

# 鳥取県内古墳群出土人骨の ミトコンドリアDNA分析 I

越敷山古墳群・日下古墳群・向原古墳群

Mitochondrial DNA Analysis of Human Bones Excavated from Ancient Tombs  
in Tottori Prefecture I : Koshikisan Kofuns, Kusaka Kofuns, Mukoubara Kofuns

KANZAWA Hideaki, KAKUDA Tsuneo, ADACHI Noboru  
SHINODA Ken-ichi and HAMADA Tatsuhiko

神澤秀明・角田恒雄・安達 登・篠田謙一・濱田竜彦

## 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]。その後二重構造説は、現代人を対象とした DNA 研究や、古人骨の DNA を分析対象とした古代 DNA 研究からも支持されており [Japanese Archipelago Human Population Genetics Consortium et al. 2012; Adachi et al. 2009]、本土日本人の成立の大枠を説明するものとなっている。特に古代 DNA 研究は、2010 年に次世代シーケンサ (NGS: Next Generation Sequencer) が導入されるようになると、ミトコンドリアゲノムや核ゲノムを対象としたより高精度な解析が可能となっている [例えば、篠田ほか 2017, 2019]。

古墳時代は国家の成立途上、あるいは国家が形成された初期段階と理解される。それらを担った人々の遺伝的背景に興味を持たれるが、これまで報告された古墳時代人の DNA 研究は限られる。また、在地の縄文系集団と渡来人との混血は、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が、日本列島を通して均質に起きたわけではなく、地域的な違いが各時代・各時期に存在したことが DNA 研究からも示唆されている [安達ほか 2021; 神澤ほか 2021a, 2021b]。特に山陰地方では、弥生時代後期の青谷上寺地遺跡の人骨の DNA 分析から両系統の混血が進み、総体では現代日本人に近い遺伝的な組成をしているものの、古墳時代の猪目洞窟遺跡の人骨のゲノムは、現代日本人よりも縄文的要素が強く、弥生～古墳時代にどのように混血が進行したのか、依然として不明な点は多い [篠田ほか 2020; 神澤ほか 2021b, 2021c]。

そこで本研究では、鳥取県内の越敷山古墳群、日下古墳群、向原古墳群から出土した人骨に着目し、次世代シーケンサを用いたミトコンドリアゲノム分析を実施した。人骨の保存状態は良好で、DNA 分析に用いた人骨 15 個体のうち 14 個体から結果を得られた。今回、その成果報告を行う。遺跡の地理的位置は、本研究報告の総論を参照されたい [藤尾ほか 2022]。

## Ⅱ 古墳と人骨の概要

### 1. 越敷山古墳群

鳥取県西伯郡伯耆町金廻字家ノ上ノ内に所在する紀元5～7世紀に造営された群集墳である。125基の古墳が周知されている。2011～2012年に10基の古墳が発掘調査され、49号墳と51号墳の埋葬施設から人骨が出土している(図1)[鳥取県教育文化財団2013]。人骨の出土状況は濱田ほか[2021]を参照されたい。

#### (1) 越敷山49号墳

**概要** 直径19mの円墳である。周溝が51号墳の周溝を掘り込んでおり、51号墳よりも後に築造されたことが分かる。墳丘上に埋葬施設1(主要埋葬施設)と埋葬施設2(副次的埋葬施設)がある。いずれにも箱形石棺が設けられており、埋葬施設1の石棺内に2体分の人骨(1・2号人骨)が残存していた。1号人骨は15～17歳の女性、2号人骨は熟年の男性と鑑定されている[井上ほか2013]。兩人骨の頭蓋骨からDNA分析用のサンプルを採取した。

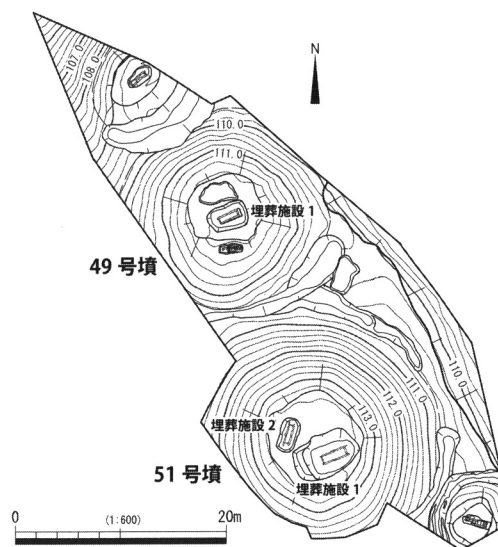


図1 越敷山古墳群(49・51号墳)

**古墳と人骨の年代** 埋葬施設1・2からは時期決定に有効な遺物が出土していない。発掘調査報告書では、周溝埋土から出土した土師器の甕に着目して、この古墳の築造時期を古墳時代中期中葉と推定している[鳥取県教育文化財団2013]。この所見によるならば、人骨の埋葬は紀元5世紀第2四半期～第3四半期に行われたことになるが、1号人骨と2号人骨について炭素14年代法による年代学的調査を実施したところ、炭素14年代の較正暦年代の範囲(1σ)は、1号人骨、2号人骨ともに紀元3世紀第3四半期～5世紀第1四半期を示した[濱田ほか2021]。したがって、この古墳の主要埋葬施設である埋葬施設1への埋葬は古墳時代中期前葉には完了しており、発掘調査報告書で推定された時期よりも古墳の築造時期は古くなる。

#### (2) 越敷山51号墳

**概要** 直径25mの円墳である。2011～2012年に実施された発掘調査地内では最も眺望の良い場所に築かれ、墳丘規模が大きい。周溝が49号墳の周溝に掘り込まれており、築造は49号墳に先行する。墳丘上に埋葬施設1(主要埋葬施設)と埋葬施設2(副次的埋葬施設)がある。いずれにも箱形石棺が設けられており、埋葬施設1に5体分、埋葬施設2に1体分の人骨が残存していた。埋葬施設1出土の5体の人骨(1～5号人骨)は、1号人骨が熟年の女性、2号人骨が熟年の男性、3号人骨が壮年後半から熟年前半の女性、4号人骨は成人で年齢不明、性別も判然としないが、男性の可能性がある。5号人骨は子どもで、性別は不明と鑑定されている[井上ほか2013]。埋葬施設2出土の人骨(6号人骨と仮称)は小さく華奢であり、壮年前半の女性と考えられている[井上ほか2013]。サンプリング条件を備えていた2号人骨、3号人骨、6号人骨の頭蓋骨からDNA分析用の

