

赤外顕微鏡を用いたヒト爪に関する新規評価法の検討 New evaluation testing methods about human nail using infrared microscopy at SPring-8

有路 千奈美^a, 三園 武士^a, 伊藤 廉^b, 吉田 大介^{a,c}
Chinami Arijji^a, Takeshi Misono^a, Len Ito^b, Daisuke Yoshida^{a,c}

^aニッコールグループ(株)コスモステクニカルセンター,^b(株)ミルボン,
^cニッコールグループ(株)ニコダームリサーチ

^aNikkol Group Cosmos technical Center Co. Ltd., ^bMilbon Co. Ltd., ^cNikkol Group Nikoderm Research Inc.

爪切片の断面を赤外顕微鏡により観測することで、爪表面から深部にかけての爪の酸化ダメージ、及び成分浸透性を可視化する新規評価方法を検討した。炭化水素基由来のスペクトルからビタミンC誘導体の爪への浸透性を、システイン酸由来のスペクトルから酸化作用について解析し、マッピング画像を作成した。解析結果より、ビタミン誘導体の爪内部への浸透性は確認できなかった。酸化作用について、紫外線照射によって爪表面のみが酸化されることを確認した。一方で、予めビタミンC誘導体を適用した後に紫外線照射することで、爪表面に起こる酸化ダメージの抑制が示唆された。

キーワード： 爪、赤外顕微鏡、ビタミンC誘導体、抗酸化作用

背景と研究目的：

高齢化が進む日本において、美容と健康に対する関心は日々高まっており、化粧品や医薬部外品等の製品においては、安全性と有用性が重要なファクターとなっている。正確な安全性、有用性のデータを取得することは新製品の開発において必要不可欠となっており、その重要性は今後、より一層高まると考えられる。

化粧品等を適用する皮膚や毛髪についてはSPring-8を利用した報告も数多くされているが、毛髪と同じ皮膚付属器である爪に関する報告はほとんどない。近年、ジェルネイル等の化粧、装飾を楽しむ人が増えており、爪の構造やダメージ変化について解析することができれば新しいコンセプトや製品の開発につながる可能性がある。さらに、爪内部への成分浸透性等の結果を可視化したマッピング画像を提供できれば、消費者にもよりわかりやすいデータが得られる。今回、SPring-8の高輝度の赤外光を用いることで、無染色で直接的に成分そのものを捉えると同時に爪への有効性の評価方法について検討した。

本課題では紫外線照射を爪ダメージの指標とし、ビタミンC誘導体の爪内部への浸透性、また紫外線を爪の酸化ダメージの指標とした際のビタミンC誘導体の抗酸化作用の有効性評価法の検討を行った。さらに、得られた爪断面の結果を可視化したマッピング画像の作成を目的とした。

実験：

ヒト爪の遊離縁(爪)を70%エタノール水溶液を含んだキムワイプでふき取り、サンプルとして用いた。測定サンプルは未処理の爪(Blank)、爪の表面に紫外線(UV)を12時間照射したもの(以下UV12h)、ビタミンC誘導体としてテトラヘキシルデカン酸アスコルビル(VC-IP)を24時間適用後にUVを12時間照射したもの(以下VC-IP+UV12h)を検討した。

上記サンプルの凍結ブロックから5 μ mの厚さに作成した切片をフッ化バリウムの測定ステージに貼付し、高空間分解顕微鏡(Bruker Hyperion2000)に固定した。これを分光光度計(Bruker Vertex70)にて透過測定を行った。測定は図1に示すようにマッピングステージを使用し、8 μ m \times 8 μ m単位で行い、各測定点に対して4,000–600 cm^{-1} の範囲で波数分解能4 cm^{-1} にて赤外吸収スペクトルを得た。この時のアパーチャーサイズは10 μ m \times 10 μ mとし、積算回数は128とした。

VC-IP の炭化水素基に由来する $2950\text{--}2900\text{ cm}^{-1}$ (CHA)、および紫外線照射による酸化ダメージの指標としてシステイン酸のスルホン酸基に由来する $1065\text{--}1030\text{ cm}^{-1}$ (SO_3A) の面積値を算出した。爪由来の厚みの影響を除くために、各種面積値をアミド II (C-N) 結合に由来する面積値で割ることで相対強度として規格化を行った。

各条件における爪の表面から爪床 に向かって $184\text{ }\mu\text{m}$ (深部) における測定点の強度の平均値を算出した。また、解析ソフト OriginPro 2017 を用いて各指標における爪のマッピング画像を作成した。

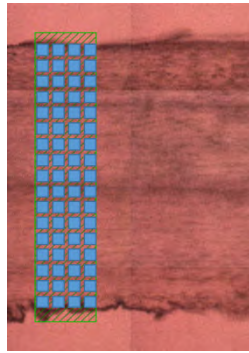


図 1. 切片画像と測定ポイントの例

結果および考察：

VC-IP の爪への浸透性

爪の表面から爪床の深さ方向における炭化水素基の相対強度を図 2 に示す。VC-IP の浸透性を炭化水素基由来の強度から解析したが、Blank と VC-IP を適用した爪に差は認められず、爪への浸透は認められなかった。VC-IP 浸透性のマッピング画像を図 3 に示すが、図 3 からも VC-IP の浸透は認められなかった。

