

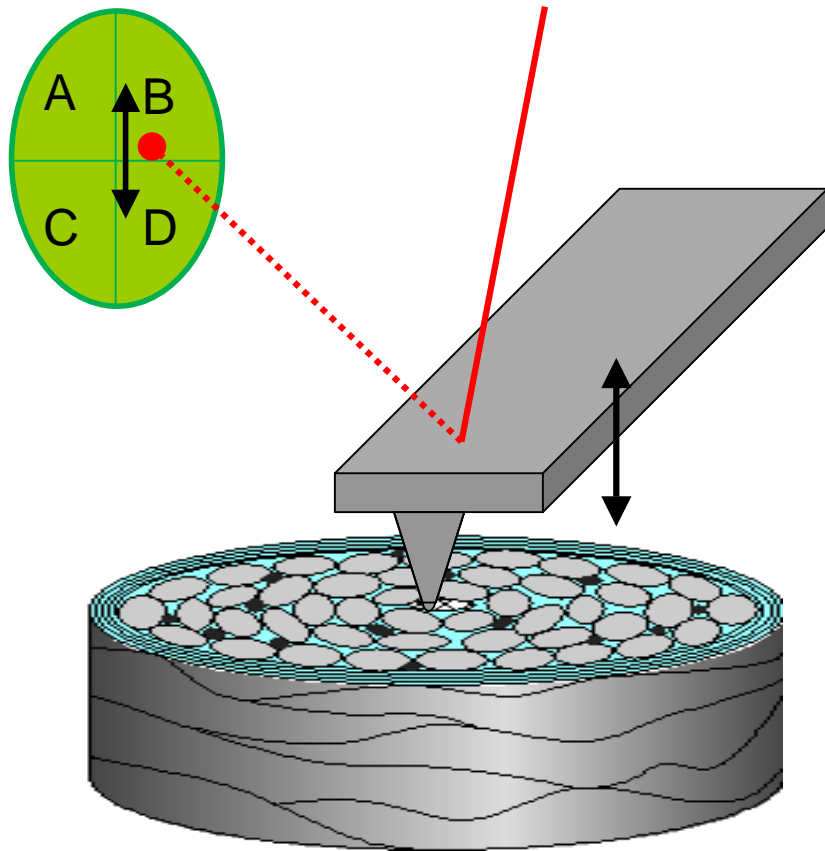
# 毛髪の構造と物性の研究について

ホーユー株式会社 総合研究所  
基盤技術研究室 北野宏樹

- 原子間力顕微鏡 (AFM) と透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いた毛髪の微細構造観察について
- 原子間力顕微鏡を用いた毛髪内部組織の物性評価について

# 原子間力顕微鏡

先端が数10 nmの探針で試料をなぞり、試料の凹凸や物性を評価することのできる顕微鏡



カンチレバー



<http://www.olympus.co.jp/>

# TEMとAFMの違いについて

## 透過型電子顕微鏡

### 長所

ナノメートルオーダーで非常に明瞭なイメージを得ることができる。

染色する金属の種類を変えることで組成に関する情報を得ることができる。

### 短所

観察が真空中に限定される。

未固定未染色では微細構造がはっきりせず組織固定及び金属染色の必要がある。

切片作成時にタンパク質の欠落などが起こる可能性がある。

## 原子間力顕微鏡

- ➡ 大気中、液中での測定が可能
- ➡ 微細構造と同時に力学的物性を取得可能

# AFMによる微細構造の観察について

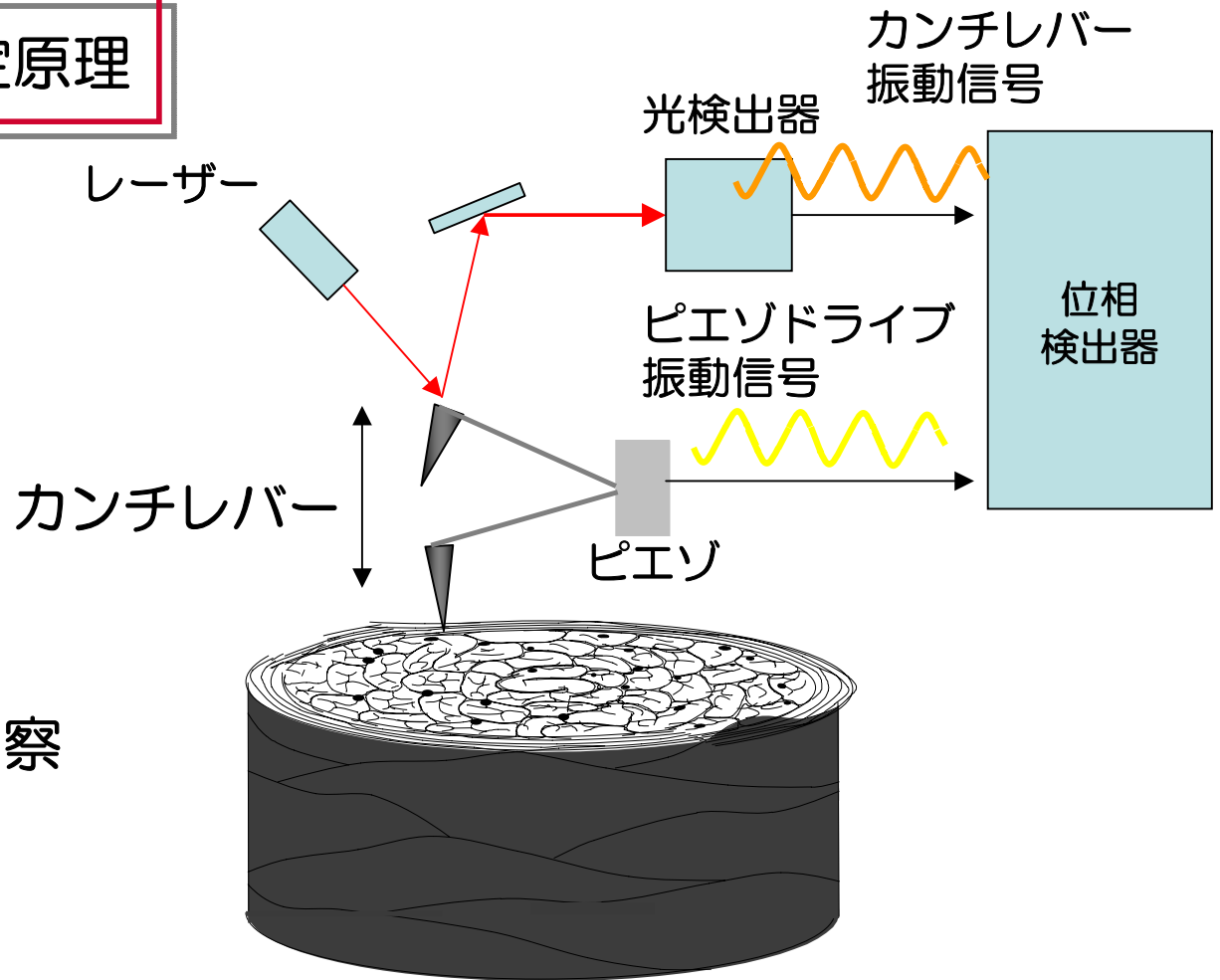
## サンプル調製

細断した毛髪

平滑な切断面の作製

Tappingモードによる  
phase イメージングにて観察

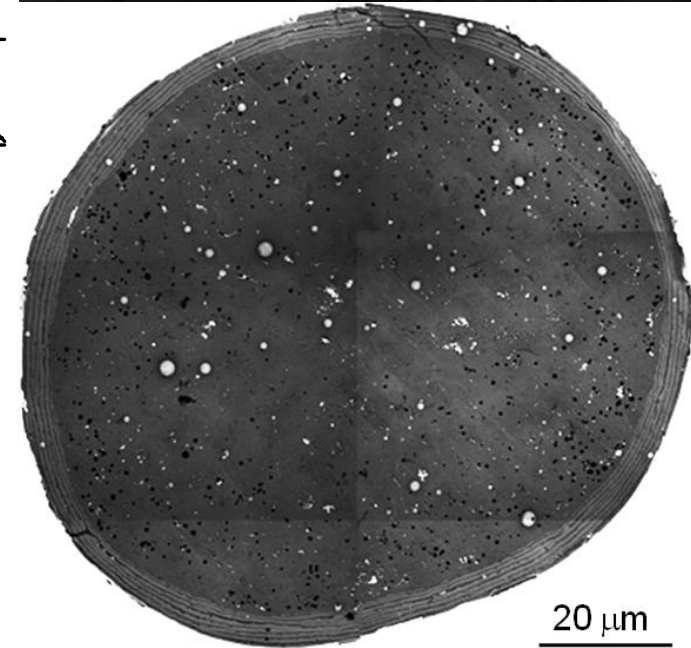
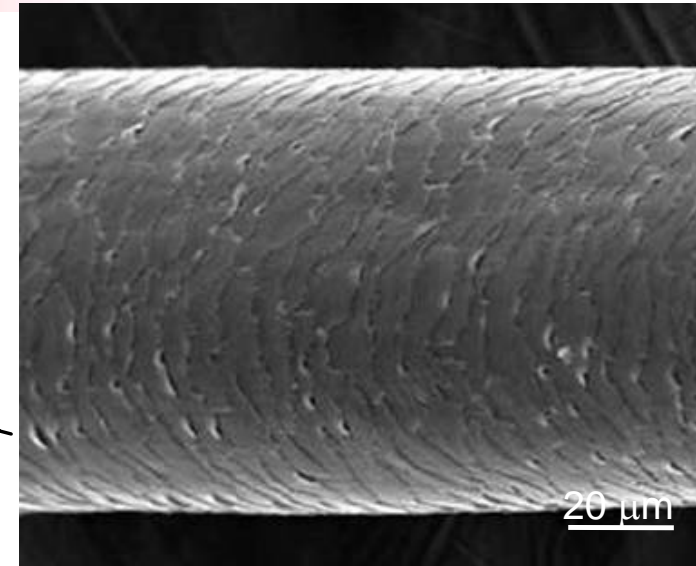
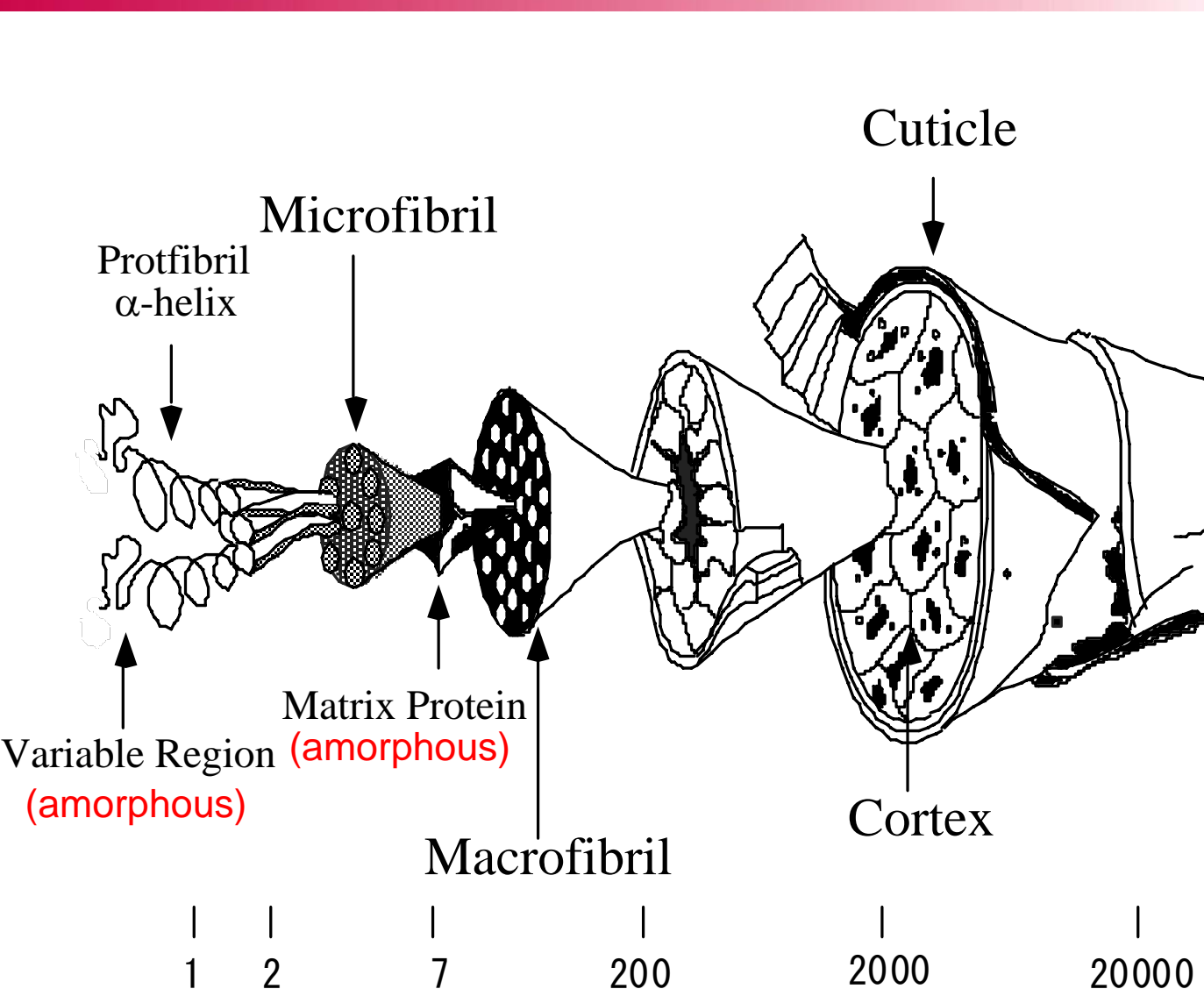
## 測定原理



カンチレバーを振動させるピエゾドライブ信号に対するカンチレバーの振動信号の位相の遅れを検出。  
試料中の組織間の力学的物性の違い（粘弾性、凝着力など）によってコントラストをつける手法

