

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460860

研究課題名(和文) 次世代シーケンサーを用いた死後microRNAの網羅的検索とその法医学的応用

研究課題名(英文) The comprehensive analysis of microRNA using next generation sequencer (NGS) for forensic application

研究代表者

橋谷田 真樹 (HASHIYADA, Masaki)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40374938

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：1本鎖のノンコーディングRNAであるmicroRNA(miRNA)は、鎖長が約20塩基と非常に短いため、死後、安定して残存するものがある。そこで本研究ではラットを用いた動物実験により、死後経過時間と生前のストレス程度を反映する生体マーカーとなるmiRNAの探索を行った。心臓ではmiR-16、肝臓ではmiR-21、血液ではmiR-451を内部標準とすると、死後経過時間と不安定な細胞質RNAとの間に良い相関が得られた。また、ラットにストレス(飲酒・運動・拘束)を与えて次世代シーケンサーで解析したところ、ストレスで増減する数種類のmiRNAが検出された。

研究成果の概要(英文)：The microRNAs (miRNAs) are known to be stable at postmortem because they are short-length (about 20 nucleotides) single-strand molecules. In this study, we searched miRNAs acting as biological markers to estimate the time since death or the level of stress before death by experiments using rats. Then the good correlations were observed between the postmortem time and levels of instable cytoplasmic RNAs, when miR-16 in heart, miR-21 in liver and miR-451 in blood were used as internal standards. In addition, miRNAs in rats under stresses of alcohol intake, running and suppression by water bag were analyzed by the next generation sequencer, levels of several miRNAs were found to be increased or decreased by the stresses.

研究分野：法医学

キーワード：マイクロRNA ラット 次世代シーケンサー 死後のストレスマーカー 死後経過時間推定

## 1. 研究開始当初の背景

microRNA(miRNA)は、タンパク質をコードしない、いわゆる non-coding RNA の一種であり、その鎖長は 18-25 塩基と短い一本鎖の small RNA である。これらは真核生物に広く存在し、自分自身と塩基配列相補性を持つ messenger RNA (mRNA)を標的としてその分解を導くか、あるいは翻訳を制御することで発生のタイミング、形態形成、アポトーシス、細胞増殖、生殖機能など非常に重要な生物学的機能を制御していることが明らかになっている。しかしながら死後、生体の miRNA に関する情報は皆無なため、我々は平成 22 年度~24 年度にかけての科学研究費補助金、基盤研究(C)「質量分析による microRNA の網羅的解析とその法医学的応用」で、初年度に予備的な実験を行った。すなわち、各臓器で特異的に強発現と報告されている let-7a, miR-16, miR-26a, miR-1, let-7b, miR-122 の 6 種の miRNA を選択し、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓の各臓器における死後 miRNA 残量の経時的変化を観察した。その結果、ラットの死後 24 時間後も臓器特異的 miRNA は残存しており、特に心臓における miR-1、および肝臓における miR-122 は顕著にその残存が確認された。その他腎臓、肺、膵臓等の臓器では miR-16 がきわめて高い残存量を示し、死後 24 時間経過しても残存量がほとんど変化しないことが確認され、きわめて良好な保存状態である miRNA が残存することが判明した。しかしながら、質量分析装置では死後の totalRNA の中から目的の miRNA のみを解析するための条件検討が非常に困難であった。そこで、次世代シーケンサーを用いて網羅的に miRNA の探索を行う事とした。

## 2. 研究の目的

動物実験を用いて、死後残存している miRNA を網羅的に解析し、その同定および定量を行い、法医学的に有用なマーカーとなる miRNA 群を確立する。具体的には次の二点に絞って検討する。一つは、死後の経時的な残存量変化を見ることにより死後経過時間の推定への応用を図る。もう一つは、ストレスモデルを構築し、外的ストレスにより発現が変化する miRNA 群を発見し、生前のストレス程度を推定する生体マーカーとして確立することである。