サンプルを採取した。

**古墳と人骨の年代** 埋葬施設 1 には百済・加耶系の鉄矛の他、鉄剣・鉄刀などの鉄製武器、玉類、堅櫛が副葬されていた。副葬品は質・量ともに充実しており、51 号墳築造の契機となったのは、越敷山周辺地域の有力者層とみられる。発掘調査報告書では、墳頂部の表土から出土した土器や埋葬施設 1 の副葬品をもとに古墳時代中期前葉～後葉に築造された古墳と推測されているが〔鳥取県教育文化財団 2013〕、埋葬施設 1 の 2 号人骨と埋葬施設 2 の 6 号人骨について炭素 14 年代法による年代学的調査を実施したところ、炭素 14 年代の較正暦年代の範囲 ( $1\sigma$ ) は、2 号人骨が紀元 3 世紀第 3 四半期～5 世紀第 1 四半期、6 号人骨が紀元 4 世紀第 2 四半期～5 世紀第 2 四半期を示した〔濱田ほか 2021〕。なお、2 号人骨の頭蓋骨は 5 号人骨に伴うとみられる鉄刀の上に位置しており、2 号人骨は埋葬施設 1 に追葬された人骨と考えられる。よって、当古墳の主要埋葬施設として墳頂部に設置された埋葬施設 1 への埋葬は古墳時代中期前葉以前にさかのぼることになる。また、埋葬施設 2 の 6 号人骨の較正年代範囲 ( $1\sigma$ ) は 2 号人骨に比べて新しい方に幅をもつ。埋葬施設 2 は副次的埋葬施設であり、埋葬施設 1 よりも後に設置された可能性がある。しかし、6 号人骨と 2 号人骨の較正年代範囲 ( $1\sigma$ ) には 65 年程度の重なりがあるので、両人骨が埋葬された年代に大きな差はないかもしれない〔濱田ほか 2021〕。

## 2. 日下古墳群

鳥取県米子市日下に所在する紀元 4 世紀～7 世紀にかけて築かれた群集墳である。3 支群に 80 基以上の方墳や円墳、横穴墓が周知されている。1990 年に方墳 9 基、円墳 33 基、横穴墓 12 基の発掘調査が行われ、12 号墳から 7 体、20 号墳から 2 体、39 号墳から 2 体、45 号墳から 1 体、5 号横穴をはじめとする複数の横穴墓からたくさんの人骨が出土している (図 2)〔米子市教育委員会 1992〕。人骨の出土状況は濱田ほか〔2021〕を参照されたい。

### (1) 日下 12 号墳

**概要** 直径 13 m の円墳である。墳丘中央に設けられた埋葬施設の箱形石棺に複数埋葬が行われている。石棺の中に残存していたのは、1 号成人人骨 (以下、1 号人骨)、

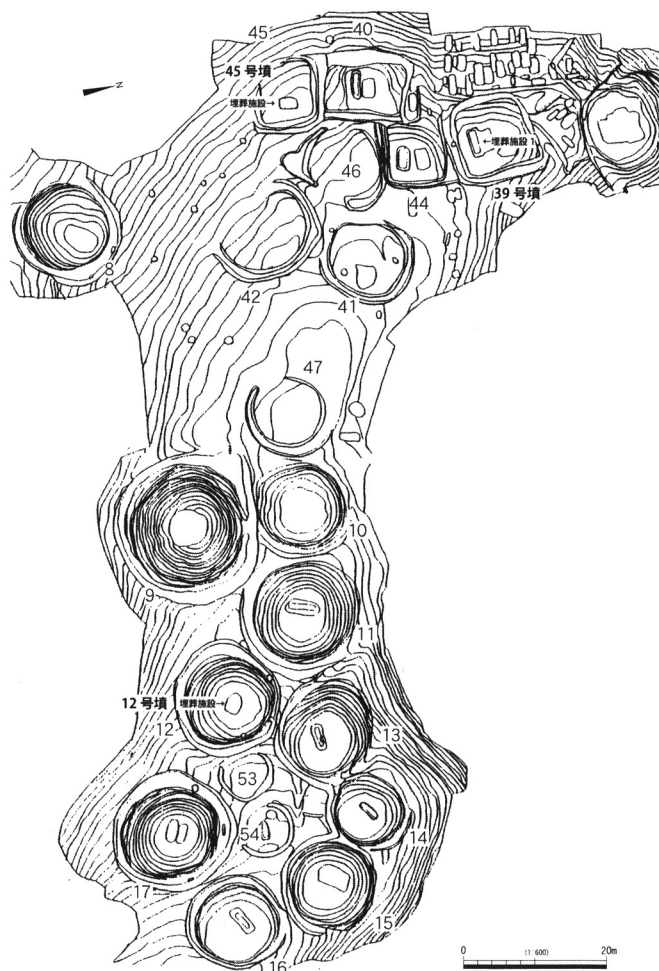


図 2 日下古墳群 (12・39・45 号墳)

2号成人人骨（以下、2号人骨）、3号成人人骨（以下、3号人骨）、4号成人人骨（以下、4号人骨）と子どもの下顎骨3体分（以下、5～7号人骨）である。また、資料調査中に、この7体とは異なる側頭骨の存在を確認したので、それを8号人骨とした。したがって、この石棺内には少なくとも8体が埋葬されていたことになる。各人骨の性別と年齢については、成人の1号人骨が壮年後半の男性、2号人骨が壮年後半の女性、3号人骨が青年後半の男性、4号人骨が壮年前半の女性と鑑定され、子どもの5～7号人骨は2～3歳程度（性別不明）と推定されている〔井上1992〕。なお、8号人骨は年齢、性別不明である。サンプリング条件を備えていた1号人骨、5号人骨、8号人骨の頭蓋骨からDNA分析用のサンプルを採取した。

**古墳と人骨の年代** 石棺内からは1号人骨、2号人骨、4号人骨の枕に使用されていたとみられる須恵器の坏身と坏蓋が出土している。1号人骨と2号人骨の頭蓋骨が位置する石棺の東側小口には「6世紀中葉」の坏身・蓋に「7世紀初頭」の坏蓋が混ざり、4号人骨の頭蓋骨が位置していたとみられる石棺の西側の小口に「7世紀初頭」の坏身・蓋がある。「7世紀初頭」の坏身・蓋は追葬時に持ち込まれたものと理解されている〔米子市教育委員会1992〕。2019年度に1号人骨と5号人骨について炭素14年代法による年代学的調査を実施したところ、炭素14年代の較正暦年代の範囲（1 $\sigma$ ）は、1号人骨が紀元5世紀第2四半期～6世紀第2四半期、5号人骨が紀元5世紀第2四半期～7世紀第1四半期を示した〔濱田ほか2021〕。須恵器の年代観は、1号人骨と5号人骨の較正暦年代の範囲（1 $\sigma$ ）に含まれる。当埋葬施設には紀元6世紀第2四半期～7世紀第1四半期の間に追葬が行われたと考えられる。

## （2）日下39号墳

**概要** 一辺12m強の方墳である。墳丘のやや南寄りに第1主体（主要埋葬施設）と第2主体（副次的埋葬施設）がある。第1主体には箱形石棺、第2主体には木棺が設けられており、第1主体の石棺内に2体分の人骨（1・2号人骨）が残存していた。1号人骨は壮年の女性、2号人骨は熟年の男性と鑑定されている〔井上1992〕。サンプリング条件を備えていた1号人骨の頭蓋骨からDNA分析用のサンプルを採取した。

**古墳と人骨の年代** 埋葬施設からは時期決定に有効な遺物は出土していないが、墳丘から土師器の甕などが出土しており、紀元4世紀後葉の古墳と推測されている〔米子市教育委員会1992〕。この所見によるならば、人骨の埋葬は紀元4世紀第3四半期以降に行われたことになる。2019年度に1号人骨の年代学的調査を実施したところ、炭素14年代の較正暦年代の範囲（1 $\sigma$ ）は紀元3世紀第3四半期～5世紀第2四半期を示した〔濱田ほか2021〕。調査所見による古墳の築造時期は、この較正暦年代の範囲（1 $\sigma$ ）に含まれることから、第1主体への埋葬は紀元4世紀第3四半期以降に行われたものと考えられる。

