

# タンパク質科学に基づいた加齢毛髪の研究 —放射光を利用した毛髪用化粧品の開発—

SPring-8 ヘルスケア研究会 (第15回)

(株)ミルボン 中央研究所  
伊藤 廉

# 演題内容

- 市場情報（頭髪化粧品市場）
- 加齢に伴う“毛粗しょう”の発見
- 基礎研究と応用研究（開発）
- まとめ

# 演題内容

- 市場情報（頭髪化粧品市場）
- 加齢に伴う“毛粗しょう”の発見
- 基礎研究と応用研究（開発）
- まとめ

# 市場情報(頭髪化粧品市場)

頭髪化粧品の市場規模:約4400億円 (2012年)

パブリック市場: ドラッグストアやスーパーで購入することができる

プロフェッショナル市場: 美容室専売 (弊社に該当)

弊社の売り上げ:約250億円  
(美容室専売メーカーとして国内トップ)

美容師さん、代理店さんとの対面販売の為、  
ソフト情報(エビデンス)が必要

人口動態の高齢化に向けた社会ニーズに  
対応した研究が求められている

# 演題内容

- 市場情報(頭髪化粧品市場)
- 加齢に伴う“毛粗しょう”の発見
- 基礎研究と応用研究(開発)
- まとめ

# 外見の違いと年齢



20代



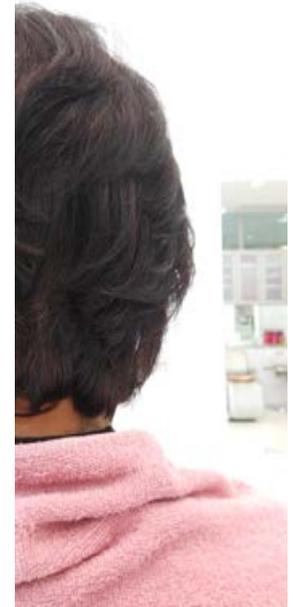
30代



40代



50代



60代

## 加齢に関する報告

加齢に伴う「うねり毛」の発生とそれに伴う毛髪のツヤの低下 [1]

毛髪の細毛化 [2]

システインの減少 [3]

脂質組成の変化 [4]

毛髪水分量の低下 [5]

[1] S. Nagase *et al.*, *J. Cosmet. Sci.*, **60**, 637. (2009).

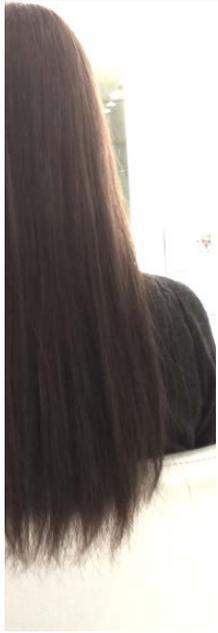
[2] 荻野正春ら, *皮膚と美容*, **40**, 33. (2008).

[3] A. Kuzuhara *et al.*, *Biopolymers* **87**: 134. (2007).

[4] Y. Masukawa *et al.*, *J. Cosmet. Sci.*, **56**, 1. (2005).

[5] 西村桂一ら, *日本化粧品学会誌*, **13**, 134. (1989).

# 外見の違いと年齢



20代



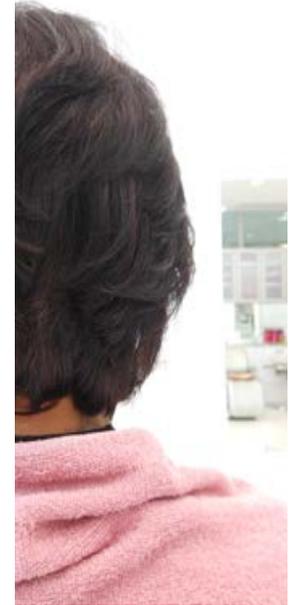
30代



40代



50代



60代

生体物質では？

肌年齢、骨年齢、etc. → 毛髪年齢の数値化(簡便)

年齢と共に髪が軽くなるよね。(美容師さんの声)

→ 密度の変化が起こっている？

# 毛髪の密度測定( $\text{g}/\text{cm}^3$ )

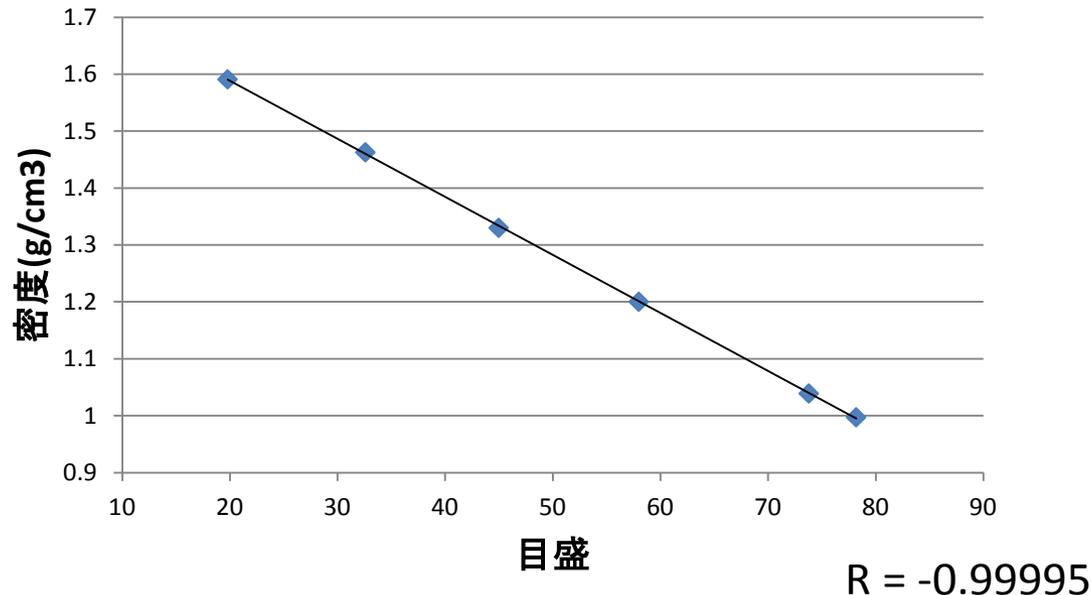
毛髪の密度測定は、1970年代以降行われていない。

Yin N., et. Al., *J. Soc. Cosmet. Chem.*, (1977)

