

熊本県宇城市大坪貝塚出土 弥生後期人骨の核ゲノム分析

Nuclear Genome Analysis of Human Skeletons Excavated from
Otubo Shell Mound in the End of Late Yayoi, Uki-city, Kumamoto Pref.
KANZAWA Hideaki, KAMEDA Yuichi, KAKUDA Tsuneo,
ADACHI Noboru and SHINODA Ken-ichi

神澤秀明・亀田勇一・角田恒雄・安達 登・篠田謙一

I. はじめに

日本人の成立に関しては、形態学的な研究から弥生時代に大陸から朝鮮半島経由で北部九州に渡来した大量の渡来人が在地の縄文系集団と混血して成立したという、いわゆる「二重構造説」が唱えられている [Hanihara 1991]。両系統の集団の混血は弥生時代から古墳時代にかけて急速に進行したと考えられる。弥生時代に最初に渡来人が進入した北部九州にはその状況を反映して渡来系弥生人、西北九州には在来の縄文人の系統である西北九州弥生人、さらに南九州には独特の形質を持つ南九州弥生人が暮らしていたとされている [内藤 1981, 1984]。しかし最近の次世代シーケンサを用いた古人骨のゲノム研究により、弥生時代中期後葉～後期の北部九州弥生人および西北九州弥生人ではすでに在来系の縄文系集団と渡来系集団の混血が進んでおり [篠田他 2019, 2020]、形質で見られる違いは混血の程度の違いを見ている可能性がある。南九州弥生人の DNA 分析は限られているが [例えば篠田他 2021]、現在進められている核ゲノムでは縄文的要素が強いことが明らかとなってきた [神澤 unpublished]。その一方で、中部九州はそれらの3地域集団の関係や成立過程を明らかにする上で地理的・集団遺伝学的に重要な地域であるが、その遺伝的背景や弥生～古墳時代にどのように混血が進行したのか、依然として詳細は不明である。

我々はこれまで、熊本大学医学部に収蔵されている縄文時代から中世における人骨のミトコンドリア DNA 分析を行い、その遺伝的背景を明らかにしてきた。それにより、弥生時代以降、中部九州においても弥生時代以降に渡来系集団の遺伝的影響が少なくとも母系系統で認められることを明らかにした [神澤他 2022]。しかし、縄文人に由来するとされる「縄文人の遺伝子型」の頻度は、弥生・古墳時代においても依然として高く、少なくとも母系系統において縄文人の遺伝要素が中部九州では依然として高く残されていたことが明らかとなった。この混血の状況は、すでに混血が現代日本人と同程度に進んでいた弥生中期の北部九州や弥生後期の山陰地方とは大きく異なり大変興味深い。一方で、ミトコンドリア DNA は母系系統に遺伝することから、男系系統の情報が欠落する。また混血の程度も個体レベルで異なる可能性は十分に考えられるが、ミトコンドリア DNA の検証は不可能である。そこで今回、我々は熊本県宇城市小川町南小野に所在する大坪貝塚に着目

し、核ゲノム解析を試みた。大坪貝塚については、これまでの人骨3個体の年代分析およびDNA分析によって、弥生時代後期の人骨であることや核ゲノム解析に適していることを確認している〔藤尾他 2023, 神澤他 2022〕。本研究では、次世代シーケンサを用いた核ゲノム解析を実施した結果、混血の程度および血縁推定に必要なだけの配列情報が得られたので、その成果報告を行う。なお、遺跡の地理的位置は、本研究報告の総論を参照されたい〔藤尾他 2023〕。

II. 分析方法

1. 次世代シーケンサによる解析のためのライブラリ作成, DNAの濃縮とシーケンス, および参照配列へのマッピング

研究には、〔神澤他 2022〕で抽出したDNA, および作成済みのDNAライブラリを用いた。抽出DNAを次世代シーケンサ(NGS)で分析するために、〔Gamba et al. 2014〕および〔Rohland et al. 2015〕の“partial uracil-DNA-glycosylase treatment”(以下, half-UDG)の方法に一部修正を行い、NGS分析用ライブラリの作成を行った。最終的に、それぞれの個体で4つのDNAライブラリを作成した。作成したDNAライブラリに含まれるヒトDNAの配列情報を効率的に取得するために、MYbaits WGEにより2-roundのターゲットエンリッチメントによりヒトゲノムを濃縮した。濃縮DNAライブラリのシーケンスはMacroGen-Japan社に外注し、HiSeq X (Illumina社)で150塩基ペアエンドにてシーケンスした。得られたDNA配列データのマッピングおよびデータフィルタリングは、〔篠田他 2019〕の方法で行った。

