

# 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

Nuclear DNA Analysis of Human Bones of the Late Yayoi Period  
Excavated at Aoya-Kamijichi Site, Tottori-shi, Tottori Pref.  
KANZAWA Hideaki, KAKUDA Tsuneo, ADACHI Noboru and SHINODA Ken-ichi

神澤秀明・角田恒雄・安達 登・篠田謙一

## I はじめに

鳥取県鳥取市（旧気高郡）青谷町の青谷上寺地遺跡は、弥生時代前期末から古墳時代初頭の遺跡である。1998年度から2000年度にかけて行われた発掘調査で、2区から単独の頭蓋骨（頭骨No.33）、3区B26南東側から漂着人骨1体、4区北西側と南西側からそれぞれ漂着人骨2と3、また8区西側に検出された溝跡（SD38）からは人骨がおよそ5300点、個体数にすれば少なくとも109体が、土器などの遺物とともに出土した〔鳥取県教育文化財団2000, 2001〕。堆積層から出土しており、同一層に共伴する土器の型式および人骨の年代分析から、頭骨No.33と漂着人骨1, 2は弥生時代中期、SD38の人骨は弥生時代後期に属することが明らかとなっている〔鳥取県教育文化財団2002；濱田ほか2020〕。人骨は泥湿地から出土したため保存状態が良く、中には脳が残っている個体が認められる。また、人骨に多数の殺傷痕が認められ、出土人骨の属する時期が『魏志倭人伝』、『後漢書』に記された「倭国大乱」の時期と重なってくる点で発見当時から注目された。

青谷上寺地遺跡からは弥生時代の保存良好な人骨が多数出土しており、人類学的に山陰地方を代表する重要な遺跡である。これまで人骨の形態学的研究とともに、DNA分析が行われている。従来はミトコンドリアDNAの部分配列の分析に限られていたが〔井上2006〕、2010年以降に次世代シーケンサ（NGS：Next Generation Sequencer）が古代DNA研究に導入されると、これまで不可能と考えられていた核DNAからも多くの遺伝情報が得られるようになり、人類学的に重要な知見が多く得られている〔例えば、Rasmussen et al. 2010〕。本遺跡でもNGSによる分析が行われ、32個体のミトコンドリアDNAハプログループを決定し、さらにDNAの保存状態の良い6個体について核DNAの配列が得られた〔篠田ほか2020〕。これらの解析から、母系に遺伝するミトコンドリアDNAでは渡来系のタイプが大半であるのに対し、父系に伝わるY染色体DNAでは大部分が在来の縄文系であることが明らかとなり、婚姻が在来系集団と渡来系集団の間でランダムに行われなかった可能性が示唆されている。一方で核DNAの解析では、両集団は混血が進み、総体としては現代日本人に近い遺伝的な組成をしていることが判明した。また、個体同士の遺伝的な違いは大きく、十分な混血が進んでいなかったことも示唆されている。以上の結果は非常に興味深い。核

表1 解析した青谷上寺地遺跡出土のサンプル

No.	個体番号	採取部位	文献
19	頭骨 No.19 (31008)	上顎右第2大臼歯	[篠田ほか2020]
23	頭骨 No.23 (27674)	右側頭骨	[篠田ほか2020]
25	頭骨 No.25 (26824)	右側頭骨	[篠田ほか2020]
32	頭骨 No.32 (32551)	下顎右第2大臼歯	[篠田ほか2020]
33	頭骨 No.33 (7437-7446)	上顎右第1大臼歯	[篠田ほか2020]
9	頭骨 No.9 (27704)	右側頭骨	[篠田ほか2020]
-	漂着人骨1 頭蓋 No.34	右側頭骨	本報告
-	漂着人骨2 下顎 18997	臼歯	本報告

DNA まで分析された個体が不十分であることから、結論を出すことは難しかった。そこで本研究では、新たに複数個体の核 DNA を分析することで、上記の課題について検証を試みた。

## I 材料及び方法

### 1. 分析サンプルの選定

漂着人骨1～3と付記された人骨のうち、漂着人骨1, 2から分析用試料を採取した。漂着人骨1, 2は共に1体分と考えられる。分析にはそれぞれ、側頭骨および臼歯を用いた(表1)。また核DNA分析を目的として、[篠田ほか2020]でミトコンドリアDNAまで分析した個体のうち、DNAの状態が良好でコンタミ率が低い6点を新たに選出した。この6点については、すでにDNA抽出からミトコンドリアDNA分析まで完了しているため、4.のDNAライブラリ作成およびMYbaits WGE (Whole Genome Enrichment) (Arbor Biosciences, Michigan, USA)によるヒトDNAの濃縮から作業を行った。