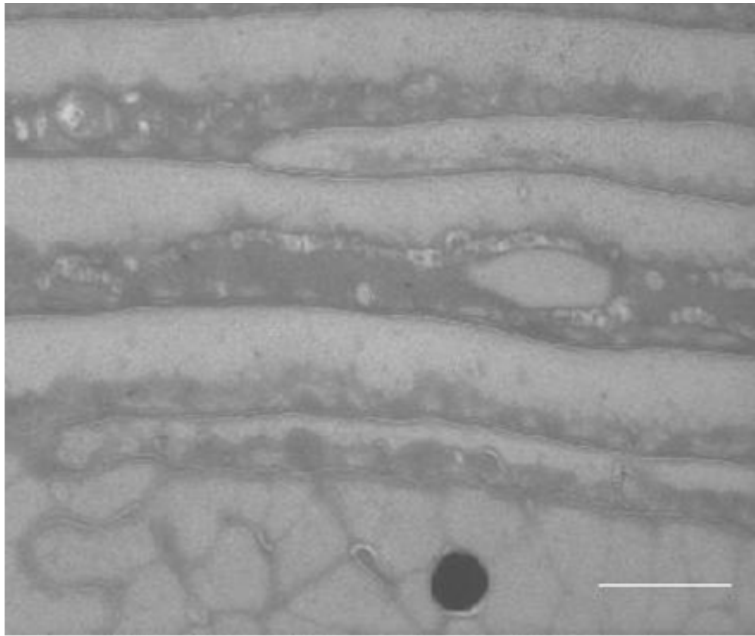
# 毛髪の微細構造について

# 毛髪の階層構造について



# キューティクル、コルテックスについて

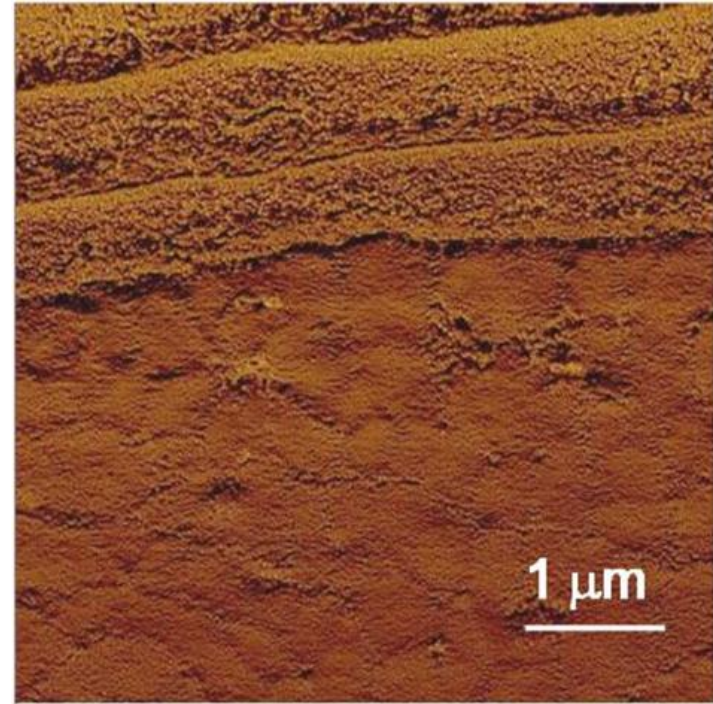
TEM像



cuticle

Cortex

AFM Phase像

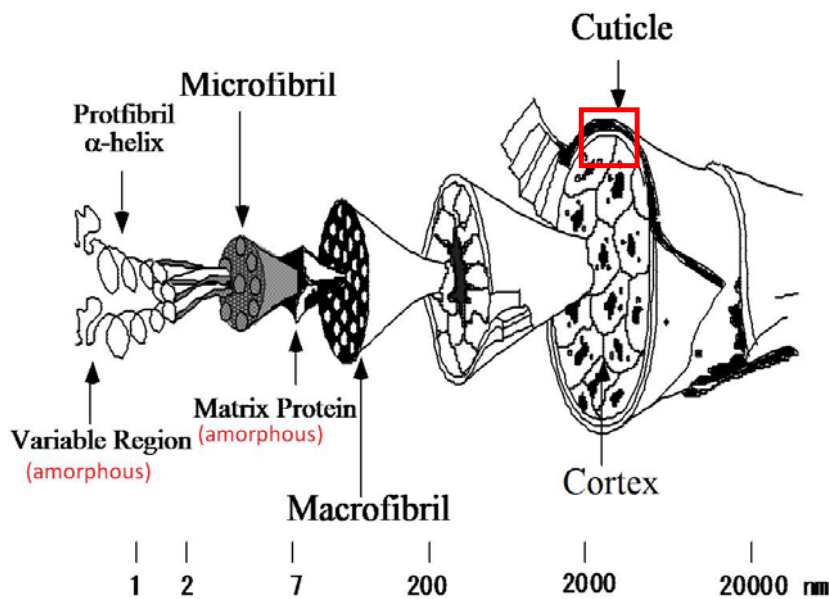


25.0°

12.5°

0°

1 μm



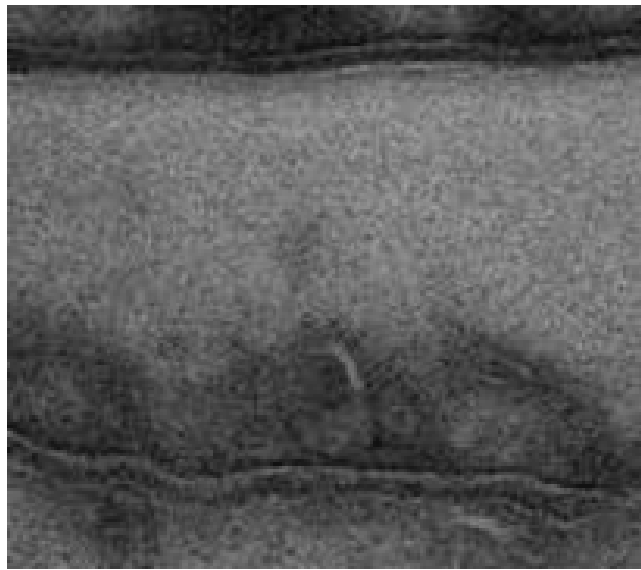
観察部位



# キューティクルの微細構造について

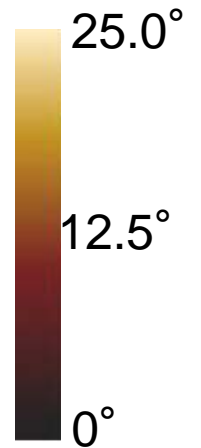
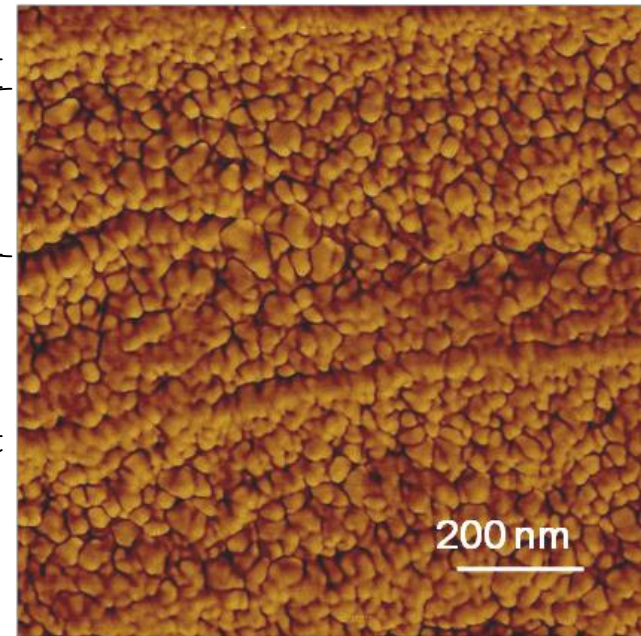
# キューティクルの微細構造

TEM像



A-layer  
exocuticle  
endocuticle  
CMC

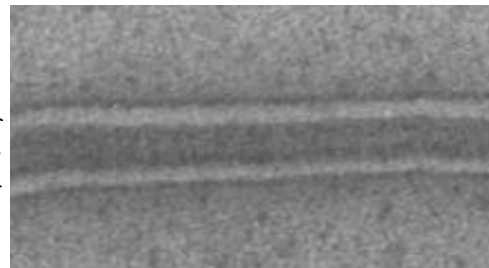
AFM Phase像



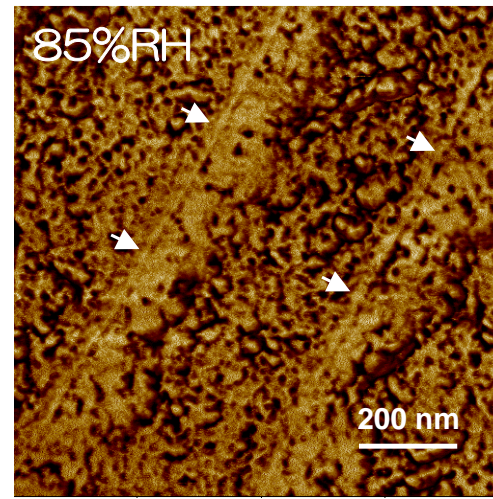
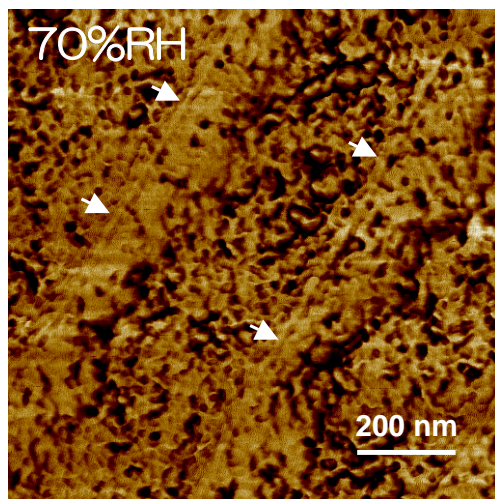
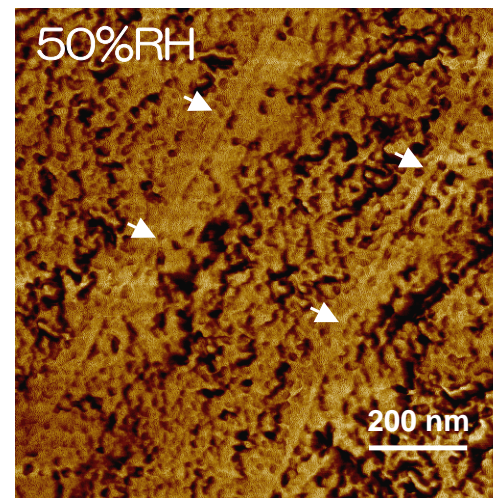
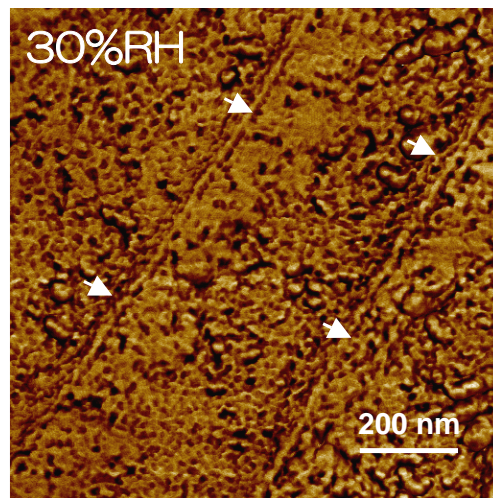
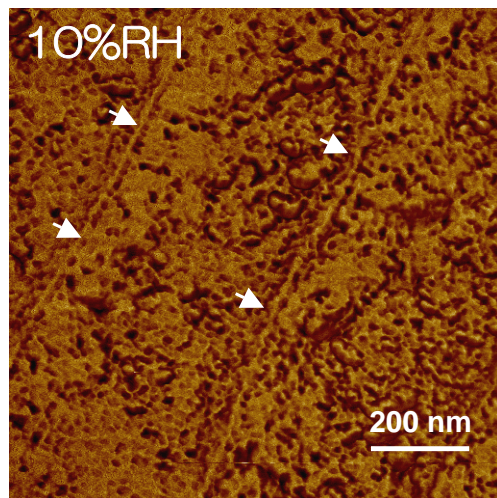
$\beta$ -layer

$\delta$ -layer

$\beta$ -layer



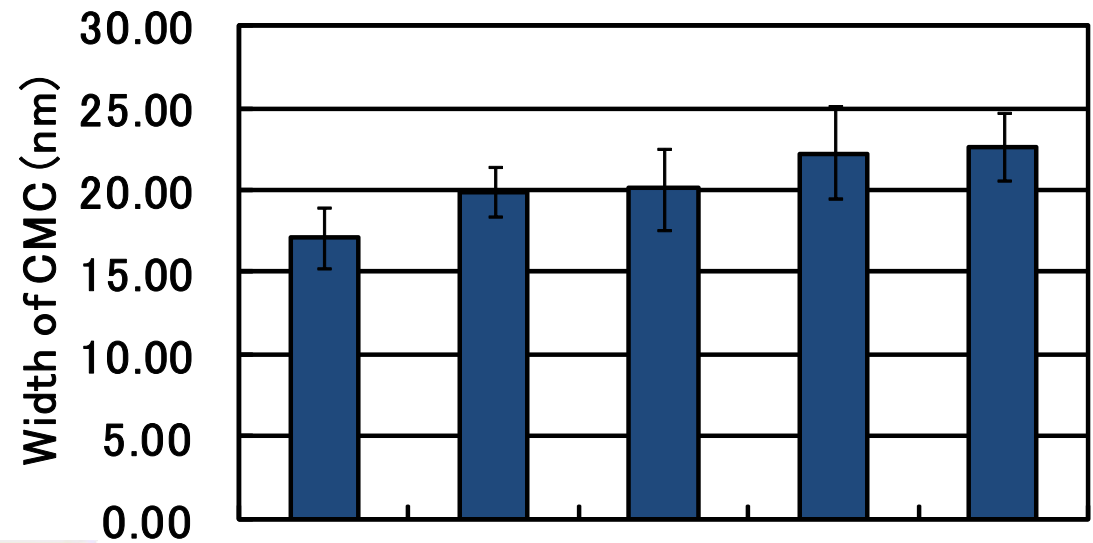
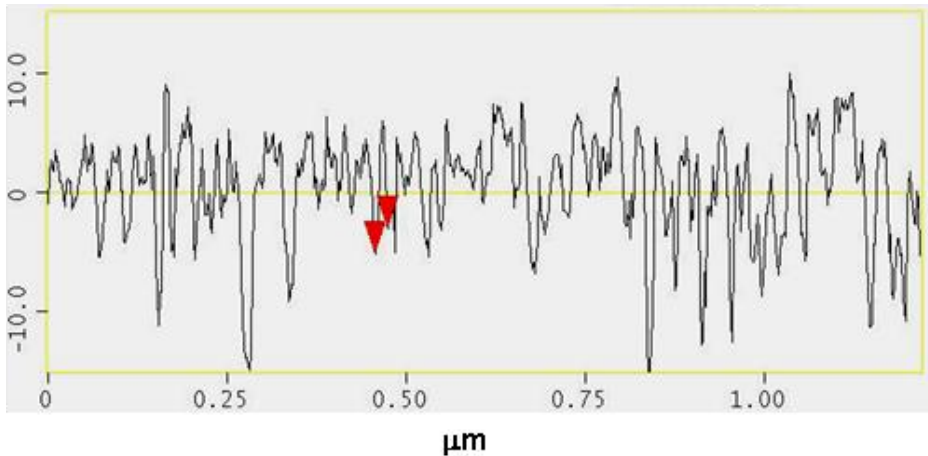
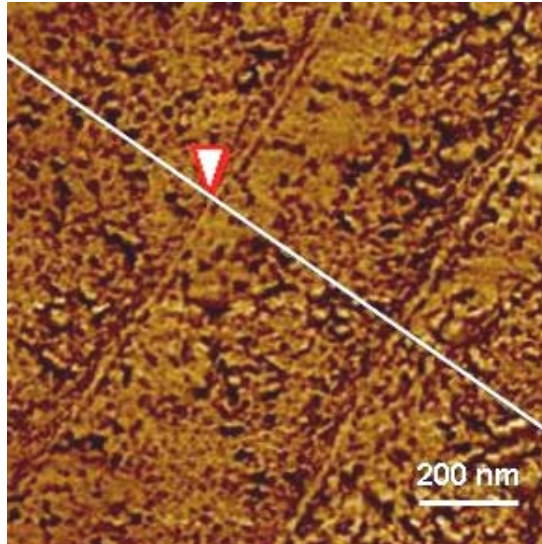
# キューティクル CMCの湿度変化に対する構造変化



