

鹿児島県徳之島所在遺跡出土 人骨のミトコンドリアDNA分析

面縄第1貝塚・トマチン遺跡・下原洞穴遺跡

Mitochondrial DNA Analysis of Human Bones Excavated in
Tokunoshima Island, Kagoshima Pref. :
Omonawa No.1 Shell Midden, Tomachin Site and Shitabaru Cave Site
SHINODA Ken-ichi, KANZAWA Hideaki, KAKUDA Tsuneo,
ADACHI Noboru and TAKENAKA Masami

篠田謙一・神澤秀明・角田恒雄・安達 登・竹中正巳

I はじめに

鹿児島県徳之島は、奄美群島のはほぼ中央に位置する離島の1つであり、その位置から、人々の南方からの日本列島への流入経路と考えられるだけでなく、古来より沖縄本島と南九州をつなぐ交流の要所となっている。島内には縄文時代に遡る遺跡も存在し、人骨も出土している。したがってこの地域の縄文人のDNAは、古代人の移動ルートや交流がどの範囲で行われ、かつその実態がどのようなものであったのか、を知る鍵となると考えられる。

ヤポネシアゲノム古代ゲノム研究班は、これまで南西諸島における集団の成立のシナリオを明らかにするために、琉球列島や南九州における縄文人骨のDNA分析を進めてきた〔篠田ほか2020a・b, 神澤ほか2020〕。今回は、これまでの研究で得られたDNAデータを徳之島の縄文人のそれと比較することで、この地域の集団の移住や拡散の状況を明らかにすることを目的とした研究を進めることにした。

解析に用いたのは徳之島伊仙町の面縄第1貝塚とトマチン遺跡、そして天城町の下原洞穴遺跡から出土した人骨である。面縄貝塚は貝塚時代前1期（縄文時代早期～前期併行期）からグスク時代（中世併行期）にかけての複合遺跡だが、面縄第1貝塚では1982年に行われた発掘で石棺墓から保存が良好な人骨1体が出土している。その後、2007年～2015年にかけて行われた調査でも合計3体の人骨が出土している〔伊仙町教育委員会2016〕。

トマチン遺跡は1992年に最初の調査が行われ、その後2004年から2009年にかけて行われた発掘によって、石棺墓3基と土壙墓1基が発見され、石棺墓からは複数の人骨が出土している〔新里2013〕。遺跡が構築された時代は、共伴した遺物から貝塚時代前V期末（縄文時代晩期末～弥生時代前期併行期）とされている。

下原洞穴遺跡は徳之島天城町にある琉球石灰岩層の洞穴遺跡で、2016年度の調査で縄文時代晩期末（約2500年前）の爪形文土器や貝装飾品を伴った、1次葬骨とみられる男女2体を含む複数

表1 分析に用いた徳之島所在遺跡出土人骨

No.	遺跡名	サンプル名	採取部位	年齢・性別	APLP分析
1	面縄第1貝塚	C-5 トレンチ5層	右側頭骨	壮年男性	M
2	トマチン遺跡	2号	左側頭骨	熟年男性	M7a1
3	トマチン遺跡	3号	左側頭骨	壮年男性	M7a1
4	トマチン遺跡	4号	右側頭骨	壮年女性	M7a1
5	下原洞穴遺跡	第2 トレンチ人骨	下顎右第3大臼歯	性別不明	M7a1

の人骨が出土している。

これまでトマチン遺跡から出土した人骨2体についてはミトコンドリアDNAの予備的な研究が行われているが〔篠田2013〕、面縄第1貝塚と下原洞穴遺跡から出土した人骨に関してはDNAの分析は行われていない。近年では古人骨から抽出したDNAを次世代シーケンサ(Next Generation Sequencer; NGS)を用いて解析することが多くなっており、これまでの方法と比べて格段に詳細なDNAデータを得ることが可能になっている。そこで今回はこの新たな方法を用いて、3つの遺跡から出土した人骨の解析を行うことにした。

II 材料及び方法

分析に用いた人骨を表1に示す。面縄第1貝塚出土人骨1体、トマチン遺跡出土人骨3体、下原洞穴遺跡出土人骨1体の合計5体を用いた。DNA抽出部位としては、外部からの汚染を除去しやすく、かつDNAが多く残っていると考えられている臼歯と側頭骨をサンプリングの対象とした〔Woodward et al. 1994, Pinhasi et al. 2013〕。中でもDNAが多く含まれているとされる側頭骨を最初に選定し、側頭骨が使えない場合には、臼歯をサンプリングした。