## 3. 研究の方法

### (1)心臓、及び肝臓を試料として死後経過時間推定マーカーの探索

生後約 10 週の SD ラット 18 匹(平均重量 439 g)を用い、過剰のセボフルラン吸入にて安楽死させた後、一定時間後に心臓、および肝臓を摘出し試料とした。死後経過時間は、安楽死から臓器摘出までの時間により、死亡直後(0h)・12 時間後(12h)・24 時間後(24h)・36 時間後(36h)・48 時間後(48h)・72 時間後(72h)の 6 群に分け、それぞれ 3 匹の計 18 匹

を試料とした。各心臓および肝臓約 100mg をホモジナイズ後、mirVava™ miRNA Isolation Kit (Thermo Fisher Scientific)を用いて miRNA を抽出した。miRNA は塩基長が短いため、独特のループ構造を有するターゲット特異的な miRNA 専用プライマー(Thermo Fisher Scientific)を用いて逆転写反応を行い、リアルタイム PCR 用の cDNA を作製した。その後、StepOnePlus™ (Thermo Fisher Scientific)を用いて、ターゲット特異的なプローブによる miRNA 発現量の比較解析を行った。

先行研究結果より、死後 72 時間後まで安定して一定量残存している miRNA 群の中から miR-16, miR-21, miR-22 の 3 種を内在性コントロールの候補として選択した。また、死後経過時間に応じて徐々に残存量が減少していく miRNA 群の中からターゲットとして Let-7d\*, miR-207, miR-346, miR-758, miR-872\*, miR-346, さらに、U6 sn RNA をターゲットとして選択した。

通常 TaqMan 法による発現解析には、蛍光強度の閾値を超えた PCR サイクル数(Ct 値)を基準とする Ct 法が用いられるが、今回はターゲット miRNA どちらの比較が目的ではないため、ターゲットの Ct 値からコントロールの Ct 値を引き算した Ct 法による解析を行った。最終的には死後経過時間とコントロールで補正されたターゲット miRNA の相関関係を比較し、死後経過時間推定マーカーとして最も適した miRNA を決定した。

### (2)全血を試料として死後経過時間推定マーカーの探索

(1)とは別の 9 週の SD ラット 18 匹を用い、過剰のセボフルラン吸入にて安楽死させた後一定室温下で放置し、一定時間後に血液を採取して試料とした。死後経過時間は、安楽死から血液採取までの時間により、死亡直後(0h)、6 時間後(6h)、12 時間後(12h)、24 時間後(24h)、36 時間後(36h)、48 時間後(48h)の 6 群に分けそれぞれ 3 匹の計 18 匹を試料とした。total RNA の抽出、及び専用のプライマーを用いた逆転写反応、そして TaqMan 法による miRNA の発現量(残存量)の比較解析等、実験方法はと同様である。解析したターゲットは通常内部標準として用いられている、U6 snRNA, U87, Y1, 4.5S RNA(AY228147), 4.5S RNA(AY228151)の 5 種、および miR-16, miR-451 の 2 種の miRNA である。

### (3)ストレスマーカーの探索

生前のストレス状態を反映する miRNA の探索が目的であるが、重要なのはどのようなストレスを対象とするかである。今回は興奮性せん妄の可能性を持つ事例を参考にした。すなわち、ラットにアルコールを摂取させた後、運動させ、抑制するモデルである。さらに、網羅的に miRNA を観察するために次世代シー

クエンサーを用いての解析を行った。生後 9 週の SD ラット 15 匹を 3 つに分け、コントロール群 (n=3) ,A 群 (n=6) ,および B 群 (n=6) とした。A 群には 21% エタノールを 3.8 g/kg 量与え 30 分放置した後、トレッドミル (35 cm/s) で 90 分間走らせた。B 群は A 群と同じ処置をした後、続けて 2 kg の水袋で体幹を抑圧した。過剰麻酔による安楽死後、心筋を試料として miRNeasy Mini Kit (QIAGEN) により total RNA を抽出した。得られた total RNA は 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) による電気泳動でクオリティチェックを行い、RNA の収量及び分解程度の確認を行った。その後、Ion Total RNA-Seq Kit v2 (Thermo Fisher Scientific) を用いて Small RNA library protocol に従いライブラリの構築を行った。さらに、得られたライブラリを Ion Chef™ Instrument (Thermo Fisher Scientific) にてエマルジョン PCR を含む前処理を行い、テンプレートの調整を行った。シークエンス反応は 318 チップを用いて Ion PGM™ System (Thermo Fisher Scientific) で行い、得られた生データを Torrent Suite Software Ver.4.4.2 (Thermo Fisher Scientific) にて解析を行った。具体的にはラットゲノムの配列 (rn5) を UCSC から、またラット miRNA を miRbase (<http://www.mirbase.org/>) からそれぞれダウンロードし、カバレッジ解析を行った。マッチングされたリード数はサンプルごとにばらつきを持つため、(ターゲットの miRNA リード数) を (トータルリード数) で割り、1,000,000 倍するという規格化を行い、各試料間での比較、検定を行い、グループごとの有意差を検討した。トータルでは 800 種に及ぶ miRNA のリード数が排出されるが、発現量の多い上位 30 種まで miRNA について統計的解析を行った。それは、Microsoft Excel® を用いてコントロール群とストレス群とで Kruskal-Wallis test を行い、有意差が認められた miRNA について、さらに各グループ間の有意差の有無を Microsoft Excel® を用いた Mann-Whitney U-test で検定した。

