

Studies on ecology and structure of the bacterial community on human scalp hair

渡邊, 康太

<https://hdl.handle.net/2324/4475198>

出版情報：九州大学, 2020, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏 名 : 渡邊 康太

論 文 名 : Studies on ecology and structure of the bacterial community on
human scalp hair
(ヒト毛髪に定着する細菌群集の生態と構造に関する研究)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

人体には多くの細菌が存在し、部位により多様な細菌群集構造を形成している。我々はこれまでに Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP 法)による先行研究にて、ヒト毛髪に付着する細菌の群集構造の違いから個人を識別できることを可能とした。また qPCR 法を用い、ヒト毛髪毛根部を除く毛幹部位での細菌 DNA の定量に成功している。これらの結果から、一定量の細菌が毛髪上に常在し、個人に特異的な群集構造を形成していることが示唆された。しかし、T-RFLP 法では細菌群集構造の系統分類情報を得ることができず、またヒト毛髪に付着する細菌数やその生態については報告されていない。

第 1 章では、序論として人体に付着する細菌群集構造解析手法の歴史や、次世代シーケンサー (NGS) を用いた人体各部位でのヒトマイクロバイオーム研究について述べ、さらに人毛のマイクロバイオーム研究の現状や課題について考察を行った。

第 2 章では、ヒト毛髪付着細菌の存在形態と群集構造の解明を目的に、1 本の毛髪を毛根部および 3 つの毛幹部位に切断した後、SEM による毛髪表面付着細菌の直接観察、qPCR 法による細菌コピー数定量、NGS による群集構造解析を行なった。SEM による直接観察の結果、毛根部には 1.2×10^7 cells/cm²、毛幹部には平均 $8.8 (\pm 3.0) \times 10^5$ cells/cm² の細菌密度となり、毛根部で高密度に細菌が存在することが明らかとなった。また、qPCR 法による細菌コピー数定量は SEM 観察での密度計測結果と類似し、強い相関関係が存在した。NGS による細菌群集構造解析の結果、毛根部から毛幹先端部に至るまで主要細菌種および占有率が共通した。毛根部に高密度の細菌が存在し細菌種が共通することから、ヒト毛髪毛幹部には毛根部が起源の細菌が常在的に存在することが示唆された。

第 3 章では、ヒト毛髪と頭皮付着細菌を対象に、qPCR 法による細菌コピー数定量および NGS による群集構造解析を行なった。第 2 章での qPCR 法による細菌 DNA 定量にて、頭皮脱落毛は経時的に細菌 DNA 量が減少することを確認した。更に NGS による細菌群集構造解析にて、ヒト毛髪に表皮常在細菌である *Cutibacterium* 属細菌や *Staphylococcus* 属細菌が存在することが確認された。このことから、頭皮常在細菌がヒト毛髪付着細菌群集構造形成に影響を与えることが示唆されたが、これらの関連性は不明である。そのため、毛髪および頭皮付着細菌の関連性解明を目的に、両部位を対象とした解析を行った。qPCR 法によるコピー数定量の結果、ヒト毛髪には $1.6 (\pm 1.6) \times 10^5$ cells/cm²、頭皮には $3.8 (\pm 3.7) \times 10^4$ cells/cm² が存在し、両部位共に一定数の細菌が存在することが

示された。NGS による細菌群集構造解析の結果、Actinobacteria 門に属する *Cutibacterium* 属細菌が両部位で最優占属であったのに対し、Proteobacteria 門に属する *Pseudomonas* 属細菌の占有率は毛髪で有意に大きく、Firmicutes 門に属する *Staphylococcus* 属細菌の占有率は頭皮で有意に大きかった。以上の結果から、毛髪には頭皮と共通する細菌と独自の細菌の両方が存在し、部位特異的な細菌群集構造を持つことが示唆された。

第 4 章では、被験者 109 名を対象に毛髪試料採取と同時に、被験者情報および生活習慣や洗髪に関するアンケート調査を行い、これらのデータと qPCR 法による細菌数定量、および NGS によるシーケンスデータを組み合わせ、統計解析を行った。我々がこれまでに行ってきた T-RFLP 法や NGS による解析にて、毛髪に付着する細菌群集構造は個々人で異なることを明らかとしたが、その要因については未だ明らかとなっていない。そのため、毛髪細菌群集構造に影響を与える因子の解明を目的に、本研究を行った。qPCR 法によるコピー数定量の結果、ヒト毛髪には $7.7(\pm 7.5) \times 10^4$ cells/cm² が存在し、被験者間で細菌数にばらつきはあるものの、一定数の細菌が全被験者に存在した。NGS による細菌群集構造解析の結果、Actinobacteria 門、Proteobacteria 門、Firmicutes 門が主要細菌門であり、その占有率は被験者ごとにばらつきがあった。また、Weighted unifracs distance 値を被験者内、被験者間で比較した結果、被験者内で有意に小さく、同一被験者の毛髪試料の細菌群集構造は類似することが示された。PAM-clustering の結果、毛髪試料は *Pseudomonas* 型と *Cutibacterium* 型の 2 つのクラスターに分類された。また、毛髪アンケートと組み合わせた解析の結果、性別間といった内的因子だけでなく、コンディショナーやヘアカラー剤の使用といった外的因子によっても主要細菌数に有意差があることが示された。以上の結果から、毛髪の細菌群集構造は表皮や環境中に棲息する細菌だけでなく、宿主の内的および外的要因による影響も受けることが示唆された。

第 5 章では、本論文の総括として、各章での研究結果からヒト毛髪細菌群集構造の生態や因子の考察、および今後の展望を示した。毛髪付着細菌の生態が解明されることは、微生物生態学における新規な発見ではなく、毛髪健康維持といった保険衛生学分野、毛髪細菌群集構造が個々人で異なることを利用した個人識別といった法医学分野など、今後の研究の発展により様々な分野への応用が期待される。