

令和元年6月12日現在

機関番号：82617

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18631

研究課題名(和文)古代ゲノム分析による関東古墳時代人の親族関係と遺伝的構造の解明

研究課題名(英文) Analysis of the kinship and genetic structure of Kanto Kofun people using ancient genome sequence data

研究代表者

神澤 秀明(Kanzawa-Kiriyama, Hideaki)

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：80734912

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では羽根沢台遺跡および磯間遺跡から出土した古墳時代人骨のミトコンドリアゲノム分析と核ゲノム分析を行った。核ゲノムを用いた世界中の現代・古代人と比較した結果、現代の本土日本人ともっとも遺伝的に近く、縄文人由来の遺伝要素が検出されたことから、古墳時代人は両者の混血によって成立していると結論付けた。また、ゲノムデータから古墳時代の埋葬墓内の血縁推定を行い、同一埋葬墓内の人骨は親族関係にあることが明らかとなった。今度の古墳時代の埋葬様式を明らかにする上で重要な情報である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、初めて古墳時代人骨のミトコンドリアゲノム・核ゲノム分析に成功し、弥生時代以降の長い遺伝的空白を埋めるデータを取得した。それにより、縄文時代から古墳時代にかけて列島内で縄文系統と渡来系系統がどのように混血したのか、その遺伝的変遷をたどる上で重要な結果である。また本研究は、日本の古代人において、文献資料の無い個体同士の血縁関係が明確に判定された初の例となる。血縁推定は、過去の埋葬形態については当時の社会構造を理解する上で重要な指標である。今回、2つの埋葬墓について親族構造を構築し、同一埋葬墓に埋葬された個体間は親族関係にあることが直接的に示された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed mitochondrial and nuclear genome sequences of human remains of Kofun era excavated from Hanesawadai site (Tokyo) and Isoma site (Wakayama). Comparison of the genomes with that of world wide populations suggested that Kofun people were genetically closest to modern mainland Japanese. The observation of Jomon component in these Kofun people suggests that indigenous Jomon people and Yayoi immigrants were already admixed at those sites. We also estimated kinship, and we found that the people who buried at same burial were close relatives. Information of the kinship is important to clarify the form of burial during Kofun period.

研究分野：分子人類学

キーワード：血縁推定 古墳時代人 古代ゲノム 羽根沢台遺跡 磯間遺跡 埋葬原理

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

1. 研究開始当初の背景

日本における古人骨を対象とした DNA 研究は、1989 年に埼玉県浦和市で発掘された縄文時代人骨の DNA を宝来聡が分析したのが始まりである。古代 DNA 研究は、従来の現代人を対象とした DNA 研究と異なり、系統と古代から現代に至る集団の成立について直接的な証拠を提供することから、現生人類の起源と拡散や日本列島人の起源について多くの研究が行われている。

古人骨の DNA は極微量であることから、従来の手法では細胞内に数百から数千の鋳型を持つミトコンドリア DNA を分析対象とした研究が行われてきた (Adachi et al., 2009, 2011)。しかしながら、ミトコンドリア DNA は組換えがないことからひとつの遺伝子型が分析対象であることや、遺伝情報が母系のみであるなど、方法論的な限界があった。一方、2006 年に次世代シーケンサ (Next Generation Sequencer: NGS) が登場したことで、古代人のゲノムからもデータを取得することが可能となった (Green et al., 2010; Rasmussen et al., 2010, 他)。これにより、ゲノムの膨大な情報に基づいた古代人の系統と成立に関する議論が可能となっている。日本列島についても、我々が 2012 年に、縄文時代後期人骨から核ゲノムの部分配列を得ることに成功し、縄文人の遺伝要素が現代の本土日本人に 10~20% 程度受け継がれていることを明らかにした (Kanzawa-Kiriyama et al., 2017)。2019 年には、北海道礼文島の船泊遺跡から出土した縄文時代後期人骨の核ゲノムを高精度で決定し、アイヌと沖縄本島の集団のゲノムのそれぞれ 7 割、3 割程度が縄文人に由来することを明らかにした (Kanzawa-Kiriyama et al., 2019)。この縄文人の遺伝要素がどのように受け継がれたのかを説明する説として、混血説がある。これは、日本列島に居住していた縄文人と、大陸から流入した渡来人が徐々に混血していくことで、現代の本土日本人が成立したというシナリオである。そのため、混血が始まった弥生時代以降にどのようにして混血が日本列島で進んでいったのかを明らかにすることは、日本列島人の成立過程を考える上で重要である。

