

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2012～2016

課題番号：24405017

研究課題名(和文)伊達政宗の遣欧使節の末裔といわれるスペイン「ハボン」姓の人々のゲノムワイド解析

研究課題名(英文) Genome-wide DNA analysis on people with family name "Japan" in Spain who are presumed as descendants of a part of the delegation to Rope by Masamune Date

研究代表者

山本 敏充 (Yamamoto, Toshimichi)

名古屋大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50260592

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：スペインのコリア・デル・リオ市内及び周辺に住んでいる約800名の「ハボン」姓を名乗る人々のうち、DNA解析希望者男性50名、女性51名から血液試料を採取した。スペインでDNA抽出され、匿名化後、日本で、男性DNA試料について、Y染色体上のSTRsのハプロタイプ解析を行った。また、全てのDNA試料について、ジャポニカ・アレイと呼ばれる日本人に特化された約66万個のゲノムワイドなSNPs解析を行った。その結果、日本人に由来すると考えられるY-STRハプロタイプは観察されず、また、ゲノムワイドなSNP解析からも日本人に由来すると考えられる結果が得られなかった。今後、新しい手法による解析が期待される。

研究成果の概要(英文)：Among 800 people with family name indicated "Japan" in Spanish lived in Coria del Rio near Seville in Spain, 50 males and 51 females wishfully donated their blood with written informed consents to perform DNA analyses to confirm tips of Japanese traces on their genomes scientifically. DNA samples were extracted in by collaborators Spain, and all of the DNA analyses were performed in Japan. Unfortunately, the results of Y-STR (STRs on Y chromosome) haplotype analysis for male samples, all of the haplotypes were not similar to Japanese ones, but close to Spanish or other countries' ones. Genome-wide SNP analysis with the Japonica Array where almost all of about 660K SNPs were specific to Japanese genome also could not revealed any Japanese traces on their genomes by comparing with those data from 8 indigenous Japanese and in Tohoku Medical Mega Bank, and from Spain DNA Bank. In future, other newly improved and developed techniques or analyses would be successful to certify this matter.

研究分野：法医学

キーワード：ハボン姓 日本人 スペイン ゲノムワイド SNP解析 Yハプロタイプ

1. 研究開始当初の背景

(1) 歴史的背景

日本で初めて太平洋を船で横断して、ヨーロッパに渡った武士である支倉常長一行による慶長遣欧使節団に関する史実の一部が本研究の背景にある。すなわち、徳川家康により天下統一がなされた江戸時代初め、江戸末期まで継続した「鎖国」政策の以前に、将軍の命としてではなく、仙台藩の初代当主である伊達政宗が外交に目を向け、ローマの地へと使節を送ったという史実は歴史的に非常に重要である。この事実は、明治6年に岩倉具視を団長とする欧米使節団がベネチア古文書館を訪問した際に公然の事実となり、「日本の侍がヨーロッパに来ており、キリシタン大名ではない仙台藩伊達政宗の派遣ということで、岩倉を驚愕させた。この遣欧使節については、『支倉六右衛門常長 - 慶長遣欧使節を巡る学際的研究 - 』（大泉光一著：1999）によくまとめられており、使節一行の中に帰国してない者が数人いたのではないかと考えられている。この史実とは別に平成の世になって、スペインのセビリア地方でハポン姓を名乗る人々が、その奇異な名前の割に多数居住していることがわかり、マスコミにも取り上げられ話題になった。通常スペインでは、誰でも姓を父親由来の第1姓と母親由来の第2姓の2つを持つ。また、その姓に出身地をつける場合が多く、スペイン語で「ハポン」を意味する言葉は「日本」以外にありえない。1993年7月の時点で、832名、その中で、父姓は322名、母姓は500名、姓がハポン・ハポンとなる人は10名いることが分かっている。また、彼らの中には、自分たちが支倉一行の一部の子孫であると信じている人も多いといわれている。さらには、1660-70年代にかけて、キリスト教会の洗礼名にハポン姓が最初に見られることなどから、彼らが日本人の子孫である可能性が非常に高いと考えられる。そのような状況下で、2003年に、駐スペイン大使の呼びかけで、DNA解析を行う計画がなされたことがあった。しかし、その際には、「本物・偽物を区別し、摩擦を招くので実施しない」ということで実施されなかったようである。

