古代の病原体 DNA 解析
―その動向と評価について―

澤藤 りかい
（総合研究大学院大学・日本学術振興会）

今回は、「古代の病原体 DNA 解析－その動向と評価について－」ということをご紹介させていただきたいと思います。総合研究大学院大学の澤藤りかいです。よろしくお願いします。

まず最初に「このセミナーの出発点」としまして、主催者の方たちからご相談を受けたのは、遺伝学の論文の読み方に不安があるということで、歴史学、特に医学史関連の分野では、遺伝学、現代の DNA、それから古代の DNA を使った研究の成果が出始めているけれど、それをどういうふうに解釈すればいいのか、また論文ごとに議論が違う場合に、それをどう統合して、どう蓋然性を持って判断、どの議論を採用すればいいのかということがよくわからないということでした。また遺伝学、ゲノムの研究結果によって、例えば病原体の起源の論争にもう決着がついてしまったのかどうか、ということについて主に相談を受けました。

最終的には、もちろん専門の研究者に聞くのが一番ではあるとは思いますが、実際には日本では古代 DNA の研究者は少なく、特にヒト以外の古代 DNA を扱っている人というのはかなり少ないです。更に病原体の古代 DNA を扱っている人はほぼいないので、そのような問題点があります。

また、専門外の研究者でも、関連分野に関して、例えば古代 DNA などに関してある程度の理解ができた方がいいのではないかということで、この発表の目的としては、病原体の歴史に関する DNA 論文の議論に関して、その妥当性を評価する判断材料を提示することを目指しました。

結論から言うと、この二つ目の「ゲノムの研究成果で起源論争に決着が着いてしまったのか」というと、どの病原体に関しても、今の時点で決着はついていないということが言えると思います。だからこそ現在、学際的な研究により価値があると考えられます。

自己紹介を簡単にしますと、私のバックグラウンドは生物学、主に自然人類学と古代 DNA で、先ほど発表してくださった水野さんと同じ研究室の出身です。東京大学の植田信太郎先生の研究室、古代 DNA を専門とする研究室で学位を取りまして、そのあと琉球大学の自然人類学を研究されている石田肇先生のところで、パレオアジアプロジェクトというプロジェクトの研究員を行っていました。現在は総合研究大学院大学の動物考古学を専門とされる本郷先生のところで、日本学術振興会の特別研究員を行っています。

現在、学振 CPD というプログラムの一環で、デンマークのコペンハーゲン大学に滞在しています。私は古代 DNA の研究者ではありますが、病原体は専門ではないです。ただ日本に古代病原体 DNA の専門家がいないため、今回は古代病原体 DNA の基礎的内容を紹介すし、また今回のセミナーに合わせて調べたことをご紹介しようと思います。

私が主に扱っているものは、古代の歯石の DNA 研究です。歯石に含まれる食物 DNA の解析を主に行っています。例えば今まで出た論文の成果だと、江戸時代の歯石から食物、主に植物の DNA 解析を行って、シソ属、オオバコ属、それからダイコン属、ネギ属など、当時食べられていたと考えられるものの DNA を検出したというような結果が得られました (Sawafuji et al. 2020)。

それから、食物の DNA だけではなく、フタバガキ科の DNA も検出されて、これは当時、歯磨き粉の材料として使われていた龍脳というフタバガキ科の成分由来ではないかというふうに考えられます。

歯石には、さまざまな DNA・タンパク質が存在していまして、例えば食物だけではなく、口内のバクテリアとか、ヒトの免疫関係のタンパク質、それからウイルスの DNA タンパク質とか食物の DNA タンパク質などが挙げられます。このように歯石を解析していると、病原体の DNA が得られることもあるので、それも含めて現在、自分自身でも勉強中でもあります。例えばどういう先行例があるかといいますと、ハンセン病の原因となる Mycobacterium leprae（マイコバクテリウム・レプラエ）を歯石の DNA、それからタンパク質、両方の解析において同定したというような例が、先行研究であります（Metcalf et al., 2014）。

それから、古代土壌の DNA 研究も行っています。これは主に日本の遺跡の土壌から DNA を抽出し、当時、どのような食性、それから動物の DNA が含まれるのかというのを調べています。例えば、礼文島・浜中 2 遺跡の古代土壌 DNA 解析では、各地層から例えばイヌ属やニシン属、マダラ属、それからタイヘイヨウサケ属、ホッケ属など、当時、食べられていたようなものや、家畜、そして飼われていたようなものが検出されたという結果も出ました。