今回の分析では、APLP分析(Amplified Product-Length Polymorphism method)〔Umetsu et al. 2005〕と次世代シーケンサ(NGS)を用いたミトコンドリアDNAの全塩基配列の決定を行った。DNA抽出、APLP分析およびNGSによるミトコンドリアDNAの分析は〔篠田ほか2020c〕に従って実施した。

III 結果

APLP分析の結果を図1,2に示す。APLP分析では面縄第1貝塚の1体(C-5 トレンチ5層人骨)を除いて、マクロハプログループMとNを分離するプライマーによる解析、ならびに細分APLP分析が可能だった。トマチン遺跡の3体と下原洞穴の1体はいずれも、マクロハプログループM、細分APLP分析ではハプログループM7a1に属することが判明した。

面縄第1貝塚とトマチン遺跡のサンプルについては、ライブラリを作成し、ミトコンドリアDNAの全塩基配列の決定を試みた。最初に得られたリードが古代人に由来するかを調べるために、リード長(各DNA断片の長さ)およびC/T、G/Aの置換率を調べた。その結果DNA断端の末端に古人骨特有の置換が観察された。また、リード長のピークは、いずれのライブラリにおいても100 bp以下であり、古代DNAの特徴が観察された。図3に得られたミトコンドリアDNAのリー

