

## マイクロビーム X 線小角散乱によるくせ毛の微小構造解析

梶浦 嘉夫<sup>a</sup>、伊藤 隆司<sup>a</sup>、篠原 佑也<sup>b</sup>、雨宮 慶幸<sup>b</sup>

<sup>a</sup>花王株式会社 ヘアケア研究所

<sup>b</sup>東京大学大学院 新領域創成科学研究科

### 1. はじめに

毛髪はケラチタンパクからなる太さ 40~150  $\mu\text{m}$  程度の繊維である。繊維表面はキューティクルと呼ばれるうろこ状の細胞で覆われ、その内部のほとんどは直径 5  $\mu\text{m}$ 、長さ 100  $\mu\text{m}$  程度のコルテックスと呼ばれる細胞で占められている。さらに、1つ1つのコルテックス細胞内部は、 $\alpha$ -ヘリックスを主体とする結晶性繊維の集合体と非晶質の球状タンパクから成り、全体として複雑な階層構造を形成していることがわかっている (Fig. 1)。結晶性繊維の集合体はインターメディアイトフィラメント (IF)、その周りにある非晶質球状タンパクが形成する部分はマトリックスと呼ばれている。

ところで、頭皮から生えてきた毛髪繊維の形状は人によってくせ毛~直毛まで様々である。また人種間でも特徴的な毛髪形状が異なっている。例えば、アフリカンの毛髪は非常に強いカールを有する場合が多く、コーカシアンは比較的ゆるい

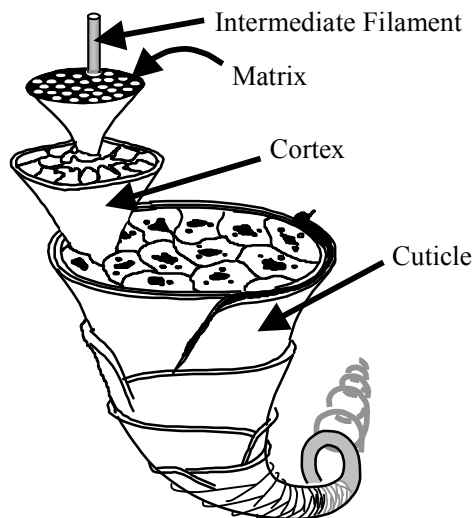


Fig. 1 Hierarchical Structure of hair.

くせ毛、日本人を含むアジアンの髪は直毛が多いといわれている。しかし、毛髪の形状を決定する因子が何なのか、さらには何故人種ごとに特徴的な毛髪形状が異なっているかという疑問は未だに解決されていない。くせ毛の特徴を理解する事は、毛髪科学的に興味深いばかりでなく、魅力的な髪・ヘアスタイルを創るという美容科学の観点においても重要である。毛髪1本1本のくせ形状はヘアスタイルを支配する主要な要素の一つであることから、それを制御するヘアケア技術開発のためには、まずくせ毛の内部構造を知ることが先決となる。

Swift<sup>1)</sup>は、毛髪断面を透過型電子顕微鏡 (TEM) で観察し、羊毛繊維のオルソコルテックス、パラコルテックス<sup>2)</sup>と形態的に類似した2種類のコルテックス細胞が毛髪内にも分布していることを見出した (羊毛繊維ではオルソコルテックス、パラコルテックスの分布が形作るバイラテラル構造が、カールした繊維形状の原因とされている<sup>3)</sup>)。Swift はさらに、毛髪内の2種類のコルテックス細胞の分布がアフリカンの縮れ毛、コーカシアンのカールなくせ毛、日本人の直毛では異なっていると指摘している。しかしながら毛髪におけるこれらのコルテックスの分布とくせの強さの関係が TEM 観察の結果から定量的に評価された訳ではない。