#### 4. 研究成果

(1) 心臓、及び肝臓を試料として死後経過時間推定マーカーの探索

(1)- 内在性コントロールの決定

通常発現解析は、ある一定量が継続して発現されている既知の内在性コントロールの Ct 値を用いて、ターゲットの Ct 値を補正し、ターゲット同士の発現状態を比較する Ct 法が主流である。しかしながら、今回の目的は死後経過時間を推定するマーカーの探索である。死後変化、いわゆる死後の自己融解・消化により、死後は確実な内在性コントロール、ターゲットマーカーが確立されておらず、その結果死後の Ct 法、および Ct 法は、その有効性が不確かなものになってしまう。通常の事件とは逆に、内在性

コントロールとして死後も残存量が高く、かつ一定である 3 種の miRNA ,miR-16 ,miR-21 ,miR-22 をコントロールとして選択し、すべての試料において Ct 値の比較を行った。心臓においても、また肝臓においても最も残存量が多いのは miR-16 であったが、それぞれの死後経過時間での試料を用いた Ct 値の結果を比較すると、心臓では miR-16 が、肝臓では miR-21 が最もばらつきが少なく、これらをそれぞれの内在性コントロールとすることにした。これらコントロールでターゲットの Ct 値を補正することで、正確な Ct 値を得ることができるのである。

(1)- 補正後のターゲット miRNA 残存量と死後経過時間

死後経過時間が進むにつれ、その残存量が適当に減少していく 6 種の miRNA ,および通常の発現解析では内在性のコントロールとして用いられる U6 sn RNA をターゲットとして選択した。各死後経過時間群における試料を用いて Ct 法による解析を行ったところ、6 種の miRNA は心臓および肝臓においても、死後経過時間と残存量の相関がほとんど見られなかった。しかしながら、U6 sn RNA は心臓および肝臓において最もよい相関を示した(図 1)。

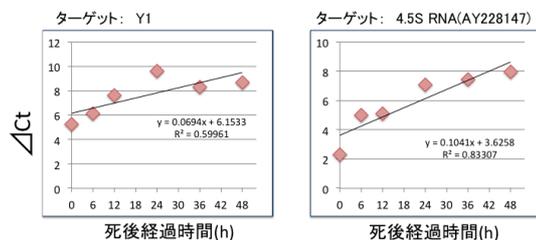


図 1 . 補正後の U6snRNA と死後経過時間

内在性のコントロールとしては、心臓では miR-16 が、肝臓では miR-21 が最も Ct 値のばらつきが少ないため、それぞれの臓器における内在性コントロールとした。その結果、死後経過時間と最もよい相関を示したのは U6 sn RNA (図 2) である。これは miRNA ではなく、ラット内在性コントロールとして用いられてきたものである。生体に非常に多く残存しており、詳しい経路は不明であるが 106 塩基の長さを持つことから死後経過時間と共に消化・分解されていく割合が適当なのである。

NCBI Accession #	U6 sn RNA Sequence
NR_004394	GTGCTCGCTTCGGCAGCACATATACTAAAATTGGAACGATAC AGAGAAGATTAGCATGGCCCTGCGCAAGGATGACACGCAA ATTCGTGAAGCGTTCATATTT

