

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月11日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07238

研究課題名(和文)ミトコンドリアDNAからみた古墳時代ハヤトの系譜

研究課題名(英文) Genetic lineage of the Hayato ---Kofun people in the southern Kyushu area---
inferred from ancient mitochondrial DNA

研究代表者

佐伯 和信 (SAIKI, Kazunobu)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・講師

研究者番号：80195966

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：骨格の形態的特徴が縄文人と多くの点で共通する南九州地域の古墳時代人(古代ハヤト)の遺伝的系統関係を明らかにするため、人骨のミトコンドリアDNAの解析を行い、ハプログループの頻度構成を導き出した。過去の分析例も加え、計16例のタイプを決定することができた。内訳はハプログループAが2例(12.5%)、Bが3例(18.8%)、D4が5例(31.3%)、Fが3例(18.8%)、N9bが1例(6.3%)、M7が1例(6.3%)、M8が1例(6.3%)であった。この結果はD4が多い点は現代日本人と共通しているが、縄文人に高頻度で出現するM7aやN9bもみられ、縄文人の遺伝的影響も残していると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は南九州古墳人のDNA解析に関する本格的な研究で、本古墳人の遺伝的系統関係を明らかにするために取り組んだ研究である。導き出した例数は当初の目標よりもかなり少なく、結論的なことを述べるには不十分だが、縄文人に高頻度で見られるハプログループも含まれており、形態学的に縄文人の特徴を多く残す南九州古墳人が遺伝的にも縄文人の要素を残していることが伺えた点は本古墳人の系統を考える上で参考になる結果だと考えている。

研究成果の概要(英文)：For the purpose of clarifying the genetic lineage of the Kofun period (ancient Hayato), whose skeletal morphological characteristics are common to Jomon in many respects, in the southern Kyushu area, mitochondrial DNA was analyzed from the remaining bone fragments. And the frequency composition of their haplogroup was derived. In addition to past analysis examples, a total of 16 haplogroup types could be determined. Breakdown is haplo group A 2 cases (12.5%), B 3 cases (18.8%), D4 5 cases (31.3%), F 3 cases (18.8%), N9b 1 case (6.3%), M7 was one case (6.3%) and M8 was one case (6.3%). This result is common to modern Japanese people in that D4 is abundant, but M7a and N9b that frequently appear in Jomon are also seen, and it is thought that the genetic influence of Jomon is also retained.

研究分野：自然人類学

キーワード：ミトコンドリアDNA 古墳人 ハヤト

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

南九州地域(特に宮崎県の山間部)から出土する古墳時代人骨は、この時代に既にハヤト(隼人)と呼ばれていた集団と考えられており、その骨格形態(頭蓋骨、推定身長値)が縄文時代人骨の特徴と共通していることから、外来要素(渡来系集団)の遺伝的影響をほとんど受けることなく縄文人形質が古墳時代まで継続されたものとみなされてきた。しかしながら、研究が進展すると、歯冠サイズや頭蓋形態小変異の分析において、縄文人と渡来系の弥生人の中間的特徴が示されたことや、渡来系弥生人並に顔が高い人骨が山間部から出土したことから、南九州古墳人の系統的な位置付けはやや不明確な状態が続いていた。その後、分部ら(2009)は、出土人骨も相当数増加していることもあり、多元的分析によって再度この地域の古墳人の地域的特性と系統関係を解明する必要があると考え、「南九州古墳人の地域性と系統関係の究明」をテーマとして、平野部も含めた本地域古墳人の頭蓋計測的形質、頭蓋形態小変異、歯冠形態、ミトコンドリアDNA(以下、mtDNA)の分析を進めてきた。従来よりも多量の人骨を調査、分析した結果、頭蓋計測的形質においては縄文的要素を強く留め、頭蓋形態小変異については縄文系と渡来系集団の中間的な形態を示し、歯冠形態についても両系集団の中間的な特徴を示すことが明らかとなった。mtDNAの分析については、解析されたシーケンスデータから推定されたmtDNAハプログループの頻度が縄文人との近縁性は示されなかった(佐伯、分部,2012)。しかしながら、mtDNAのハプログループの決定にはHVR1領域だけではなく特定のコーディング領域の解析が必要であり、この解析結果では不十分である。したがって、南九州古墳人の分子遺伝学的系譜を明らかにするためには精度の高い分析が要求されていた。