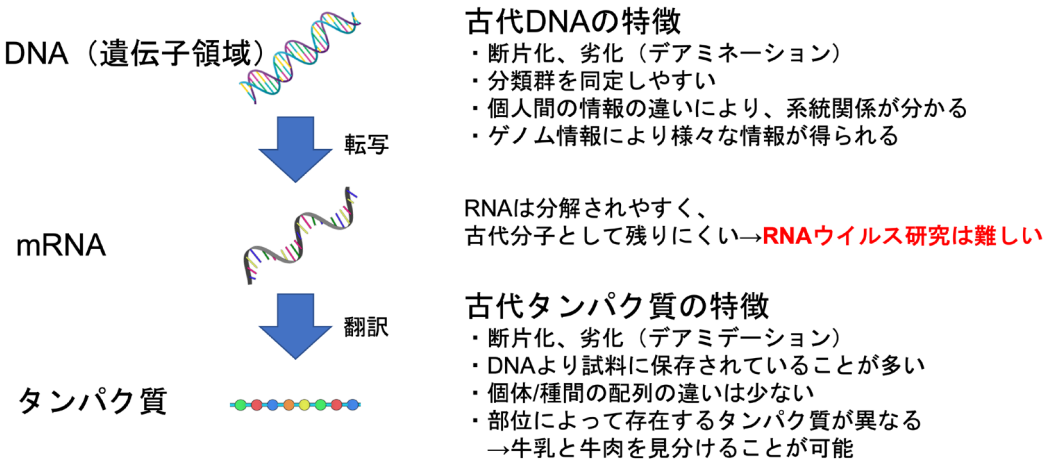

図 1　hogehoge

今回は、これらの内容はあまり関係がないので、主に病原体に関して発表をしたいと思います。内容は、まず古代 DNA 解析について。すでに水野さんがご紹介してくださったので、本当に簡単な部分しか触れませんが、その概要と、なぜ古代 DNA 解析が必要かということ。

それから古代病原体について、どのような試料が解析に用いられているか、それから病原体の種類による違いがどういうものがあるか。それから研究をどう解釈すればいいのか、特に年代と空間幅について、どのように解釈したらいいのかわからないという話があったので、それについて、どう捉えればいいのかというのをお話ししたいと思います。

それから宮崎さんのご紹介で、梅毒の事例が紹介されていましたが、実際に、では梅毒の研究成果について、古代 DNA の解析ではどのようなことがわかっているのか、どこまで言えるのかということを一例として紹介したいと思います。個別の他の病原体については、議論をし始めると長くなるので、一つ一つは取り上げません。

最後に、古代 DNA の研究者の論文の探し方や読み方として私の場合を事例に挙げて、どういうふうに最新の新しい論文を探して、それを読み解いて判断しているかというのをご紹介したいと思います。

まず、古代 DNA についてですが、すでに水野さんが触れてくださったとおり、地域によってかなり保存されやすさが異なります。寒冷・乾燥した地域では保存されやすいのですが、温かい、温暖で湿潤な地域では、保存されにくいという傾向があります。そのため、古代 DNA の研究成果も、一部の地域に偏っていて、例えばヨーロッパなどでは、ヒトも病原体も古代 DNA の解析というのはかなり進んでいるのですが。例えば、アフリカであったり南米であったり、もっと温かい東南アジアなどの地域においては、古代 DNA 研究はあまり進んでいないという現状があります。

それから古代 DNA は、100 塩基対以下に断片化されていたり、脱アミノ化といわれる劣化が起こっているという特徴があります。いつから古代 DNA として扱われるのかという質問が、以前ありました。これについては明確な基準はなく、研究者によっても扱いが違うのですが、おおよそ 100 年前より古い DNA は古代 DNA として扱われることが多いです。ですので、人文学の分野でイメージされる古代とは、またちょっと意味が違う使われ方をしています。

それから、古代 DNA と古代タンパク物質の特徴を少しだけご紹介したいと思います（図 1）。生物学の知識ですが、DNA がまず存在して、それがメッセンジャー RNA（mRNA）に転写されて、それがタンパク質に翻訳されるという流れがあります。そのなかで、古代の研究として使われるのは、主に古代 DNA と古代のタンパク質です。

古代 DNA の特徴としては、先ほど少しご紹介したように、断片化と脱アミノ化（デアミネーション）などがあって、個人間、個体間の違いが大きいので、系統関係を推定しやすいという特徴があります。ゲノム情報により、集団遺伝学的な解析を行うことで、その系統の歴史、それから分岐年代についてさまざまな情報が得られます。

RNA に関しては、コロナの mRNA ワクチンなどがマイナス 80 度、マイナス 20 度などで保存されていることからわかるように、かなり分解されやすいです。そのため、古代分子として残っている例は、ほとんどありません。いくつか報告はあるのですが、ほぼないと考えていいくらいなので、RNA ウイルス研究はかなり難しいです。少なく

ともホルマリン固定された個体などからは検出例がありますが、古人骨に存在しているRNAウイルスを検出するということは、現段階ではできていません。

それから、古代タンパク質の研究というのもありまして、これも古代DNAと同様に断片化、劣化などが起こっていますが、DNAより試料に保存されていることは多いです。ただし個体間、それから種間のアミノ酸配列の違いというのは、DNA配列の違いよりは少ないので、系統関係を推定するのは難しいという側面もあります。今回は古代DNAの話だけを取り上げます。

古代DNAの分析手法は、これも先ほどお話があったのですが、サンガー法から次世代シーケンサーが登場したことにより、ゲノム解析の研究というのはかなり進展を遂げました。従来のサンガー法だと、一度に数百塩基の配列を読むだけしかできなかったのが、同時並行で短い100~300bpの配列を、同時並行で数万、数億の解読ができるようになったというのが、次世代シーケンサーの特徴です。この次世代シーケンサーの登場により、2010年代からゲノム研究が一気に加速しました。

このあと何回か登場するので、用語を覚えておいていただきたいのですが、次世代シーケンサーは「Next Generation Sequencer」ということで「NGS」と呼ばれたり、「high-throughput sequencing」と呼ばれたりもします。「NGS」という単語でこのあと紹介することがあるので、これだけ覚えておいてください。NGSによってかなり研究が、現代のDNA研究においても、それから古代のDNA研究においても、一気に加速しました。

