

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K10529

研究課題名（和文）寒暖境界期および寒冷期の死後経過時間推定精度向上に資する法昆虫学的指標の探索

研究課題名（英文）Research for forensic entomological indicators that contribute to improving the accuracy of estimating postmortem intervals during warm-cold boundary periods and cold seasons

研究代表者

三枝 聖 (SAIGUSA, Kiyoshi)

岩手医科大学・教養教育センター・准教授

研究者番号：30398490

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）：寒冷期に活動するクロバ工科4種について低温耐性および休眠に関する遺伝子発現量の経時的変動を調査し時間経過の指標として利用可能であるか検討した。遺伝子解析のために4種を産卵から成虫羽化まで管理環境（明暗12h、明期20 / 暗期10、70% RH）にて飼育し経時的観察および遺伝子解析試料採取を試みたが、十分な試料数を得ることができなかった。抱卵雌個体の採集が困難であった理由は生態に関する情報不足のほか、昼夜の寒暖差や急激な天候変化など環境要因も考えられた。必要な試料数を確保するため屋外にブタ肉片を留置し定点撮影装置で記録することによりクロバ工科4種の活動（産卵）条件を把握する試みを継続中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

寒暖境界期および寒冷期にも死体が昆虫の蚕食を受けている例は散見されるが、法昆虫学的死後経過時間推定は温暖期に比し推定精度が低下する。その理由として、温暖期に優勢な昆虫は越冬のために休眠すること、寒冷期に優勢な昆虫は成長が緩徐で双翅目幼虫の体長のような形態学的変化を時間経過の指標として推定に利用することが難しいことなどが挙げられる。また、寒冷期の昆虫の活動（産卵）条件など生態学的知見が乏しいことに加え昼夜の気温差など環境要因も考慮しなければならない。遺伝子発現量を時間経過の指標として利用可能になれば、寒暖境界期・寒冷期の死後経過時間推定精度の向上が期待でき法昆虫学的解析の需要に応えるものである。

研究成果の概要（英文）：The temporal changes in gene expression related to cold tolerance and diapause in 4 species of Calliphoridae that are dominant during the cold seasons and investigated the utility as an indicator of the elapsed time. For genetic analysis, 4 blowfly species were reared in a controlled environment (photoperiod 12 hours, L/D: 20 / 10, 70% RH) from eggs to adult flies emergence observed them over time, and collected samples for gene expression analysis. However, insufficient samples were able to obtain. The cause for the difficulty in collecting matured females was thought to be insufficient information on their ecology, as well as environmental factors such as temperature differences between day and night and weather changes. To obtain the necessary number of samples for analysis, it is continuing our efforts to understand the activity (oviposition) conditions of the 4 blowfly species by placing pieces of sliced pork outdoors and recording them with a fixed-point device.

研究分野：法昆虫学

キーワード：法昆虫学 死後経過時間推定 寒暖境界期 寒冷期 クロバ工科 低温耐性 休眠

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

冬期に積雪のある北日本地域においても寒暖境界期および寒冷期にも死体が昆虫の蚕食を受けている例は散見されるが、当該期の法昆虫学的死後経過時間推定は、温暖期に比し、推定精度が低下する。その理由として、温暖期に活動が優勢な昆虫は越冬のために成長を一時停止し休眠すること、寒冷期に活動が優勢な昆虫は成長が緩徐であり、双翅目幼虫の体長のような形態学的変化を時間経過の指標として推定に利用することが難しいことなどが挙げられる。また、寒冷期の昆虫の活動(産卵)条件など生態学的知見が乏しいことに加え昼夜の気温差や風速、日内の天候の急激な変化など環境要因も考慮しなければならない。寒暖境界期および寒冷期の法昆虫学的死後経過時間推定精度向上により、年間を通じて安定した法昆虫学的手法の利用が可能となると考えられた。

2. 研究の目的

寒暖境界期および寒冷期の法昆虫学的死後経過時間推定精度向上のため、寒冷期に活動が優勢となる早期入植クロバエ科 4 種(ケブカクロバエ *Aldrichina gramhami*, オオクロバエ *Calliphora lata*, ホホアカクロバエ *Calliphora vicina*, フタオクロバエ *Triceratophyga caliphoroides*)を中心に、低温耐性および休眠に関する遺伝子発現量について経時的変動を記録することで時間経過の指標として、法昆虫学的死後経過時間推定への利用が可能であるか検討する。

3. 研究の方法

屋外にブタ肉片を設置し、誘引されたクロバエ科 4 種の抱卵雌個体を採集し、研究室にて産卵させる、あるいは既にブタ肉片上に産み付けられていた卵塊を採集する。グロースチャンバーにて構築した寒暖境界期を想定した管理環境(明暗周期 12 時間, 明期 20°C: 暗期 10°C, 70% RH)にて飼育し、経時的に観察するとともに、体長計測のために数個体を熱湯殺虫・80%エタノール液浸標本として保存する。同時に核酸抽出試料として、数個体を表面を蒸留水にて洗浄後、1.5mL マイクロチューブに保存した。試料より RNA を抽出し、低温耐性および休眠に関する遺伝子発現量の経時的変化を調査し、時間経過の指標化を試みた。