- X線小角散乱とDSCから密度を定義
- 髪の膨潤と流出するタンパク量から密度を定義

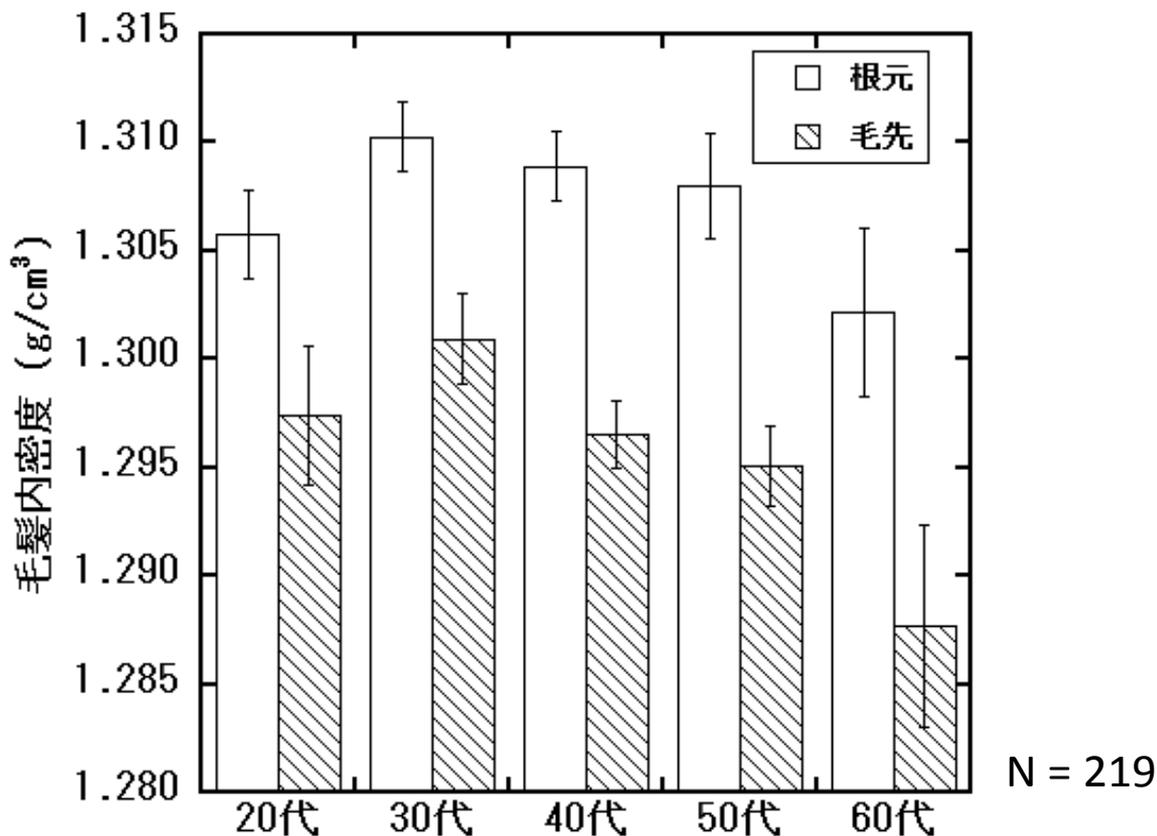


厳密な密度測定( $\text{g}/\text{cm}^3$ )は行われていない！



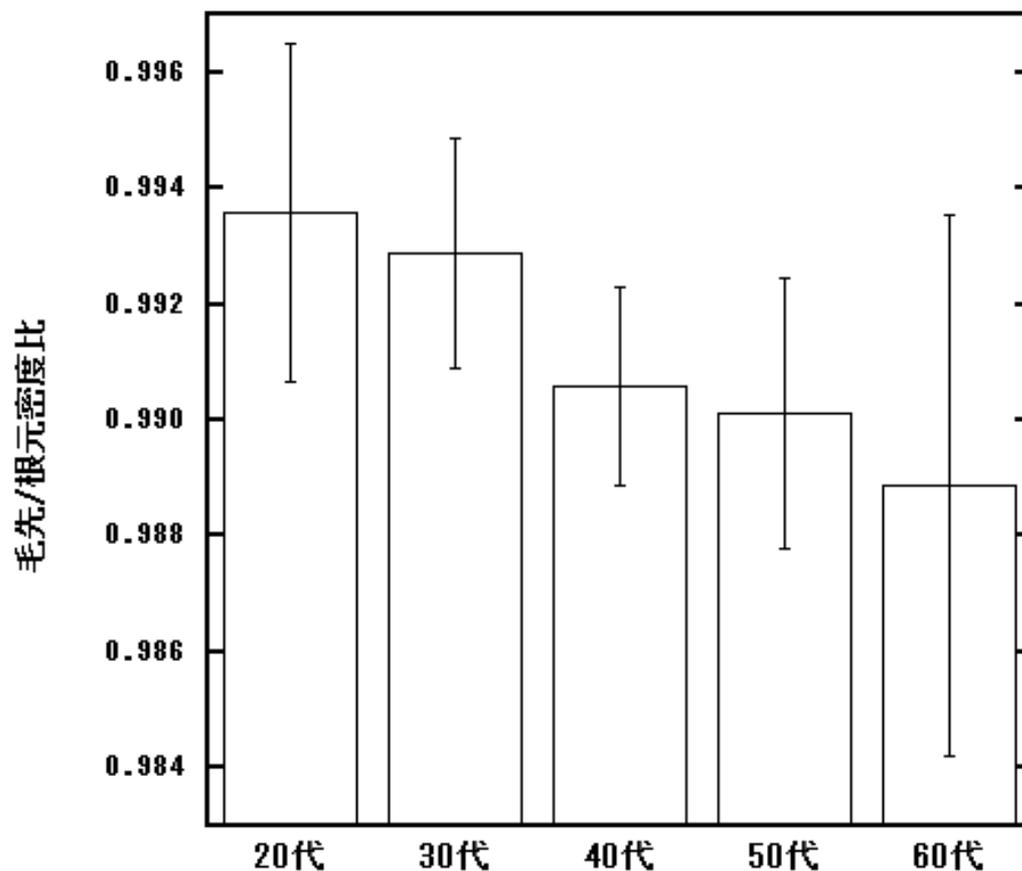
# 加齢に伴う毛髪内密度の変化 ~その①~

根元:新生部分  
毛先:根元から25-30 cm部分



- ・ 30代をピークに毛髪内密度が減少する
- ・ ダメージ(毛先)によって毛髪内密度が減少する

# 加齢に伴う毛髪内密度の変化 ~その②~



30代を境に毛髪内密度が減少しやすくなる  
= 毛粗しょうを起こしやすくなる

= 骨と同じように加齢現象は生体内でリンクする

# 演題内容

- 市場情報(頭髪化粧品市場)
- 加齢に伴う“毛粗しょう”の発見
- **基礎研究と応用研究(開発)**
- まとめ

# エイジングの深掘り

毛粗しょうという現象と数値化は分かったが、、、



