

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：32658

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20573

研究課題名（和文）ヒト毛髪に常在する細菌叢の分布および生態の解明

研究課題名（英文）Elucidation of distribution and ecology of bacterial community structure on human scalp hair

研究代表者

渡邊 康太（Watanabe, Kota）

東京農業大学・応用生物科学部・助教

研究者番号：70966134

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒト毛髪には人体他部位と同様に一定量の細菌が常在し、個人で固有の菌叢が形成されることが明らかになりつつある。これまでの研究にて毛髪細菌叢に影響する要因についても明らかとなってきた一方で、頭皮・毛髪と毛髪細菌との相互作用については未だ明らかとなっていない。本研究ではまず、採取部位間での細菌叢の分布の違いを調べるため、頭頂部をはじめとした5つの部位から毛髪を採取し細菌DNA抽出後、16S アンプリコン解析にて菌叢の違いを比較した。その結果、被験者間では細菌叢が有意に異なる一方で、採取部位間では有意差がなく、同一被験者において毛髪細菌叢は部位の違いによらず一定であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人体常在細菌は腸内や口腔内、皮膚を中心に広く解析される一方で、毛髪に付着する細菌叢の解析報告は少なく、その生態については多くが未解明である。本研究にてヒト毛髪に付着する細菌の生態を幅広く調べ、常在性や共生関係があることを明らかにすることは、微生物生態学分野での学術的独自性があると考えられる。また、本研究結果は発端となった法医学分野における犯人の異同識別の改良だけでなく、毛髪付着細菌の生態や毛髪や当人の関連性を明らかにすることで、ヒト毛髪健康維持や新たな洗髪剤や化粧品開発への応用といった創造性もあると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Bacterial community structure on the human skin is specific to each individual and varies among different body sites. Scalp hair, which is connected to the scalp as a part of a skin site, is also composed of a certain number of bacteria with unique bacterial community structures. Moreover, we have previously reported that the bacterial community structure on scalp hair may have been affected by host intrinsic factors, such as gender, as well as by extrinsic factors, such as chemical treatments. However, previous studies used samples of scalp hair shafts from only top region of the scalp, and distribution of the bacterial community structure at each scalp hair sampling site has not yet been clarified. In this study, we investigated differences in bacterial community structure among 5 hair sampling sites. We demonstrated that the distribution of bacterial community structures on scalp hair within individuals was relatively steady, even when the scalp hair sampling site was different.

研究分野：応用微生物学

キーワード：ヒト毛髪 頭皮 細菌叢

1. 研究開始当初の背景

人体には部位により多様な細菌が存在している。中でもヒト表皮は人体で最も表面積の広い器官であり、1cm²あたり 10²~10⁷ cells もの細菌が存在することが報告されている。宿主と表皮に常在する細菌は共生関係にあり、外来性の病原微生物の侵入を防ぐことで、表皮を守ることが知られており、病気の解明や健康維持への応用を目指し、細菌叢の解明に向けた研究が広く行われている。

人体を含む自然環境中に生息する複合的な細菌叢を解析する方法は、古くは培養法により行われていた。しかし、培養法は多大な時間と労力がかかることや、難培養性の細菌が存在し、全ての細菌種を調べられるわけではないといった問題点があった。これに対して培養法によらない次世代シーケンサーによるアンプリコン解析やメタゲノム解析などの近年の分子生物学的手法の発展により、これまで真の姿が不明瞭であった細菌叢が次第に明らかにされつつある。特に人体表皮においては、乾燥部位か皮脂性部位かといった部位の特徴の違いにより細菌叢が異なること、そして同一部位であっても各個人に固有の菌叢が存在することが明らかとなってきている。我々は頭皮に定着するヒト毛髪に着目し、先行研究にて毛髪にも一定量の細菌が常在し、頭皮常在細菌とも関連する個人に特異的で安定な細菌叢が形成されることを報告した。さらにその後の研究により、毛髪細菌叢は 2 つのクラスターに分類され、性別の他にヘアワックスやヘアカラー剤の使用の有無といった生活習慣がクラスター形成に影響することもわかってきた。しかし毛髪細菌の存在や細菌叢に影響する要因が明らかとなってきた一方で、頭皮・毛髪と毛髪細菌との相互作用については未解明である。

