九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Studies on Isolation Characteristics of Hair Bacteria and Regulation of Gene Expression in Epidermal Cells

山田, あずさ

https://hdl.handle.net/2324/7182537

出版情報：Kyushu University, 2023, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

KYUSHU UNIVERSITY

氏　　名：山田　あずさ

論文題名：Studies on Isolation Characteristics of Hair Bacteria and Regulation of Gene Expression in Epidermal Cells

（毛髪細菌の分離特性および表皮細胞における遺伝子発現制御に関する研究）

区　　分：甲

論　文　内　容　の　要　旨

ヒトの体表には皮膚だけでなく体毛にも様々な常在細菌が生息しており、これまでに常在細菌とヒトとの関連は健康および疾病の観点から多くの研究がなされてきた。一方、ヒト頭皮毛髪の常在細菌（毛髪細菌）が宿主に及ぼす影響については未だ不明な点が多く残っている。先行研究では頭皮の毛根部と毛幹部に高密度の毛髪細菌を観察し、毛髪細菌が毛包内のヒト細胞と接触し、高密度で生息することを報告した。毛包内では毛包細胞の遺伝子発現や活性が毛髪の成長周期（ヘアサイクル）に直接関与することから、毛包細胞の遺伝子発現および活性の変化は毛髪成長における重要な調整因子となる。これらの報告は、毛髪細菌が毛包内の細胞に影響を与えている可能性を示唆しているが、確証となる情報は得られていない。そこで本博士論文では、毛髪細菌が日常的に毛髪健康へ及ぼす影響を解明することを目的とした。頭皮毛髪からの細菌分離による分離特性の評価に加えて、毛包細胞としてケラチノサイトを用い細菌添加後におけるケラチノサイト内での影響評価を細胞活性に重要な遺伝子発現と毛髪成長の制御遺伝子を RT-qPCR を用いて定量し、それら遺伝子により誘導される機能の発現を評価した。

第 1 章では、毛髪細菌の生態について細菌の定着様式や栄養源および細菌叢に関する情報と毛髪疾患との関連を解説した。

第 2 章では、毛髪細菌の分離菌獲得および標準培地を用いた毛髪細菌の分離効率を検討した。健常者の毛髪を分離源として 24 パターンの異なる培養条件と栄養培地により 26 属 65 菌種を分離した（図 1a）。また各単離株の獲得条件数から分離可能性を算出した。その結果、分離された菌種は分離可能性が高いグループ（≥25% ; *Staphylococcus* spp.など）と低いグループ（<2 ; *Brachybacterium* sp.など）に分類されたことから、毛髪における「容易分離微生物」と「難分離微生物」の存在を示唆した（図 1b）。

第 3 章では、毛包ケラチノサイトを含むヒトケラチノサイトの細胞活性に及ぼす影響を評価するため、HaCaT 細胞を用いて細胞生存に関与する遺伝子の発現を調べた。緑色蛍光タンパク質（EGFP）の蛍光を利用したスクリーニング系を確立し、形質転換 HaCaT 細胞（SIRT1p-EGFP）においてサーチュイン遺伝子 1（SIRT1）プロモーター活性を増強する毛髪細菌を同定した。定量的ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）の結果、いくつかの優占毛髪細菌が、HaCaT 細胞における SIRT1 およびテロメラーゼ逆転写酵素（TERT）遺伝子の発現を亢進（*Cutibacterium acnes, Pseudomonas lini*）および抑制（*Staphylococcus epidermidis*）することが明らかになった。これらの結果は、いくつかの優占毛髪細菌種が抗細胞老化や代謝に関わる SIRT1 と細胞寿命延長や毛髪成長に関連する TERT の制御に寄与