では、なぜ古代DNA解析が必要なのか、現代DNAの解析だけでは駄目なのかということをまず考えると、例えば例として、古代DNA解析からわかったヒトの移動が挙げられます。このように、いろいろな地域、時代のヒトの古代DNAを解析することで、ユーラシア大陸のヒトの移動というのは、かなり詳細にわかってきました。このような詳細なヒトの移動というのは、現代DNAの解析ではわからないことです。特に、ヒトではなく病原体の場合、変化するスピードが速くて、またヒトに感染することでさらに複雑な拡散の歴史を持つ可能性があるので、現代DNAだけを扱っていては、過去の病原体の伝播や拡散、それから起源を論じるのは難しいということが言えます。

では実際に、どういう変化があるかというのをご紹介したいと思います。結核菌の歴史について研究した二つの論文があります。Comasら(2013)は現代の結核菌のDNAのみを使って、その結核菌の起源と拡散について論じた論文です。現代の結核菌のDNAだけを使って系統樹を作成して分岐年代を推定して解析した場合、その結核菌の起源は約7万年前、ヒトの出アフリカに伴って拡散したというふうに結論づけられました。ところが、Bosら(2014)は実際に古代DNAを用いて1000年前のペルーの古人骨から得られた結核菌のゲノム配列を含めて、現代結核菌のゲノム配列と一緒に解析したところ、それより分岐年代はかなり若く、6000年前以降に結核菌はヒトに拡散した、しかも起源はまだわからないということで、全然違う結果が出ました。この二つの論文は、同じ著者を含むグループによる研究なので、完全に間違いを認めているということになります。このように現代DNAだけでは分岐年代、あるいは起源に関して、かなり誤った値を推定してしまう可能性が高くなります。ですので、古代の病原体DNA、理想的には1サンプルだけではなくて、さまざまな地域、年代のDNA解析を行うことで、より詳細に病原体の起源や拡散の歴史を推定することができます。

では、具体的になぜこのような齟齬が生じるのか、そもそも系統樹はどういうふうに作成しているのか、分岐年代はどうやって推定するのかというのを、ごく簡単にご紹介したいと思います。遺伝子の系統樹、これは多くの方が、もしかしたら見たことがあるかもしれませんが、このようないろいろな生物種において、そのDNA配列を用いて系統樹を書くということが一般的に生物学の分野ではよく行われていて、その研究成果もかなり蓄積があります。

これの基本的な概念としては、似ているものは近くに、似ていないものは遠くにクラスターするということで、DNA配列を用いて系統樹を書く場合は、例えば種同士で書くか、種内の系統樹を書くかでまたちょっと違ってきますが、基本的にはどちらも配列を比較し、共通点と違いを見つけるというところから始めます。

例えば、病原体の種内の系統樹を書く場合に主に用いられるのはSNPという、一塩基多型と呼ばれるものです（図2）。これは先ほど水野さんがご紹介してくださいましたが、例えば個体1、2、3、4のDNA配列があった場合に、

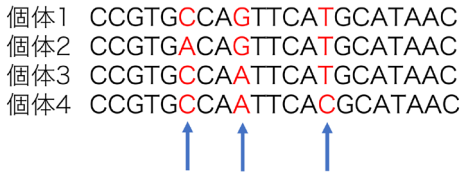

図２　hogehoge

個体間でほとんどのゲノム領域の DNA 配列は一致していますが、違いが生じているサイトもあります。例えばこの赤と矢印で示している３ヶ所に関しては、個体２で１塩基違っていたり、個体３、４と１、２で違っていたりという多型が見られます。このような多型があるサイトは一塩基多型サイト（SNP サイト）と呼ばれていて、この図だと３ヶ所ありますが、実際にあるのは 1000 塩基に１ヶ所程度です。この SNP サイトの情報を用いて、個体間で配列を比較し、どの程度個体１と２が似ているか、１と３が似ているか、違うかということを情報として用い、系統樹の作成を行います。系統樹の作成方法は、実際にはいくつかあって、最尤法とか近隣結合法などのさまざまな手法がありますが、主な概念はこんな感じです。

では分岐年代に関しては、どういうふうに推定するかといいますと、分子時計という概念を用いて分岐年代を推定するということを行います。生物には、突然変異というのが起こり得ますが、その突然変異による塩基置換というのは、一定の割合で蓄積していきます。そのために、塩基置換数から、時間を推定することができます。

例えば、自然選択がはたらいたり、組み換えが起こったり、実際には完全に一定ではないし、モデルどおりにはいかないのですが、おおむね中立で変化しているような領域に関しては、この前提がある程度成り立つと考えられます。ですのでこの突然変異率をパラメータとして与えることで、その系統の、ある個体とある個体の分岐年代、ある集団と集団の分岐年代というものを、推定することができます。実際に分岐年代を推定する場合は、もっと複雑なモデルを用いますが、主にそのように推定を主に行っています。この分子時計というのは、実際にはずれる場合もあるので、例えば哺乳類など、かなり長い時間のスケールの系統関係や分岐年代を決めるときには、化石記録などで補正する場合もあります。病原体だとそれは難しいですが、例えば古代 DNA の試料の年代で補正することも可能で、それは実際にいろいろな生物で行われています。