## （3）日下45号墳

**概要** 一辺11m前後の方墳である。墳丘の中央やや東寄りに位置する埋葬施設に設けられた箱形石棺に1体分の人骨（1号人骨）が残存していた。熟年の男性と鑑定されている〔井上1992〕。この頭蓋骨からDNA分析用のサンプルを採取した。なお、1号人骨の頭蓋骨は石棺の南側の小口にあったが、北側の小口にも石枕が確認されており、本来は2体が埋葬されていたとみられる。

**古墳と人骨の年代** 埋葬施設からは時期決定に有効な遺物は出土していないが、周溝から土師器



の甕や壺が出土しており、紀元5世紀前半の古墳と推測されている[米子市教育委員会1992]。この所見によるならば、人骨の埋葬は紀元5世紀第1四半期以降に行われたことになる。今後、炭素14年代法による年代学的調査を予定している。

#### (4) 日下5号横穴

**概要** 丸天井の横穴墓である。玄室内に複数個体の骨が散乱していた。7本の右側大腿骨が確認できることから、少なくとも7体が埋葬されていたと考えられている。また、4個体の頭蓋骨が出土しており、第1号頭蓋骨（以下、1号人骨）は熟年の男性、第2号頭蓋骨（以下、2号人骨）は性別不明の熟年、第3号頭蓋骨（以下、3号人骨）は壮年後半の女性、第4号頭蓋骨（以下、4号人骨）は壮年の男性と鑑定されている[井上1992]。DNA分析のサンプリング条件を備えていた1号人骨、3号人骨の頭蓋骨からサンプリングした。

**古墳と人骨の年代** 玄室と前庭部から「6世紀後葉」「6世紀末～7世紀初頭」「7世紀前葉」に比定される須恵器が出土しており、2回以上の追葬があったと推定されている[米子市教育委員会1992]。2019年度に1号人骨の年代学的調査を実施したところ、炭素14年代の較正暦年代の範囲(1σ)は紀元6世紀第2四半期～第4四半期を示した[濱田ほか2021]。調査所見による古墳の築造時期は、この較正暦年代の範囲(1σ)に含まれる。須恵器の年代観を重ね合わせると、当玄室には紀元6世紀第3四半期～7世紀第1四半期にかけて追葬が行われていたと考えられる。

### 3. 向原6号墳群

鳥取県西伯郡大山町大字豊房下字上ノ原林に所在する向原古墳群にある。1981年に大山町教育委員会が組織した向原6号古墳調査団によって発掘調査が行われ、主要埋葬施設から6体分の人骨が出土している[大山町教育委員会1982]。

**概要** 直径16mの円墳である。墳丘上に第1号埋葬施設（主要埋葬施設）、第2号埋葬施設（副次的埋葬施設）、第3号埋葬施設（副次的埋葬施設）がある。第1号埋葬施設に箱形石棺、第2・3号埋葬施設に木棺が設けられており、第1号埋葬施設の石棺内に6体分の人骨が残存していた。第1号人骨（以下、1号人骨）は20～30歳の女性、第2号人骨（以下、2号人骨）は35～50歳の男性、第3号人骨（以下、3号人骨）は30～40歳の男性、第4号人骨（以下、4号人骨）は30～45歳の男性、第5号人骨と第6号人骨は高年齢で、うち1体が男性であると鑑定されている[井上1982]。DNA分析のサンプリング条件を備えていた1号人骨、2号人骨、4号人骨の頭蓋骨からDNA分析用のサンプルを採取した。

**古墳と人骨の年代** 石棺内に鉄刀が副葬されており、北側と南側の両小口に枕として使用された須恵器の坏身と坏蓋が置かれていた[大山町教育委員会1982]。須恵器の坏身と坏蓋には「6世紀」前葉と中葉に比定されるものがある。2019年度に北側の小口におかれた須恵器の枕に頭蓋骨が位置する4号人骨について炭素14年代法による年代学的調査を実施したところ、炭素14年代の較正暦年代の範囲(1σ)は紀元5世紀第1四半期～6世紀第2四半期を示した[濱田ほか2021]。枕に使用された須恵器の年代観を重ね合わせると、当埋葬施設では紀元6世紀第1四半期～第3四半期にかけて複数回の埋葬が行われていたと考えられる。

### Ⅲ 分析方法

#### 1. 人骨の選定とDNA抽出

DNAの保存状態が良いとされる歯を分析に選定した。また最近では内耳を格納する側頭骨錐体においてDNAの保存状態が極めて良いことが報告されていることから[Gamba et al. 2014; Pinhasi et al. 2015]、錐体の選定が可能な個体については錐体を分析に用いた(表1)。側頭骨からのDNA抽出に関しては、骨の形状をなるべく壊すことなく行う為に、錐体部上面にドリルで小さな穴をあけ、内耳にアプローチすることで試料粉末(約200 mg)を採取した。臼歯はレプリカを作成後、歯冠と歯根の間で切断し、歯冠内部を削り取ることで同量のサンプルを採取した。DNAの抽出は[Adachi et al. 2013]に従って行った。最初に、試料汚染(コンタミネーション)を防ぐために、側頭骨と臼歯の表面をDNA除去液(DNA Away, Molecular Bio Products)で拭き上げた後、再度DNase/RNase freeの滅菌蒸留水で拭き取り、UVリンカーにより、45分間の紫外線照射を上下面の双方に対して行った。試料粉末の脱灰は、サンプルに8 mlのEDTA pH 8.0の溶液を加え、56℃で低速回転させながら一晩かけた。その後、溶液を8000 rpmで1分間遠心して上清を除去し、残存したペレットに再度8 mlのEDTA pH 8.0の溶液を加え、56℃で低速回転させながら、さらに一晩脱灰を行った。脱灰後、溶液を8000 rpmで1分間遠心して上清を除去し、残存したペレットに1000 µlのGenomic Lyse buffer (Genetic ID) および50 µlの20 mg/ml proteinase Kを加えて懸濁し、低速回転させながら56℃で一晩かけてタンパク質を溶解した。溶解後の溶液を1500 µlのフェノール・クロロ

表1 解析した古墳群出土人骨と分析部位

遺跡名	遺構番号	人骨番号	使用部位
越敷山古墳群	49号墳 埋葬施設1	1号	下顎左第二大臼歯
		2号	上顎大白歯
	51号墳 埋葬施設1	2号	遊離歯
		3号	左側頭骨
		6号	下顎左第二大臼歯
	51号墳 埋葬施設2	1号	上顎左第三大白歯
		5号	下顎左第一乳臼歯
		8号	右側頭骨
		1号	下顎右第一大臼歯
		1号	右側頭骨
日下古墳群	12号墳	1号	上顎右第二大臼歯
		3号	左側頭骨
		3号	左側頭骨
	39号墳	1号	下顎右第一大臼歯
	45号墳	1号	右側頭骨
	5号横穴	1号	上顎右第二大臼歯
		3号	左側頭骨
	向原古墳群 6号墳群 第1埋葬施設	1号	左側頭骨
		2号	右側頭骨
		4号	上顎右第一大臼歯

