

平成 30 年 6 月 2 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26460889

研究課題名(和文) 歯牙の放射性炭素分析による年齢推定法の法医実務への適用に向けて

研究課題名(英文) Radiocarbon analysis of tooth to determine an individual's date of birth for forensic application

研究代表者

福井 謙二 (Fukui, Kenji)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：60199180

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：法医学実務における新しい生年推定法を検討した。歯牙の放射性炭素のレベルは、歯牙形成時期の地上核実験が影響している。したがって、そのレベルを測定することで個体の生年を推定することができる。本研究では、分析対象試料は第一大臼歯のエナメル質を第一選択とするのがよく、生年によっては象牙質の分析も加える必要があることを示した。また、分析に必要な試料の最小量は、十分な安全域を見積って、エナメル質で100mg、象牙質で50mgであった。この量は、第一大臼歯全体(平均的な重量が約1.8～2.4g)のごく一部であり、限られた検査試料を対象とする法医実務への適応が期待できるものだった。

研究成果の概要(英文)：I examined a new method to determine the individual's date of birth in forensic application. The radiocarbon level of the tooth was affected by the ground nuclear test at the period of the tooth formation. Therefore, it is possible to estimate the individual's date of birth by measuring the level.

In this study, it was appropriate to use first molar enamel as the first choice, and it was necessary to add analysis of dentin according to the year of birth. In addition, the minimum amount of sample required for this analysis was estimated to be 100 mg for enamel and 50 mg for dentin. These were only a small portion of a whole first molar (average weight is about 1.8 to 2.4 g). Therefore, I concluded that this method can be applicable to forensic practice.

研究分野：法医学

キーワード：法医学 生年推定 放射性炭素 歯牙

## 1. 研究開始当初の背景

法医学領域における年齢推定は一般的なものとしては頭毛陰毛の色調，頭蓋顔面骨の縫合，長管骨骨梁の変化，顎骨（下顎枝の角度・歯槽骨の吸収の程度），歯牙の状態（萌出の程度・治療本数・残存本数・咬耗摩耗の程度），その他動脈硬化の程度など，主として形態学的な所見をもとに行われることが多い。

しかしながら，これら個々の方法で導き出される推定年齢はほとんどの場合10～20年の幅を考慮したものである。したがって，最終的には多くの項目を検査して，その結果を総合的に判断して年齢を導き出している。また，象牙質アミノ酸のラセミ化現象を応用した手法が精度の高い年齢推定法と言われているが，pH，熱など死体のおかれた環境に左右されることや，手技の困難さなどから一般にはほとんど普及していない。このような状況から，法医学実務において，より簡便で精度の高い年齢推定法の開発が望まれている。

そこで本研究では，歯牙の放射性炭素分析による新しい生年推定法を検討した。歯牙のエナメル質や象牙質の形成時に取り込まれた放射性炭素レベルは，それらの組織にターンオーバーがないため形成完了後も変化しない。また，大気中の放射性炭素は二酸化炭素として存在し，光合成によって植物に取り込まれ，その後一連の食物連鎖で動物に取り込まれる。したがって歯牙の放射性炭素レベルは，歯牙形成時期の大気中の放射性炭素レベルを反映する（Spalding et al., 2005）。

大気中の放射性炭素は，1950～1960年代前半に頻回に行われた地上核実験で急激に増加し，1963年の部分的核実験禁止条約締結後減少しつつある（Bomb effect）。したがって，1950年頃から現在に至る時期に形成された歯牙は，その効果によって含有される放射性炭素レベルは特別な値を示し，形成時期を推定し，ひいては個体の生年推定に応用することができる。

