

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：82505

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10704

研究課題名(和文) マイクロX線CTによる証拠資料に付着した皮膚片の同定法とDNA型検出性の検討

研究課題名(英文) Identification of skin cells using micro X-ray CT observation -Preliminary study-

研究代表者

今泉 和彦 (Kazuhiko, Imaizumi)

科学警察研究所・法科学第一部・室長

研究者番号：00356148

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：犯罪鑑識においてtouch sampleとして重要となる皮膚片がマイクロX線CT撮影によって観察できるか否か検討した。当初は、個々の皮膚片の観察を試みたが、マイクロX線CT撮影の解像度の問題で不可能であったので、凶器等の使用時に握った部分に生じる皮膚片塊(垢)の観察の可否について検討することにした。梱包用ビニールひもを用いて実験したところ、素手で握り強く引っ張った部分には多量の皮膚片塊が観察された。この部分、皮膚片塊はないが強く握られていた部分、握っただけの部分についてヒトDNA量を定量したところ、記載の順にDNA量が多いことが示された。凶器の使用者を特定する上で、本観察法は有用と思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

犯罪捜査において、殺人等に用いられた凶器と犯人との関連性を明らかにすることは重要である。本研究では、マイクロX線CT撮影により、縊頸を模して用いたビニールひもの握った部分に付着した皮膚片塊を、非破壊的に無染色で可視化することができ、その付着部位を3次元的に明らかにすることができた。また、皮膚片塊の付着部分を採取することでその周りの部位よりも多くのDNAが得られることも明らかとなった。このように、マイクロX線CT撮影を用いれば、凶器と犯人との関連性を、把握部位などの犯罪態様も含めて確実に示すことができるようになり、社会的な意義は大きい。また、このような提案は他にはなく、学術的にも意義がある。

研究成果の概要(英文)：We attempted to identify the skin cells transferred in crime scene (so called, touch samples) using micro X-ray CT observation. Although it was impossible to observe each skin cells due to the resolution of the CT, we could identified clots of skin cells (so called, scurf) clearly. The clots were observed at the gripped areas of plastic strings used for simulated strangulation. The clots were observed three-dimensionally in CT so that it was easy to cut areas with them out of the strings. Amounts of human chromosomal DNA were quantified for the area with clots. the results showed that these areas contained more amount of human DNA compared to the area without clots.

In forensic identification, it is important to link a murderous weapon to the suspect using DNA typing methods. the results obtained in this study enhance the detectability of DNA types of murderer with certainty by finding exact gripped areas of the weapon.

研究分野：法人類学

キーワード：マイクロX線CT 法科学 証拠資料 皮膚片 ヒトDNA DNA鑑定 3次元形状

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

犯罪と犯人との関連性を考えるうえで、現場に残された各種遺留物、特に皮膚片は犯人が触ったものである可能性を示すため重要な証拠物となることが多い。皮膚片は、いわゆるタッチサンプル¹⁾⁻⁶⁾の一つとして法科学領域で着目されており、DNA 型検査により特定の人物が判明することで事件の解決に寄与する事例が増えている。

現在、犯罪現場や犯罪に用いられた凶器等から採取される皮膚片の同定は、エオジンによる細胞染色²⁾や Diamond™ nucleic acid dye (プロメガ社)による DNA 染色^{2),4),5)}を行ったのちに、光学顕微鏡あるいは蛍光顕微鏡観察により行われているが、同定後に DNA 型検査に供されることを考えると、PCR 反応への影響や外来 DNA のコンタミネーションを回避するために、この工程を経ずに皮膚片を同定できることが望ましい。

近年、骨片などを含む微細物の観察法として、マイクロ X 線 CT 装置による CT 撮影が法科学領域に普及しつつある^{7),8)}。本装置は試料台に置いた試料を精密に回転させながらマイクロ X 線を照射して CT 撮影を行うもので、X 線源を試料に近づけたり、X 線受像プレートを試料から遠ざけたりすることで、拡大 CT 撮影ができる。

本撮影法の長所は観察対象物に対して染色等の前処理を何ら施すことなく、非破壊で 3 次元的な観察ができることにある。仮に皮膚片の X 線吸収量が観察に十分であったらば、凶器等への皮膚片の付着とその付着状況が容易に 3 次元的に観察でき、その部位から DNA 型を検出することで凶器と犯人との関連性を明確に示せることとなり、法科学的に大きな意味がある。

2. 研究の目的

本研究は、マイクロ X 線 CT による皮膚片の観察の可否について、各種撮影条件、各種付着担体を試しながら検討したものである。

3. 研究の方法

(1) 皮膚片

健康な成人男性の手のひらから次項に示す各種担体により皮膚片あるいは皮膚片塊(垢)を得た。

(2) 採取担体

ア 微物キャッチャー

市販の鑑識試料採取用担体である粘着性高分子ポリマー(微物キャッチャー EX-BS, エクシール社)を採取面の広さは、20mm×20mm である。

イ マイクロチューブ

ポリプロピレン製 0.5ml PCR チューブ (PCR-05ML, アズワン社)

ウ ビニール製荷造りひも

ポリプロピレン製 5mm 幅ビニール製撚りひも (高儀社)

(3) 採取法

ア 採取担体ア

右手各指指頭や手のひらを粘着性にある採取面に計 30 回押し付けて皮膚片を採取。

イ 採取担体イ

チューブの先端を親指と人差し指で挟んで強くねじることで皮膚片と皮膚片塊を採取。

ウ 採取担体ウ

右手素手でひもを握り、強く引っ張ることで皮膚片と皮膚片塊を採取。

(4) マイクロ X 線 CT 撮影

マイクロ X 線 CT 撮影は、マイクロフォーカス X 線 CT システム (inspeXio SMX-225CT FPD HR, 島津製作所) により行った。

(5) CT 画像の観察

CT 画像解析ソフトウェア (VGSTUDIO MAX 3.1, ボリュームグラフィック社) により、撮影された CT 画像をボリュームレンダリングし、適宜特定の輝度範囲の透明度を変更する等して、皮膚片の可視化を行った。

(6) ヒト DNA の抽出と定量

試料採取の詳細は後述するが、ビニール製荷造りひもの一部について、DNA 抽出キット (QIAamp DNA Investigator Kit, 56504, キアゲン社) によりプロトコールに従って DNA を抽出し、溶液に含まれるヒト DNA 量を定量用試薬キット (Quantifiler™ HP DNA Quantification Kit, 4482911, サーマフィッシャーサイエンティフィック社)、リアルタイム PCR 装置 (Applied Biosystems™ QuantStudio 5 Real-Time PCR System, サーマフィッシャーサイエンティフィック社) 解析ソフトウェア (HID Real-Time PCR Analysis Software v1.3, サーマフィッシャーサイエンティフィック社) により定量した。

4. 研究成果

(1) CT 撮影および観察条件の設定

各種検討にさきだち、微物キャッチャーに付着した皮膚片を用いて、CT 撮影条件と観察条件を検討した。撮影プロトコールは樹脂部品撮影用のものを選択し、管電圧(kV)と電流(μA)のペアとして(70,70), (90,70), (90,90), (90,110), (90,140), (115,70)を設定して、それぞれにより得られたCTデータをCT画像解析ソフトウェアにより観察したところ、CT撮影条件として、115 kV、70 μA を採用することとした。

(2) 微物キャッチャーに付着した皮膚片の観察

図1-AおよびBは、微物キャッチャーの採取面の全体をできる限り拡大するようにCT撮影を行ったものである。図1-Aに示すように、粘着面には粒状の皮膚片様物や繊維が付着しており、図1-Bに示すように特定の輝度値範囲の透明度を変化させることで、皮膚片様物は、担体や繊維から明確に分別できた。このことから、マイクロX線CTが皮膚片様物の観察に利用できる可能性が示された。

しかしながら奇妙なのは、微物キャッチャーの粘着力のわりには、付着する皮膚片が少ないことである。図2はセロハンテープに指頭を押し付けたのちにエオジン染色を施したものを光学顕微鏡で観察したものである。ピンク色に強く染まる皮膚片が一面に均一に付着しており、この状況は微物キャッチャーの採取面のものと大きく乖離する。