この分子時計、変化が起こるスピードというのは、種とか系統、DNA 領域によっても異なります。特にウイルスではかなり速いことが知られています。例えばコロナウイルスが、かなり速いスピードで変化するということでもわかると思います。それから集団の大きさにも影響を受けます。例えば感染が拡大して、病原体の集団の大きさが大きくなった、そのような場合にも影響を受けるので、時代を遡るほど、また集団サイズの変化が起こっているほど実際とのずれが大きくなる傾向があります。病原体は複雑な進化史を持つことがあるため、分子時計の速度が変わりやすく注意が必要です。このような影響があり、現代 DNA だけで分岐年代を推定するのはかなり難しいということが言えます。このため、先ほどのように現代 DNA だけだと結核菌が７万年前に分岐したという、まったく異なる年代が出ることもあります。

では実際に、古代病原体の DNA 解析にどのような試料が用いられているのかというのをご紹介したいと思います。主には、古人骨から得られる病原体 DNA が解析されています。古人骨にはヒトの DNA が多く含まれていますが、病原体の DNA もときには少し、ときには豊富に含まれている場合があります。

ヒトの古代 DNA の解析でよく用いられているのは、水野さんのお話であったように、側頭骨の錐体の部分にヒトの DNA はよく残っていることが、2014 年、15 年くらいに報告されていて、現在、側頭骨の錐体を使うというのは、ヒトの古代 DNA 解析では一般的になっています。ただし病原体の DNA は、錐体にはあまり残っていないということがわかっています。このことから、もし病原体 DNA をヒト DNA より優先的に解析したいという場合は、人骨の中での採取する部位が変わり得るということが言えます。具体的に、どういう部位がいいのかというと、血液中に存在する病原体の場合は、歯髄などが適していると言われています。他にもミイラや骨の病変部位、歯石、それから石灰化した結節からも病原体 DNA が得られています。ただし注意が必要なのは、骨の病変部位から病原体の DNA が採れるとも限らないということです。これはあとで梅毒の事例を紹介するときにご説明したいと思います。

これは、どのような病原体の古代 DNA が解析されているかというリストです (Spyrou et al 2019)。ピロリ菌、ハンセン病、結核、歯周病、梅毒、ペストなどが既に解析されています。あとはウイルスに関しては、HIV は 1970 年代なので、あまり古代 DNA とは言えないかもしれませんが、インフルエンザは 1918 年の試料なので、だいたい 100 年前のものが解析されていたりします。このように主な病原体は、古代 DNA 解析が少なくとも 1 例は報告されているという状態です。

病原体による解析の難しさの違いですが、古代 DNA が得られるかどうかの解析の難しさというのは、病原体によってもかなり異なります。例えば、RNA というのはかなり劣化しやすく、古人骨に残っていることはほとんどな

いので、RNA ウイルスのゲノム解析は難しいということが言えます。ただはしかウイルスに関しては、2020 年に出た論文ではホルマリン固定された、医学的に保管されていた標本から RNA ウイルスが検出できたという例があります。では数百年前の RNA ウイルスを検出できるかというと、今の段階ではかなり難しいです。ですので、病原体の種類によっても古代ゲノムの解析には制限があり、解析できる可能性というのはかなり変わってきます。

それから、グラム陽性菌は陰性菌よりも 2 倍から 10 倍程度細胞壁が厚いので、DNA が残りやすい可能性というのも示唆されています。梅毒トレポネーマに関しては、外細胞膜を完全に欠いているので残りにくいという特徴などもあります。

倫理的な問題についても少し触れたいと思います。まずはじめに、古人骨を破壊してまで解析する意味があるのかということを考える必要があります。古人骨から、病原体の DNA が得られる可能性は高くなく、特に錐体を使った場合はかなり低いですし、他の部位を使っても必ずしも得られるとは限りません。そのため、病原体を目的として DNA 解析を行うために、本当に骨を破壊して結果が得られるのかというのは、かなり不透明な部分が大きいというのが問題点として挙げられます。

それから古代の病原体というのは、思いがけず得られることもあるので、当初は考えられていなかったヒトの病気が発見されることもあるというのが、倫理的な問題として挙げられます。最近は古代 DNA の倫理に関する研究が増え始めていますが、病原体の DNA が得られる可能性や、病気については、まだあまり考慮されていない面があるので、この点も今後、考慮されていく必要があるかなと思います。個別の事例になってしまうので、一般的な話をするのは難しい部分もありますが、研究を始める前にどのような研究をしたいのか、どのような発見の可能性があるのかというのを考慮し、研究計画について関係者の合意を得る必要があると思います。

それから年代について。古代 DNA の解析から得られた分岐年代というのは、どの程度確からしいのか、信頼が置けるのかということで、まず一つ言えることは、遺伝学から推定された分岐年代よりは、基本的には放射性炭素年代測定の結果の方が確実性が高いです。というのも、先ほど紹介したとおり、分岐年代は年代測定の結果を用いて補正されるくらいなので、基本的には放射性炭素年代の年代が確実で、それを基に分岐年代を決めるということが言えます。

病原体の起源、年代と地域というのを遺伝学から決めるのは、とても難しいです。年代測定の結果も誤差を含んでいて、分岐年代の結果もさらに誤差を含むことが予想されるので、特に史学の人が要求するレベルでの分岐年代の決定は、今のところ、少なくともかなり難しいです。ただし分野の進歩が早いので、10 年後にどうなるかというのはまだわからない部分もあります。