### 2. DNAの抽出方法

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、錐体部の上面にドリルで小さな穴を開けて、そこから内耳にアプローチすることで試料粉末(約200mg)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8mlのEDTA pH 8.0の溶液を加え、56°Cで低速回転させながら一晩かけた。その後、溶液を8000rpm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8mlのEDTA pH 8.0の溶液を加え、56°C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8000rpmで1分間遠心して上清を除去し、残存したペレットに1000µlのGenomic Lyse buffer (Genetic ID)お

よび 50  $\mu$ l の 20 mg/ml proteinase K を加えて懸濁し、低速回転させながら 56 $^{\circ}$  C で一晩かけてタンパク質を溶解した。溶解後の溶液を 1500  $\mu$ l のフェノール・クロロホルム・イソアミルアルコール (25:24:1) および 1500  $\mu$ l のクロロホルムで抽出したのち、Fast ID DNA extraction kit (Genetic ID) を用いて DNA 溶液を得た。DNA の溶出には、65 $^{\circ}$  C に加温した 130  $\mu$ l の Buffer EB (QIAGEN) を用いた。

### 3. 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 [安達ほか 2014] と [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化するための、プライマーセットを用いた PCR 反応を行った。得られた PCR 溶液を電気泳動し、ハプログループの判定を行った。

### 4. 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

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。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、[Maricic et al. 2010] の方法に従い濃縮した。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。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：(1) インデックスホッピングを排除するために、正しいインデックス配列が組み込まれているシーケンスデータのみを回収した、(2) 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。

核 DNA 分析を行う個体については、まずライブラリを MiSeq でシーケンスし、ヒト由来の DNA の含有率を確認した。今回は全ての個体で含有率が低かったことから、MYbaits WGE によりヒト DNA 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 Ten (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、[篠田ほか 2019] の方法で行った。

### 5. 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 DNA 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 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。

## 6. 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 (contamination rate) 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。

核 DNA 分析のために取得したリードについても、現代人 DNA の混入による汚染率の推定を再度行った。ミトコンドリア DNA にマップしたリードについて、先ほどと同様にソフトウェア [2schmutzi と Kanzawa-Kiriyama et al. 2017] の手法を用いた推定を行った。また、核 DNA にマップしたリードについても 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。

## 7. 核 DNA データの解析

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、[篠田ほか 2019] の方法に従った。本研究で新たにシーケンスした青谷上寺地 7 個体の DNA 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、The 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 DNA データに、古代人の DNA データとして、本研究で得られた青谷上寺地 7 個体、[篠田ほか 2020] の

表 2 ミトコンドリアDNA分析の結果

遺物番号	漂着人骨1頭蓋 No.34	漂着人骨2 下顎 18997
インデックス1	D508	D507
インデックス2	D706	D705
総ペアリード数 (n)	454,656	266,304
ミトコンドリアDNA由来のリード数 (n)	30,275	146,248
(%)	7.96%	56.25%
重複リードの除去, mapq20後のリード数 (n)	<b>25,738</b>	<b>83,275</b>
ハプログループ推定 (Haplogrep2.0) (Quality)	D4b2b1d 1.0000	N9b3 0.9221
ハプログループ推定 (1)	D4b2b1d	N9b3
Schmutzilによる汚染率推定 [min, max]	0.165 [0.135-0.195]	0.55 [0.030-0.080]
ハプログループ不一致 (%) [95%信頼区間] (1)	1.18% [0.47-1.88]	0.59% [0.30-0.87]
APLP	D4b2	N9b3
ハプログループ	<b>D4b2b1d</b>	<b>N9b3</b>

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

青谷上寺地 6 個体, 福島県三貫地 131464 [Kanzawa-Kiriyama et al. 2017], 北海道船泊縄文 5 号, 23 号 [Kanzawa-Kiriyama et al. 2019], [McColl et al. 2018] の愛知県伊川津縄文 IK002, Tianyuan (40,000 年前の古代東アジア人) [Yang et al. 2017], Devil's Gate1 と 2 (7,700 年前のアムール川下流域の古代東アジア人) [Siska et al. 2017], 長崎県下本山 2 号, 3 号 [篠田ほか 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。

