

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19484

研究課題名（和文）ヒト毛髪と水道水安定同位体組成に基づいた地理的居住領域予測モデルの開発

研究課題名（英文）Development of geographical area prediction model based on human hair and tap water stable isotope

研究代表者

小山 哲秀 (KOYAMA, AKIHIDE)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：90622209

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒト毛髪と水道水安定同位体組成に基づくヒトの地理的居住領域を予測するツールの開発を目的に研究を行なった。DNA型解析などの“個人を識別する”技術革新は進歩している一方で、候補者の絞り込みを行う方法の提唱は、本邦では未だなされていない。本研究では、この絞り込みの方法として、毛髪と水道水中の酸素と水素安定同位体に着目して研究を行なった。その結果、極めて解像度の高い水道水同位体マップの作成することが出来た。この成果は、居住場所を推定するために極めて重要な資料となりうる。さらに、毛髪あるいは骨の安定同位体比の検証結果より、身元の推定に安定同位体比を利用することが有用である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、安定同位体を用いた地理的居住推定ツールの確立を目的とした研究である。すなわち、これまで不可能だった「出身地・居住地の推定」を可能にするものであり、本研究結果は、その期待に応えることのできる可能性を示すことが出来た。これを従来、身元特定に使われてきた歯型やDNA型と組み合わせることにより、より精度の高い身元特定が可能となることが推定された。また、本研究で取り上げていない元素の検討により、その応用性は広がることが予測される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to develop a tool to predict human geographic residence based on the stable isotopic composition of human hair and tap water. In this study, we developed a method to narrow down the candidate pool. In this study, the purpose of the research was to narrow down the candidates by focusing on the stable isotopes of oxygen and hydrogen in hair and tap water. As a result, we were able to create an extremely high-resolution tap water isotope map. This result can be an extremely important resource for estimating the location of habitation. Furthermore, the results of stable isotope ratios of hair and bones suggest that the use of stable isotope ratios may be useful for identity estimation.

研究分野：法医学

キーワード：身元推定 安定同位体比 法医学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人体中の水分量は60%と言われており、その供給源は、食事や飲水から得られる水(=水道水)が大半を占めると考えられる。水は酸素と水素により構成されており、体内中の水素と酸素元素は、水道水由来であることは容易に想像される。水素は、1つの陽子をもつ(^1H)が全体の99.99%を占めるが、陽子と中性子を1つずつ持つ(^2H)が0.01%存在する。同様に酸素も、一般的な(^{16}O)は99.76%存在する中で、(^{18}O)が0.20%存在する。とりわけ(^2H)や(^{18}O)は、微量であるが極めて安定であることから、安定同位体と称されており、多くの分野で利用されている。例えば、食品中の安定同位体比分析による産地の推定や、環境や生態系の評価など現代社会の評価ツールとしての有用性が多数報告されている。また、安定性が高いことから考古学分野における年代推定のツールとして重要な知見をもたらしている。一方、法医学分野においては、コカインの地理的起源の追跡に利用することで産地の推定が可能であることを報告しており(JR Ehleringer et al. Nature, 2000)、法医学分野での有用性は高いと考えられる。

2008年に水道水中の酸素および水素の同位体比には地域差があり、ヒト毛髪中の同位体比と極めて高い相関性を認めることが報告された(JR Ehleringer et al. PNAS, 2008)。この知見は、ヒトの地理的居住領域の推定をするために、毛髪と水道水の同位体比を測定することにより可能であることを示している。実際に、犯罪現場において採取された毛髪から、酸素同位体比を割り出し、水道水酸素同位体比マップから正確に居住地推定ができたという報告もありその有用性は高いと推定される(JR Ehleringer et al. Isoscapes 2010)。しかし、本邦法医学分野において安定同位体に着目した検討は少なく、同様の有効性があるかは検証されていない。

