

機関番号：32661

研究種目：新学術領域研究（研究課題提案型）

研究期間：2008～2010

課題番号：20200041

研究課題名（和文） 1492年前後の新大陸の人々を探る：コロンブス到来による遺伝的多様性への影響

研究課題名（英文） Research for changes of genetic diversity after the 1492 Columbus Day in Mesoamericans.

研究代表者

黒崎 久仁彦 (KUROSAKI KUNHIKO)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：60240701

研究成果の概要（和文）：

中米の現代および古代先住民集団の遺伝的多様性の解明を目的として、メキシコ中央高原のテオティワカン遺跡、および中米各所の古代遺跡から出土した古人骨試料（計100余体の骨片・歯牙）を入手し、そこからDNAを抽出後PCR法によりミトコンドリアDループ領域のDNAを増幅し、その全塩基配列を決定した。さらにそれらの塩基配列データをもとにして、中米の古代先住民の集団遺伝学的系統分析を行った。中米遺跡由来の人骨試料については、これまでに我々の研究グループが経験している日本（縄文・弥生）や中国（殷王朝）の試料に比べて、DNAの質的な劣化が進み、その分析には予想以上に困難を極めた。そのため、DNAの抽出精製方法やPCRの条件などを再検討することにより、約30個体のDNA型判定を行うことができた。その結果、テオティワカン集団の個体の中に、コーカソイドにその起源を有すると考えられており、新大陸では北米の先住民に数パーセントの頻度で見られるに過ぎないハプログループXが僅かながら存在していることが明らかになった。これは古代の中米地域にアジアの系統の先住民が入り込んでいたことを示す画期的な知見と考えられた。一方、メキシコの遺伝的に保存性の高い現代先住民の3集団からDNAを採取し、性行為などの接触感染を主経路とする病原ウイルスとして代表的なB型肝炎ウイルス（HBV）の検出を行った。そのうちの1集団である、マサウア族25個体では5個体からHBV-DNAが検出された。また、これらのHBVの遺伝子型を決定したところ2個体がGenotypeA、3個体がGenotypeCのクラスターに分類された。マサウア族におけるHBVの陽性率（20%）はメキシコ国内の感染率（3.3%）に比べても有意に高く、また遺伝子型も中米に圧倒的に多いGenotypeFではなく、欧州やアジアで多頻度のGenotypeAおよびCが認められたことは集団遺伝学的に興味深い知見と考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Teotihuacan was a mega-state in ancient Mesoamerica, but there are many uncertainties about its community and history owing to undeciphered writing system. To investigate its society through the genetic origins of individuals offered as sacrifices, we analyzed mitochondrial DNA of sacrifices of the Moon Pyramid at Teotihuacan. The Moon Pyramid sacrifices comprise some individuals with rare haplogroups: haplogroup A with a 9-bp deletion and haplogroup X. Based on the distribution of these rare haplogroups within the vicinity of Teotihuacan, we discuss this mega-state sphere of influence, possibly indicating it expanded from southwestern North America to the entire area of Mesoamerica.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2009年度	8,200,000	2,460,000	10,660,000
2010年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
年度			
年度			
総計	20,800,000	6,240,000	27,040,000