2. DNAデータの信頼性の確認

古代DNAでは死後の時間経過によって、DNA配列のシトシン塩基に脱アミノ化が起こる現象が知られている〔Briggs et al. 2007〕。シトシン塩基の脱アミノ化はリードの末端に高い頻度で起こり、脱アミノ化によってウラシル塩基となったシトシン塩基は、PCRによる増幅を経てチミン塩基に置換される。そのため、リファレンスゲノムのシトシン塩基がマップされたリードでは、チミン塩基として観察される(以下C/Tと記載)。相補鎖のシトシン塩基に脱アミノ化が起きた場合、グアニン塩基がアデニン塩基に置換される(以下, G/Aと記載)。そこで、それぞれのDNAライブラリから取得したデータについて、ソフトウェアMapDamage2.0〔Jónsson et al. 2013〕を用いてミトコンドリアゲノムおよび核ゲノムにマップされたリードの脱アミノ化(C/T, G/A)の割合を調べ、マップされたリードが古代DNAに見られる特徴を有しているかどうかを判定した。また、古代DNAは多くが100 bp以下に短く断片化しているといった特徴もある。そこでマップされたリードの断片長の分布も確認した。分布結果はMapDamage2.0で得られるので、それを参照した。

次に、古代DNAに特徴的な脱アミノ化が確認されたDNAライブラリについて、現代人DNAによる汚染率(contamination rate)を推定した。推定には、ミトコンドリアゲノムの参照配列(rCRS)にマップされ、 $\text{mapq} \geq 20$ でフィルタリングされたリードを用い、ソフトウェアschmutzi〔Renaud et al. 2015〕と〔Kanzawa-Kiriyama et al. 2017〕の手法を用いた。後者は、ミトコンドリアDNAハプログループおよび個体特異的なSNPサイトについて、個体のコンセンサス配列と一致および不一致の塩基を持つリード数をそれぞれカウントした。不一致のリードは汚染によって混入した現代

人 DNA と判断し、その割合を現代人 DNA の汚染率とした。ハプログループの推定方法は〔神澤他 2023〕を参照されたい。現代人 DNA の混入による汚染率の推定は、核ゲノムにマップしたリードについても次のように行った。まず、ミトコンドリアゲノムと同様に、ソフトウェア schmutzi での推定を行った。さらに、X 染色体が一本しか無い男性個体については、ソフトウェア ANGSD [Korneliussen et al. 2014] で X 染色体にマップしたリードを用いて汚染率の推定を行った。推定結果は「Method1, new_llh (likelihood), MoM (Methods of Moments)」[Rasmussen et al. 2011] を採用した。

3. 核ゲノム配列を用いた比較解析

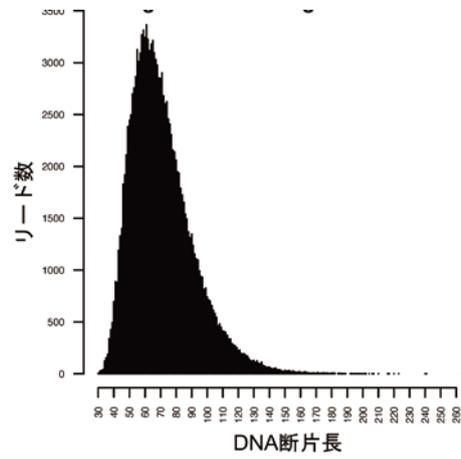
性別判定を行うため、X 染色体と Y 染色体にマップしたリード数をカウントし、比率が 10:1 に近い場合には男性と判断することにした。Y 染色体ハプログループの推定は、〔篠田他 2019〕の方法に従った。本研究でシーケンスした大坪貝塚 3 個体のゲノムを他の現代人・古代人と比較するために、〔Kanzawa-Kiriyama et al. 2019〕に従い、複数の集団のデータを統合したデータセットを用意した。データセットには、1000 Genomes Project Consortium (1KG) [2012] と The Simons Genome Diversity Project (SGDP) [Mallick et al. 2016] を統合した現代人のゲノムデータに、古代人のゲノムデータとして、本研究で得られた大坪貝塚 3 個体、三貫地 131464 [Kanzawa-Kiriyama et al. 2017], 船泊縄文 5 号, 23 号 [Kanzawa-Kiriyama et al., 2019], [McColl et al. 2018] の伊川津縄文 IK002, 下本山 2 号, 3 号 [篠田他 2019] を含めた。比較解析として主成分分析 (PCA) [Patterson et al. 2006] と F4-statistics [Patterson et al. 2012] を行った。また、今回の大坪貝塚の 3 個体の血縁関係を明らかにするために、ソフトウェア READ [Monroy Kuhn et al. 2018] による解析をおこなった。