4. 研究成果

寒冷期に活動が優勢な早期入植クロバエ科 4 種について、抱卵雌個体および卵塊の採集が不調に終わり、低温耐性および休眠に関する遺伝子の発現量解析に必要な個体数を得られなかった。これらの原因として、温暖期に比し、死体の分解に関与する昆虫の種数・個体数ともに少ないと考えられること、活動(飛来・産卵)条件が不明であったことなど、早期入植クロバエ科の生態学的知見が不足していたことに加え、寒暖境界期および寒冷期特有の昼夜の気温差、短時間での天候の急変などの環境要因が考えられた。これらのことから総合的に判断すると、寒冷期の早期入植クロバエ科 4 種の活動は限定的であり、抱卵雌個体あるいは卵塊の採集効率を向上させ、遺伝子発現解析に必要な試料数を確保するためには、日中の気温・天候・風速等について活動(飛来と産卵)条件の把握が急務であると考えた。そこで、屋外にブタ肉片を設置し、定点撮影装置にて観察・記録することで、寒暖境界期および寒冷期の早期入植双翅目の活動条件を把握する試みを実施し、継続中である。遺伝子発現量に関する研究の進行が思わしくない一方で、法医解剖事例において、死体発見現場にて撮影された画像情報が、法昆虫学的解析に極めて有用であることが明らかになった。死体を蚕食する昆虫は死体発見現場で種数・個体数・成長段階の種類とも最多であり、収容・搬送され警察署での検視を経て、法医解剖室では激減している。したがって、法医解剖時に採集される昆虫学的証拠のみでは死体発見現場の死体昆虫相を正確に反映しておらず、法昆虫学的死後経過時間推定に支障を来すことがある。岩手県では、死体発見現場に臨場した警察官により昆虫学的証拠が採集され、法医解剖の際に提供を受けているが、採集される昆虫学的証拠は、蛹・囲蛹殻や死骸およびその一部など動作のないもの、あるいは生存個体であっても比較的動作の緩慢な幼虫などに限られる。また、採取後の保管期間・保管環境により、提供を受けた際には既に死んでいることも多い。これらの欠点を補完するため、昆虫学的証拠とともに死体発見現場で昆虫学的証拠を撮影した画像の提供を受けている。昆虫学的証拠の撮影は、双翅目成虫のように死体から離散してしまうものやその個体数、死体及びその周囲の分布状況を把握できるなど、事例の死体昆虫相を正確に把握可能である。また、

現場作業の一環として撮影を実施可能である。さらに撮影装置の高性能化および記録媒体の大容量化に伴い、画像枚数を気にすることなく高画質の画像を撮影可能となっている。撮影された画像のなかには、強拡大の分析に耐え、昆虫種の同定が可能なものもある(図)。また、捕虫網など昆虫採集のための備品を新たに準備・携行する必要がないため、捜査機関の金銭的負担も臨場警察官の時間的負担も軽減できるため、直ちに全国的に導入可能であり、推奨する。ただし、昆虫は撮影範囲の死角に入り画像に映り込まない、広範囲を撮影した場合、小型であるために存在に気づかないなどの欠点もあるため、昆虫学的証拠を意識して撮影することが肝要である。



図. 死体発見現場で撮影された昆虫学的証拠の一例。左：中央部に死体の臭気に誘引されて飛来したクロバエ科成虫を確認できる。右：中央部の強拡大画像。ホホグロオビキンバエ *Chrysomya pinguis* 雌成虫と確認でき、法医解剖時に死体から 12mm 以下の本種幼虫が極多数採集されている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 三枝 聖, 藤田さちこ, 高宮正隆, 青木康博	4. 巻 66
2. 論文標題 法昆虫学的解析における死体発見現場にて撮影された画像情報の有用性	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 法医学の実際と研究	6. 最初と最後の頁 153-156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 三枝 聖	4. 巻 57
2. 論文標題 法昆虫学者という職業	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 31-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 三枝 聖・藤田さちこ・高宮正隆
2. 発表標題 死亡日に関する供述の信憑性を法昆虫学的死後経過時間の推定により検証した事例
3. 学会等名 第108次日本法医学会学術全国集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 三枝 聖, 藤田さちこ, 高宮正隆
2. 発表標題 法昆虫学的解析における画像情報の有用性
3. 学会等名 第107次日本法医学会学術全国集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 三枝 聖・藤田さちこ・高宮正隆・青木康博
2. 発表標題 法昆虫学的解析における現場写真の有用性
3. 学会等名 第106次日本法医学会学術全国集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kiyoshi Saigusa, Masataka Takamiya, Sachiko Fujita and Yasuhiro Aoki
2. 発表標題 A case in which postmortem interval was estimated by diapause of the warm-season flies
3. 学会等名 100. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin (DGRM). (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔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	高宮 正隆 (Takamiya Masataka) (30364334)	岩手医科大学・医学部・教授 (31201)	

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