研究分野：生物学、人文学

科研費の分科・細目：人類学、史学・自然人類学、考古学

キーワード：分子・遺伝、考古学一般、新大陸、集団遺伝学、分子ウイルス学

1. 研究開始当初の背景

1492年コロンブスが新大陸へ到来した。新大陸へ渡ったヨーロッパの人々によって各地で先住民の大量殺戮がおこなわれたが、真の大量殺戮は彼等によって持ちこまれた病原菌により引き起こされた。ヨーロッパやアジアでは、牛・豚・羊・山羊・馬・様々な家禽といった家畜を飼い、住まいもそれらと近接していたが、新大陸ではそうではなかった。このため、1492年以降ヨーロッパ人が大挙して新大陸に押し寄せ、先住民族と接触するにつれて、先住民が経験したことのない、すなわち、先住民が免疫力をもたない病原菌に曝されることになった。天然痘、インフルエンザ、ジフテリア、はしかの大流行によって先住民人口はわずか数十年のうちに半分以下、場所によっては数%にまで激減した。遺伝学用語でいう“ビン首効果”が新大陸各地の先住民族で大規模に起きたのである。さらに、労働力を補う目的で大量のアフリカ系住民が奴隷として新大陸へ導入され、アジア系、ヨーロッパ系、アフリカ系が混在・混合した社会が形成された。先住民は、混血を受け入れるか、社会の隅に追いやられるかの選択肢しかなかった。このため、新大陸先住民の原初的位置づけ（コロンブス到来前の集団遺伝学的特徴）は、これまで、少数のしかも血縁関係のある人々を用いた研究によっておこなわれ、学問的に極めて脆弱であった。近年、先住民の間に先祖からの血を受け継ぐことに対する誇りが芽生え、自らの出自を探ろうとする機運が高まってきた。そして、新大陸先住民の遺伝的多様性とその時代的変遷を真に学問的立場から明らかにすることを求めて、征

服民族側、被征服民族側のどちらにも属さない中立的立場である我々に研究の機会が巡ってきた。本研究の対象となるのは、(1)「純系を保ちながらも一定の集団サイズを維持してきた中米の現代先住民集団」ならびに(2)「1492年以前の大規模な中米古代都市国家の遺跡から出土した古人骨集団」である。現代・古代の人類集団それぞれについて遺伝的多様性を求め比較することによって、先コロンブス時代の新大陸先住民集団の実像とコロンブス到来による遺伝的多様性への影響（ビン首効果の実態）を解明する。また、性行為などの接触感染によって伝播するウイルスの検出を行い、現代先住民集団における社会的隔離度（純系度）を推定する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、新大陸の現代先住民集団ならびに1492年以前の古代都市国家の遺跡から出土した古人骨をもちいて、現代・古代の両人類集団それぞれについて遺伝的多様性を求め比較することによって、先コロンブス時代の新大陸先住民集団の実像とコロンブス到来による遺伝的多様性への影響（ビン首効果の実態）を明らかにすることである。1492年のコロンブス新大陸到来を契機に、先住民の人口は、コロンブス新大陸到来のわずか数十年後には半分以下、場所によっては数%台へと激減した。17世紀後半からは徐々に回復したが、スペイン人との混血、アフリカ系との混血が進み、新大陸の各地でアジア系、ヨーロッパ系、アフリカ系が混在・混合した社会が形成されている。このため、新大陸先住民族の集団遺伝学的原初構造の解

明は極めて難しい問題であった。集団構造の遺伝学的解明のためには、血縁関係のない試料が一定数以上必要であるが、これまで報告されてきた新大陸先住民族の集団遺伝学的研究で用いられていたサンプル数は小さく、しかも血縁関係のある小集団から得られたものであった。したがって、これらの解析から新大陸先住民の原初的位置づけ（コロンブス到来前の集団遺伝学的特徴）を知ることは不可能であった。我々は近年、考古分野で新大陸の研究を現地で長年にわたりおこなってきた日本人研究者を通じて、この研究を遂行するために最適な試料を得られるという極めて貴重な機会を得た。本研究は、征服側・被征服側のどちらにも組みしない中立的立場から、すなわち真に学問的立場から新大陸先住民の遺伝的多様性を先コロンブス時代と後コロンブス時代で求め、コロンブス交換がヒトへ及ぼした集団遺伝学的影響を明らかにすることを目的として実施する。

3. 研究の方法

本研究では、(項目A) 純系を保ちながらも任意の交配集団としての集団サイズを維持してきたと考えられる中米メキシコの現代先住民集団(複数の集団)の遺伝的多様性を求めると共に、(項目B) 同じく中米メキシコの古代遺跡から出土した古人骨のDNA分析によって、1492年以前の新世界先住民族(複数の集団)の遺伝的多様性を実データとしてダイレクトに求める。(項目C) 上記「項目A」および「項目B」で求めた現代および古代の集団の遺伝的多様性にどのような違いが存在するのか、存在するゲノムタイプの違い、その頻度の違いなどから、コロンブス到来による遺伝的多様性(多様度)に関するビン首効果を、中米の複数の地域・民族に関して明らかにする。(項目D) 性行為や産道感染などの接触感染を主経路とするウイルスの検出を上記「項目A」と同じ現代先住民集団でおこない、ウイルス・ゲノムタイプを決定する。ウイルス・ゲノムタイプに関する既知の頻度データ、ならびに、移入してきたヨーロッパ系あるいはアフリカ系との混血が認められる近隣集団とのウイルス・ゲノムタイプの比較により、用いた現代先住民集団の社会的隔離度(純系度)を推定する。