(2) 科学的背景

科学的な解析方法の発展状況を見てみると、通常、このような血縁関係を調査するために利用されるのは、Y染色体上のマーカーである。現在では、Y染色体上の多数のマーカーを調べたハプログループにより、ヨーロッパ系タイプであるのか、あるいは東アジア系のタイプであるのかは明らかに区別可能である。つまり、この史実を考慮すると、ヨーロッパに最初に遺留した人は全て男性で、複数人いたと考えられるので、現在ハポン姓を名乗る男性のY染色体を調べればよいことになる。このようなハプログループを受け継いでいる人がいれば、まさにその人は男系の直系

の子孫であることが分かる。問題なのは、1つは数年前に中断した際の問題点である「本物・偽物」の区別である。その際に何を持って、本物・偽物を区別すると考えたのか真偽は分からないが、これについては公表の仕方では解決できる。今回の研究目的は各個人がその子孫であるかどうかを調べることが目的としていないので、調査した集団の中に、日本人の要素が含まれていたかどうかを公表することで検証すべき目的も克服できる。2つ目の問題は、約400年の間に男系が中断した場合の解析方法の対処の仕方である。この場合には、常染色体の90万個の一塩基多型(SNPs)や我々が本邦で今までに研究方法を確立したマイクロサテライト(STRs)多型を用いて統計的に解決可能である。最大の問題点は、より多くの関係者の同意を得ることである。このために、伊達家3代のDNA解析を通じて親交の深い伊達家18代当主伊達泰宗氏の研究協力が不可欠である。日本人の末裔であることを誇りに思っている人が多いハポン姓の人からすれば、その当時の当主の直系子孫による訪問・協力により、非常に信頼のおける学術研究であるという認識を得られるであろう。このように、現段階で本研究が状況的にも、方法論的にもよい結果を生ずることができる可能性が高い背景に裏打ちされていると考える。

2. 研究の目的

現在、スペインセビリア市近郊のコリア・デル・リオ町及びその周辺には、スペイン語で日本を意味する「ハポン」姓を名乗る人々が約800名住んでいる。彼らは、徳川家康により天下統一がなされた江戸時代初め、鎖国政策以前に、将軍の命としてではなく、仙台藩初代当主伊達政宗公の命によりローマ法王への派遣された支倉常長を団長とする使節一行の随行者の一部の末裔であるといわれており、その後の調査から非常に高い確率で事実であろうと考えられている。また、彼らの多くもそうであると信じていると言われている。

本研究では、学術的調査として、最新のY染色体のハプロタイプ解析や約66万個に及ぶゲノムワイドなSNPs解析・マイクロサテライト解析などの技術を導入し、科学的に現在の人々の中に、日本人に由来する遺伝的要素を受け継いでいるかどうかを、総括的なDNA解析により科学的に明らかにしようとするものである。つまり、この史実の痕跡を科学的に証明しようとする、新しい学際的分野、言うならば、「遺伝的史実実証学」あるいは「歴史的集団遺伝学」の先駆けとなる研究を目的として行うものである。

3. 研究の方法

当初、予定していたゲノムワイドなSNP解析よりも本研究に適した手法が研究期間内に新たに開発されたので、本報告書では、その

変更にあわせた最終的な試料採取及び解析方法を示す。

(1) スペインでの学術調査による試料収集

第1回(2012. 11/9-11/18)

セビリアで開催された15回日本・スペイン・シンポジウムに参加し、スペイン行政サイド及び在スペイン日本大使館との交流・情報交換を図り、また、ハボン協会を訪問し、研究協力の要請を行った。

また、現地協力者であるサンティアゴ・デ・コンポステーラ大学(USC)のアンジェラ・カラセド教授と今後の研究予定などの打合せ及び情報交換を行った。

第2回(2013. 2/12-2/22)