X 線小角散乱法 (Small Angle X-ray Scattering: SAXS) は、TEM と並ぶナノ構造解析の強力な手段として、これまでも毛髪のマクロ構造解析研究に用いられてきた<sup>4)</sup>。毛髪繊維の小角散乱からは、主としてコルテックス内の IF-IF 間隔 (~90Å)、あるいは IF 自身の直径 (~70Å) 等を知ることができる<sup>5)</sup>。従って、くせ毛のカール内側、外側で別々に SAXS 測定を行えば毛髪内での IF 配列構造の空間分布を知ることができる。しかし現実には、結晶性の低い毛髪1本からの散乱ピーク強度は非常に微弱なため、従来の X 線発生装置を用いた測定では毛髪繊維を束ねて散乱強度を稼がざるを得ず、1本の毛髪繊維内部に存在するミクロスケールの構造不均一性を評価することは事実上不可能であった。

ところが最近、放射光の実現と X 線集光光学系の進歩<sup>6)</sup>によって、高強度でかつ非常に発散の小さい X 線ビームを使って小角散乱の実験を行うことが出来るようになり、今まで不可能であった測定が可能になってきた。

そこで我々は、直径 100  $\mu\text{m}$  前後の毛髪に対してビームサイズ約 5  $\mu\text{m}$  の X 線マイクロビームでくせ毛の小角散乱を測定し、カールの外側と内側の IF 配列の違いを評価することで、毛髪のマクロスコピックなカールの強さをミクロスコピックな内部構造の不均一性という視点から定量的に説明しようと試みた<sup>7)</sup>。

### 2. くせ毛のマイクロビーム X 線小角散乱測定

マイクロビーム X 線小角散乱の測定実験は、Photon Factory (PF) のビームライン BL4A<sup>8)</sup> および SPring-8 (SP8) の BL40XU<sup>9)</sup> にて行った。一本の毛髪繊維に、繊維軸と垂直な方向から X 線マイクロビームを照射し、2次元 SAXS 像を測定した

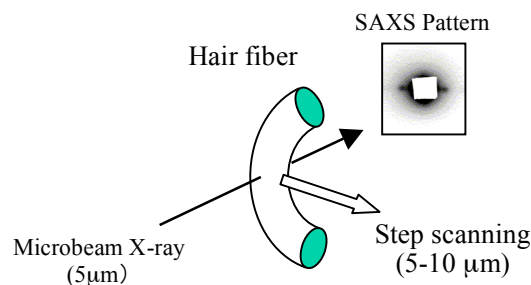


Fig. 2 Measurement of small angle X-ray scattering (SAXS) pattern from a human hair single fiber.

(Fig. 2)。5~10  $\mu\text{m}$  ごとに毛髪の位置をずらし、カールの内側から外側までの各位置で測定を繰り返した。測定精度と X 線による毛髪ダメージを勘案し、1測定点あたりの X 線照射時間は PF で 60 秒、SP8 で 1.2 秒とした。

非常に強くせ毛(アフリカの毛髪)のカール内側と外側で測定された SAXS 像の 1 例を Fig. 3 (a), (b) に示す。赤道方向にはコルテックス内で密にパッキングした IF 配列<sup>4)</sup>に由来するスポットが観測される(図中の小矢印)。この IF 由来のスポットに着目すると、カール内側(Fig. 3 (a))では散乱強度が強くシャープなパターンが得られているのに対して、カール外側(Fig. 3 (b))では内側と比べ散乱強度が低くブロードである。この結果は、IF の配列構造がカール内側と外側で異なっていることを示唆するものである。

このようにカール内側と外側で IF 由来の散乱パターンが異なっているという事実は、放射光を用いた本研究によってはじめて明らかとなった。

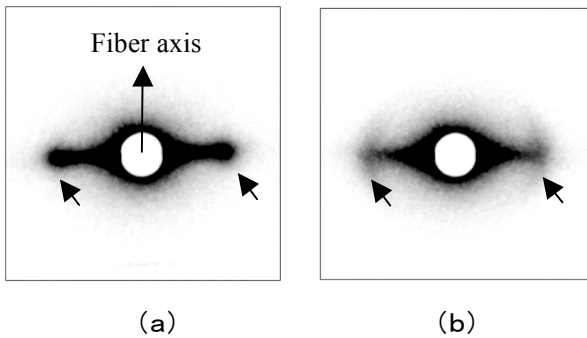


Fig. 3 Typical SAXS patterns obtained from a curly African hair fiber, measured at (a) the inner side and (b) the outer side of the curvature. Short arrows point at the intensity maxima attributed to the IFs arrangement.