システイン酸の生成

爪の表面から爪床の深さ方向におけるスルホン酸基の相対強度を図 4 に示し、スルホン酸基のマッピング画像を図 5 に示す。図 4 から UV を 12 時間照射すると爪表面のみにシステイン酸由来の高い強度が確認され、爪の UV による酸化ダメージは表面だけで起こっていることを確認した。一方で、UV 照射前に予め VC-IP を適用した爪においてはシステイン酸の増加は認められず、マッピング画像からも同様の結果が得られた。

以上の結果より、UV による酸化ダメージは爪表面のみで起こっており、VC-IP の抗酸化作用により酸化ダメージを抑制することを確認した。すなわち、UV による爪へのダメージは、爪への浸透性が低い場合でも十分な効果を得られることを示している。本検討において、爪の酸化ダメージは赤外顕微鏡によって評価可能であったが、浸透性については十分な結果を得るに至らなかった。今後、より浸透しやすい成分で同様の検討を行い、爪への浸透性の評価法確立を目指す。

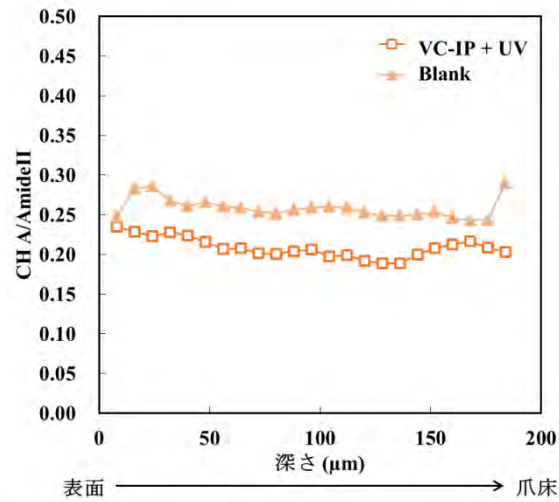


図 2. 各条件における爪の炭化水素の強度からみた VC-IP の浸透性 (n=1)

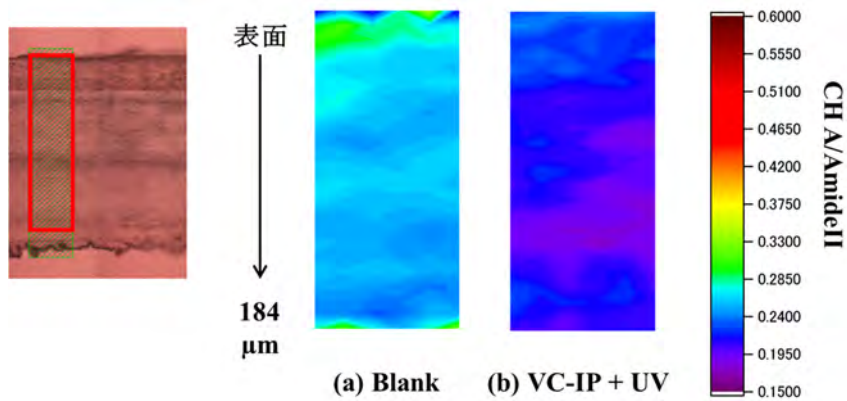


図 3. 解析範囲例 (左) と爪への VC-IP の吸収指標 (右、n=1)

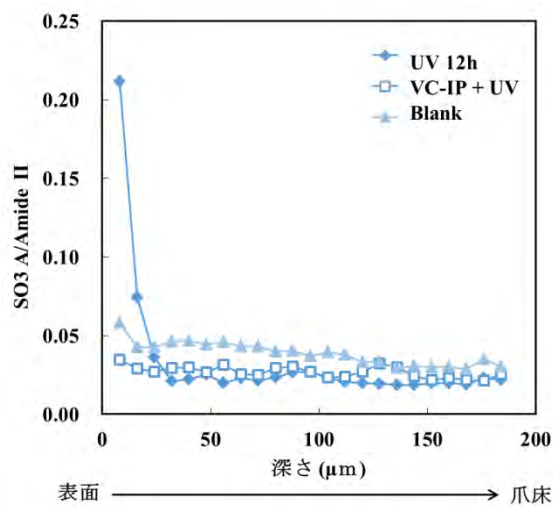


図 4. 各条件における爪のシステイン酸の強度からみた VC-IP の抗酸化作用 (n=1)

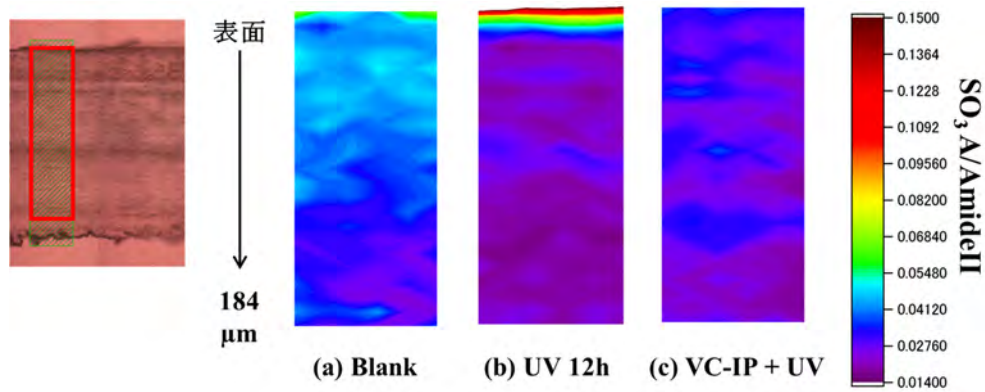


図 5. 解析範囲例 (左) と爪への VC-IP の抗酸化指標 (右、n=1)