## II 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について

新たに DNA 抽出した漂着人骨 1, 2 の 2 点について APLP 分析を行い, 両個体から良好な結果が得られた (表 2)。続いて NGS によるミトコンドリア DNA 分析を行い, いずれの個体からもミトコンドリア DNA にマップされたリードが多く得られた。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それぞれ 50, 46BP と非常に短く (図 1), 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 2)。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。

### 2. NGS による分析から推定された青谷上寺地漂着人骨のミトコンドリア DNA ハプログループについて

漂着人骨 1, 2 のいずれから, ハプログループ推定に十分なリード数を得ることができている (表 2)。このデータから推定されたハプログループはそれぞれ, D4b2b1d, N9b3 となり, APLP 法による分析結果と矛盾しない。前者は渡来系由来と考えられ, 後者は「縄文的遺伝子型」[Adachi et al. 2009] N9b のサブハプログループである。ハプログループを決定する SNPs を用いて推定した現

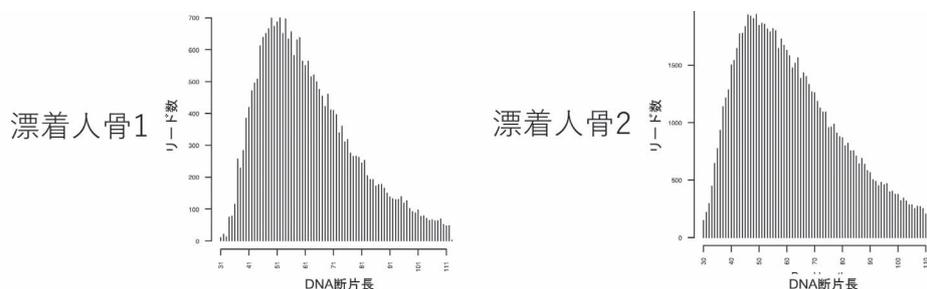


図1 青谷漂着人骨から得られたDNAの断片長の分布  
横軸はDNA断片長、縦軸は各断片長でのリード数

代人DNAからの汚染率は、1.18%と0.59%であった。この数値は、これまでの古代DNA研究で得られている汚染率と概ね違いはない [e.g. Sánchez-Quinto et al. 2012; Fu et al. 2013]。

### 3. 核DNA分析を行う試料の選定

ミトコンドリアDNA分析で良好な結果が得られたことから、ヒトDNA含有率を調べたところ、漂着人骨1は8.48%と高かったが、漂着人骨2からはほとんど核DNA由来のDNAが得られなかった。そこで、以降の核DNA分析は漂着人骨1および、[篠田ほか2020]の6点(表1)について試みた。

### 4. 核DNAデータの信頼性、性別の判定およびY染色体ハプログループについて

分析個体から723～7,166万のユニークリードを取得し(表3)、核DNAの1.12～59.54%の領域の配列を決定した。DNAの平均深度はそれぞれ0.014～1.57となった。現代人のDNAの汚染率は19号、32号、33号、漂着人骨1は概ね1%以下と低頻度だったが、9号、23号、25号は比較的高めの汚染率となった。後者については分析手法によって推定値にばらつきがあるが、概ね3～10%程度と考えられる。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、No.23とNo.33は男性と判断する基準である10:1から大きく離れており、それ以外は10:1に近いことから、それぞれ女性、男性と判定した。検出されたY染色体ハプログループはDとO1b2であった。

### 5. 集団の比較

主成分分析によって東アジアの現代人・古代人と比較した結果、青谷上寺地13体のプロットはおおよそ現代日本人の分布の範囲内に収まったが、個体間でばらついている(図3)。データ不足によるばらつきも考慮する必要があるが、比較的DNAのカバレッジが高い漂着人骨1と8号の位置も離れており、このばらつきは個体間の遺伝的な構成の違いを反映していると考えられる。日本列島の古代人では北部九州の弥生中期人骨の安徳台5号が最も近接しており、西北九州弥生人の下本山2号、3号とは離れた。

F4-statisticsによって、青谷上寺地13個体のうち6個体は、現代日本人と比べて縄文的な遺伝要素が少ない傾向にあることが示された(表4)。一方で青谷8号は、現代日本人と比べて縄文的