図 2 . U6snRNA 塩基配列

死後も安定である miRNA を内在性コントロールとし、ある程度の鎖長を持ち、かつ大量に残存しているこれまでの内在性コントロ

ールと呼ばれているものを逆にターゲットとすることで、死後経過時間の推定が可能になった。

### (2) 全血を試料として死後経過時間推定マーカーの探索

これまでの報告より赤血球に発現している miR-451 および各臓器において強く発現している miR-16 をコントロールの候補とした。血液を試料として死亡直後(0h)から死後24 時間後(24h)までの早い段階で解析・比較したところ、発現量は miR-16 (SD:1.053) が上回っていたが、最も安定していたのは miR-451 (SD:0.563) であった。従って miR-451 を内部標準とし解析を進めることとした。ターゲットは5 種の内在性コントロール群であり、これらの Ct 値から miR-451 の Ct 値を引き算、Ct 値を算出し死後経過時間との相関関係を見た。その結果、4.5S RNA (AY228147) ( $R^2=0.944$ ) および Y1 ( $R^2=0.934$ ) が良い相関性を示した。

4.5S RNA (AY228147) および Y1 について、さらに死後経過時間が経過した 36 時間後(36h)、および 48 時間後(48h)の時点で採取した血液試料についての追加解析の結果を合わせて図3 に示す。

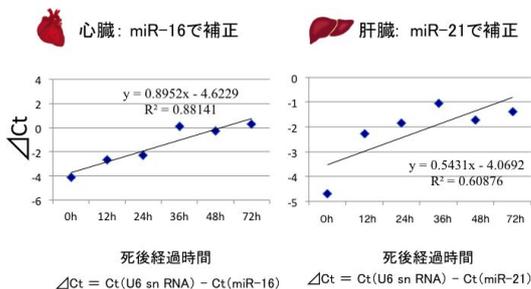


図3. Ct と死後経過時間の相関  
Ct = Ct(ターゲット) - Ct(miR-451)

死後経過時間の推定は、法医実務において非常に重要な鑑定項目である。これまで用いられている体温降下等の指標に加えて、新たなバイオマーカーとして期待されている miRNA の有用性をラットを用いて検討した。

まず、死後の miRNA 発現解析は、何をターゲットとし、何をコントロールとして補正するかが非常に重要なポイントとなる。今回は血液を試料としていることから、死後も安定して残存している miR-16, miR-451 をコントロール候補として解析したところ、血液試料では miR-451 が最も安定した挙動を示したため、これをコントロールとして用いることとした。先行研究より分子量の大きい内在性コントロール群をターゲットとすることが適していることから、5 種の内在性コントロールターゲット候補として解析を行った。その結果、血液試料では、4.5SRNA (AY228147) が最も成績がよく、次いで Y1 であり、両者ともほぼ同じ挙動を示した。これらはそれぞ

れ 91 塩基、および 74 塩基の長さを持つ、ラット特有の低分子量細胞質 RNA である。心臓を試料とした場合に最も相関が良かった U6 snRNA をはじめとする他のマーカーは、24 時間ではそれほど分解されず、ある程度の残存量を保っていたため死後経過時間との相関性は良いものではなかった。臓器と血液ではその残存量、すなわち分解速度に大きな差があり、血液の方が分解されにくいことが推察される。加えて、24 時間を過ぎたところで miR-451 の分解も進み、コントロールとしての働きが鈍ったのも要因と言える。

今回有効であったのはラット特有の内在性コントロールをターゲットとしたものである。法医実務に応用するにはヒトにも存在する配列をターゲットとしなければならない。さらに、コントロールとしたのは死後も残存量が安定している miR-451 であるが、この miRNA も死因や病気・疾患により発現量(残存量)が変化するかも知れないということにも留意する必要がある。実際のヒト試料を用いた、ターゲット、コントロール、死因との関連等のさらなる検討が必須であろう。

