

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 12 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24590849

研究課題名(和文) 1本の歯を用いた、年齢推定、環境推測及びDNA型判定

研究課題名(英文) Estimating of age and geographical origin, and testing of DNA using a single tooth

研究代表者

斉藤 久子 (Saitoh, Hisako)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：10292674

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：歯の構成成分であるエナメル質、象牙質および歯髄を含む残りの部分のそれぞれの試料を用いて、エナメル質を用いた放射性炭素測定による出生年推定、象牙質を用いたラセミ化測定による死亡時の年齢推定、歯髄を含む残りの部分を用いたDNA型判定により、1本の歯から、ご遺体の年齢推定、出生年推定およびDNA型判定が行えることが判明した。時間と費用の関係により、安定同位体を用いた環境推測までは行うことができなかった。今後は、同じ1本の歯からのエナメル質、象牙質および歯髄を含む残りの部分を用いて、放射性炭素測定、ラセミ化測定およびDNA型判定を行っていきたいと考えている。

研究成果の概要(英文)：Unfortunately, Japan has a lot of disasters and unidentified dead bodies. We have to do personal identification for unidentified dead bodies. Carbon-14 (^{14}C) method is useful for birth dating. Carbon-13 (^{13}C) and other stable isotopes will give clues to the geographical origin. Aspartic acid racemization shows the age at death. DNA testing shows the sex determination, and identification. Therefore, in this study, we have studied about the estimation of birth dating by radiocarbon, geographical origin by stable isotopes and age at death by aspartic acid racemization using a single tooth. The information of a birth dating, age at death and sex determination and DNA types using teeth could get to identify the remains. It wasn't possible to research about geographical origin because of a lack of money and time. My future direction is that one single tooth will give us those information.

研究分野：歯科法医学

キーワード：歯 ラセミ化 放射性炭素 DNA 山形大学 AMS

1. 研究開始当初の背景

- (1) 地震、津波、噴火、ハリケーンなどの大規模災害やテロ爆破事件などでは多数のご遺体が犠牲になることがあり、また、焼死体、水死体、ミイラ、白骨死体などで発見された場合、ほとんどの場合は身元不明である。これらの身元不明のご遺体においては、個人識別は死因究明と同時に大変重要な鑑定事項である。
- (2) わが国の身元不明死体数は年間約 1,000 体であり、現在約 20,000 体が身元不明のままである。残念ながら、日本の身元判明率は他の先進国に比べて低いという現状をかかえている。また、さらに、日本では、平成 23 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災およびそれに伴って発生した巨大津波により、平成 28 年 3 月 10 日現在の時点で約 15,894 人が死亡、2,561 人が行方不明である。
- (3) そこで、本研究では、身元不明のご遺体の個人情報につながる情報を得るために、硬組織である歯 1 本のみを用いて、年齢推定、居住地域の推定及び DNA 型の判定を行い、最終的に個人の同定を行うことが可能であるかどうかを検討する。

2. 研究の目的

- (1) 身元不明のご遺体の歯 1 本のみを用いて、年齢推定、居住地域の推定及び DNA 型の判定を行い、最終的に個人の同定を行うことが可能であるかどうかを検討する。
- (2) まず、象牙質を用いたラセミ化測定により死亡時の年齢を推定し、エナメル質を用いた放射性同位体測定により出生時の年を推定する。エナメル質を用いた安定同位体分析により環境推測を行う。
- (3) さらに、歯の残りの部分から DNA 抽出を行って、Y 染色体の STR 解析およびミトコンドリア DNA の高変異領域であ

る塩基配列の解析により出身地域の推測を行い、最後に、常染色体の STR 解析により DNA 型の判定を行う。

3. 研究の方法

- (1) 歯のエナメル質を用いて、放射性同位体 ^{14}C の濃度を加速器質量分析(AMS)法により測定し、出生年の推定誤差を検出する。また、酸素同位体 ^{16}O 、 ^{18}O 、水素同位体 ^1H 、 ^2H 、炭素同位体 ^{13}C 、 ^{12}C などの安定同位体分析は質量分析計 (IR-MS) により測定する。それぞれの分析に最適な試料の部位、必要な試料の量及びその条件を検討し、検体の居住地域、食生活、栄養段階の推測が可能であるかどうかを検討する。
- (2) さらに、歯の残りの部分から DNA 抽出を行って、Y 染色体の STR 解析、ミトコンドリア DNA の高変異領域である塩基配列の解析を行う。
- (3) 最後に、常染色体の 15 座位の STR 解析により DNA 型の判定を行う。さらに、1 本の歯のみの解析により、実際の身元不明死体の個人識別に応用可能であるかどうかを検討する。

