: 096-324-3500, Fax: 096-351-4257, E-mail: JDQ05760@nifty.ne.jp

Toshio NAKAMURA

Dating and Materials Research Center, Nagoya University

Tel: 052-789-2578, Fax: 052-789-3095, E-mail: g44466a@nucc.cc.nagoya-u.ac.jp

We measured ^{14}C ages of collagens extracted from Japanese wolf (*Canis Inpus hodophylax*) collected from the cave at Mt. Kyōzyō in Izumi-mura, Yashiro-gun, Kumamoto prefecture. The ^{14}C date of 380 ± 90 yr BP was obtained for XAD-2 treated collagen hydrolysate of finger bone fossil. The calibrated ^{14}C age was 1448AD-1528AD (50.2%) and 1552AD-1633AD (49.8%), indicating the Muromachi or the Edo periods.

The Japanese wolf is thought to be well-preserved because experiment yield of gelatin collagen was relatively high. The sample demonstrated C/N ratio of ~ 3.0 , $\delta^{13}\text{C}$ value of $\sim -18\%$ and $\delta^{15}\text{N}$ value of $\sim +7.0\%$. There was a carbonized material inside the finger fossil. This showed C/N ratio of ~ 17 , $\delta^{13}\text{C}$ value of $\sim -27\%$ and $\delta^{15}\text{N}$ value of $\sim +4\%$, which are the values of C3 millets. Therefore, the internal material might be a kind of C3 millets.