2. 研究の目的

弥生時代から古墳時代にかけては、農耕の拡散から古代国家の成立前までの時期に相当し、現代の日本列島人の遺伝構成を形成するまでの重要な時期でもありと考えられる。しかしながら研究開始当初は、縄文人と江戸時代人の核ゲノム配列は明らかにされていたが、その間の重要な時代の核ゲノム情報が欠落していた。そのため、縄文時代末から現代に至るまでの遺伝的変遷を、時間軸に沿って捉えることができない。また、我々は 2014 年以降の縄文人のミトコンドリアゲノムを対象とした研究によって、縄文時代の日本列島にも遺伝的な地域差が存在し、現代日本人に伝わっている縄文人の遺伝要素の多くは西日本縄文人に由来する可能性を示している。この仮説を検証し、地域軸に沿った混血のプロセスを明らかにするためには、この空白の時代の人骨のミトコンドリアゲノム分析も必要不可欠である。

また、ミトコンドリアゲノムと核ゲノムが取得されることで、従来の人骨形態に依存していた埋葬人骨同士の血縁関係も、高い精度で推定することが可能となる。古墳時代の埋葬墓の親族構造については、これまでも考古学・文献史学・自然人類学から複数のモデルが提唱されてきた (例えば、田中, 1985)。この親族構造モデルは古墳時代の埋葬原理を解明し、地位の継承方法や親族構造の実態を考察する上で基本となる情報である。しかしながら、これまでのところ、各分野のモデルには大きな乖離があり、その後の考察にも統一した見解は得られていない。本研究で、古墳時代の埋葬墓内の血縁関係を明らかにすることで、高い精度で直接的証拠を提供することを目的とする。

3. 研究の方法

空白の時代から DNA データを得るために、我々は東京都三鷹市の羽根沢台遺跡と和歌山県田辺市の磯間遺跡から出土した古墳時代人骨に着目した。日本の土壌の性質上、DNA 分析に適した保存状態の良い古墳時代人骨はあまり見られない。しかし、これらの遺跡から出土した人骨の保存状態は良好であり、特に篠田ら (2014) が羽根沢台遺跡の人骨のミトコンドリア DNA を対象とした先行研究で、分析した成人個体全てから結果を得ている。本研究ではこれらの古墳時代人骨のミトコンドリアゲノムおよび核ゲノムを分析した。

試料の大白歯から、これまで我々がミトコンドリア DNA を解析する際に用いた方法を使って DNA を抽出し (Kakuda et al., 2016)、次世代シーケンサでの分析のためのライブラリ作成を行った。作成したライブラリに含まれるヒト由来の DNA の比率は極めて低いことから、Maricic et al. (2010) によるミトコンドリアゲノムの濃縮および MYbaits WGE for Human (Microarray, USA) によるヒトゲノム濃縮を行った。濃縮後の DNA の配列決定は、ミトコンドリアゲノムについては国立科学博物館が所有する NGS の MiSeq (Illumina 社) でおこない、核ゲノムについては北海道システムサイエンス社 (北海道) が所有する NGS の HiSeq2500 (Illumina 社) でおこなった。取得した配列データは、国立遺伝学研究所のスーパーコンピューターを用いてヒトリファレンス配列へのマッピングとフィルタリングをおこない、ヒト DNA 配列を取得した。MapDamage ソフトウェアを用いて、取得した配列が古代人に由来するかを確認したのち、ミトコンドリアゲノムについては、篠田ら (2017) の手法で全配列とハプロタイプの決定を行った。核ゲノムについては、既知の一塩基多型 (SNP) データと重複するサイトのデータを抽出して、これまで報告されている世界中の現代人・古代人とのゲノム比較を行

った。比較方法は、主成分分析法による個体間の比較や、F-statistics による集団との比較を行った。また、F4-ratio test, TreeMix ソフトウェアを用いた混血率の推定もおこなった。さらに、埋葬個体間の親族関係を推定するために、READ software (Khun et al., 2018) を用いた血縁推定を行った。