2. 研究の目的

前述の様に、ヒト毛髪には他の人体部位とはまた異なる特徴的な細菌叢が存在することが知られているものの、これまでの研究は主に頭頂部から採取した毛髪に限定されており、毛髪付着細菌の分布は調べられていなかった。また、毛髪細菌叢解析に用いるサンプルは抜去または毛幹部を切断する侵襲的な手法で行われており、今後、毛髪や頭皮の炎症や疾患を持つ被験者からも毛髪試料を採取し、細菌叢へ与える影響も調査していくには毛髪本体を用いない非侵襲的な採取方法の確立が必要となってくることが予想される。そこで本研究では、(1)ヒト毛髪細菌の採取部位別の分布、(2)ヒト毛髪細菌の新規採取法の開発を目的にした。

3. 研究の方法

本研究では 12 名の被験者を対象としてサンプルを収集した。

(1)ヒト毛髪細菌の採取部位別の分布

頭頂部、前頭部、後頭部、右および左側頭部の 5 部位の毛髪を採取し細菌 DNA を抽出した。16S rRNA 遺伝子の V4 領域を増幅後、次世代シーケンサーMiSeq による 16S アンプリコン解析にてシーケンスデータを取得後、USEARCH にて OTU(Operational taxonomic units)テーブルを作成した。さらに QIIME にて および 多様性解析を行った。なお、採取部位間および被験者間における主要細菌の占有率や多様度の有意差検定は XLSTAT ソフトウェアの Kruskal-Wallis 検定にて行った。

(2)ヒト毛髪細菌の新規採取法の開発

頭皮に定着するヒト毛髪を直接切断する侵襲的な毛幹採取法と、毛髪を切断せず滅菌水を染み込ませた滅菌綿棒にて毛髪表面を擦ることで毛髪細菌を採取する非侵襲的な毛髪スワブ法にて、毛髪細菌叢解析に用いる試料を採取し、(1)と同様の手法でシーケンス解析を行った。なお、スワブ法にて採取した頭皮の試料も解析し、採取法とともに採取部位での細菌叢の違いについても比較検討した。

4. 研究成果

(1)ヒト毛髪細菌の採取部位別の分布

門レベルでの細菌叢解析の結果、全サンプルで主要細菌門は Pseudomonadota 門、Actinomycetota 門、Bacillota 門であった。属レベルでは *Cutibacterium* 属、*Pseudomonas* 属、*Staphylococcus* 属、*Lawsonella* 属の 4 属がいずれのサンプルにも主要に存在した。これら主要細菌 4 属の占有率を被験者間および採取部位間で比較したところ、被験者間では有意差があった一方で、採取部位間では有意差がなかった。次にサンプル内での種の多様度を示す 多様性解析を shannon 指数を用いて行ったところ

