

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23570280

研究課題名(和文) 学際的研究で明らかにする関東地方縄文時代人の人類学的・考古学的実像

研究課題名(英文) interdisciplinary study of the Jomon skeletons excavated from the Kanto region of Japan

研究代表者

安達 登 (ADACHI, Noboru)

山梨大学・医学工学総合研究部・教授

研究者番号：60282125

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：東京都、千葉県、長野県から出土した縄文時代人骨合計23個体について、新規開発したミトコンドリアDNAの一塩基置換検出法を用いた解析をおこない、17個体の解析に成功した。観察されたハプログループの種類およびその出現頻度は北海道および東北縄文時代人に類似していたが、サブハプログループのレベルでは、従来検出されなかった遺伝子型も確認された。本研究の結果は、いわゆる「縄文人」を遺伝的に均一な集団として捉えることが難しいことを示唆しているものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Mitochondrial DNA of 23 Jomon skeletons excavated from Tokyo, Chiba, and Nagano were analyzed by using a newly developed single nucleotide polymorphisms analysis. Seventeen samples were successfully analyzed. Observed haplogroups and their frequencies were similar to those of Hokkaido and Tohoku Jomon people, however, some sub-haplogroups were exclusively observed in the samples analyzed in this study. Our results indicated that ancient Japanese in the Jomon era were not genetically homogeneous.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：人類学・自然人類学

キーワード：Jomon ancient DNA mitochondrial DNA haplogroup degraded DNA

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究で、研究代表者の安達は、多数の北海道・東北地方縄文時代人骨について、ミトコンドリア DNA (mtDNA) のコーディング領域と D-loop 領域の同時解析による詳細な系統分析をおこない、これらの集団はハプログループ (mtDNA の系統分類単位) N9b を中心とする極めて特徴的な遺伝子型の出現頻度を持つことを明らかにしてきた (Adachi et al. Am J Phys Anthropol 2011; Adachi et al. Am J Phys Anthropol 2009; 安達ら. DNA 多型 vol.17 2009 など)。このハプログループは現代人を対象とした大規模な調査でも日本列島およびその隣接地域でしかみつかっておらず、縄文時代人から現代人に受け継がれた遺伝子型である可能性が高い。これを証明するためには、北海道・東北地方以外の縄文時代人骨についても同様の解析を進めてゆく必要がある。

関東地方縄文時代人の遺伝的データは、これまで 4 つの遺跡から出土した 56 個体分が報告されていた。しかし、このうち 29 個体が茨城県中妻貝塚の、25 個体が千葉県下太田貝塚のものであり、2 つの遺跡に試料の大半が集中していた。縄文時代には遺跡内に濃厚な血縁関係が存在する可能性が高く、このデータに血縁関係による偏りが生じている可能性は否定できない。先に述べた研究代表者らによる研究により、北海道・東北と関東では縄文時代人集団にみられる遺伝子型およびその出現頻度が大きく異なることがわかっているが、これが上記のデータの偏向に起因する可能性は低いものと考えられた。

また、関東地方縄文時代人に関するこれまでの研究では、データが mtDNA の D-loop 領域の一部に限られ、系統分類上重要性が高いコーディング領域の情報を欠いているため、現在この分野で主流となっているハプログループ分析ができない個体も存在している。これらの状況を踏まえると、関東地方縄文時代人の遺伝的特徴を解明するためには、人骨の出土遺跡および個体数を増加させ、D-loop 領域のみならずコーディング領域も含む解析をおこなうことが是非とも必要であった。

2. 研究の目的

本研究では、多くの遺跡から出土した多数の関東地方縄文時代人骨から DNA を抽出し、PCR 法を用いて、まず mtDNA のコーディング領域と D-loop 領域の一部を増幅し、その塩基配列とハプログループを明らかにすることを目的とした。mtDNA 解析の結果、DNA の保存状態が特に良好と認められたサンプルについては、Y 染色体 DNA 等の核 DNA についても解析し、これらのデータをもとに、関東地方縄文時代人の各遺跡集団内および集団間の遺伝的近縁性を検討することを目指した。さらに、ミトコンドリアおよび Y 染色体 DNA の遺伝子型の出現頻度を、関東地方縄文時代人集団内に留まらず、北海道・東北地方

