

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07588

研究課題名(和文) 本土日本人の起源の解明：弥生時代人のゲノム分析

研究課題名(英文) Genome analysis of Yayoi people; its relevance for the origin of modern Japanese

研究代表者

水野 文月 (MIZUNO, Fuzuki)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：50735496

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：列島日本人の成立を考えるためには、弥生時代人(渡来系弥生人)とはどのような人たちであったのかを明らかにすること、特に、ゲノム情報からその遺伝的多様性を明らかにすることは不可欠である。しかし、これまで限定的な報告しかない。そこで本研究では、大陸から渡来した人たちが最初に移住したと考えられている北部九州ならびに山口西部地域の弥生時代の複数の遺跡から出土した渡来系弥生人(古人骨)のミトコンドリアゲノムならびに核ゲノムの分析をおこない、渡来系弥生人の遺伝的特徴を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現代日本人には多層性があり、その多層性は南方由来の在来系縄文人集団に渡来系弥生人集団が混合したためであると考えられている。弥生時代出土人骨は地域や時期によって異なる特徴があり、均質な集団ではなかったと考えられる。従って、大陸から渡来した人たちが最初に移住したと考えられている北部九州ならびに山口西部地域の渡来系弥生人の遺伝的背景を明らかにすることは、日本列島人の形成を考える上で意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：To disclose peopling in the Japanese archipelago, it is essential to understand genetic characteristics of the Yayoi people, from where they came, what kind of influence they contributed to the population structure of modern Japanese, especially from viewpoints of genomic diversity. However, there have been very limited number of reports on genetic information of the Yayoi people so far. In this project, we did determine complete nucleotide sequences of mitochondrial genome for several human remains excavated from Yayoi archeological sites in northern Kyushu and western Yamaguchi Prefecture. In addition, we have succeeded in obtaining their nuclear genome data with high depth of coverage (more than 30). These precious data can help to clarify what the Yayoi people were.

研究分野：自然人類学

キーワード：日本人の起源 弥生時代 古人骨DNA ミトコンドリアゲノム 核ゲノム SNP解析

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現代日本人には多層性があり、その多層性は南方由来の在来系縄文人集団に北方系の渡来系弥生人集団が混合したためであると考えられている。在来系縄文人と渡来系弥生人が対立したことを示す考古学的証拠は報告されておらず、北部九州で形成された弥生文化は縄文文化を取り込みながら、日本各地に広がったと推測されている。弥生時代出土人骨は地域や時期によって異なる特徴があり、均質な集団ではなかったと考えられる。従って、大陸から渡来した人たちが最初に移住したと考えられている北部九州ならびに山口西部地域の弥生時代人(渡来系弥生人)とはどのような人たちであったのかを明らかにすることは、日本列島人の形成を考える上で意義は大きい。近年の遺伝的研究、特に次世代シーケンサの登場によって、膨大なゲノム情報を用いた人類集団遺伝学的研究が可能となり、現代人類集団の解析は飛躍的に発展してきた。しかし、東アジアの遺跡から出土した古人骨に関しては、高温多湿に加えて酸性土壌中に埋まっていたことによって、わずかな例外を除いてDNAの保存は極めて悪い。このため、古人骨の遺伝的多様性に関するゲノム分析は、限定的な報告しかなかった。

2. 研究の目的

本研究では、大陸から渡来した人たちが最初に移住したと考えられている渡来系弥生人の遺伝的多様性を明らかにする。具体的には、北部九州ならびに山口西部地域の弥生時代の複数の遺跡から出土した渡来系弥生人(古人骨)のミトコンドリアゲノムならびに核ゲノムの塩基配列情報を最新のゲノム解析手法によって解読する。得られた塩基配列情報をもちいて、アジア各地の現代人類集団との類縁性を解析することで、渡来系弥生人の遺伝的背景を明らかにする。