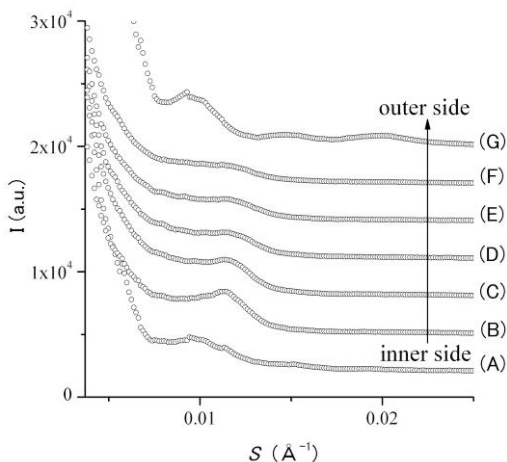


Fig. 4 Equatorial Intensity profiles at different positions. Measurements were performed from the inner side to the outer side of the curvature with the fiber scanned in the transverse direction. Profile (A) is obtained from the inner surface and profile (G), the outer surface.

### 3. 解析

カール内側と外側の IF 由来スポットのパターンの違いをさらに詳細に比較するため、2次元 SAXS 像から空気等による寄生散乱を差し引いた後、赤道方向および方位角方向の 1次元散乱強度プロファイルを切り出した。

#### 赤道方向の散乱強度プロファイル

赤道方向の散乱強度プロファイルを散乱ベクトル  $S$  ( $=2\sin\theta/\lambda$ , ただし  $2\theta$  は散乱角、 $\lambda$  は X 線波長) に対してプロットした。Fig. 4 は、カールの内側から外側にかけて異なる位置で測定したプロファイルを上下に並べて比較したものである。プロファイル(A)と(G)はカール最内側および最外側の繊維表面付近で測定されたもので、毛髪繊維を覆っているキューティクルからの散乱<sup>10), 11)</sup>が観測される。これに対して(B)~(F)が繊維内部のコルテックスからの散乱で、 $S = 0.012 \text{ \AA}^{-1}$  付近に 2次元 SAXS 像の IF 由来スポットに相当するピークが見られる。このピークを比較すると、測定位置がカール内側から外側に近づくほどピークの強度が低下していることがわかる。

#### モデルシミュレーション

Briki<sup>5)</sup>らは、X 線による赤道方向の散乱強度プロファイルを理論的に求めるため、IF の配列を Fig. 5 のようにモデル化した。このモデルでは、一本一本の IF を半径  $r$ 、電子密度  $\rho$  の均質な無限円柱と見なし、それらが格子間隔  $d$  の六方格子の全ての格子点上に配置していると考えた。ただし、ある IF (例えば図中の一番左にある IF) に着目したとき、その隣にある IF は、着目した IF から距離  $d$  の位置にある格子点を中心としてガウス関数に従うような存在確率の分布を持っていると仮定している(パラクリスタル近似)。

X 線が IF に対して垂直に入射したときに生じる散乱強度  $I(S)$  は、(1) 式で求められる。

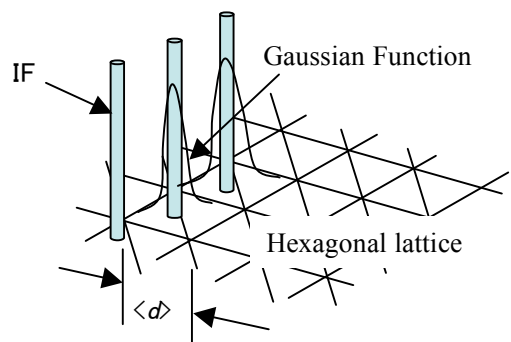


Fig. 5 Model of the IFs arrangement

$$I(S) \propto [F(S)]^2 Z(S) + \alpha e^{-\beta S} \quad (1)$$

ただし、 $F(S)$  は IF の形状因子、 $Z(S)$  は IF の配列の仕方によって定まる干渉関数、 $\alpha e^{-\beta S}$  は IF 以外の非晶質に由来するバックグラウンドの散乱である。形状因子  $F(S)$  は均質な無限円柱の場合、(2) 式により表される。

