

2021B1710

BL43IR

ヒト毛髪におけるグリオキシル酸の分布に対する切断条件の影響 Influence of Slice Condition on the Distribution of Glyoxylic Acid in Human Hair

宇山 允人, 岡部 真也
Makoto Uyama, Sinya Okabe

株式会社資生堂
Shiseido Company Limited

毛髪の形状変形を伴う毛髪処理剤として汎用されているグリオキシル酸 (GA) について、SPring-8 BL43IR に設置された顕微赤外分光 (IR) 装置を用いて、毛髪切片作製方法による毛髪内部の GA の分布の影響を検証した。切片作製には氷包埋法と樹脂包埋法を用いた。結果、GA の分布に切片作製方法による影響は見られなかった。

キーワード： グリオキシル酸、顕微 IR、毛髪

背景と研究目的：

グリオキシル酸 (GA) はヘアケア製品のストレートパーマ剤として汎用されているが、GA 単独もしくは浸透促進剤を併用した際の、縮毛矯正効果の詳細な作用機序は未だ不明である。浸透促進剤であるグルコノデルタラクトン (GDL) を組み合わせることで GA が毛髪内部のどこまで浸透しているか、その分布を解明することは、よりよいストレートパーマ剤を開発する上で重要である。この解析のため毛髪の断面での GA 分布解析が有効であるが、マッピング分析の手法の中では、空間分解能的には軟 X 線顕微鏡や Nano-SIMS (二次イオン質量分析) が優れているが、GA が炭素、水素、酸素から構成される非常に単純な構造であるため、GA を自然界にはほとんど存在しない同位体ラベル化しない限り、GA 由来の信号を捉えることは困難である。一方 IR は、官能基に関する情報を高感度にかつ非破壊で得るのに優れた手法である[1, 2]。ヒト毛髪の直径は 100 μm 程度であるのに対し、実験室系の顕微 IR 装置の分解能は 20 μm 程度と十分な分解能を有しておらず、毛髪内に存在する微量の GA を検出するには輝度も不足している。一方、SPring-8 BL43IR に設置された顕微 IR 装置は空間分解能 5 μm 、高輝度と優れた性能を有しており、毛髪内部浸透成分の解析に用いられた実績がある[3]。以上の観点から、GA を特定する手法として IR がふさわしく、かつ空間分解能の観点から放射光を使うのが適切である。以前の我々の研究 (課題番号 2019B1682、2020A1636) では SPring-8 BL43IR に設置された顕微 IR 装置を用いて毛髪内部の GA の分布と GDL による GA の浸透促進効果を IR 吸収スペクトルから検証した[4, 5]。その際の結果は GDL による GA の毛髪への浸透促進効果は確認できたが、メデュラのみ局限しているというものであった。しかしこれは毛髪切片を氷包埋法で作製していたため、切片作製時に GA が水に溶出した可能性があった。そこで本研究では毛髪切片作製方法による毛髪内部の GA の分布の影響を検証することを目的として実験を行った。

試料：

ヒト毛髪表面に付着した化学物質を除去するために、実験前にシャンプーで洗浄し、ヘアドライヤーで乾燥させた。これを対照試料 (GA 未処理毛, Control) とした。その後、毛髪を 5% GA 水溶液、5% GA + 3% GDL 水溶液に 37 $^{\circ}\text{C}$ で 10 分浸漬させたのちに、表面の水を濾紙で十分にふき取り、12 時間乾燥させた。これらをそれぞれ GA5%処理毛、GA5%+GDL3%処理毛とした。これら三つの毛髪試料を以下の二種類の方法で切片化した。①氷包埋法。マイクロトーム (Thermo Scientific Microm HM325 Rotary Microtome、ガラスナイフ) を用いて水で包埋させ、-20 $^{\circ}\text{C}$ で 6 μm の厚さに切断した。②樹脂包埋法。毛髪を置いたシリコン包埋板に Technovit 7100 溶液を流し込み、40 $^{\circ}\text{C}$ 24 時間で硬化させた。マイクロトーム (Leica EM UC7、ガラスナイフ) を用いて室温で 6

μm の厚さに切断した。切断した毛髪はフッ化バリウム板に載せ、顕微 IR の試料台に設置した。

実験条件：

SPring-8 (Hyogo, Japan) の BL43IR に設置された顕微 IR 分光光度計 (VERTEX 70 and Hyperion 2000, Bruker) を用いてフーリエ変換赤外分光 (FT-IR) 測定を行った。蓄積リングからの IR ビーム径はアパーチャーを用いて $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ まで絞った。IR 吸収スペクトルは波数 $600\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$ の範囲を分解能 4 cm^{-1} 、64 回積算、XY 軸方向 $2 \mu\text{m}$ 刻みで測定した。得られたデータは分光測定データ解析ソフトウェア OPUS を用いて解析した。