20代



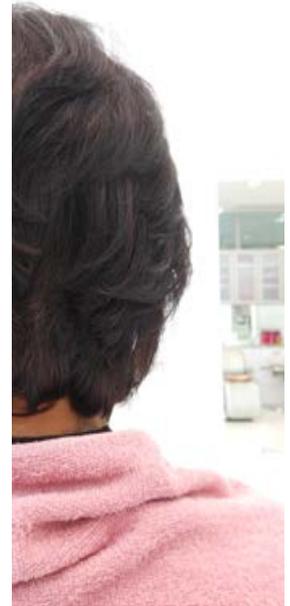
30代



40代



50代

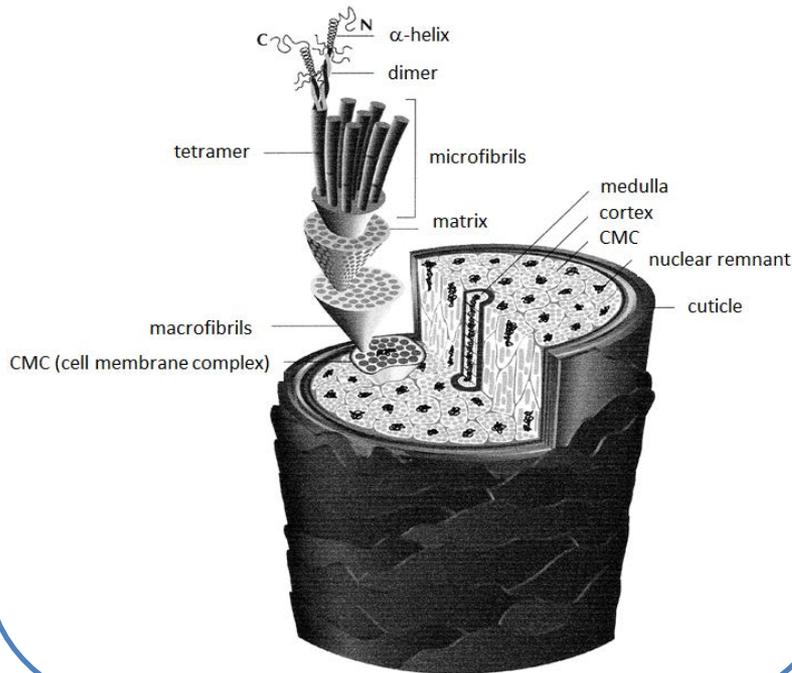


60代

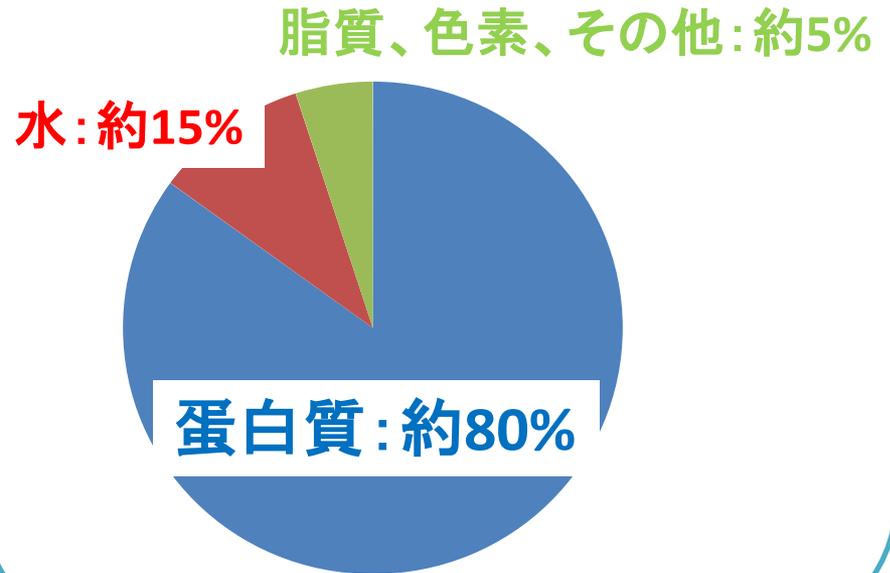
加齢に伴う内部変化を知りたい

# 研究ターゲット

## 毛髪の階層構造



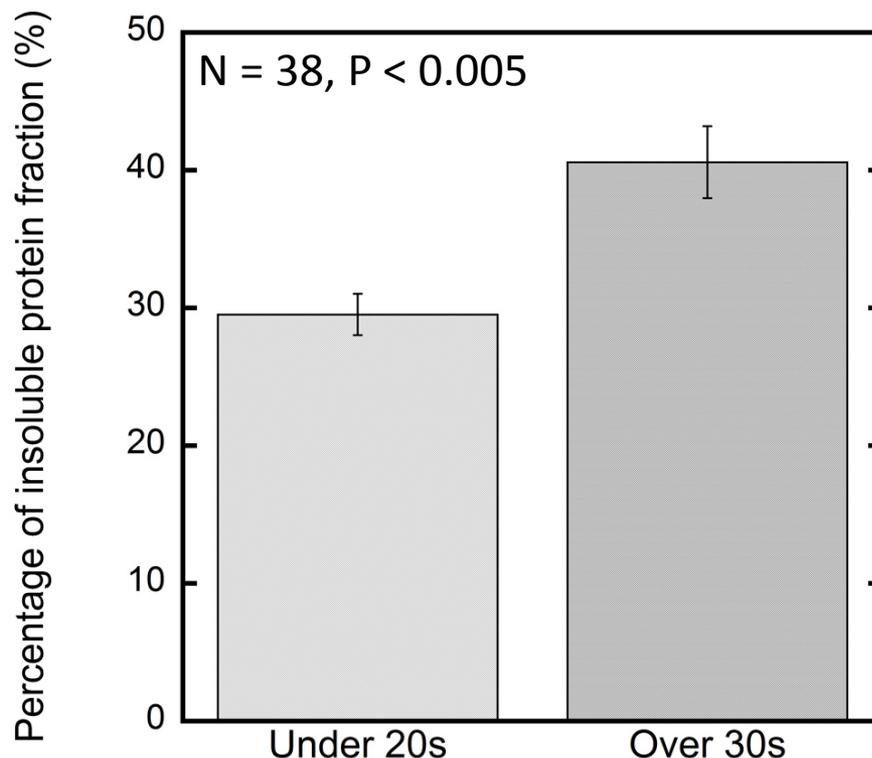
## 毛髪の構成成分



毛髪の主要構成成分である蛋白質に着目し研究をスタート

# 加齢による毛髪内蛋白質の分析

実験： 毛髪から蛋白質を抽出し、その構成差を考察



## 溶出条件

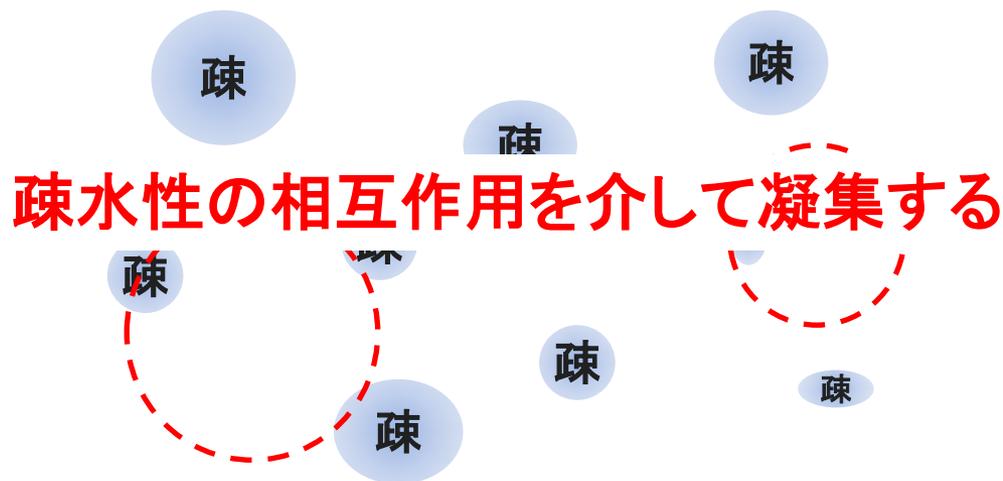
8 M urea,  
50 mM 2-mercaptoethanol,  
50 mM Tris-HCl (pH 8.5),  
50°C, 2 days

## 塩析条件

40% ammonium sulfate  
