

厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(政策科学総合研究事業 (政策科学推進研究事業))  
総括研究報告書

パプアニューギニア現代人集団の同位体データベースの構築と有効性の検証

研究代表者 米田 穰 東京大学総合研究博物館・教授

研究要旨：パプアニューギニア現代人集団の各種同位体分析を実施し、データベースを構築した。日本人確実戦没者や考古学遺跡のデータと比較して、その有効性を確認した。インドネシア現代人の抜去歯牙を採集した。ストロンチウム同位体比の前処理方法について、迅速化を試みた。あわせて現地での歯エナメル質の前処理を可能とする可搬式自動前処理装置を試作した。複数集団の判別分析について適切な統計手法の選定について検討を進めた。

研究分担者

橋本 正次 東京歯科大学 歯学部  
名誉教授  
陀安 一郎 総合地球環境学研究所  
基盤研究部 教授、基盤研  
究部長、副所長  
覚張 隆史 金沢大学 古代文明・文化  
資源学研究所 准教授  
澤藤 匠 総合研究大学院大学  
統合進化科学研究センター  
助教

5月とりまとめ)に基づき、遺骨収容・鑑定  
の手順が変更され、DNA 鑑定や形質鑑定の  
結果、埋葬資料、遺留品等、これら指標から  
総合的に判定することとされている。しか  
しながら、判定に資する指標の情報やその  
信頼性が乏しい場合があり、特に、DNA は  
温度や湿度、pH 等の環境要因により DNA  
情報の取得が困難となる場合もある。そこ  
で、DNA 情報に依存しない指標を検討する  
ため、令和3年12月「戦没者遺骨収集にお  
ける同位体分析の活用に係る検討会」にお  
いて、所属集団判定への応用について検証  
等を行うこととされ、令和4年度から委託  
研究事業において各種同位体比の日本人戦  
没者における確率分布域の作成を進めてい  
る。しかし、日本人戦没者の確率分布域は、  
日本人であることの蓋然性を示すものの、  
外国人(交戦国や現地住民など)である可能

A. 研究目的

本研究は、戦没者遺骨収集事業における  
遺骨の所属集団判定の精度向上に資するこ  
とを目的とする。

近年、「戦没者遺骨収集事業及び事業実施  
体制の抜本的な見直しについて」(令和2年

性を否定することはできない。米国人については、米国国防総省捕虜・行方不明者調査局 (DPAA) により、同位体情報が集積されているが、戦没者遺骨収集事業が実施されるアジアおよび太平洋地域における現地住民の同位体情報は不足しており、日本人戦没者と現地住民との判別には、我が国が独自に同位体情報を収集し応用可能性を検証する必要がある。

そこで、本研究では、外国人と日本人の炭素・窒素・酸素・ストロンチウム (以下 Sr) 等同位体分析データを比較検討した上で、日本人の確率分布域から外国人を区別する判別式を開発し、出身地判別法を確立する。さらにその判別式に基づくデータベース (DB) ソフトを開発する。

また戦後 80 年を経過した戦没者遺骨については、現地法規により国外への持出しが難しい場合があり、また比較試料として分析が必要となる動植物なども遺伝資源に係る国際条約によって持ち出しが制限される場合があるため、現地でコラーゲン抽出や Sr 抽出などの前処理を実施する簡易前処理装置を開発する。国際的な規制を遵守しつつ、迅速かつ効率的な鑑定作業の実施を可能にし、戦没者遺骨の円滑な帰還に大きく寄与するものと期待される。

## B. 研究方法

### 研究 1 「パプアニューギニア現代人集団の同位体データベースの構築と有効性の検証」 (米田)

研究協力者の染田が過去に採取したパプアニューギニア (以下 PNG) 現代人集団の歯牙 121 点について、歯冠部からエナメル質の粉末を採取し、歯根部からは残存する

タンパク質 (コラーゲン) を抽出・精製して同位体分析に供した。採取地点はニューギニア島の南北海岸部および中央高地、ビスマルク諸島のニューブリテン島 (ラバウルを含む)、ソロモン諸島のブーゲンビル島を含む 19 地点からなる。

歯エナメル質に含まれる炭酸塩の炭素・酸素同位体分析について、令和 5 年度「戦没者遺骨の年代測定及び所属集団判定における同位体分析の活用に係る研究事業」報告書にて報告した暫定標準プロトコルに従って、粉末試料の作成および前洗浄を行った。歯エナメル質に含まれる Sr の同位体分析は、令和 6 年度「戦没者遺骨の年代測定及び所属集団判定における同位体分析の活用に係る研究事業」報告書にて報告したプロトコルに従って実施した。