III. 結果

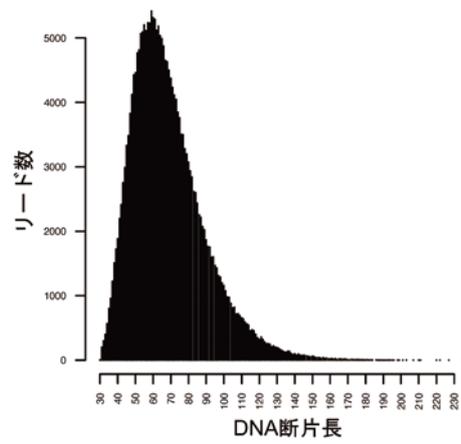
分析個体から 2905 ~ 7007 万のユニークリードを取得し (表 1), 核ゲノムの 17.29 ~ 23.61 % の領域の配列を決定した。ゲノムの平均深度はそれぞれ 0.56 ~ 1.62 となった。得られたリードが古代人に由来するかを調べるために、リード長および脱アミノ化 (C/T, G/A) の置換率を調べた。その結果、リード長のピークは 60 bp 前後と短く、また古代 DNA の特徴である脱アミノ化がリード末端に観察された (図 1, 2, 表 1)。以上の結果から、抽出された DNA は、これらの個体が本来持っていたものであると判断した。また、現代人 DNA の混入による汚染率も低く推定された。次に、X 染色体と Y 染色体にマップしたリード数の比から性別を判定したところ、いずれの個体も男性と判断する基準である 10:1 に近いことから、すべて男性と判定した。検出された Y 染色体ハプログループは C1a1 と D1b1c2 であった。13 号と 14 号はサブハプログループまで一致していることから、男系系統でも血縁関係の可能性が高い。

続いて、東アジアの現代人・古代人と集団比較をおこなった。主成分分析では、大坪貝塚 3 個体はいずれも縄文人と現代日本人のクラスターに挟まれた位置に独自のクラスターを形成した (図 3)。F4-statistics による解析でも、大坪貝塚 3 個体はいずれも同程度に縄文人に遺伝的に近いことが示された (表 2)。また、F4-ratio test による縄文要素の割合を推定した結果でも、42 ~ 52%と