### (3) ストレスマーカーの探索

Kruskal-Wallis test による検定では、上位 30 種中 7 種の miRNA についてコントロール群とストレス群での有意差が確認された。そのうち rno-miR-126a-3p, rno-miR-143-3p, rno-miR-16-5p, rno-miR-26a-5p の 4 種はストレスをかけることでそれぞれ優位に発現が上昇しており、他の rno-miR-22-3p, rno-miR-29a-3p, rno-miR-29b-3p の 3 種はいずれもストレス後に発現が減少していた。さらに有意差のあった miRNA において、どのグループ間に有意差があったのかを Mann-Whitney U-test で検定した結果を図4,5 に示す。

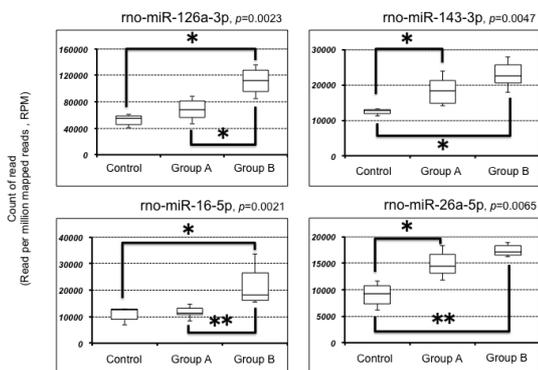


図4. ストレス後に発現が増加する miRNA 群

コントロール群とA群では rno-miR-143-3p、及び rno-miR-26a-5p に有意差が認められ、その他の miRNA はアルコールとランニングによる運動だけでは、心筋における発現量に影響を受けなかった。しかし、コントロール群とB群では発現に有意差が見られた7 種の miRNA 全てにおいて明らかに差が見ら

れた。また、A群とB群間ではそれぞれ4種類のmiRNA(rno-miR-126a-3p, rno-miR-16-5p, rno-miR-22-3p, rno-miR-29a-3p)で有意差が認められ、これらのmiRNAでは抑圧によるストレスが心筋での発現に影響を与えていると言える。

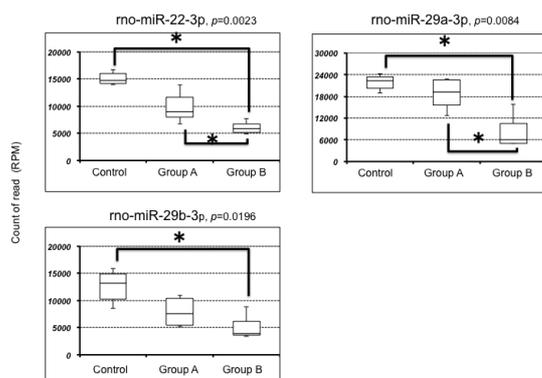


図5. ストレス後に発現が減少するmiRNA群

法医実務においては、外的ストレスが関与していると推察される内因性急死例や突然死例が全国で散見される。しかしながらこれらの事例においては、剖検やその後の検査等でも死因を判断するのが極めて困難である。そこで、より正確な死因究明のために、死後の検査であっても生前のストレス量を反映する生体マーカーの確立が望まれている。臨床面で用いられているタンパク質やmRNAは死後変化のために法医実務に有効ではない。そこで我々は死後も比較的安定であるmiRNAに注目したわけである。今回の実験では、事例を参考にアルコール摂取後のラットにトレッドミルによる運動と水袋による抑制という急性外的ストレスを与えるモデルを構築し、安楽死後の心筋miRNA発現量を次世代シーケンサーにより網羅的に解析した。その結果、ストレスにより有意に発現量が増加するmiRNA4種、及び減少する3種を同定することに成功した。心筋で最も多く発現しており、かつ心臓の疾病と深く関連があると報告が多いのは「miR-1」で、今回の外的ストレスをかける実験でも心筋全体の発現量の30~36%を占めていたが、コントロール群とストレス群で有意差は認められなかった。発現量の31位から80位までの50種を検討したところ、同様に増加する2種(miR-26b-5p, miR-140-3p)と減少する5種(miR-322-5p, miR-19b-3p, miR-106a-3p, miR-20a-5p, miR-214-3p)のmiRNAも確認されている。これらがストレスマーカーの候補であると言える。

しかしながら、miRNAは短いゆえにそのターゲットとなるmRNAが複数存在する。上述したマーカーの候補となったものでもmiRNA1種に対して10以上のターゲットが検索結果にヒットした。したがってターゲットとなるmRNAを特定し、その生体カスケード