4. 研究成果

・NGS による分析で得られたリードの信頼性について

分析した個体全てから、ミトコンドリアゲノムにマップされたリードが多く得られた。得られたリードが古代人に由来するかを調べるために、C/T, G/A の置換率およびリード長を調べた結果、リードの末端に高い置換率 (図 1 A) と 100 bp 以下でのリード長のピークが検出され (図 1 B), 古代 DNA の特徴が観察された。これらの結果から、抽出された DNA は分析した個体が本来持っていたものであると判断した。DNA の汚染率も低頻度であったことから、核ゲノム分析に適した試料であることが確認された。

・NGS 分析より決定されたミトコンドリア DNA ハプロタイプ

分析した羽根沢台遺跡 6 体、磯間遺跡 2 体の全てからミトコンドリアゲノムのほぼ全配列を決定した。これまではミトコンドリア DNA の部分配列に基づいていたが、全配列解析によって、個体特異

的変異を検出することで、より確度の高い血縁推定を行うことができるようになった。MTK9B, 9C および MTK12A, 12C はそれぞれミトコンドリアゲノムの全配列が一致したことから、母系系統で血縁関係にあることが示された (表 1)。磯間遺跡の分析した 2 個体については、同一石棺墓から出土しているが、母系系統での血縁は認められなかった。

羽根沢台遺跡で検出されたハプログループは西日本縄文人の系統を示す M7a1 と渡来系集団の系統を示す D4 (D4b2, D4j3, D4a2a) が検出された。これらの結果は、関東の古墳時代人は遺伝的に渡来系集団と西日本縄文人の混血によって形成された集団の系統であることを示している。

・性別の判定と Y 染色体ハプログループ

得られたミトコンドリア DNA のリード数から、核 DNA の保存状態も間接的に推定することが可能である。羽根沢台遺跡からは 9A, 9C, 12A, 12B、磯間遺跡は両個体から核ゲノム分析を行い、いずれの個体からも統計解析が可能なデータを取得した。始めに性染色体にマップされたリード数から性別判定を行った。結果は、形態学的情報に基づく性別と一致し、さらに、Y 染色体のハプロ

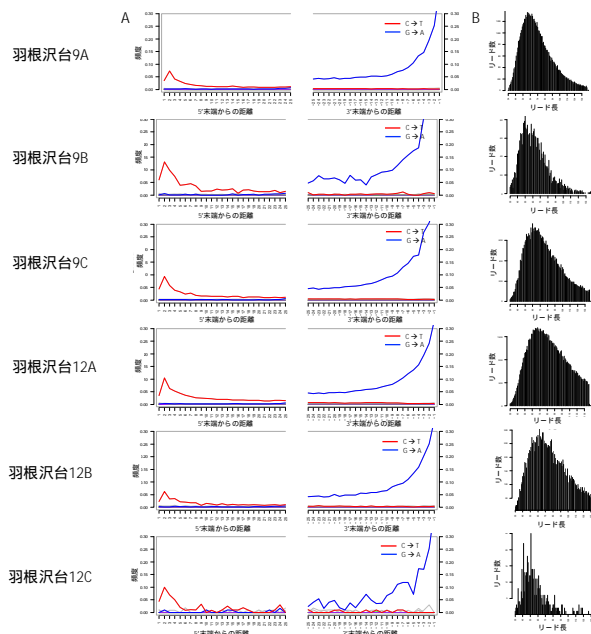


図 1. 羽根沢台のミトコンドリア DNA のリード
A. リード末端の C/T, G/A の置換率
B. DNA 断片のリード長

表 1. 羽根沢台のミトコンドリア DNA および Y 染色体ハプログループ

Sample	Sex	Molp	Mt haplogroup	Y haplogroup
MTK9A	Male		D4b2a2a	D1b2a
MTK9B	Male		M7a1a	
MTK9C	Male		M7a1a	D
MTK12A	Male		D4j3	O
MTK12B	Male		D4a2a	O
MTK12C	Female		D4j3	