表3 核DNA分析の結果

遺物番号	ライブラリID	ヘアリード数	フィルタリング後の 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	Schmutzliによる 汚染率推定 (後) (%) [min, max]	Schmutzliによる 汚染率推定 (MT) (%) [min, max]	ANGSDによる 汚染率推定 (%) [SE]	MTハプログループ 不一致 (%) [95%信頼区間] *2	核ゲノム のカバ レッジ
	1	36,952,955	242,293	50	6,948	736	10.6%	男性	D (D1b?)	14.5% [12.5-16.5%]	0.0% [0.0-95.0%]	ND	1.68% [0.41-3.00%]	1.99%
頭骨 No.19 (31008)	2	67,885,653	322,468	57	9,175	1,017	11.1%			6.5% [5.0-8.0%]	0.0% [0.0-0.5%]	ND	2.46% [1.32-3.60%]	
	3	77,102,414	383,632	58	11,080	1,206	10.9%			0.0% [0.0-0.5%]	0.0% [0.0-0.5%]	ND	2.13% [1.17-3.09%]	
	4	52,708,753	271,255	56	7,953	884	11.1%			2.5% [0.0-5.0%]	0.5% [0.0-5.5%]	ND	2.51% [1.28-3.75%]	
	1	74,233,737	2,015,656	57	96,869	206	0.2%	女性	-	0.0% [0.0-0.5%]	5.5% [0.0-11.0%]	ND	15.00% [3.61-26.39%]	12.90%
頭骨 No.23 (27674)	2	193,278,848	3,712,244	48	186,790	328	0.2%			0.0% [0.0-0.5%]	30.0% [22.5-37.5%]	ND	10.09% [4.21-15.97%]	
	3	109,665,179	3,022,061	48	157,548	250	0.2%			0.0% [0.0-0.5%]	28.0% [21.0-35.0%]	ND	4.17% [0.8-8.80%]	
	4	40,138,536	1,158,641	49	60,662	117	0.2%			0.0% [0.0-0.5%]	62.0% [56.0-68.0%]	0.09% [0.22-92%]	9.09% [0.22-92%]	
	1	126,215,178	8,599,033	48	234,256	24,752	10.6%	男性	O1b2a1	0.0% [0.0-0.5%]	31.5% [29.5-33.5%]	0.74% [1.17]	3.28% [2.17-4.39%]	34.67%
頭骨 No.25 (26824)	2	159,711,446	10,331,307	49	280,766	29,321	10.4%			0.0% [0.0-0.5%]	12.0% [9.5-14.5%]	0.40% [0.77]	4.83% [3.62-6.04%]	
	3	187,063,148	12,120,111	48	332,202	34,889	10.5%			0.0% [0.0-0.5%]	0.0% [0.0-1.0%]	1.81% [1.09]	3.48% [2.52-4.44%]	
	4	66,424,094	3,894,327	47	105,026	10,945	10.4%			2.5% [2.0-3.0%]	19.5% [16.0-23.0%]	3.64% [4.23]	3.13% [1.27-4.98%]	
	1	46,674,720	484,247	49	13,334	1,425	10.7%	男性	不明	2.0% [0.5-3.5%]	0.0% [0.0-0.5%]	ND	1.18% [0.47-1.89%]	3.03%
頭骨 No.32 (32551)	2	74,171,780	627,214	51	16,798	1,927	11.5%			0.0% [0.0-0.5%]	0.0% [0.0-0.5%]	ND	0.69% [0.16-1.22%]	
	3	65,330,629	537,813	54	14,507	1,681	11.6%			0.0% [0.0-0.5%]	0.0% [0.0-0.5%]	ND	0.82% [0.23-1.40%]	
	4	34,439,591	327,151	54	9,049	979	10.8%			0.0% [0.0-1.0%]	1.5% [0.0-5.0%]	ND	1.55% [0.52-2.58%]	
	1	66,263,211	182,031	59	9,491	29	0.3%	女性	-	0.0% [0.0-0.5%]	0.0% [0.0-0.5%]	ND	2.73% [0.82-4.64%]	1.12%
頭骨 No.33 (7437-7446)	2	108,226,468	273,758	50	14,122	41	0.3%			3.5% [2.5-4.5%]	0.5% [0.0-5.0%]	ND	0.65% [0.1-1.42%]	
	3	89,460,112	267,512	52	13,906	40	0.3%			8.5% [7.5-9.5%]	18.5% [15.0-22.0%]	ND	0.43% [0.1-1.06%]	
	1	41,588,796	863,533	59	23,177	2,542	11.0%	男性	D1b	0.0% [0.0-0.5%]	23.5% [19.0-28.0%]	ND	4.35% [0.16-13.1%]	5.87%
	2	57,966,556	1,127,817	54	31,611	3,341	10.6%			0.5% [0.0-1.0%]	0.0% [0.0-95.0%]	17.14% [17.22]	3.77% [0.10-36%]	
頭骨 No.9 (27704)	3	81,110,156	1,488,056	51	41,750	4,473	10.7%			0.0% [0.0-0.5%]	5.5% [0.0-13.0%]	ND	4.44% [0.9-36%]	
	4	35,274,697	607,172	51	16,633	1,821	10.9%			0.0% [0.0-0.5%]	63.0% [57.5-68.5%]	ND	4.00% [0.15-0.1%]	
	1	112,565,737	15,978,261	55	462,351	48,062	10.4%	男性	O1b2a1a1	0.0% [0.0-0.5%]	0.0% [0.0-0.5%]	0.29% [0.33]	0.41% [0.13-0.69%]	59.54%
	2	131,612,829	19,265,054	58	562,377	58,491	10.4%			0.0% [0.0-0.5%]	2.5% [0.5-4.5%]	0.15% [0.33]	0.16% [0.0-33%]	
髑髏 No.34	3	117,102,797	17,288,346	57	503,920	52,185	10.4%			0.0% [0.0-0.5%]	0.0% [0.0-0.5%]	0.34% [0.30]	0.13% [0.0-28%]	
	4	129,580,299	19,125,714	56	556,493	57,502	10.3%			0.0% [0.0-1.5%]	14.0% [12.0-16.0%]	0.45% [0.33]	0.06% [0.0-19%]	