ここで考えられるのは、微物キャッチャー上に認められる粒状のものは個々の皮膚片ではなく、皮膚片塊(いわゆる垢)なのではないかということである。セロハンテープ上の皮膚片の大きさは、図2のものさしの一目盛りが0.25mmであることからおおむね0.025mm、すなわち25 μm である。図1-AおよびBのCT撮影条件の解像度は16 $\mu\text{m}/\text{voxel}$ と皮膚片の大きさより少ないので、個々の皮膚片の観察は可能のようにも思われる。ただし、皮膚片は薄い鱗片状であり、この解像度では厚さ方向の観察には不十分であったと考えられる。対応策として、撮影試料を小さくしてCT撮影の拡大率を上げたり、得られたCT画像のコントラストをスケーリング係数の設定により変えたりしたが、個々の皮膚片を観察することはできなかった。

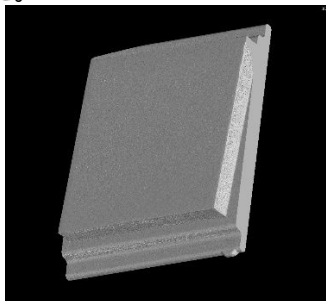


図1-A 微物キャッチャーのCT画像

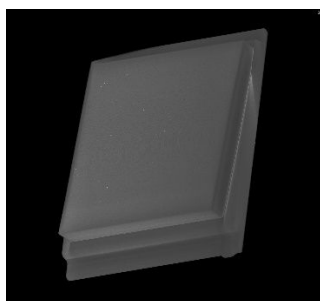


図1-B 微物キャッチャーのCT画像(透明度調整)

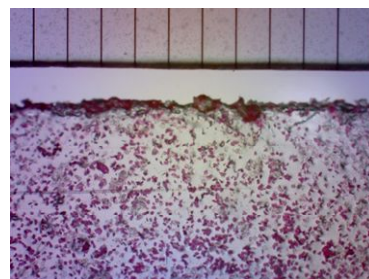


図2 セロハンテープ上の皮膚片エオジン染色、一目盛りは0.25mm

(3) 皮膚片塊の観察

数々の試みによっても個々の皮膚片の観察できなかったため、観察の対象を皮膚片塊とすることに方針を変更した。図3-AおよびBは0.5ml PCRチューブの先端を、親指と人差し指で挟んで強くねじったもののCT像である。チューブの表面に多くの消しゴムかす用の皮膚片塊が観察される。写真3-Bにみられるように、これら皮膚片塊は、特定の輝度値範囲の透明度を変化させることで担体から明確に分別できた。

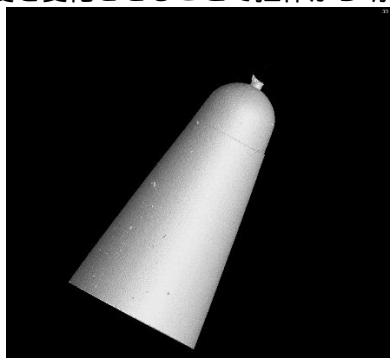


図3-A PCRチューブのCT画像

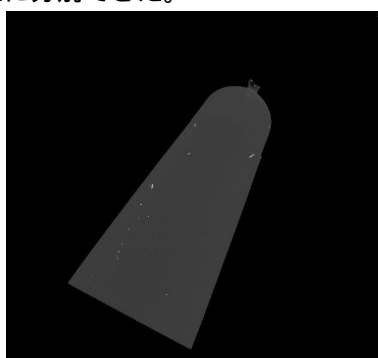


図3-B PCRチューブのCT画像(透明度調整)

(4) ビニール製荷造りひもにおける皮膚片塊の観察

これまでの結果から、マイクロX線CT撮影によって皮膚片塊が観察できることが示された。これを犯罪鑑識に応用することを考えた場合、一つの例として、ひもで首を絞めることで殺人を犯した際の、凶器となったひもの把握箇所の特定が考えられる。把握箇所が非破壊的、3次元的、さらに非染色で明らかになれば、その部位からDNAを抽出してDNA型を検出することで確実に実行犯を特定できる。