年代と空間幅について、ある程度の確実性を持って言えること、今後も変わらないであろうことは、「その試料が存在する時代・地域に、検出できた特定の形態の病原体がいた」ということは、かなりの確実性を持って言えると考えられます。これは例えば、サンプルの取り間違いとか、年代や測定結果の誤りとか、DNA のコンタミネーション（混入）とか、そのサンプリングや解析方法に問題がなければ、かなりの確実性を持って言えます。

一方で、前のスライドでご紹介したように、現段階では不確実性が高いこと、つまり今後の研究成果やいろいろな地域のデータが増えることによって変わり得ることというのは、DNA 解析から推測される起源の地域や時代、分岐年代です。これを、さらに信頼性の高いものにするためには、さまざまな時代・地域のデータが必要です。今後、変わり得るものではあるのですが、現時点ではこの仮説が最も支持されるということは、少なくとも言えます。ゲノムの研究結果で起源論争に決着がつくとしても、もっと先のことです。繰り返しになりますが、データが増えれば、信頼性の高い、蓋然性の高い結論が得られると考えられます。

ペスト菌に関しても研究例を一つだけご紹介したいと思います。ペスト菌は、最も古代 DNA 研究が多く、今まで主にヨーロッパ、それからユーラシア大陸の古代 DNA 解析が行われています。Eaton ら (2021) の研究成果はまだプレプリントの状態なので、査読された論文ではありませんが、ある程度信頼できる著者のグループたちが発表しているので、そのうちアクセプトされて、どこかの雑誌には掲載されるだろうと思います。この研究自体は先行研究ですでに発表されたデータを用いた解析結果で、新たに自分たち試料を用いて実験したものではありません。既にペスト菌に関しては古代では 184 サンプルの報告があり、さまざまな地域・時代で解析されていて、それと現代の 586 サンプルを合わせて、その系統関係、それから分岐年代を調べたという研究です。

すでに先行研究で報告されていますが、青銅器時代から

ヒトはペストに感染してきたということがわかっています。これは、この時代の古人骨を用いて分析された結果なので、ある程度の確からしさがあります。ただし、歴史学の分野の方がよく注目される、黒死病の系統が出現したのはいつかというと、1214 年から 1315 年の間とこの論文では言われています。ただし起源地は不明ということです。この論文ではある程度の信頼性を持って、この分岐年代を出していて、今までの論文よりも使っている試料も手法も改良していますが、それでもまだ起源を論じるというのは難しくて、最も古代ゲノム解析が多いペスト菌に関してもこの状況です。もちろん、今後データが増えることによって、もっと信頼性の高い結果が得られる可能性はあるかと思います。

ではさまざまな論文の主張をどういうふうに捉えればいいのか、特に病原体の系統や起源を論じる場合、どう捉えたらいいのかというと。まず一つには、古代の試料をその研究結果が含むかどうか。古代試料、古代 DNA 解析を含んだ論文の方が信頼性が高いということは一つ言えます。病原体の歴史を現代の試料だけで議論するのはかなり難しいです。それから、試料数。得られたサンプル数は多いのか、それから年代・地域は幅広いか。同じ解析手法で比べた場合、試料数が多く、より幅広い年代と地域を含む方が信頼性が高いということが言えます。それから、ゲノム全体を解析しているか。従来のサンガー法だと、複数の遺伝子だけしか解析していない研究がほとんどなのですが、複数の遺伝子だけでなく、NGS を用いてゲノム全体を解析する方が信頼性は高いと言えます。これらを考慮すると、より新しい論文の方が、この分野では信頼性が高い傾向があります。特に、2010 年以前に多い、NGS を用いない研究は、現在の水準で系統や起源を議論できるような情報を持ちません。ですので基本的には NGS を用いた研究を参考にするのがよいと思います。

また論文で新たに報告された配列データは必ず公開されるのが、今は一般的になっているので、後世の研究者はそのデータを使うことができます。基本的に新しい論文は、既に先行研究で報告された配列データを全て用いることが多いので、より新しい論文の方が信頼性が高い傾向があります。

実際の研究成果として、梅毒の事例を挙げたいと思います。梅毒はペスト菌に比べれば研究成果は少ないのですが、それでもいくつか論文が報告されています。まず梅毒についてですが、これはトレポネーマ・パリダムを原因とする病気で、皮膚病変や骨の病変など、さまざまな症状が出ますが、主に三つの病気に分けられています。一つが、性病性梅毒、「Syphilis（シフィリス）」というふうに英語では呼ばれているもので、この原因となる病原体はトレポネーマ・パリダムの亜種である、Treponema pallidum sp. pallidum によって引き起こされる病気です。それから Yaws（ヨーズ）と呼ばれている病気は、この亜種の pertenue による病気で、これは現在だと亜熱帯地域に分布しています。それから風土性梅毒は、これも亜種の別のものに近因する病気で、それぞれ「TPA」「TPE」「TEN」というふうに略されることが多いです。

これらの臨床的な症状は重なる部分があり、血清学的にも鑑別ができませんが、DNA レベルで識別は可能です。骨にまで進行しますが、頻度や病変部位には病原体によってある程度の差があります。古人骨から完全に識別するのは難しい部分もあるんですが、性病性梅毒かどうかということを形態から推定することができます。

