

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460878

研究課題名(和文) ChinesePlex：中国人特異的SNPによる日本人と中国人の識別法の開発

研究課題名(英文) ChinesePlex: A method for differentiation of Japanese and Chinese using Chinese-specific alleles

研究代表者

湯浅 勲 (Yuasa, Isao)

鳥取大学・医学部・特任教授

研究者番号：00093633

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)：中国人特異的アレルの存在を調査するために、データベースから抽出した候補SNPの282座について、鳥取と沖縄の日本人、韓国人、モンゴル人、無錫と長沙の漢民族、チベット人などの9集団計875例のDNAを調べた。増幅が可能で、多型性を示したものは177座で、160座のSNPsが日本人でも検出された。17座が日本人では観察されなかったが、このうち16座は中国人特異的というよりは大陸特異的であった。これだけでは中国人の証明は十分ではなく、JapanesePlexと組み合わせる一塩基伸長を検討した。

研究成果の概要(英文)：To find out Chinese-specific alleles, 282 candidate SNPs chosen from the 1000 genomes database were investigated in 875 DNA samples from nine East Asian, African, and European populations. Of 177 amplified SNPs showing polymorphisms, 160 derived alleles were detected in Japanese populations. The remaining 17 alleles were observed not only in Chinese but also in other East Asians except for Japanese, indicating the derived alleles were Continent-specific alleles. Because they are not adequate for demonstration that a forensic sample came from a Chinese, they were incorporated into JapanesePlex single base extension method.

研究分野：法医学

キーワード：中国人 日本人 特異遺伝子 個人識別 PCR DNA解析

### 1. 研究開始当初の背景

国際化に伴って、日本人が海外に旅行し、居住することも少なくないが、現地先の安全がいつも確保されているとは限らない。日本国内にも多くの外国人が居住し、加害者や被害者になる事例は日増しに多くなっている。さらには外国からの漁船、難民船などの船舶事故や死体遺棄のために日本人以外の死体や白骨に遭遇することも稀ではない。昨今、きわめて大規模なテロや地震による災害といった不特定多数の犠牲者が生じる大事件が起きている。しかも、犠牲者は多種多様の集団から由来していることが多い。これらの大事件が日本国内で起きないという保証はなく、また、海外で起きた場合も国際協力として解決にあたらねばならない。現時点では、出身地や帰属している集団といった個人の特徴(地理的起源や帰属集団)の判定は、主に、世界の主要3集団を識別することが目的であるが、さらに、東アジア人のなかで、日本人を識別していくことは、日本の法医学にとって重要な鑑定項目であり、日本人であることを証明するための Japaneseplex を開発してきた。このように、目撃情報がなく、しかも大多数の犠牲者などの遺体や断片化した生物学的資料から犠牲者が日本人以外の東アジア人、韓国朝鮮人や中国人であることを特定する必要性が痛感されるところである。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は従来の個人識別法になかった新しい個人識別法として、出身地や帰属している集団といった個人の特徴(地理的起源や帰属集団)を推定、証明する方法を確立することである。ある集団やある地域に分布が限定されているアレルは法医学や人類学の有用なマーカーである。Short tandem repeat (STR) は多型性が高いが、そのような集団や地域に特異的なアレルはきわめて限られている。一方、単一塩基多型(SNP)は多型性が低い、さまざまな情報を提供してくれる。われわれは、HapMap データに基づいて、中国人では観察されず、日本人では多型的頻度を示すアレルを検索し、日本人特異的なアレルや韓国人でも低頻度で観察されるほど日本人特異的なアレルを多数見出し、これらの多くが沖縄集団や縄文人骨で高い頻度を示すことから、縄文由来のアレルであると報告した。さらに、これらのアレルを用いて、日本人であることを証明する JapanesePlex 法を開発した。中国人であることを積極的に証明する SNP をみつけることは、日本人ではないことを証明することになり、ChinesePlex 法を確立することににより、日本人の証明法の JapanesePlex 法を補完することになる。今回は、中国人に特異的なアレルが存在するのか、さらに、それが中国人の証明に使用できるのかどうかを検討するために世界の9集団について調査した。