#### 2. APLP法によるミトコンドリアDNAハプログループの推定

最初に抽出したDNA溶液に解析に十分な量のDNAが残っているかを確認するために、APLP法(Amplified Product-Length Polymorphism method)[Umetsu et al. 2005]によるミトコンドリアDNAハプログループ分析を行った。方法は[Kakuda et al. 2016]の方法に従って実行した。まず、ミトコンドリアDNAのマクロハプログループであるMおよびNと、それぞれの下位のハプログ

ループを決定するプライマーセット M および N を用いた 6-plex の PCR を行い、マクロハプログループの M と N の判定、およびその下位のハプログループの推定を行った。この実験で増幅が確認されたサンプルに対し、更にハプログループを細分するためサブハプログループを細分可能なプライマーセットを用いて PCR 反応を行った。得られた APLP-PCR 溶液を電気泳動し、ハプログループの判定を行った。

### 3. 次世代シーケンサによるミトコンドリアゲノム分析

#### (1) ライブラリ作成、ミトコンドリア DNA の濃縮、シーケンスとマッピング

抽出 DNA を次世代シーケンサ (NGS) で分析するために、[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。本研究では、NGS 用ライブラリから効率的に古代人のミトコンドリア DNA の分析を行うために、ライブラリに含まれるヒトミトコンドリア DNA に由来する DNA 断片を、MYbaits Expert Mito (H. sapiens Representative Global Diversity Panel) (Daicel Arbor Biosciences 社) にて濃縮した。濃縮後のライブラリは MiSeq (Illumina 社) を用い、150 塩基ペアエンドにてシーケンスした。ヒト DNA 含有率を調べるために、別途濃縮前の DNA ライブラリについても同様の条件でシーケンスした。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、[篠田ほか 2017] の方法に以下の修正を加えて行った: PCR により生じた重複リードの除去に DeDup (version 0.11.3) (<https://github.com/apeltzer/DeDup/releases/download/v0.11.3/DeDup.jar>) を用いた。

#### (2) DNA データの信頼性の確認とミトコンドリア DNA ハプログループの推定

古代 DNA では、死後に 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、ソフトウェア MapDamage2.0 [Jónsson et al. 2013] を用いて rCRS にマップされたリードの C/T および G/A の割合を調べて、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。

古代人由来の DNA を含むと判定されたライブラリについては、ミトコンドリア DNA のハプログループを決定するために SNPs (一塩基多型, single nucleotide polymorphisms) の検出を行った。検出された SNPs から PhyloTree-Build 17 [van Oven and Kayser 2009] を参照してハプログループを判定し、また、HaploGrep ソフトウェア (2.1.14) [Weissensteiner et al. 2016] によるハプログループ推定も合わせて行った。最後に、判定されたハプログループの結果を APLP 法で得られた結果と比較した。

### (3) 現代人 DNA の混入による汚染率推定

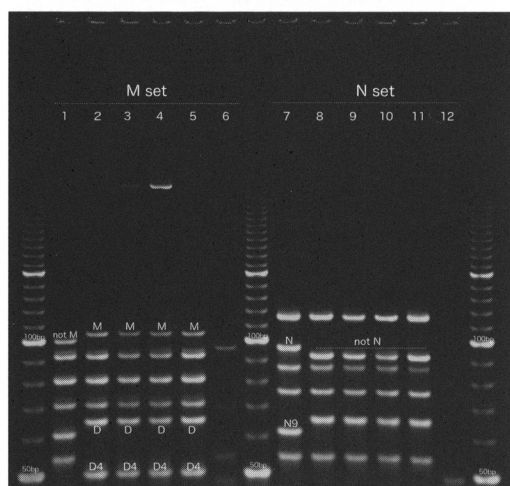
決定したハプログループの信頼性を確認するために、現代人 DNA による汚染率を推定した。推定には rCRS にマップされ、mapq $\geq$ 20 でフィルタリングされたリードを用い、ソフトウェア schmutzi [Renaud et al. 2015] と [Kanzawa-Kiriyama et al. 2017] の手法を用いた。後者はハプログループおよび個体特異的な SNP サイトについて、個体のコンセンサス配列と一致および不一致の塩基を持つリード数をそれぞれカウントした。不一致のリードは汚染によって混入した現代人 DNA と判断し、その割合を現代人 DNA の汚染率とした。

## IV 結果

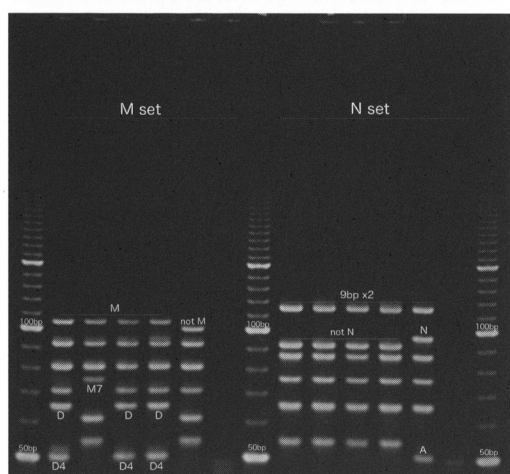
### (1) APLP 分析の結果、および NGS による分析で得られたリードの信頼性

はじめに、人骨 15 点について APLP 分析を行った。マクロハプログループの M と N を判定するプライマーセットでの分析では、越敷山古墳群と日下古墳群の人骨で特に明瞭な PCR 増幅によるバンドが見られたことから、DNA の状態が

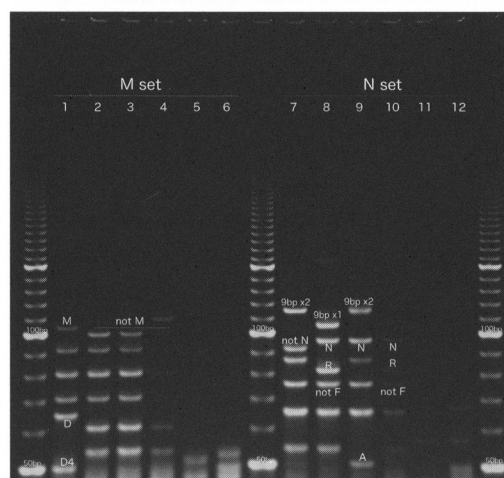
良好であると言える (図 3)。細分を判定するプライマーセットでも越敷山古墳群と日下古墳群は明瞭なバンドが見られた (図 4)。その結果、各サブハプログループまで細分された個体があった一方で、D4 (a, b, e, g, h, j, o でない) と細分されない個体も多く存在した (表 2)。泳動像のバンドは明瞭で DNA そのものに問題はないことから、それらの個体は細分プライマーセットに含まれないサブハプログループに属していると推測される。ミトコンドリアゲノムの全配列に基づいてハプログループを下位ま