50 mM Tris-HCl (pH 8.5)

加齢と共に、  
毛髪内から流出してくる蛋白質の溶解度が低くなっている(疎水化)

# 蛋白質溶液論における ～蛋白質の疎水性領域の効果～



戦略：疎水性領域を遮蔽して、衝突頻度を落とす

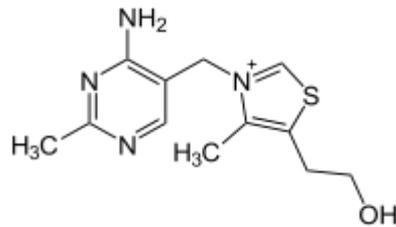
ターゲット分子の選択

解析装置の選択

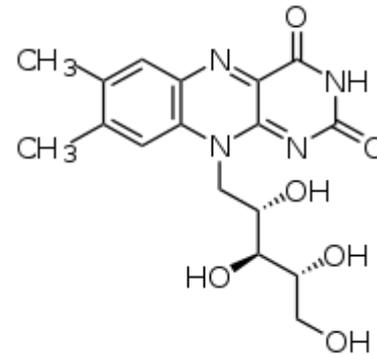
戦略

# ターゲット分子の選定

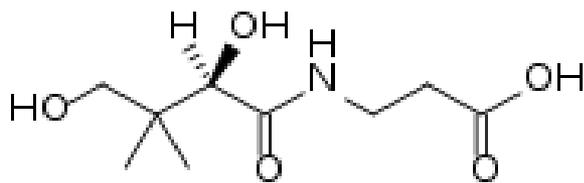
戦略： 天然成分(安全)で疎水性部に吸着しやすく、親水基を有する分子



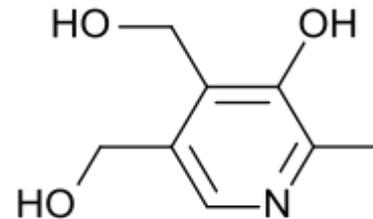
thiamine (vitamin B1)



Riboflavin (vitamin B2)



pantothenic acid (vitamin B5)



pyridoxin (vitamin B6)