2. 研究の目的

本研究計画では南九州古墳人の系譜についてmtDNA解析の領域を中心として進展させるもので、次のことを目的として行われた。

- (1) 古墳人骨の骨サンプルからmtDNA解析を慎重に行い、1体でも多くの人骨からハプログループを決定し、これまでに報告されている縄文人骨、弥生人骨および現代人等のハプログループの頻度構成と比較する中で南九州古墳人の系譜を推察する。
- (2) 南九州古墳人に特徴的な地下式横穴墓の同一墓内に複数被葬されている人骨間の近縁関係をmtDNAのシーケンスタイプから検討する。
- (3) これまで研究、報告されている頭蓋、四肢骨、歯冠の形態学的分析によって導かれた南九州古墳人の系統関係とmtDNA解析によって導かれる分子遺伝学的系譜と比較・検討し、本古墳人集団の位置づけ、成り立ちを考察する。
- (4) また、本研究ではこれまでに発掘調査された古墳人骨の性別や年齢の確認・整理して、人骨形質の情報収集することも目的の一つとして遂行した。

3. 研究の方法

これまでの研究により、南九州古墳人骨に残存するDNAはかなり劣化が進行していると考えられるので人骨のサンプルは骨片の中でも緻密質が厚くしっかりしたものを選んで採取した。

(1) 人骨のmtDNA解析方法

A: DNA抽出

サンプル処理: サンプルとする骨片の表面を歯科用ドリルで削り、DNA除去剤で処理した後、紫外線を照射、粉碎機等を用いて粉末状の約0.5gのサンプルを得る。

脱灰および溶出: 粉末状になった試料を0.5M EDTAで脱灰処理(3-4days)後、Extraction bufferとProteinase Kでサンプルを溶出。

抽出: フェノール・クロロフォルム処理、クロロフォルム処理を施し、またDNA回収キットでDNAを精製。PCR用のテンプレートとした。

B: DNA解析 ...Single PCR

PCR: mtDNAのD-loop領域のHyper variable region 1(HVR1)の16011-16390とHVR2の57-354領域をそれぞれ100塩基対ずつ短く分けて増幅。古人骨のDNAは増幅が弱い場合が多いので、弱い場合は2段階PCRを試みた。DNA増幅が確認されれば塩基配列解析のためシーケンスを行った。(Beckman CEQ8000)

C: DNA解析 ...Multiplex PCR APLP法

Umetsu et al.(2005)の方法に準じて複数のプライマーを用いたMultiplex PCR APLP (Amplified product length polymorphism)法を実施。PCRサイクルの時間設定やサイクル数を古墳人骨用に微調整して行った。

(2) 人骨形質の情報収集

古墳人骨を中心に人骨の精査・情報収集を行う。その過程で、形態的に特筆すべきことは報告を行った。

4. 研究成果

(1) 南九州古墳人のmtDNA解析

南九州古墳人のmtDNAの研究は思いのほか困難で、最初のうちはコンタミネーションに悩まされ、それがほぼ無くなるとDNAが増幅しないという状況が続いた。2段階のPCRを行うことで少しずつ例数を増やしたが、最終的にこの期間中にハプログループを特定できた人骨は10例

のみであった。緻密質がしっかりした人骨 50 体を厳選して分析を進めたが、予想に反して成績は悪かった。今回明らかになった人骨の遺跡の場所を図 1 に、分析した結果を表 1 に示している。なお、研究当初の目標として、ハプログループの確定には、複数の骨片から分析して一致した物だけを採用するとしたが、DNA 増幅の例が少なく、この条件を満たす例がなかったので、一つの骨片からの分析でハプログループを決定した。