縄文時代人を初めとする日本各地の古人骨、アイヌ・琉球集団を含む現代日本人集団、世界各地の人類集団と比較することによって、関東地方縄文時代人の集団遺伝学的位置づけを明確にし、その上で、得られた遺伝学的データに骨格の形態情報による分析結果および考古学的所見を統合し、関東地方縄文時代人の人類学的・考古学的実像を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 試料および DNA 抽出

関東地方のみならず、長野県湯倉洞窟遺跡および栃原岩陰遺跡を含めた縄文時代人骨から DNA サンプルとして臼歯を採取し、DNA データの集積をおこなった。通常の DNA 研究ではそのまま歯全体を粉砕して DNA を抽出するが、今回の研究では、今後の形態学的な研究にも支障がでないように精巧な模型を作成した後、歯根先端を切り離して、そこから内部の歯髄 0.3 g 程度を採取した。その後、歯を歯槽に戻し、外見的にはサンプルを採取したことが分からないように復元した。上述の方法で採取した歯髄より DNA の抽出をおこなった。抽出の方法は、現在のところサンプルからもっとも効率よく DNA を回収し、更なる PCR 反応の阻害物質を排除できるとされているシリカマトリックスに DNA を吸着させる手法をベースに、市販の DNA 回収キットのプロトコールに独自の改良を加えた方法 (Adachi et al. Am J Phys Anthropol 2009) を用いた。

(2) DNA 解析

抽出した DNA をテンプレートとして、mtDNA の D-loop 領域における塩基配列多型を解析した。研究代表者らのこれまでの研究により、縄文時代人には、ハプログループ N9b や G1b など、D-loop 領域の解析のみではハプログループを正確に決定できない系統が高頻度で観察されることがわかっていた。そこで、ハプログループを特徴付けている mtDNA のコーディング領域の 1 塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphisms; SNPs) についても併せて解析した。D-loop 領域の塩基配列については、領域中特に多型性の高い、hypervariable segment (HVS) について、PCR・ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。解析した試料は北海道・東北縄文時代人に比べて形態的保存状態が不良な試料が多く、DNA の保存状態も不良であることが予想された。そのため、HVS を 5 分割し、PCR 産物の長さを 140 bp 以下に短縮した新しいプライマーセットを設計し、解析した (Adachi et al. Legal Med 2014)。

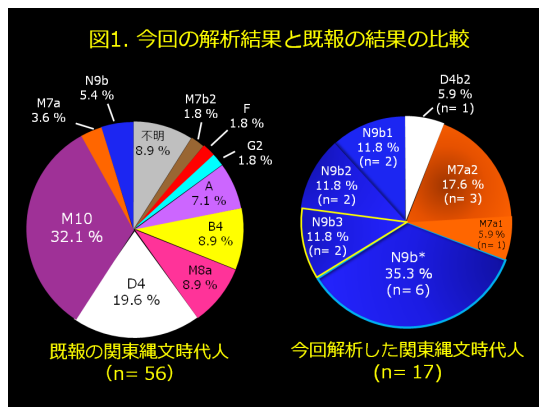
コーディング領域については、ハプログループ分類上特に有用な SNPs および 9 bp deletion / insertion の有無について、Amplified Product-Length Polymorphism (APLP) 法により検査した。先述の如く、試料中の DNA が劣化している可能性が高かったこ

とから、PCR産物の長さが110 bp以下になるように新設計した新たなプライマーセット(安達ら, DNA多型 Vol. 22, 2014)を用いて解析した。得られたHVSの塩基配列と、コーディング領域のSNPsの結果から、検査した人骨のmtDNAをハプログループに分類した。