### 3. 研究の方法

本研究では、1000 Genome データの日本人(JPT)では検出されず、中国人集団(北京 CHB と南中国 CHS)における合計頻度が 0.101 以上を示した変異アレルを有する SNP から 282 座を各常染色体から任意に選んだ。これらについて鳥取の日本人(103 名)、沖縄の日本人(88 名)、ソウルの韓国人(108 名)、ウランバートルのモンゴル人(100 名)、無錫の漢中国人(119 名)、長沙の漢中国人(101 名)、カトマンズのチベット人(96 名)、ドイツ人(92 名)、ナイジェリア人・ガーナ人(68 名)の 9 集団計 875 名について変異アレルの有無を調べた。検出方法は、APLP (amplified product length polymorphism) 法にしたがい、日本人で検出された場合は判定を中止した。アレル頻度の推定、ハーディーワインベルグ平衡、連鎖解析をおこなった。さらに、実務応用にむけて、日本人特異的な SNP を用いて、一塩基プライマー伸長法に基づいている SNaPshot を用いた多重増幅法を検討した。

### 4. 研究成果

282 座の SNP のうち、56 座は GC-, AT-rich や繰り返しなどの配列のためにプライマー設定が困難であった。プライマーが設定可能だった SNP のうち、40 座はバンドが出現しない、バンドが弱い、あるいは、特異性が甘いなどで使用できなかった。ただし、作り直しはしなかった。残りの 186 座の検査を実施した。9 座では多型がどの集団でも認められず、160 座では二つの日本人集団のうち、少なくともどちらかで変異アレルが検出された。残りの 17 座が日本人集団では変異アレルが観察されなかった。17 座の SNP 番号、染色体上の位置、長沙における変異アレル頻度は以下の通りである。

番号	SNP 番号	染色体位置	頻度
1	rs12031450	1q25.3	0.0198
2	rs117985611	1q25.3	0.0198
3	rs74416250	4q23	0.0743
4	rs117315008	4q23	0.0792
5	rs117598291	4q23	0.0842
6	rs145688880	4q23	0.0446
7	rs117845272	10q21.1	0.0149
8	rs149899737	10q21.1	0.0149
9	rs143403672	12p12.2	0.0050
10	rs140018704	14q24.1	0.0248
11	rs118160669	15q25.3	0.0644
12	rs75528569	15q25.3	0.0446
13	rs76097641	15q25.3	0.0446
14	rs117760225	15q25.3	0.0446
15	rs117698552	16p13.12	0.0198
16	rs59657197	16q12.2	0.0545
17	rs142914295	16q23.2	0.1040

17 座の SNP のハーディーワインベルグ平衡からの逸脱は、韓国人の rs140018704 (p=0.0282) を除いていずれも認められな

った。変異アレル頻度が最も高かったのは、長沙で観察された rs142914295 の 0.104 であった。多くの変異アレルで長沙が無錫より、また、CHS が CHB より頻度が高く、しかも、全体に無錫や長沙で観察された頻度は CHB や CHS の報告より低かった。中国人のみに観察された変異アレルは低頻度の rs143403672 のみで、他はモンゴル人、韓国人、チベット人の少なくとも一集団で観察された。なかでも、rs117845272 と rs149899737 ではチベット人が中国人より高い頻度を示した。アフリカ人の一人に観察された変異アレルもあった (rs117315008)。16 座の SNP のうちの 14 座は同一染色体上にあるために、無錫と長沙の分布を調べたところ、第 1, 4, 10, 15 番染色体 (rs118160669 を除く) で連鎖不平衡が認められた。第 16 番染色体の SNP は長沙のみで連鎖不平衡が観察された。このように、データベース上で、中国人特異的であると報告された変異アレルの多くが日本人で検出され、検出されなかったものも近隣の東アジア集団において観察され、中国人特異的というよりは大陸特異的であった。これらの SNP のみでは、中国人あるいは大陸の人々の証明を積極的におこなうには不十分であるために、JapanesePlex に組み込むために、一塩基伸長法の検討を加えた。