を確立するのは極めて困難であると言える。加えて、miRNAは病気・疾患と深い関連あるとの報告が多い。つまり、ストレスで増減するmiRNAに加えて、病気・疾患によるmiRNAの増減も考慮する必要があると思われる。本実験・解析はあくまでも基礎的な実験であり、今後は心筋以外の血液試料や、実際の剖検試料を用いてのデータの積み重ねが必須である。最終的に生体マーカーが決定されたならば、その後の実務への応用ではリアルタイムPCR法によってmiRNAが解析されるようになると予想されることから、その条件検討等の追加実験も必要になるであろう。

#### <引用文献>

V Ambros. The functions of animal microRNAs. Nature 2004; 431: 350-355.

EK Hanson et.al. Anal Biochemistry 2009; 387: 303-314, D Zubakov et.al. Int J Legal Med 2010; 124: 217-26.

橋谷田真樹他. 死後変化に伴うmicroRNA(miRNA)の経時的挙動. DNA多型 2011;vol.19:P259-262.

M Hashiyada, K Usui, Y Hayasizaki et.al. Postmortem behaviour of rat microRNA(miRNA) as determined by comprehensive microarray analysis. Forensic Sci Int Genetics Supplement Series 2011;3:210-211.

Thermo Fisher Scientific HP (<http://www.learningatthebench.com/real-time-pcr>)

橋谷田真樹, 臼井聖尊, 大内 司, 林崎義映, 細谷 直, 池田 知哉, 猪狩 由, 荒牧友美, 境 純, 舟山真人. 死後経過時間推定マーカーとしてのmicroRNA(miRNA)の評価. DNA多型 2013; 22 : 178-180.

M Hashiyada, T Hosoya, A Akane et.al. The comprehensive analysis of microRNA in hearts of stress model rat. Forensic Sci Int Genetics Supplement Series 2015; 5:e557-e558.

#### 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 9 件)

The comprehensive analysis of microRNA in hearts of stress model rat, M Hashiyada, T Hosoya, A Akane, T Matsumoto, S Yoshimura, T Tokiyasu and M Funayama, Forensic Science International: Genetics Supplement Series, Vo.5, in press, 査読有

死後経過時間に伴うラット血中microRNA(miRNA)の挙動, 橋谷田真樹, 赤根敦, 吉田 学, 吉村澄孝, 時安太久磨, 細谷直, 舟山真人, DNA多型, Vo.23, No.1, pp169-170, 2015, 査読有

2倍体および4倍体トリカブト亜属植物の分子生物学的比較, 中屋敷 徳, 出羽厚二,

湯浅 勲, 梅津和夫, 橋谷田真樹, DNA 多型, Vo.23, No.1, pp39-42, 2015, 査読有  
Quantitative analysis of 3,4-dimethylmethcathinone in blood and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in a fatal case, K Usui, T Aramaki, M Hashiyada, Y Hayashizaki, M Funayama. Legal Medicine, Vo.16, pp222-226, 2014, 査読有

死後経過時間推定マーカーとしての micro RNA(miRNA)の評価. 橋谷田真樹, 臼井聖尊, 大内 司, 林崎義映, 細谷 直, 池田知哉, 猪狩 由, 荒牧友美, 境 純, 舟山真人, DNA 多型, Vo.22, No.1, pp178-180, 2014, 査読有

Sudden unexpected infant death due to pulmonary arterial hypertension. Y Igari, T Hosoya, Y Hayashizaki, T Ohuchi, A Usui, Y Kawasumi, M Hashiyada, M Funayama, Legal Medicine, Vo.16, pp44-47, 2014, 査読有

Genetic variation in a Japanese population, using the multiplex 24 STRs analysis system. M Hashiyada, K Usui, T Ohuchi, Y Hayashizaki, T Hosoya, Y Igari, T Ikeda, T Aramaki, J Sakai, M Funayama. Forensic Science International Genetics: Supplement Series, Vo.4, pp41-42, 2013, 査読有

