

## 赤外顕微マッピング法を用いた熱処理による 毛髪内タンパク質構造変化の解析

### The Effect of Protein Structure in Hair during the Heat Treatment Using Infrared Microspectroscopy.

馬場 淳史, 菅原 達郎, 鈴田 和之, 小林 和樹, 藤原 暢之, 渡邊 紘介, 伊藤 廉  
Atsushi Baba, Tatsuro Sugawara, Kazuyuki Suzuta, Kazuki Kobayashi, Nobuyuki Fujiwara,  
Kousuke Watanabe, Len Ito

(株)ミルボン  
Milbon Co. Ltd.

毛髪にヘアアイロンやドライヤーをはじめとした熱処理に施すことによって、美しさが損なわれているという実感を消費者は得ている。我々は、熱処理によって生じている毛髪内部の化学組成の変化を明らかにするため、顕微 IR マッピング測定を行った。種々の解析を行った結果、熱処理による毛髪内のカルボニル化の進行とタンパク質の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：

毛髪を美しく保ちたいという欲求は、世界共通で存在している。しかし、パーマやヘアカラーなどの美容施術によって生じるダメージや、紫外線、ヘアアイロンまたはドライヤーなどの環境や日々の美容行動の中で受けるダメージ、さらに加齢に伴う組織構造の変化によって、毛髪的美しさが損なわれているという実感を消費者は得ている。そのため、このような毛髪ダメージや加齢変化を改善し、髪的美しさを保つ消費者ニーズに対応するため、様々な科学的手法を用いた毛髪研究や製品開発が進められている。

我々はこれまで、ヘアアイロンやドライヤーなどによる熱付加に伴う毛髪の変化に着目し、研究を進めてきた。例えば、毛髪繊維の力学測定から熱付加による初期弾性率の低下を確認し、熱が直接当たる毛髪表面だけでなく、毛髪内部までダメージが進行していることを確認した。さらに内部の状態の変化を調べるため、毛髪の約 85%を構成するケラチンタンパク質に着目し、温度変化によって生じる変性や凝集に着目した研究を継続的に行ってきた[1-3]。例えば、温度変化によって引き起されるタンパク質の変性や凝集の際に生じる二次構造の変化について、HiSOR の放射光を用いた真空紫外円二色分散計により測定を行ってきた。[4]しかし、この手法は溶液状態の試料でしか測定できないといった課題があり、還元剤などを用いて毛髪から抽出したタンパク質を用いる必要があった。そのため、毛髪内部のタンパク質の構造をそのまま捉えているとは言い難い。

そこで本研究では固体状態の毛髪分子構造を非侵襲的に調べることのできる赤外分光(IR)法に着目した。我々は以前に、毛髪内部においてタンパク質の集積度合いの差を可視化する実験手法を確立してきており(2014A1563, 2014B1591)、年齢に伴う毛髪内タンパク質の集積構造の変化を明らかにしてきた[5]。本研究では熱付加による力学特性の変化が引き起こされた毛髪における内部の分子構造の変化を明らかにすることを目的とした。

#### 実験：

事前に、熱付加による力学特性の変化が引き起こされた毛髪を選定し、本実験に供した。まず各毛髪繊維をミクロトームで 3  $\mu\text{m}$  の厚さで切片化し、その断面に対して 5 $\times$ 5  $\mu\text{m}^2$  のアパーチャーサイズでマッピング測定を行った。得られたスペクトルに対してベースライン処理を行った後、毛髪中のタンパク質由来のアミドI (アミド結合中の C=O)の吸収ピーク 1650  $\text{cm}^{-1}$  と、カルボニル基(C=O)の吸収が主に含まれる 1700  $\text{cm}^{-1}$  の吸光度を求めた。カルボニル基量の増減を評価する上で毛髪の厚みの影響を除くために、アミドIの吸光度に対するカルボニル基の相対吸光度を求め、

カルボニル基量に関するマッピング画像(Fig.1)を作成した。また、文献[6]に従い、 $1700\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ に含まれる複数のアミド I 吸収帯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  $\alpha$  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マッピング画像(Fig.2)を作成した。