a) 越敷山古墳群



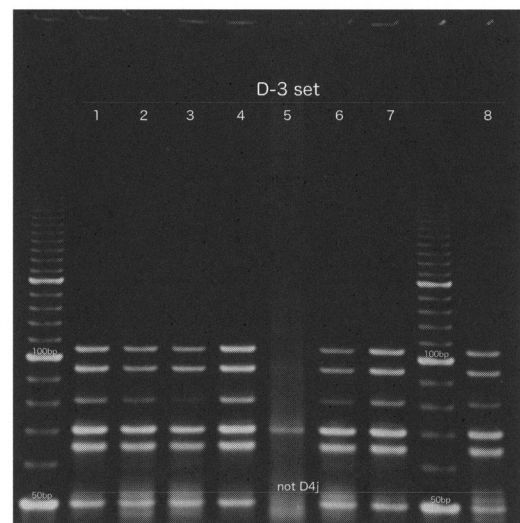
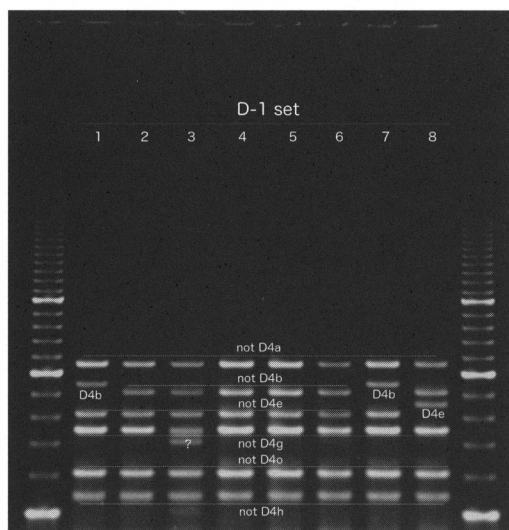
b) 日下古墳群および向原古墳群の歯



c) 日下古墳群および向原古墳群の側頭骨

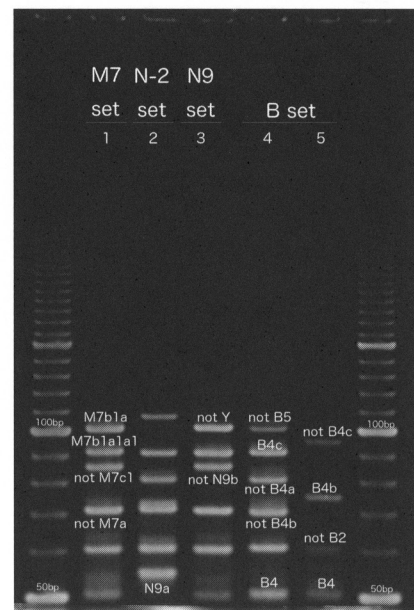
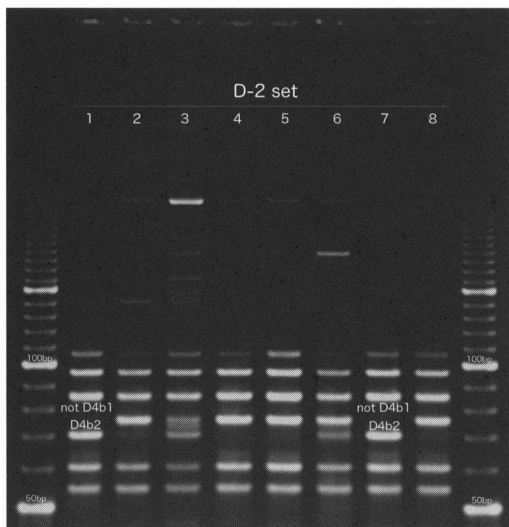
図 3 APLP 分析の結果

で判定するために、NGS を用いたミトコンドリアゲノム分析を実施した。その結果、全ての個体からミトコンドリアゲノムに由来する DNA 断片の塩基配列が得られた。得られたリードが古代人に由来するかを調べるために、リード長および 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多くが 50 bp 前後で長いものでも 80 bp 以下と非常に短く（表 2, 図 5）、また古代 DNA の特徴である C/T, G/A の置換が観察された（図 6）。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。現代人 DNA の混入による汚染率は、ほとんどの個体で 1% 以下と推定され、ミトコンドリア DNA ハプログループ推定への影響は無いと判断できた。



a) ハプログループ D を細分するプライマーセット 1

b) ハプログループ D を細分するプライマーセット 2



c) ハプログループ D を細分するプライマーセット 3

d) ハプログループ M7, N9, B の細分

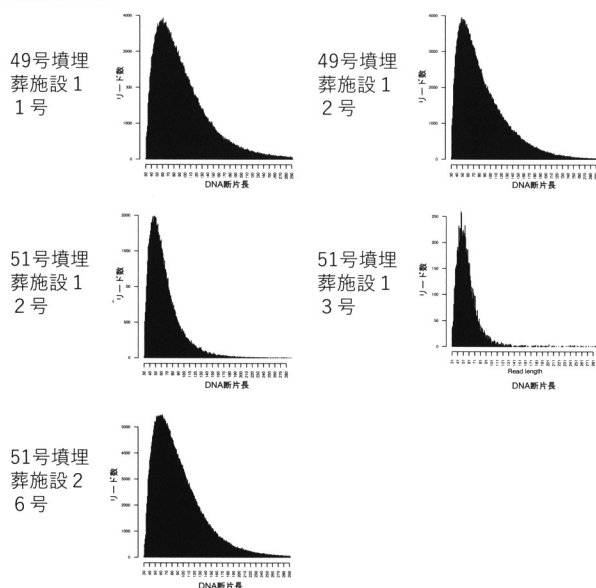
図 4 細分 APLP 分析の結果

表2 ミトコンドリアDNA分析の結果

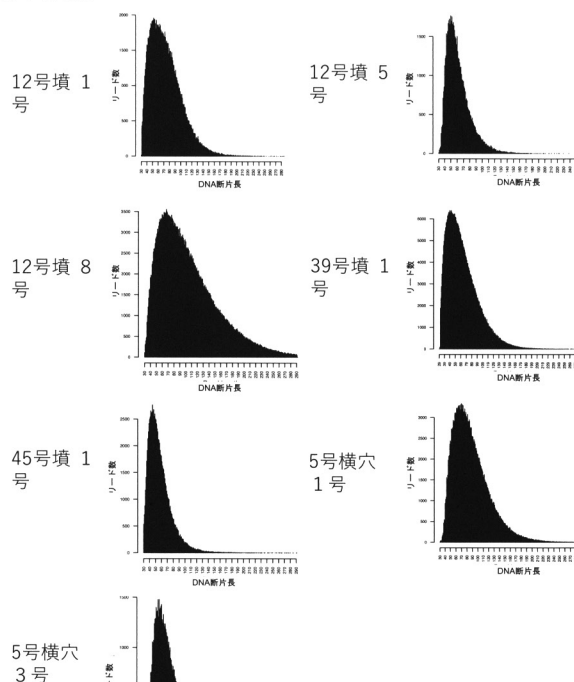
遺跡名	遺構番号	人骨 番号	総ベアリー ド数 [n]	フィルタリング 後のMtDNA 断片数 [n]	ピークリー ド長 [bp]	平均深度 [x]	ミトコンドリア アゲノムのカ バレッジ	5'末端 C/T 置換率	ハプログループ推定		ハプログループ
									APLP	Haplogrep2.0 [quality]	[1]
越敷山古墳群	49号墳 埋葬施設 1	1号	759,181	336,595	61	1921.10	1.000	0.071	N9a	N9a2a1 (0.9802)	N9a2a1
		2号	896,849	287,246	49	1499.15	1.000	0.086	D4b2	D4b2b1+146 (1.0000)	D4b2b1+146
		2号	444,011	90,970	47	359.99	1.000	0.104	D4 (a.b.e.g.h.j.o でない)	D4c1a (0.9782)	D4c1a
	51号墳 埋葬施設 1	3号	618,456	7,897	47	27.96	0.996	0.144	D4 (a.b.e.g.h.j.o でない)	D4 (0.9613)	D4b2b1+146
		6号	1,136,344	453,819	59	2513.69	1.000	0.083	D4 (a.b.e.g.h.j.o でない)	D4c1a (0.9782)	D4c1a
	51号墳 埋葬施設 2										
日下古墳群	12号墳	1号	828,262	353,963	67	2238.78	1.000	0.062	D4 (a.b.e.g.h.j.o でない)	D4c1b2 (0.9856)	D4c1b2
		5号	1,138,643	385,458	49	1670.47	1.000	0.093	M7b1a1a1	M7b1a1a1 (0.9904)	M7b1a1a1
		8号	369,405	98,607	45	341.65	1.000	0.129	D4 (a.b.e.g.h.j.o でない)	D4c1b2 (0.9765)	D4c1b2
	39号墳	1号	485,175	232,406	72	1231.74	1.000	0.077	D4b2	D4b2b1 (0.9687)	D4b2b1
		1号	481,331	66,767	55	299.56	1.000	0.101	B4c	B4c1b1a (0.8898)	pre-B4c1b1a
	45号墳	1号	726,570	124,739	52	555.09	1.000	0.102	D4e	D4e2 (1.0000)	D4e2
	5号横穴	3号	435,180	62,944	48	234.01	1.000	0.154	A	A5a1a1 (0.9856)	A5a1a1
	向原古墳群 6号墳群 第1埋葬施設	1号	476,584	963	56	3.34	0.904	0.171	B4b	B4b1a1 (0.6863)	B4b1a1
		2号	418,367	382	44	1.11	0.606	0.283	判定不可	H2 (0.6929)	判定不可
		4号	615,719	108,950	57	673.87	1.000	0.060	A	A5a1a2 (0.9770)	A5a1a2