Unexpectedly high blood concentration of bisoprolol after an incorrect prescription: a case report, M Hashiyada, K Usui, Y Hayashizaki, T Hosoya, Y Igari, J Sakai, M Funayama, Legal Medicine, Vo.15, pp103-105, 2013, 査読有

23Y-STR 解析による日本人ハプロタイプデータ, 橋谷田真樹, 臼井聖尊, 林崎義映, 細谷 直, 猪狩 由, 境 純, 舟山真人, DNA 多型, Vo.21, pp154-156, 2013, 査読有

〔学会発表〕(計 11 件)

ストレスモデルラットにおける microRNA (miRNA) の発現変化. 橋谷田真樹, 赤根敦, 松本智寛, 吉村澄孝, 時安太久磨, 細谷直, 舟山真人. 日本 DNA 多型学会第 24 回学術集会. 2015 年 11 月 19,20 日. 岡山大学創立五十周年記念会館. 岡山

DNA バーコードによる食餌性イレウスを引き起こした原因物質の同定. 橋谷田真樹, 赤根 敦, 松本智寛, 吉村澄孝, 時安太久磨. 第 62 回日本法医学会学術近畿地方集会 2015 年 11 月 14 日 京都教育文化センター 京都.

M Hashiyada, T Hosoya, A Akane, T Matsumoto, S Yoshimura, T Tokiyasu, M Funayama. The comprehensive analysis of microRNA in hearts of stress model rat. 26th Congress of the International Society for Forensic Genetics. Aug31-Sep05, 2015. The Auditorium Maximum of the Jagiellonian University, Krakow, Poland.

次世代シーケンサー (Ion PGM™) の物体

鑑定への応用. 橋谷田真樹, 赤根 敦, 吉田学, 松本智寛. 第 99 次日本法医学会学術全国集会. 2015 年 6 月 10~12 日. 高知市文化プラザ かるぽーと. 高知.

M Hashiyada, A Akane, M Yoshida, T Matsumoto. Comparison of multiplex STR and NGS analyses of trace DNA samples - A case report - Human Identification Solutions Conference 2015. March.4,5, 2015. Madrid, Spain.

死後経過時間に伴うラット血中 micro RNA(miRNA)の挙動. 橋谷田真樹, 赤根 敦, 吉田学, 吉村澄孝, 時安太久磨, 細谷 直, 舟山真人. 日本 DNA 多型学会第 23 回学術集会. 2014 年 11 月 27,28 日. ウィンクあいち. 名古屋.

物体鑑定における Y-STR ハプロタイプ尤度比の検討. 橋谷田真樹, 赤根 敦, 吉田学, 吉村澄孝, 時安太久磨, 真鍋 翔, 玉木敬二. 第 61 回日本法医学会学術近畿地方集会. 2014 年 11 月 8 日. ノボテル甲子園. 西宮.

The SNP database of Japanese population for high-throughput and accurate human identification. M Hashiyada, A Akane, M Yoshida, S Yoshimura, T Tokiyasu, T Hosoya, T Ohuchi, M Funayama. 9<sup>th</sup> International Symposium on Advances in Legal Medicine. June.16-20, 2014. Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, Japan.

Acute physical and restraint stress increases miR-16 expression in rat hearts. T Hosoya, T Aramaki, T Ikeda, Y Igari, Y Hayashizaki, T Ohuchi, K Usui, M Hashiyada, Masato Funayama, 9<sup>th</sup> International Symposium on Advances in Legal Medicine. June.16-20, 2014. Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, Japan.

Forensic parameters and allele frequencies distribution of 33 STR in a Japanese population. M Hashiyada, T Ohuchi, K Usui, Y Hayashizaki, T Hosoya, Y Igari, T Ikeda, T Aramaki, J Sakai, M Funayama 2013 International Symposium on Human Identification. Hyatt Regency Atlanta Downtown, GA, USA.

Genetic variation in a Japanese population, using the multiplex 24 STRs analysis system. M Hashiyada, K Usui, T Ohuchi, Y Hashizaki, T Hosoya, Y Igari, T Ikeda, T Aramaki, J Sakai and M Funayama. 25<sup>th</sup> World Congress of the International Society for Forensic Genetics. Sep.2-7, 2013. Melbourne, Australia.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

橋谷田 真樹 (HASHIYADA, Masaki)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 4037493