歯根部のコラーゲンは、令和 4 年度「戦没者遺骨の年代測定及び所属集団判定における同位体分析の活用に係る研究事業」報告書にて報告した暫定標準プロトコルに従って抽出した。回収したコラーゲンの炭素および窒素同位体比を、東京大学総合研究博物館に設置された元素分析計/安定同位体比質量分析計 (EA-IRMS) にて測定した。コラーゲンの硫黄同位体は別途、EA-IRMS (IsoLink) にて測定した。

### 研究 2 「インドネシア現代人集団データベースに係る試料採取」 (橋本)

本年度は、研究協力者の染田とともに、来年度に分析する計画であるインドネシア現代人集団の分析試料を採取した。試料は、インドネシアの 4 つの地域の大学歯学部等において、歯科診療時に抜去され、かつ所有権放棄された歯牙である。また同時に、患者の

性別や年齢、居住地域とその地域での滞在年数などの情報も取得した。

### 研究3「歯エナメル質のストロンチウム同位体分析の迅速化の検討」(陀安)

研究協力者の申と協力し、Sr 同位体比の迅速分析法について詳しく検討を行った。当初に計画した、自動濃度希釈装置の活用を検討したが、微量元素濃度測定順序の変更でさらなる迅速化が可能であることが分かった。次に、マニュアル法による迅速処理の検討を行った。具体的には、マイクロ波酸分解法(加圧密閉系)と、大気圧テフロンバイアルでの加熱分解を比較した。誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)により微量元素濃度を測定し、ストロンチウム同位体比測定に必要な500ngの溶液を精製カラム処理で精製した。ストロンチウム同位体比の測定は、マルチコレクター型ICP-MSを用いて行った。

### 研究4「歯エナメル質のストロンチウムを処理するための簡易前処理装置の試作」(覚張)

本年度は特に、エナメル質からSrを単離するための可搬式自動前処理装置の試作機を設計・製造した。

### 研究5「複数集団の帰属判別に係る統計的手法の検討」(澤藤)

今年度の研究1で取得されたPNG現代人集団のデータベースと、先行研究で報告された考古学遺跡から得られた同位体データの比較を通じ、帰属集団判定に有効な統計的手法を検討する。

また研究データの管理と統計解析ならび

にアプリケーション開発に必要なワークステーションの環境を整備する。

(倫理面への配慮)

現代人の抜去歯牙試料は、防衛医科大学校ならびに東京歯科大学での倫理審査を経て、現地歯科医師の協力のもとインフォームドコンセントを得たのちに採取された。分析に先立ち分析試料は個人情報に関する匿名化処理がなされている。

## C. 研究結果

研究1では、PNG現代人集団121検体について、各種同位体分析を実施した。この結果、108検体についてコラーゲンの炭素・窒素同位体比データを得た。また91検体についてはコラーゲンの硫黄同位体比も測定した。歯エナメル質については、82検体について炭酸塩に含まれる炭素・酸素同位体比データを得た。また87検体について、歯エナメル質に含まれるSrの同位体比データを得た。

5つの先行研究で報告された考古学遺跡から出土した人骨や動物骨の各種同位体データを集成した。コラーゲンの炭素・窒素同位体比については2遺跡58検体のデータ、コラーゲンの硫黄同位体比については1遺跡17検体のデータを集成した。歯エナメル質の酸素同位体比については6遺跡194検体、うち148検体の動物では炭酸塩の炭素同位体比も報告されている。歯エナメル質のSr同位体比については5遺跡59検体のデータを集成した。

研究2では、ハサヌディン大学(スラウェシ島マカッサル;29点)、インドネシア大学(ジャワ島ジャカルタ市;打ち合わせのみ)、パジャジャラン大学(ジャワ島バンドン市;

33点)、アイルランガ大学(ジャワ島スラバヤ市;46点)の共同研究者と面会した。各大学で収集された抜去歯牙はいずれも、患者のインフォームドコンセントを得て取得したものであり、計108点の歯牙を採取することができた。

研究3では、2つの前処理方法の間で測定結果がよい一致を示した。また、MC-ICP-MSの測定結果が、より精度の高い表面電離型質量分析(TIMMS)による測定結果とよく一致することが確認できた。国際標準物質の測定結果も報告値とよく一致しており、状況に応じてマイクロ波酸分解法又は大気圧テフロンバイアル分解法を使用することが可能となった。

研究4では、エナメル質からSrを単離するための可搬式自動前処理装置の試作機を設計・製造した。この装置はペリスタポンプで3種類の溶液を攪拌容器に導入し、順次試料と反応させることができる。エナメル質粉末を容器に装填した後、純水と酢酸バッファー(pH4.5)による洗浄、硝酸(3.5M)による脱灰を順次行い、硝酸溶液をSr分離カラムに導入することで、動物骨標準物質からSrを回収できることを確認した。令和7年度に各種パラメータを調整して、Sr回収と汚染の影響を検証する。