このような事案を想定し、ビニール製荷造りひもを握って強く引っ張った際のCT画像を観察した。図4-A~Cは、握った部分を含む、約8cmの荷造りひもを1cm角の太さの発泡スチロ

ール製の棒にとぐる状に巻き付けてCT撮影を行ったものである。図4-Aでは皮膚片塊を分別できないが、図4-Bの、特定の輝度値範囲の透明度を変化させたものでは皮膚片塊が明瞭に観察される。さらに図4-Cでは、その付着状況を上方向から3次的に観察できる(巻き付けた発泡スチロール棒はX線吸収度が極めて低いために消えている)。以上より、犯行現場に残されたひも状のものについて、握って強く引っ張った場所が皮膚片塊の付着から特定できる可能性が示された。

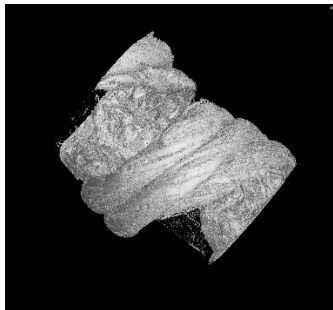


図4-A ビニールひものCT画像

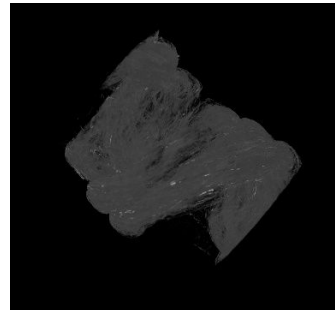


図4-B ビニールひものCT画像(透明度調整)

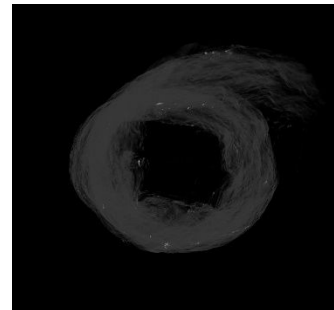


図4-C ビニールひものCT画像(透明度調整)

(5) 強く握った場所におけるヒトDNA量の定量

上記(4)により観察される皮膚片塊付着部位とその近傍(図5にそれぞれ黄色枠と水色枠で示す部分)さらに、一度だけ素手で軽く握った部位と触っていない陰性抽出コントロールについてもDNAを抽出し、ヒトDNA量の定量を行った。

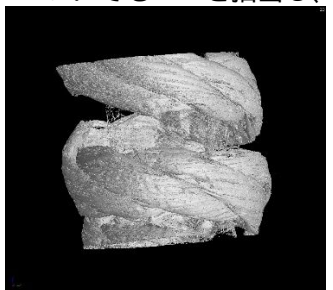


図5-A ビニールひものCT画像

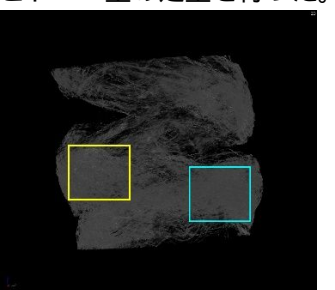


図5-B ビニールひものCT画像(透明度調整)

黄色枠に囲む部分を、「皮膚片塊が多く付着する部位」
水色枠に囲む部分を、「皮膚片が多く付着する部位」
として切り出し ヒトDNA定量

その結果は表1に示すとおりで、X線CT像において多くの皮膚片塊が観察された部位からはおよそ140pg/μlのヒトDNAがSmallおよびLarge Autosomal Targetのいずれからでも得られ、その部分以外の、ただし、引っ張る際には確実に握られていた部分からは約30pg/μlのヒトDNAがいずれのTargetからも検出された。なお、引っ張る作業とは別に、ビニールひもを軽く握ったものからは、1g/μl程度のヒトDNAしか検出されなかった。

