

赤外顕微鏡によるダメージ毛髪タンパク質二次構造解析 Secondary Structure Analysis of Proteins in Damaged Hair Using Infrared Microspectroscopy.

小林 和樹, 馬場 淳史, 菅原 達郎, 鈴田 和之, 木村 洋則, 安富 諒, 伊藤 廉
Kazuki Kobayashi, Atsushi Baba, Tatsuro Sugawara, Kazuyuki Suzuta, Hironori Kimura,
Ryo Adomi, Len Ito

(株)ミルボン
Milbon Co. Ltd.

ブリーチ処理を行った毛髪は、洗髪の繰り返しと共に、髪が根元から広がってしまいまとまりの悪いヘアスタイルへと移行しやすくなるという実感を消費者は感じている。我々は、ブリーチ後の洗髪処理に伴って生じる毛髪内部のタンパク質二次構造への影響を明らかにするため、顕微IR マッピング測定を行った。毛髪断面のタンパク質二次構造の解析を行った結果、ブリーチ後の洗髪処理による毛髪内のタンパク質二次構造の変化が確認された。

キーワード： 毛髪、赤外分光法

背景と研究目的：

女性が美しい毛髪を保ちたいという願望は世界共通に存在している。そして、多くの女性がヘアドライヤーやヘアアイロンなどの日常の美容習慣や、パーマントウェーブ（パーマ）やヘアカラーなどの美容施術を行うことで、髪を美しく整えている。しかし、これらの施術が毛髪ダメージの発生要因となることも広く知られており、このような毛髪へのダメージを補修し、髪的美しさを保つ製品開発ニーズに応えるため、様々な科学的アプローチから毛髪研究が進められている。

近年、若年層を中心により明度の高い色味であるブリーチヘアが流行している。しかし、ブリーチ処理を行った毛髪は、洗髪の繰り返しと共に、髪が根元から広がってしまいまとまりの悪いヘアスタイルへと移行しやすくなるという消費者実感があり、ブリーチヘアに対して髪をまとまりを良好に整える製品に対するニーズが高まっている。ブリーチヘアにおけるまとまりの悪さは、真っ直ぐだった毛髪繊維形状がブリーチ後の洗髪処理に伴ってうねり、嵩が増すことで生じることがわかっている。繊維形状の変化に関する著者らのこれまでの研究から、ブリーチ毛髪の繊維形状変化は洗髪操作によって絡まった繊維同士の交差部分が絡まりをほども過程で延伸されながら移動し、ドライヤー乾燥による水分蒸発に伴い変形した形状が固定されることにより発生することが示唆された（投稿準備中）。さらに、繊維形状変化の要因である交差状態での延伸は、構成タンパク分子鎖の繊維軸に対する配向を乱すことが BL24XU における μ -SAXS 解析から示され、この配向の乱れが毛髪繊維の形状変化に関与しているように示唆された。ケラチン繊維は延伸により構成タンパク質の α -ヘリックス構造から β 構造への転移が知られていることから、絡まりをほども過程において生じたタンパク質二次構造の変化を捉えることで、毛髪繊維に付加された延伸の影響や、延伸によって繊維に与えられた残留応力を解釈する一助となるものと期待される。しかし、ケラチン繊維の延伸に伴うタンパク質の α - β 転移は繊維断面において不均一に進行することが報告されていることから[1]、タンパク質の二次構造変化に対する延伸の影響は毛髪断面において不均一に与えられる可能性がある。

そこで本研究では、毛髪断面におけるタンパク質構造の不均一性を捉えるために、高い空間分解能を有する BL43IR における顕微赤外マッピング測定に着目した。我々はこれまで、IR スペクトルのカーブフィッティングによってタンパク質の二次構造を精度良く分析する方法を確立してきた (2017B1587, 2018A1573, 2018B1610)。本研究では、ブリーチ毛髪の絡まりをほども際に生じるタンパク質二次構造への影響を明らかにすることを目的とした。

実験：

測定試料は、(A) あらかじめ繊維形状変化のないことが確認された健常毛髪、(B) その髪にブリーチ処理を行った毛髪、(C) 洗髪とドライヤー乾燥によって繊維形状変化を引き起こしたブリーチ毛髪、であるが、(C) では繊維形状変化を引き起こしていない部位も存在するので、(D) として繊維形状変化を引き起こしていない毛髪部位も測定対象に含め、本実験に供した。まず各毛髪繊維をマイクロトームで $3\ \mu\text{m}$ の厚さで切片化し、毛髪断面サンプルを調整した。このように調整した毛髪切片について、あらかじめ切片厚と平滑性を 3D 顕微鏡にて測定した。その後、切片を赤外透過材料であるフッ化バリウム板にのせ、赤外顕微鏡 XY 試料ステージ上で透過測定を行った。赤外光は、必要な空間分解に応じて、アパーチャーにて領域を $5.0\ \mu\text{m}\times 5.0\ \mu\text{m}$ に制限して照射した。MCT 検出器を用い、測定波数範囲は $4000\text{--}700\ \text{cm}^{-1}$ とし、積算回数は 128 とした。文献[2,3]に従い、 $1700\text{--}1600\ \text{cm}^{-1}$ に含まれる複数のアミド I 振動子をカーブフィッティング解析にてピーク分離することでタンパク質の二次構造情報を解析した。分離ピークの中で α -ヘリックス構造に由来するピークの面積をアミド I バンド ($1700\text{--}1600\ \text{cm}^{-1}$) の総面積に対する相対値として求め、タンパク質二次構造のイメージマッピング図 (Fig.1) を作成した。