研究5では、研究1で今年度構築したPNG現代人集団データベースと、先行研究で報告された考古学遺跡の人骨・動物骨の同位体データを比較した。後者については、同一個体で複数同位体比を測定している事例が少なく、欠損データについて何らかの補完が必要であることが分かった。PNG現代人集団でも欠損データの割合は無視できず、分析に供した121検体のうち、炭素・

窒素・硫黄・酸素・ストロンチウムの5元素全ての同位体比データが得られたものは、現時点では63検体(52.1%)にすぎず、欠損データの補完は極めて重要である。令和4~6年度「戦没者遺骨の年代測定及び所属集団判定における同位体分析の活用に係る研究事業」報告書にて報告した確実戦没者についても、炭素・窒素・硫黄・酸素の4元素についてデータがそろっている検体は45検体であり、データの拡充が引き続き必要であると判断された。

各種統計解析ツールを検討した結果、指定した統計量(平均値、中央値、最頻値など)を用いる方法や、K近傍法による方法、多重代入法による補完などが可能であるPythonのscikit-learnパッケージが有望であることを見出した。来年度、確実戦没者のストロンチウム同位体比が追加された時点で、PNG現代人集団との判別を試みて、有効な補完方法を検討する。

#### D. 考察

今年度に得た分析データを用いて作成したPNG現代人集団データベースの有効性を検証するために、令和4~6年度「戦没者遺骨の年代測定及び所属集団判定における同位体分析の活用に係る研究事業」において測定した確実戦没者遺骨のデータと比較したところ、窒素同位体比と硫黄同位体比の分布が異なることを見出した。炭素・窒素・硫黄・酸素の同位体比で欠損値のない検体を用いてロジスティック回帰分析を実施したところ、判別の中率は89.4%(95%信頼区間:82.2~94.4%)であった。今後、欠損値を補完する適切な方法を検証することで、より精度を向上させることが可能にな

ると期待できる。

PNG 現代人集団の Sr 同位体比の分布は、日本の地下水由来のミネラルウォーター中の Sr 同位体比と比較すると変動がかなり小さいことが分かった。

PNG の考古学遺跡から出土したヒトおよび哺乳類の骨と歯から得られた同位体データでは、300～800 年前のヒトは炭素同位体比の高い個体が多く、PNG 現代人集団では食生活が変化している可能性が示された。しかし、これらの遺跡由来の古人骨の同位体比は、日本人戦没者の炭素・窒素同位体比とは大きく異なるため、日本人戦没者遺骨との判別は可能であると分かった。

歯エナメル質の Sr 同位体比は、PNG 現代人集団と比較すると各遺跡で報告されているヒトと動物の値は変動が小さく、PNG 現代人が示した変動を越える値は報告されていないかった。

Sr 同位体比の前処理法については、大気圧でテフロン容器を加熱する方法と、密閉加圧する方法で結果が一致した。前者は研究 4 で開発した簡易前処理法と基本的には同じ方法であるが、温度や硝酸濃度などは異なっている。令和 7 年度には、簡易前処理装置による測定結果も比較して、Sr 同位体比の現地での迅速な前処理を実現する計画である。

## E. 結論

PNG 現代人集団 121 検体について各種同位体分析を実施し、歯エナメル質に含まれる炭酸塩の炭素・酸素同位体比および Sr の同位体比、並びに歯根部から抽出したコラーゲンの炭素・窒素・硫黄同位体比のデータベースを構築した。日本人確実戦没者の

コラーゲンの炭素・窒素・硫黄同位体比およびエナメル質の炭素・酸素同位体比を用いてロジスティック回帰分析を実施したところ、確実戦没者集団と PNG 現代人集団の間では的中率 89.4% で判別が可能であった。PNG で採取された遺骨の所属集団判定において、同位体分析が有効であることが示された。

今後、確実戦没者の Sr 同位体比を追加し、また欠損値を適切に補完した上で、判別分析を実施すれば、さらに高精度に日本人戦没者と PNG 現地住民および遺跡由来の古人骨を区別できると考えられる。

また現地での前処理を可能とする Sr 同位体分析用の可搬式自動前処理を試作し、前処理方法の違いによる影響がないことも確認された。令和 7 年度に作業環境からの汚染の影響がないことが確認できれば、Sr 同位体分析において多数の試料を迅速に処理することが可能となり、遺骨収集事業においても Sr 同位体比の活用に向けて大きな前進となる。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

該当なし

### 2. 学会発表

該当なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

3.その他

特になし