[1] Kanzawa-Kiriyama et al. [2017]

a) 越敷山古墳群



b) 日下古墳群



c) 向原古墳群

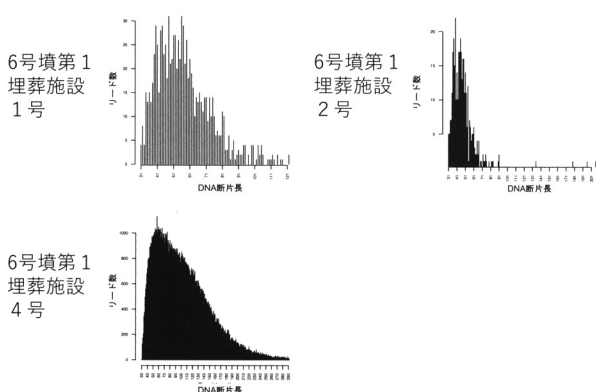


図 5 DNA 断片長の分布

(2) NGS によるミトコンドリア DNA ハプログループ推定

分析した 15 個体のうち、1 体を除いてハプログループ推定に必要なだけの DNA の断片配列が得られた。先ほど D4 (a, b, e, g, h, j, o でない) であった個体についてもサブハプログループに細分され、基本的に APLP の結果と矛盾しなかった。越敷山古墳群では 49 号墳埋葬施設 1 2 号と 51 号墳埋葬施設 1 3 号がいずれも D4b2b1+146,

51 号墳埋葬施設 1 2 号と 51 号墳埋葬施設 2 6 号がいずれも D4c1a でミトコンドリアゲノム全周で配列が一致した。日下古墳群でも、12 号墳 1 号と 8 号も D4c1b2 と同一のハプログループに細分され、こちらも全周で配列が一致した。ミトコンドリア DNA は母系に遺伝するので、同一遺跡で全配列が一致した個体同士は母系系統で血縁関係にある可能性がある。したがって、判定できた 14 個体から 11 系統の母系が検出されたことになる。

ミトコンドリア DNA のハプログループ別の内訳を図 7 に示した。山陰地域の古墳時代人には様々なハプログループが存在しており、遺伝的に多様であることが見て取れる。一方で注目すべきは、縄文人的ハプログループである M7a と N9b が 1 個体も検出されない点である。これは弥生時代後期の青谷上寺地遺跡においても同様であり [篠田ほか 2020]、山陰地域の弥生時代から古墳時代にかけて共通する特徴である可能性がある。



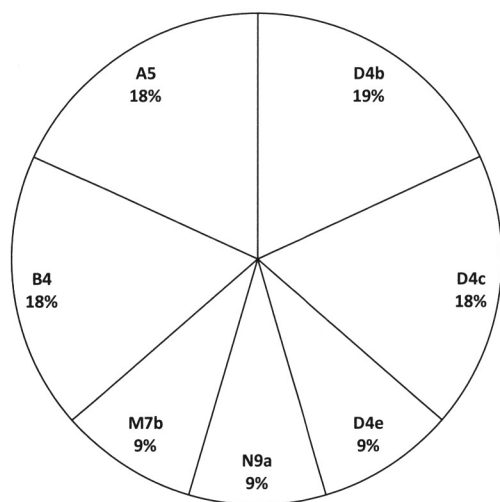


図 7 ミトコンドリア DNA ハプログループの内訳  
各ハプログループの比率を示したもの。縄文系集団が  
持っていたと考えられるハプログループ M7a と N9b  
は見られず、全てが渡来人に由来するハプログループ  
と考えられる

### (3) 古代人由来の DNA 含有率

NGS を用いたミトコンドリア DNA 分析  
で十分な量のデータが得られた個体について  
は、将来的に核ゲノム分析を対象として分析  
できる可能性が高い。そこで、ヒト DNA 含  
有率を確認した。1% を超える個体は、良好  
な核ゲノムデータが取得できる可能性が高  
い。分析の結果、越敷山古墳群では全個体、  
日下古墳群でも半数の個体で将来的な核ゲノ  
ム分析が可能であることが判明した（表 3）。  
前述のミトコンドリアゲノムで母系系統で血  
縁関係の可能性が高いと判断されたペアにつ  
いても、いずれの個体も核ゲノム分析が可能  
であることから、将来的に核ゲノムから血縁  
関係を検討できると期待される。

表 3 ヒト DNA の含有率

遺跡名	遺構番号	人骨番号	ヒト DNA 含有率 (%)
越敷山古墳群	49 号墳 埋葬施設 1	1 号	8.71 %
		2 号	43.00 %
	51 号墳 埋葬施設 1	2 号	3.12 %
		3 号	3.33 %
	51 号墳 埋葬施設 2	6 号	31.65 %
日下古墳群	12 号墳	1 号	68.62 %
		5 号	0.01 %
		8 号	4.42 %
	39 号墳	1 号	0.55 %
	45 号墳	1 号	4.57 %
	5 号横穴	1 号	0.45 %
		3 号	1.71 %
向原古墳群	6 号墳群 第 1 埋葬施設	1 号	0.20 %
		2 号	—
		4 号	8.61 %

## V 考察

今回、鳥取県内の古墳群から出土した古墳時代人骨 15 体のミトコンドリア DNA 全塩基配列を  
解析した。DNA の保存状態は極めて良く、14 体でミトコンドリア DNA ハプログループが決定さ  
れ、うち、全塩基配列に基づいて配列の異なる 11 系統が検出された。興味深いことに、11 系統の  
中に縄文人的遺伝子型であるハプログループ M7a と N9b は認められなかった。一方で、例えば今  
回検出されたハプログループ D4b2b1 の祖型である D4b2b は、朝鮮半島三国時代の伽耶の土地で