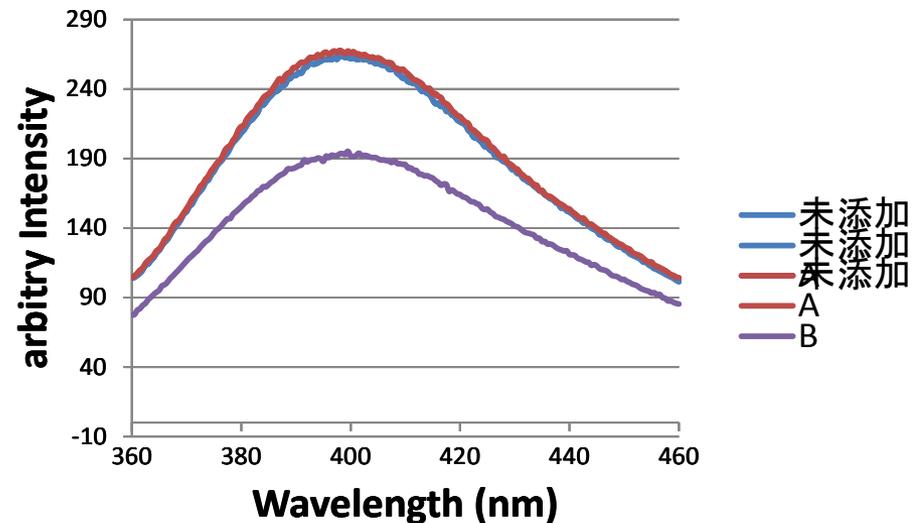
ビタミンB群に焦点を当てた

# 装置の選択

ケラチンの疎水性部を見積もることのできる装置

II

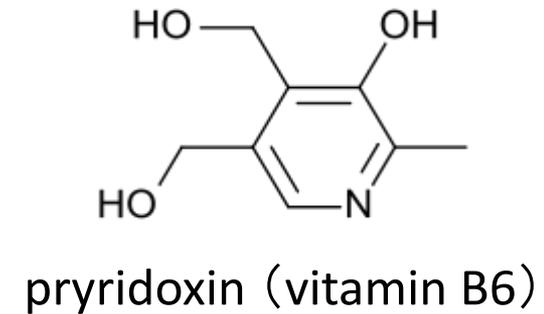
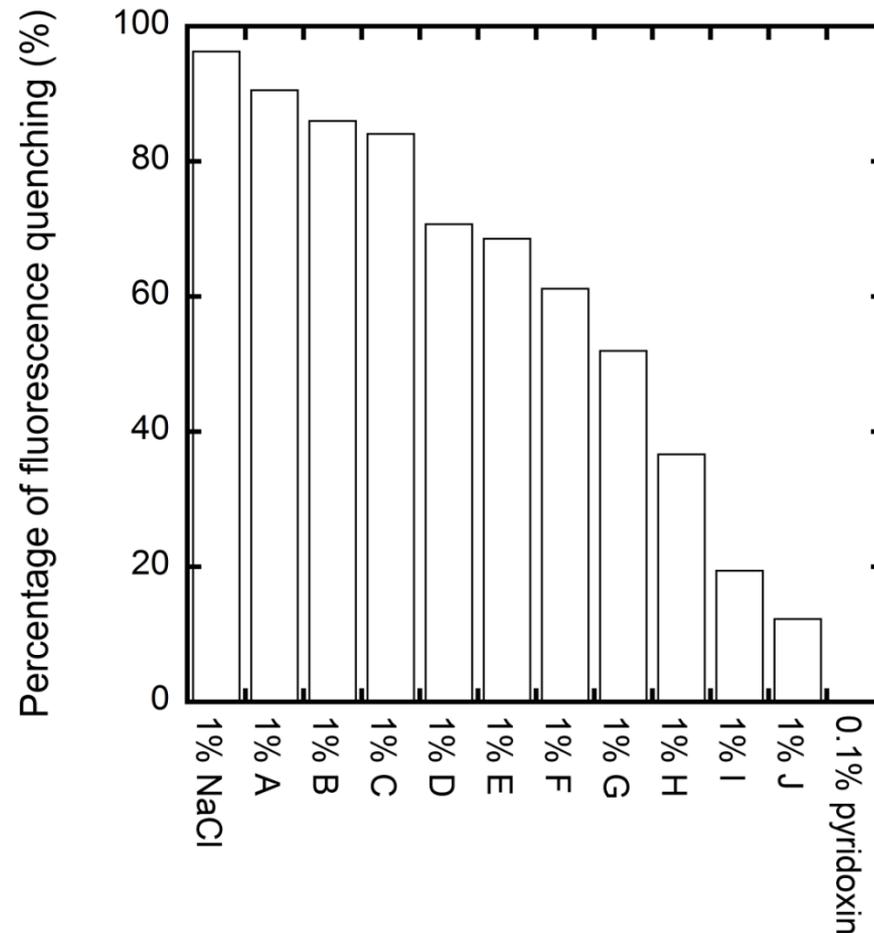
測定が簡単で、早くて、安い！！