10%RH~85%RHの条件下で、キューティクル細胞の微細構造をイメージングできた。  
図中矢印がキューティクル細胞境界に存在するCMC（細胞膜複合体）である

# キューティクルCMCの構造変化

Cross Section解析にて、各湿度におけるキューティクルCMCの厚さを任意の30点にて測定した。

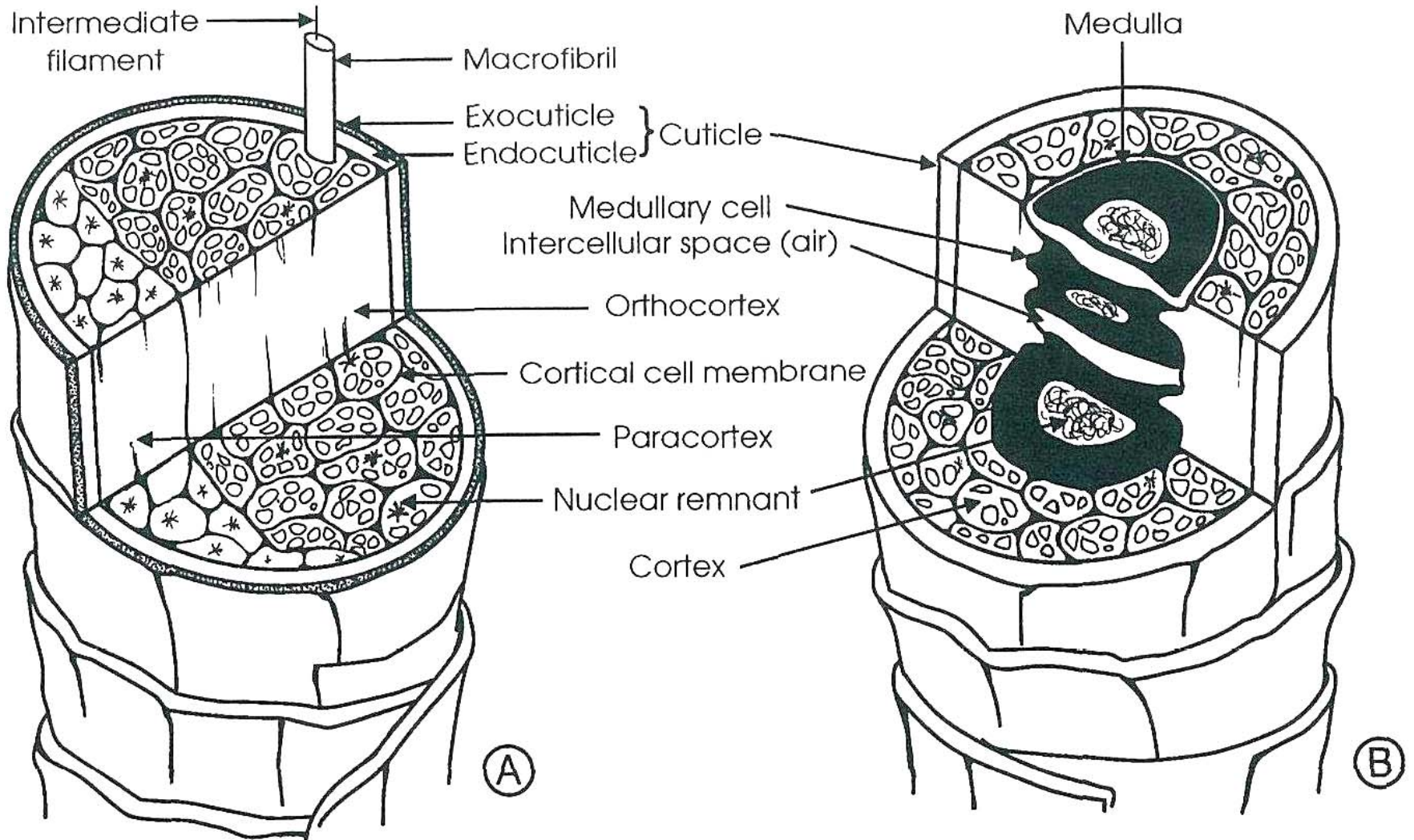


10%RH 30%RH 50%RH 70%RH 85%RH  
Relative humidity(25±1°C)

相対湿度の上昇によりCMCは膨潤しており  
10%RHと85%RH時を比較すると約30%  
膨潤している。

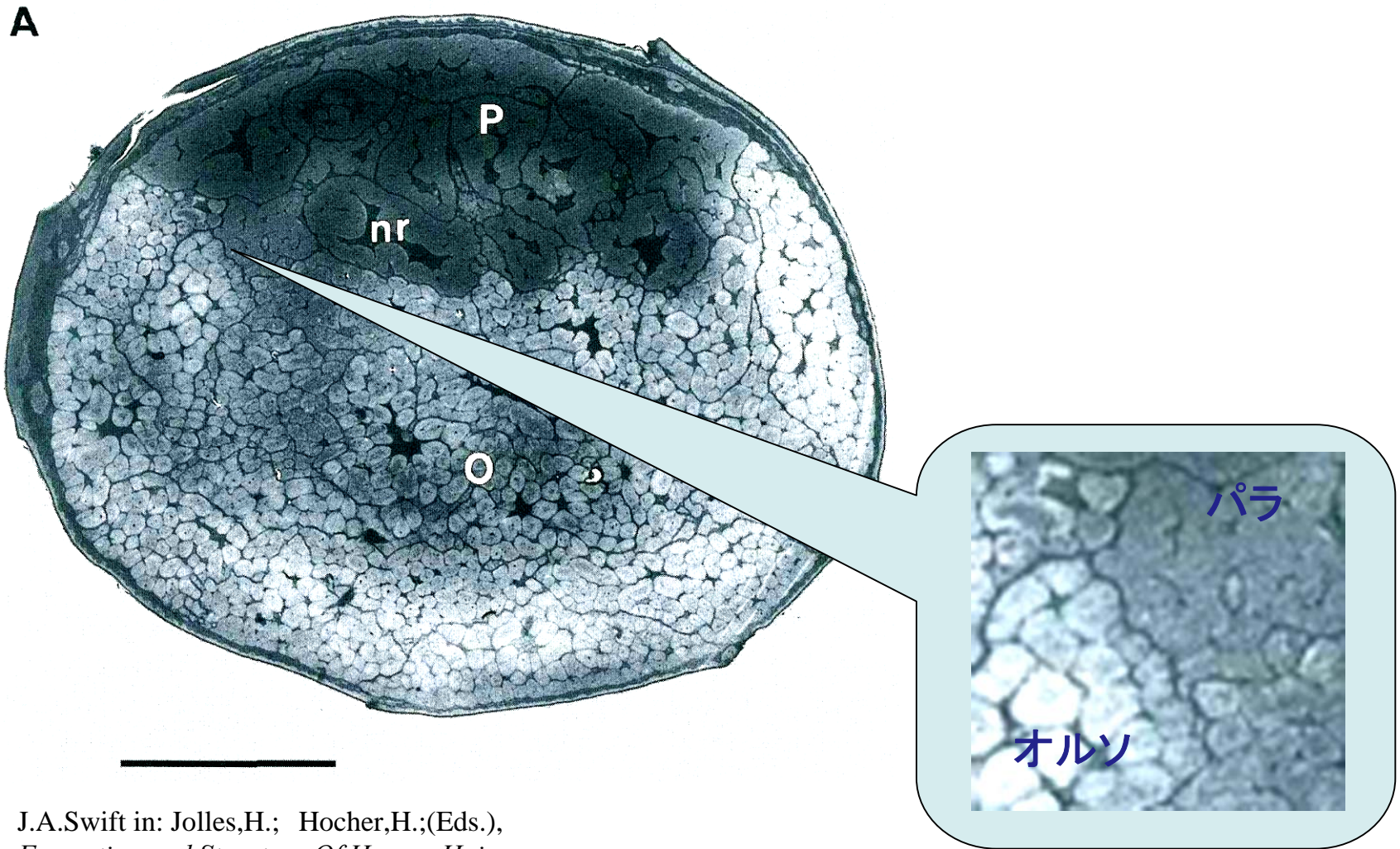
# コルテックスの微細構造について

# 羊毛と人毛の構造について



B.C.Powell and G.E.Rogers in: Jolles,H.; Hocher,H.:(Eds.),  
*Formation and Structure Of Human Hair*,Birkhauser,Basel 1997,59

# 羊毛のオルソコルテックスとパラコルテックスについて



J.A.Swift in: Jolles,H.; Hoher,H.:(Eds.),  
*Formation and Structure Of Human Hair*,  
Birkhauser,Basel 1997,149

# 人毛の場合は...

アフリカン  
(woolly)

おおよそ1:1の割合でパラとオルソが、  
ランダムに存在する



コーカシアン  
(curly)

ほとんどがパラであるが、カールの  
内側に1細胞分のオルソが存在する



モンゴロイド  
(straight)

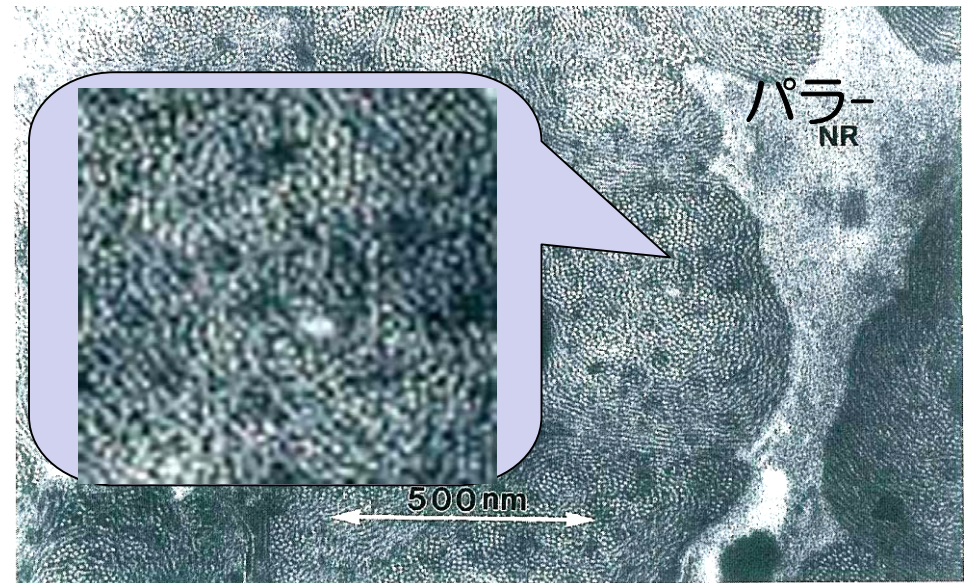
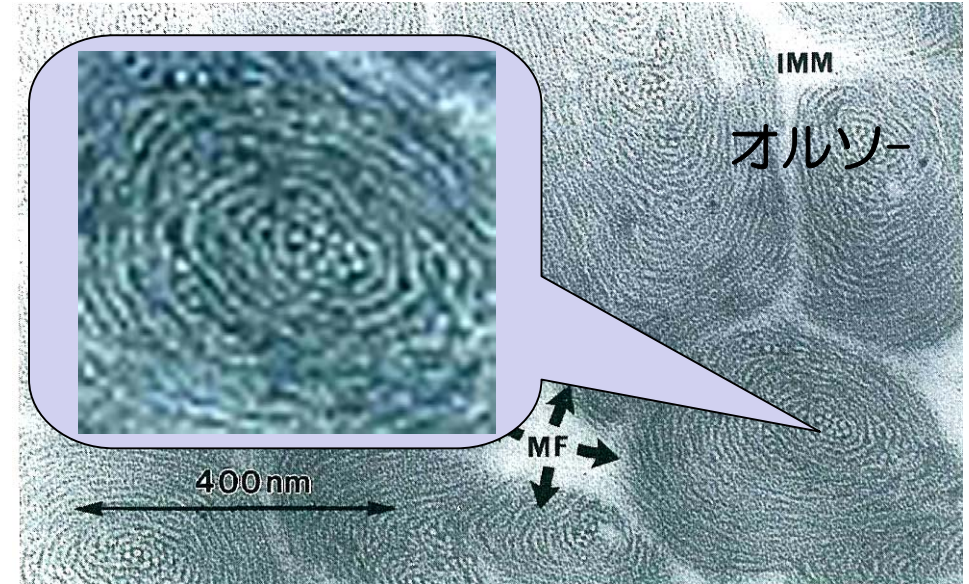
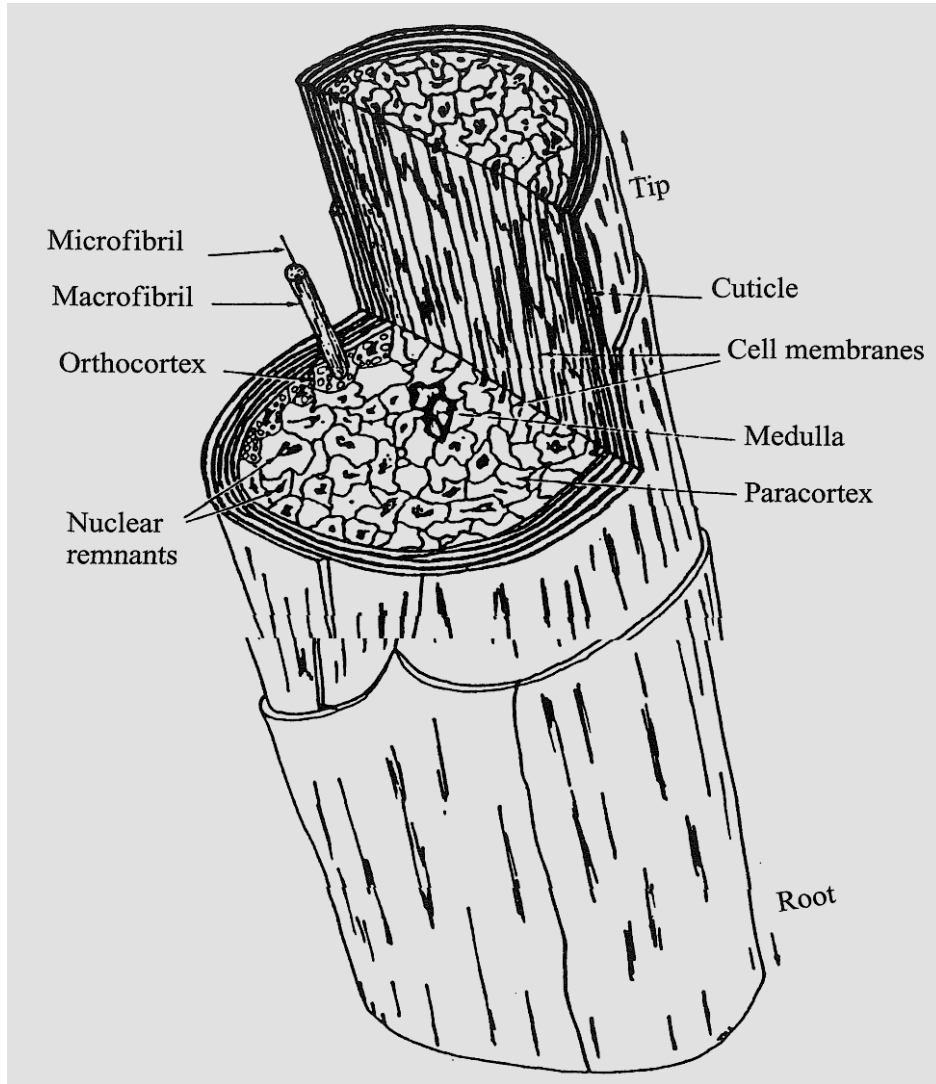
すべてパラ