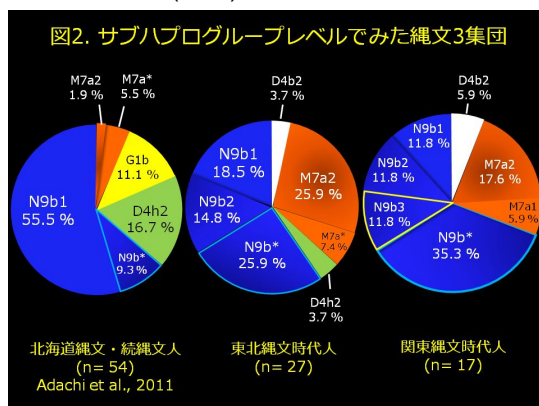
4. 研究成果

(1) 研究の主な成果

合計23個体について解析をおこない、17個体からデータを得た。これら17個体に観察されたハプログループは、N9b1が2個体、N9b2が2個体、N9b3が2個体、N9b*(N9bのサブハプログループのうち、N9b1, 2, 3のいずれにも分類できないもの)が6個体、M7a1が1個体、M7a2が3個体、D4b2が1個体であった。今回の研究で関東縄文時代人にみられたハプログループの種類とその出現頻度は、既報の関東地方縄文時代人とは大きく異なっていた(図1)。



今回の解析で関東縄文時代人にみられたハプログループの種類とその出現頻度は、全体としては北海道・東北縄文時代人のそれと類似していた(図2)。



しかし、サブハプログループレベルでみると、N9b3およびM7a1は、北海道・東北縄文時代人にはみられないものであった。また、N9bのサブハプログループをみると、N9b2およびN9b3の分布は日本列島に局限しており、しかも現代日本人には稀な遺伝子型である。さらに、縄文3集団を比較すると、サブハプログループの種類は北から南に向けて増加し、サブハプログループの中で最も祖先系に近いと考えられるN9b*の頻度も、北から南に

向けて増加していた。研究代表者らによるこれまでの研究から、ハプログループN9bの起源はユーラシア大陸北東部が有力視されていたが、本研究の成果から、このハプログループが日本列島にもたらされた経緯についてはより複雑なシナリオを想定する必要があるものと考えられた。

(2) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

北海道・東北縄文時代人で主体をなすハプログループN9bおよびM7aは、現代人においては日本列島およびその周辺地域でのみみられる遺伝子型である。興味深いことに、その分布範囲は縄文文化のそれとほぼ一致している。形態人類学的研究から、縄文時代人と類似した特徴を多く持つ現代人集団はアイヌのみであり、縄文時代人が世界的にみて非常に特徴的な集団であることが示唆されていた。今回の研究により、北海道・東北地方のみならず関東地方においてもハプログループN9bおよびM7aが主体をなす可能性が示され、形態人類学から示唆された縄文時代人の特異性が遺伝子レベルで裏付けられる結果となった。

また、既報の関東縄文時代人のデータとの違いは縄文時代人の遺伝的多様性を示している可能性が高い。つまり、従来「縄文人」として一括されてきた人類集団は、遺伝的に均一な集団と捉えることが難しいものと考えられる。「縄文人」というより、縄文時代の日本列島人=「縄文時代人」という呼称の方が、この人類集団の実体を正確に反映しているものと考えられた。

(3) 今後の展望

縄文時代の日本列島人=「縄文時代人」が遺伝的に多様な集団であることを証明するためには、西南日本の縄文時代人の遺伝的データを得ることが不可欠である。今後、西南日本の縄文時代人を同様の手法で解析することにより、上記の仮説の妥当性が確認されるものと考えられる。

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15件)

Adachi N, Umetsu K, Shojo H. 2014. Forensic strategy to ensure the quality of sequencing data of mitochondrial DNA in highly degraded samples. *Legal Medicine* (査読有) 16: 52-55.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.legalmed.2013.10.001>

Sawada J, Nara T, Fukui F-J, Dodo Y, Hirata K. 2014. Histomorphological species identification of tiny bone fragments from a Paleolithic site in the Northern Japanese Archipelago.