大坪貝塚 3号



大坪貝塚 13号



大坪貝塚 14号

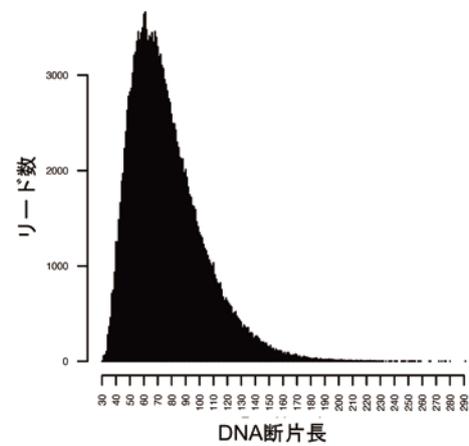


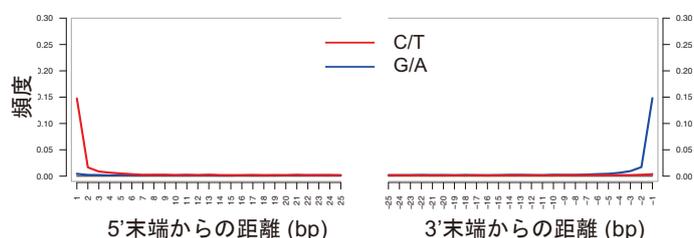
図1 DNA断片長の分布
横軸はDNA断片長、縦軸は各断片長でのリード数。

表 1 核ゲノム分析の結果

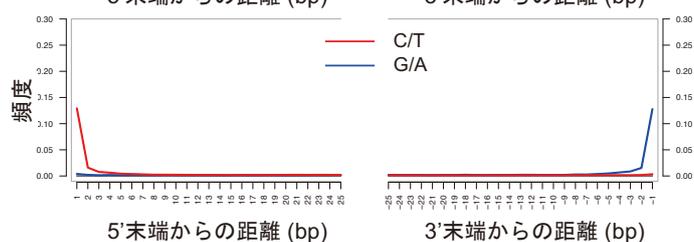
遺物番号	ライブラリ ID	ペアリード数	フィルタリング後のユニークリード数 (n) ^{*1}	ピークリード長 (n)	リード数 (X染色体)	リード数 (Y染色体)	YX比	性別	Y染色体ハプログループ	ANGSDによる汚染率推定 [SE]	核ゲノムのカバレッジ
3号	1	113,381,906	8,099,317	59	258,916	27,777	10.7 %	男性	C1a1	0.0116 [0.0102]	17.29 %
	2	129,978,628	8,257,052	58	265,330	29,005	10.9 %			0.0124 [0.0098]	
	3	137,224,604	7,739,338	57	248,348	27,821	11.2 %			0.0036 [0.0066]	
	4	117,919,376	4,963,582	57	153,813	17,063	11.1 %			-0.0072 [0.0049]	
13号	1	133,719,879	11,067,030	60	366,507	39,849	10.9 %	男性	D1b1c2	0.0062 [0.0051]	19.19 %
	2	125,356,689	10,055,263	61	334,705	36,600	10.9 %			0.0030 [0.0046]	
	3	134,347,105	12,389,130	59	421,088	45,594	10.8 %			0.0119 [0.0067]	
	4	95,661,713	7,279,616	59	242,151	25,943	10.7 %			0.0154 [0.0100]	
14号	1	130,240,331	19,772,151	64	709,073	78,821	11.1 %	男性	D1b1c2	0.0054 [0.0027]	23.61 %
	2	126,464,044	18,659,133	64	665,842	74,383	11.2 %			0.0026 [0.0021]	
	3	136,079,841	18,811,540	65	673,297	75,380	11.2 %			0.0057 [0.0026]	
	4	102,332,137	12,828,492	61	448,310	48,929	10.9 %			0.0018 [0.0025]	

*1 Dedupにより重複除去処理まで行ったデータ
 ND: No data.

大坪貝塚 3号



大坪貝塚 13号



大坪貝塚 14号

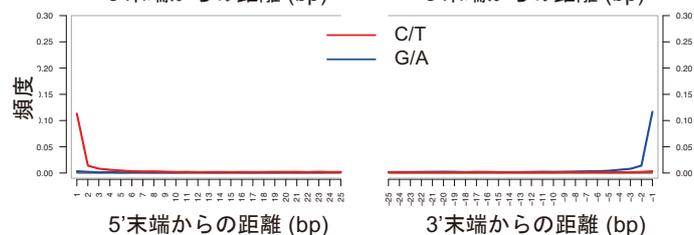


図 2 DNA断片の末端のダメージ

キャプチャ後、核ゲノムにマッピングされたリードの末端の置換率を示す。横軸は末端からの距離、縦軸は各距離での置換率。リファレンスでシトシン (C)、古代 DNA でチミン (T) となる塩基置換の頻度を、末端からの距離ごとに示す。3' 末端からの場合は、リファレンスでグアニン (G)、古代 DNA でアデニン (A) となる。