\*1 Duplicationにより重複除去処理まで行ったデータ

\*2 Kanazawa-Kiriyama et al. [2017] の手法。

ND: No data.

要素が多い傾向にあることが示された。これらの結果は、主成分分析の大陸集団から縄文にかけての図中央から左上にかけての軸に沿ったばらつきとも一致する。つまり、青谷上寺地遺跡の遺伝的な構成のばらつきが、縄文的遺伝要素の大小によることを示している。

### Ⅲ 考察

〔篠田ほか2020〕と本研究では、青谷上寺地遺跡の人骨40点についてDNA分析を行う貴重な機会を得た。そのうちのおよそ3分に1に相当する13点から、統計解析に必要な核DNAの遺伝情報を取得することに成功した。中でも今回分析した漂着人骨1からは、核DNAの59%から遺伝情報が得られ、青谷上寺地遺跡の中で最も充実したデータとなった。最近の研究で、側頭骨には他の部位に比べて多くのDNAが残っていることが明らかとなっている〔Pinhasi et al. 2013〕。漂着人骨1も側頭骨からのサンプリングであり、このことは核DNA分析において側頭骨が重要な試料であることを改めて示す結果となった。

ミトコンドリアDNA分析に成功した36点のうち、血縁が疑われる個体を除くと31系統が認められる。そのうち、在来の縄文系のハプログループは2系統となった。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、5.4%, 39.6%, 53.8%である〔Naitoh et al. 2013〕。今回の青谷上寺地遺跡での在来の縄文系のハプログループC, Dはそれぞれ2体と3体の計5体、渡来系のハプログループOが3体と、依然として縄文系の割合は高いが、現代日本人の比率とそうかけ離れた割合では無い。〔篠田ほか2020〕は、婚姻がランダムでは無かった可能性を指摘しているが、より膨大な情報を持つX染色体からも検証は可能である。今後、明らかにしていきたい。

青谷上寺地13個体の核DNAから、集団の総体としては現代日本人に近い遺伝的傾向を示した。一方で、個体間ではばらつきが見られ、その要因が縄文的遺伝要素の強弱によることが示された。この強弱の要因は何であろうか。検討すべき点に、(1)資料の年代差、(2)階層との関連、(3)外部集団の流入や混血、(4)在来系と渡来系の混血開始から経過した世代が浅く十分な混血が進んでいない可能性、がある。