宮崎さんもご紹介されていましたが、性病性梅毒の起源としてよく取り上げられるのは、コロンブス説です。文献上での梅毒の最初の流行は 1494 年、それから 1495 年のナポリが初めだそうで、この直前にコロンブスのアメリカ大陸への最初の航海が 1942 年にありました。そのため、性病性梅毒はコロンブスらによって、アメリカ大陸からもたらされた可能性があるのではないかと指摘されます。それがコロンブス説です。他の研究ではどうかわからないのですが、少なくとも古代 DNA の研究では、1493 年より前に、この Syphilis がヨーロッパに存在していたかどうかが、主な論点となっています。梅毒の歴史を考えるうえでよく参照される仮説です。

Harper ら (2008) の論文は、よく取り上げられている現代の梅毒トレポネーマの DNA 研究です。古代 DNA ではなく、現代に存在する梅毒トレポネーマの複数の遺伝子を用いてその系統を議論し、アメリカ大陸からユーラシア大陸へと拡散したという説を支持している論文です。この論文では遠回しにコロンブス説を支持しています。200 回以上引用されており、これだけ引用されているのを見ると、この論文の議論が現代でも通用してしまうと思ってしまうかもしれません。もちろん、この論文が発表された当時（2008 年）としては重要な議論ですが、古代の試料を用いておらず、また NGS 以前のサンガー法による研究成果なので、ゲノム全体のデータを用いていません。つまり現在ではこの論文の議論はあまり参考にならないというこ

とが言えます。

梅毒の古代DNA研究については、この病原体特有の難しさもいくつかあります。まず一つが、ゲノムの全長が短いということが挙げられます。全長は約113万bpで、個体間で比較できるSNPの数が少なく、SNPは約1000箇所です。ヒトゲノムだと、数万とか数十万のSNPsが分析に用いられるのでかなり少ないと言えます。このため、系統樹や集団遺伝学的な解析が難しい、あるいは解像度が低いことが挙げられます。更に古代DNAの場合、DNAが劣化しているので、完全にゲノム全長が復元できるとも限らず、数十SNPsのデータしか得られないこともあります。実際に梅毒の古代DNAの研究だとそれくらいしか得られていない場合が多いです。

それからもう一つの問題点としては、骨にまで病気が進行した現代患者でも、DNA検出の成功率が低いことが挙げられます。感染の初期の段階では梅毒の病原体が体の中に多く存在していて、DNAが検出されやすいのですが、骨にまで進行する後期になると、逆に体の中の病原体が少なくなるというような研究結果も報告されています。実際に病変を持つ古人骨から、なかなかDNA検出が難しいという例もいくつか報告されています。

ただし、先天的に感染した新生児の骨には病原菌が多く存在しているということも、梅毒に関しては知られています。このような研究成果もあり、NGSの登場以降、系統関係を議論できるような古代DNAのデータが出始めました。

一つ大きな古代DNAによる梅毒研究としては、Majanderら(2020)による研究成果が挙げられます。これは1400年から1800年代の中央・北ヨーロッパの成人、それから幼児の骨から四つのトレポネーマゲノムを解析し、その系統を調べた論文です。四つの骨から梅毒のトレポネーマ症に関わる病原体が得られ、実際得られたトレポネーマのDNAは、この標本の番号がこちらの系統樹の番号に対応しています。標本番号のあとに付いているこの括弧のなかの数字は、放射性炭素の年代測定の結果で得られた年代幅です。性病性梅毒に関しては、新生児の錐体の骨（PD28）と、エストニアのタルトゥから得られた骨（SJ219）の二個体において、性病性梅毒のDNAが検出されました。フィンランドの個体（CHS119）からはYawsの系統のDNAが得られています。それからオランダの骨（KM14 − 7）に関しては、BejelsとYawsが分岐する前の、かなり根元の近い系統のものが得られました。

この論文で最も重要な論点になっているのは、このSJ219の個体です。このデータからコロンブス、1493年よりも前か後かということを議論しています。彼らの論文の主張では、SJ219が性病性梅毒に分類されるため、コロンブス以前に性病性梅毒がヨーロッパにあったことを支持すると主張しています。これはコロンブス説の否定で、旧大陸起源であることを支持する結果です。ただしこの主張の根拠になっている、SJ219の試料の年代は、コロンブスの時代を含んではいますが、コロンブス以前とは限らない。確率的には事後の方が高いので、主張を完全に取り入れられるかというと、ちょっと疑問が残ります。

この論文でむしろ重要なのは、コロンブス説とは少し離れて、亜熱帯地域に限定されると考えられていたYawsが、過去においてはヨーロッパに存在したことが、むしろ重要なのではないかと考えられます。これは、疫学的にどういう意味があるのかというのは、今後もう少し検証される必要があると思いますが、現代と古代でYawsの分布というのは、かなり異なっていた可能性が考えられます。

それから、Barqueraら(2020)によって、メキシコの個体からも梅毒の病原体のDNAが検出され、系統樹が作成されました。この個体からも性病性梅毒ではなく、Yawsが検出されています。この個体の年代は、1436年から1472年ということで、海洋リザーバー効果の影響もあるので、必ずしもコロンブス以前と確実に言えるかはちょっと難しい部分もあります。ただ、ほぼ同時期に、Yawsがヨーロッパ・アメリカ大陸に存在したというのは、この二つの論文から言えることかなというふうに思います。