### 結果および考察：

Fig.1 から、熱付加によって毛髪表面だけでなく、毛髪内部までタンパク質のカルボニル化が進行していることが分かった。さらに Fig.2 より、熱付加前の毛髪に比べて、熱付加後の毛髪では  $\alpha$  ヘリックスの割合が毛髪内部において部分的に減少していることから、毛髪内部のタンパク質の二次構造が熱付加によって変化していることと考えられる。従って、熱付加による力学物性の変化に伴って、タンパク質分子レベルの変化としてカルボニル化の進行と二次構造の変化が引き起こされており、これらの変化が毛髪ダメージに関与していると示唆された。

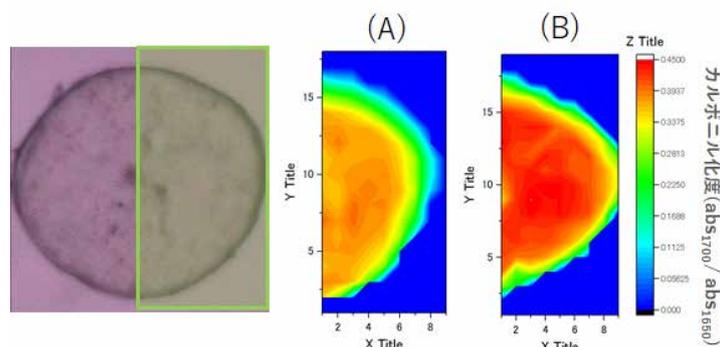


Fig.1. アミドI(C=O)( $1650\text{ cm}^{-1}$ )の吸光度に対する、カルボニル基(C=O)由来( $1700\text{ cm}^{-1}$ )の相対吸光度についてのマッピング画像。(A)ブランク (B)熱付加後の毛髪

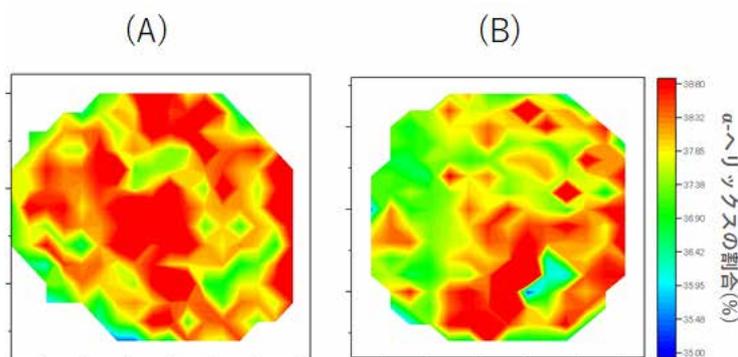


Fig.2. アミドIバンド( $1700\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ )の総面積に対する  $\alpha$  ヘリックス構造に由来する分離ピークの面積の相対値( $\alpha$  ヘリックスの割合)についてのマッピング画像。(A)ブランク (B)熱付加後の毛髪

### 今後の課題：

本研究では熱付加による力学特性の変化が引き起こされた毛髪における内部の化学組成の変化を調べた。その結果、熱付加による毛髪内のカルボニル化の進行とタンパク質の二次構造の変化が確認された。これらの分子構造変化を効果的に改善する手法について、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] Y. Okamoto et al., *The 23th Society for Biotechnology*, Fukuoka, Japan (2016).
- [2] M. Furuta et al., *The 4rd Asia-Pacific Conference on Life Science and Engineering*, Hanoi, Vietnam (2017).
- [3] A. Baba et al., *The 55th Annual Meeting of the Biophysical Society*, Kumamoto, Japan (2017).
- [4] R. Adomi et al., *Joint Annual Meeting of 71<sup>st</sup> JSCB & 19<sup>ST</sup> PSSJ*, Kobe, Japan (2019).
- [5] K Watanabe et al., *PEPTIDE SCIENCE 2020*, 163–166 (2021).
- [6] H. Yang, et al., *Nat. Protoc.*, **10**, 382–396 (2015).