Journal of Archaeological Science (査読有)46: 270-280.
DOI:10.1016/j.jas.2014.03.025.
Tsutaya T, Nagaoka T, Sawada J, Hirata K, Yoneda M. 2014. Stable isotopic reconstructions of adult diets and infant feeding practices during urbanization of the city of Edo in 17th century Japan. American Journal of Physical Anthropology(査読有), 153: 559-569. DOI: 10.1002/ajpa.22454
Adachi N, Sawada J, Yoneda M, Kobayashi K, Itoh S. 2013. Mitochondrial DNA Analysis of the Human Skeleton of the Initial Jomon Phase Excavated at the Yugura Cave Site, Nagano, Japan. Anthropological Science(査読有) 121 (2): 137-143. DOI: 10.1537/ase.130313
Nakanishi H, Shoji H, Ohmori T, Hara M, Takada A, Adachi N, Saito K. 2013. Identification of feces by detection of *Bacteroides* genes. Forensic Science International: Genetics(査読有) 7 (1):176-179.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.09.006>
Nagaoka T, Sawada J, Hirata K. 2013. Demographic and pathological characteristics of the medieval Japanese: new evidence from human skeletons from Kamakura, Japan. Anthropological Science(査読有), 121: 203-216. DOI: 10.1537/ase.131010
Tsutaya T, Sawada J, Dodo Y, Mukai H, Yoneda M. 2013. Isotopic evidence of dietary variability in subadults at the Usu-moshiri site of the Epi-Jomon culture, Japan. Journal of Archaeological Science(査読有), 40: 3914-3925.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2013.05.015>
澤田純明. 2013. 微小骨片がヒトか動物かを識別する -骨のミクロ形態学的研究-. 考古学ジャーナル(査読無), 645: 25-29.
Sakaue K, 2013. Secular changes in craniofacial morphology during the Edo period of Japan. Bulletin of National Museum of Nature and Science(査読有), Series D,39: 9-18
安達 登, 藤山龍造. 2012. 古人骨のDNA解析. 考古学ジャーナル(査読無)633: 14-18.
Sawada J. 2012. Mammal remains from the Hoa Diem site. Showa Women's University Institute of International Culture Bulletin (査読無)17: 226-233.
Sakaue K. 2012. Craniofacial variations among the common people of

the Edo period. Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Series D (査読有)38: 39-49.
Shoji H, Sakaue K, Adachi N. 2011. Estimating the ambient temperature of the corpse by continuous measurement to improve estimation of the postmortem interval. The Research and Practice in Forensic Medicine(査読有), 54: 251-255.
Adachi N, Shinoda K, Umetsu K, Kitano T, Matsumura H, Fujiyama R, Sawada J, Tanaka M. 2011. Mitochondrial DNA analysis of Hokkaido Jomon skeletons: Remnants of archaic maternal lineages at the southwestern edge of former Beringia. American Journal of Physical Anthropology 146: 346-360. DOI: 10.1537/ase.130313
Sakaue K. 2011. Sex assessment from the talus and calcaneus in Japanese. Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Series D (査読有)37: 35-48.

[学会発表](計15件)

安達 登. ミトコンドリアDNAからみた北日本の人類集団. 公開シンポジウム・北の先達たち -人類学・考古学からみた東北・北海道-. 日本DNA多型学会第22回学術集会, 宮城県仙台市戦災復興記念館, 2013年11月20日(シンポジスト).

安達 登, 梅津和夫, 猩々英紀. 東アジア人集団のミトコンドリアDNA多型解析を目的とした新しいAPLPシステム. 日本DNA多型学会第22回学術集会, 宮城県仙台市戦災復興記念館, 2013年11月21日.

安達 登. ミトコンドリアDNAからみたアイヌの成立. シンポジウム・アイヌ民族文化形成過程の解明: 北からの視点. 第67回日本人類学会大会. 茨城県つくば市国立科学博物館筑波研究施設. 2013年11月3日(シンポジスト).

安達 登, 篠田謙一, 澤田純明, 坂上和弘. 関東地方縄文時代人のミトコンドリアDNA解析(第2報). 第67回日本人類学会大会, 茨城県つくば市国立科学博物館筑波研究施設, 2013年11月2日.

澤田純明・平田和明. 弥生時代人のエナメル質減形成. 第67回日本人類学会大会, 歯の分科会シンポジウム「歯の古人骨調査からわかる病気と衛生をめぐって」, 茨城県つくば市国立科学博物館筑波研究施設, 2013年11月4日(シンポジスト).