結果および考察：

Fig.1 の (A) および (B) から、ブリーチ処理を行った毛髪では α -ヘリックスの大きな減少はほとんど確認されなかった。さらに、(B) および (C) の比較からブリーチ後の洗髪処理によって繊維形状変化した毛髪では毛髪外周部から毛髪中心部にかけて不均一に α -ヘリックスが減少しているが、(C) および (D) の比較から繊維形状変化がない毛髪では α -ヘリックスの大きな減少は見られなかった。このことから、繊維形状変化の要因である交差状態での延伸は、構成タンパク分子鎖の繊維軸に対する配向を乱すと共に、構成タンパク質の α -ヘリックスを減少させるものと考えられる。従って、交差状態での延伸に伴い、タンパク質分子レベルの変化として毛髪の外周部から中心部にかけて不均一にタンパク質二次構造の変化が引き起こされていることが示唆された。

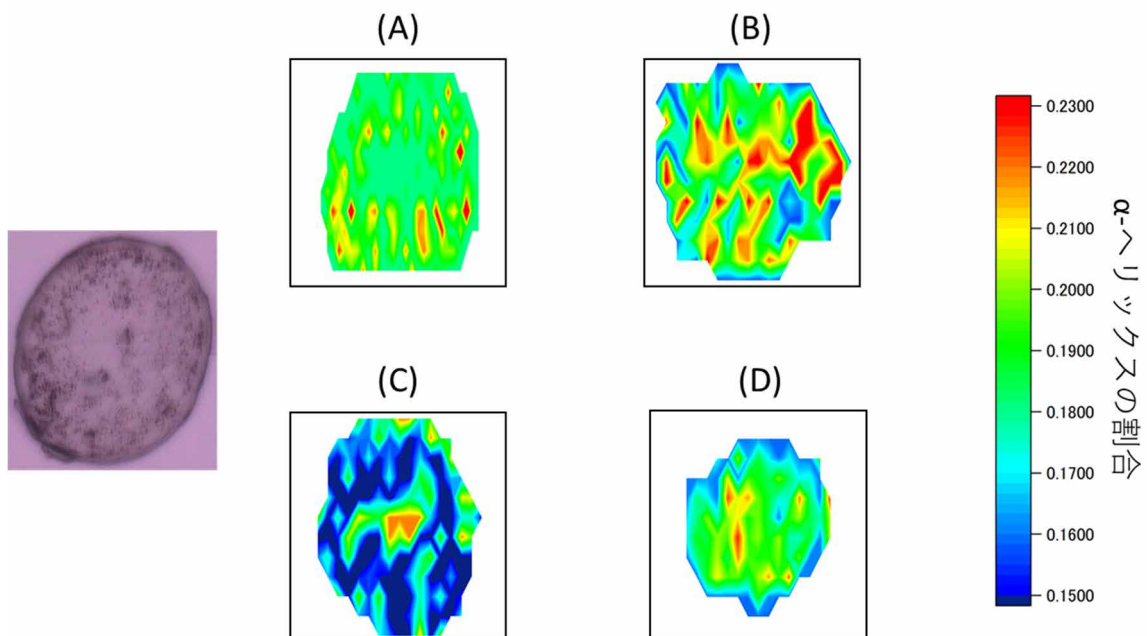


Fig.1. アミド I バンド ($1700\text{--}1600\ \text{cm}^{-1}$) の総面積に対する α -ヘリックス構造に由来する分離ピークの面積の相対値 (α -ヘリックスの割合) についてのイメージマッピング図。

(A) 健常毛髪 (B) 健常毛髪にブリーチ処理した毛髪 (C) ブリーチ後の洗髪・ドライヤー処理によって繊維形状変化が引き起こされたブリーチ毛髪 (D) ブリーチ後の洗髪・ドライヤー処理によって繊維形状変化が引き起こされていないブリーチ毛髪

今後の課題：

本研究ではブリーチ後の洗髪処理による繊維形状変化が引き起こされた毛髪における毛髪内部のタンパク質二次構造の変化を調べた。その結果、繊維形状変化が引き起こされた毛髪では毛髪の外周部から中心部にかけて不均一にタンパク質二次構造の変化が確認された。毛髪の繊維形状変化とタンパク質二次構造変化について、来期以降さらに検討を進めていく予定である。

参考文献：

- [1] L. Kreplak et al., *Biophys. J.*, **87**, 640–647 (2001).
- [2] 古田ら, 第 19 回日本蛋白質科学会年会, 2P161 (2019).
- [3] H. Yang, et al., *Nat. Protoc.*, **10**, 382–396 (2015).