4. 研究成果

1) メキシコ現代先住民族における病原ウイルスの検出とゲノムタイピング

本研究では、性行為や産道感染などの接触感染を主経路とするB型肝炎の病原ウイルスの検出をメキシコ先住民集団(Mazahuas民族)でおこない、ウイルスのゲノムタイプを決定した。同民族の居住地で採取したDNA(血液由来)25サンプルについてnested PCR法でB型肝炎ウイルス遺伝子のうち、ウイルスエンベロープをコードするS遺伝子に存在するmajor S領域を特異的に増幅して、B型肝炎ウイルスの感染の有無を検討した。さらに、HBV-DNAが検出されたMazahuas民族のサンプルに対して遺伝子の塩基配列解析をおこない、GenBankのデータベースに公開されている既知のHBV株の塩基配列との同一性をMEGA5-windows(MEGA Software)をもちいて解析した。また、系統樹はNeighbor-Joining法とBootstrap法を用いて作成した。まず、今回もちいたメキシコMazahuas民族の全25サンプルのうち、5サンプルにおいて、HBV-DNAが検出された(図1)。今回検証したMazahuas民族のサンプルにおけるHBV感染率は20%であったが、Nahuas族やHuichol族におけるB型肝炎罹患率はそれぞれ1.4%、9.4%であるとの報告がある。一方、現在メキシコにおけるHBV感染率は3.3%とされているが、近年先住民の間でHBVの高い流行性が確認されていることから、実際のメキシコの先住民族におけるHBV感染率はそれ以上であると考えられる。次に、検出された遺伝子の塩基配列解析の結果、HBV-DNAが検出された5サンプルについて系統的解析を行ったところ、2サンプルのHBVはGenotype Aのクラスターに分類された。一方、残りの3サンプルのHBVはGenotype Cのクラスターに分類された(図2)。メキシコにおいて最も多いHBV遺伝子型はGenotype FとGenotype Hであるとの報告があるが、本研究で用いたMazahuas民族の25サンプルからはこれらの遺伝子型は検出されなかった。これは、Mazahuas民族が現在まで閉鎖的な環境で生活していることにより独特の遺伝子型分布を示していることと推察される。B型肝炎ウイルスは一度感染すると永久に体内から排除されないため、ウイルス遺伝子を検出することで感染履歴を知ることができる。本研究では、メキシコ先住民族である

Mazahuas 民族の DNA サンプルから B 型肝炎ウイルス遺伝子の検出に成功した。サンプル数が非常に少ないため、詳細な統計学的検討は困難であるが、25 サンプル中 5 サンプルにおいて陽性が確認されたのは、これまでの報告より非常に高い感染率であった。また、今回検出された HBV の遺伝子型がメキシコで多く検出されている Genotype F や Genotype H ではないことは大変興味深い。今後、検体数を増やして HBV の感染率や遺伝子型を解析することで、Mazahuas 民族におけるウイルス感染の実態を明らかにすることが可能と考えられる。