まず年代について、本遺跡の人骨はおそらく同時期に8区画西側の溝に放棄されており、強弱の要因とは考えられない。33号・漂着人骨1と溝跡の人骨群との関係は明らかではないが、それで結論が変わることはない。階層については、残念ながら本遺跡のように溝から無秩序に散乱した状態の人骨からの検討は難しいと思われる。今後、本遺跡に限らず階層のはっきりした試料の分析を進めることで、検討が可能かもしれない。一方で、外部集団との関わりについては、ミトコンドリアDNAハプログループの多様性から、ヒトの流入が多かったことが推察されている〔篠田ほか2020〕。DNAレベルでの多様性については、今回は時間的な制約で検討できなかったが、青谷上寺地遺跡の人骨の核DNAデータのように平均深度が～1.57と低い場合でも推定可能である〔Kousathanas et al. 2017〕。(4)と合わせて今後、検討したい。

青谷上寺地遺跡は、弥生時代人骨の少ない山陰地方でまとまった人骨が得られた貴重な遺跡である。そこから新たにDNAデータが蓄積されたことで、今後の日本人成立論に関する研究に大きく

表 4 F4 (アフリカ, 縄文: 青谷, 本土日本人) の比較結果

A) F4 (アフリカ, 船泊縄文: テスト, 本土日本人)

外群 (O)	集団 1 (P1)	集団 2 (P2)	集団 3 (P3)	F4	Z	SNP 数	標準誤差
Mbuti	船泊 23	Aoya32	JPT	0.001220	4.908	146956	0.000249
Mbuti	船泊 23	Aoya15	JPT	0.001127	6.390	627610	0.000176
Mbuti	船泊 23	Aoya21	JPT	0.001030	3.841	135815	0.000268
Mbuti	船泊 23	Aoya33	JPT	0.000991	2.545	54856	0.000390
Mbuti	船泊 23	Aoya25	JPT	0.000907	6.052	1687850	0.000150
Mbuti	船泊 23	Aoya1 - 34	JPT	0.000829	5.799	2889148	0.000143
Mbuti	船泊 23	Aoya31107	JPT	0.000034	0.151	276294	0.000227
Mbuti	船泊 23	Aoya9	JPT	-0.000197	-0.787	287102	0.000250
Mbuti	船泊 23	Aoya30738	JPT	-0.000203	-0.618	113675	0.000328
Mbuti	船泊 23	Aoya19	JPT	-0.000304	-0.961	97033	0.000317
Mbuti	船泊 23	Aoya23	JPT	-0.000371	-1.999	630846	0.000185
Mbuti	船泊 23	Aoya31822	JPT	-0.000439	-1.115	60892	0.000393
Mbuti	船泊 23	Aoya8	JPT	-0.000579	-3.042	1912457	0.000191

B) F4 (アフリカ, 伊川津縄文: テスト, 本土日本人)

外群 (O)	集団 1 (P1)	集団 2 (P2)	集団 3 (P3)	F4	Z	SNP 数	標準誤差
Mbuti	IK002	Aoya32	JPT	0.001371	4.732	127563	0.000290
Mbuti	IK002	Aoya15	JPT	0.001294	6.711	542296	0.000193
Mbuti	IK002	Aoya25	JPT	0.000985	6.452	1454003	0.000153
Mbuti	IK002	Aoya1 - 34	JPT	0.000950	6.873	2482362	0.000138
Mbuti	IK002	Aoya21	JPT	0.000655	2.154	118468	0.000304
Mbuti	IK002	Aoya33	JPT	0.000557	1.221	47646	0.000456
Mbuti	IK002	Aoya31107	JPT	0.000000	0.001	238836	0.000257
Mbuti	IK002	Aoya19	JPT	-0.000114	-0.319	84164	0.000357
Mbuti	IK002	Aoya9	JPT	-0.000397	-1.511	248492	0.000263
Mbuti	IK002	Aoya8	JPT	-0.000434	-2.235	1651102	0.000194
Mbuti	IK002	Aoya23	JPT	-0.000556	-2.953	547781	0.000188
Mbuti	IK002	Aoya30738	JPT	-0.000563	-1.587	99137	0.000355
Mbuti	IK002	Aoya31822	JPT	-0.000862	-1.855	52888	0.000465

貢献した。今回得られた DNA データで検討すべき残された課題については、今後も検討を行い、新たな情報を提供していきたい。

### 謝辞

本研究に際して、鳥取県地域づくり推進部文化財局鳥取弥生の王国推進課青谷上寺地遺跡整備室より貴重な青谷上寺地遺跡人骨の DNA 分析を行う機会をいただきました。ここに記して感謝いたします。また本研究では、シークエンスデータの解析のために、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。