## 2. 研究の目的

本研究では，歯牙の形成時期に取り込まれた放射性炭素レベルから，生年を推定する方法を検討し，法医実務での適応について考察する。

その中で，(1) 特に1本の歯牙の分析のみから，正確な生年推定の可能性について言及する。(2) 年代較正用 Bomb curve (図1) は1963年に極大値（以下1963年ピーク）を示すことから，ひとつの $F^{14}C$ 値に対して2つの年代の可能性が考えられる。そこで，形成時期が1963年ピークの以前なのか以降なのかの判定について考察する。(3) 歯牙の分析対象組織，分析に必要な歯質量，さらに，う蝕の影響などについて考察する。

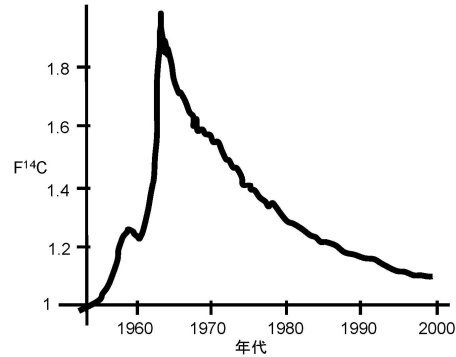


図1. 年代較正用 Bomb curve

## 3. 研究の方法

### (1) エナメル質の単離

歯牙に付着した歯石，軟組織，その他の汚れをエバンス彫刻刀などで除去し，エナメル質表面層は歯科用バーで一層切削した。その後，歯頸部で切断し歯冠部と歯根部に分割した。歯冠部について歯髄と象牙質を歯科用バーで可能な限り除去した後10N NaOHに浸し超音波洗浄器で反応させた。10N NaOHを新たに交換し，数日間攪拌させ，有機成分を完全に溶解させた。さらに，スチールバーを用いて，残存象牙質を可能な限り除去し，再び10N NaOHに浸し攪拌しながら数日間反応させ完全に象牙質を除去した。単離されたエナメル質を超純水で洗浄後，乾燥し測定試料とした。

### (2) 象牙質コラーゲンの抽出

前記(1)の歯冠部象牙質の除去操作にともなって，歯髄や二次象牙質の混入を避けながら，粉末状に削り出される象牙質を回収した。この粉末象牙質を1N HClで脱灰後，超純水で十分に洗浄した。その後90℃に加熱しコラーゲンをゼラチン化させ凍結乾燥し測定試料とした。

### (3) $F^{14}C$ 値の測定

前記(1),(2)で準備された単離エナメル質，あるいは象牙質コラーゲンについて，加速器質量分析計（AMS）による $^{14}C$ および $^{12}C$ ， $^{13}C$ の同位体分別を考慮した $F^{14}C$ 値の算出と年代測定をパレオ・ラボ株式会社に委託した。

### (4) 1本の歯牙からの生年推定

1本の歯牙組織のエナメル質，あるいは象牙質で，形成時期の初期の部分と，形成完了時期の部分の組織をそれぞれ分析し，年代較正用 Bomb curve の1963年ピークの以前か以降かを判定した。

### (5) C/N 比の測定

(2)で準備された象牙質コラーゲン試料の純度を確認するため，C/N比を測定した。骨

のコラーゲンの純度は C/N 比で評価可能であり、その値が 2.9~3.6 であれば十分であるとされる。象牙質と骨の組成が類似していることから、象牙質についてもこの値が適用できると思われる。そこで、燃焼型元素分析装置による C/N 比の測定をパレオ・ラボ株式会社へ委託した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 1本の歯牙の象牙質を試料とした生年推定

年代較正用 Bomb curve の曲線の特徴から、異なった象牙質形成時期の歯牙 5 本(試料 A, B, C, D, および E)を材料とした。

対象歯牙は東京慈恵会医科大学法医学講座の法医剖検 5 事例において各 1 本ずつ採取した第 1 大臼歯, 第 2 大臼歯, あるいは犬歯である。各試料については以下の通りである。