4. 研究成果

- (1) 本研究の開始時期である平成 24 年度では、放射性炭素測定に関してのエナメル質の前処理は実施できるようになったが、業者に依頼して行っていた高感度加速器質量分析装置(AMS)を用いた放射性炭素濃度測定において良い結果が得られなかった。また、ラセミ化測定に関しても再現性を得られなかった。
- (2) 平成 25、26、27 年度においては、AMS を用いた放射性炭素測定に関しては、業者ではなく山形大学 AMS センターに依頼することで良好な結果を得られるようになった(図 1)。

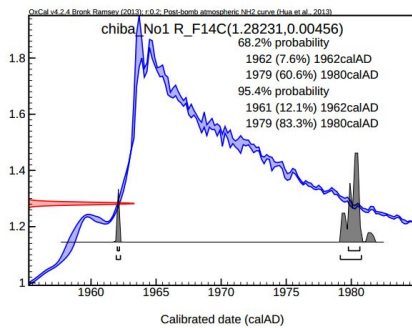


図1 下顎第一小白歯を用いた放射性炭素濃度の結果（ほぼ正確な出生年の推定が可能であった）

現在は、試料のエナメル質を断片のままではなく粉末にすることで、放射性炭素の濃度が均一に得られることが判明している。本研究期間内には、安定同位体の測定および解析までは及ばなかったが、今後とも取り組んでいく予定である。

- (3) ラセミ化測定に関しては、従来の固相カラムの使用、蒸留専用のエボレーターおよび高感度のガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)による検出において再現性を得られるようになった。
- (4) 歯を用いた DNA 型の判定に関しては、個人識別のキットである Identifiler (Applied Biosystems), Yfiler (Applied Biosystems)、さらにミトコンドリア DNA の高変異領域である塩基配列の解析において良好な結果が得られている。
- (5) 本研究により、1本の歯から、年齢推定、出生年推定および DNA 型判定が行えることが判明した。今後は、以上の方法をさらに簡便にし、さらに1本の歯から得られる情報を増やし、大規模災害時の身元不明遺体における個人識別に役立てていきたいと考えている。

<引用文献>

Ohtani S, Yamamoto T (2005) Strategy for the estimation of chronological age using the aspartic acid racemization

method with special reference to coefficient of correlation between D/L ratios and ages. J Forensic Sci 50(5):1020-1027.

Alkass K, Buchholz BA, Ohtani S, Yamamoto T, Druid H et al. (2010) Age estimation in forensic sciences: Application of combined aspartic acid racemization and radiocarbon analysis. Mol Cell Proteomics 9:1022-1030.

Kondo-Nakamura M, Fukui K, Matsu'ura S, Kondo M, Iwadata K (2010) Single tooth tells us the date of birth. Int J Legal Med.

Alkass K, Buchholz BA, Druid H, Spalding KL (2011) Analysis of ¹⁴C and ¹³C in teeth provides precise birth dating and clues to geographical origin. Forensic Sci Int. 209(1-3):34-41.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計3件)

Sakuma A, Saitoh H, Ishii N, Iwase H. (2015) The effects of racemization rate for age estimation of pink teeth. J Forensic Sci. 査読有, 60(2):450-2.

Alkass K, Saitoh H, Buchholz BA, Holmlund G, Senn DR, Spalding KL, Druid H, (2013) Analysis of radiocarbon, stable isotopes and DNA in teeth to facilitate identification of unknown decedents. PLOS ONE. 査読有, Jul 29;8(7)

Sakuma A, Ohtani S, Saitoh H, Iwase H. (2012) Comparative analysis of aspartic acid racemization methods using whole-tooth and dentin samples. Forensic Sci Int. 査読有, 223(1-3):. 198-201

〔学会発表〕(計3件)

齋藤久子 他、歯を用いた放射性炭素測定による出生年推定法：試料粉碎方法の検討、第100次日本法医学会学術全国集会、平成28年6月17日、きゅりあん(東京・品川区)

齋藤久子 他、歯を用いた放射性炭素測定による出生年推定法：試料処理の検討、第84回日本法医学会関東地方会、平成27年10月24日、日本歯科大学生命歯学部(東京・千代田区)

咲間彩香, 齋藤久子 他、死体状況によるアスパラギン酸のラセミ化率への影響、第69回日本人類学会大会、平成27年10月11日、産業技術総合研究所 臨海副都心センター(東京・江東区)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 久子 (Saito Hisako)
千葉大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：10292674

(2) 研究分担者

矢島 大介 (Yajima Daisuke)
千葉大学・大学院医学研究院・特任准教授
研究者番号：60451754

永澤 明佳 (Nagasawa Sayaka)
千葉大学・大学院医学研究院・特任助教
研究者番号：30536735

(3) 研究協力者

Kanar Alkass
Henrik Druid