結果および考察：

GA の存在を調べるためには毛髪由来の吸収帯と重ならない波数位置に現れるピークに着目する必要がある。毛髪由来の吸収帯としては、毛髪最内部メデュラには脂質が豊富に存在することが報告されており [1,6]、脂質のアルキル鎖 ($-\text{CH}_2$) に由来する吸収帯が $2800\text{--}3000 \text{ cm}^{-1}$ 付近に現れる。またアミド I の α -ヘリックス構造中のポリペプチド鎖の振動に由来する吸収帯が 1650 cm^{-1} 付近に、アミド I の β -シート構造中のポリペプチド鎖の振動に由来する吸収帯が 1630 cm^{-1} 付近に現れ、共にメデュラやコルテックスで強度が強いことが知られている [2]。さらに、アミド II の α -ヘリックスの振動に由来する吸収帯が 1550 cm^{-1} 付近に現れ、アミド II の β -シート構造中の振動に由来する吸収帯が 1520 cm^{-1} 付近に現れることが知られている [1]。Figure 1 に GA 一水和物の ATR FT-IR スペクトルを示す。上述の毛髪由来の吸収帯と重ならないピークとして GA は $\text{C}=\text{O}$ 伸縮モードの吸収帯に由来するピークを 1724 cm^{-1} 付近に有しているため、本研究ではこのピークに着目している。Figure 2 に代表的な毛髪切片の画像と Line スキャンのイメージを示す。Figure 3 に得られた IR スペクトルの結果を示す。全てのスペクトルは毛髪最内部 (メデュラ) から外周部 (キューティクル) に向かって、 $2 \mu\text{m}$ 刻みで示している。キューティクルはメデュラやコルテックスとは明らかに異なるスペクトルになっているが、これはビーム径が $5 \mu\text{m}$ であるため、毛髪の外周部の縁ではキューティクルだけでなく、バックグラウンドの信号まで拾ってしまっているためであると考えている。Figure 3(a), (b), (d), (e) には GA の $\text{C}=\text{O}$ 伸縮モードに由来する吸収帯ピークが確認できないが、Figure 3 (c) と (f) では 1734 cm^{-1} 付近に特にメデュラ付近に認めることができる。GA 一水和物のときと比べて吸収帯ピーク位置が 10 cm^{-1} 高波数シフトしているが、その理由として以下の二つが考えられる。一つは ATR と透過の測定手法による違い、もう一つは GA の水和状態による違いである。 1734 cm^{-1} の吸収帯ピークは、ケトン ($\text{C}=\text{O}$) が水素結合を形成していない場合に特徴的であると言われている。メデュラは脂質を多く含む疎水的な構造であるため、メデュラに存在する GA は水和されていない可能性が考えられる。また同じ処理条件でも観察する毛髪によって多少ピークの強度に差はあるものの、今回の結果から包埋法の違いによる GA の毛髪内部の分布に影響はないことが確かめられた。

まとめ：

毛髪内部の GA の分布に対する切片作製方法の影響について顕微 IR 法を用いて評価した。以前の我々の研究 (課題番号 2019B1682、2020A1636) では、氷包埋法を用いて切片を作製し、GA が特にメデュラに存在すること、GDL による GA の浸透促進効果が確認できていた。氷包埋法では切片作製時に GA が特にコルテックスやキューティクルから溶出する可能性が考えられたため、今回 Technovit 7100 を用い樹脂包埋法による比較検証を行った。結果、切片作製方法による影響はないことが明らかとなった。今後、浸透経路及び浸透促進メカニズムの解明などを行っていく予定である。

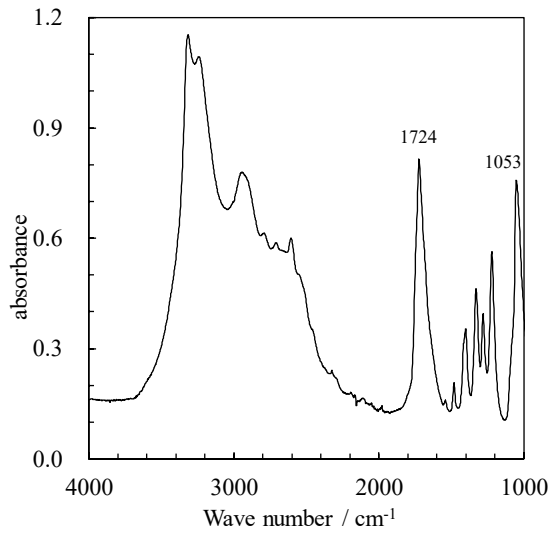


Figure 1. IR spectrum of GA monohydrate in the wave number range of 1000–2000 cm⁻¹.