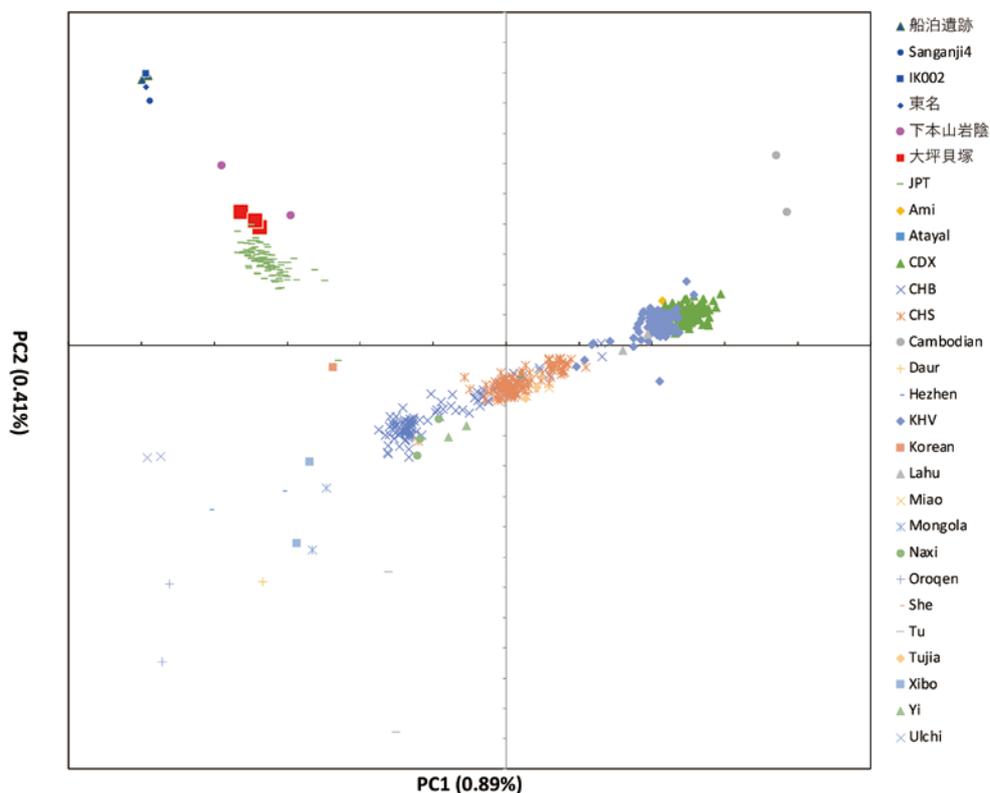


図3 主成分分析による古代人と現代人の比較

表2 F4 (パプア人, 縄文: 大坪, 本土日本人) の比較結果

外群 (O)	集団1 (P1)	集団2 (P2)	集団3 (P3)	F4	Z	SNP数	標準誤差
Papuan	船泊23	大坪3号	Japanese	-0.0037	-9.384	475219	0.0004
Papuan	船泊23	大坪13号	Japanese	-0.0037	-8.494	649018	0.0004
Papuan	船泊23	大坪14号	Japanese	-0.0042	-10.329	527726	0.0004

表3 F4-ratioのテストの結果

Outgroup	A	B	X	C	alpha	1 - alpha	SE	Z	N of SNPs
Papuan	CDX	Korean	大坪3号	船泊23	0.526	0.474	0.075	7.0	1595571
Papuan	CDX	Korean	大坪13号	船泊23	0.479	0.521	0.073	6.6	1622994
Papuan	CDX	Korean	大坪14号	船泊23	0.577	0.423	0.072	8.0	1685707
Papuan	CDX	CHB	大坪3号	船泊23	0.531	0.469	0.068	7.8	1603313
Papuan	CDX	CHB	大坪13号	船泊23	0.471	0.529	0.069	6.9	1631509
Papuan	CDX	CHB	大坪14号	船泊23	0.568	0.432	0.065	8.8	1696197

