

世界初!! 縄文人の核DNAを抽出!

昨年、国立遺伝学研究所の斎藤成也教授らのグループは、1954年に発掘され、東京大学総合研究博物館が保管していた福島県三貫地貝塚出土人骨の歯から、世界で初めて縄文人の核DNAの抽出に成功し、縄文人のゲノム解析を成し遂げた。縄文人と世界中の民族の遺伝子比較が可能になったのである。早速、ここに斎藤教授の玉稿を掲載させていただく。

特別寄稿

三貫地貝塚出土人骨の核DNAについて

斎藤成也 (国立遺伝学研究所)

福島県新地町三貫地貝塚出土縄文時代人の歯から抽出されたDNAから、われわれは細胞核ゲノムの塩基配列決定をおこない、解析した。その結果を、2016年9月1日に、日本人類遺伝学会の機関誌 Journal of Human Geneticsに“A partial nuclear genome of the Jomons who lived 3000 years ago in Fukushima, Japan”と題した論文として、オンライン版に発表した(紙版は2017年2月、62巻 213-221頁として発行された)。本稿ではこの論文の紹介をおこなう。現在国立科学博物館人類研究部の研究員である神澤秀明博士が筆頭著者だが、彼が国立遺伝学研究所集団遺伝研究部門の斎藤研究室に、総合研究大学院大学遺伝学専攻の大学院生として在籍していたときにおこなった研究がもとになっている。国立遺伝学研究所人類遺伝研究部門の井ノ上逸朗教授と細道一善助教(現在は金沢大学医学部准教授)、国立科学博物館の篠田謙一副館長、田嶋敦金沢大学医学部教授の協力を得て、塩基配列決定をおこなった。斎藤研究室のTimothy A. Jinam助教が系統樹解析を、Kirill Kryukov博士研究員(現在は東海

大学医学部)が塩基配列解析をてがけた。三貫地貝塚出土人骨の歯を用いたが、サンプルは東京大学総合研究博物館の諏訪元館長が管理されている三貫地貝塚の標本から借りだし、また炭素14法に

よる年代推定(およそ3000年前)は同博物館の米田穰教授がおこなった。次世代シーケンサーが生み出した28億7800万塩基から、ヒトゲノムの配列1億1500万塩基を選び出した。比率でいうと、決定された全塩基配列のなかの4%弱しかないが、それでも1億個を優に越えている。バクテリア由来の塩基配列が大部分だったが、これはもともとDNA抽出に用いた歯が、縄文時代の貝塚に埋められてから3000年経過しているのも、そのあいだに歯に進入したものだと考えられる。このほかカビなどの菌類も入っていた。このようにして選ばれたヒト由来のDNAだが、今度はそれらが本当に縄文人由来なのか、それとも現代の考古学者や人類学者、あるいは実験をした神澤さん本人由来なのか問題となる。これがマンモスなど、人間とはかなり異なる生物のDNAであれば、塩基配列そのものからヒトかマンモスかが判別できるが、同じ人間の場合は99.9%以上が同一なので、別の識別方法が必要となる。そこで、得られたDNA配列の塩基パターンを調べた。このパターンから、得られたDNA配列の大部分が古代DNAかどうかを判定することができる。古代DNAであれば、死後長い時間がたつあいだに、一部のシトシン(C)のアミノ基が脱落して、サイミン(T)に変化することが知られている。そこで、ヒト由来とされた塩基配列をそれに対応するヒトゲノム(現代人)の配列と比較したときには、古代DNAであれば、現代人のCのところTに変化している割合が高まるはずである。現代人から得られた塩基配列だったら、A, C, G, Tとも違いがほとんどなく、ゼロに近いところにと