ハボン協会会長、アンダルシア国際大学学長及びコリア・デル・リア市長などを表敬訪問し、研究の説明及び協力要請を行い、同年10月ごろに伊達泰宗氏による講演及びその際に血液採取する説明を行い、会場提携・ハボンさんへの通知などの協力の約束を得た。

また、カラセド教授に現地で説明を行った。

第3回(2013. 6/11-6/18)

同年4月に研究協力を得たコリア・デル・リア市長の突然の失脚に伴い、新市長に次回表敬訪問することの伝達し、また、ハボン協会会長、アンダルシア国際大学学長などに研究の継続が適うよう、新市長への説明等を要請した。また、インディアス古文書館、ロレト教会などで、歴史的な資料による事実関係を確認した。

第4回(2013. 7/8-7/19)

コリア・デル・リア新市長を表敬訪問し、研究のための協力の継続を依頼し、旧市長との約束どおり、10月に予定通り、血液試料を採取できるよう協力する約束を得た。

第5回(2013. 10/15-11/1)

バルセロナのポンベウ・ファブラ大学でスペインのY染色体研究を行っている研究者と情報交換した。

アンダルシア国際大学学長、コリア・デル・リオ市長、ハボン協会会長を表敬訪問後、急遽講演の代行を依頼した第13代支倉常長家当主支倉常隆氏が講演し、それに集まったハボン姓の人々から、インフォームド・コンセント後、試料採取を行った。採取血液試料をUSCに運搬し、DNA抽出を依頼した。

第6回(2013. 12/2-12/6)

USCでハボン姓のDNA調整・受領し、日本に運搬した。

第7回(2015. 5/9-5/12)

ゲノムワイドなSNP解析を当初予定されていた解析からジャポニカ・アレイ解析へ変更したことに従い、アンダルシア州のDNAサンプルが必要になり、これら50サンプルを受領し、日本へ運搬した。

第8回(2016. 2/29-3/4)

現地研究協力者のUSCのカラセド教授からDNAの質がよくなかったアンダルシアの人々のDNA試料50サンプルを受領した。

以上の現地調査により、ハボン姓の人々から、血液試料約5mLずつ男性50サンプル、女性51サンプルを得た。これらをUSCのゲノム解析センターで抽出した。また、スペインのゲノムバンクからアンダルシア州の人々のDNA試料50サンプルを得た。これらのDNA試料を日本に運搬して、解析した。

(2) 仙台地方の先住性の高いDNA試料採取
伊達藩殉死者後裔会会長及び仙台藩志会理事加藤孝氏、並びに仙台藩志会理事桑折秀彦氏の協力の下、仙台地方に400年以上居住している家系の男性8名から血液を採取した。これら血液は、東北大学東北メディカル・バンク機構(ToMMo)ゲノム解析部門布施昇男教授らの協力の下、採取された。これらの血液試料から、通常のプロテナーゼKによるタンパク質分解後、フェノール抽出・エタノール沈殿法によりDNA試料が抽出された。

(3) バンク・データの利用

ToMMoに保存されているコホート研究用データの中から、祖父母が宮城県出身者のデータ86名分をSNP解析に使用した。

(4) Yハプロタイプ解析

ハボン男性DNA試料50サンプル、仙台の男性サンプル8サンプル及びアンダルシアのサンプルから男性のDNA試料21サンプルについて、AmpFISTR Yfilerキット(ライフ・テクノロジーズ社)を用いて、Y染色体上の17座位のSTRs(Y-STRs: DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385a/b, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, Y GATA H4, DYS437, DYS438, DYS448)をプロトコールに従って、PCR増幅した。PCR増幅産物をGenetic Analyzer 310でキャピラリー電気泳動し、GeneMapper ID v3.2ソフトウェアを用いて型判定した。

このうち、連続座位のDYS389II及び重複座位のDYS385a/bを除く14座位のハプロタイプについて、Network 5.0.0.1及びNetwork Publisher 2.1.1.2ソフトウェアを用いて、文献などの日本人のデータ(1166名)、文献のスペイン人のデータ(240名)及び文献のポルトガル人のデータ(250名)と合わせてネットワーク解析を行った。

