

氏名（本籍）	西 健喜		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第	7427	号
学位授与年月	平成 27 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	新規 X-STR(X-chromosomal short tandem repeats)部位の 検出と個人識別マルチプレックス法への応用		
主査	筑波大学教授	理学博士	岡村 直道
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	長谷川 雄一
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	猪股 伸一
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	太刀川 弘和

論文の内容の要旨

(目的)

X-chromosomal short tandem repeats (X 染色体 STR 多型 : X-STR) を用いた鑑定法は母子鑑定や父娘鑑定、同胞鑑定に広く応用できることから法医学領域において注目を集めている。しかしながら X-STR の研究は、現在においても内部構造の解析・人種別統計の調査の報告・実用的な鑑定への応用などの報告が行われている段階であり、X-STR を用いた Multiplex kit もようやく国内において販売されたところである。本研究は法医学的に有用である X 染色体上に存在する新しい STR Locus の検出とその応用方法を確立する事を目的として行われた。

(対象と方法)

USCG Genome Browser 及び NCBI map viewer を用いて X 染色体 q28 領域より STR 領域の検出を行うとともに多型性の検討を行った。検出された Locus を法医学的鑑定に応用すべく、X 染色体の他の STR locus と共に Multiplex PCR への適応を検討した。サンプルには日本人 700 人(男性 440 人、女性 260 人)、遺伝性の確認に 30 家系(息子 18、娘 12) 海外サンプルとしてアメリカ人(白人) 88 人、モンゴル人 105 人、コロンビア人(ネイティブアメリカン) 160 人を用いた。

(結果)

NCBI genome view Annotation Release 106 X-chromosomal 151, 285, 800bp (Build37. 2-150, 454, 000bp) 近傍にて CTTT を基本とする STR の存在を確認した。構造は 2~4 塩基の反復配列が複合された非常に複雑で多型性に富んでおり、大別して 3 つの形に分類できるものであった。反復が少なく増幅サイズが 300bp 以下の構造、反復数が多く増幅サイズが約 320~400bp と幅広い構造、そして

CC-(CTTT)₂-(CT)₂-4-(CTTT)₂-3-(CT)₂-6 の挿入を持ち、1 塩基の挿入や CT 反復配列の欠損など特異的な形が多い構造であった。また NCBI genome view Annotation Release 106 X-chromosomal 151,866,400bp (Build37.2 151,034,800bp) 近傍、DXS10011 の約 100Kbp 上流において 2 塩基などの挿入がないシンプルな 4 塩基の反復配列を持つ STR locus を確認した。4 塩基の単純反復配列でありながらも内部に TGCC と TTCC の 2 種の構造を連続して持ち、多型性の高い Locus であった。両 Locus 共に構造別・塩基長出現頻度の調査を行い、統計学的な数値から共に多型性・識別能力に優れており法医学的鑑定に有用な Locus と考えられた。またシンプルな 4 塩基反復配列でありながら多型性に優れる TTGC-TTCC の連続した反復配列を用いて X 染色体 12 STR Locus 及び Amelogenin と共に MultiplexPCR への適応を検討し開発を行った。その識別能力は女性では 10^{-12} 、男性では 10^{-8} の確率において同じ型が現れるとの結果となった。また 0.1ng のコントロールサンプル及び、骨から抽出したサンプルを用いて検討を行った所、良好な増幅を確認した。

(考察)

CTTT の反復配列はその多型性の高さから単独の Locus でも十分な識別能力を有することが確認された。このような高度多型領域は Mutation rate が高い事が考えられ親子鑑定に用いるには慎重が必要であるが、個人識別に有用である事はもちろん、疾患関連マーカーとして利用できる事が知られており、法医学領域だけでなく他の領域においても有効な Locus だと考えられた。TGCC-TTCC 反復配列はシンプルな 4 塩基の反復配列でありながらも、内部の構造が 2 つの配列から構成されている事から多形性が高く、型判定に用いる上で有用である上に、人種間において構造差が色濃く存在しており、DNA 型判定において人種を予測できる可能性もあると考えられた。また、新たに開発された X 染色体 Multiplex PCR は X 染色体 13 STR locus に加え Amelogenin を含み、他の報告よりも優れた Locus 数、識別能力が確保されている。更に 3 つの Linkage group を含む為、両親が不在となった場合においても親族間の判定に有用であり、また、骨から抽出した DNA から良好な増幅が見られたことから、陳旧サンプルにおいても適応が可能と考えられた。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究において確認された Locus は、個人識別はもちろん、人類学的多型性の研究、X 染色体と連鎖した疾患関連マーカー、腫瘍マーカーに応用できる可能性を含む有用なものであり、この Locus を含む Multiplex PCR kit の高い識別能は、個人識別、親子・親族鑑定に有用であり、法医学的に有力なツールとなるものと考えられ高く評価できる。

平成 26 年 12 月 19 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。