

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）  
総括研究報告書（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

研究代表者 橋谷田真樹 関西医科大学医学部法医学講座 准教授

研究総括要旨：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。

研究分担者：

眞鍋 翔（関西医科大学医学部法医学講座・助教）  
浅利 優（旭川医科大学医学部・准教授）  
北川 美佐（大阪医科薬科大学医学部法医学教室・技術員主幹）  
玉木 敬二（京都大学医学研究科法医学講座・教授）  
中村 安孝（東京歯科大学法歯学・法人類学講座・講師）  
松末 綾（福岡大学医学部法医学教室・講師）  
山田 良広（神奈川歯科大学歯学部・教授）

#### A. 研究目的

本研究は、厚生労働省の戦没者遺骨のDNA鑑定事業において、1柱でも多くの戦没者遺骨からDNA型判定を成功させることで、正確かつ速やかに遺骨をご遺族のもとにお返しすることを最終目標とする。この目標を遂行する上で解決すべき大きな課題が2つある。まず、本事業に携わる各鑑定機関は独自の試行錯誤により鑑定を実施してきているため、知識や経験が共有されておらず、標準的なプロトコル等も定まっていない。また、遺骨をご遺族にお返しするためには

該当する遺骨とご遺族との間の血縁関係を推定する必要があるが、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のは手作業であり、多大な時間を要する。これらの課題を解決するために、本研究では「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。

#### B. 研究方法

「戦没者遺骨鑑定の標準プロトコルの作

成」については、これまで各鑑定人が独自の工夫をこらして行なってきた様々なDNA鑑定方法に対し、最も効率がよく有効である統一したプロトコルを作成するのが目的である。まず、令和3年度に行った遺骨試料のDNA型鑑定方法に関するアンケートを集計し、各機関での方法を整理した。その情報を各分担研究者に周知し、それぞれの機関において、DNA型鑑定の精度向上を目指して、各工程の見直しを行った。また、核DNAのSTR情報以外にも、ミトコンドリアDNAの多型解析も遺骨の身元確認においては重要な情報源となっている。この解析において各人の鑑定方法に最も違いが見られたことから、検証するためのプロトコルを整理した。

「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」については、令和3年度に常染色体上STR情報を用いたマッチングソフトは構築済みである。今年度は、このソフトを改良し、Y染色体上STRおよびミトコンドリアDNA情報を用いたマッチングソフトを開発した。これらはプログラミング言語のRを用い、ボタン1つで簡単に操作できるようにするため、Rのtcltk、tcltk2パッケージを用いて graphical user interface (GUI) 化した。また、常染色体STR型、Y-STR型、mtDNA型を併用することで発生する偽陽性をどの程度まで減少するかを検討を行った。これには、まず、日本人集団のDNA型データベースに基づき、PC上でDNA型を2000人分(互いに非血縁)作成し、1000人分を遺骨側、残り1000人を遺族側に振り分けた。続いて、開発したソフトウェアを用いて、各遺骨と各遺族の比較を計100万回行い、偽陽性率を調

査した。

### C. 研究結果・考察

「戦没者遺骨鑑定の標準プロトコルの作成」については、DNA鑑定における3つの工程、すなわち、骨・歯からのDNA抽出、次にPCR法による個人識別マーカーであるSTRの増幅、そして電気泳動による型判定である。これらの工程の中で、STRの増幅と電気泳動による型判定は、全員共通の試薬・機器を使用しており、いずれもメーカーのプロトコルに従って行なっていることから、違いはほとんど見られなかった。問題となるのは「DNAの抽出」部分である。この部分は、試料の前処理方法から使用するDNA抽出試薬について、各人により大きく異なっていた。前処理として骨を粉末にするのか・しないのか、方法は二分されたが、次に使用する抽出試薬にも影響を与えることから、重要な点であると考えられる。大阪医科薬科大学では、京都大学、および福岡大学で行われているDNA型鑑定方法と比較実験を行い、福岡大学の方法が最も検出成績が良かったとの報告であった。それらの結果を添付資料として提出する。また、旭川医科大、京都大学、福岡大学、神奈川歯科大学では、それぞれ独自に抽出方法の検討を行っており、これまで行ってきた自分たちの方法に、他の機関の方法などを参考に改良を加え、検討を行った。さらに、東京歯科大学では「歯」試料に特化して、DNA抽出、そしてSTR型判定の検討を行った。いずれの検討も実験途中であり、令和5年度に、同じ人物が、同じ試料を用いて、最もDNA回収率および効率の良い方法を決定する。また、今年度はミトコンドリアDNA解析についての検討は行

われなかったが、令和5年度は、最も有効な増幅用プライマー配列の検討や、増幅効率を向上させるためのTaqポリメラーゼの比較、PCR感度増強剤などの検討も行う。

「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」については、Y-STR、およびmtDNAを用いたマッチングソフトの動作確認に成功した。さらに、模擬DNA型を使用しての偽陽性の検討については、次のような結果となった。同胞鑑定を想定した場合、STR型、Y-STR型、mtDNA型の偽陽性は、それぞれ100万例中274例、1084例、13644例であった。しかし、STR型とY-STR型の併用、あるいはSTR型とmtDNA型の併用では偽陽性はいずれも1例のみであった。親子、または第2度血縁の鑑定においても同様に偽陽性は大幅に減少した。さらに、STR型とY-STR型のアレルの半数が不検出の場合においても偽陽性は減少することが確認された。令和5年度は、より多くの模擬DNA型を用いてソフトウェアの検証を行う予定である。

#### D. 健康危険情報

特になし

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

特になし

##### 2. 学会発表

特になし

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし