

沖縄県読谷村出土貝塚時代人骨のDNA分析

木綿原遺跡・大当原遺跡

DNA Analysis of Human Bones of the Shell Midden Period
Excavated in Yomitan, Okinawa

SHINODA Ken-ichi, KANZAWA Hideaki, KAKUDA Tsuneo, ADACHI Noboru and DOI Naomi

篠田謙一・神澤秀明・角田恒雄・安達 登・土肥直美

I はじめに

本土日本と異なる文化編年を持つ沖縄の先史時代は、本土日本の縄文時代に相当する貝塚時代前期と、弥生時代から平安時代にあたる貝塚時代後期の2つに大きく分けられる。貝塚時代後期の初めには、九州との交易も活発に行われており、九州の弥生遺跡からは琉球列島産の貝でできた腕輪なども発見されており、双方の間に交流があったことが知られている。ただし、この時代の琉球列島集団の遺伝的な特徴についてはほとんど知られておらず、両者の関係も不明である。今回我々は、沖縄県読谷村に存在する弥生時代相当期の貝塚後期の遺跡から出土した人骨のDNA分析を行う機会を得た。

そのうちの一カ所である大当原^{うふとうぼる}貝塚は貝塚時代後期の土器型式の一つである大当原式土器の標識遺跡となっていることでも有名で、周辺の海岸部に貝塚時代後期（弥生～平安時代相当期）の遺跡が多く分布している。この遺跡も年代測定の結果、貝塚時代後期に所属することが分かっている[木下他, 2020]。1972年と1989年の二度の調査が行われ、土器を被せた頭骨や集骨状態の人骨が多数出土している[竹中・土肥 2009]。

もう一カ所の木綿原^{もめんぼる}遺跡も東シナ海に面した砂丘上に所在する遺跡で、1977年に発掘調査が行われ[佐野 1978]、総数で14～17体の人骨が出土したとされている[松下 2003]。人骨の年代は、放射性炭素年代法を用いた測定で、貝塚後期の初頭に属することが明らかとなっている[木下他, 2020]。

今回の分析では、大当原遺跡出土人骨については、APLP法を用いた簡易的なミトコンドリアDNAのハプログループ分析を行い、木綿原遺跡出土人骨については、それとともに次世代シーケンサ(NGS)を用いたミトコンドリアDNAの全塩基配列を決定した。これらの研究によって、貝塚時代初期の琉球列島集団の遺伝的な特徴の一端を明らかにできたので報告する。

II 材料および方法

DNA 分析に用いたサンプルは、表 1 に示した木綿原遺跡の 4 個体と大当原遺跡の 4 個体の合計 8 個体である。今回の分析でも、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]。

また今回の分析では、大当原遺跡出土人骨については、APLP 分析 (Amplified Product-Length Polymorphism method) [Umetsu et al., 2005] のみを行い、木綿原遺跡出土のサンプルについては APLP 分析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 の分析は篠田他 [2020] に従って行った。

III 結果

1. 大当原遺跡出土人骨の APLP 分析の結果

大当原遺跡出土人骨の 4 個体に関する APLP 分析の結果を図 1 と 2 に示す。いずれの個体でも明瞭なバンドが確認されており、マクロハプログループおよび M7 を細分するプライマーセットでの判定を行う事ができた。その結果全ての個体がハプログループ M7a1 に属することが明らかとなった。なお、現段階ではミトコンドリア DNA の簡易分析に留まっているが、将来的には NGS を用いてミトコンドリア DNA の全塩基配列の決定と、核ゲノムの解析を実施する予定である。

2. 木綿原遺跡出土人骨のミトコンドリア DNA 分析

木綿原遺跡の 4 体のうち、3 つのサンプル (No.3, No.5, No.8) に関し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 (表 2)。残りの 12 号人骨については時間的な制約から APLP 分析まで行った。その結果、8 号人骨に関しては、得られたミトコンドリア DNA のリードが少なく、ハプログループの決定を行う事はできなかったが、3 号と 5 号については、共に M7a1a であることが判明した。これは事前の APLP 分析によるハプログループ判定とは異なっている (表 1)。直接 DNA 配列情報を読み取っている NGS の解析の方が、正確であると考えられるので、APLP 分析は、元々 DNA 量が少なかったことに起因するアーティファクトの結果を見たと考えられる。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 断片の全てを網羅的に配列決定する 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 DNA データを抽出できることを示している。