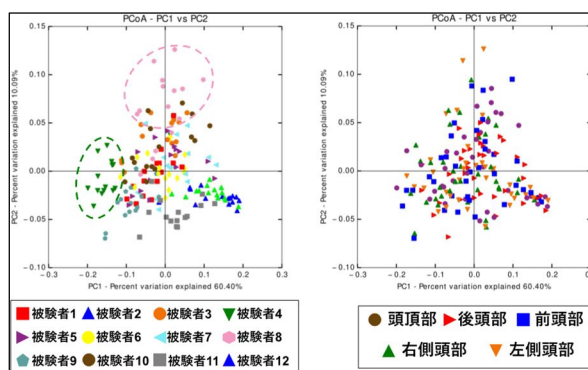


図1 被験者別および採取部位別での 多様性

る、被験者間で比較すると多様度がばらつき有意差があった一方で、採取部位間では有意差がなかった。さらにサンプル間での細菌叢の類似度を示す多様性解析を Weighted UniFrac 値による主成分分析にて行い、被験者別および採取部位別でそれぞれ比較した(図1)。被験者別での比較では、同一被験者のプロットは近い位置に存在する傾向を示し、被験者4や被験者8では他被験者とは異なる明確なクラスター形成が見られた一方で、同一採取部位内のプロット同士の距離はばらつく傾向が見られた。また、プロット間の分散に寄与する因子を解析した結果、被験者の違いの身が統計的に有意なカテゴリーであり、採取部位の違いは有意な影響はなかった。以上の結果から、同一被験者内のヒト毛髪細菌叢の分布は採取部位の違いによらず一定であることが示唆された。

(2) ヒト毛髪細菌の新規採取法の開発

ヒト皮膚の細菌叢解析において、サンプリングは主にスワブ法が用いられ、そのほかの手法としてテープストリッピング法や生検法があることが知られている。スワブ法では皮膚表面を、生検法では真皮もサンプリング対象とするといった違いがあり、採取法により細菌叢が異なるといった報告もあるため、ヒト毛髪細菌のサンプリングにおいても採取法の違いが細菌叢解析結果に影響することが示唆される。そこでスワブ法にて採取した頭皮サンプルも含めて、毛髪細菌をスワブ法および毛幹採取法にてサンプリングし、細菌叢解析を試みた。

Observed OTUs および shannon 指数による多様性解析を行ったところ、いずれの指数においても毛髪関連サンプルと頭皮サンプルの間では有意差があった一方で、スワブ法および

毛幹採取法といった毛髪関連サンプル間では有意差はなかった。主要な5 OTU を選択し、各サンプル群の占有率を比較したところ、*Cutibacterium acnes* 近縁菌である OTU を除き、4 OTU は多様性解析と同様に毛髪関連サンプルと頭皮サンプルの間では有意差があり、毛髪関連サンプルである2つのサンプル群間では有意差がなかった。さらに主成分分析による多様性解析では、毛髪関連サンプル群と頭皮サンプル群の2つのクラスターにグループ化される傾向が示され、Weighted UniFrac 値の比較においても、毛髪関連サンプルである2つのサンプル群間では有意差はなく、採取部位が異なる場合でのみ有意差があった。以上の結果から、非侵襲的なスワブ法であっても侵襲的な毛幹採取法と同等の細菌叢解析が行えることが示唆された。

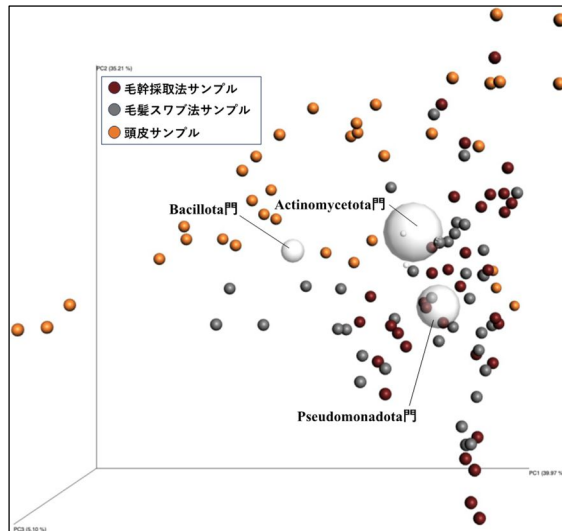


図2 各サンプル群別での多様性

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kota Watanabe, Azusa Yamada, Shunichi Nakayama, Toshimori Kadokura, Kenji Sakai, Yukihiko Tashiro	4. 巻 87
2. 論文標題 Distribution of bacterial community structures on human scalp hair shaft in relation to scalp sites	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1551-1558
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/bbb/zbad127	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡邊 康太
2. 発表標題 ヒト毛髪付着細菌群集構造の分布
3. 学会等名 第75回生物工学会大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------