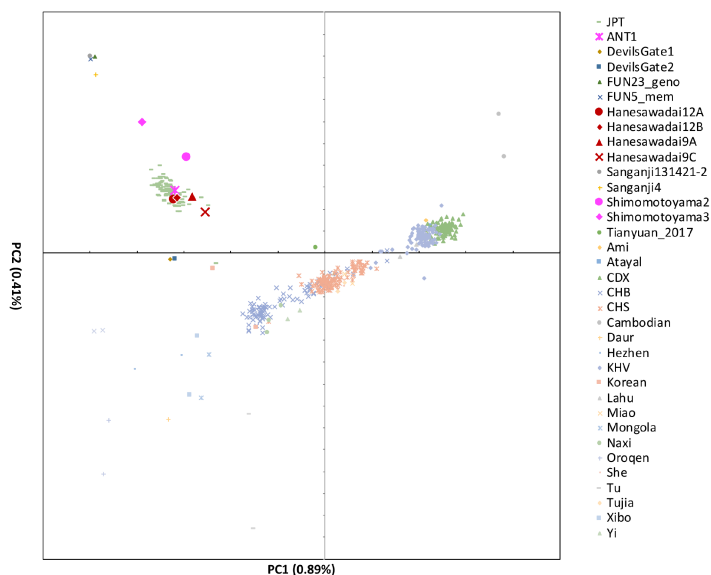


図 2. 主成分分析の結果。核ゲノム分析した羽根沢台遺跡 5 体のうち、データの十分な 4 体を含む。

グループの決定にも成功した。その結果、MTK9A, 9C および MTK12A, 12B は同一のハプログループに属することが明らかとなったことから、男系系統で血縁関係にあることが示唆された。

・集団の比較

今回分析した東京都三鷹市の羽根沢台遺跡は、混血が始まった九州北部や中国地方から地理的に離れているため、縄文人由来の遺伝要素が以前として

高い頻度で保持されている可能性が期待される。事実、ミトコンドリアゲノム分析では、縄文系の M7a と渡来系の D4a の両系統が混在している。また、磯間遺跡では、池田（1998）が形態学的手法から、他の古墳時代人骨と比べて縄文人的要素が強いことを指摘している。これらの点について、取得した核ゲノムデータをもとに詳細な分析を試みた。

その結果、羽根沢台遺跡の分析個体はいずれも、現代の本土日本人と最も近接し、縄文人とは大きく離れた（図 2）。このことは、現代の本土日本人が持つ遺伝組成はおおよそ古墳時代の関東地方では成立していたことを示している。その一方で、磯間遺跡 2 体は現代の本土日本人と比べて縄文人の遺伝要素が有意に高いことが明らかとなった。これは、形態学的手法による推定結果と一致する。

次に、個体間の違いを明らかとするために、F4-statistics による比較を行った。その結果、西北九州の下本山弥生人（篠田，2019）や北部九州の安徳台弥生人（データ未発表）は現代日本人よりも統計的に有意に縄文人に遺伝的に近いことが示されたが、羽根沢台古墳人 4 体はいずれもそのような傾向は認められなかった。その一方で、同じ古墳時代人骨である磯間遺跡 2 体は、現代日本人と比べて縄文人の遺伝要素が有意に多いことが明らかとなった。これは、古墳時代の本州島では、地域によって縄文人の遺伝要素の残存度合いに差異があることを示している。

・核ゲノムからの血縁推定

ゲノムデータの得られた羽根沢台古墳人 4 体について、他の古代人を含めた総当たりによる比較を行い、血縁関係を分析した。推定の結果、MTK9A と 9C, 12A と 12B, 12A と 12C の間で一親等の血縁関係にあることが示された（図 3）。12A と 12C の間にそのような血縁関係は検出されなかった。これらの結果とミトコンドリア DNA・Y 染色体ハプログループの結果と総合的に解釈することで、上記の親族構造を構築した（図 4）。これにより、同一埋葬墓に埋葬された個体間は親族関係にあることが直接的に示された。

まとめ

本研究によって、初めて古墳時代人骨のミトコンドリアゲノム・核ゲノム分析に成功し、弥生時代以降の長い遺伝的空白を埋めるデータを取得した。我々の最近の研究によって、弥生時代の西北九州弥生人は、以前として縄文人の要素が現代本土日本人と比べて多く残されていることを報告している（篠田ら，2019）。今回の羽根沢台遺跡・磯間遺跡の古墳時代人のゲノム分析の結果は、縄文時代から古墳時代にかけて列島内で縄文系統と渡来系系統がどのように混血したのか、その遺伝的変遷をたどる上で重要な結果である。両系統の混血は北部九州から始まったと考えられるが、その混血の影響が少なくとも古墳時代の関東まで達していたことは、在地の縄文系集団が農耕という文化の需要したわけではなく、西日本からの混血集団の拡散によってもたらされたことを示している。これは、羽根沢台古墳人には西日本縄文人に典型的なミトコンドリア DNA ハプログループ M7a1 が検出されたことと一致する。その一方で、Y 染色体のハプログループ D1a2 はこれまでのところ北海道縄文人に認められる系統であり、現代本土日本人ではあまり見られない。この差異の要因は今後、詳細な系統解析によって検討する必要がある。