神澤秀明, Kirill Kryukov, Timothy Jinam, 植田信太郎, 佐宗亜衣子, 諏訪

元, 安達 登, 他4名. 古代日本列島人の核ゲノム解析. 第67回日本人類学会大会, 東京都台東区上野国立科学博物館, 2013年11月1日(2013年若手会員大会発表賞受賞).

安達 登. DNAからみた北東日本列島人の成立史. シンポジウム・日本列島における細石刃石器群の起源, 長野県佐久市浅間縄文ミュージアム, 2013年9月14日(シンポジスト).

Adachi N, Shinoda K, Umetsu K, Kondo O, Dodo Y. Ethnic derivation of the Hokkaido Ainu inferred from mitochondrial DNA data. Symposium: Bioarchaeology of northeast Asia in 78th meeting of the Society for American Archaeology. Honolulu, Hawaii, USA. April 5, 2013 (シンポジスト).

澤田純明・平田和明. エナメル質減形成から探る乳・幼児期の生活史. 第79回日本考古学協会総会, シンポジウムセッション「骨をよむ - 形態的痕跡から読み解く生活誌」, 東京都駒澤大学駒沢キャンパス, 2013年5月26日.

安達 登, 篠田謙一, 梅津和夫. DNAが明らかにするアイヌの成立史(第3報). 日本DNA多型学会第21回学術集会, 京都府京都市京都教育文化センター, 2012年11月8日.

安達 登, 篠田謙一, 澤田純明, 坂上和弘. 関東地方縄文時代人のミトコンドリアDNA解析. 第66回日本人類学会大会, 神奈川県横浜市慶應大学日吉キャンパス, 2012年11月4日.

Adachi N, Shinoda K. Remnants of archaic maternal lineages at the southwestern edge of former Beringia: Mitochondrial DNA analysis of Hokkaido Jomon skeletons. The Emergence and Diversity of Modern Human Behavior in Paleolithic Asia. Tokyo, Japan. November 29, 2011 (招待講演).

安達 登, 篠田謙一, 梅津和夫. 北海道縄文・続縄文時代人骨のミトコンドリアDNA多型解析(第3報). 日本DNA多型学会第20回学術集会, 神奈川県横浜市はまぎんホールヴィアマーレ, 2011年12月1日.

安達 登, 他4名. DNAが明らかにするアイヌの成立(第2報). 第65回日本人類学会大会. 沖縄県那覇市沖縄県立博物館, 2011年11月5日.

安達 登, 篠田謙一, 梅津和夫. サブハプログループレベルでみた東北地方縄文時代人のミトコンドリアDNA. 第95次日本法医学会総会, 福島県福島市コラッセふくしま, 2011年6月15日.

〔図書〕(計4件)

安達 登, 篠田謙一, 梅津和夫. DNAが明らかにするアイヌの成立史(第3報). DNA多型 vol.21: p.130-133, 日本DNA多型学会・玉木敬二編, 東洋書店, 2013年5月30日.

安達 登. 「エミシ」の遺伝子型を探る - 東北古代人のミトコンドリアDNA解析 -. 市民の考古学第12巻・骨考古学と蝦夷・隼人: p.95-104, 瀧川 渉編, 同成社, 2012年11月8日.

安達 登, 篠田謙一, 梅津和夫. 北海道縄文・続縄文人骨のミトコンドリアDNA多型解析(第3報). DNA多型 vol.20: p.211-215, 日本DNA多型学会・大澤資樹編, 東洋書店, 2012年5月25日.

安達 登. ミトコンドリアDNAからみた北日本の基層集団. 新しいアイヌ史の構築-先史編, 古代編, 中世編 -: pp.10-21, 加藤博文・鈴木健治編, 北海道大学アイヌ・先住民研究センター, 2012年3月31日.

〔その他〕

ホームページ

山梨大学医学部法医学講座

<http://www.med.yamanashi.ac.jp/social/egal0me/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安達 登 (ADACHI, Noboru)

山梨大学・医学工学総合研究部・教授

研究者番号: 60282125

(2) 研究分担者

坂上 和弘 (SAKAUE, Kazuhiro)

独立行政法人国立科学博物館・人類研究部・研究員

研究者番号: 70333789

澤田 純明 (SAWADA, Junmei)

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号: 10374943