図1 分析した遺跡の場所

表1 ハプログループが決定した人骨リスト

解析人骨	性別	遺跡の場所	ハプログループ
灰塚 10-2	性別不明	宮崎県えびの市	B
大萩 1次3-2	男性	宮崎県小林市野尻町	F
大萩 1次5-2	性別不明	宮崎県小林市野尻町	D4
大萩 2次3-1	性別不明	宮崎県小林市野尻町	F
大萩 2次4-1	女性	宮崎県小林市野尻町	D4
大萩 2次5-1	男性	宮崎県小林市野尻町	A
大萩 37-4	女性	宮崎県小林市野尻町	N9b
旭台 3-2	男性	宮崎県高原町	A
旭台 7-2	女性	宮崎県高原町	M7
旭台 9-4	女性	宮崎県高原町	D4
旭台 10-1	性別不明	宮崎県高原町	B
旭台 11-2	性別不明	宮崎県高原町	B
旭台 11-5	性別不明	宮崎県高原町	D4
旭台 -A	男性	宮崎県高原町	F
旭台 -B	男性	宮崎県高原町	D4
横谷原村 61-1-2	男性	宮崎県都城市高崎町	M8

：本研究以前に解析されたもの。他は本研究で得た結果。

本研究以前にハプログループを決定できた人骨も併せると、ハプログループ A が 16 例中の 2 例 (12.5%)、B が 3 例 (18.8%)、D4 が 5 例 (31.3%)、F が 3 例 (18.8%)、N9b が 1 例 (6.3%)、M7 が 1 例 (6.3%)、M8 が 1 例 (6.3%) であった。この結果をもとに現代人と関東縄文人のハプログループの頻度を比較してみた (図 2)。南九州古墳人の例数が少なく頻度の偏りは否めないが、この結果から考えられることを述べると、まず、現代日本人に最も多くみられる D4 が南九州古墳人でも最も多く、頻度も近い。関東縄文人はかなり少なく、この点では現代日本人に似ている。一方でハプログループ B、F は南九州古墳人はやや頻度が高く、現代日本人とは異なり関東縄文人に似た傾向を示していると言える。

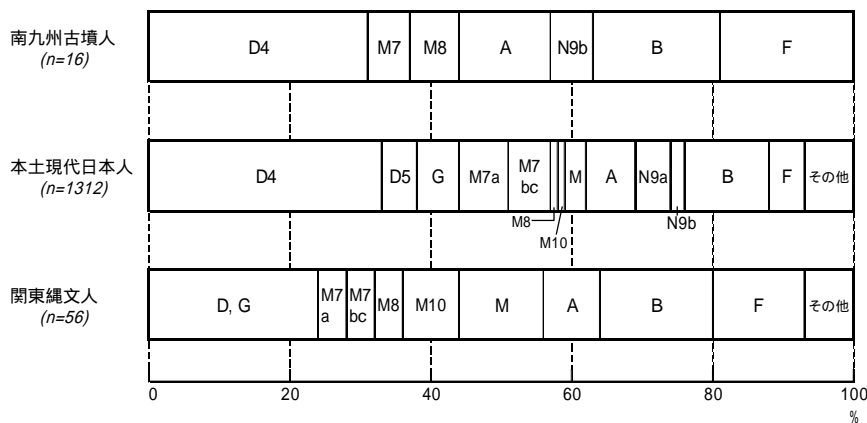


図2 南九州古墳人、本土現代日本人、関東縄文人のハプログループ頻度の比較

本土現代日本人はTanaka ら(2004)から、関東縄文人は篠田(2007)から引用

系統のことを考えると、縄文人は南の方ではハプログループ M7a が多く、東北や北海道の縄文人は N9b の頻度が多いとされており、今回の調査で 1 例ずつ見られたことは南九州古墳人も縄文人の系統を引き継いでいる証と捉えてよいのではないかと思います。しかし、一方で現代人に最も多い D4 の頻度が現代人に近いという結果は、D4 が渡来人によって遺伝的にもたらされたグループということを見ると、南九州古墳人にも渡来系の人々の遺伝的交流がかなりあったことを想像させる。