添加剤A, 蛋白質の疎水部に付かないもの  
添加剤B, 蛋白質の疎水部に付くもの

# 蛍光スペクトル

実験： ビタミンB群添加における毛髪内蛋白質(ケラチン)の蛍光スペクトル測定

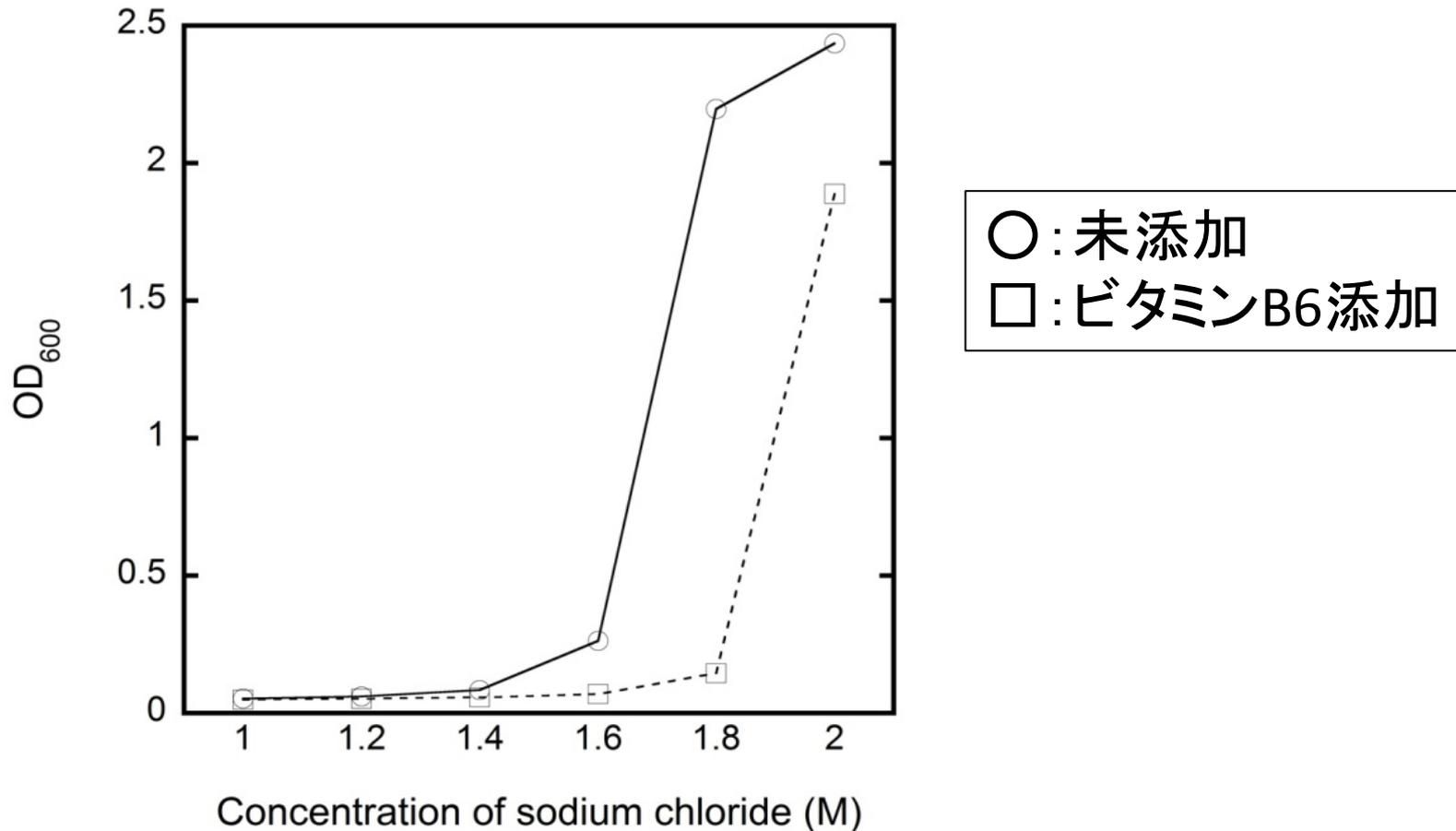


Representative results of Intrinsic emission fluorescence spectra of keratin

ビタミンB6はケラチンの疎水性領域と最も相互作用をしている

# 凝集抑制効果の検討

実験： ビタミンB6添加におけるケラチンの凝集抑制効果の検討



Aggregation of keratin in various concentrations of sodium chloride.

**ビタミンB6はケラチンの凝集を抑制する**

# 小括

毛髪的主要構成成分の蛋白質に着目し研究をスタート



加齢位と共に、毛髪内から流出してくる蛋白質の溶解度が低くなっている(疎水化)



ビタミンB6はケラチンの疎水性領域と最も相互作用をしている



ビタミンB6はケラチンの凝集を抑制する



SPring-8を用いた更なる深掘り(相補利用)

ミクロ

原子レベルでの可視化検討: X線結晶構造解析(BL38B1)

マクロ

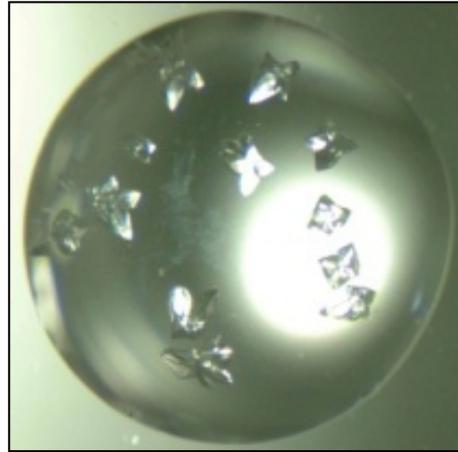
毛髪レベルでの可視化: 顕微IR(BL43IR)

# X線結晶構造解析(SPring-8/BL38B1) ~ミクロ~

## 測定手順



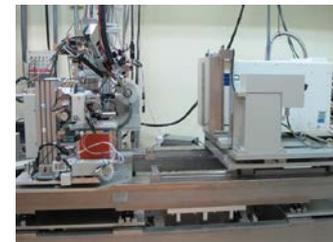
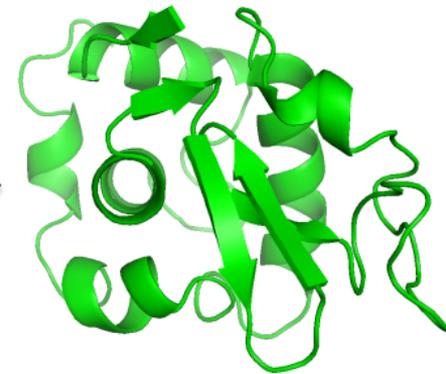
結晶化