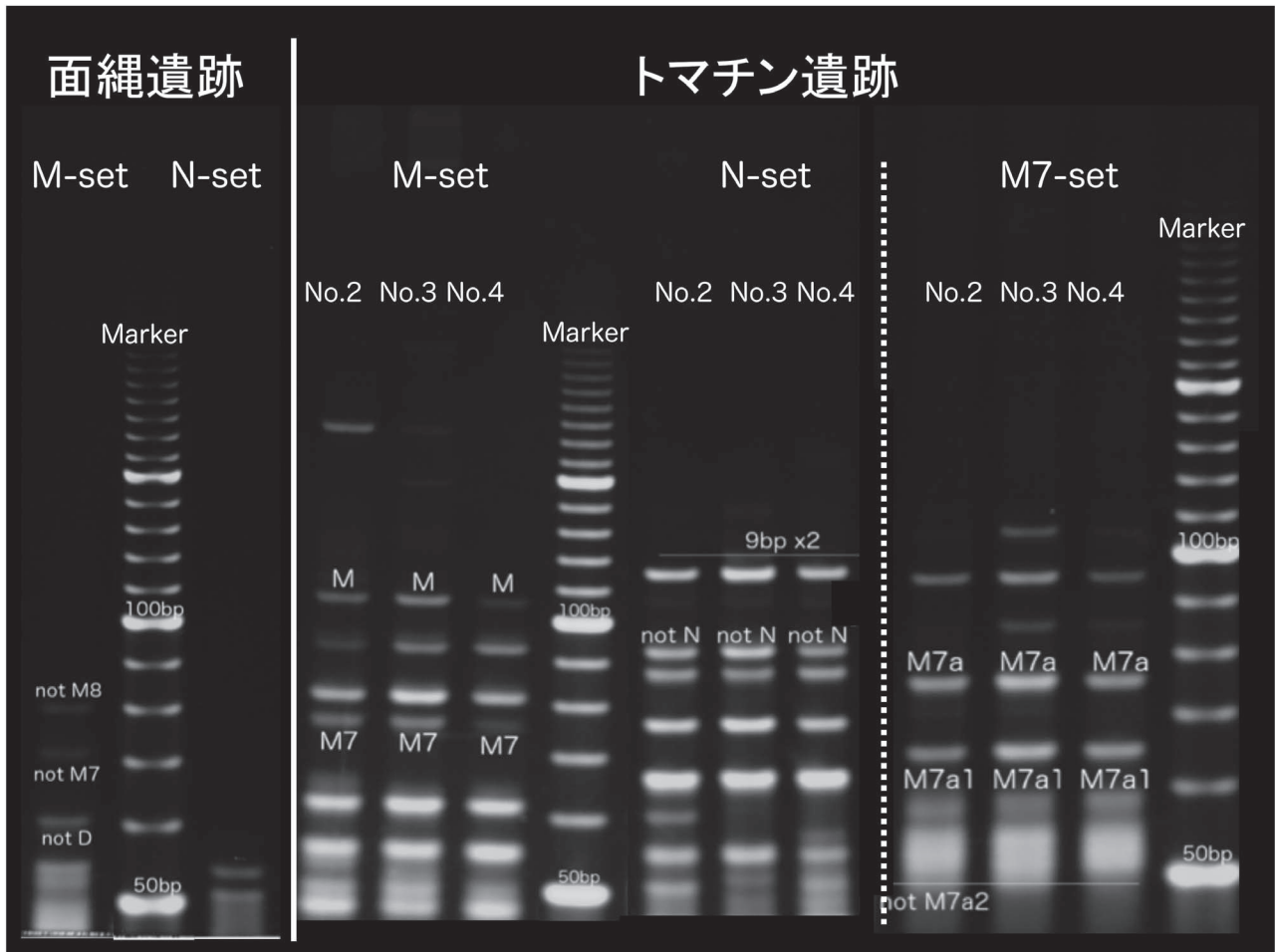


図1 面縄第1貝塚とトマチン遺跡の APLP 分析の結果

ド長を示す。面縄貝塚とトマチン遺跡のサンプルの双方とも 50～70 塩基程度のリードが多数を占めており、古人骨に由来する特徴を有していた。これらの結果から、面縄第1貝塚とトマチン遺跡のサンプルから抽出された DNA は、これらの個体が本来持っていたものであると判断した。

表2にあるように、APLP 分析でミトコンドリア DNA のマクロハプログループの決定しかできなかった面縄第1貝塚の1体 (C-5 トレンチ5層人骨) では、得られたリードが他に比べて極端に少なかった。これは抽出 DNA にミトコンドリアの DNA があまり残っていなかったことを示しており、それが APLP 分析での結果を曖昧なものにした原因であると考えられる。ただし、溶液に残る全ての DNA 断片を網羅的に分析できる NGS では、APLP 分析では対象とならないサンプルでも、ハプログループの推定が可能になる。分析の結果、面縄第1貝塚の C-5 トレンチ5層人骨の持つハプログループは M7a1a であることが判明した。このことは通常の PCR 反応をベースとした APLP 分析に比べて、回収した DNA 断片の全てを配列決定する NGS を用いた分析の方が、よりダメージの大きなサンプルからでも DNA データを抽出できることを示している。