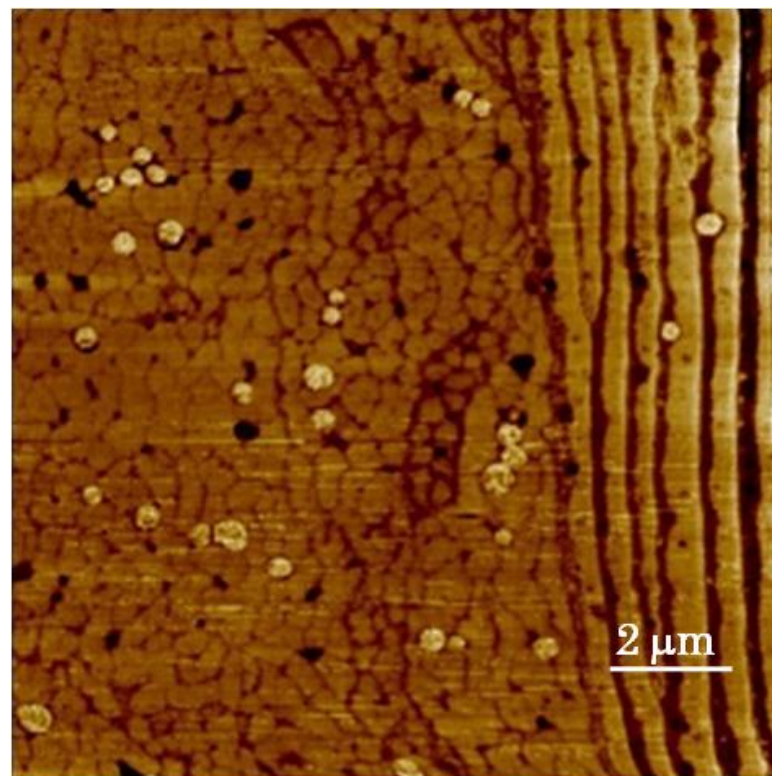
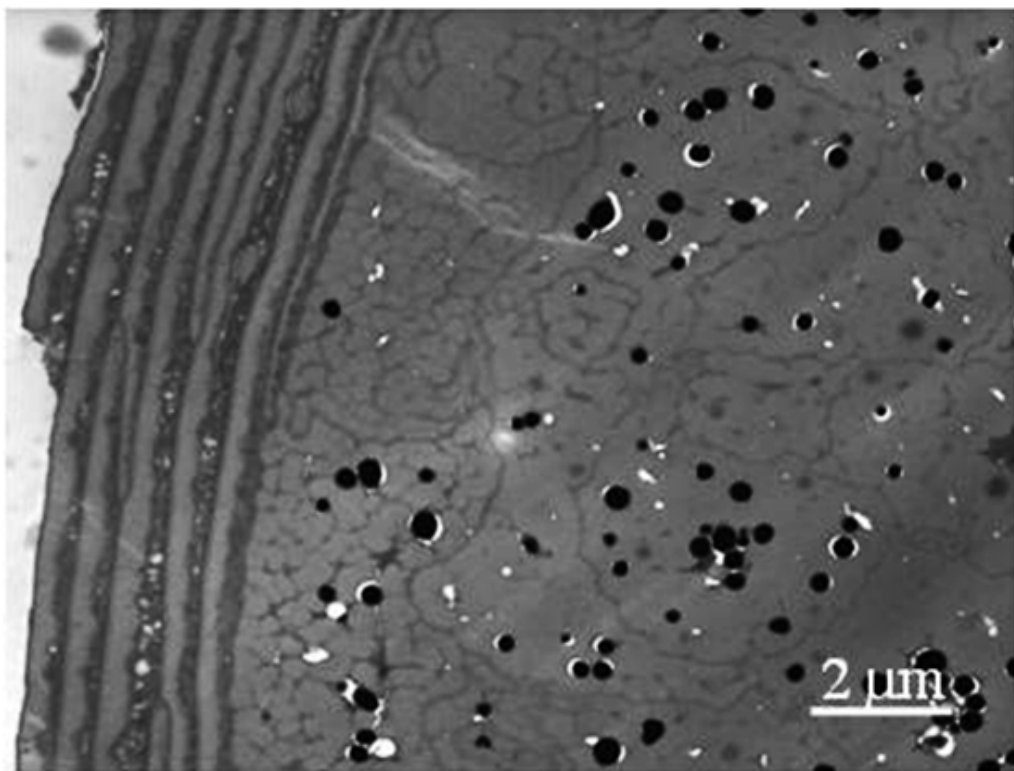
J.A.Swift in: Jolles,H.; Hocher,H.:(Eds.),  
*Formation and Structure Of Human Hair*,  
Birkhauser,Basel 1997,149



# コーカシアン毛のオルソコルテックスと パラコルテックスについて



# 日本人の毛髪横断面



# マイクロフィブリルの観察について（横断面）

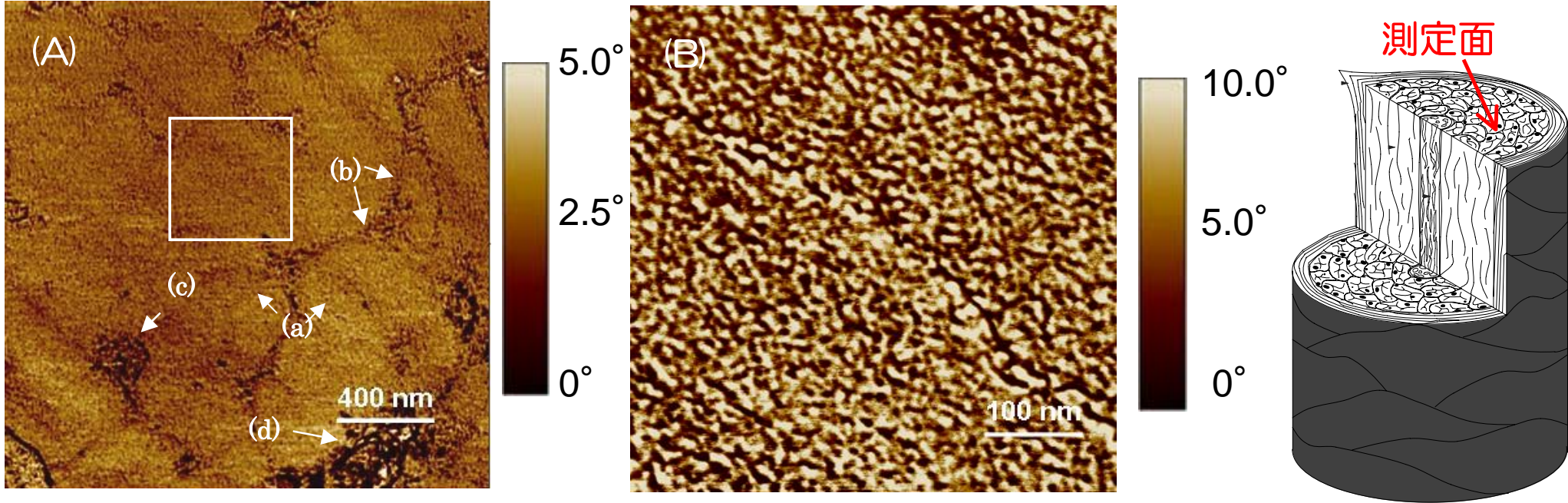


Fig. (A) コルテックス細胞の横断面

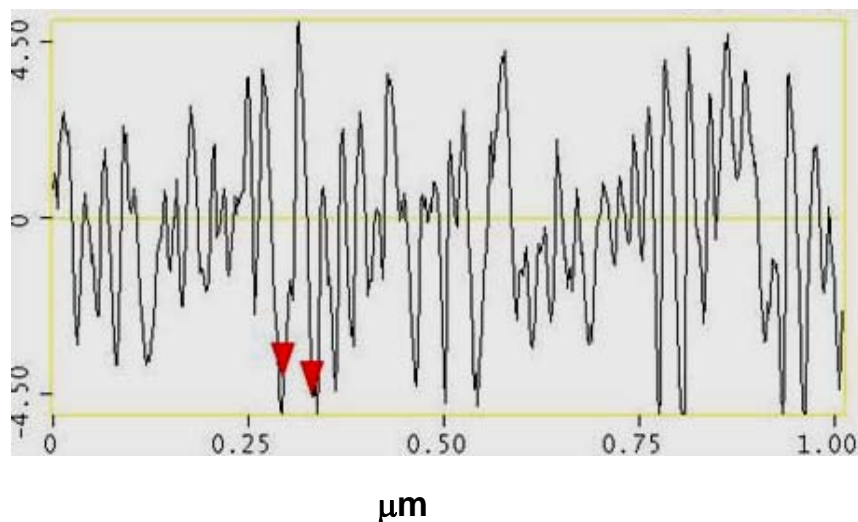
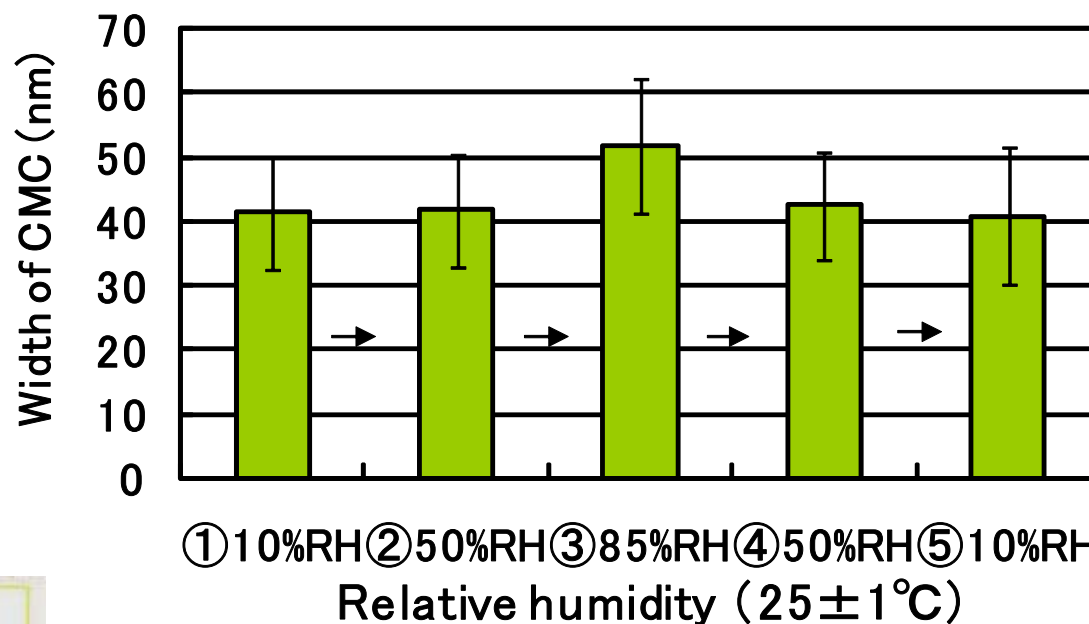
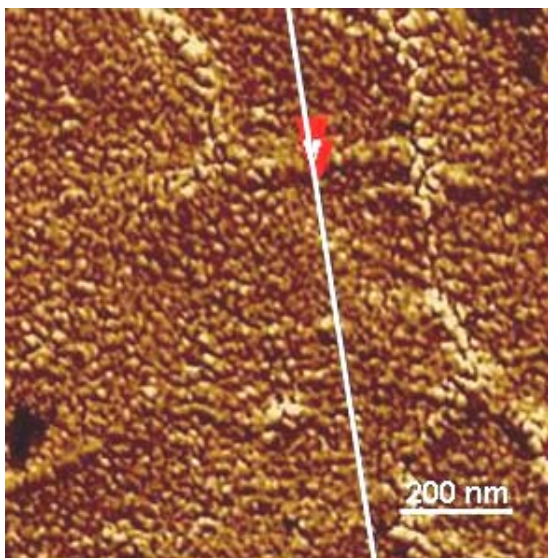
(a) コルテックス (b) コルテックスCMC (c) メラニン (d) 核の残渣