X線照射



解析

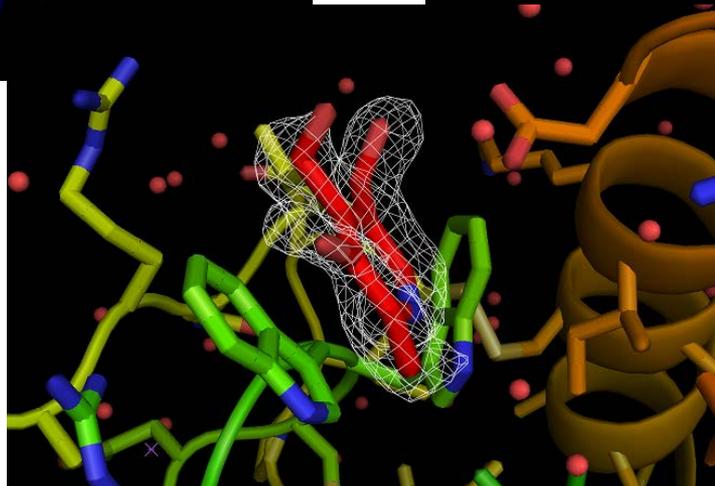
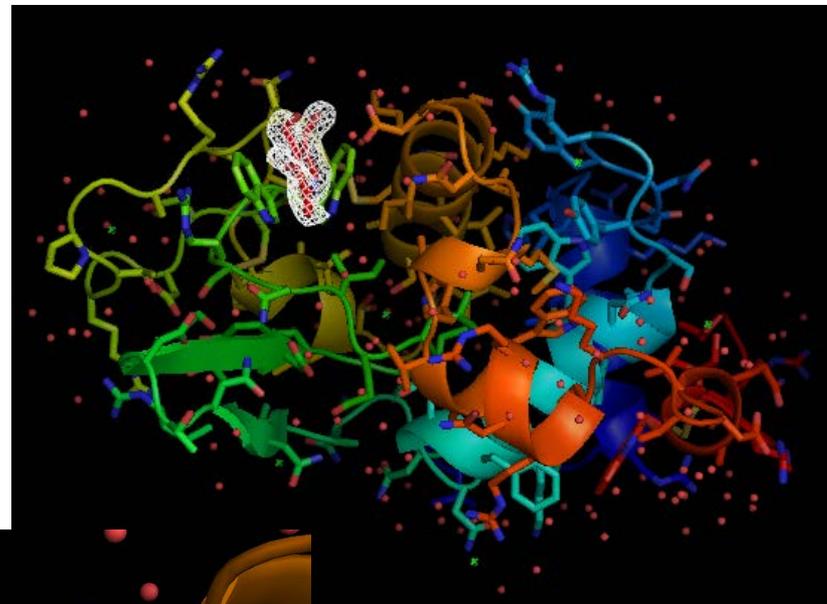
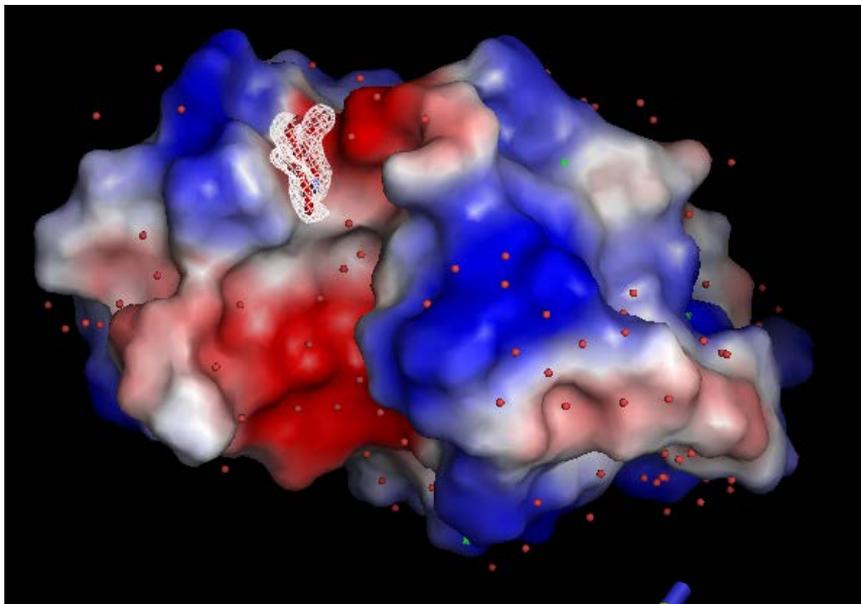


原子レベルで議論が可能

モデル蛋白質とビタミンB6の複合体解析

# 蛋白質の結合確認(可視化)

実験: ビタミンB6と蛋白質(リゾチーム)の結晶複合体解析



ビタミンB6は蛋白質表面のトリプトファンと $\pi$ 結合する

# 露出表面積の計算

ビタミンB6の結合によって蛋白質表面ではどのようになっているのか？

	Pyridoxin-lysozyme Complex	lysozyme Alone	ASA of Complex/Alone (%)
Total ASA ( $\text{\AA}^2$ )	6276	6218	0.9
ASA hydrophobic residues ( $\text{\AA}^2$ )	1512	1473	2.7
ASA aromatic residues ( $\text{\AA}^2$ )	340	417	-18.4
ASA polar residues ( $\text{\AA}^2$ )	1917	1838	4.3
ASA charged residues ( $\text{\AA}^2$ )	2506	2490	0.6

**ASA: Accessible Surface Area**

**Hydrophobic residue:**

疎水残基

**Aromatic residue:**

芳香環残基

**Polar residue:**

極性残基

**Charged residue:**

荷電残基

ビタミンB6は蛋白質表面の芳香環領域を遮蔽することで、  
蛋白質の溶解度を上げる

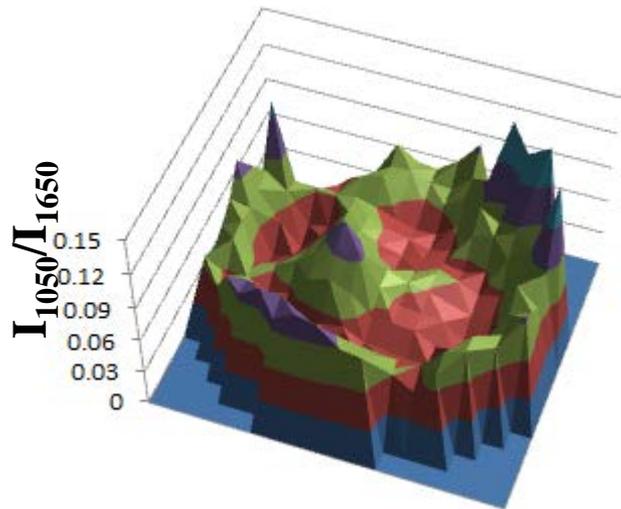
# 顕微IR (SPring-8/BL43IR) ～マクロ～

40代女性毛髪(未処理毛)