	ヒト核由来DNA(pg/μl)	
	Small Autosomal Target	Large Autosomal Target
陰性抽出コントロール	-	-
皮膚片塊が多く付着する部位 (図5-B黄色部分)	130.5	142.1
皮膚片が多く付着する部位 (図5-B水色部分)	28.4	29.1
軽く握っただけの部分	1.7	0.8

この結果は、軽く握っただけの部分、いわゆる touch sample から検出されるヒトDNAはごく微量にしかすぎず、確実なDNA型検出を行うためには、強く握って引っ張る等の強い力が働くことによって皮膚片が塊となって付着した部分を選択する必要があることを示している。その点、今回検討したマイクロX線CTの利用は、非破壊的に確実に皮膚片塊の付着部部分を知ることができるものであり、実務応用が期待される。

5. 考察

マイクロX線CT撮影による皮膚片の可視化を試みた。当初の想定では皮膚表面から自然剥離するような個々の微小な皮膚片の観察を想定していたが、極めて軽微な指先の押なつによっても微物キャッチャーやセロテープの粘着面に多量に付着する個々の皮膚片の観察は、CT撮影時の拡大率、電流および電圧、スケーリング係数を様々に変更しても不可能であった。これは、各皮膚片の特に厚さ方向の大きさがマイクロX線CT撮影の解像度よりも小さいことによるものと考えられた。一方で、これらの検討中には、種々の担体において、皮膚片塊(いわゆる垢)は明瞭に分別された状態で観察された。そこで研究方針を転換し、ひも状のものを凶器として強く握って引っ張る際に付着するであろう皮膚片塊の検出とその付着位置の把握の可否について検討

を進めることにした。市販の梱包用ビニールひもで試したところ、握られて強い力がかかった部分には皮膚片塊が明瞭に確認され、その3次元的な位置も把握できた。これにより、CT撮影像を見ながら、資料への皮膚片塊の付着部位を知り、DNA型検査用試料として切り出すことができる。マイクロX線CT撮影は、今回用いたひも程度の太さであれば約8cm長を一度に観察することができる。凶器の可能性があると押収したひもを精査し、犯人が握った可能性がある部位を中心に8cmを切り取ってCT観察して皮膚片塊を確認することで、確実に信頼性の高いDNA型検査を行うことができるだろう。

<引用文献>

- 1) Cavanaugh SE and Bathrick AS, Direct PCR amplification of forensic touch and other challenging DNA samples: A review. *Forensic Sci Int Genet* 32 (2018) 40-49.
- 2) Kanokwongnuwut P, Kirkbride KP, Linacre A, Detection of latent DNA. *Forensic Sci Int Genet* 37 (2018) 95-101.
- 3) van Oorschot RAH, Szkuta B, Meakin GE, Kokshoorn B, Goray M, DNA transfer in forensic science: A review. *Forensic Sci Int Genet* 38 (2019) 140-166.
- 4) Kanokwongnuwut P, Kirkbride KP, Linacre A, An assessment of tape-lifts. *Forensic Sci Int Genet* 47 (2020) 102292.
- 5) Kanokwongnuwut P, Martin B, Taylor D, Kirkbride KP, Linacre A, How many cells are required for successful DNA profiling? *Forensic Sci Int Genet* 51 (2021) 102453.
- 6) Nimbkar PH and Bhatt VD, A review on touch DNA collection, extraction, amplification, analysis and determination of phenotype. *Forensic Sci Int* 336 (2022) 111352.
- 7) 今泉和彦 白骨死体の鑑定へのX線CT装置の活用 活用例と今後の可能性について . *インナービジョン*、28巻1号 (2013) 62-65.
- 8) Imaizumi K, Forensic Investigation of burnt human remains. *Research and Reports in Forensic Medical Science* 5 (2015) 67-74.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	谷口 慶 (Taniguchi Kei) (10649528)	科学警察研究所・法科学第一部・研究員 (82505)	
研究分担者	小川 好則 (Ogawa Yoshinori) (20443088)	科学警察研究所・法科学第一部・主任研究官 (82505)	
研究分担者	臼井 詩織 (Usui Shiori) (30960801)	科学警察研究所・法科学第一部・研究員 (82505)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関