2. 研究の目的

ヒト毛髪と水道水安定同位体比から居住域を推定するツールを作成することを目的とした。本目的を達成するために、以下の項目に関して検討を行った。まず水道水に関しては、水道水中の酸素及び水素同位体比に地域差はあるのか、地理的な解像度を増やすことで、地域差や地域推定に対する精度は上昇するのか、環境水(河川水等)で認められる同位体比の季節性および経年変化による数値変動はあるのかを検証した。

次に、居住域を推定するにあたっては、既報と同様に、水道水と居住する者の毛髪中同位体に相関性が認められるのか、毛髪サンプルによる地域差が生じているか、毛髪以外のサンプルである骨でも、同じような検証は可能なのかを検証することにした。

3. 研究の方法

新潟県下353箇所から水道水を採水した。採水場所として、新潟県警察本部の協力を得て新潟県警察署・交番・駐在所・派出所から水道水を採水した。採水場所を多くした理由は、地理的分解能を高くすることでこれまでの報告になかった、高精度マップを作成するためである。採水は、年2回実施した。採取したサンプルは、総合地球環境学研究所にサンプルを持ち込み、安定同位体比分析装置(PICARRO L2120-i, L2130-i, PICARRO Inc.)にて水道水中の酸素および水素同位体比を測定した。さらに、測定した各同位体比から、水蒸気の起源を推定する指標(d-excess値、酸素同位体比 - $8 \times$ 水素同位体比)を求めた。これら3つの数値に、水源や使用水系、浄水場を調査した結果を加えて、水道水同位体比が、どのような因子に由来して地域集積性を見出しているのか検討を行った。

法医学解剖で取得した毛髪サンプルを用いて、居住地域の推定が可能かどうか検討を行った。検討には、居住地域が判明している症例を選定した。毛根部から2cm毎にサンプリングを行い、同位体比を検出して同位体比検討を行った。

毛髪からの酸素同位体比を計測するために、クロロホルム・メタノール溶液で毛髪の脂質除去を行い、引き続き純水による超音波洗浄をおこなった。最後にメタノール処理を行い、60度で乾燥作業をおこなった。乾燥した毛髪は、毛根側から2cm毎に切り錫カップに入れて包み込み、重量を計測した後に保管した。測定には、東京大学総合研究博物館の協力を得て、熱分解型元素分析計・安定同位体比質量分析計(TCEA-IRMS, Thermo Fisher Scientific, Finnigan TC/EA及びFinnigan MAT253, DeltaV Plus)を用いた。スタンダード試料として、IAEA-601、NBS-127、Celluloseを用いて実施した。

法医学解剖で取得した骨サンプルを用いて、日本人と外国人の区別が可能かどうか検討を行った。本検討は、海外からと思われる海岸漂着遺体が多い新潟県において特に有用性が高い。サンプルは、ご遺体から骨を採取して酸素同位体比の検討を行った。

骨の酸素同位体比を測定するために、口腔用のドリルを利用して表面の骨を取り除いた後に、骨粉を20mg程度を目標に採取した。その後、洗浄のために次亜塩素酸ナトリウムによる処理を行い、純水洗浄をおこなった後に酢酸バッファーによる処理をおこなった。純水洗浄を経たのちに60度で乾燥作業をおこなった。次に、リン酸銀を析出させる作業を行なった。まずフッ化ナトリウム溶液で反応させ、カルシウムを沈殿させることでカルシウム除去を行なった。引き続き、リン酸銀を析出させるために、アンモニア水溶液と硝酸銀による濃縮反応を70度16時間行っ

た。リン酸銀の析出を確認した後に純水による洗浄を行い、最後に 70 度で乾燥作業を行なった。乾燥させたリン酸銀は、乳鉢により粉末化させ、銀カップに入れて包み込み、重量を測定したのちに保管した。分析には、毛髪と同じ分析装置を利用した。なお、本研究は新潟大学倫理申請の承認を得て実施した。