$$F(S) = 2\pi \rho r^2 J_1(2\pi rS) / 2\pi rS \quad (2)$$

$J_1$ : 1次のベッセル関数

$\rho$ : IFの電子密度

$r$ : IFの半径

$S$ : 散乱ベクトル

また  $Z(S)$  は IF の分布関数を  $z(x)$  とすると、 $z(x)$  のフーリエ変換に等しく((3)式)、

$$Z(S) = \int z(x) e^{-2\pi i S \cdot x} dx \quad (3)$$

$z(x)$  は IF の分布に対する上記の仮定から(4)式のように表される<sup>12)</sup>。

$$z(x) = \delta(0) + \sum \{G_{\langle d, \sigma \rangle}(x)\}^{*n} + \sum \{G_{\langle d, \sigma \rangle}(-x)\}^{*n} \quad (4)$$

\*n: n 回畳み込みの意。

$\delta$ : デルタ関数

$G_{\langle d, \sigma \rangle}$ :  $x = \langle d \rangle$  の位置に極大点を持ち、標準偏差が  $\sigma$  のガウス関数

実験で得られた散乱強度プロファイルに対して(1)式をフィッティングすることにより、パラメーターである IF 半径  $r$ 、平均 IF-IF 間隔  $\langle d \rangle$  の値を決定した。Fig. 6 にシミュレーション結果の1例を示す。この例では、 $r = 35.9 \text{ \AA}$ 、 $\langle d \rangle = 93.0 \text{ \AA}$  という結果が得られた。

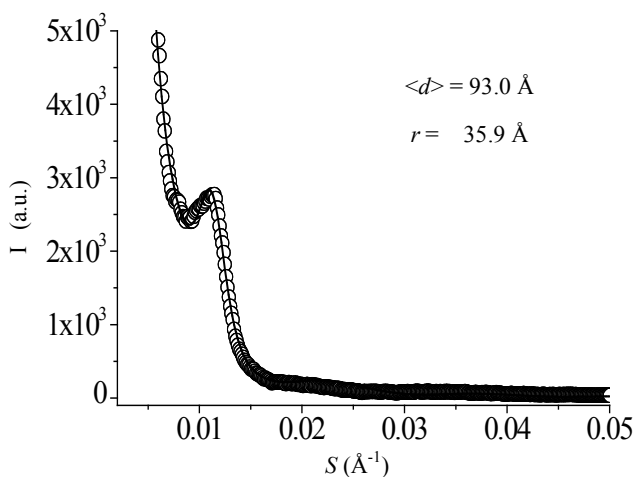


Fig. 6 An example of data (circles) and simulation (line) of the equatorial SAXS intensity profile

### IF 直径と間隔

上記の方法を用いて、毛髪の異なる位置で測定した散乱強度プロファイルのシミュレーションを行った。Fig. 7 はアフリカの強くカールした毛髪6本から得られた結果をまとめたものである。平均 IF-IF 間隔  $\langle d \rangle$  と IF 直径  $D (=2*r)$  の、測定位置  $P$  による変化を示している。 $P$  は毛髪繊維の直径で規格化されており、 $P=0$  がカール外側表面、 $P=1$  がカール内側表面を表している。Fig. 7 において、 $D$  は  $P$  によらずほぼ一定であったのに対し、 $\langle d \rangle$  はカールの外側から内側に向かって拡大する傾向が得られた。このことから、IF の太さは変わらないが IF と IF の間を埋めているマトリクスタンパクの厚みがカールの内側では厚く、外側では薄くなっていることがわかった。