CDX: 中国南部の少数民族ダイ, CHB: 北京の漢民族

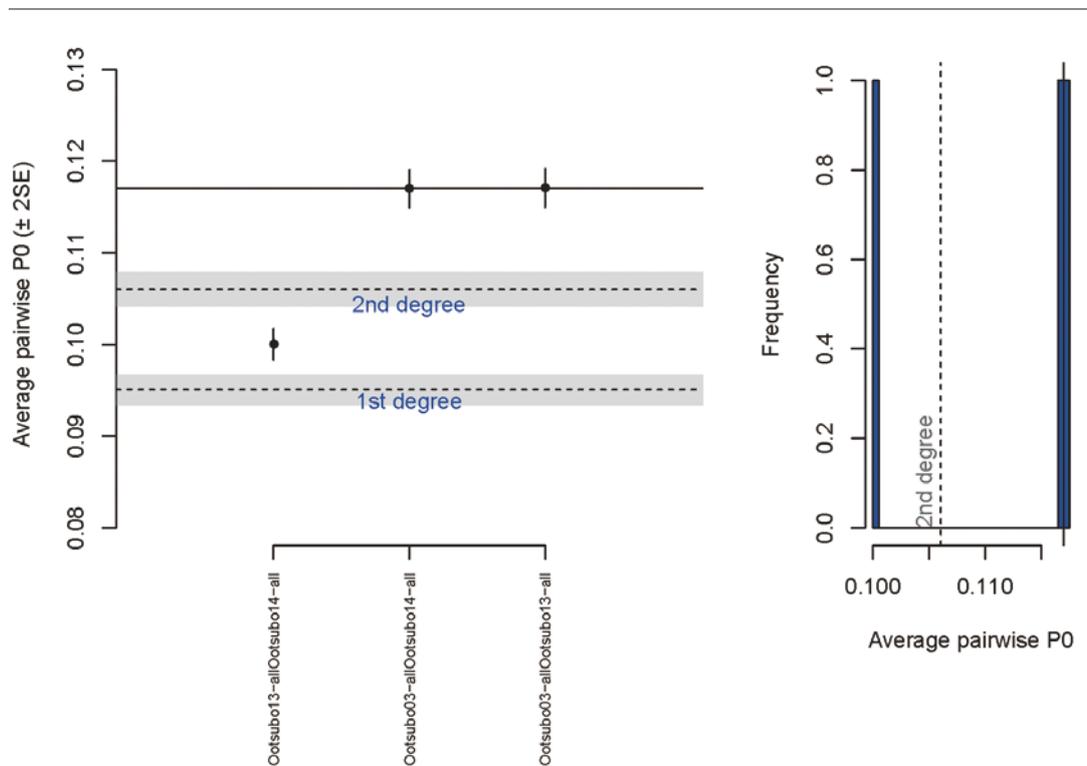


図4 ソフトウェア READ での血縁推定の結果

高い値を示し、主成分分析や F4-statistics の結果と矛盾しない。以上より、これらの個体は遺伝的に均質であると判断し、核ゲノムの配列情報を用いた血縁推定も実施した。その結果、13号人骨と14号人骨は二親等以内の血縁関係にある可能性が示された（図4）。

IV. 考察

本研究では、大坪貝塚出土人骨3個体について、いずれも核ゲノムの2割前後の領域から遺伝配列情報が得られ、統計解析に必要な核ゲノムの遺伝情報を取得することに成功した。13号と14号は二親等以内の血縁関係にある可能性が高く、母系系統に遺伝するミトコンドリアゲノムの全周配列が完全一致している状況と矛盾が無い。いずれも男性であることから、兄弟の可能性がある。また、13号人骨が cal AD 65-160 (1 σ)、cal AD 25-210 (2 σ)、14号人骨が cal AD 205-310 (1 σ)、cal AD 130-330 (2 σ) と、年代も重複しており矛盾しない [藤尾他 2023]。さらに、Y染色体ハプログループでも13号と14号は同じハプログループ D1b1c2 であることも、兄弟である可能性を支持している。現代日本人における父系系統の Y染色体ハプログループ C, D, O の頻度はそれぞれ、54%, 39.6%, 53.8% である [Naitoh et al. 2013]。今回検出したハプログループ C1a1 を含むハプログループ C は、在来の縄文系に由来すると考えられており、特に C1a1 はほぼ日本に固有である [Hammer et al., 2006]。また、ハプログループ D も同様に、縄文人に由来するとされることから、男系系統においても、弥生時代の中部九州には依然として縄文要素が残されているといえる。