Fig. (B) (A)の白枠（コルテックス）の領域を拡大

明るい粒子状の構造がマイクロフィブリル、その間の暗い部分がマトリックス

# コルテックスCMCのサイズ変化

キューティクルCMCの構造変化測定と同様の方法で、10%RH→85%RH→10%RHと湿度変化させたときのコルテックスCMCのサイズ変化を測定した



相対湿度の変化に対し、CMCのサイズは可逆的に変化する。

# マイクロフィブリルの観察について（縦断面）

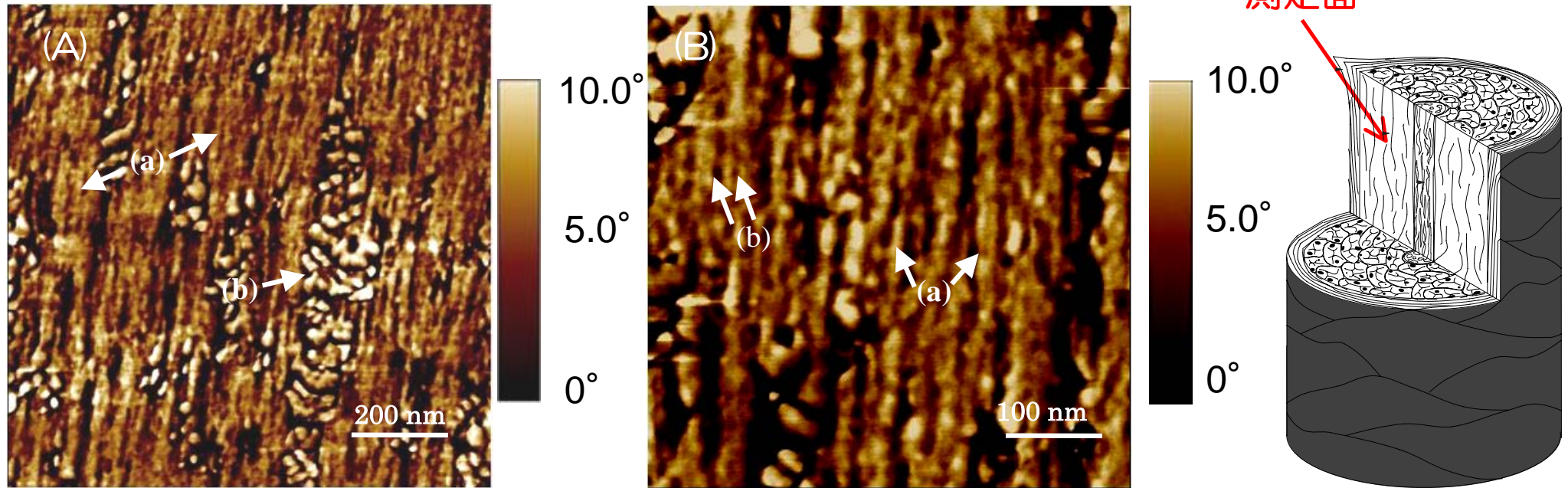
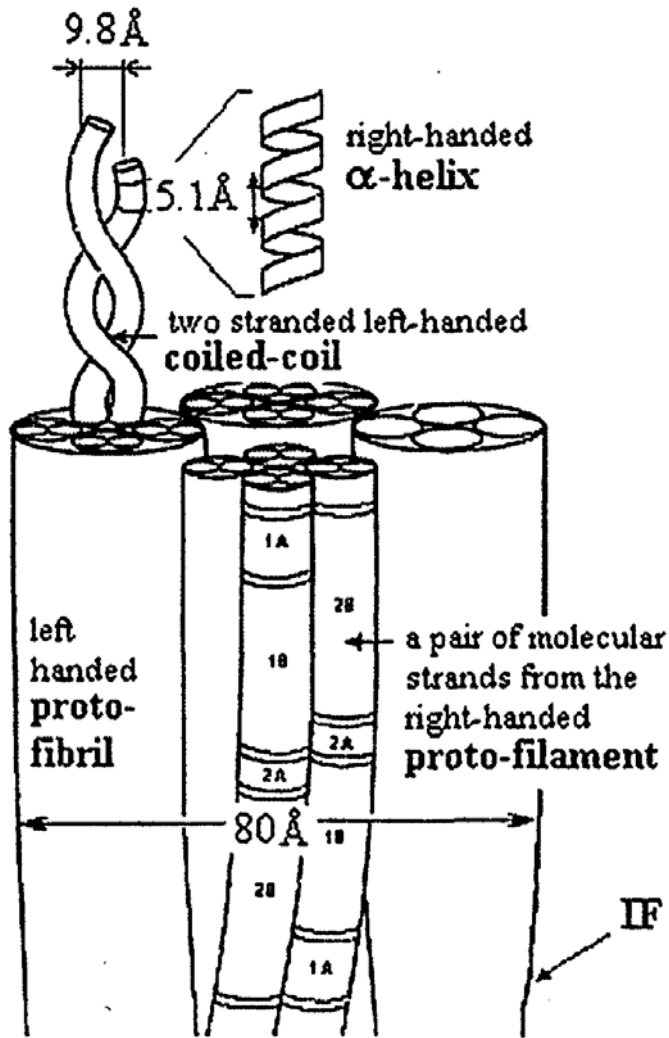


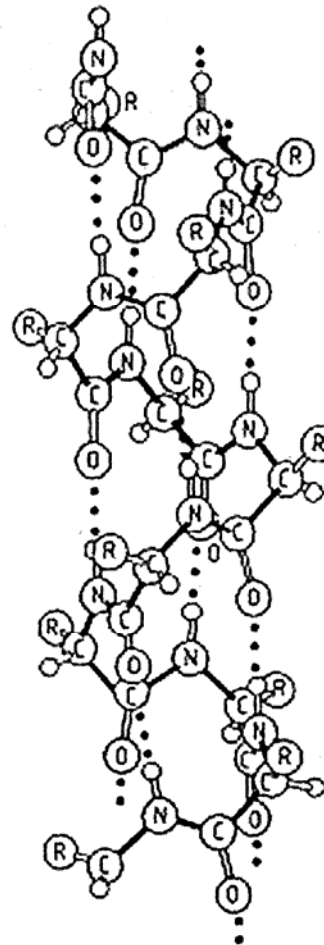
Fig. (A) コルテックス細胞の縦断面  
(a) マクロフィブリル (b) 核の残渣

Fig. (B) マクロフィブリルの拡大イメージ  
(a) ミクロフィブリル (b) マトリックス

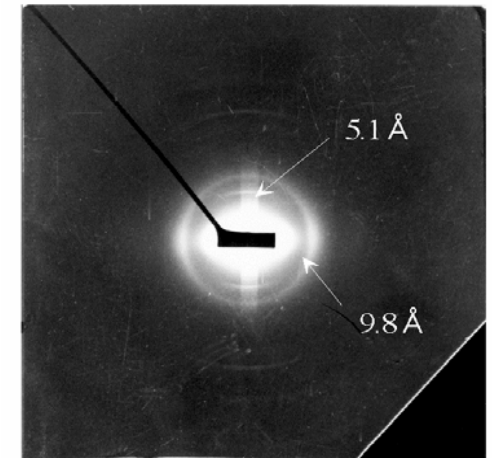
# マイクロフィブリルの微細構造について



The morphology of microfibril<sup>1)</sup>



The arrangement of amino acid residues into the  $\alpha$ -helical conformation<sup>2)</sup>



X-ray diffraction pattern for an  $\alpha$ -keratin fibre

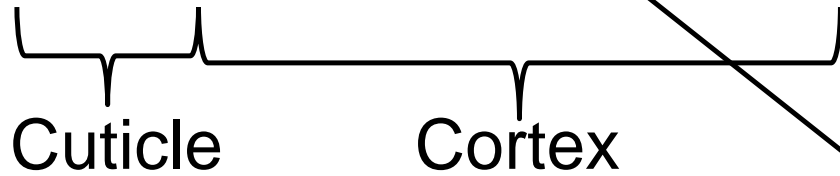
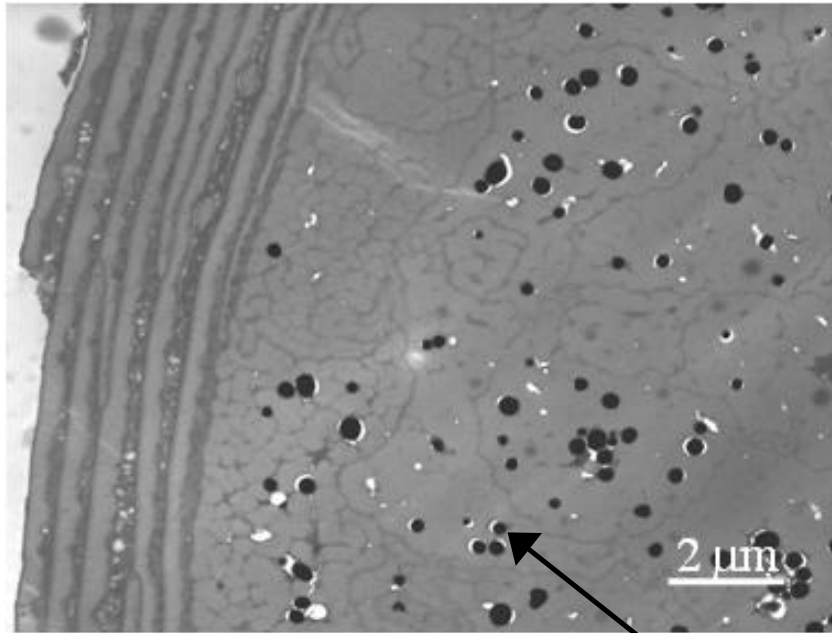
1) C.R. Robbins, Chemical and physical behaviour of human hair, Springer Verlag, New York, 1994 p.35

2) L. Pauling, R.B. Corey and H.R. Branson, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1951, 37, 205

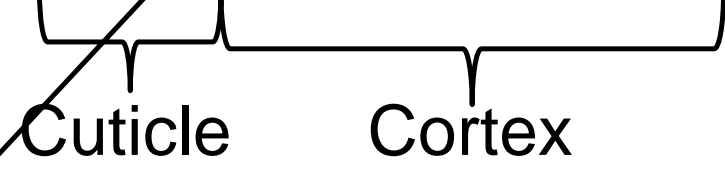
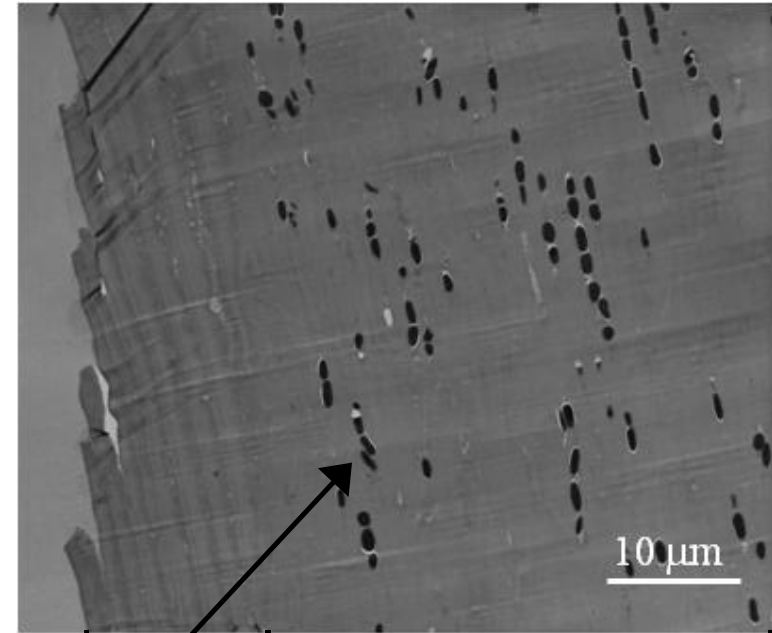
メラニンについて