3. 研究の方法

(1)「次世代シーケンサによるゲノム解析手法」を更に改良した実験方法で、古人骨のゲノム塩基配列を決定する

北部九州ならびに山口西部地域の複数の遺跡から出土した弥生時代の古人骨(既にサンプリング済)のゲノム塩基配列を、本研究代表者らが開発した“次世代シーケンサによるゲノム解析手法”を更に改良した最新の実験方法によって決定する。次世代シーケンサは大量の塩基配列情報を得ることができ、現生生物の全ゲノム配列決定や、既知のゲノムの再シーケンスには有用である。しかし、毛髪や爪といったケラチン質の試料、永久凍土や洞窟、石灰岩層などの極めて良好な環境で保存されてきた骨試料やミイラ試料を例外として、そのままでは古人骨からのゲノム分析へ応用することは難しい。なぜならば、大多数の古人骨では、抽出したDNAを現代人のDNAと同様に次世代シーケンサで読み取ると、その99.9%以上は骨に侵入した土壌菌等の外因性DNAの塩基配列情報になってしまうためである。解決策として“ターゲットエンリッチメント”と呼ばれる「目的とするDNAを特異的に濃縮する」方法が複数あるが、安定した実験結果を得ることは難しい。また、得られるヒト由来のDNAの塩基配列情報には重複が多く、重複のない“ユニークリード”の割合は低い。これは、シーケンスライブラリ調整とターゲットエンリッチメントの際に生じるバイアスによるものである。そこで、この問題を解決する方法として、抽出されたDNAの99.9%以上が土壌菌由来である古人骨DNAからでもミトコンドリアゲノム全塩基配列決定を可能にする実験手法を開発した(Kihana, Mizuno et al. 2013)。この方法を基に、核ゲノムを含めた更なる古人骨ゲノム配列情報を得る際に遭遇する問題を解決する。

(2)DNAの保存状態が悪く断片的な情報しか得られない場合には、配列情報処理を適用してゲノム塩基配列を得る

古人骨DNAの保存状態が悪い場合、細胞内に多数のコピーをもつミトコンドリアゲノムですら分析は困難であると推測される。ミトコンドリアゲノムは既知の配列数が多く、近縁な集団間の違いも検出可能であるが、得られる領域が虫食い状になると、短く限られた配列データしか比較解析ができなくなってしまう。その解決策として、欠けている領域を統計的に尤もらしい塩基で補完する配列情報処理をおこなう。複数種類のパネル(参照配列の集合体)を用いた情報処理によって、虫食い状のミトコンドリアゲノム配列を蓋然性のある塩基で補完し、全長の配列を得る。この方法で構築される配列情報は、その個体のみが特徴的に持つ塩基置換はレスキューできないが、配列データが断片的であった場合でもハプロタイプの推定を可能にする。

(3)得られた古人骨の配列データと既知のヒト配列データと合わせた統計数理解析

弥生人の遺伝的特徴を抽出するため、個体間の類縁性の解析として、得られた古人骨それぞれのミトコンドリアゲノム配列データを既知の現代人配列のデータと共に系統ネットワークを作成する。系統ネットワークは塩基サイトごとの変異が追跡可能で、各個体は系統ネットワーク上の節として表示されることから、弥生時代の遺跡から出土した古人骨の個体間の類縁性や、現代日本人を含む東アジアの様々な人々ならびに縄文時代人との関係性を調べることができる。さらに、ゲノムワイドな情報をもちいた解析として、核ゲノム由来のどのような一塩基多型(SNP)を指標とすれば、蓋然性の高い類縁関係が求め得るかを検証する。

4. 研究成果

分子人類学的解析から渡来系弥生時代人の遺伝的背景の解明を目指して、北部九州ならびに山

口西部地域の弥生時代の遺跡から出土した人骨を用いて、ミトコンドリアゲノムならびに核ゲノムの塩基配列を次世代シーケンサで決定した。ミトコンドリアゲノムに関しては、古人骨から抽出したDNAからライブラリを作成し、目的のDNAを選択的に抽出するターゲットエンリッチメントにより濃縮後、シーケンシングをおこなった結果、花浦遺跡ならびに土井ヶ浜遺跡から出土した古人骨5個体について、ミトコンドリアゲノムの99%以上をカバーする塩基配列を得た。特に、そのうちの3個体に関しては非常に高い蓋然性をもつ完全長配列を得ることに成功した。完全長配列を得られなかった古人骨に関しても、可能な限り長く、かつ蓋然性を有する配列データを得るために、配列情報処理(インピュテーション処理)の方法を開発した。研究代表者らが2017年に発表したアプローチである(Mizuno et al. 2017)。複数種類のパネル(参照配列の集合体)を用いることで、欠けている領域を統計的に尤もらしい塩基で補完する配列情報処理をおこない、虫食い状のミトコンドリアゲノム配列をより蓋然性のある塩基で補完することが可能となった。この方法で構築される配列情報は、その個体のみが特徴的に持つ塩基置換はレスキューできないが、配列データが断片的であった場合でもハプロタイプの推定を可能にするので、ハプロタイプレベルでの集団内多様性を求めることが可能となった。これにより、次世代シーケンサによって直接的にミトコンドリアゲノム全長が決定された個体だけでなく、残る個体に関してもそれらのハプロタイプを決定することに成功した。その結果、花浦遺跡ならびに土井ヶ浜遺跡だけでなく、他の北部九州ならびに山口西部地域の弥生時代の遺跡から出土した人骨について得られたハプロタイプは、弥生時代に相当する2500年前、2000年前の中国大陆から出土した古人骨と共通するものであることが判明した。