(5) ゲノムワイドSNP解析

ハボン姓の人々男性50サンプル、女性51サンプル、アンダルシアの人々の50サンプル、及び先住性の高い日本人8サンプルのDNA試料を、東芝ヘルスケア社に委託して、日本人に特異性の高い約66万個のSNPsを解析できるジャポニカ・アレイ解析を行った。

これら得られたSNPデータと、ToMMoに保存されているコホート研究用データの中から、祖父母が宮城県出身者の86名のデータを合わせて、主成分分析、fineSTRUCTUREソフトウェアによるハプロタイプベースのクラス

タリング解析、ChromosomePainter 解析を行った。

4. 研究成果

(1) Yハプロタイプ解析

Y-STRs14 座位について、ハプロタイプ解析を行ったところ、図1の左下に示すネットワーク(日本人: オレンジ色の破線枠内)に含まれる八ポン姓の人々は観察されなかった。

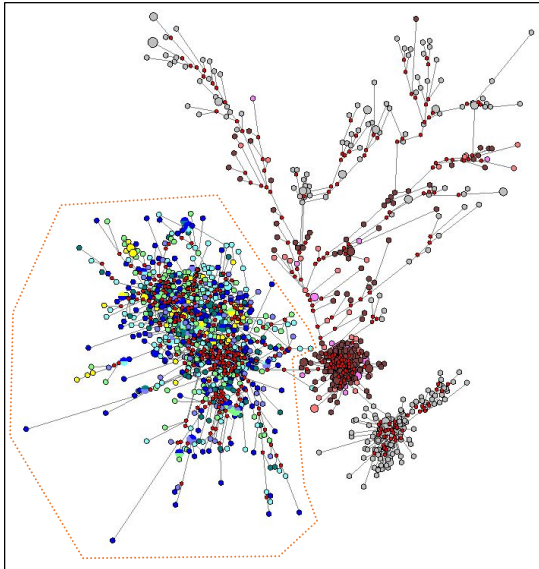


図1 . Yハプロタイプネットワーク解析結果

従って、八ポン姓の男性 50 名は、日本人に特有の Y 染色体を遺伝的に引き継いでいないと考えられた。

(2) ゲノムワイド SNP 解析

クオリティを満たさないサンプル及び近親サンプルを除いた八ポン姓の 41 サンプル、アンダルシアの 47 サンプル、仙台ボランティアの 8 サンプル及び ToMMo コホートサンプル 85 サンプルのデータを用いて、主成分分析による集団構造解析を行ったところ、図2に示すように、日本人のドット(左: 紫色破線枠内)とアンダルシアのドット(右: 緑色破線枠内)に大きく分かれ、八ポン姓のドットは、全て右側のアンダルシアに分布し、日本人に近いドットは観察されなかった。

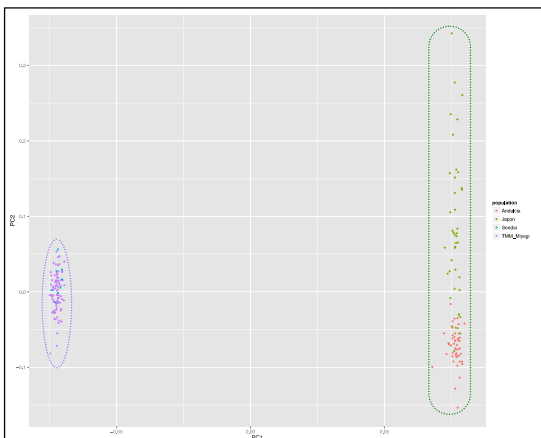


図2 . 主成分分析の結果

従って、八ポン姓の人の中に、遺伝的に日本人に近い構造を有している人はいないと考えられた。

次に、八ポン姓の 41 サンプル、アンダルシアの 47 サンプル、仙台の 8 サンプル、ToMMo コホートサンプル 85 サンプルのデータを用いて、ハプロタイプベースのクラスタリング解析(図3参照)を行ったところ、スペイン人(左上)と日本人(右下)は、全く異なるクラスターを形成した。また、八ポン姓の 33 サンプル(左最上)は、アンダルシアの集団(左中上)とやや異なるクラスターを形成していると考えられた。

