

厚生労働行政推進調査事業費補助金
政策科学総合研究事業（政策科学推進研究事業）
分担研究報告書（令和4年度）

戦没者遺骨の身元特定に係るDNA鑑定精度向上に関する研究

研究分担者 玉木 敬二 京都大学医学研究科法医学講座 教授

研究要旨：本研究では、厚生労働省の戦没者遺骨のDNA鑑定事業の効率的な遂行のために、「戦没者遺骨鑑定の標準プロトコルの作成」、「多数の遺骨・ご遺族から該当する血縁者をスクリーニングする専用ソフトウェアの開発」を行う。

A. 研究目的

厚生労働省が行なっている戦没者遺骨の遺族への引き渡し事業では、身元確認のために遺骨および遺族のDNA型鑑定が必須となっている。特に重要なのが戦没者遺骨のDNA型判定であり、これを正確かつ速やかに成功させる事ができれば、1柱でも多くの遺骨をご遺族のもとにお返しすることが可能となる。そのため、最も効率的な解析プロトコルを作成することが本研究の目的である。本年度は特に、歯牙ではなく骨組織からの抽出方法についてさらに詳細な検討を行った。また、多数の遺骨・遺族から該当する血縁者をスクリーニングする専用ソフトウェアの監修を行なった。

B. 研究方法

まず京都大学法医学講座で行われている遺骨からのDNA解析について、そのプロトコルを見直した。特に今年度はDNA抽出前の骨片の粉碎や脱灰までのプロセスを変えて実際の鑑定骨の余剰片を用いてその効

果を検討した。これまでの抽出プロトコルでは①コンタミ防止のため超音波洗浄②サーモミキサー37°C, 1,000 rpmによる攪拌③骨切片の粉碎に小金属球による破碎（マルチビーズショッカー法）④ローターによる緩い攪拌の4つがあるが、余剰骨について次の4法を用いた。

I法（①→①→③）（従来法）

II法（①→①）

III法（②→②）

IV法（②→④→④）

なお、DNA抽出は市販のキット（QIAamp DNA Investigator kit）を用いた。また、骨からのDNA抽出条件の良否は、DNA型検査（常染色体STR検査（GF）、Y染色体STR検査（YF）、ミトコンドリア超可変領域（Mt）の判定結果により判断した。なお、本研究は京都大学医の倫理委員会の承認を得て行っている。さらに、スクリーニングソフトに関しては、その構成、および仕様につきアドバイスをを行った。

C. 研究結果・考察

一般に骨切片を十分に粉碎することは DNA 抽出において非常に重要な工程と考えられるため、従来法にみられる③を行ってきたが、必ずしも DNA 回収率を上げるとは言い難く、特に本事業で扱うような経年変化の著しい骨ではこの粉碎による DNA 損失の方が顕著に現れた。そのため、II法に抽出法を変えたが、GF、YF、Mt の判定結果に有意な差はみられず、反って判定結果が改善するものもみられた。但し、資料の稀少性のため、同一骨での比較はできなかった。また、EDTA 浸透した試料を超音波洗浄するが、この過程も DNA 損失を起こすと考え、III法に変えたところ、全体に判定結果が改善された。しかし、本事業においては、骨組織であるのに当初から脆く、III法でも DNA 回収が期待しにくい試料がある。この場合、IV法を用いたところ改善がみられた。変性の顕著な脆い上腕骨について、II法とIV法で比較したところ、GF では前者が 2 アリルに留まったが、後者では 5 アリルが検出され、YF でも前者が 1 アリル、後者 3 アリル検出された。特に Mt の HV2 では前者は部分的にした解析できなかったが、後者では全ての領域の塩基配列が解析できた。今後も最も効率の良いプロトコル作成に向けて、遺骨の部位別や骨と歯牙との比較なども行う予定である。

ソフトウェアに関しては、要求された条件等をクリアできた事を確認し、今後は Y 染色体上のマーカーおよびミトコンドリア DNA 情報によるスクリーニングソフトの開発に取り掛かる予定である。

D. 研究発表

1. 論文発表
特になし
2. 学会発表
特になし

E. 知的財産権の出願・登録状況

特になし