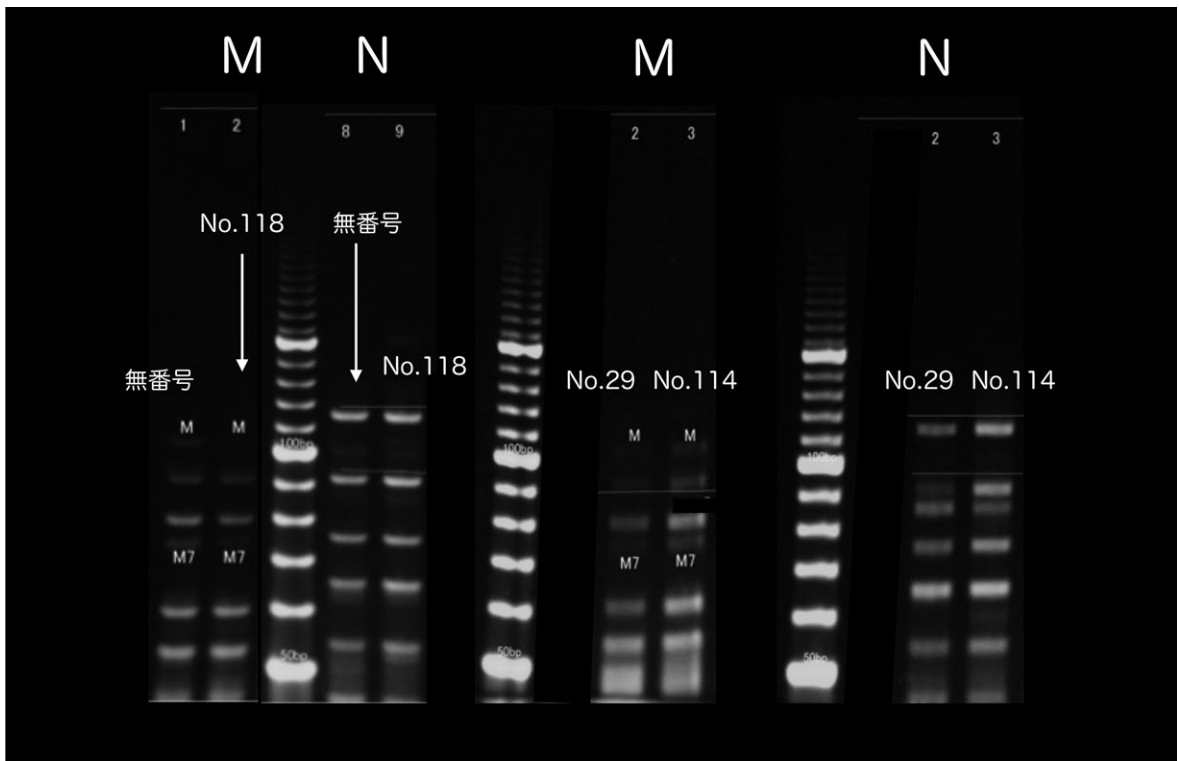


図1 読谷村大当原遺跡出土人骨のマクロハプログループMとNの検定

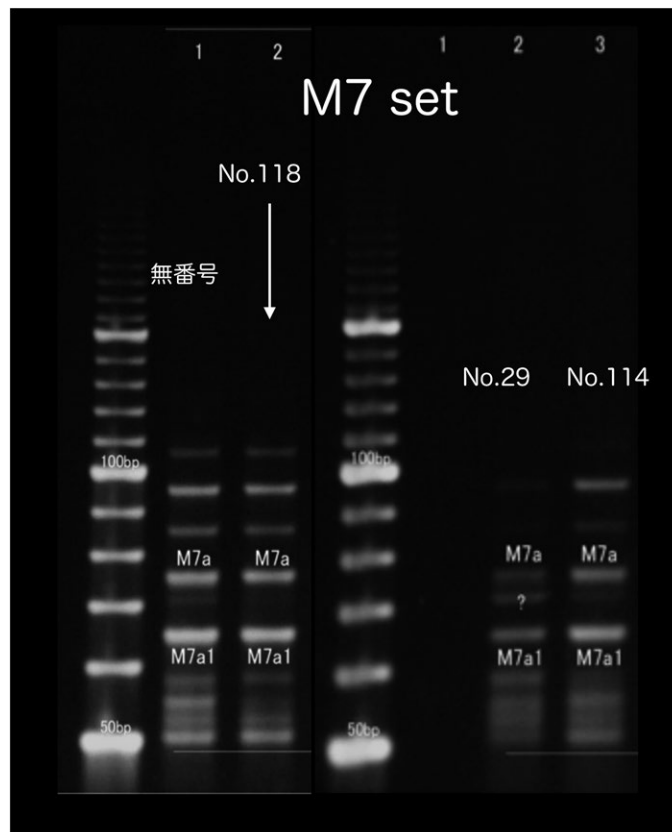


図2 ハプログループM7を細分するAPLP分析の結果

表1 解析した読谷村木綿原遺跡および大当原遺跡出土のサンプル

個体番号	解析部位	APLP 分析による結果	NGS による結果
読谷村木綿原遺跡			
No.3 (下層)	左上顎第2大臼歯	(D4)	M7a1a
No.5	左上顎第3大臼歯	M10	M7a1a
No.8	側頭骨	(D4a)	N.D.
No.12	左上顎第2大臼歯	D4	-
読谷村大当原遺跡			
無番号	左側頭骨	M7a1	-
No.29	左側頭骨	M7a1	-
No.114	右側頭骨	M7a1	-
No.118	左側頭骨	M7a1	-