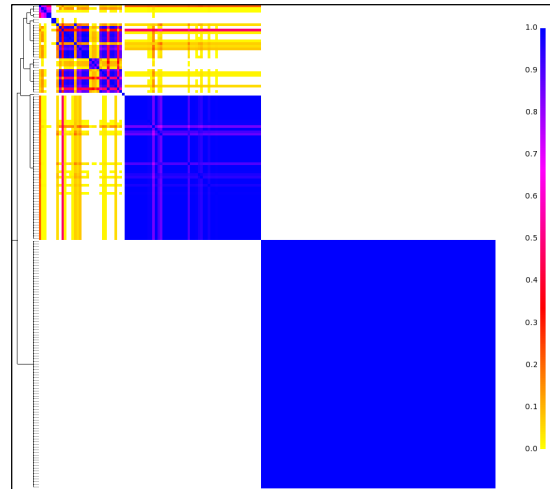


図3 . クラスタリング解析結果

従って、八ポン姓の人々には、日本人と同じハプロタイプを有していないので、遺伝的に日本人の痕跡を見つけることはできなかった。

同様に、ChromosomePainter 解析においても、日本人の痕跡を見つけることはできなかった。

(3) まとめ

以上の結果から、今回貴重な DNA 試料を提供して下さった八ポン姓 101 名の方々には、現在の技術・手法から科学的に日本人の遺伝的痕跡を証明することはできなかった。

(4) 現地報告会(2017. 3/20-3/27)

在スペイン日本大使館への表敬訪問・コリア・デル・リオ市長など表敬訪問した後、試料を提供した八ポン姓の人々に対する結果報告会を3月24日に開催し、上記研究成果について報告した。また、今回の研究では、遺伝的な日本人の痕跡は、科学的に積極的に証明されなかったが、今後より多くの予算を使用して、新しい科学手法・コンピュータ解析技術が開発されることにより、将来的に、証明される可能性が残されていることも合わせて説明した。

<引用文献>

Masaki Hashiyada, Kazuo Umetsu, Isao

Yuasa, Akiyoshi Tamura, Aya Matsusue, Koichi Suzuki, Seiichi Kashimura, Masato Funayama. Population genetics of 17 Y-chromosomal STR loci in Japanese. Forensic Sci. Int: Genet. 2 (2008) e69-e70.

Laura Valverde, Stephan Kohnemann, Melania Rosique, Sergio Cardoso, Maite Zarrabeitia, Heidi Pfeiffer, Marian M. de Pancorbo. 7 Y-STR haplotype data for a population sample of Residents in the Basque Country. Forensic Sci. Int.: Genet. 6 (2012) e109-e111.

Cintia Alves, Veronica Gomes, Maria Joao Prata, Antonio Amorim, Leonor Gusmao. Population data for Y-chromosome haplotypes defined by 17 STRs (AmpFISTR YFiler) in Portugal. Forensic Sci. Int. 171 (2007) 250-255.

河合 洋介 (KAWAI, Yosuke)

長崎 正朗 (FUSE, Nobuo)

アンジェエル・カラセド (CARRACEDO, Angel)

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0件)

現在、執筆中。

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

論文受理後、作成予定。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 敏充 (YAMAMOTO, Toshimichi)

名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：50260592

(2) 研究分担者

斎藤 成也 (SAITOU, Naruya)

国立遺伝学研究所・集団遺伝研究系・教授

研究者番号：30192587

(3) 連携研究者

徳永 勝士 (TOKUNAGA, Katsushi)

東京大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：40163977

(4) 研究協力者

布施 昇男 (FUSE, Nobuo)

長崎 正朗 (NAGASAKI, Masao)