NGS を用いた解析で、トマチン遺跡の3体 (2, 3, 4号) は、いずれも M7a1a であることが判

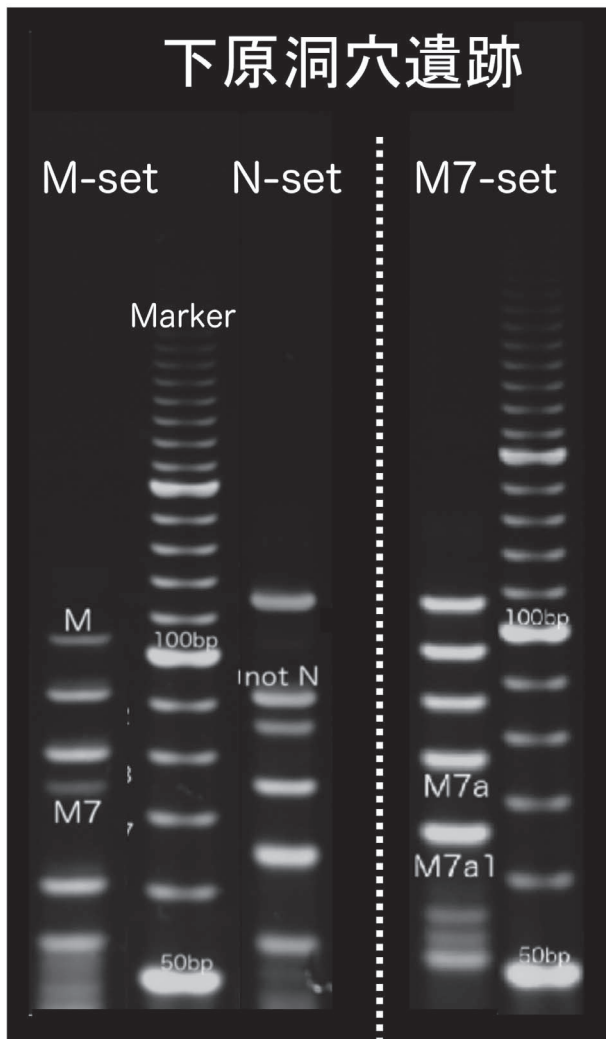


図2 下原洞穴遺跡の APLP 分析の結果

IV 考察

今回の徳之島の縄文遺跡から出土した人骨のミトコンドリア DNA 分析によって得られたハプログループは全て M7a1a 系統であることが判明した。これまでに我々が行った分析から、沖縄本島の貝塚前期の遺跡から出土した人骨のほとんどが、このハプログループを持っていることが分かっている [篠田ほか 2019]。また九州の縄文人や、縄文人の系統を引くと考えられている西北九州弥生人にも、ハプログループ M7a1a を持つものが存在するが [篠田ほか 2017]、予備的な研究では両者は同じハプログループでも異なる系統に属することが分かっており、これまでの報告では九州と南西諸島には共通する系統はない。

ミトコンドリア DNA の全配列が完全に読めているトマチン遺跡の 3 体について、他の M7a1a を持つ個体との系統解析を行った (図 4)。用いたのは DNA データベースに登録されている現代日本人と、我々がこれまでに分析を行った北部九州の縄文～弥生時代の人骨、および南西諸島の集団である。グラフから分かるように、トマチン遺跡の個体は二つの系統に分かれているが、それぞ

明した。これは事前の APLP 分析によるハプログループ判定と一致している。下原洞穴遺跡 2 号人骨も含めて、今回解析した 5 体全てが同じハプログループを持っていたことになる。

トマチン遺跡は同一の石棺に複数の人骨が埋葬されており、それぞれの血縁関係が問題になる。ミトコンドリア DNA は母系に遺伝するので、同一の配列を持つ個体同士は母系の血縁関係があることが推定される。しかし今回の全塩基配列を用いた系統解析からは、3 体の持つ DNA 配列は細部で異なっていた (表 3)。従ってこれらの間には母系の血縁関係はないことになる。ただし 2 号と 4 号は 1 塩基が異なるだけなので、非常に近い関係にあることも分かる。従来の方ではミトコンドリア DNA の一部領域のみを使った判定しかしていなかったため、これらの人骨間には「血縁がある可能性がある」といった判定が下されていたが、全塩基配列を決定することで、より正確な血縁の判定が可能になった。

表2 ミトコンドリアDNA分析の結果

分析個体番号	面縄 C5-5	トマチン 2 号	トマチン 3 号	トマチン 4 号	下原洞穴
総ペアリード数 (n)	234,218	518,113	896,660	601,197	204,106
ミトコンドリア DNA 由来のリード数 (n)	6,443	42,971	114,187	35,666	79,241
(%)	3.56%	8.70%	13.47%	6.79%	58.78%
重複リードの除去, mapq20 後のリード数 (n)	443	26,781	65,851	23,605	33,908
ハプログループ推定 (Haplogrep2.0)	H2a	M7a1a	M7a1a8	M7a1a	M7a1a
(Quality)	0.6156	0.9594	0.9797	0.9480	0.9558
ハプログループ推定 (1)	M7a1a	M7a1a*	M7a1a8	M7a1a*	M7a1a*
Schmutzi による汚染率推定 [min, max]		0 [0-0.005]	0.225 [0.210-0.240]	0 [0-0.015]	0 [0-0.015]
ハプログループ不一致 (%) [95% 信頼区間] (1)	0	1.27% [0.51-1.04]	0.46% [0.19-0.73]	0.55% [0.05-1.06]	0.12% [0-0.29]
ハプログループ	M7a1a	M7a1a*	M7a1a8	M7a1a*	M7a1a*

(1) [Kanzawa-Kiriyama et al. 2017] の手法。

表3 ミトコンドリアDNAハプロタイプ

個体番号	ハプログループ	個体特異的変異
面縄 C5-5	M7a1a	-
トマチン 2 号	M7a1a*	A2833G, G10373A, A15758G
トマチン 3 号	M7a1a8	A6872G, A12612G
トマチン 4 号	M7a1a*	A2833G, T9682C, G10373A, A15758G