日本の古代人において、文献資料の無い個体同士の血縁関係が明確に判定された例はこの研究

表 2 . F4-statisticsによる縄文人との遺伝的親和性の比較

Mbuti	FUN23_mem Japanese	Shimomotoyama	0.003908	14.457	281174	0.000270
Mbuti	FUN23_mem Japanese	ANT1	0.000588	3.041	1905159	0.000193
Mbuti	FUN23_mem Japanese	Hanesawadai9A	0.000478	2.535	1727610	0.000189
Mbuti	FUN23_mem Japanese	Hanesawadai12A	0.000303	1.295	683229	0.000234
Mbuti	FUN23_mem Japanese	Hanesawadai12B	0.000117	0.541	712130	0.000216
Mbuti	FUN23_mem Japanese	Hanesawadai9C	-0.000444	-0.861	48205	0.000515

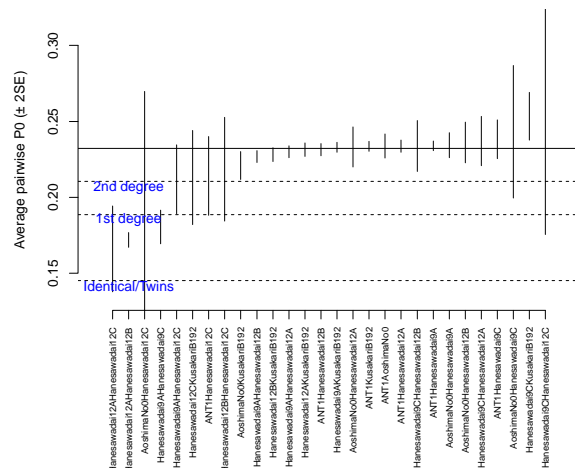


図 3 . 血縁推定の結果 .

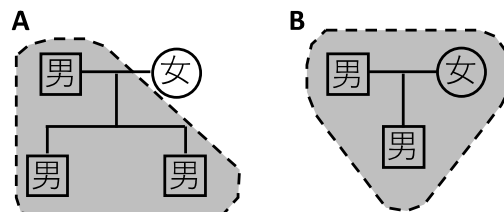


図 4 . 羽根沢台古墳人で復元された、埋葬墓内の親族構造。A. 9号墓, B. 12号墓。

が初めてとなる。これまで自然人類学からは、形態学的手法によって血縁推定が試みられて来たが（田中，1985；清家，2010）、その精度にはノイズを含み、且つキョウダイと親子の近いを判別できなかったことから、この手法で構築された親族モデルへの批判は多かった（松村・西本，1996；関口，2004）。一方で、遺伝学的手法によってこれまで ABO 式血液型（水野，1982）や STR (short tandem repeat) (Kurosaki et al., 1993)、ミトコンドリア DNA (篠田，2014 他) をターゲットとした研究は行われている。これらの DNA 研究は、血縁の有無を精度よく調べられる点で極めて有効であるが、依然として分析成功率や精度の低さ、母系しかわからないなど、複数の課題があった。今回のミトコンドリアゲノム・核ゲノムを用いることで、これまでになり精度で血縁関係の推定に成功した意義は大きい。

一方で、古代ゲノムから構築された親族構造は、形態学的手法によるキョウダイモデル（清家，2010）や夫婦合奏を否定する文献史研究（関口，2004）と矛盾する。これらの検証には、今回の羽根沢台遺跡での結果は不十分である。今回の成果を受けて、我々は最近、古墳時代の埋葬システムが「夫婦・親子合葬」が基本的な構造であるという作業仮説を立てている。今後、分析する埋葬墓の数を増やすことで、この仮説の検証を進める計画である。

5．主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1 件)

神澤秀明，角田恒雄，安達登，篠田謙一．第 72 回日本人類学会大会．東京都三鷹市羽根沢台遺跡の古墳時代人骨のゲノム分析．2018.10.20.三島市民文化会館