# メラニンについて

毛髪横断面



毛髪縦断面



Melanin

メラニンは横断面ではランダムに存在しているが、縦断面を見てみると、いくつかのメラニンが並んで存在している

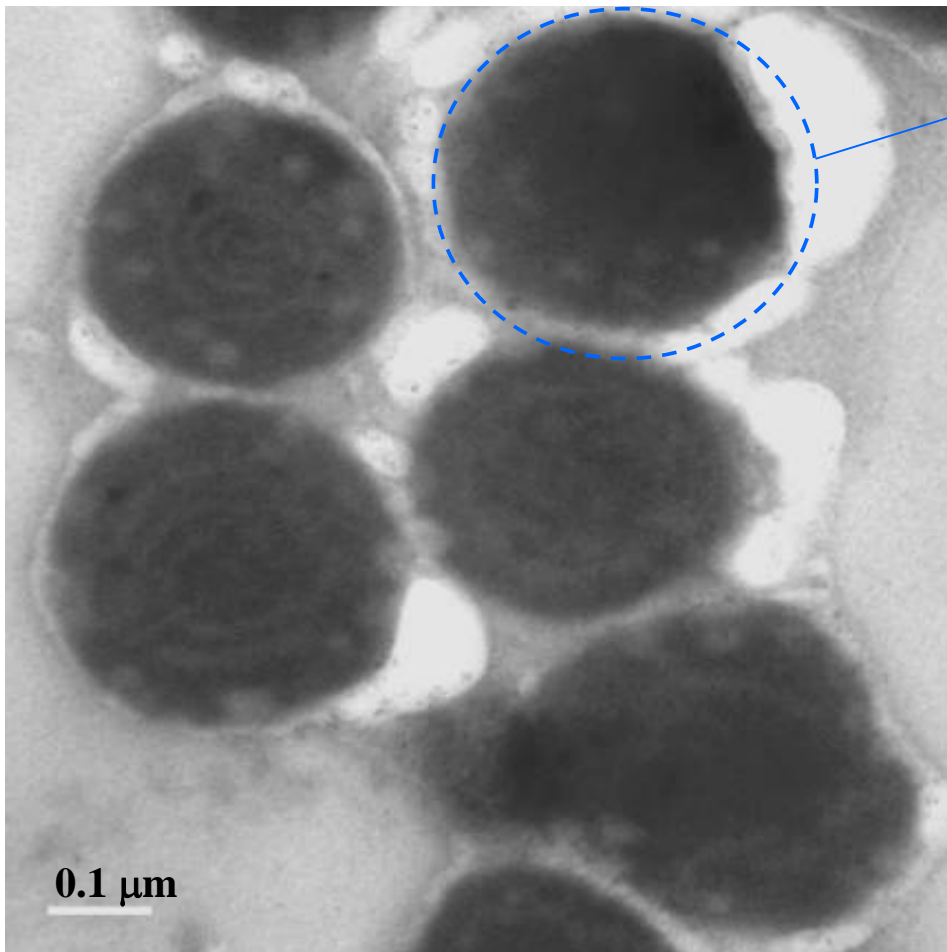


# メラニンの微細構造について①

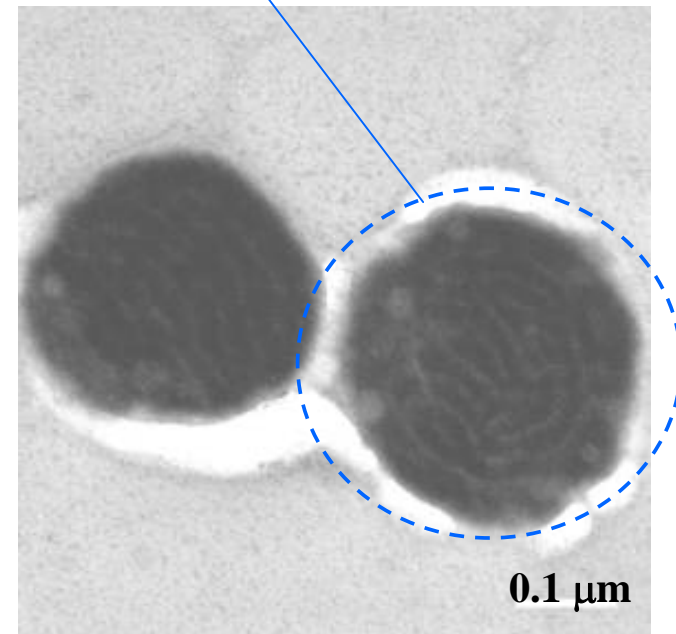
## サンプル

- ・一般的な黒髪
- ・Os固定あり・電子染色あり

- ・渦巻き状、ラメラ状の構造を確認
- ・外周部には球状物も点在

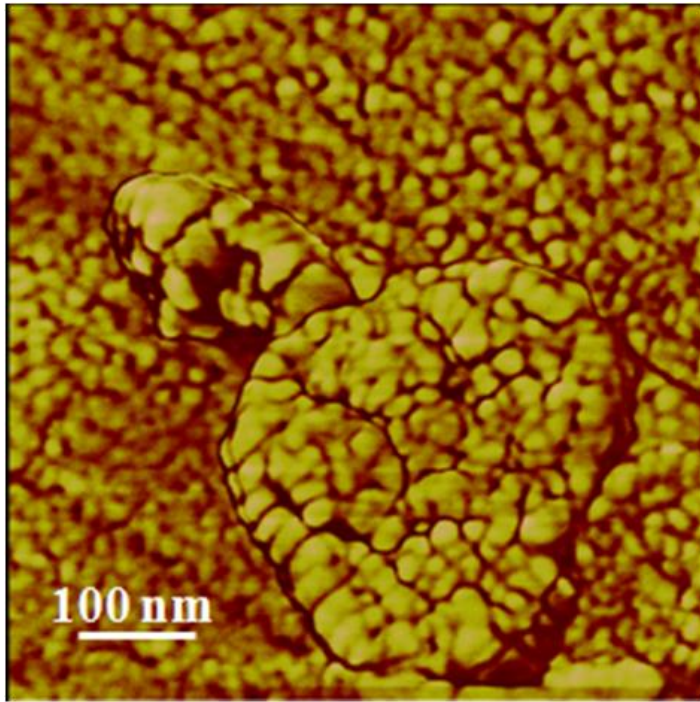


1個のメラニン 顆粒

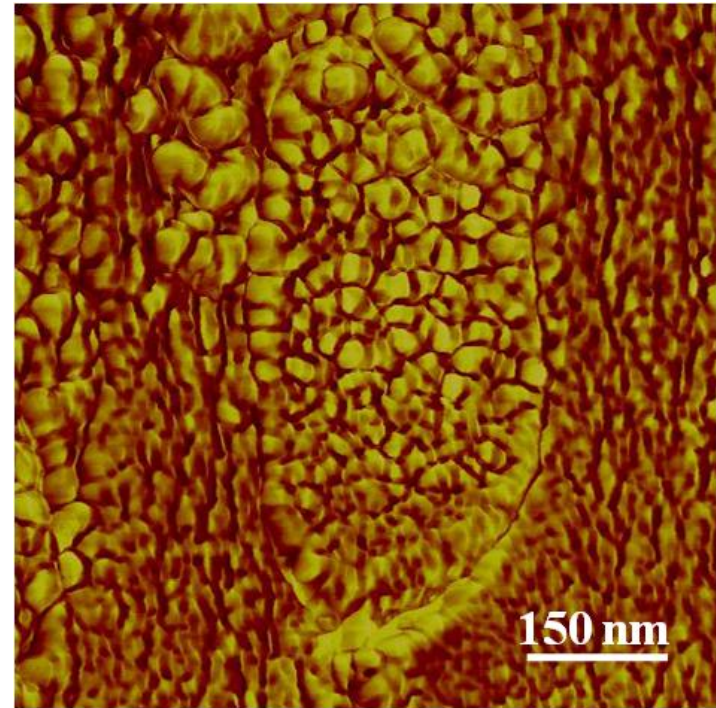


# メラニンの微細構造について②

横断面



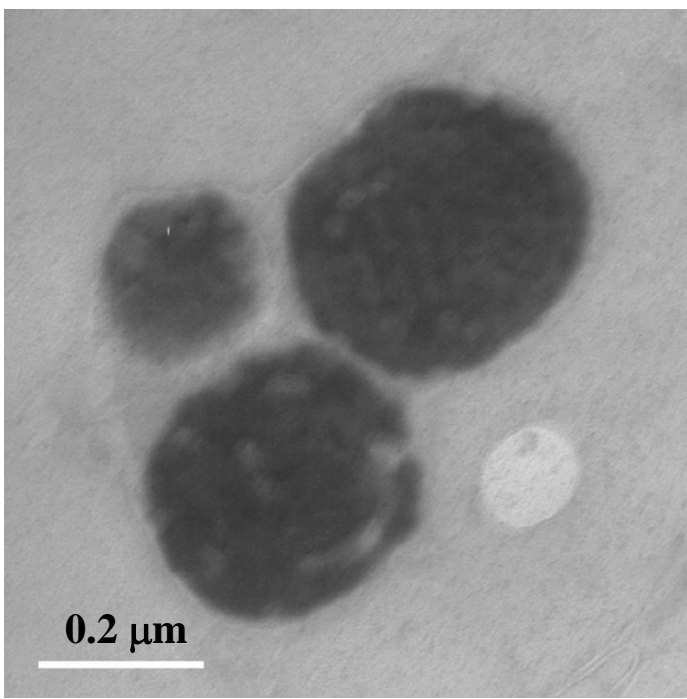
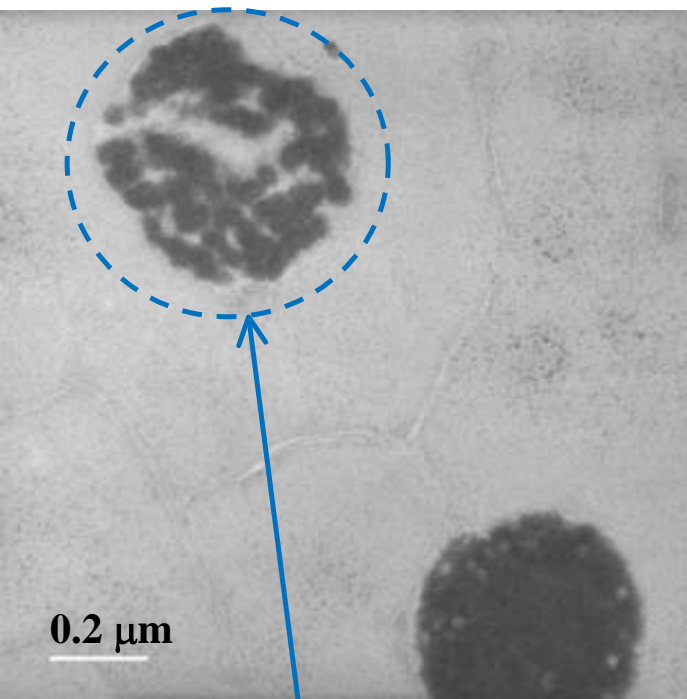
縦断面



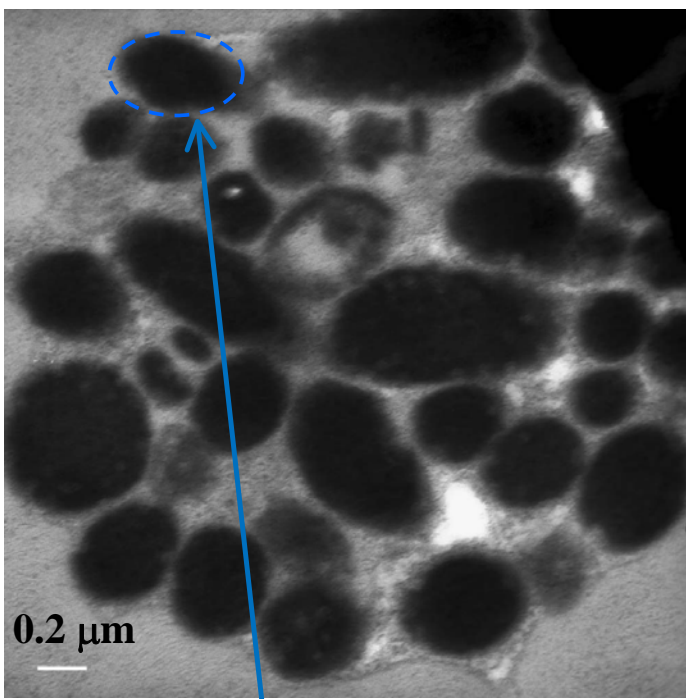
1つのメラニン顆粒は数十nm程度の粒子により構成されている。

# メラニンの微細構造について③

不完全なメラニン顆粒



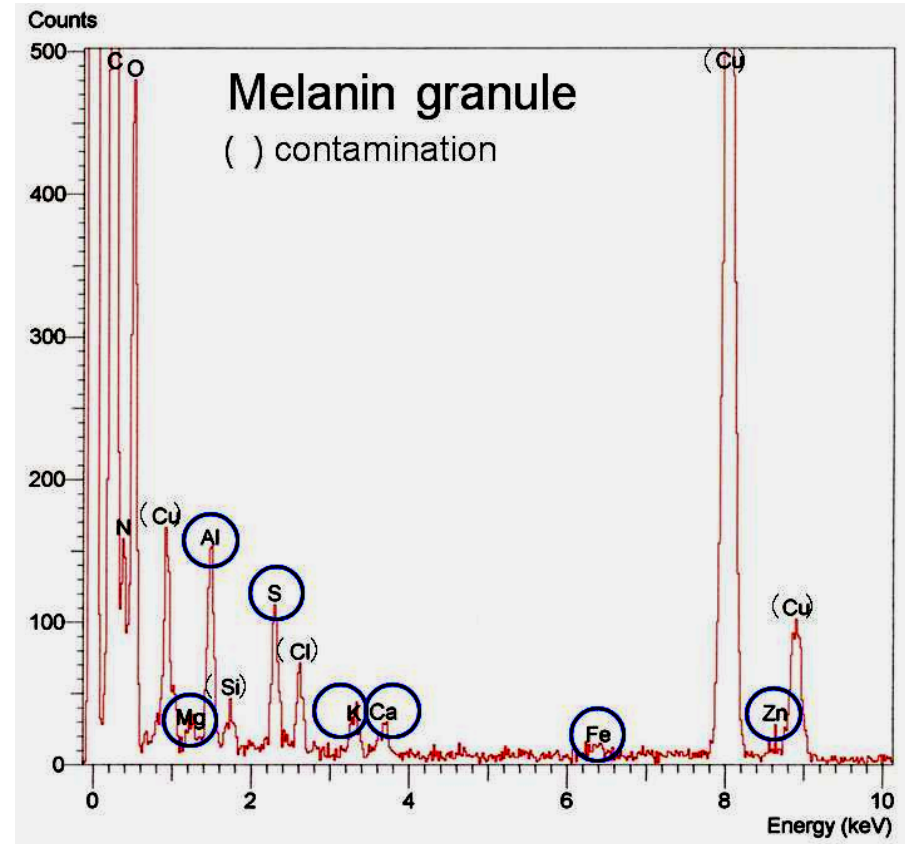
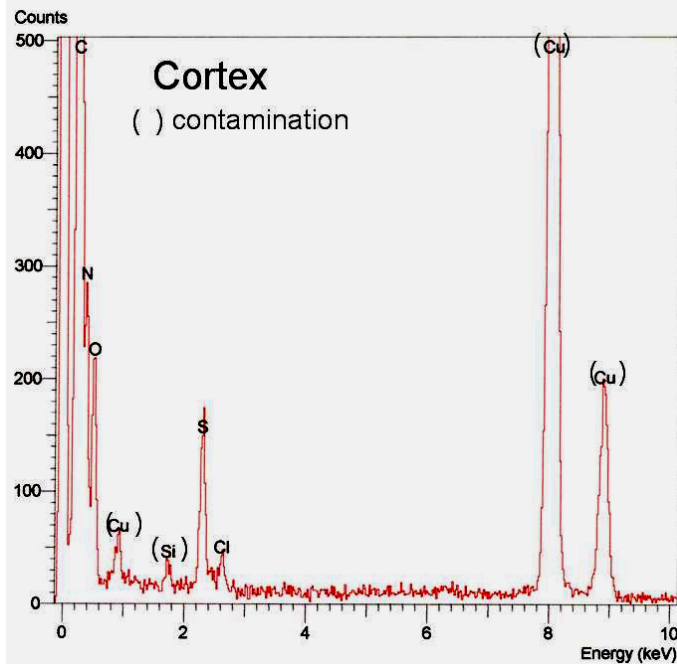
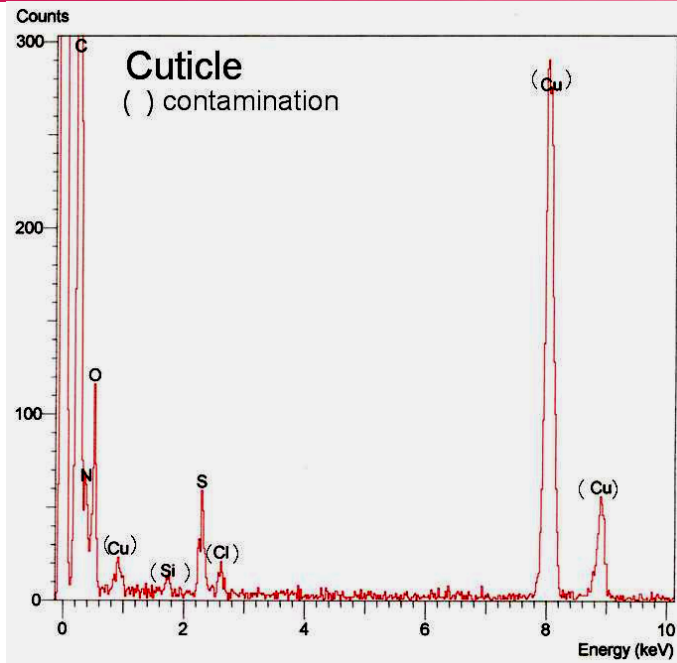
メラニン顆粒が集合