試料 A:  $F^{14}C$  値は 1950 年を 1 としているため、象牙質形成時期がそれ以前からの 1949~1959 年代の歯牙。

試料 B: 象牙質形成時期が、年代較正用 Bomb curve の 1963 年ピーク以前の時期が長い 1955~1965 年代の歯牙。

試料 C: 象牙質形成時期が、年代較正用 Bomb curve の 1963 年ピーク以降で、曲線の傾きが急な 1967~1980 年代の歯牙。

試料 D: 象牙質形成時期が、年代較正用 Bomb curve の 1963 年ピーク以降で、曲線の傾きがなだらかになりつつある 1971~1981 年代の歯牙。

試料 E: 象牙質形成時期が、年代較正用 Bomb curve の 1963 年ピーク以降で、曲線の傾きがかなりなだらかになっていく 1977~1991 年代の歯牙。

ここで、1 本の歯牙の象牙質のなかで形成時期が初期の咬合面(切縁)側象牙質と、形成完了時期の根尖側象牙質を分析した。 $F^{14}C$  値が、咬合面(切縁)側より根尖側の方が高い場合は、1963 年ピーク以前の時期と判定でき、逆に根尖側の方が高い場合は、1963 年ピーク以降の時期と判定できる。

分析結果から、前記 5 本の歯牙試料について、実際の形成年は、推定された形成年の範囲内にあった。

また、C/N 比は 2.9~3.6 の範囲を逸脱した試料はなく、十分な純度であった。

この様に、1 本の歯牙を材料として、形成時期の異なる象牙質 2 部位の  $F^{14}C$  値を測定することで、正確な生年推定が可能であった。一方、永久歯象牙質の形成時期は最も短いものでも第 1 大臼歯の 9~10 年間であるため、推定生年の精度向上のためにはエナメル質の分析も必要であると考えられた。

##### (2) 1本の歯牙のエナメル質、および象牙質を試料とした生年推定

これまで、エナメル質を試料とした放射性炭素分析による生年推定法についてまとめ

てきているが (Kondo-Nakamura et al., 2011), 前記(1)の象牙質を試料とした場合の結果と合わせて考察を加える。

まず、エナメル質 2 部位の試料で Bomb curve の 1963 年ピーク以前か以降かの評価が可能であれば、必ずしも象牙質の分析の必要はなく、そのまま生年推定を行うことができる。

一方、エナメル質は象牙質に比べ形成期間が短いため 1963 年ピーク以前か以降かの判断が困難な場合がある。その場合は、象牙質を用いて決定し、生年推定はエナメル質からの結果に補助として象牙質の結果を加味して行う。

この様にエナメル質試料、象牙質試料を適宜組み合わせることで、結果の精度向上が可能となる。

##### (3) 分析に必要な最小歯質量

法医学実務で扱われる歯牙試料は、補綴物、充填物、う蝕、咬耗摩耗、焼損、あるいは破折などにより、健全歯質量が限られている可能性がある。そこで、分析に必要な最小歯質量を決定しておく必要がある。

###### エナメル質

エナメル質試料の重量が、歯牙から切り出した時点で約 60mg、アルカリによる有機成分除去処理後の重量で 50mg 程度が分析可能な最小量と推測された。

一般に分析には、0.2mg~1mg 程度の炭素が必要とされ、エナメル質の炭素含有率を 1% として換算すると 20 mg~100mg のエナメル質に相当する。したがって、50mg をひとつの目安とするのは理論的に妥当であると考えられた。

###### 象牙質

粉末状に削り出した象牙質 25mg 程度が、分析可能な最小量と推測された。また、象牙質約 25mg から回収された炭素量は、最小で 0.65mg であった。

これは、一般に分析可能な炭素重量が 0.2mg~1mg 程度とされることから、理論的にも妥当な値であると考えられた。

###### まとめ

前記、および示した歯質量で概ね良好な結果が得られたが、さらに AMS 機器のコンディションによる感度の変動等を考慮すると、現実的にはそれらの倍量程度の試料量を安全域とするのが現実的であると考えられた。

