

論文審査の結果の要旨

氏名：小 方 彩 乃

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Age estimation based on DNA methylation in teeth using real-time methylation-specific PCR

（リアルタイムメチル化特異的 PCR 法を用いた歯由来 DNA のメチル化に基づく年齢推定）

審査委員：（主査） 教授 今 井 健 一

（副査） 教授 鈴 木 直 人

教授 白 川 哲 夫

教授 武 市 収

身元不明遺体の個人識別において、年齢は重要な情報の一つである。従来、様々な年齢推定法が報告されてきたが、そのほとんどは法医学分野で広く使用されるには至っていない。近年、遺伝子の発現制御と関係がある DNA のメチル化レベルと年齢との間に高い相関が示され、新しい年齢推定法として注目されている。

パイロシーケンス法はこの分野で最もよく利用されているメチル化解析法であり、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）産物の塩基配列を直接検出することで、定量的な DNA メチル化データを高精度で得ることができる。しかし、この方法は解析に必要なパイロシーケンサーの普及率が低く、コストが高いなどの欠点がある。一方、real-time methylation-specific PCR（RT-MSP）法は CpG 部位のメチル化状態を迅速に評価できるコストパフォーマンスの高い方法であり、従来のリアルタイム PCR 機器を使用できるため、多くの研究室で実施可能である。

複数のグループによるこれまでの解析で、elongation of very long chain fatty acids protein 2（ELOVL2）のメチル化レベルは年齢と強い相関を示しており、年齢推定の有望なマーカー候補とされている。また、ectodysplasin A receptor-associated death domain（EDARADD）は歯を試料としたメチル化解析による年齢推定法に用いられており、メチル化レベルは年齢と負の相関がある。歯は他の生体試料と比べ、保存性に優れ、法医学鑑定に極めて有用である。これらを踏まえ、本研究では、歯由来 DNA の ELOVL2 および EDARADD のメチル化率（PMR）を RT-MSP 法を用いて測定し、年齢推定のための重回帰式を算出することを目的とした。

その結果、以下の知見を得た。

1. ELOVL2 および EDARADD 遺伝子 6 箇所の CpG 部位において、ELOVL2 の PMR は年齢と正の相関を、EDARADD の PMR は年齢と負の相関を示した。
2. ELOVL2 と EDARADD の PMR を用いた年齢推定式は、決定係数 0.74、絶対平均誤差 6.69 の精度を得た。
3. 年齢推定式の精度を検証するため、40 歯のテストサンプルにこの年齢推定式を用いた結果、絶対平均誤差 8.28 の精度で年齢が推定できた。
4. 絶対平均誤差を 3 つの年齢層別に算出すると、若年層で 7.61、中年層で 7.48、高年齢層で 10.21 であり、いずれの群間においても有意差は認められなかった。

以上の結果から、ELOVL2 と EDARADD を標的としたメチル化特異的 PCR による年齢推定法は、どの年代においても均一の精度で年齢推定を行えること、また年齢推定のための DNA メチル化率の測定に、RT-MSP 法も利用可能であることが明らかとなった。本研究の成果は、身元不明遺体の個人識別で重要な年齢推定において、新たな方法を提示しており、歯科法医学分野の発展に寄与するものと考えられた。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和 5 年 3 月 9 日