古人骨の形態分析による梅毒の証拠というのは、すでに先行研究がかなり多くありまして、コロンブス以前から梅毒と思われる病変を持つ骨は複数報告されています。ただし性病性梅毒かは形態からでも判別が難しい場合もあります。また、他の研究グループによると、コロンブス以前には性病性梅毒による古病理学的なデータはないというふうに反論しているものもあります。この論争に決着をつけるためには、より古い時代の骨をDNA分析して、その系統を確認することができれば、さらに詳しい梅毒の系統の起源や分布についてデータが得られるのではないかと考えられます。

最後に、あまり違う分野の話なので、参考になるのかどうかわかりませんが、論文の探し方・読み方ということで、古代DNA研究者、私の場合はどういうふうに、日進月歩である最新の研究を探しているのかというのを、少しだけ

ご紹介したいと思います。かなり基礎的なことも含まれているので、知っている方には申し訳ないですが、簡単にご紹介します。

論文は基本的には、Google Scholar を使って探しています。すでに使われたことがある方は分かると思いますが、Google Scholar の検索のところに、検索したい単語であったり研究者名を入れると、それに関連する論文が出てきます。検索だけではなくて、メールアラート、キーワードや、著者名によるメールアラート機能などもあります。それから、『Nature』『Science』『Cell』など、この分野で一番大きな雑誌には一通り目を通すようにしています。あとは目的のテーマのレビューや総説論文があれば、レビュー論文を読むというのが一番効率のいい論文の探し方です。また Twitter も最近、論文を探すうえでよく使われるようになってきているかなと思います。特に海外の研究者だと、自分の名前で Twitter をやっている人が多いので、もし興味がある論文の著者で、Twitter をやっている人がいれば、その人のフォローをしていると、自分の研究や、同じ分野の研究の論文をツイートしてくれるので、これも論文を探すときに役に立ちます。

それから、あるテーマについて最新の論文を調べるときは、その重要な論文を引用している論文を調べることで、しらみつぶしに詳しく調べることもできます。例えば古代 RNA ウイルスの研究はあるのかと考えた時に、このセミナーの前半でご紹介した、はしかウイルスの古代 RNA 論文がそのテーマの中に含まれる重要な論文であり、そのあとに出版される論文は、この論文を引用することが多いと考えられます。ですので、Google Scholar から調べると、この論文を引用している論文が 37 本あるということで、これらの論文を一通り見れば、新しい古代 RNA ウイルス研究が出ているのかどうかというのを、しらみつぶしに調べることもできます。

それから、論文の読み方に関しては、自分の研究に関連する論文数というのは膨大で、全部を丁寧に読むのは現実的に厳しいので、まずはタイトル、それから abstract（要旨）と図表に目を通し、論文の内容を把握する。それからあとで参照できるようにフォルダ分け、タグ付け、メモを付けるなどを行っています。興味がある、それから重要な論文は詳しく読んでいます。レビュー論文（総説）に関しては丁寧に読まないとあまり意味がないので、丁寧に読んでいます。

文献管理ソフトはいろいろなものがあり、EndNote や Mendeley を使われている方が多いのかなと思いますが、私は Paperpile というのを使っています。これは Google Drive と連携して論文を管理してくれるので、かなり使いやすいです。特に Google Docs で論文を引用するときに使えるので、共同で論文を書くときに Word よりも Google Docs の方が使いやすい側面があるので、そのときに便利です。

あとはどういうふうに論文を読み、評価していくのかというので、論文の主張が正しいとは限らないということが、まず前提として言えます。査読論文であっても、議論が言い過ぎている論文もあるし、主張が reasonable か、論理が飛躍していないか。それから、主張の根拠となっている解析結果をよく確認することが大事かなと思います。実際に論文を読むときにどういうことを気にしながら読んでいるかというと、試料の妥当性、例えば古代 DNA の試料が得られた地域と年代、それから試料数、年代測定法。古代 DNA の信頼性の評価は、DNA が短いか、脱アミノ化のパターンが見られるか、DNA の混入がないか。特にヒト DNA の場合だと、DNA 混入の推定法というのはさまざまなツールが開発されています。それから得られたデータ量が十分か。実験中の DNA 混入を評価するためのコントロールサンプルから、混入した DNA が検出されていないかなどが挙げられます。

それから病原体に関しては、そのデータがゲノム全体をカバーしているのか。レファレンス配列と類似しているのか。病原体じゃない、他の種の配列ではないかということも評価する必要があります。それから、系統樹に関してはブートストラップ値と呼ばれる、系統関係のトポロジーがどれほど確からしいかというのを評価する値があります。その値が高いかどうか。値が低いとそのトポロジーはあまり支持されないということなので、それも評価基準として見たりしています。

それから、当たり前ですがサイエンスでもコミュニケーションが重要なので、研究者コミュニティも、自分が見落としていることを教えてもらえることもあるので役に立ちます。先程ご紹介したような Twitter 上では、論文紹介だけではなく、この論文に関して私はこう思うとか、批判・議論というのも活発に行われているので、もし興味がある方は海外の研究者をフォローして、その研究者がどういうふうにその論文を読んでいるのか、議論しているのかというのを見ることは、役に立つかなと思います。

それから、近い分野の研究者で Slack やオンラインなど

で論文紹介を行うことで、おかしな点があるのかとか、この論文の結果をどう読むとか、図はきれいだけど年代がおかしいよねとか、そういうことを議論できるので、こうしたコミュニティも役に立っています。

まとめますと、NGS を用いた古代の病原体 DNA 論文は、ヒトの古代 DNA に比べればまだまだ少ないと言えます。今後 10 年でかなりの論文が出ると予想されます。病原体の起源を調べるには、さまざまな地域・年代のデータが必要なのですが、アジアは遅れている傾向があります。一部の地域しかないと、結果にバイアスが生じてしまうので、世界の研究者のためにも、日本を含めたアジアのデータを出す必要があるかと思います。それから、さまざまな分野の研究者、例えば自然人類学、考古学、歴史学、古気候学、医学、疫学などの研究者が協力することで、より蓋然性の高い結果が得られると考えられます。

最後に参考文献を載せておきます。病原体の古代 DNA に関して知りたい場合は、Spyrou (2019) や Duchêne ら (2020) のレビュー論文が参考になるかと思います。古人骨の形態分析に関しては、藤田 (2012) の『古病理学辞典』というものも出版されていますので、参考になるかなと思います。これで発表を終わります。ご清聴ありがとうございました。

参考文献

Sawafuji, R., Saso, A., Suda, W., Hattori, M., & Ueda, S. (2020). Ancient DNA analysis of food remains in human dental calculus from the Edo period, Japan. PloS One, 15(3), e0226654. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226654

Metcalf, J. L., Ursell, L. K., & Knight, R. (2014). Ancient human oral plaque preserves a wealth of biological data. Nature Genetics, 46(4), 321–323. https://doi.org/10.1038/ng.2930

Comas, I., Coscolla, M., Luo, T., Borrell, S., Holt, K. E., Kato-Maeda, M., Parkhill, J., Malla, B., Berg, S., Thwaites, G., Yeboah-Manu, D., Bothamley, G., Mei, J., Wei, L., Bentley, S., Harris, S. R., Niemann, S., Diel, R., Aseffa, A., … Gagneux, S. (2013). Out-of-Africa migration and Neolithic coexpansion of Mycobacterium tuberculosis with modern humans. Nature Genetics, 45(10), 1176–1182. https://doi.org/10.1038/ng.2744

Bos, K. I., Harkins, K. M., Herbig, A., Coscolla, M., Weber, N., Comas, I., Forrest, S. A., Bryant, J. M., Harris, S. R., Schuenemann, V. J., Campbell, T. J., Majander, K., Wilbur, A. K., Guichon, R. A., Steadman, D. L. W., Della Collins Cook, Niemann, S., Behr, M. A., Zumarraga, M., … Krause, J. (2014). Pre-Columbian mycobacterial genomes reveal seals as a source of New World human tuberculosis. Nature, 514(7523), 494–497. https://doi.org/10.1038/nature13591

Spyrou, M. A., Bos, K. I., Herbig, A., & Krause, J. (2019). Ancient pathogen genomics as an emerging tool for infectious disease research. Nature Reviews. Genetics, 20(6), 323–340. https://doi.org/10.1038/s41576-019-0119-1

Eaton, K., Featherstone, L., Duchene, S., Carmichael, A., Varlık, N., Golding, B., Holmes, E., & Poinar, H. (2021). Plagued by a cryptic clock: Insight and issues from the global phylogeny of Yersinia pestis. In Research Square. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1146895/v1 https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1146895/v1

Harper, K. N., Ocampo, P. S., Steiner, B. M., George, R. W., Silverman, M. S., Bolotin, S., Pillay, A., Saunders, N. J., & Armelagos, G. J. (2008). On the origin of the treponematoses: a phylogenetic approach. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2(1), e148. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000148

Majander, K., Pfrengle, S., Kocher, A., Neukamm, J., du Plessis, L., Pla-Díaz, M., Arora, N., Akgül, G., Salo, K., Schats, R., Inskip, S., Oinonen, M., Valk, H., Malve, M., Kriiska, A., Onkamo, P., González-Candelas, F., Kühnert, D., Krause, J., & Schuenemann, V. J. (2020). Ancient Bacterial Genomes Reveal a High Diversity of Treponema pallidum Strains in Early Modern Europe. Current Biology: CB, 30(19), 3788–3803.e10. https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.07.058

Barquera, R., Lamnidis, T. C., Lankapalli, A. K., Kocher, A., Hernández-Zaragoza, D. I., Nelson, E. A., Zamora-Herrera, A. C., Ramallo, P., Bernal-Felipe, N., Immel, A., Bos, K., Acuña-Alonzo, V., Barbieri, C., Roberts, P., Herbig, A., Kühnert, D., Márquez-Morfín, L., & Krause, J. (2020). Origin and Health Status of First-Generation Africans from Early Colonial Mexico. Current Biology: CB, 30(11), 2078–2091.e11. https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.04.002

Duchêne, S., Ho, S. Y. W., Carmichael, A. G., Holmes, E. C., & Poinar, H. (2020). The Recovery, Interpretation and Use of Ancient Pathogen Genomes. Current Biology, 30(19), R1215–R1231. https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.08.081

藤田尚編 . (2012). 古病理学事典 (単行本). 同成社