##### (4) う蝕の影響

法医解剖や死体検案などの法医学実務で採取できる歯牙試料は、必ずしも健全歯であるとは限らず、う蝕歯質の影響を検証しておく必要がある。

そこで、1 本の歯牙で、う蝕罹患象牙質として、病理組織学的に象牙細管の数珠状拡大や細菌塊が認められる部分を、また、コントロール用に健全象牙質を試料とし、両

者の結果を比較した。その結果、う蝕の、放射性炭素分析による生年推定に及ぼす影響は無視できると考えられた。

#### (5) 実際の法医実務への適用 (パイロットスタディ)

死後変化が高度な死体の法医実務 2 事例で本法の有用性を検証した。いずれも、DNA 鑑定や死体発見の状況などから身元が判明しており、実際の生年月日が明らかな事例である。

##### 事例 1

死後経過数ヶ月の死体で、死後変化が高度のため外表からは個人識別が困難であった。下顎切歯 1 本のエナメル質を試料として放射性炭素レベルから生年推定を試みた。その結果、う蝕によって健全歯質量が少ない事例であったが、エナメル質は放射性炭素分析に使用し、一方、歯髄・象牙質は DNA 分析用に残すことができた。実際の生年は、推定された生年の範囲内であった。

##### 事例 2

水中に 20 年以上放置された死体で、死蟻化が進行していたため外表からは個人識別が困難であった。小臼歯 1 本のエナメル質、および象牙質を試料として放射性炭素レベルから生年推定を試みた。その結果、実際の生年は、推定された生年の範囲内であった。エナメル質や象牙質の放射性炭素レベルが、長期間の水中環境で、不安定となることは、理論的に考えにくい。今回の分析結果においても、本法が、長期間の水中環境や高度な死後変化に対して有効であると考えられた。

#### 引用文献

Spalding KL, Buchholz BA, Bergman LE, Druid H, Frisén J. Age written in teeth by nuclear tests. *Nature* (2005) 437: 333-334

Kondo-Nakamura M, Fukui K, Matsu'ura S, Kondo M, Iwadate K. Single tooth tells us the date of birth. *Int J Legal Med* (2011) 125: 873-877

#### 5. 主な発表論文等

[学会発表](計 5 件)

Fukui K, Matsu'ura S, Kondo M, Iwadate K. Can carious dentin be used in radiocarbon analysis of dentin to determine an individual's date of birth? 24th Congress of the International Academy of Legal Medicine (IALM). *Jpn J Legal Med*. 2018; 72 (Suppl): p85, Fukuoka, Japan.

福井謙二, 松浦秀治, 近藤 恵, 酒井健太

郎, 岩楯公晴. 歯牙 1 本を試料とした放射性炭素分析による生年推定 - 25 年間水中に放置された死体の 1 例 - .第 64 回日本法医学学会学術近畿地方集会 .講演要旨集 .2017; p28, 和歌山 .

福井謙二, 近藤美穂子, 松浦秀治, 近藤 恵, 岩楯公晴. 歯牙の放射性炭素分析による法医学的生年推定法: 必要最小象牙質量の検討 .第 100 次日本法医学学会学術全国集会 .日本法医学雑誌 . 2016; 70: p82, 東京 .

福井謙二, 近藤美穂子, 松浦秀治, 近藤 恵, 岩楯公晴. 歯牙の放射性炭素分析による法医学的生年推定法: 必要最小エナメル質量の検討 .第 99 次日本法医学学会学術全国集会 .日本法医学雑誌 . 2015; 65: p62, 高知 .

Fukui K, Kondo-Nakamura M, Matsu'ura S, Kondo M, Iwadate K. Estimating date of birth by determining radiocarbon levels in a single tooth: Significance of analyzing both enamel and dentin. 9th International Symposium on Advances in Legal Medicine (ISALM). *Jpn J Legal Med*. 2014; 68 (Suppl) : p65, Fukuoka, Japan.

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

福井 謙二 (Fukui, Kenji)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号: 60199180