研究当初の背景でも述べているように、南九州古墳人は人骨の計測的な形質では縄文人の特徴を色濃く残しているものの、歯の形態や非計測的な形質では縄文人と渡来系弥生人の中間的な特徴を示している。今回のミトコンドリア DNA の解析結果は、例数としては 16 例と不十分だが、これらの結果から南九州古墳人の遺伝的特徴について推察すると、「渡来系弥生人の遺伝的影響を受けつつも縄文人の遺伝的要素も少なからず残している」ということになろうか。

地下式横穴墓の同一墓内の人骨の関係については、調査の対象となる人骨が唯一、旭台 11 号

墳の2号と5号人骨であるが、異なるシーケンス結果、ハプログループを示し両者に関係性は認められなかった。

また、人骨整理・情報収集の過程で、沖の原弥生人骨にみられた鉄鏃の腰椎穿刺例と木の上古墳の病変例について研究報告を行った。

<引用文献>

Umetsu K, Tanaka M, Yuasa I, Adachi N, Miyoshi A, Kashimura S, Park KS, Wei YH, Watanabe G, Osawa M. Multiplex amplified product-length polymorphism analysis of 36 mitochondrial single-nucleotide polymorphisms for haplogrouping of East Asia populations, *Electrophoresis* 26, 91-98, 2005

篠田謙一.『日本人になった先祖たち DNA から解明するその多元的構造』、NHK ブックス、2007

Tanaka M, et al. Mitochondrial genome variation in eastern Asia and the peopling of Japan. *Genome Reserch* 14, 1832-1850, 2004

分部哲秋：南九州古墳人の地域性と系統関係の究明、科学研究費補助金データベース 2008年度研究成果報告書、2009

(<http://kaken.nii.ac.jp/pdf/2009/seika/jsp-1/17301/18570221seika.pdf>)

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Tsurumoto T, Wakebe T, Ogami-Takamura K, Okamoto K, Tashiro K, Saiki K: An Ancient Skeleton with Multiple Osteoblastic Bone Lesions Containing a Scapular Sunburst Appearance from a 5th-6th Century Grave Excavated in Oita, Japan. *Biomed Res Int.* 2018 Sep6; doi:10.1155/2018/1659510. 査読有

〔学会発表〕(計 3 件)

Wakebe T, Saiki K, Takamura K, Tashiro K, Naito Y, Tsurumoto T. A case of a stone spear embedded in the second lumber vertebral body --Okinoharu Yayoi ruins, Amakusa, Japan--. 第2回日本古病理学研究会, 2017

米田穰、山崎孔平、松下孝幸、分部哲秋、弦本敏行、石田肇. 同位体分析による土井が浜弥生人の食性復元と弥生時代における食生態の多様性. 第70回日本人類学会大会, 2016

太田博樹, 覚張隆史, ライアン・シュミット, 勝村啓史, 松前ひろみ, 埴原恒彦, 小川元之, 柴田弘紀, 佐伯和信, 分部哲秋, 弦本敏行, 佐藤丈寛, 木村亮介, 石田肇. 古代ゲノムシーケエンシングのための技術改良. 第69回日本人類学会大会, 2015

〔図書〕(計 1 件)

Wakebe T, Saiki K, Takamura K, Tashiro K, Naito Y, Tsurumoto T. A case of a stone spear embedded in the second lumber vertebral body --Okinoharu Yayoi ruins, Amakusa, Japan--. *Papan-Korea Paleopathology Forum (Second Annual Conference of the Japanese Society of Paleopathology)*; pp.9, 2017

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：分部 哲秋

ローマ字氏名：(WAKEBE, Tetsuaki)

所属研究機関名：長崎大学

部局名：医歯薬学総合研究科 (医学系)

職名：客員研究員

研究者番号 (8桁): 50124847

(2)研究協力者

研究協力者氏名：弦本 敏行

ローマ字氏名：(TSURUMOTO, Toshiyuki)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。