

## 美容施術によって変化するヒト頭皮角質層中のタンパク質構造の解析 Analysis of Protein Structure in the Corneum of Human Scalp Changes with Cosmetic Treatment.

小林 翔<sup>1</sup>, 菊地 哲宏<sup>1</sup>, 古田 桃子<sup>1</sup>, 渡邊 紘介<sup>1</sup>, 吉川 智香子<sup>2</sup>, 坂田 修<sup>2</sup>, 伊藤 廉<sup>1</sup>  
Sho Kobayashi<sup>1</sup>, Tetsuhiro Kikuchi<sup>1</sup>, Momoko Furuta<sup>1</sup>, Kosuke Watanabe<sup>1</sup>, Chikako Yoshikawa<sup>2</sup>,  
Osamu Sakata<sup>2</sup>, Len Ito<sup>1</sup>

<sup>1</sup>株式会社ミルボン,<sup>2</sup>株式会社コーセー  
<sup>1</sup>Milbon Co. Ltd., <sup>2</sup>Kose Co. Ltd.

本研究では、ヘアカラー処理による角質層タンパク質構造への影響を調べるため、市販のヒト角質層シートに対して過酸化水素による酸化処理を行い、タンパク質構造変化を顕微 IR 測定により検出した。スペクトル解析の結果、ヘアカラー処理によって角質層タンパク質のランダム構造化が引き起こされることが分かった。

**キーワード：** 顕微 IR、角質層、タンパク質構造

### 背景と研究目的：

毛髪に対する美容施術として一般的に行われるヘアカラー施術は、塩基性条件下で過酸化水素などの酸化剤を用いて処理を行うことで、毛髪内のメラニン色素を酸化脱色すると共に染料を酸化重合させるものである。ケラチンタンパク質である毛髪は、ヘアカラー処理によってシステイン酸残基が生成し[1]、毛髪内からのタンパク質の溶出が起こることが知られている[2]。このことから、毛髪と同じケラチンタンパク質から成る頭皮角質層においても、タンパク質の変性やそれに続く様々なデメリットが懸念される。我々が検証した結果、ヘアカラー処理後の頭皮角質層から蒸散される水分の著しい増加、電子顕微鏡によって観察される頭皮角質層の変化など様々な変化を捉えている。さらにこのような変化は加齢と共に顕著になることが弊社内の先行研究によって見出されており、加齢と共に白髪が増えヘアカラー頻度が上がる女性にとっては無視できない研究情報の蓄積ができてきている。このような変化を捉えている一方で、頭皮角質層内に存在するケラチンタンパク質の構造変化の情報など多くのことが分かっていない。

そこで本研究では、頭皮角質層を用いたヘアカラー施術前後のタンパク質構造変化の可視化をすることで、角質層内でダメージがどこに、どのように起こるのかを明らかにするため実験を行った。

### 実験手法：

本実験では落屑頭皮角質層（フケ）を用いて実験を行う予定であったが、均一性に欠けるためにデータを正確に比較をすることが難しかったため、市販されているヒト角質層シートを用いた。pH 10.5 に調整した 3% 過酸化水素水溶液を角質層シートに滴下し、ヘアカラー処理に相当するダメージを与えた。この角質層シートに対して BL43IR ビームラインにて顕微 IR 測定を行った。本研究の顕微 IR 測定は、赤外分光光度計（Bruker Vertex70）と赤外顕微鏡（Bruker Hyperion2000）を使用した。角質層シート試料を、赤外透過材料であるフッ化カルシウム板にのせ、赤外顕微鏡 XY 試料ステージ上で透過測定した。測定はマッピングステージを使用して 2.5 μm×2.5 μm 単位で行い、各測定点に対して 7000–600 cm<sup>-1</sup> の波長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 2.5 μm×2.5 μm とし、積算回数は 128 とした。

得られた赤外吸収スペクトルにおいて、1645 cm<sup>-1</sup> 付近のアミド I を示すスペクトルに対してカーブフィッティング解析を行うことでタンパク質構造変化について確認を行った。この解析を角質層シートのヘアカラー処理前後の各々 N = 20 の試料に対して行い、データの平均を算出し評価した。

### 結果および考察：

本実験にて得られたスペクトルの解析では、アミド I のピーク領域である  $1605\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$  について、 $\alpha$ ヘリックス構造、 $\beta$ シート構造、 $\beta$ ターン構造、ランダム構造をそれぞれカーブフィッティング解析により、面積算出を行った。その結果、ヘアカラー処理前と比較し、ヘアカラー処理後の角質層シートで、 $1648\text{ cm}^{-1}$  付近のランダム構造のピーク面積が増大していた。それらをマッピング測定によって観察すると、ランダム構造に基づくピーク面積の増大が角質層シート全体に起こっていることが見出された (Fig. 1)。これらの結果より、ヘアカラー処理によって角質層タンパク質のランダム構造化が引き起こされることが分かった。このランダム構造化は、角質層全体の組織構造変化や水分保持能などに影響する可能性があり、今後の研究によってそれらを明らかにしていく。

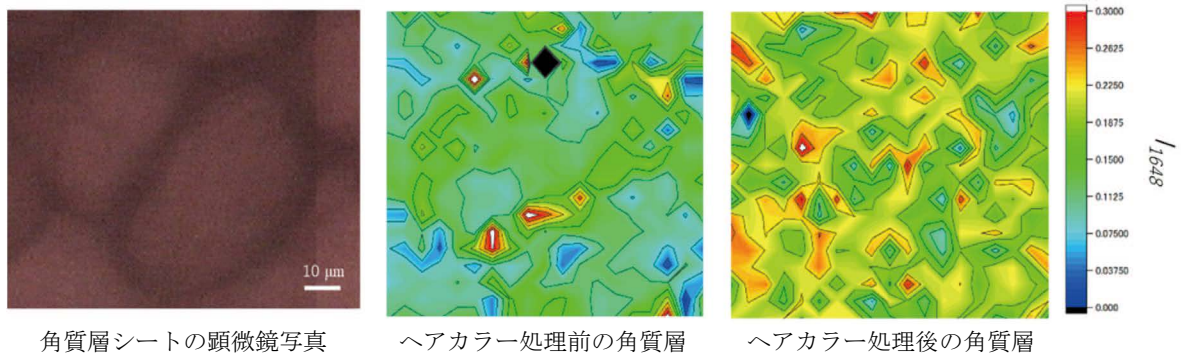


Fig. 1 角質層シートのランダム構造のマッピング画像。

$I_{1648}$  は、カーブフィッティング解析から算出したランダム構造のピーク面積。

### 今後の課題：

今回、ヘアカラー処理による角質層へのダメージの影響を調べた結果、ヘアカラー処理によって角質層タンパク質のランダム構造化が促進され、マッピング測定によりその影響は角質層全体に広がって起きていることが見出された。このヘアカラーによるタンパク質分子構造変化は、角質層全体の組織構造や角質層によるバリア機能の低下などにも影響することが考えられる。そのため、今後はこのランダム構造化による角質層の水分特性などを確認していきたい。また、実際のヒトから採取した角質層についても同様の検証を行い、角質層ダメージを抑制する商品開発に繋げていきたいと考えている。

### 参考文献：

- [1] 鈴田和之ら, *J. Fiber Sci. Technol.*, **72**, 1-8 (2016).
- [2] 奥昌子ら, *J. Soc. Cosmetic. Chem. Jpn.*, **21**, 198-303 (1987).