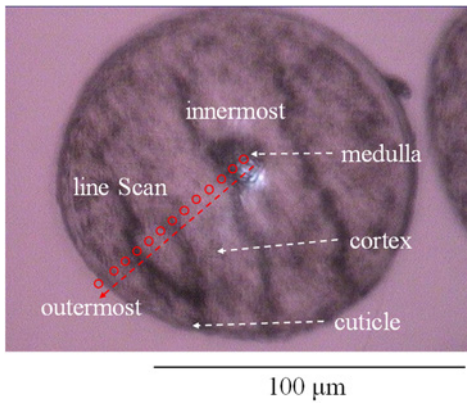


Figure 2. The image of cross-section of a hair.

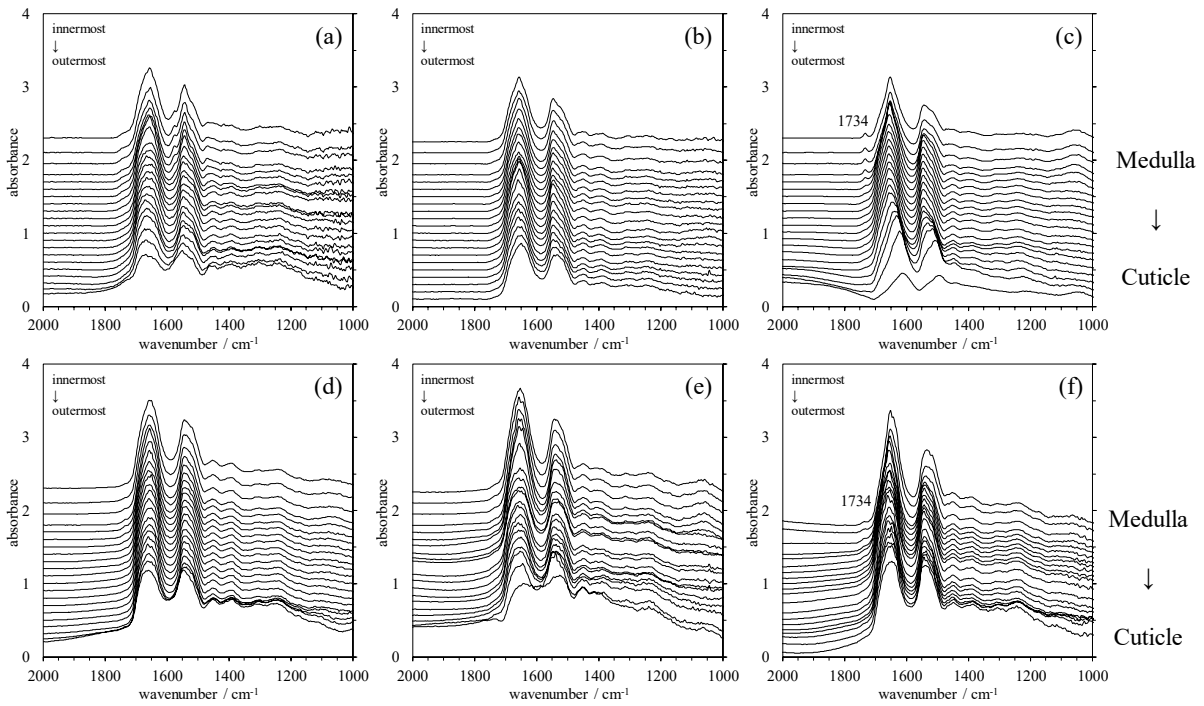


Figure 3. IR spectra of (a) control embedded in ice, (b) GA5% embedded in ice, (c) GA5%+GDL3% embedded in ice, (d) control embedded in Technovit 7100, (e) GA5% embedded in Technovit 7100, and (f) GA5%+GDL3% embedded in Technovit 7100 hairs in the wave number range of 1000–2000 cm⁻¹.

Reference :

- [1] G. Zhang *et al.*, *J. Biomed. Opt.*, **16**, 056009 (2011).
- [2] L. Kreplak *et al.*, *Biophys. J.*, **87**, 640 (2004).
- [3] S. Inamasu *et al.*, SPring-8/SACLA 利用研究成果集, **3**, 388 (2015).
- [4] M. Uyama *et al.*, SPring-8/SACLA 利用研究成果集, **9**, 162 (2021).
- [5] M. Uyama, S. Okabe, SPring-8/SACLA 利用研究成果集, **9**, 237 (2021).
- [6] T. Takahashi, S. Yoshida, *Lipids*, **49**, 905 (2014).

(Received: December 24, 2021; Accepted: August 15, 2022; Published: October 31, 2022)