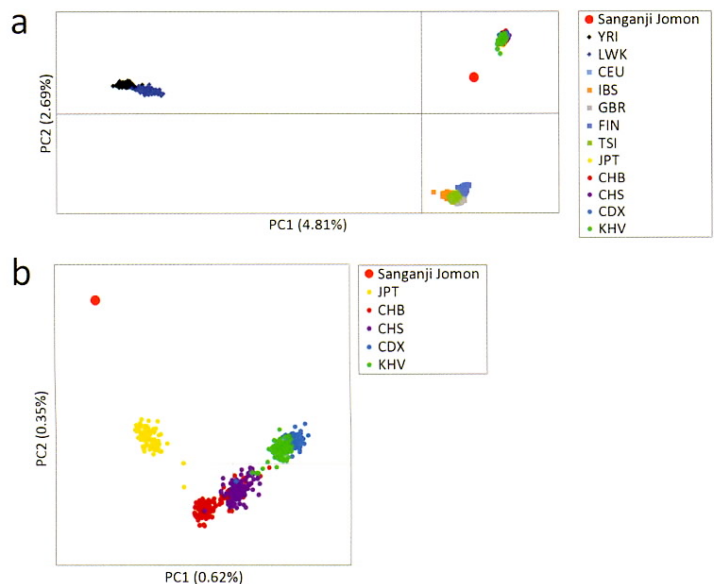
核DNAが抽出された三貫地貝塚出土縄文人骨

よる年代推定(およそ3000年前)は同博物館の米田穰教授がおこなった。次世代シーケンサーが生み出した28億7800万塩基から、ヒトゲノムの配列1億1500万塩基を選び出した。比率でいうと、決定された全塩基配列のなかの4%弱しかないが、それでも1億個を優に越えている。バクテリア由来の塩基配列が大部分だったが、これはもともとDNA抽出に用いた歯が、縄文時代の貝塚に埋められてから3000年経過しているのも、そのあいだに歯に進入したものだと考えられる。このほかカビなどの菌類も入っていた。このようにして選ばれたヒト由来のDNAだが、今度はそれらが本当に縄文人由来なのか、それとも現代の考古学者や人類学者、あるいは実験をした神澤さん本人由来なのか問題となる。これがマンモスなど、人間とはかなり異なる生物のDNAであれば、塩基配列そのものからヒトかマンモスかが判別できるが、同じ人間の場合は99.9%以上が同一なので、別の識別方法が必要となる。そこで、得られたDNA配列の塩基パターンを調べた。このパターンから、得られたDNA配列の大部分が古代DNAかどうかを判定することができる。古代DNAであれば、死後長い時間がたつあいだに、一部のシトシン(C)のアミノ基が脱落して、サイミン(T)に変化することが知られている。そこで、ヒト由来とされた塩基配列をそれに対応するヒトゲノム(現代人)の配列と比較したときには、古代DNAであれば、現代人のCのところTに変化している割合が高まるはずである。現代人から得られた塩基配列だったら、A, C, G, Tとも違いがほとんどなく、ゼロに近いところにと

どまるはずだ。ところが、三貫地貝塚から発掘された縄文人の歯由来のヒトDNA配列の塩基パターンでは、Tのみ、ずれがあった。しかもそのずれは次世代シーケンサーの生み出した塩基配列の最初の部分が高く、その後低くなっていった。これは、古代DNAで予想されるパターンである。このほかにも、古代DNAでは短くなったDNAの両末端がプリン（アデニンAまたはグアニンG）の場合には、これら塩基が脱落する傾向があることを確かめたり、ミトコンドリアDNAの塩基配列が1個体（すなわち縄文人）由来であることをチェックしたりした。配列決定した3サンプルのうち、1サンプルではミトコンドリアDNAの配列が複数発見される割合が高かったので、現代人のDNAが混入していると考えて、以下の解析では使わなかった。こうして、いよいよ他の人間のデータとの比較をおこなった。

ヒトゲノムの塩基配列が2003年に決定されたときには、1ゲノムだけだった。その後すぐに両親から2セットのゲノムを受け継いだ個人ゲノムの配列決定がはじまり、一方では数百人規模の塩基配列をどんどん決定して、ヒトゲノムのDNA多様性を大規模に調べたハップマップ計画の成果が2005年に公表された。ここには、日本の東京在住者（JPT）も含まれていた。それから7年後の2012年には、世界の多数集団1000人余のゲノム配列が決定された。三貫地縄文人のゲノムも、まずこれら1000人ゲノムのデータと、68,542個のSNP座位において比較された。アフリカ、西ユーラシア、東ユーラシア、オセアニア、南北アメリカ大陸と、世界のひろい地域のデータを比較している。特に東ユーラシアについては、ゲノムデータではないが、全ゲノム規模のSNPデータが多数の人類集団から得られており、それらも比較に用いた。