### IF 配向性

IF 由来ピークの方位角方向への広がりを調べることによって、IF の配向性が評価できる。即ち、IF が繊維軸方向に完全に配向していれば、散乱ピークは2次元 SAXS 像上で赤道方向のみに観測され、方位角方向への広がりはない。IF の配向性が低く毛髪軸に対する IF の角度に分布があれば、その大きさに応じて散乱ピークは方位角方向に広がりを持つ。我々は、IF 由来の散乱ピークを含む方位角方向の散乱強度プロファイルからピークの半値幅 FWHM を求め、これを毛髪繊維軸に対する IF 配向性の指標とした。

Fig. 8 は、Fig. 7 と同一のアフリカの毛髪6本で FWHM の位置依存性を調べた結果である。FWHM の値は明らかにカールの内側から外側に向かって増大している。これは、カール内側の IF が比較的良好に配向し、ほぼ平行に並んでいるのに対し、カール外側では繊維軸に対して傾いた IF が多く、IF の配向性が

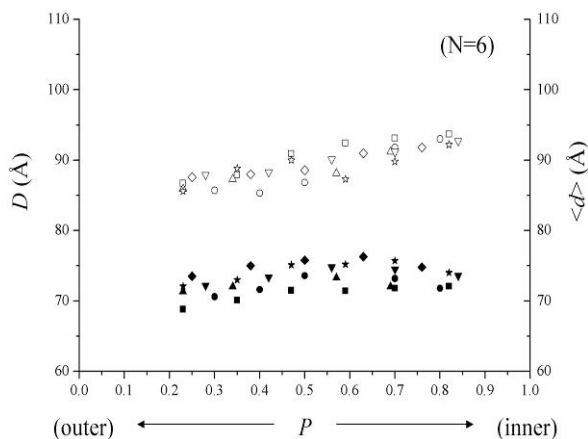


Fig. 7 IF-IF distance,  $\langle d \rangle$  (unfilled symbols), and IF diameter,  $D$  (filled symbols), for curly African hair fibers.

カール内側よりも低下していることを意味している。

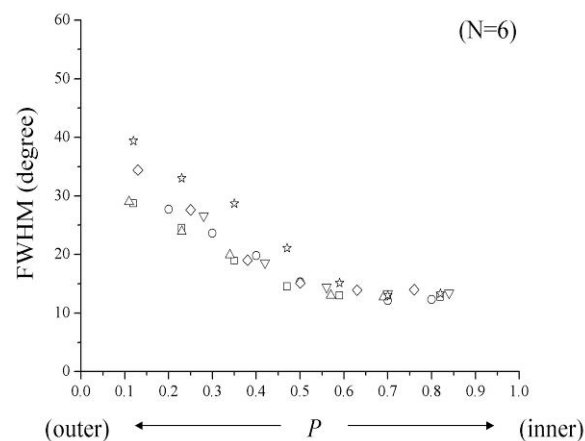


Fig. 8 IF orientation for the same fibers as those in Fig. 7.

### ごく弱いくせ毛の場合

日本人から採取した、ほぼ直毛と見なせる程度のごく弱いくせ毛6本を用いてアフリカの毛髪と同様の解析を行った。その結果は、先に述べたアフリカの強くカールした毛髪とは明らかに異なる傾向を示した。Fig. 9, Fig. 10に解析結果を示す。Fig. 9の $\langle d \rangle$ 、Fig. 10のFWHMは何れもほぼ一定で、アフリカの毛髪(Fig. 7, Fig. 8)に見られたような $P$ 依存性は見られなかった。このことから、 $\langle d \rangle$ あるいはFWHMの変化の大きさとカールの強さとの間に何らかの相関があると期待される。