ある完山洞遺跡から検出される〔篠田ほか 2022〕など、大陸集団とハプログループを共有する(図 7)。このことは、今回分析した古墳群を内包する地域の古墳時代人集団は、母系系統において渡来系集団の遺伝的影響が主体を成すことを示唆している。同様の傾向は、地理的に近い弥生時代後期の青谷上寺地遺跡出土人骨にも見られ、検出された 29 系統のうち、縄文的遺伝子型は 1 体のみであった〔篠田ほか 2020〕。青谷人骨の核ゲノム解析では、現代本土日本人と同程度に混血が進んでいたことが示されている〔篠田ほか 2020；神澤ほか 2021c〕。一方で、同じく山陰地方の古墳時代人骨である猪目洞窟遺跡では、6 体中 3 体が縄文人的遺伝子型の M7a であり、核ゲノム解析でも猪目人骨は現代日本人よりも縄文的であることが示されている〔神澤ほか 2021b〕。このことは、山陰地方において地域ごとに混血の状況が異なっていた可能性を示唆している。今後、今回分析した古墳群についても、核ゲノム解析から混血の状況について詳細な検証が必要であろう。幸い、全ての古墳群からヒト DNA 含有率の高い個体が検出されており、今後の核ゲノム解析では良好な結果が得られると期待される。

古墳時代は国家の成立途上、あるいは国家が成立した初期段階と理解され、古墳群内の親族構造を明らかにすることは、国家成立史の観点からの重要な課題である。越敷山古墳群 49 号墳の 2 体は同一の石棺に埋葬されているにも関わらず、母系系統での血縁関係は見られなかった。一方で、49 号墳 2 号人骨と、隣接する 51 号墳 3 号人骨でミトコンドリア全塩基配列が一致したことは大変興味深く、血縁の可能性が高い。同じくミトコンドリア全塩基配列で配列が一致した 51 号墳の 6 号人骨と 2 号人骨の年代学的分析から、両個体の較正年代範囲(1 $\sigma$ )には 65 年程度の重なりがあり、両人骨が埋葬された年代に大きな差はないことが示唆されることから〔濱田ほか 2021〕、兄弟あるいは親子など、近い血縁関係の個体同士である可能性もある。日下 12 号墳の複数埋葬から分析した 3 個体でも、1 号人骨と 8 号人骨は母系系統で血縁関係である可能性があり、同一埋葬施設に親族が埋葬されている様子が窺える。その一方で、5 号横穴、向原古墳群では同一のミトコンドリア DNA ハプログループは見られなかった。今回は母系系統のミトコンドリアゲノムに限られたが、今後の核ゲノム解析によって埋葬個体間の血縁関係を詳細に検討することで、古墳群内の親族構造を明らかにしたい。

今回、分析した古墳人骨の多くで核ゲノム解析が可能な DNA が残存していることが明らかとなった。今後更に詳細な解析を進めて、在地の縄文系集団と渡来系集団の混血や埋葬古墳群内の血縁関係を明らかにし、古代史研究に貢献することを今後の課題としたい。

## 謝辞

本研究を進めるにあたり、貴重なサンプルの使用を許可していただいた鳥取県埋蔵文化財センター、米子市経済部文化観光局文化振興課、米子市埋蔵文化財センター、大山町観光課文化財室と、サンプリングのお手伝いいただいた下高瑞哉氏(米子市経済部文化観光局文化振興課)、松田剛氏、畑さおり氏(大山町観光課文化財室)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、本研究は文部科学省科学研究費補助金新学術領域(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。

---

註

- (1)——ミトコンドリア DNA ハプログループ M7a と N9b は、縄文人に見られる主要なハプログループである [Adachi et al. 2009]。これらの縄文人を特徴づけるハプログループの M7a と N9b を安達登が、2009 年の論文で「Jomon genotype」と表現したことから、神澤は「縄文人の遺伝子型」と訳して使用している。

---

参考文献

- Adachi N., Shinoda K., Umetsu K., and Matsumura H. 2009: Mitochondrial DNA analysis of Jomon skeletons from the Fu-nadomari site, Hokkaido, and its implication for the origins of Native American. *American Journal of Physical Anthropology*, 138: pp.255-265.
- Adachi N., Sawada J., Yoneda M. et al. 2013: Mitochondrial DNA Analysis of the Human Skeleton of the Initial Jomon Phase Excavated at the Yugura Cave Site, Nagano, Japan. *Anthropological Science* 121 (2): pp.137-143.
- 安達登・神澤秀明・藤井元人・清家章 2021:「磯間岩陰遺跡出土人骨の DNA 分析」『磯間岩陰遺跡の研究』—分析・考察編—, 田辺市教育委員会, 科学研究費磯間岩陰遺跡研究班, pp.105-118
- Briggs A.W., Stenzel U., Johnson P.L., Green R.E., Kelso J. et al. 2007: Patterns of damage in genomic DNA sequences from a Neandertal. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104:14616-14621. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704665104>
- 大山町教育委員会 1982:『向原古墳群—第6号古墳発掘調査報告書—』大山町文化財調査報告書第6集
- 藤尾慎一郎・木下尚子・坂本 稔・瀧上 舞・篠田謙一 2022:「考古学データによるヤポネシア人の歴史の解明—2020年度の調査—」『国立歴史民俗博物館研究報告』第237集, pp.3-15
- Gamba C., Jones E.R., Teasdale M.D., McLaughlin R.L., Gonzalez-Forbes G., Mattiangeli V. et al. 2014: Genome Flux and Stasis in a Five Millennium Transect of European Prehistory. *Nature Communications* 5: 5257.
- 濱田竜彦・瀧上 舞・坂本 稔 2021:「鳥取県内所在古墳群出土人骨の年代学的調査 (1) —越敷山古墳群・日下古墳群・向原古墳群—」『国立歴史民俗博物館研究報告』第229集, pp.127-143
- Hanihara K. 1991: Dual structure model for the population history of the Japanese. *Japan Review*, 2: pp.1-33.
- 井上晃孝 1982:「向原6号古墳の埋葬遺体」『向原古墳群—第6号古墳発掘調査報告書—』, 大山町教育委員会, pp.24-30
- 井上貴央 1992:「日下古墳群より検出された古墳時代人骨について」『日下古墳群発掘調査報告書』, 米子市教育委員会, pp.170-194
- 井上貴央・松原章範・岡崎健治・江田真毅・足立昭子 2013:「金廻家ノ上遺跡から検出された人骨について」『金廻家ノ上ノ内遺跡・越敷山古墳群 (金廻地区)』, 鳥取県教育文化財団, pp.108-120
- Japanese Archipelago Human Population Genetics Consortium, Jinam T.A., Nishida N., Hirai M., Kawamura S., et al. 2012: The history of human populations in the Japanese Archipelago inferred from genome-wide SNP data with a special reference to the Ainu and the Ryukyuan populations. *Journal of Human Genetics*, 57: pp.787-795.
- 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.
- Kakuda, T., Shoji, H., Tanaka, M., et al. 2016: Multiplex APLP System for High-Resolution Haplogrouping of Extremely Degraded East-Asian Mitochondrial DNAs. *PLoS ONE* 11(6): e0158463. doi:10.1371/journal.pone.0158463.
- 神澤秀明・角田恒雄・安達 登・篠田謙一 2021a:「香川県高松市高松茶臼山古墳出土古墳前期人骨の核 DNA 分析」『国立歴史民俗博物館研究報告』第228集, pp.369-374
- 神澤秀明・角田恒雄・安達 登・篠田謙一・斎藤成也 2021b:「鳥根県出雲市猪目洞窟遺跡出土人骨の核 DNA 分析」『国立歴史民俗博物館研究報告』第228集, pp.329-340
- 神澤秀明・角田恒雄・安達 登・篠田謙一 2021c:「鳥取県鳥取市青谷上寺地遺跡出土弥生後期人骨の核 DNA 分析」『国立歴史民俗博物館研究報告』第228集, pp.295-308
- 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. <https://doi.org/10.1007/s12267-017-9444-4>