---

なお、本調査は新学術領域研究「ゲノム配列を核としたヤポネシア人の起源と成立の解明」(代表 国立遺伝学研究所 斎藤成也)、計画研究 A02 班「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 国立科学博物館 篠田謙一)の成果の一部である。

---

#### 参考文献

---

- Adachi N, Shinoda K., Umetsu K. et al. 2009: Mitochondrial DNA Analysis of Jomon Skeletons From the Funadomari 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.
- Briggs A.W., Stenzel U., Johnson P.L.F., et al. 2007: Patterns of damage in genomic DNA sequences from a Neanderthal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(37): pp.14616-16621.
- 安達登・猩々英紀・梅津和夫 2014:「東アジア人集団のミトコンドリア DNA 多型解析を目的とした新しい APLP システム」『DNA 多型』22 (1) :pp.140 ~ 143.
- Fu Q., Meyer M., Gao X., et al. 2013: DNA analysis of an early modern human from Tianyuan Cave, China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110: pp.2223-2227.
- 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.
- 濱田竜彦・坂本稔・瀧上舞 2020:「鳥取県鳥取市青谷上寺地遺跡出土弥生中・後期人骨の年代学的調査」『国立歴史民俗博物館研究報告』第219集, pp.147 ~ 162.
- 井上貴央 2006:『青谷上寺地遺跡の弥生人と動物』鳥取県教育委員会
- 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.
- 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: 83-108.
- Korneliussen T.S., Albrechtsen A., and Nielsen R. 2014: ANGSD: analysis of next generation sequencing data. *BMC Bioinformatics*, 15: 356.
- Kousathanas A., Leuenberger C., Link V. et al. 2017: Inferring Heterozygosity from Ancient and Low Coverage Genomes. *Genetics* 205(1): pp.317-332.
- 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
- Maricic T., Whitten M., and Pääbo S. 2010: Multiplexed DNA sequence capture of mitochondrial genomes using PCR products. *PLoS ONE* 5(11): e14004.
- McColl H., Racimo F., Vinner L., Demeter F., Gakuhari T. et al. 2018: The prehistoric peopling of Southeast Asia. *Science* 361: pp.88-92
- 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: 1065-1093.
- 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.
-

- Rasmussen M., Li Y., Lindgreen S., Pedersen J.S., et al. 2010: Ancient human genome sequence of an extinct Palaeo-Eskimo. *Nature* 463: 757-762.
- 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.
- Sánchez-Quinto F., Schroeder H., Ramirez O., et al. 2012: Genomic affinities of two 7,000-year-old Iberian hunter-gatherers. *Current Biology* 22: 1-6.
- 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—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: <https://doi.org/10.1537/asj.1904231>
- 篠田謙一・神澤秀明・角田恒雄・安達登 2020: 「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.163 ~ 178.
- Siska V., Jones E.R., Jeon S., Bhak Y., Kim H-M. et al. 2017: Genome-wide data from two early Neolithic East Asian individuals dating to 7700 years ago. *Science Advances* 3: e1601877.
- The 1000 Genomes Project Consortium 2012: An integrated map of genetic variation from 1, 092 human genomes. *Nature* 491: pp.56-65.
- 鳥取県教育文化財団 2000: 『青谷上寺地遺跡 2』.
- 鳥取県教育文化財団 2001: 『青谷上寺地遺跡 3』.
- 鳥取県教育文化財団 2002: 『青谷上寺地遺跡 4』.
- 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. *Human Mutation* 30(2): pp.E386-E394.
- Weissensteiner, H., Pacher, D., Kloss-Brandstätter, A., et al. 2016: HaploGrep 2: mitochondrial haplogroup classification in the era of high-throughput sequencing. *Nucleic Acids Research* 44: pp.W58-W63.
- Yang M.A., Gao X., Theunert C., Tong H., Aximu-Petri A. et al. 2017: 40,000-Year-Old Individual from Asia Provides Insight into Early Population Structure in Eurasia. *Current Biology* 27: pp.3202-3208.