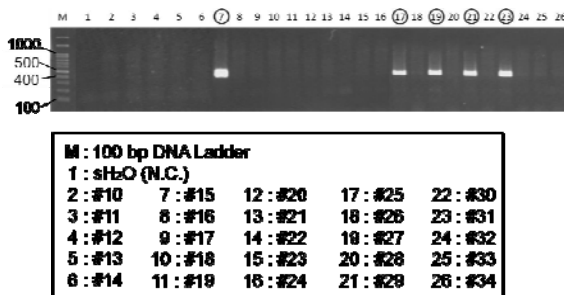


図 1. Mazahuas 民族検体からの HBV-DNA の検出

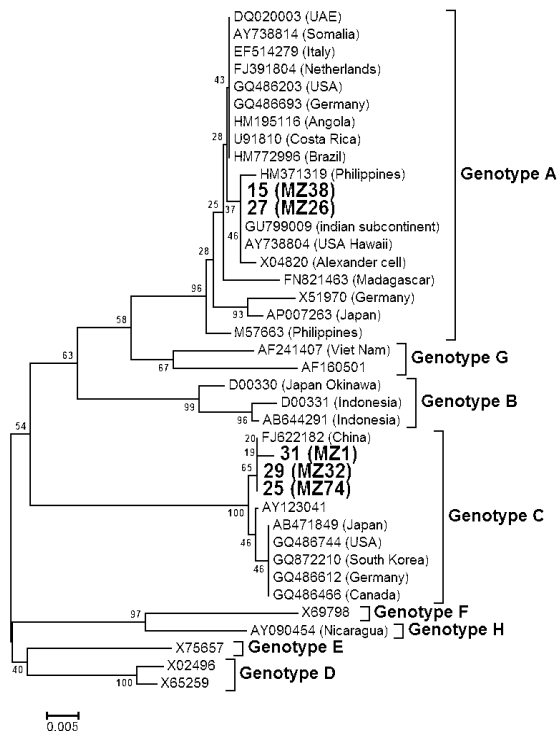


図 2. 系統発生解析を用いた遺伝子型の同定

2) 中米古代遺跡から出土した古人骨の DNA 分析

本研究成果の概要については、当報告書冒頭の「研究成果の概要」の項に記載した如くである。研究結果および考察に関する具体的な内容の詳細については、海外研究協力機関である、INAH（メキシコ歴史考古学研究機構）との間で、現在国際誌に投稿準備中の報告論文が公開されるまで他所での公表を控えるとの協約を結んでいるため、当報告書での記載については最小限に留めざるを得ない事情があることを申し添える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

1. S. Hara, H. Mizukami, K. Kurosaki, F. Kuriwa, T. Mukai: Existence of a threshold for hydroxyl radical generation independent of hypoxia in rat striatum during carbon monoxide poisoning. Arch Toxicol, 85: 1091-1099, 2011. 査読有

2. C. Hasegawa, T. Kumazawa, S. Uchigasaki, X-P. Lee, K. Sato, M. Terada, K. Kurosaki: Determination of dextromethorphan in human plasma using pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. Anal Bioanal Chem, 401: 2215-2223, 2011. 査読有

3. T. Hongo, N. Miyano-Kurosaki, K. Kurosaki, A. Hata, S. Harigae, A. Tomoda: 2-Aminophenoxazine-3-one prevents pulmonary metastasis of mouse B16 melanoma cells in mice. J Pharmacol Sci, 114: 63-68, 2010. 査読有

4. N. Miyano-Kurosaki, K. Ikegami, K. Kurosaki, T. Endo, H. Aoyagi, M. Hanami, J. Yasumoto, A. Tomoda: Anticancer effects of phenoxazine derivatives revealed by inhibition of cell growth and viability, dysregulation of cell cycle, and apoptosis induction in HTLV-1-positive leukemia cells. J Pharmacol Sci, 110: 87-97, 2009. 査読有

5. S. Hara, H. Mizukami, T. Mukai, K. Kurosaki, F. Kuriwa, T. Endo: Involvement of extracellular ascorbate and iron in hydroxyl radical generation in rat striatum in carbon monoxide poisoning. Toxicology, 264: 69-73, 2009.
査読有

〔学会発表〕(計1件)

1. 照沼脩、後藤才郎、黒崎久仁彦、植田信太郎、王瀝、Acuna Victor、杉山三郎、山下篤哉、黒崎直子: メキシコ先住民族におけるHBV感染および遺伝子型の分析。第34回日本分子生物学会年会。横浜、2011 12 14

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒崎 久仁彦 (KUROSAKI KUNIHICO)
東邦大学・医学部・教授
研究者番号: 60240701

(2) 研究分担者

黒崎 直子 (KUROSAKI NAOKO)
千葉工業大学・工学部・教授
研究者番号: 60337706

(3) 連携研究者

植田 信太郎 (UEDA SHINTARO)
東京大学・理学研究科・教授
研究者番号: 20143357