N.D. は実験の結果が得られなかったことを示す。

表2 ミトコンドリア DNA 分析の結果

分析個体番号	木綿原3号(下層)人骨	木綿原5号	木綿原8号(側頭骨)
インデックス1	D501	D502	D503
インデックス2	D701	D702	D703
総ベアリード数 (n)	75,479	133,565	54,853
ミトコンドリア DNA 由来のリード数 (n)	3,107	4,355	255
(%)	4.12%	3.26%	0.46%
重複リードの除去, mapq20 後のリード数 (n)	770	721	8
ハプログループ推定 (Haplogrep2.0) (Quality)	R (0.7332)	M7a1a (0.5968)	-
ハプログループ推定 *1	M7a1a	M7a1a*	-
Schmutzi による汚染率推定 [min, max]	0 [0-0.95]	0 [0-0.95]	-
ハプログループ不一致 (%) [95% 信頼区間] *1	0%	20% [0-55.06]	-

*1 Kanzawa-Kiriyama et al. [2017] の手法。汚染率推定では Transversion サイトのみを用いて解析。

IV 考察

読谷村大当原遺跡および木綿原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 M7a1 系統であったが、これまでに我々が行った分析から、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 [篠田他, 2019]。特に全塩基配列を決定できた木綿原遺跡出土人骨では、同じ M7a1 であっても、貝塚前期の集団が持つ M7a1a 系統と、細かい部分で突然変異を共有しており、同じ系統の祖先と子孫の関係にあることが示唆されている。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 [篠田他, 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、現状では九州と沖縄には共通する系統はない。このことは、少なくとも母系については、九州と沖縄の間に交流がなかったことを示している。

貝塚時代の前期と後期は、基本的には本土日本の縄文時代から弥生時代への移行に対応しているとされる。弥生時代は稲作の開始によって定義されており、自然人類学の分野では、大陸から渡来した人々によって持ち込まれたと考えている [Hanihara 1991]。そしてその後に来る縄文人集団

と渡来人の混血が始まることを想定している。しかし、稲作の普及が遅れる沖縄での混血の状況には不明な点も多かったが、ミトコンドリア DNA の系統で見ると、貝塚前期と後期の初頭は連続しており、集団の遺伝的な構成を変えるような外部からの流入はなかったことが示唆される。もちろん、ミトコンドリア DNA は母系にのみ遺伝するので、男性の流入を捉えることはできない。今後、核ゲノムの解析を勧めることで、この問題を解決したい。

謝辞

本研究を進めるにあたり、貴重なサンプルを分析する機会をいただいた沖縄県読谷村教育委員会に感謝します。なお、本研究は文部科学省科学研究活動費の新学術領域（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

- Hanihara K. 1991 Dual structure model for the population history of the Japanese. *Japan Review*, 2: pp. 1-33
- 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
- 木下尚子・坂本稔・瀧上舞 2020 :「沖縄県読谷村所在遺跡出土貝塚後期の貝塚集積と人骨等の年代学的調査」『国立歴史民俗博物館研究報告』第 219 集, pp. 277 ~ 294
- 松下孝幸 2003 :「沖縄県読谷村木綿原遺跡出土の弥生時代人骨」『南島考古』22: pp. 67-108
- 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
- 佐野一 1978 :「木綿原遺跡出土の人骨について」『木綿原-沖縄県読谷村渡具知木綿原遺跡発掘調査報告書』読谷村文化財調査報告第 5 集, 沖縄県読谷村教育委員会・読谷村立歴史民俗資料館. pp. 112 ~ 114
- 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 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 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, pp.163 ~ 178
- 竹中 正巳・土肥 直美 2009 :「沖縄貝塚後期時代人下顎骨に認められた静止性骨空洞」『南九州地域科学研究所所報』25: pp. 9 ~ 13
- 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., King M.J., Chiu N.M., Kuchar M.J., and Griggs C.W., 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）
土肥直美（文化財サービス）

(2019 年 5 月 10 日受付, 2019 年 10 月 7 日審査終了)