

論 文 要 旨

博士課程 ① 甲 乙	第 号	氏 名	内 山 岳 人
<p>[論文題名]</p> <p>A new molecular approach to help conclude drowning as a cause of death: Simultaneous detection of eight bacterioplankton species using real-time PCR assays with TaqMan probes (Forensic Science International 222 (2012) 11-26)</p> <p>水棲細菌を指標とした Multiplex TaqMan PCR 法による溺死の補助診断法の開発</p> <p>[要 旨]</p> <p>溺死の解剖診断は、肺の過膨張と重量増加、気道内の泡沫、胸水貯留など比較的特徴的な所見からなされるが、このような所見が乏しい溺死も多く、溺水の吸引を評価するために珪藻検査が必要とされている。これは溺水と共に吸引された珪藻を肺や腎臓・肝臓などから検出するものである。他方、溺死以外でも類似の所見がみられることがあり、たとえ肉眼的に溺死と考えられた場合でも珪藻検査での確認が望ましいとされているが、珪藻が少ないかほとんどいない水では困難である。そこで我々は珪藻以外の水棲微生物、すなわち水棲細菌を培養により血液から検出する方法を試みたところ、水棲細菌は溺死した死体から高率に検出される事が示され、また検出された細菌の種類は限られていた。これらから水棲細菌は珪藻を補う溺水吸引の指標となりえると考えられたが、水棲細菌の培養検査は 16S rRNA 遺伝子分析による簡易同定までを含め 3~4 日を要した。そこで、培養検査で高い頻度で検出された水棲細菌についてそれらの DNA を迅速に検出する診断法の開発を試みた。すなわち淡水性細菌として <i>Aeromonas</i> 属 2 種、海水性細菌として <i>Vibrio</i> 属 3 種及び <i>Photobacterium</i> 属 3 種の計 8 種の DNA の検出を試みた。具体的には各標準株に特異的な標的遺伝子を指標として Primer 及び TaqMan probe を設計し、3 セットの Multiplex TaqMan PCR 法 (ABI 7500) により 8 種の水棲細菌の同時検出を行った。指標とした標準株 8 種は全て特異的に増幅され、各水棲細菌の判定が可能であった (ただし淡水性細菌の <i>Aeromonas</i> 属 2 種についてはそのどちらかまでの判定にとどまる)。そこで解剖所見上溺死と診断あるいは疑われた 32 例を含む計 43 例分の血液 (左心血、右心血、大腿静脈血) 及び臓器 (肺、腎臓、肝臓) の計 266 試料について Multiplex TaqMan PCR 法を行った。その結果、淡水域では淡水性細菌のみが、海水域では海水性細菌と場合により淡水性細菌が、そして汽水域では淡水性と海水性の細菌の両方かいずれかが高率に検出された。他方、浴槽内で溺死した可能性がある 3 例と非溺死と考えられた 8 例からは水棲細菌は検出されなかった。本法は、水棲細菌の培養検査と比べて検出感度は若干劣ると考えられたが、4~6 時間で結果が得られる利便性から珪藻検査を補う方法になりうると思われた。また珪藻検査は必須といわれながらも実施率は全国で 50%未満であり、簡便迅速化された本法を行うだけでも溺死の診断精度の向上に寄与できると思われた。</p>			

備考 論文要旨は 1, 0 0 0 字程度にまとめるものとする。