われわれはまず主成分分析法を用いた。この方法は、膨大なデータから全体の特徴をもっともあらわすパターンを第一主成分と第二主成分という、多様性の異なる要素を抽出して平面で示したものである（図A(a)）。ひとりのゲノムDNAは、数千人の祖先のDNAの集まりから構成されているので、1個体のDNA配列だけで、祖先から受けついで遺伝情報をたくさん含んでいるのだ。第一主成分という、ゲノムの多様性をもっとも明確に左右の軸で示した結

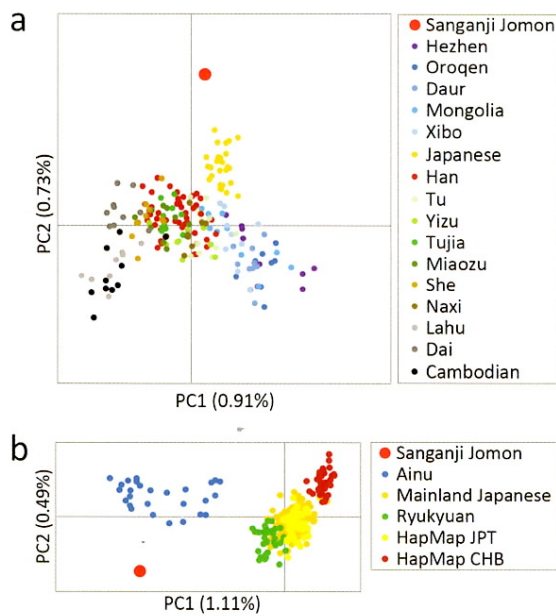


図A 三貫地貝塚縄文人と現代東ユーラシア集団ゲノムの主成分分析結果（神澤ら [2016] より）

果は、左にアフリカ人集団（ナイジェリアとケニアの2集団で代表させている）、右にその他の出アフリカ集団が位置している。次の第二主成分は上下の軸だが、ユーラシアの東と西の人類集団が分離している。そして三貫地縄文人は、あきらかに東ユーラシア人に近くなっている。

興味深いことに、三貫地縄文人は、アフリカ人、東ユーラシア人、西ユーラシア人（英国、スペイン、イタリア、フィンランドの集団で代表させている）で構成される三角形の内側に位置する。これは、縄文人が古い系統であることを示唆する結果であり、あとの系統樹解析でまさにそのことが示されたのである。

三貫地縄文人がもっとも近縁であった東ユーラシアの現代人5集団だけをとりだして、もう一度主成分分析をおこなった。今度は46,168個のSNP座位のデータが比較できたが、その結果を（図A(b)）に示した。北方中国人（北京の漢族）、南方中国人（中国系シンガポール人）、ベトナム人、ダイ族（中国雲南省の少数民族）がこの順でななめに分布している一方、東京の日本人はこれら大陸の集団からすこし左上に離れて位置している。そして三貫地縄文人は現代日本人からぐっと離れたところにある。別のことばでいえば、現代日本人は縄文人と東ユーラシア大陸人との中間に位置していることになる。なお、現代日本人のうち、2個体が北方中国人の固まりに近いところに位置しているが、これらの人は遺伝的にはより大陸の人々に近いことになる。



図B 三貫地貝塚縄文人、日本列島3現代人集団、および北京漢族の主成分分析結果（神澤ら [2016] より）

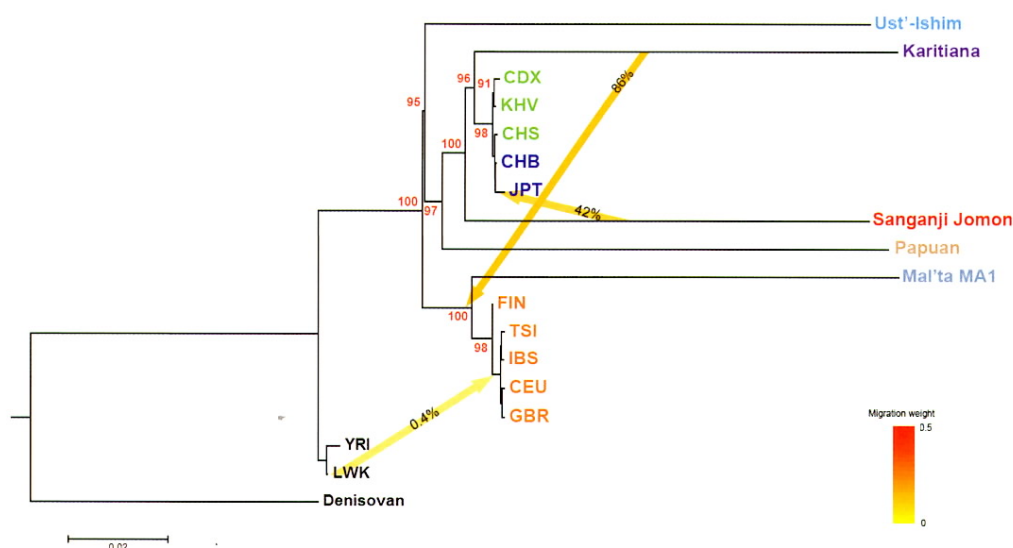
つぎに、ゲノム配列データではなく、ゲノム規模 SNP データという、データ量は少ないがもっと多くの集団を三貫地縄文人のゲノムデータと比較した。比較できた SNP 座位は 6,864 個だが、それでも膨大な個人間の DNA 差異を比べている。DNA の多様性をもっとも明確に示す第一主成分でみると、左側にカンボジアやダイ族、ラフ族といった南方の集団が、右側にはホジェン族、モンゴル族、オロチョン族、ダウール族といった、北方の集団が位置しており、第一主成分は南北の遺伝的勾配をしめしていると考えられる。第二主成分は、上に三貫地縄文人が位置しており、図 A と同様に日本人が次に位置している。この上下軸は、より縄文的か否かを示していると言えよう。

主成分分析法を用いて、さらにアイヌ人、ヤマト人（これまで日本人とよんできた東京周辺の人々）、オキナワ人、および北方中国人と三貫地縄文人を比較した。5,392 個の SNP 座位が比較されており、結果が図 B にしめしてある。主成分分析の結果は、まさに期待していたものだった。左右の第一主成分は、左に縄文人とアイヌ人が、中央にオキナワ人が位置しており、右側にヤマト人、北方中国人となる。すなわち、左にゆくほどより縄文的であり、右にゆくほどより弥生時代以降の渡来系の割合が強くなるというものだ。上下の第二主成分の場合、今度は縄文人とオキナワ人が下方にあり、ヤマト人が中央に、そしてアイヌ人と北方中国人が上方に位置している。これは、現代アイヌ人が、縄文人から 3000 年経るま

で、北海道より北部の人々との混血を経ていることを示唆する。一方で、オキナワ人はアイヌ人が経験した北方の集団との混血はなかったと考え、第二主成分の位置が縄文人と同じぐらいのところにあることに納得がゆく。

三貫地縄文人と現代人集団との DNA からみた遠近関係を、「DNA を共通に持つ割合」というわかりやすい尺度を用いて比較してみた。図 A で縄文人ゲノムと比較した 4 現代人集団を用いると、アイヌ人が縄文人と共通な DNA が 68% となって、もっとも高く、オキナワ人、ヤマト人、そして北方中国人とつづく。一番低い北方中国人でも 63% の共通性がある。なお、ゲノム全体でみれば、人間はおたがいに 99% 以上が共通だが、ここではゲノム規模 SNP データという、個人間で DNA に差があるところだけを選んで調べているので、このような低い値が得られるのである。別の種類のデータを用いて縄文人と共通な DNA の割合を推定すると、縄文人にもっとも近いのは 68% あまりの値をしめすヤマト人であり、その他の集団は、一番右のメラネシア人とパプアニューギニア人以外、どれも 67%~68% で、どんぐりの背比べである。これらには、東アジアの南北に分布する集団や東南アジアの集団だけでなく、南米の先住民も含まれているのが、興味深い。