#### 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 12 件)

すべて査読あり。

- 1) Tetsuya Okazaki, Yoshiaki Saito, Riyo Ueda, Takeya Awashima, Yoko Nishimura, Isao Yuasa, Yuki Shinohara, Kaori Adachi, Masayuki Sasaki, Eiji Nanba, Yoshihiro Maegeki: Epileptic phenotype of FGFR3-related bilateral medial temporal lobe dysgenesis. *Brain and Development* 39(1), 67-71, 2017.
- 2) 湯浅 勲, 飯野守男, 山本敏充, 松末 綾, 赤根 敦: 日本人特異的のアレルによる日本人の証明: JapanesePlex の試み. *DNA 多型* 24(1), 172-174, 2016.
- 3) 中川真由美, 湯浅 勲: High Resolution Melting (HRM) 法による ADAMTS13 遺伝子 c.C1423T(p.P475S) 多型の解析. *DNA 多型* 24(1), 155-157, 2016.
- 4) Mayumi Nakagawa, Aya Matsusue, Kazuo Umetsu, Morio Iino, Takaki Ishikawa, Isao Yuasa: Genotyping of the c.1423C>T (p.P475S) polymorphism in the ADAMTS13 gene by APLP and HRM assays: Northeastern Asian origin of the mutant. *Legal Medicine* 21: 1-4, 2016.
- 5) Aya Matsusue, Isao Yuasa, Kazuo Umetsu, Nori Nakayashiki, Koji Dewa, Hiroaki Nishimukai, Masayuki Kashiwagi, Kenji

Hara, Brian Waters, Mio Takayama, Shin-ichi Kubo: The global distribution of the p.R1193Q polymorphism in the SCN5A gene. *Legal Medicine* 19: 72-76, 2016.

- 6) Kazuo Umetsu, Isao Yuasa, Masaki Hashiyada, Noboru Adachi, Gotaro Watanabe, Toshihiro Haneda, Kentaro Yamazaki: The art of traditional native PAGE: the APLP 48-ID assay for human identification. *Legal Medicine* 19: 28-31, 2016.
- 7) Takaki Ishikawa, Isao Yuasa, Minoru Endoh: Non specific drug distribution in an autopsy case report of fatal caffeine intoxication. *Legal Medicine* 17(6) 535-538, 2015.
- 8) 湯浅 勲, 遠藤 実, 石川隆紀, 梅津和夫, 安達 登: 日本人特異的の遺伝子からみた日本人らしさ: 琉球人が和人より日本人らしい. *DNA 多型* 23(1), 125-127, 2015.
- 9) 中屋敷徳, 出羽厚二, 湯浅 勲, 梅津和夫, 橋谷田真樹: 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研究. *DNA 多型* 23(1), 39-42, 2015.
- 10) Hirofumi Kodera, Naoki Ando, Isao Yuasa, Yoshinao Wada, Yoshinori Tsurusaki, Mitsuko Nakashima, Noriko Miyake, Shinji Saitoh, Naomichi Matsumoto, and Hiroto Saito: Mutations in COG2 encoding a subunit of the conserved oligomeric Golgi complex cause a congenital disorder of glycosylation. *Clinical Genetics* 87(5) 455-460, 2015.
- 11) Isao Yuasa, Kazuo Umetsu, Noboru Adachi, Aya Matsusue, Nori Nakayashiki, Junko Fujihara, Atsushi Akane, Shinji Harihara, Feng Jin, Takaki Ishikawa: Investigation of Japanese-specific alleles: Most are of Jomon lineage. *Legal Medicine* 17(1) 52-54, 2015.
- 12) 湯浅 勲, 遠藤 実, 石川隆紀, 津田祐子, 舟塚 真, 谷 諭美, 西川愛子, 伊藤進, 大澤真木子, 和田芳直: ATP6V0A2 を原因遺伝子とする先天性グリコシル化異常症にみられた新しい変異. *DNA 多型* 22(1), 192-194, 2014.

[学会発表](計 15 件)

- 1) 松末 綾, 梅津和夫, 飯野守男, 湯浅 勲: 中国人特異的のアレルの検出. 第 25 回日本 DNA 多型学会学術集会. 2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日, 東京大学大気海洋研究所 (千葉県柏市).
- 2) 中屋敷徳, 湯浅 勲, 沢 和浩, 川上新一, 東 隆行, 出羽厚二: 国産トリカブト亜属 (キンポウゲ科) 2 倍体植物の分子生物学的比較. 2016 年 3 月 5-8 日, 富山大学五福キャンパス黒田講堂 (富山県富山