メラニンを構成する  
数十nmの粒子同士が  
離れた状態で存在している

メラニン顆粒

# TEM-EDS(Energy Dispersive X-ray Spectrometer)による 各組織の元素分析

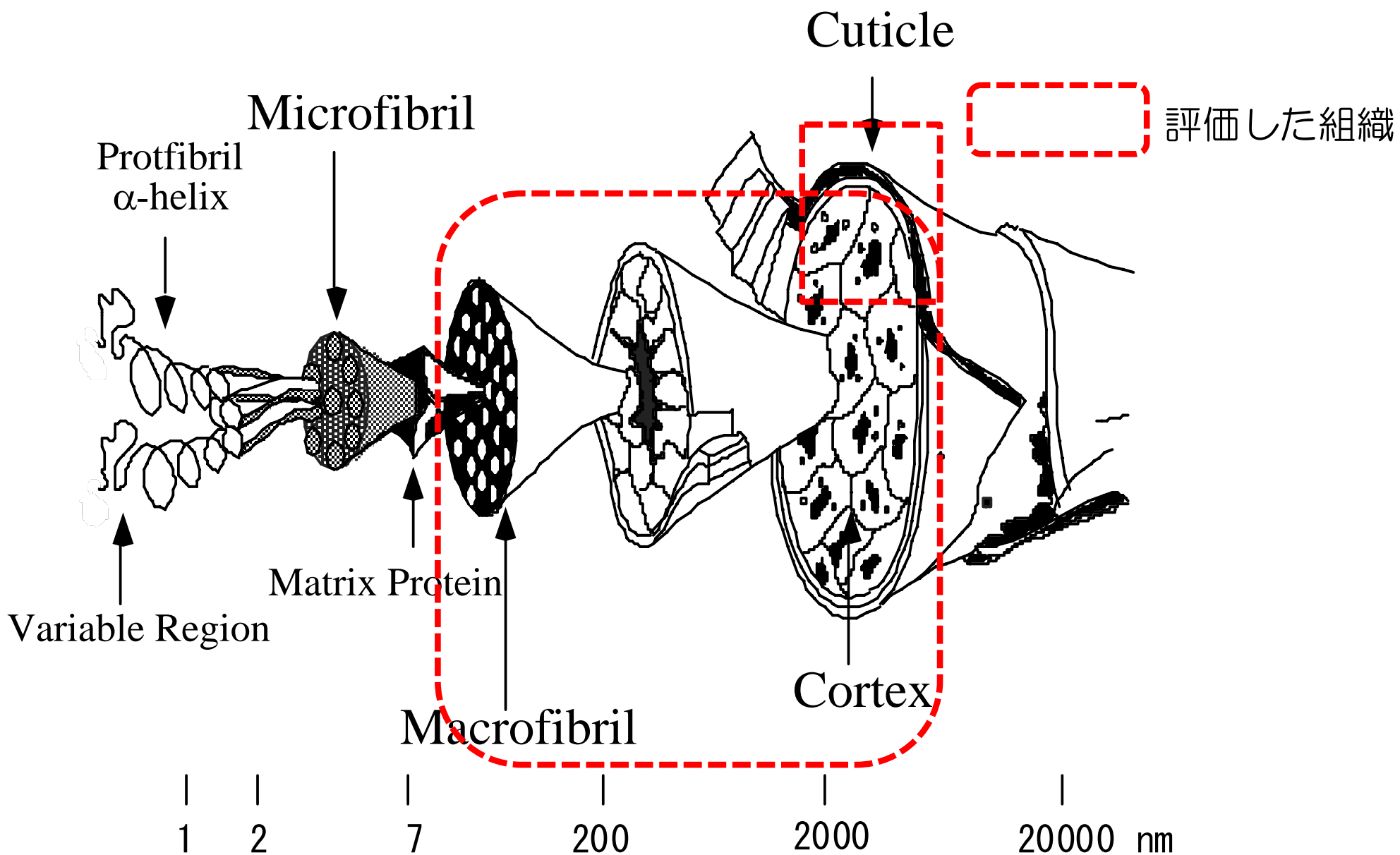


Mg, Al, Ca などが検出される

# 毛髪内部組織の力学的物性について

-原子間力顕微鏡を用いた弾性率マッピング-

# 評価した組織



# フォースカーブ測定

サンプル調製

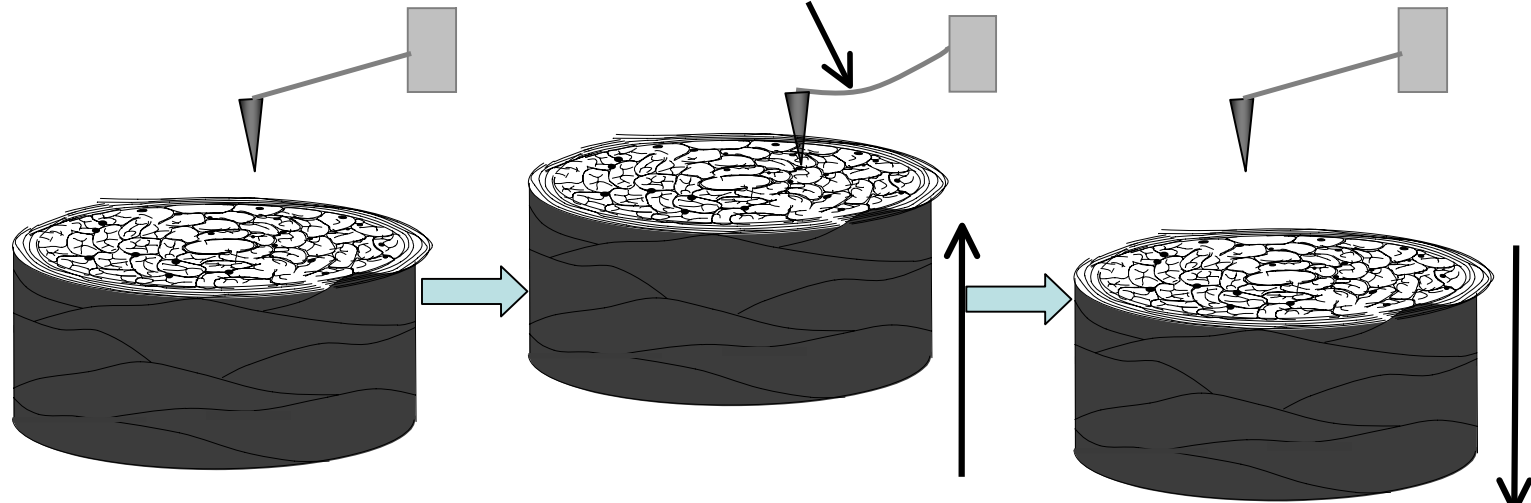
測定動作

試料を探針に押し付ける。

細断した毛髪

カンチレバー

カンチレバーの反り



平滑な切断面の作製

観察

カンチレバー：タッピング/ノンコンタクト用シリコン製カンチレバーを使用  
バネ定数9~40 N/m

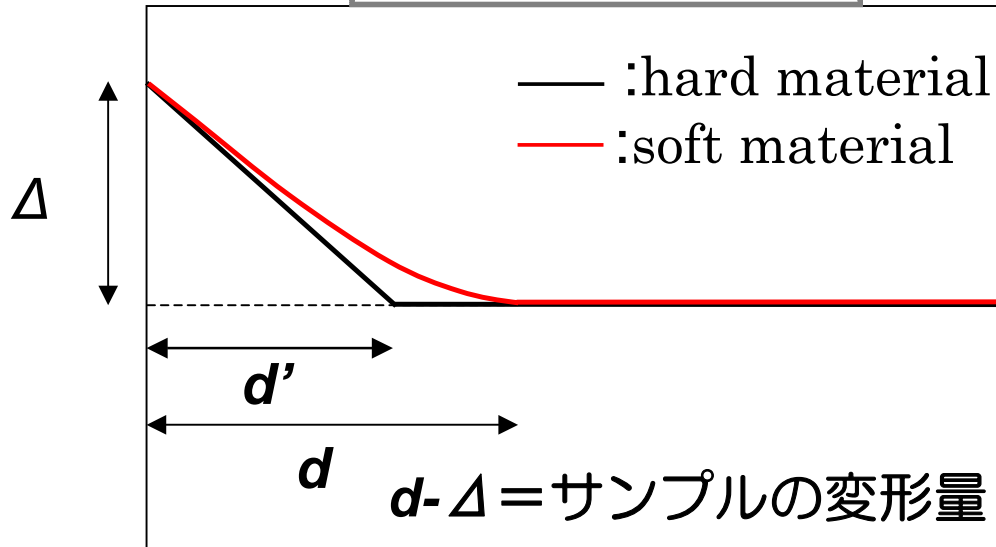
(ex. 通常コンタクトモードに使用されるカンチレバーのバネ定数0.01~0.6 N/m)

# 弾性率の算出

## フォースカーブ

ヘルツ接触のモデルにより算出

プローブの高さ (nm)



$$d - \Delta = \sqrt{\frac{\pi F(1-\nu^2)}{2 E \tan \alpha}}$$

$F = k \Delta$   $k$ : プローブのバネ定数  
 $\Delta$ : プローブのそり

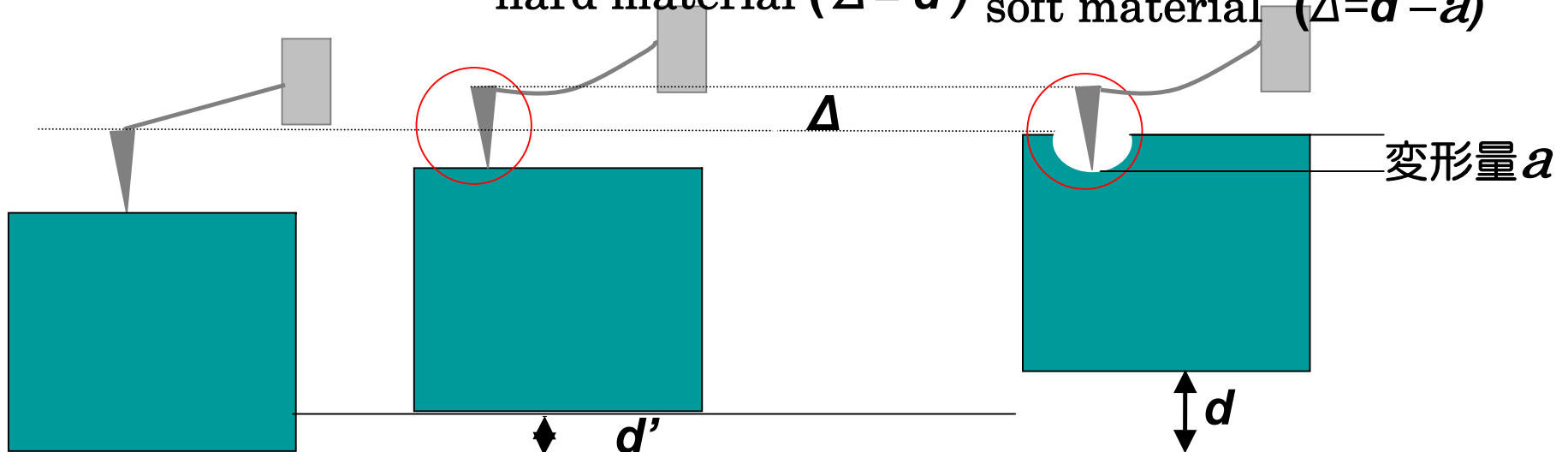
$\alpha$ : プローブ先端角

$E$ : 弾性率

$\nu$ : ポアソン比

ピエゾの変位 (nm)

hard material ( $\Delta = d'$ ) soft material ( $\Delta = d - a$ )

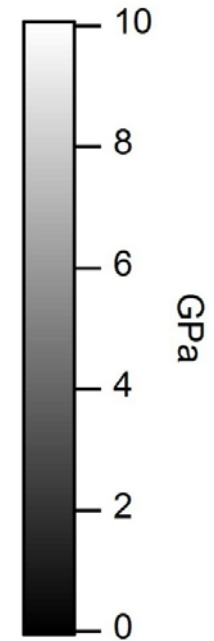
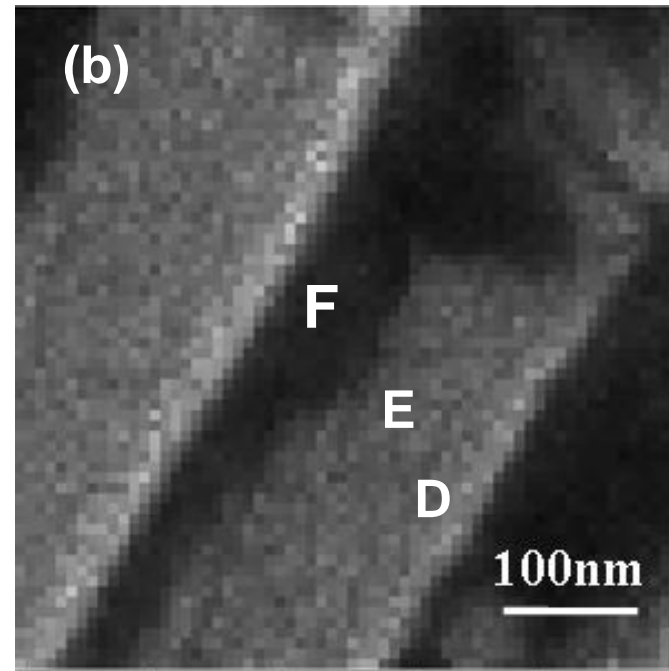
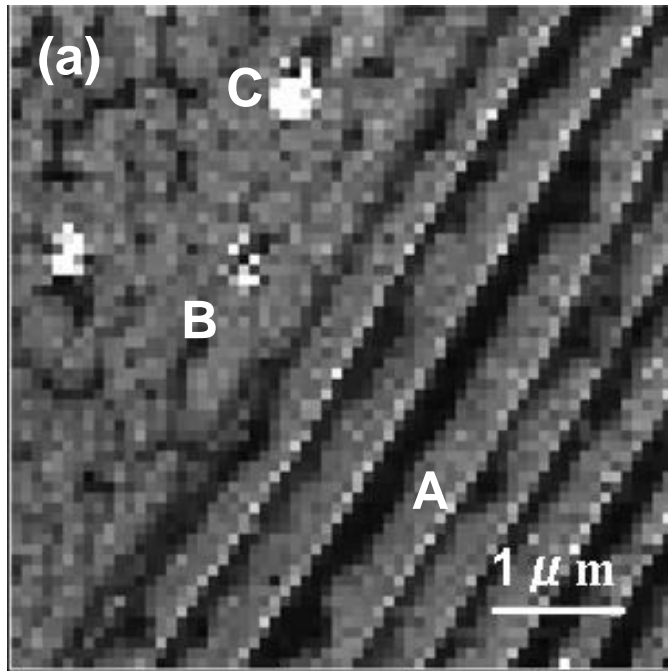




# 水中でのフォースカーブ測定-弾性率マッピング-

サンプル：健常毛

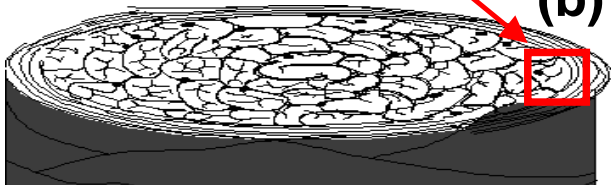
フォースカーブ測定を $5\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m}$ 及び $500\ \text{nm} \times 500\ \text{nm}$ の範囲で $64 \times 64$ 点測定を行い、算出された弾性率をマッピングした。