4. 研究成果

まず、新潟県における水道水中の酸素および水素安定同位体を検討した。新潟県下 353 箇所から水道水を冬季および初夏の 2 度にわたって採水を行い、Picarro による酸素および水素安定同位体を測定した。その結果、酸素同位体は、およそ -7.5 から -12.7‰ 程度、水素同位体は、およそ -45.0 から -82.0‰ 程度、d-excess は、およそ 26.0 から 11.5‰ 程度の間で変動していた。この結果は、先に報告されている新潟県の 2 倍の面積を有する米国ミシシッピ州で行われた同様の検討結果よりも、測定値に大きな幅が認められる結果であった。また、季節性変化があるかどうか検証した結果、興味深いことに大きな河川である信濃川、阿賀野川の一部地点において ±10% 程度の変動が認められた。一方、河川水であっても小規模な河川や、山間部等で利用が多い井戸水やダム水を利用している水道水では季節性の変動を認めなかった。

水道水の同位体比検討のまとめとして、新潟県における水道水同位体比は多様性があることが判明した。この多様性の由来は、水道水の水源が多いことに由来していると推定される。また、季節変動の認められる水道水とそうでない水道水の違いは、今後定期的な採取による検証が必要となる。

次に、不明遺体から骨の酸素同位体比を比較することで本邦出身であるのか否かを分けることができるかどうか検討を行なった。検討は、外国籍と思われる不明遺体 5 例と本国出身である水死体 7 例であり、ご遺体から頭蓋骨を採取して酸素同位体比の検討を行なった。その結果、5 例中 4 例の外国籍と思われるご遺体と 7 例すべての本邦出身を明確に分けることができることが判明した。一方で、外国籍と思われる 1 例においては、本邦出身者と同じ同位体比を示した。この症例は、20 代程度の若い男性であることが推定されており、糞便中から回虫や鞭虫が多数検出されていることから、外国籍由来である可能性が高いと推定された。

骨由来の同位体比検証の小括として、骨における同位体比の検証の結果、かなり高い確率で本邦出身者と外国籍との分離は可能である可能性が示唆された。一方で、本邦と同じ同位体比を呈する症例も認められた。骨の同位体比は、死亡前の 10 年前後の期間の平均値を反映するとされ、大人になってからの多様な活動の影響を受けて値が影響を受けていることが背景にある可能性が考えられた。

最後に、人毛髪を用いた検証を行った。サンプルは解剖例から採取した 6 例を対象とした。対象者の直前の居住地の内訳は、県内の方が 4 例、県外の方が 2 例であり、男性が 1 名、女性が 5 名であった。毛髪は 1 ヶ月に約 1cm 伸びることから、毛髪を毛根部から 2cm 毎に毛先まで均等に切断し、2 ヶ月毎の同位体比の検証も合わせて行なった。測定には、熱分解型元素分析計・安定同位体比質量分析計を用いた。まず、採取日から直近 2 ヶ月程度の値を示す毛根から 2cm の同位体比を検討すると、それぞれのサンプルで違いが認められた。しかしながら、水道水との同位体比との相関性は認められなかった。次に、個人での 2cm 毎の同位体比を検討したところ、2cm 毎の測定値が全く変動していない例と、変動が認められる例が確認された。長さによる変動が大きいことは、個人情報との照合により何らかの新しい知見が得られれば興味深い。これらの結果から、毛髪からの同位体比にはそれぞれ個人差が認められ、毛髪による居住域の推定ができる可能性が示唆された。

毛髪を用いた同位体比検討の小括として、水道水同位体比との相関が得られなかった理由としては、測定値を補正することにより相関性が見出せており、数が少ないため対象数を増やしている検討が必要であることが挙げられる。また、当初は、水道水と毛髪との相関性を取る予定であったが、新型コロナウイルスの影響により、毛髪提供を予定していた施設への訪問が難しくなり実施することが出来なかった。引き続き本検討は進めていく予定である。

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------