

毛髪 of X線 CT

— 走査型位相差 X線顕微鏡による毛髪内部観察 —

ラインハルト株式会社 岩本佳倫

1. はじめに

ブリーチ、ヘアカラー、パーマなどの化学処理、紫外線、ドライヤーの熱やブラッシング等の様々な刺激により毛髪は損傷し、内部構造が破壊されて空洞化するといわれている。このような空洞化という微細な構造変化を捉える手法としては、透過型又は走査型電子顕微鏡やAFMに代表される走査型プローブ顕微鏡などが使われている。しかしながらこれら解析手法は、毛髪試料の固定化・薄膜切片作製・染色等の煩雑な前処理をする必要があり、生体にある毛髪の真の姿を捉えているかは疑問である。従って、毛髪内部の微細構造を切片処理などする事なく、そのままの状態を観察する手法の開発は、種々の刺激により生じる損傷毛髪の実像を把握する事ができ、毛髪損傷のメカニズムや損傷によって生ずる毛髪物性変化を解明し、消費者が望む効果の高い毛髪ダメージケア商材を開発する上で重要な技術であると考えられる。

一方、医療現場などにみられるように、非破壊観察手法としては、X線撮影やX線CT等があるが、たんぱく質を主体としたソフトマテリアルであり、ナノオーダーまでの微小領域まで解析する必要がある毛髪では、その構造を把握するだけの吸収X線による十分なコントラストを得る事は困難であると考えられる。

そこで本研究では、Spring-8 BL20XUにおいて、構造間の密度差が非常に小さい試料でも、その位相変化を捉える事で高いコントラストを得る事ができる走査型X線位相差顕微鏡を利用し、切片作成等の前処理をすることなく日常状態のまま毛髪内部の微細構造を推察する手法として、毛髪のX線CT撮影を試みた(2006B期)。更に、得られた2次元画像から、3次元化を行う事で、損傷により生じた空洞の立体構造解析の可能性について検討した(2007A期)。

2. 材料

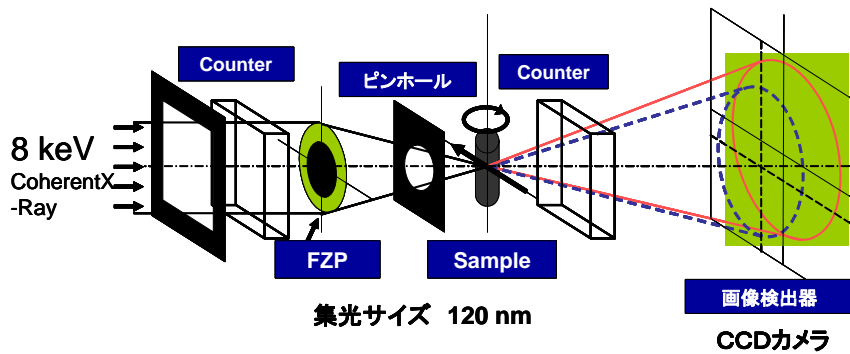
ヘアカラーやパーマなどの美容処理経験のない直径約60~70 μm の日本人女性のヴァージン毛を使用した。損傷モデル毛としては、ヴァージン毛をパーマ処理(アルカリ存在下でチオグリコール酸アンモニウムにて還元処理した後、臭素酸ナトリウムにて酸化処理)、またはブリーチ処理(アルカリ存在化で、過酸化水素処理)した毛髪を使用した。

3. 二次元観察の検討(2006B期)

3-1. 実験方法

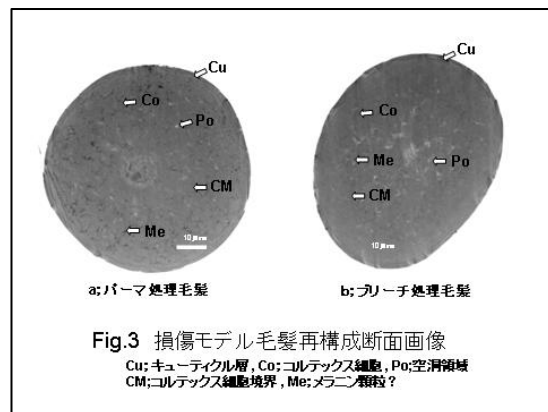
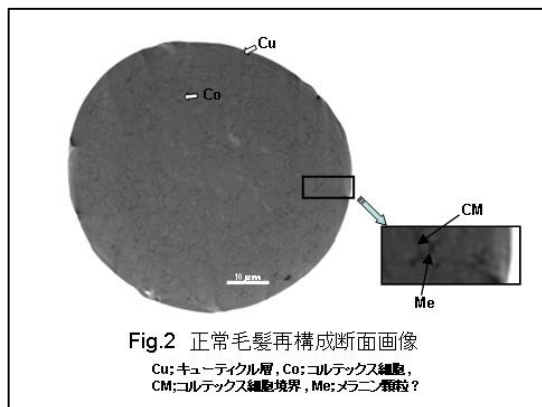
走査型X線位相差顕微鏡は、Spring-8のBL20XUにて光学系を組み立て測定した(Fig1)。測定方法は、材質Ta、直径155 μm 、最外幅0.1 μm のフレネルゾーンプレート(FZP)を利用して得られたスポット径約120nmのマイクロビームX線(8keV)を、露光時間80msecで照射しながら毛軸に対し赤道方向に0.2 μm 間隔で走査し、照射部の位相像をCCDカメラにより得た。更に、毛軸を中心に毛髪を回転させ、半周180度を300投影し、得られた投影位相像を再構成して毛髪断面二次元画像(Slice画像)を得た。