大坪貝塚3個体の核ゲノムから、弥生時代にはすでに渡来系集団の遺伝的影響が中部九州まで及んでいたことが明らかとなった。しかしその影響は、福岡県安德台遺跡や鳥取県青谷上寺地遺跡の弥生時代後期人骨と比べて弱く、縄文要素が依然として強い。これは、[神澤他 2022] のミトコンドリア DNA や本研究の Y 染色体を対象とした結果とも矛盾しない。また、大坪貝塚は甕棺墓の分布域の南限付近の人骨であるが [藤尾他 2023]、縄文要素の濃淡の観点からは、同じく甕棺墓である福岡県安德台遺跡とは遺伝的に異質の集団であり、遺伝的背景と文化的背景の関係性は依然として不透明である。

本研究によって、これまで欠落していた中部九州の弥生時代人骨から、貴重な核ゲノムの配列情報が得られた。それにより、弥生時代の日本列島における縄文系と渡来系の集団の混血の状況は、地域によって大きく異なっていることが改めて示された。[北條 1986] は、顔面の残存状態の良かった大坪貝塚 14 号の特徴が、九州中部古墳時代人に近いことを指摘していることから、中部九州における混血の状況は、古墳時代以降もあまり進まずにいた可能性がある。一方で、[Watanabe and Ohashi 2023] は、縄文人に由来する変異を検出するために開発した ancestry-marker index (AMI) を用いて、日本列島各地の現代人の縄文人由来変異の保有率を計算したところ、東北地方や鹿児島県、島根県で縄文要素が多く、近畿や四国では少ないことを報告しており、熊本県もそこまで縄文要素が高いようには見受けられない。このことは、弥生時代から現代にかけて遺伝的に大きく変化したことを示しており、それがいつ、どのようにして起きたのかを明らかにすることは、当該地域の人々の成立史を明らかにする上で重要であろう。幸い、[神澤他 2022] では古墳時代と中世の人骨でも、核ゲノム解析に適した人骨を見出している。今後、それらの人骨の核ゲノム解析を進めることで、新たな情報を提供していきたい。

謝辞

今回分析に用いた人骨サンプルを提供いただいた熊本大学医学部福田孝一教授、人骨の形態学的な情報を提供いただいた九州大学の舟橋京子准教授、土井ヶ浜遺跡人類学ミュージアムの高椋浩史博士に感謝いたします。また、人骨の考古学的・年代学的情報をいただきました国立歴史民俗博物館の藤尾慎一郎教授、坂本稔教授、国立科学博物館の瀧上舞博士、東京都立大学の山田康弘教授に感謝いたします。また本研究では、情報・システム研究機構国立遺伝学研究所が有する遺伝研スーパーコンピュータシステムを利用しました。なお、本研究は新学術領域（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

- Briggs A.W., Stenzel U., Johnson P.L.F., et al. 2007: Patterns of damage in genomic DNA sequences from a Neandertal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(37): pp.14616-16621.
- 藤尾慎一郎・瀧上舞・坂本稔 2023:「熊本大学医学部所蔵弥生時代の人骨の年代学的調査—笹尾遺跡・神水遺跡・畑中遺跡・大坪貝塚—」『国立歴史民俗博物館研究報告』第240集。pp.351-360.
- 藤尾慎一郎・木下尚子・坂本稔・瀧上舞・篠田謙一 2023:「考古学データによるヤポネシア人の歴史の解明—2021