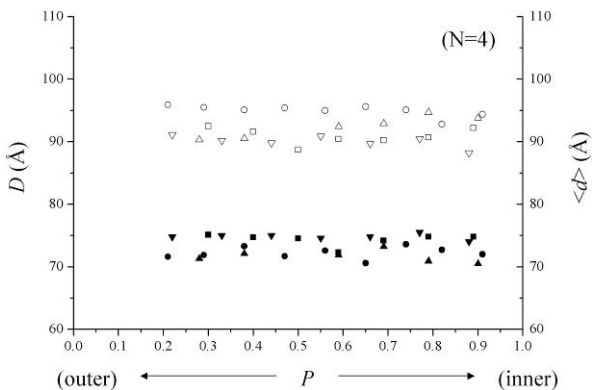


Fig. 9 IF-IF distance,  $\langle d \rangle$  (unfilled symbols), and IF diameter,  $D$  (filled symbols), for nearly straight Asian hair fibers.

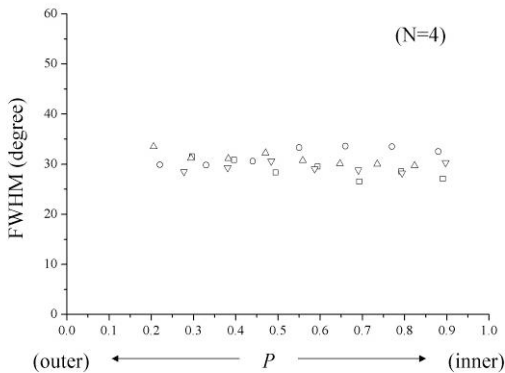


Fig. 10 IF orientation for the same fibers as those in Fig. 9.

### 4. カールの強さと毛髪内部構造のカール内／外の偏差

アフリカの毛髪において $P$ 依存性が見られたFWHMの値を、カール外側( $P=0.2\sim 0.4$ )と内側( $P=0.6\sim 0.8$ )でそれぞれ平均し、両者の比 $\eta$ (=カール外側の平均値/カール内側の平均値)を算出した。 $\eta$ はカール内側と外側での毛髪内部構造偏差(不均一さ)の程度を表す指標と見なすことができる。

マクロスコピックなカールの強さとミクロスコピックな内部構造偏差の相関を調べるため、種々の人種の異なる強さのくせ毛で $\eta$ を算出した。Fig. 11はその結果をまとめたものである。グラフの横軸の $\eta$ は、毛髪繊維の直径 $D_f$ で規格化し、さらに見

やすいように100倍してある。縦軸は、くせ毛のカールを円弧と見なした時の曲率半径(ROC)である。ROCの値が小さいほど強いカール、 $ROC=\infty$ は直毛を意味する。Fig. 11より、ROCは $\eta$ の増加に伴って単調に減少した。同じ $\eta$ の値を持った毛髪は人種を問わずROCもほぼ同じであった。異なる人種の毛髪、羊毛を含めて全てのデータ点は共通のトレンドカーブ上の上に見えるように見える。なお、Fig. 11では毛髪の内部構造偏差をFWHMによって評価したが、 $\langle d \rangle$ を用いて行なった場合でもROCと $\eta$ の間には同様な相関が見られた。

以上の結果から、IF配列の違いに基づいて定量化したミクロスコピックな内部構造偏差と、マクロスコピックなカールの強さの間には、確かに相関があるということが確認された。さらに、人種間に見られる特徴的なカールの強さの違いは内部構造偏差という共通のパラメーターで、人種によらず羊毛まで含めて統一的に説明できるという結論が得られた。

アジア、コーカシアンに比べアフリカの毛髪の内部構造偏差が大きい原因は、IFの配列構造を保持しているマトリックスの構成タンパクの違いにあると予想されることから、今後は毛根部におけるマトリックスタンパクの発現に着目した内部構造偏差の発生メカニズム解明がくせ毛研究の大きな課題の1つになってくるとと思われる。