していることを示唆した。

第 4 章では、ケラチノサイトにおける毛髪細菌の SIRT1 および TERT によって誘導される毛髪成長関連機能を評価した。SIRT1 と TERT はミトコンドリア活性を促進することに加えて SIRT1 は損傷 DNA の修復促進、TERT は毛髪成長の促進などの機能が報告されている。本研究では毛髪細菌がケラチノサイトと接触することにより、ケラチノサイトの代謝活性と DNA 修復が促進されることを示した（図 1c）。さらに、これらの毛髪細菌は毛髪成長調節遺伝子(VEGF、IGF-1、KGF、TGFβ-1)の発現を制御した（図 1d）。これらの結果は、ケラチノサイトとの接触が毛包内の細胞を健全化し、毛髪成長調節因子遺伝子の制御を通じてヘアサイクルの制御に寄与することを示唆した。

第 5 章では、本論文の総括として、各章での研究結果から毛髪細菌の分離特性およびヒトケラチノサイトにおよぼす影響の考察、および今後の展望を示した。結論として、我々は毛髪細菌の分離を経て分離特徴を発見し、毛包内のケラチノサイトと優占細菌種との接触が細胞の代謝活動、DNA 修復、毛髪成長調節因子の遺伝子発現に抑制を及ぼすことを明らかにし、宿主と細菌の相互作用がヘアサイクルを進行させることを示唆した。

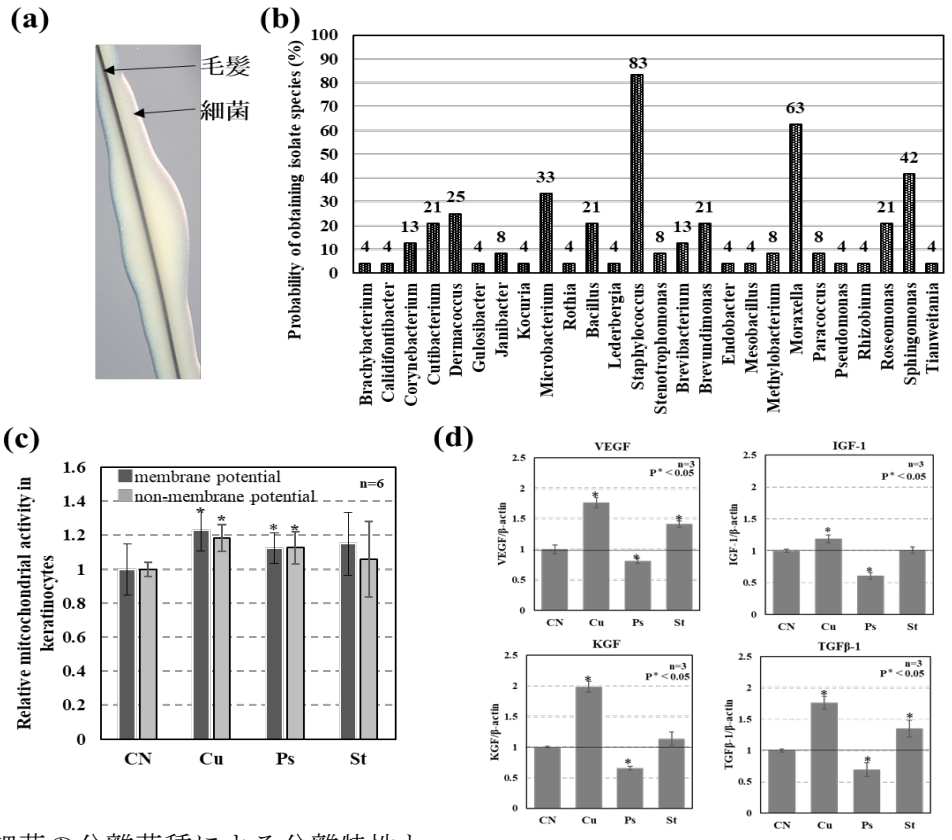

図 1. 毛髪細菌の分離菌種による分離特性と毛髪細菌がケラチノサイトに及ぼす影響評価
(a)毛髪を用いた細菌分離(獲得細菌;26 属 65 種),
(b)24 培養条件による分離細菌の獲得確率
(c)優占毛髪細菌によるミトコンドリア活性への影響(*C. acnes*:Cu, *P.lini*:Ps, *S.epidermidis*: St)
(d)優占毛髪細菌による育毛調整因子の遺伝子発現変化