Fig. 1 走査型X線位相差顕微鏡光学系装置図(BL20XU)



3-2. 結果

Fig. 2にはパーマやブリーチなどの処理をしていない正常毛髪の結果を示した。外側のキューティクル部位と内側のコルテックス部位 (Co) を明確に捉えている。又、キューティクル領域内の層構造 (Cu) 及び細胞膜複合体と思われるコルテックス細胞間の境界 (CM) も明瞭に捉えている。更に、メラニン (Me) と思われる顆粒状の高密度領域も捉えている。Fig. 3 に損傷毛髪としてパーマ処理した毛髪 (a)、ブリーチ処理した毛髪 (b) の結果を示した。共にコルテックス細胞間の境界 (CM) が正常毛髪に比し不明瞭になっており、損傷によって生ずる空洞化 (Po) と思われる低密度領域が点在しているのがわかる。又、ブリーチ処理毛髪では、メラニンと思われる顆粒上の領域が低密度化しているのがわかる。



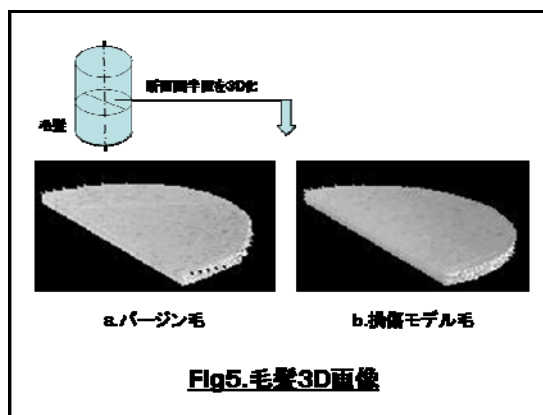
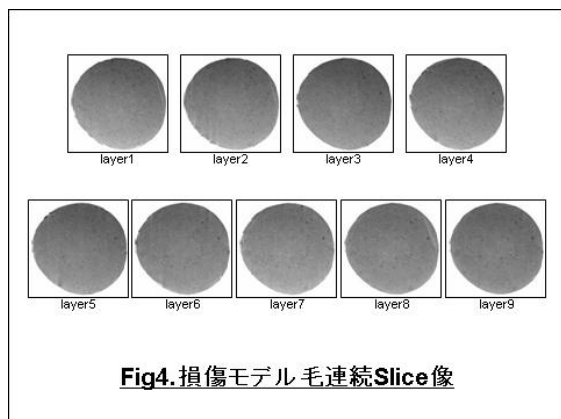
4. 三次元化の検討 (2007A 期)

4-1. 実験方法

装置および方法は前述と同様に行ったが、前述では、1 測定点毎に移動ステージを停止する stepped acquisition 法により測定していた為に、1 秒あたり 5 点程度の走査しかできず、1 枚の断面画像を取得するのに約 20 時間を要していたが、この実験では、測定時間短縮化の為に、並進ステージ停止を必要としない continuous-acquisition 法に改良し、一点あたりの露光時間 20msec とし、1 秒あたり 25 点まで走査できるようになったことで測定点数、信号量を減らすことなく測定時間を約 1/5 に短縮した。更に、同様の測定を毛軸に対し水平方向に 0.2 μm 間隔で行い、8 ~ 10 層の連続した Slice 画像を取得し、得られた画像から 3D 画像を再構成した。

4-2. 結果

Fig. 4に、損傷モデル毛の $0.2\mu\text{m}$ 間隔の連続した9層のSlice画像を示す。ヴァージン毛髪も同様に連続した8層のSlice画像を取得した。更に、Fig. 5では、各々の毛髪から得られた連続Slice画像を基に再構成した三次元画像を示す。



5. 考察

今回、毛髪切片作成等の前処理をする事なく、日常状態のまま毛髪内部構造観察する手法として走査型X線位相差顕微鏡を応用した毛髪のX線CT撮影の可能性を検討した。これは、フレネルゾーンプレートにより得られたマイクロビームX線を、毛髪上を走査しながら照射し、試料の構造由来のX線の屈折等により得られる位相変化像から、内部構造画像を得るものである。今回の実験により得られた画像からは、コルテックス細胞間の境界であるCMCやメラニンと思われる部位が捉えられた。又、コルテックス細胞境界の不明瞭化や空洞化現象と推察されるような領域の存在など、損傷による様々な微細構造変化を捉える事ができ、本手法が、毛髪切片作成等の前処理をする事なく、日常状態のまま毛髪内部を捉える手法として有効である事が示唆された。更に、損傷により生じた空洞の立体構造を捉えるべく、得られたスライス画像から、3D画像の取得を試みたが、2006B期では1枚のスライス画像取得に20時間要していたのが、2007A期では、その1/5の4時間程度となったものの、構造変化を論じる為の立体画像を得る為には、最低数百枚のスライス画像の取得が必要であり、更なる画像取得時間の短縮化が望まれる。

6. 謝辞

本テーマを遂行するにあたり、共同研究者として御尽力いただいた、財団法人高輝度光科学センターの鈴木芳生様、竹内晃久様、上杉健太郎様ならびにラインハルト株式会社の関係各位に感謝致します。

7. 問合せ先

ラインハルト株式会社 研究開発部 岩本佳倫
TEL : 03-3231-3633 FAX : 03-5299-0435
E-mail : y-iwamoto@reinhalt.co.jp