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 (国立科学博物館人類研究部)

(2020年4月9日受付, 2020年8月20日審査終了)

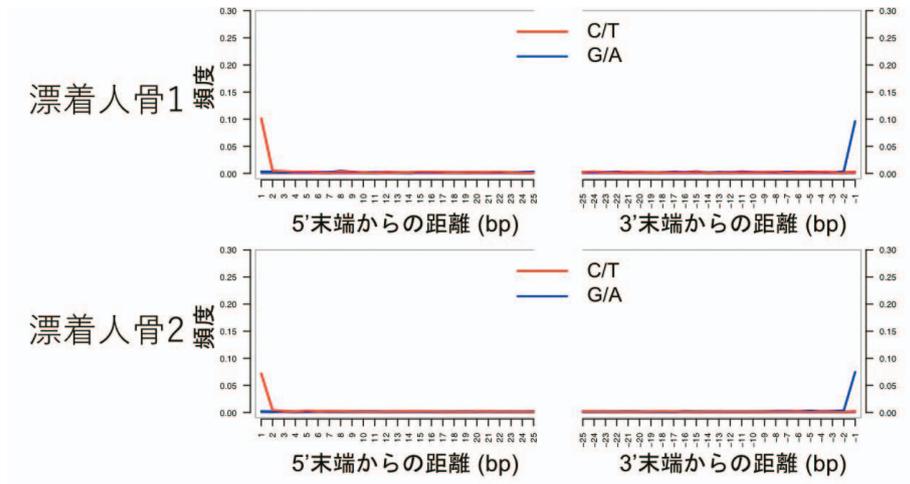


図2 青谷上寺地漂着人骨のリード末端の C/T, G/A の置換率

キャプチャ後、ミトコンドリア DNA 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。

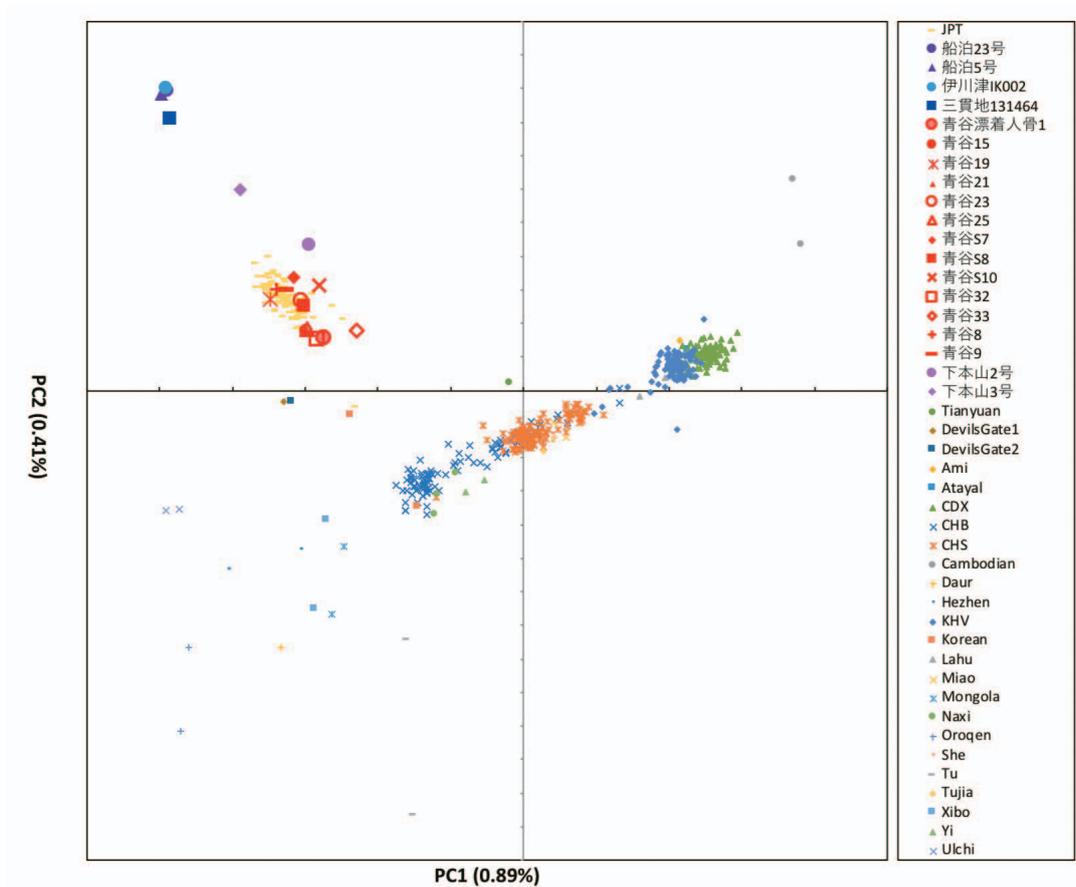


図3 主成分分析による古代人と現代人の比較