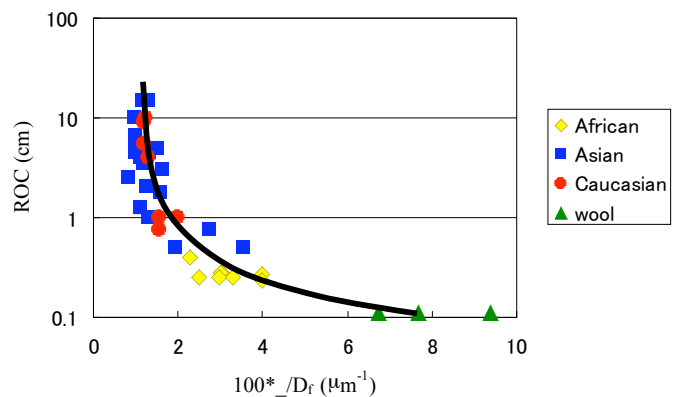


Fig. 11 The relationship between radius of curvature, ROC, and inhomogeneity of the internal structure,  $\eta$ , for human hair and Merino wool.

### 7. おわりに

本稿ではマイクロビーム X線小角散乱法を毛髪のみクロ構造解析に適用した例について概説した。

本研究において、従来のX線装置では測定不可能であった毛髪1本からのIF由来散乱ピークを、放射光X線を用いてはじめて精度良く測定できた。それにより今まで明らかでなかったくせ毛のカール内側と外側での内部構造偏差の検出に成功し、カールの強さとの相関が確認された。

これらの結果が示すように、マイクロビームX線小角散乱法は、ミクロスケールの空間的不均一性を持つナノ構造の解析手法として非常に有力な手段である。しかも、測定は通常的环境下で行えるので、インタクナサンプルの情報が見られる

ばかりでなく、種々の物理的、化学的処理を加えながら、その時間変化を追うことも可能である。

最後に、放射光を利用して実験を行なう事の利点は、実験室の X 線発生装置では不可能であった測定が可能になるのは言うに及ばず、実験室の X 線発生装置だと測定だけで数ヶ月間もかかるような大量のデータを、放射光では僅か数日で取得できてしまうという点にある。これらの利点は産業利用においても大きな威力を発揮している。

#### 謝辞

本研究は、SPring-8 の一般研究課題 (No. 2004A0630-NL2a-np)、および Photon Factory の放射光共同利用研究課題(No. 2004G387)として行われました。実験をサポートして下さった KEK の飯田厚夫教授、JASRI の八木直人博士、井上勝晶博士、太田昇博士に感謝いたします。

#### 参考文献

- 1) J. A. Swift: *Formation and Structure of Human Hair* (Birkhäuser Verlag: Berlin, 1997) 149-176.
- 2) E. H. Mercer, *Text. Res. J.*, **23**, 388-397(1953).
- 3) M. Horio, T. Kondo, *Text. Res. J.*, **23**, 373-386 (1953).
- 4) R. D. B. Fraser, T. P. MacRae, A. Miller, *J. Mol. Biol.*, **10**, 147-156 (1964).
- 5) F. Briki, B. Busson, J. Doucet, *Biochem. Biophys. Acta*, **1429**, 57-68 (1998).
- 6) C. Riekel, *Rep. Prog. Phys.*, **63**, 233-262 (2000), and references therein.
- 7) Y. Kajiura, S. Watanabe, T. Itou, K. Nakamura, A. Iida, K. Inoue, N. Yagi, Y. Shinohara, Y. Amemiya, *J. Struct. Biol.* in press.
- 8) A. Iida, T. Noma, *Nucl. Inst. Methods*, **B82**, 129-138 (1993).
- 9) K. Inoue, T. Oka, T. Suzuki, N. Yagi, K. Takeshita, S. Goto, T. Ishikawa, *Nucl. Inst. Methods*, **A467-468**, 674-677 (2001).
- 10) L. Kreplak, C. Merigoux, F. Briki, D. Flot, J. Doucet, *Biochem. Biophys. Acta*, **1547**, 268-274 (2001).
- 11) N. Ohta, T. Oka, K. Inoue, N. Yagi, S. Kato, I. Hatta, *J. Appl. Cryst.*, **38**, 274-279 (2005).
- 12) B. Busson, J. Doucet, *Acta Cryst.*, **A56**, 68-72 (2000).