膨大なゲノムデータからまず系統樹を作成して、さらにそこから集団間の混血も推定する TreeMix という方法を用いた結果が図 C である。現代人の共通祖先の位置を明確に推定するために、デニソワ人のゲノムデータも比較に加えている。現代人がまずアフリカの 2 集団とそれ以外の出アフリカを経た集団にわかれている。後者は大きく西と東のグループにわかれる。おもしろいことに、西ユーラシアのグループに系統的に近いのは、シベリア東部のマルタ遺跡から出土した人骨であり、シベリア西部のウステ・イシム遺跡出土の人骨は東にわかれたグループと系統的には近くなっている。シベリアの大地では、昔から人々が東へ、西へと移動を繰り返してきたので、これはそれほど驚くべきことではない。ウステ・イシム人の系統と分かれた現代人の祖先からは、次にサフル大陸に移動していった人々の子孫であるパプアニューギニア人の系統がわかれている。現在オーストラリアに住む先住民アボリジニーの人々やパプアニューギニアの人々のゲノムデータを解析した最近の論文では、この分岐は 5 万年以上前に起こったと推定されている。



図C 三貫地貝塚縄文人と世界の16人類集団、およびデニソワ人の系統樹（神澤ら [2016] より）

いよいよ、その次に分岐しているのが、三貫地縄文人の系統である。この分岐のさらにあとに南米の先住民カリティアーナ人が分岐しているが、ユーラシアからアメリカ大陸への移住は15,000年ほどまえだとされているので、縄文人の系統が分岐したのは、15,000年よりもずっと古いことになる。最後に、東アジアの5集団が分岐してゆくというパターンである。

以前から、人骨の形態学的研究で縄文時代人の特異性がいろいろ議論されてきたが、ゲノムDNAの塩基配列を解析することにより、縄文時代人の祖先は、東アジアだけでなく、アフリカを出てユーラシア、さらにはオセアニアや南北アメリカ大陸に拡散していった現代人の祖先のなかでも、きわめて特異的な集団であったようだ。

次に、混血のパターンについてみてみよう。系統樹上に3個の矢印があるが、これらが混血である。ケニア人からヨーロッパ人の祖先のところにとひとつ矢印があるが、ヨーロッパは地中海をへだててアフリカの北にあるので、この混血が生じたことは考えられる。一方、南米の先住民から西ユーラシア人の祖先に矢印があるが、方向は逆かもしれない。TreeMix法では、系統樹については信頼できるが、混血の方向については、時々首をかしげたい結果になるからだ。また、南北アメリカの先住民が、おそらくベーリンジアを渡る前に西ユーラシア人の祖先と混血したのではないかと論じている論文が最近発表されている。混血の三番目が、縄文人からヤマト人へのものであり、12%という推定値になっている。これは過去の系統から現代の日本列島人への

混血であり、時間の前後関係も問題ない。

日本列島人形成に関する二重構造モデルでは、現代のヤマト人（日本列島中央部に居住する人々）が、土着の縄文人と、弥生時代以降に大陸から渡来した人々との混血であるとした。これら2種類の集団の混血の

割合については、わたしたちの研究グループが、この縄文人ゲノムの論文が発表される一年前に、現代人のゲノム規模SNPデータを用いて、縄文人のゲノムが伝わった割合を、14~20%と推定している。幅があるのは、いろいろな組み合わせの現代人集団のデータを使ったためである。同じデータを用いているが、すこし異なるモデルを仮定し、まったく別の統計手法を用いて、中込らが2015年に発表した論文では、ヤマト人における縄文人ゲノムの割合が22~53%と推定されていた。同じゲノム規模SNPデータを用いながら、かなり異なる推定値が得られた理由については、現在検討中である。また、中国の研究グループが、わたしたちがアイヌ人のデータを発表する前に、ヤマト人と北方中国人の違いをすべて縄文系由来と仮定して推定した割合は、23~40%だった。さらに、ミトコンドリアDNAの頻度データのみから、宝来らが1996年に35%という割合を発表している。このように、縄文人そのもののゲノムデータが得られる前には、現代ヤマト人に伝えられた縄文人DNAの割合は、高めに推定される傾向にあった。DNAデータとはまったく量も質も異なるものだが、骨の形態は縄文人そのものを現代人と比較することができる。埴原和郎が1987年に人類学雑誌に発表した論文では、現代人における縄文系の割合が10~20%と推定されており、今回神澤らの論文でわたしたちが推定した結果と近くなっている。

本稿は、斎藤成也著『核DNA解析でたどる日本人の源流』（2017年10月に河出書房新社より刊行予定）の第3章「最初のヤポネシア人」をもとに書いたものである。