次に、土井ヶ浜遺跡出土人骨から抽出したDNAをもちいて、その核ゲノム情報を集中的に解析した。そして、ヒトゲノムの約30倍量となる土井ヶ浜人骨由来のDNA塩基配列データを得ることに成功した。現代人ゲノム参照配列へマッピングしたところ、土井ヶ浜弥生人骨の個々の塩基配列(リード配列)は各常染色体に偏りなくマッピングされ、さらに常染色体上にマップされたリード配列数の半数のリード配列がそれぞれXならびにX性染色体上にマッピングされた。このことは当該古人骨が男性であることを示し、古人骨の形態学的特徴から推定された性別判定結果と一致した。このアプローチを、より精緻におこなえるようにすることで、残存する骨試料からでは判定が困難なものに関してもゲノム情報から性別同定が可能になると期待される。また、常染色体にマッピングされたリードから、170万以上の一塩基多型(SNP)が得られた。このSNP数は分子系統に関する様々な数理解析に十分量の配列データであるが、どの古人骨に関しても同様なデータ量を得られるとは限らない。そこで、現代日本人集団と他の東アジア集団とを、主成分分析ならびに階層型クラスター分析で分離するために必要なSNP数を、実データを用いたシミュレーションによって求めた。その結果、99%以上の精度が得られる割合は、1000SNP数までは非常に低く、少なくとも3000SNP数以上が望ましいことが明らかとなった(論文査読中)。この結果は、今後の古人骨核ゲノム解析データを有効活用するための基盤となる。