(a) A: キューティクル B: コルテックス C: メラニン顆粒

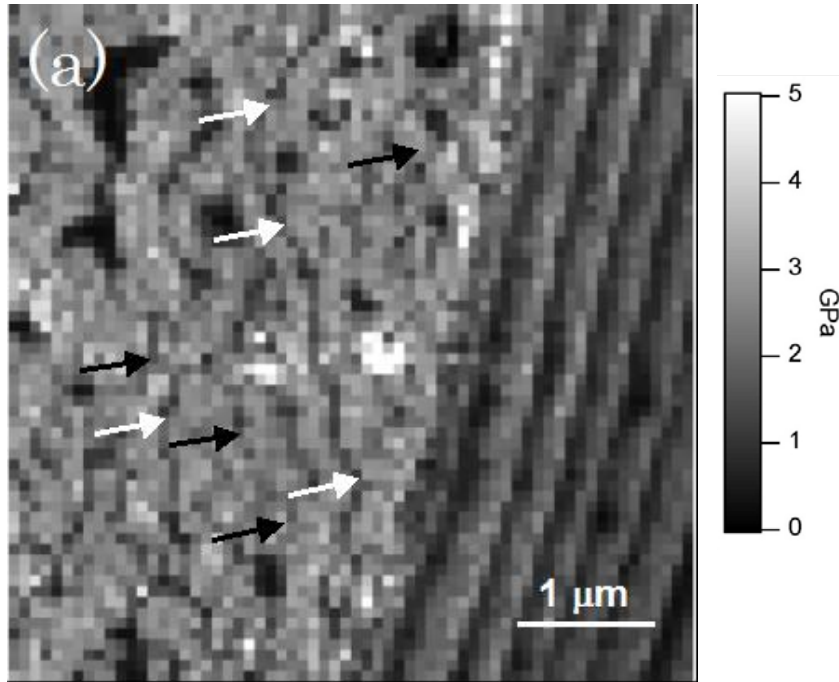
(b) D: A層 E: エキソキューティクル F: エンドキューティクル

測定部位

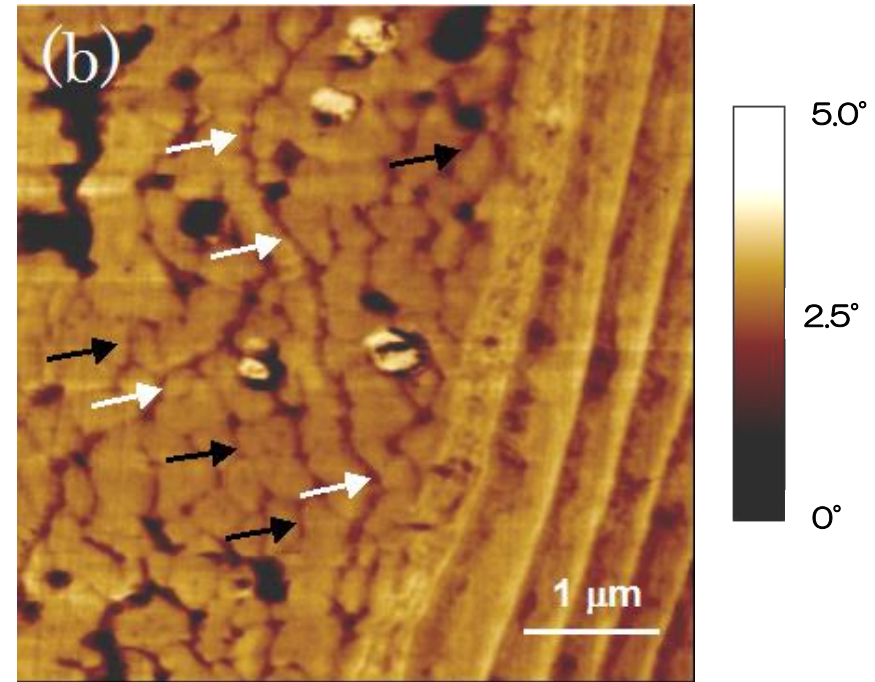


# CMCとマクロフィブリル間充物質の特定

(a) 弾性率マッピング像



(b) Phase像



↗ : 細胞膜複合体 (cmc)      ↖ : マクロフィブリル間充物質

弾性率マッピング(64×64点)からはコルテックスcmcとマクロフィブリル間充物質の区別が困難な場合がある。

→弾性率マッピングを行う部位について、予めTappingモードによるPhase像を取得することにより、明確に区別することができる。

# 弾性率マッピングの応用

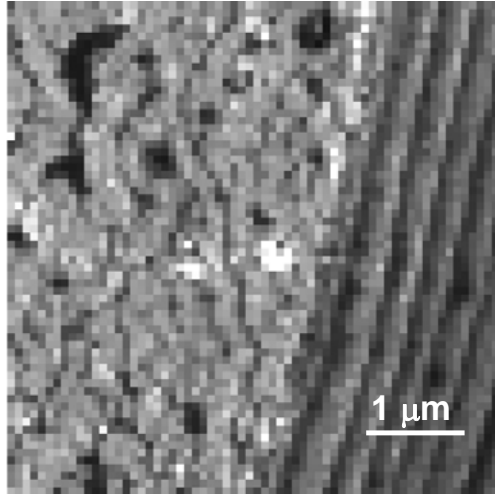


根元(頭皮から2 cmの健常部位) -中間(頭皮から8 cmの低ダメージ部)-毛先(頭皮から23 cm高ダメージ部)の3ヶ所において弾性率測定を行った。各部位についてL-テアニン水溶液で処理した毛髪についても弾性率測定を行い、未処理毛と比較した。

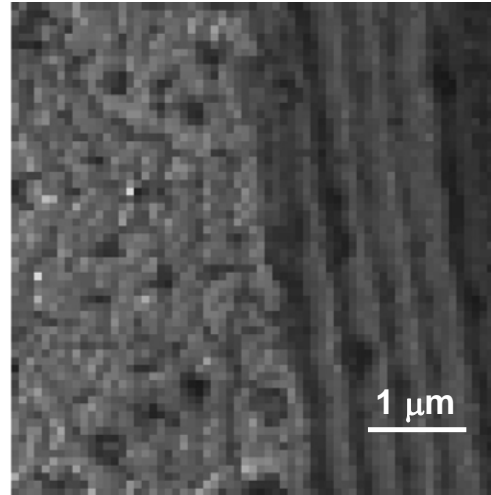
# 弾性率マッピング

(a) 未処理毛

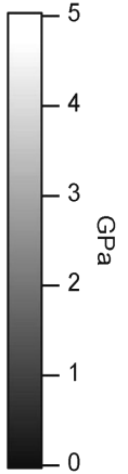
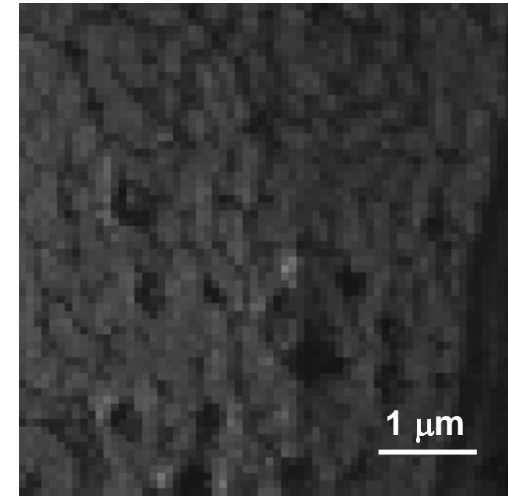
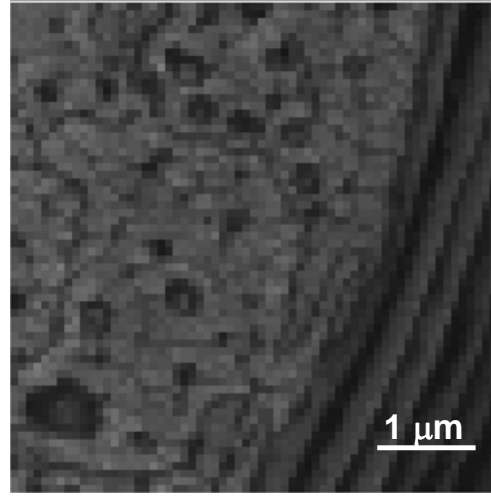
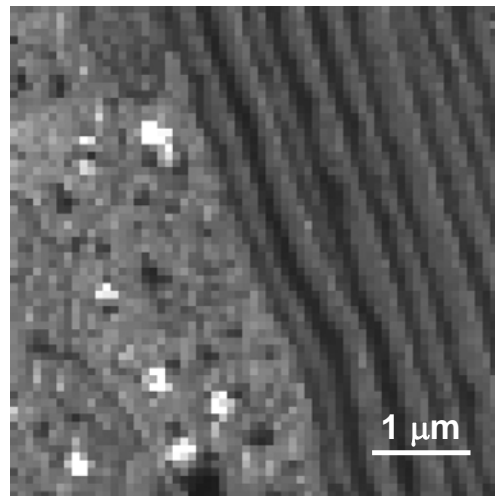
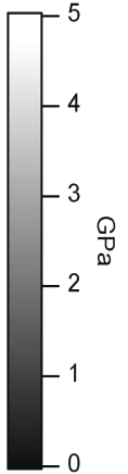
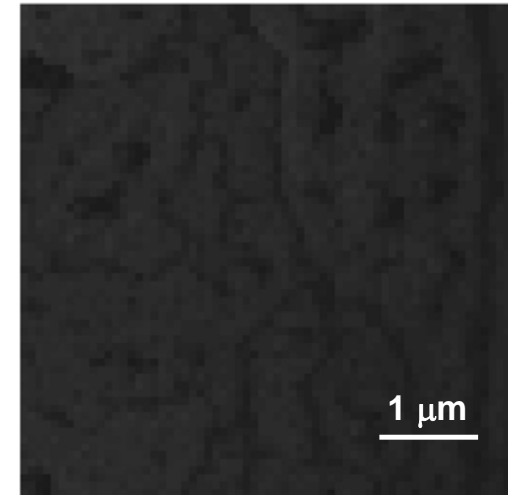
根元から 2cm



8cm



23cm(毛先から1.5cm)



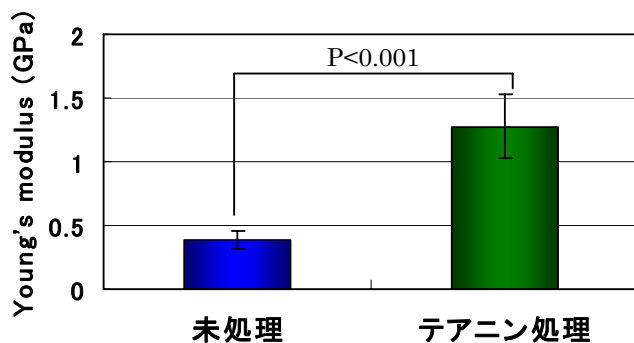
(b) L-テアニン 処理毛

処理方法： (a) 製精水、(b) 2% L-テアニン水溶液に5分浸漬後、30秒水洗し乾燥→7回繰り返し

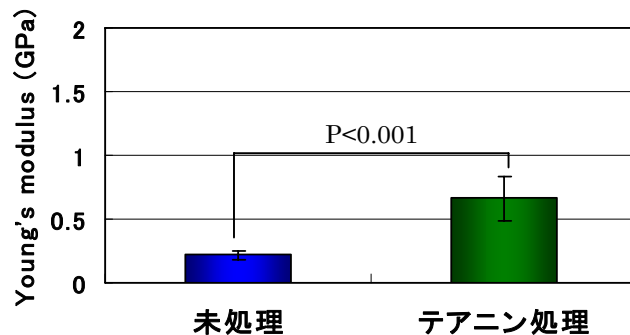
# L-テアニンの作用部位について

## コルテックス

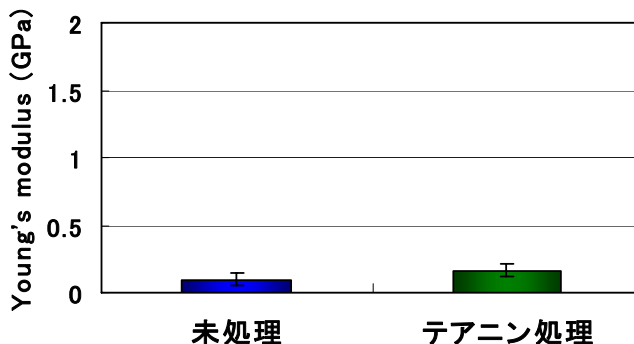
マクロフィブリル



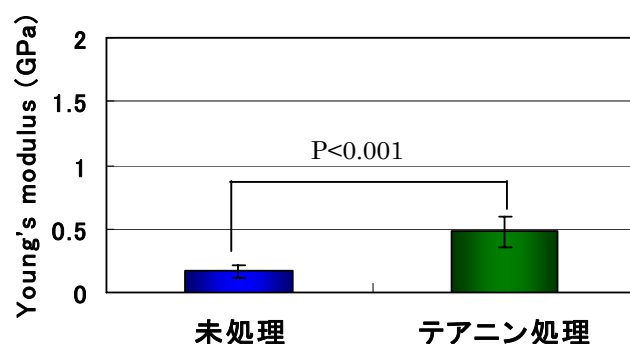
マクロフィブリル間充物質



メラニン顆粒

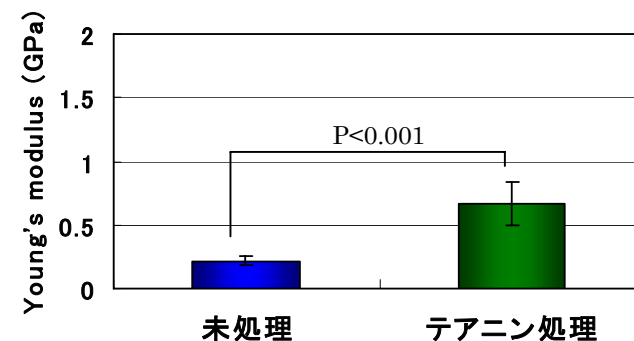


コルテックス細胞膜複合体(cmc)

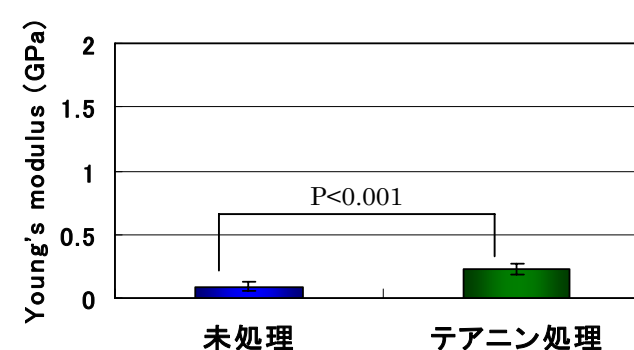


## キューティクル

エキソキューティクル



エンドキューティクル



- L-テアニンは、メラニン顆粒以外の各組織の弾性率を回復させた。特にコルテックス中のマクロフィブリルの弾性率を大きく回復させた。

# まとめ

- TEM像及びAFM像を用い、毛髪内部微細構造について概説した。AFMは様々な外的環境下における毛髪内部構造を評価することが可能である。
- フォースカーブを利用した弾性率測定により、数十から数百nmの毛髪内部の各組織の物性変化を捉えることができる。
- 測定の結果をマッピングすることにより未処理毛とダメージ毛の違いをより明確に示すことができた。実際にダメージ修復成分のスクリーニング及び作用部位を明らかにすることができた。本手法は頭髪化粧品の開発において非常に有用な手法である。