- org/10.1038/jhg.2016.110
- Pinhasi R., Fernandes D., Sirak K., Novak M., Connell S. et al. 2015: Optimal Ancient DNA Yields from the Inner Ear Part of the Human Petrous Bone." *PloS One* 10 (6): e0129102.
- 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. <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0776-0>
- 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 2017:「佐世保市岩下洞穴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・角田恒雄・安達登 2019:「西北九州弥生人の遺伝的な特徴」『*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:「鳥取県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, 国立歴史民俗博物館 pp.163-178
- 篠田謙一・神澤秀明・角田恒雄・安達登・清家章 2022:「韓国慶北永川完山洞古墳群出土三国時代人骨の DNA 分析」『永川—新慶州複線鉄 1 工区内永川完山洞山 28-5 番地遺跡』, ウリ文化財研究院, pp.439-453
- 鳥取県教育文化財団. 2013:『金廻家ノ上ノ内遺跡・越敷山古墳群（金廻地区）』, 一般国道 181 号（岸本バイパス）道路改良工事に伴う埋蔵文化財発掘調査報告書 X, 鳥取県教育文化財団調査報告書 119
- Umetsu K., Tanaka M., Yuasa I., 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.
- van Oven M. and Kayser M. 2009: Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum Mutat* 30:E386-394. <https://doi.org/10.1002/humu.20921>
- Weissensteiner H., Pacher D., Kloss-Brandstatter A., Forer L., Specht G., et al. 2016: HaploGrep 2: mitochondrial haplogroup classification in the era of high-throughput sequencing. *Nucleic Acids Res* 44:W58-63. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw233>
- 米子市教育委員会 1992:『日下古墳群発掘調査報告書』

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）

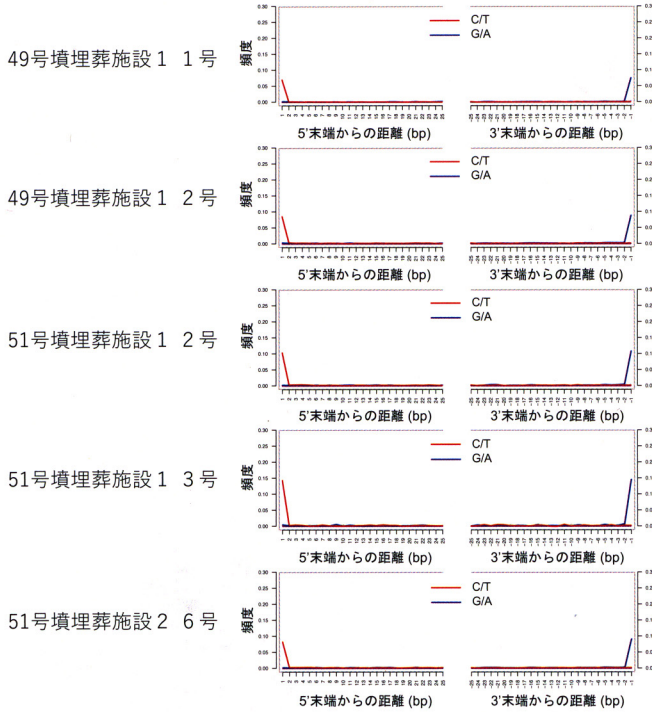
安達 登（山梨大学医学部法医学講座）

篠田謙一（国立科学博物館）

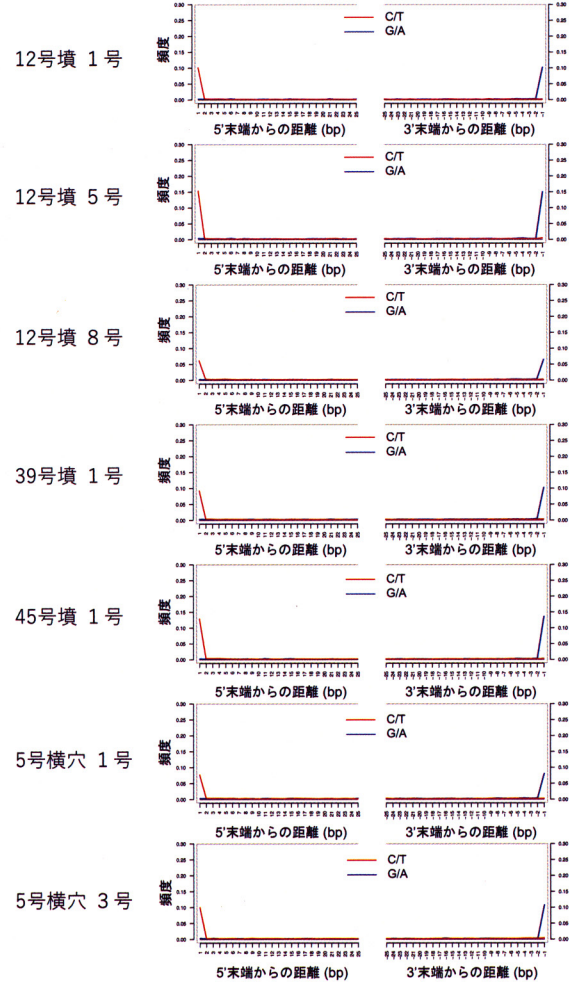
濱田竜彦（鳥取県地域づくり推進部文化財局）

（2021 年 11 月 26 日受付, 2022 年 3 月 15 日審査終了）

a) 越敷山古墳群



b) 日下古墳群



c) 向原古墳群

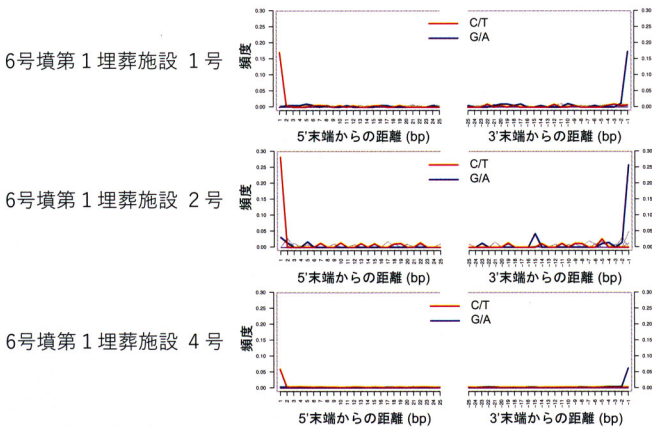


図6 DNA断片の末端のダメージ