- 市).
- 3) 中川真由美, 湯浅 勲: High Resolution Melting (HRM)法による ADAMTS13 遺伝子 c.C1423T (p.P475S)多型の解析. 第 24 回日本 DNA 多型学会学術集会. 2015 年 11 月 19-20 日, 岡山大学創立五十周年記念館 (岡山県岡山市).
  - 4) 湯浅 勲, 山本敏充, 松末 綾, 赤根 敦: 日本人特異的アレルによる日本人の証明: JapanesePlex の試み. 第 24 回日本 DNA 多型学会学術集会. 2015 年 11 月 19-20 日, 岡山大学創立五十周年記念館 (岡山県岡山市).
  - 5) 湯浅 勲, 遠藤 実, 松末 綾, 山本敏充, 赤根 敦: 塩基伸長法による日本人特異的アレルのタイピング. 第 32 回日本法医学会学術中四国地方集会. 2015 年 10 月 30-31 日, 岡山大学 Junko Fukutake Hall (岡山県岡山市).
  - 6) 石川隆紀, 遠藤 実, 湯浅 勲: 法医剖検例における脾臓被膜下・間質内出血の意義について—予備的検討—. 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 かるぼーと (高知県高知市).
  - 7) 湯浅 勲, 石川隆紀, 松末 綾, 中屋敷徳, 西向弘明: ADAMTS13 遺伝子の p.P475S 多型の地理的分布. 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 かるぼーと (高知県高知市).
  - 8) 大戸達之, 榎園 崇, 田中竜太, 佐々木征行, 大野耕策, 湯浅 勲, 岡本伸彦: MAN1B1 遺伝子異常による先天性グリコシル化異常症の兄妹例. 第 57 回日本小児神経学会学術集会. 2015 年 5 月 28-30 日, 帝国ホテル大阪 (大阪府大阪市).
  - 9) 中屋敷徳, 湯浅 勲, 梅津和夫, 橋谷田真樹, 出羽厚二: 2 倍体および 4 倍体トリカプト亜属植物の分子生物学的比較. 第 23 回日本 DNA 多型学会学術集会. 2014 年 11 月 27-28 日, ウィンクあいち (愛知県名古屋市).
  - 10) 湯浅 勲, 石川隆紀, 梅津和夫, 安達登: 日本人特異的遺伝子からみた日本人らしさ. 第 23 回日本 DNA 多型学会学術集会. 2014 年 11 月 27-28 日, ウィンクあいち (愛知県名古屋市).
  - 11) 石川隆紀, 湯浅 勲, 遠藤 実: ウイルス重複感染が考えられた心筋炎合併間質性肺炎の 1 剖検例. 第 31 回日本法医学会学術中四国地方集会. 2014 年 11 月 1 日, アルファあなぶきホール (香川県高松市).
  - 12) 湯浅 勲, 遠藤 実, 石川隆紀, 梅津和夫, 安達 登: 日本人特異的遺伝子は縄文由来か. 第 31 回日本法医学会学術中四国地方集会. 2014 年 11 月 1 日, アルファあなぶきホール (香川県高松市).
  - 13) 松末 綾, 湯浅 勲, 梅津和夫, 中屋敷徳, 出羽厚二, 柏木正之, 原 健二, Brian

- Waters, 高山みお, 高本睦夫, 久保真一: アジア人, ドイツ人並びにアフリカ人集団における SCN5A 遺伝子 R1193Q 変異の頻度調査. 第 15 回日本法医学会学術北日本地方集会. 2014 年 10 月 31 日-11 月 1 日, 山形市中央公民館 (山形県山形市).
- 14) 梅津和夫, 湯浅 勲, 渡辺剛太郎, 羽田俊裕, 山崎健太郎: 漂着遺体の DNA 鑑定による所属集団の推定. 第 15 回日本法医学会学術北日本地方集会. 2014 年 10 月 31 日-11 月 1 日, 山形市中央公民館 (山形県山形市).
  - 15) 中村和幸, 小寺啓文, 加藤光広, 小坂 仁, 前垣義弘, 萩野谷和裕, 岡本伸彦, 井合瑞江, 湯浅 勲, 和田芳直, 才津浩智, 松本直通: A Newly identified congenital disorder of glycosylation caused by de novo mutations in SLC35A2 encoding a UDP-galactose transporter is associated with early-onset epileptic encephalopathy. 第 48 回日本てんかん学会学術集会. 2014 年 10 月 2-3 日, 京王プラザホテル (東京都新宿区).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

湯浅 勲 (YUASA Isao)  
鳥取大学・医学部・特任教授  
研究者番号: 00093633

### (2) 連携研究者

赤根 敦 (AKANE Atsushi)  
関西医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 70202520

石川 隆紀 (ISHIKAWA Takaki)  
大阪市立大学・医学部・教授  
研究者番号: 50381984