

学位論文審査結果の要旨

博士課程 ①・乙	第 号	氏 名	内 山 岳 人
審 査 委 員	主 査 氏 名	林 哲也	
	副 査 氏 名	岡 七 昭 三	
	副 査 氏 名	丸 山 浩 史	
[論 文 題 名]			
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)			
(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)			
[要 旨]			
<p>宮崎大学医学部社会医学講座法医学分野では、従来の珪藻検査に加え、平板培養によって溺死体の血液から溺死水域に特徴的な水棲細菌を検出でき、その存在が溺死の診断に役立つことを明らかにしてきた。この方法は生菌を対象としており、血液が採取できれば、腐敗した死体でも検出可能であった。しかし、腐敗が高度になると生菌は明らかに減少していく傾向が示され、さらに、腐乱して血液が採取できなかつた例も少なくない。そこで、水棲細菌を生菌として検出できなくても、腐敗の初期及び中期で優勢となっていた水棲細菌の遺伝子を循環器系から検出し得れば、溺死診断の一助となるのではないかと考えた。本研究では、これまでの研究成果に基づき、溺死の指標となる水棲細菌を選定し、TaqMan PCR 法を用いた水棲細菌遺伝子検出による簡便かつ迅速な溺死の補助診断法の開発を試みた。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 種を溺死の指標とした。各菌種に特異的な遺伝子または遺伝子配列を標的として Primer 及び TaqMan probe を設計し、TaqMan probe は 3 色の蛍光物質を用いて標識した。Real-time PCR (ABI 7500) による 3 セットの Multiplex TaqMan PCR 法により水棲細菌の同時検出を行った。溺死の指標として選定した 8 菌種の標準株では、それぞれ特異的な遺伝子増幅が認められ、各水棲細菌の検出が可能であった。また、過去に非溺死例で検出された常在菌 6 種は、この Primer セットでは増幅されず、各水棲細菌用 Primer としての特異性が確認された。次に、32 名の溺死者を含む計 43 名分の血液 (左心血、右心血及び大腿静脈血) 及び臓器 (肺、腎臓及び肝臓) 計 266 試料について、Multiplex TaqMan PCR 法を行い本法の有効性を検討した。その結果、淡水溺死では <i>Aeromonas</i> 属のみが検出、海水溺死者からは、<i>Vibrio</i> 属及び <i>Photobacterium</i> 属が検出され、また、塩濃度の低い汽水域では、<i>Aeromonas</i> 属、<i>Vibrio</i> 属及び <i>Photobacterium</i> 属が検出され、いずれも珪藻検査や平板法による診断結果を支持する結果が得られた。さらに、浴槽内溺死者や非溺死と考えられた犠牲者からは、水棲細菌は検出されず、血液からヒト腸内細菌や土壌細菌が培養法で検出された。以上の結果から、本法は溺死の補助診断法として有効であると考えられる。</p>			
以上の結果は、学位授与に値する論文であると判定した。			