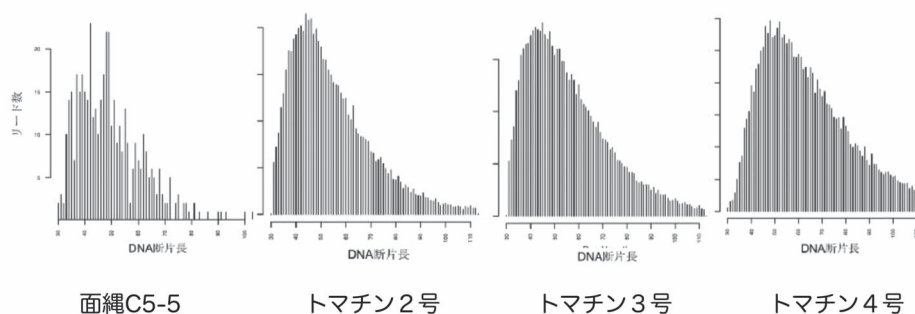


図3 回収された各塩基断片の長さ

れと同じ系統にはいずれも南西諸島から出土した人骨が含まれており、北部九州の集団とは別の系統に属している。このことから、徳之島の縄文時代相当期の集団は、基本的には南西諸島の集団の一部であったことが推察される。

M7a1aの系統樹から、北部九州集団と南西諸島の集団が分岐したのは、1万年ほど前(10,985 ± 1,442年)の縄文時代早期の始めの頃と計算される。ミトコンドリアDNAハプログループM7a1aの系統からは、この頃に南西諸島に九州から人々が到達し、その後独自の集団として、この地域に拡散していった姿が想像される。

我々は今回の解析と同時に、南九州の縄文人である出水貝塚出土人骨3体についても同様の分析を行っている[篠田ほか2021]。その結果はこの系統図中にも示したが、出水貝塚の3体は系統的にはトマチン遺跡出土個体とは異なり、北部九州と同じ系統に属している。九州と南西諸島の縄文人の間には、母系の系統に明確な違いがあることは、この地域の縄文人の成立を考える際に、重要な示唆を与える。今後は更に南九州の縄文人の個体数を増やして分析を行い、南西諸島縄文人の分布の時間的・空間的な広がりを明らかにして行く予定である。

謝辞

本研究は文部科学省科学研究費補助金の新学術領域(研究領域提案型)「古代人ゲノム配列解析にもとづくヤポネシア人進化の解明」(代表 篠田謙一, 課題番号18H05507)を用いて実行した。

参考文献

- 伊仙町教育委員会 2016:「面縄遺跡総括報告書」『伊仙町埋蔵文化財発掘調査報告書(16)』鹿児島県大島郡伊仙町教育委員会, 222p.
- Kanzawa-Kiriyama H., Kryukov K., Jinam T.A., Hosomichi K., Saso A., et al. 2017: A partial nuclear genome of the Jomons who lived 3000 years ago in Fukushima, Japan. *Journal of Human Genetics* 62: pp.213-221.
- 神澤秀明, 角田恒雄, 安達登, 篠田謙一 2020:「鹿児島県宝島大池遺跡 B 地点出土貝塚前期人骨のDNA分析」『国立歴史民俗博物館研究報告』第219集, pp.253 ~ 259.
- Pinhasi R., Fernandes D., Sirak K., Novak M., Connell S., et al. 2013: Optimal Ancient DNA Yields from the Inner Ear Part of the Human Petrous Bone. *PLoS ONE* 10(6): e0129102. doi:10.1371/journal.pone.0129102.
- 篠田謙一 2013: トマチン遺跡出土人骨のDNA分析, 新里貴之編『徳之島トマチン遺跡の研究』pp.163 ~ 168. 鹿児島大学埋蔵文化財調査センター.
- 篠田謙一, 神澤秀明, 角田恒雄, 安達登 2017:「佐世保市岩下洞窟および下本山岩陰遺跡出土人骨のミトコンドリアDNA分析」『Anthropological Science (Japanese Series)』125: pp.49 ~ 63.
- 篠田謙一・神澤秀明・安達登・角田恒雄・土肥直美 2019:「貝塚前期を中心とした人骨のDNA分析」『沖縄考古学会2019年度研究発表会資料集』pp.25 ~ 26.
- 篠田謙一・神澤秀明・角田恒雄・安達登・土肥直美 2020a:「沖縄県読谷村出土貝塚時代人骨のDNA分析—本綿原遺跡・大当原遺跡—」『国立歴史民俗博物館研究報告』第219集, pp.291 ~ 295.
- 篠田謙一・神澤秀明・角田恒雄・安達登・土肥直美 2020b:「沖縄県北谷町出土貝塚後期人骨のDNA分析—伊礼原D遺跡・平安山原A遺跡—」『国立歴史民俗博物館研究報告』第219集, pp.317 ~ 322.
- 篠田謙一・神澤秀明・角田恒雄・安達登 2020c:「鳥取県鳥取市青谷上寺地遺跡出土弥生後期人骨のDNA分析」『国立歴史民俗博物館研究報告』第219集, pp.159 ~ 172.
- 篠田謙一・神澤秀明・安達登・角田恒雄・竹中正巳 2021:「鹿児島県内出土縄文人骨のミトコンドリアDNA分析—出水貝塚・柘原遺跡—」『国立歴史民俗博物館研究報告』第228集, pp.403 ~ 409.
- 新里貴之 2013: 徳之島トマチン遺跡の研究. 鹿児島大学埋蔵文化財調査センター.
- Umetsu K., Tanaka M., Yuasa I., Adachi N., Miyoshi A., et al. 2005: Multiplex amplified product-length

polymorphism analysis of 36 mitochondrial single-nucleotide polymorphisms for haplogrouping of East Asian populations. *Electrophoresis* 26: pp.91-98.

Woodward, S.R., M.J. King, N.M. Chiu, M.J. Kuchar and C.W. Griggs. 1994: Amplification of ancient nuclear DNA from teeth and soft tissues. *PCR methods and Applications* 3: pp.244-247.

篠田謙一（国立科学博物館人類研究部）

神澤秀明（国立科学博物館人類研究部）

角田恒雄（山梨大学医学部法医学講座）

安達 登（山梨大学医学部法医学講座）

竹中正巳（鹿児島女子短期大学）

（2020年4月9日受付，2020年8月20日審査終了）

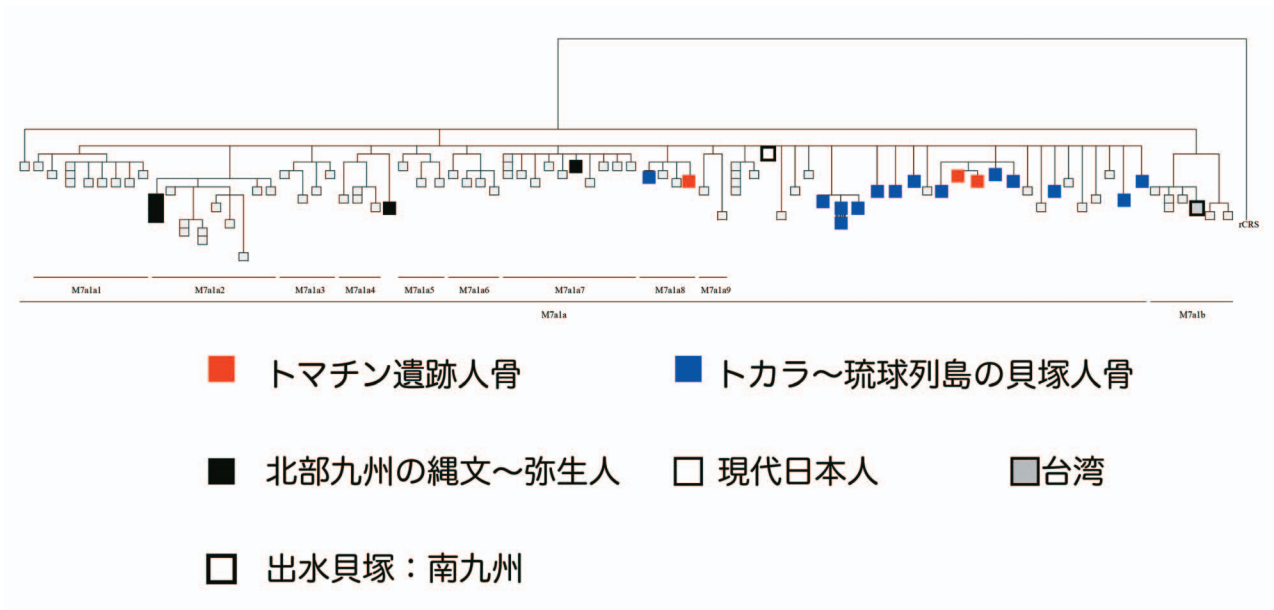


図4 ハプログループ M7ala の系統解析の結果