- 年度の調査 (2) 一」『国立歴史民俗博物館研究報告』第 242 集, pp.3-14.
- Gamba C., Jones E.R., Teasdale M.D., et al. 2014: Genome flux and stasis in a five millennium transect of European prehistory. *Nature Communications*, 5: p.5257.
- Hammer H.F., Karafet T.M., Park H. et al. 2006: Dual origins of the Japanese- common ground for hunter-gatherer and farmer Y chromosomes. *Journal of Human Genetics*, 51: pp.47-58.
- Hanihara K. 1991: Dual structure model for the population history of the Japanese. *Japan Review*, 2: pp.1-33.
- 北條暉幸 1986: 一般口演: 「熊本県八代平野小川町大坪貝塚出土の後期弥生人骨について」『解剖誌』67: pp.507.
- Jónsson H., Ginolhac A., Schubert M., Johnson P.L., and Orlando L. 2013: mapDamage2.0: fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters. *Bioinformatics*, 29: pp.1682-1684.
- Kanzawa-Kiriyama H., Kryukov K., Jinam T., 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.
- Kanzawa-Kiriyama H., Jinam A.T., Kawai Y., et al. 2019: Late Jomon male and female genome sequences from the Funadomari site in Hokkaido, Japan. *Anthropological Science*, 127: pp.83-108.
- 神澤秀明・角田恒雄・安達 登・篠田謙一 2022: 「熊本大学医学部所蔵人骨のミトコンドリア DNA 分析」『国立歴史民俗博物館研究報告』第 237 集, 国立歴史民俗博物館, pp.141-156.
- 神澤秀明・角田恒雄・安達 登・篠田謙一 2023: 「兵庫県内出土縄文・弥生・古墳人骨のミトコンドリア DNA 分析」『国立歴史民俗博物館研究報告』第 242 集, 国立歴史民俗博物館, pp.111-121.
- Korneliusson T.S., Albrechtsen A., and Nielsen R. 2014: ANGSD: analysis of next generation sequencing data. *BMC Bioinformatics*, 15:356.
- Mallick S., Li H., Lipson M., Mathieson I., Gymrek M. et al. 2016: The Simons Genome Diversity Project: 300 genomes from 142 diverse populations. *Nature*, 538: pp.201-206.
- McColl H., Racimo F., Vinner L., Demeter F., Gakuhari T. et al. 2018: The prehistoric peopling of Southeast Asia. *Science*, 361: pp.88-92.
- Monroy Kuhn J.M., Jakobsson M., and Günther T. 2018: Estimating genetic kin relationships in prehistoric populations. *PLoS ONE*, 13(4): e0195491.
- 内藤芳篤. 1981: 「弥生時代人骨」人類学講座編纂委員会編『人類学講座』5, 日本人 I, 雄山閣, pp.57-99.
- 内藤芳篤. 1984: 「九州における縄文人骨から弥生人骨への移行」日本人類学会編『人類学—その多様な発展—』, 日経サイエンス社, pp.52-59.
- Naitoh S., Kasahara-Nonaka I., Minaguchi K. et al. 2013: Assignment of Y-chromosomal SNPs found in Japanese population to Y-chromosomal haplogroup tree. *Journal of Human Genetics*, 58: pp.195-201.
- Patterson N., Price A., and Reich D. 2006: Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genetics*, 2: e190.
- Patterson N., Moorjani P., Luo Y., et al. 2012: Ancient admixture in human history. *Genetics*, 192: pp.1065-1093.
- Rasmussen M., Guo X., Wang Y. et al. 2011: An Aboriginal Australian Genome Reveals Separate Human Dispersals into Asia. *Science*, 334: pp.94-98.
- Renaud G., Slon V., Duggan A.T., and Kelso J. 2015: Schmutzi: estimation of contamination and endogenous mitochondrial consensus calling for ancient DNA. *Genome Biology*, 16: 224.
- Rohland, N., Harney, E., Mallick, S., et al. 2015: Partial uracil-DNA-glycosylase treatment for screening of ancient DNA. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1660): 20130624.
- 篠田謙一・神澤秀明・角田恒雄・安達 登 2019: 西北九州弥生人の遺伝的な特徴—佐世保市下本山岩陰遺跡出土人骨の核ゲノム解析—. *Anthropological Science(Japanese Series)*, 127(1): pp.25-43.
- 篠田謙一・神澤秀明・角田恒雄・安達 登 2020: 「福岡県那珂川市安徳台遺跡出土弥生中期人骨の DNA 分析」『国立歴史民俗博物館研究報告』第 219 集, 国立歴史民俗博物館, pp. 199-210.
- 篠田謙一・神澤秀明・角田恒雄・安達 登・竹中正巳 2021: 「鹿児島県南種子町広田遺跡出土人骨のミトコンドリア DNA 分析」『国立歴史民俗博物館研究報告』第 228 集, pp.433-440.
- The 1000 Genomes Project Consortium 2012: An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature*, 491: pp.56-65.
- Watanabe Y. and Ohashi J. 2023: Modern Japanese ancestry-derived variants reveal the formation process of the current Japanese regional gradations. *iScience*, 26(3): 106130.

神澤秀明（国立科学博物館人類研究部）
亀田勇一（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）
篠田謙一（国立科学博物館）

（2022年11月21日受付，2023年3月31日審査終了）