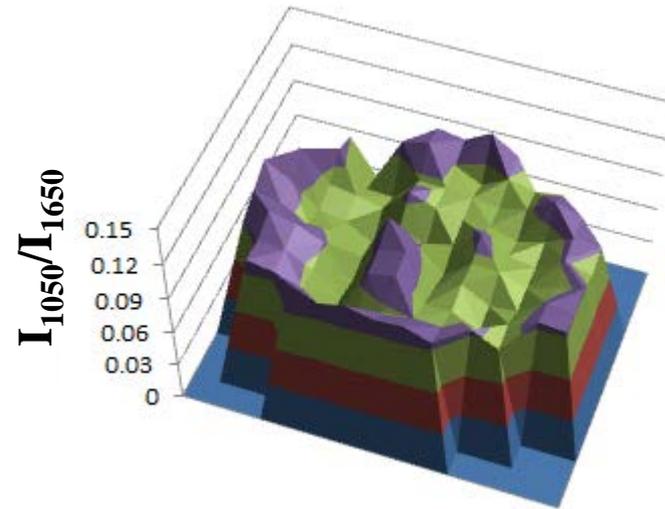


1% ビタミンB6塗布後、水洗、乾燥を28回繰り返した

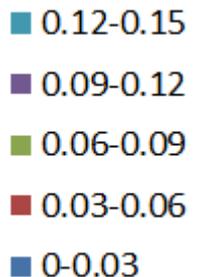
40代女性毛髪(ビタミンB6処理毛)



未処理毛



ビタミンB6処理毛



C-OH結合吸収強度( $1050\text{cm}^{-1}$ )/アミドI結合吸収強度( $1650\text{cm}^{-1}$ )

空間分解能:  $5\ \mu\text{m}$ , 積算回数: 64 回

ビタミンB6は、毛髪内部に浸透する

# 基礎研究と応用研究(開発) ～まとめ～

2013年(平成25年)10月11日(金曜日)

## 毛髪内密度、高精度に算出

ミルボンが測定技術確立



加齢にもなる髪の変化で美しい髪型の維持に苦労する女性は多い(中央研究所、大阪府高槻市)

加齢原因で低下確認

ヘアケア製品開発に活用

ミルボンは、髪の毛の毛内密度低下が加齢による現象であることを明らかにし、これを高精度に測定する技術を開発した。この技術を用いて年代別の密度変動を明らかにした。ミルボンは、この結果をもとに、毛髪内のたんぱく質を測定する高精度の測定装置を開発し、毛髪内のたんぱく質を高精度に測定する技術を開発した。

研究チームは、加齢による髪の毛の変化を高精度に測定する技術を開発した。この技術を用いて年代別の密度変動を明らかにした。ミルボンは、この結果をもとに、毛髪内のたんぱく質を測定する高精度の測定装置を開発した。

てくる蛋

疎水性

ケラチ

結合す  
髪内

**加齢毛髪のだん白質疎水化**  
**ビタミンB<sub>6</sub>が抑制**

ミルボン

ミルボンは、加齢で毛髪内のだん白質が疎水化していることを突き止めた。ビタミンB<sub>6</sub>に疎水化を抑える働きがあることを発見した。公益財団法人高輝度光科学研究センターとの共同研究では、大型放射光施設(SPring-8)を用いて、その作用機構を原子レベルで初めて明らかにする実験に成功した。加齢による毛髪のツヤやハリ、コシなどの減少がなぜ起こるのか確かなデータは得られておらず、同社は研究を続けながら今後の製品開発に役立てる。

2012年(平成24年)12月20日(木曜日)

化学工業日報

慶応大

新しい作用メカニズム

新肌測定器を導入

14年末までに300店へ

動物実験代替で

ビタミンB<sub>6</sub>が抑制

加齢毛髪のだん白質疎水化

ミルボン

研究を続けながら今後の製品開発に役立てる。

たんぱく質が疎水化するたんぱく質同士の凝集が起こりやすくなること

が知られている。そこで

研究チームは毛髪内でも

同じような現象が起こっ

ていると仮定し、毛髪の

ハリやコシに影響するた

ん白質の一種ケラチン

の凝集を抑える分子を網

羅的に調査した。その結

果、ビタミンB<sub>6</sub>(ピリド

キシン)が最も効果的に

ケラチンの疎水性部に吸

着し、凝集を抑制した。

さらに理化学研究所の

大型放射光施設であ

るPring-8を用

いたたんぱく質を構成

要素(立体構造)を詳

調べたところ、ビタミン

B<sub>6</sub>はたんぱく質の疎

水化(芳香環アミノ酸

に結合し、凝集の主

因である疎水性相互作用

を軽減している

ことが明らかとなった。

## Aujua TIMESURGE/タイムサージ



- [1] L. Ito et. al., *Fragrance J.*, (2013). 46, 393-396
- [2] L. Ito et. al., *Peptide Science*, (2013). 46, 393-396
- [3] L. Ito, *Fragrance J.*, (2012). 40, 51-54

# 演題内容

- 市場情報(頭髪化粧品市場)
- 加齢に伴う“毛粗しょう”の発見
- 基礎研究と応用研究(開発)
- **まとめ**

# まとめ ～民間企業としての責務と研究者の願い～

日本の頭髪化粧品は、世界から注目されている

消費者に有用な情報を提供すべく、  
基礎研究からエビデンスベースで商品開発を行う



国民の科学に対する興味や知識の向上

# 謝辞

本実験の一部は、(公財)高輝度光科学研究センター(SPring-8/JASRI)との共同研究を通して行われた。また課題研究2012A1834、2012B1385で行われた成果である。

(公財) 高輝度光科学研究センター

熊坂 崇 博士

馬場 清喜 博士

森脇 太郎 博士

池本 夕佳 博士

実験を遂行するにあたり、様々なご助言をいただきました。この場をお借りして深く感謝いたします。

ご清聴ありがとうございました。