以上、本研究によって、列島日本人の形成過程を論じていく上で不可欠である渡来系弥生人の遺伝的特徴を明らかにし、日本人の起源に近づく一歩となる成果が得られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Koji Ishiya, Fuzuki Mizuno, Li Wang, and Shintaroh Ueda	4. 巻 13
2. 論文標題 MitoIMP: A computational framework for imputation of missing data in low-coverage human mitochondrial genome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioinformatics and Biology Insights	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1177/1177932219873884	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kumagai M, Nishikawa D, Kawahara Y, Wakimoto H, Itoh R, Tabei N, Tanaka T, Itoh T.	4. 巻 26
2. 論文標題 TASUKE+: a web-based platform for exploring GWAS results and large-scale resequencing data	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 DNA Research	6. 最初と最後の頁 445-452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1093/dnares/dsz022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka N, Shenton M, Kawahara Y, Kumagai M, Sakai H, Kanamori H, Yonemaru J, Fukuoka S, Sugimoto K, Ishimoto M, Wu J, Eban K.	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 Whole-genome sequencing of the NARO World Rice Core Collection (WRC) as the basis for diversity and association studies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 pii: pcaa019
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1093/pcp/pcaa019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe Y, Naka I, Khor SS, Sawai H, Hitomi Y, Tokunaga K, Ohashi J	4. 巻 9
2. 論文標題 Analysis of whole Y-chromosome sequences reveals the Japanese population history in the Jomon period.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8556
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1038/s41598-019-44473-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 水野文月、五條堀淳	4. 巻 25
2. 論文標題 港川人のミトコンドリアDNA全塩基配列からわかること	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 学術の動向	6. 最初と最後の頁 38-41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大橋順、渡部裕介	4. 巻 73
2. 論文標題 現代人のゲノムデータから過去の人口変動を推定する：縄文人が経験した急激な人口減少	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 遺伝：生物の科学	6. 最初と最後の頁 424-428
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fuzuki Mizuno, Li Wang, Saburo Sugiyama, Kunihiro Kurosaki, Julio Granados, Celta Gomez-Trejo, Victor Acuna-Alonzo, and Shintaroh Ueda.	4. 巻 44
2. 論文標題 Characterization of complete mitochondrial genomes of indigenous Mayans in Mexico	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Annals of Human Biology	6. 最初と最後の頁 652 ~ 658
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/03014460.2017.1358393	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 植田信太郎、水野文月
2. 発表標題 ミトコンドリアDNAからみた居家以岩陰遺跡出土人骨の遺伝的系統
3. 学会等名 日本考古学協会第85回（2019年度）総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水野文月, 植田信太郎, 大橋順, 中伊津美, 王瀝, 林美千子, 長谷川智華, 山田孝, 黒崎久仁彦
2. 発表標題 帰属人類集団の推定に必要なSNP数: ある事件現場に遺留された血痕からの検討
3. 学会等名 第103次日本法医学会学術全国集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水野文月、五條堀淳
2. 発表標題 港川人骨のミトコンドリアDNA全塩基配列からわかること
3. 学会等名 日本学会議 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水野文月、植田信太郎
2. 発表標題 「DNAの記録」と「DNAの記憶」からみた日本列島人
3. 学会等名 第6回「古代史シンポジウム」IN しものせき (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水野文月、林美千子、石谷孔司、熊谷真彦、五條堀淳、王瀝、黒崎久仁彦、近藤修、馬場悠男、植田信太郎
2. 発表標題 沖縄島の旧石器時代人骨、港川1号の核ゲノム分析 (第1報)
3. 学会等名 第73回日本人類学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名	石谷孔司、水野文月、熊谷真彦、五條堀淳、林美千子、松下真実、松下孝幸、谷口康浩、近藤修、黒崎久仁彦、王瀝、植田信太郎
2. 発表標題	居家以岩陰遺跡（縄文早期）及び土井ヶ浜遺跡（弥生中期）出土人骨の核ゲノム解析（予報）
3. 学会等名	第73回日本人類学会大会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	熊谷真彦、水野文月、石谷孔司、五條堀淳、林美千子、松下真実、松下孝幸、谷口康浩、近藤修、黒崎久仁彦、王瀝、植田信太郎
2. 発表標題	居家以岩陰遺跡（縄文早期）及び土井ヶ浜遺跡（弥生中期）出土人骨のエピゲノム解析の試み
3. 学会等名	第73回日本人類学会大会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	渡部裕介、覚張隆史、中伊津美、Khor Seik Soon、澤井裕美、人見祐樹、西田奈央、徳永勝士、太田博樹、大橋順
2. 発表標題	古代縄文人ゲノムおよび現代日本人集団ゲノムに基づく縄文人のHLA型の推定
3. 学会等名	第28回日本組織適合性学会大会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Kumagai M, Nishikawa D, Kawahara Y, Wakimoto H, Itoh R, Tabei N, Tanaka T, Itoh T
2. 発表標題	TASUKE+: A Web-Based Platform for Large-Scale Resequencing Data and Exploring GWAS Results
3. 学会等名	International Plant & Animal Genome XXVIII (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名 熊谷真彦
2. 発表標題 メタゲノム解析の基礎
3. 学会等名 第214 回農林交流センターワークショップ「NGSデータ解析シンポジウム」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水野文月
2. 発表標題 ミトコンドリアゲノムから見た日本列島出土古人骨
3. 学会等名 第72回日本人類学会大会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水野文月、五條堀淳、石谷孔司、熊谷真彦、植田信太郎、松田文彦、日笠幸一郎、林美千子、長谷川智華、山田孝、黒崎 久仁彦
2. 発表標題 現代日本人におけるミトコンドリアゲノム系統の再構築
3. 学会等名 第27回日本DNA多型学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 植田信太郎、 水野文月
2. 発表標題 ミトコンドリアDNAからみた居家以岩陰遺跡出土人骨の遺伝的系統
3. 学会等名 日本考古学協会第85回(2019年度)総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水野文月、 五條堀淳
2. 発表標題 港川人骨のミトコンドリアDNA全塩基配列からわかること
3. 学会等名 わかりやすい日本学術会議公開シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 MIZUNO, F, HAYASHI, M, ISHIYA, K, MATSUSHITA, M, MATSUSHITA, T, KUROSAKI, K, WANG, L, UEDA, S.
2. 発表標題 MitoGenome analysis of Yayoi period human remains excavated in northern Kyusyu and western Yamaguchi
3. 学会等名 The 71st Annual Meeting of the Anthropological Society of Nippon
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Mizuno Fuzuki, Hayashi Michiko, Ueda Shintaroh, Wang Li, Hasegawa Chika, Yamada Takashi, Kuroasaki Kunihiro
2. 発表標題 Prospects for forensic DNA phenotyping using highly degraded DNA samples
3. 学会等名 24th Congress of the International Academy of Legal Medicine (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 熊谷真彦、庄田慎矢、水野文月、王瀝	4. 発行年 2019年
2. 出版社 クバプロ	5. 総ページ数 262
3. 書名 炭化米DNA分析から明らかになった古代東北アジアにおける栽培イネの遺伝的多様性	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大橋 順 (OHASHI Jun) (80301141)	東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・准教授 (12601)	
研究分担者	熊谷 真彦 (KUMAGAI Masahiko) (80738716)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・高度解析センター・研究員 (82111)	