

走査型位相差X線顕微鏡による毛髪内部構造の三次元観察

課題番号：2007A1901

実験責任者：ラインハルト(株) 岩本佳倫

共同研究者：(財)高輝度光科学研究センター 竹内晃久、上杉健太郎、鈴木芳生

使用ビームライン：BL20XU

1. はじめに

化粧品市場の中で、シャンプーやリンスで代表される毛髪用のヘアケア市場は、国内で年間約2,000億円の売上のある大きな市場である。その中でも、ブリーチ、ヘアカラー、パーマなどの毛髪化粧処理を実施する消費者が増加したことから、ヘアケア製品のダメージケア効果に対する期待は年々高まっている。一般的に上記の化粧処理や紫外線、ドライヤーの熱などにより損傷した毛髪は、内部構造が破壊されて空洞化するといわれている。このような空洞化という微細な構造変化を捉える手法としては、透過型又は走査型電子顕微鏡や走査型プローブ顕微鏡などが使われているが、これらは試料の固定化・薄膜切片作製・染色等の煩雑な前処理をする必要があり、生体にある毛髪の真の姿を捉えているかは疑問であった。その為、前処理を必要とせず日常状態のままで毛髪内部の微細構造を観察する手法の開発は、種々の刺激により生じる損傷毛髪の実像を把握し、空洞化現象などの毛髪損傷メカニズムや、損傷によって生ずる毛髪物性変化を解明し、消費者が望む効果の高い毛髪ダメージケア商材を開発する上で重要な技術である。

我々は、SPring-8のBL20XUにおける2006B期のテーマ研究(課題番号2006B0133)¹⁾で、フレネルゾーンプレートより得られたマイクロビームX線を、毛髪上を走査しながら照射し、透過ビームの変位から微分位相を求める形式の走査型X線位相差顕微鏡を利用する事で、構造間の密度差が非常に小さいヒト毛髪でも、構造由来の位相変化から毛髪内部の微細構造を観察する事が可能である事を確認した。更に、損傷モデル毛髪を測定し、損傷により生じる空洞化現象等の内部微細構造変化も確認する事ができた。

今回の研究では、毛髪損傷のメカニズム解明または、損傷防止・治癒技術の開発の可能性を探る事を目的に、数層の二次元断面画像(以下Slice画像)を取得して、他の内部構造観察手法では得る事が困難な三次元画像(以下3D画像)を取得する事で、損傷により生じた空洞の立体形状や支配領域の数値化が可能であるかを検討した。

2. 試料

ヘアカラーやパーマなどの美容処理経験のない直径約60~70 μm の日本人女性のヴァージン毛を使用した。損傷モデル毛としては、ヴァージン毛をパーマ処理(アルカリ存在下でチオグリコール酸アンモニウムにて還元処理した後、臭素酸ナトリウムにて酸化処理)した毛髪を使用した。

3. 実験方法

走査型 X 線位相顕微鏡は、SPring-8 の BL20XU にて光学系を組み立て測定した。測定方法は、材質 Ta、直径 $155\mu\text{m}$ 、最外幅 $0.1\mu\text{m}$ のフレネルゾーンプレート (FZP) を利用して得られたスポット径約 $0.12\mu\text{m}$ のマイクロビーム X 線 (8keV) を、毛軸に対し赤道方向に $0.2\mu\text{m}$ 間隔で、一点あたりの露光時間 20msec で照射しながら、1 秒間に 25 点ずつ走査し、照射部の位相像を CCD カメラにより得た。更に、毛軸に沿って毛髪を回転させ、半周 180 度を 300 投影し、得られた投影位相像を再構成して Slice 画像を得た。同様の測定を毛軸に対し水平方向に $0.2\mu\text{m}$ 間隔で行い、 $8\sim 10$ 層の連続した Slice 画像を取得し、得られた画像から 3D 画像を再構成した。

4. 結果

2006B 期では、1 測定点毎に移動ステージを停止する stepped acquisition 法により測定していた為に、1 秒あたり 5 点程度の走査で、1 枚の断面画像を取得するのに約 20 時間を要していたが、今回の実験では、3D 画像取得に数層の Slice 画像を得る必要があり、測定時間短縮化の為に、並進ステージ停止を必要としない continuous-acquisition 法に改良し、1 秒あたり 25 点まで走査できるようになったことで測定点数、信号量を減らすことなく測定時間を約 $1/5$ に短縮した。それにより、三次元化に必要な数層の連続した Slice 画像を取得する事ができた。Fig. 1 にヴァージン毛及び損傷モデル毛の Slice 画像の結果を示す。今回の測定条件でも、2006B 期の結果同様、外側のキューティクル部位と内側のコルテックス部位、キューティクル領域内の層構造及び細胞膜複合体と思われるコルテックス細胞間の境界及びメラニンと思われる顆粒状の高密度領域が捉えられている。更に、損傷モデル毛では、空洞化現象と思われる低密度領域が捉えられている。

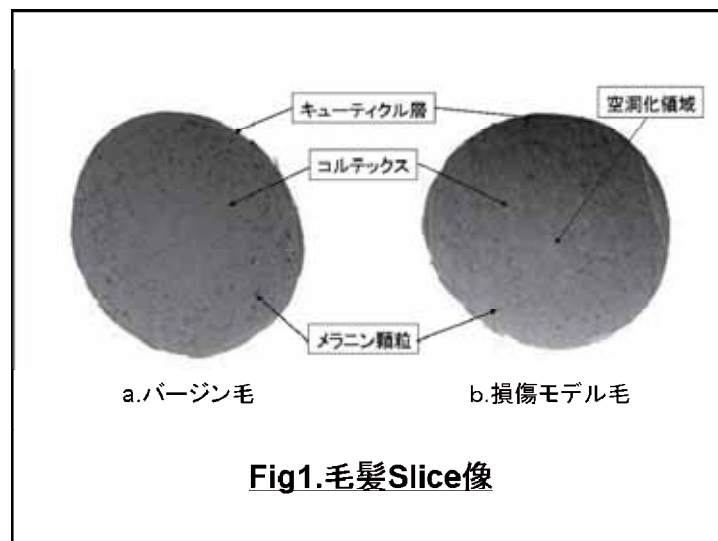
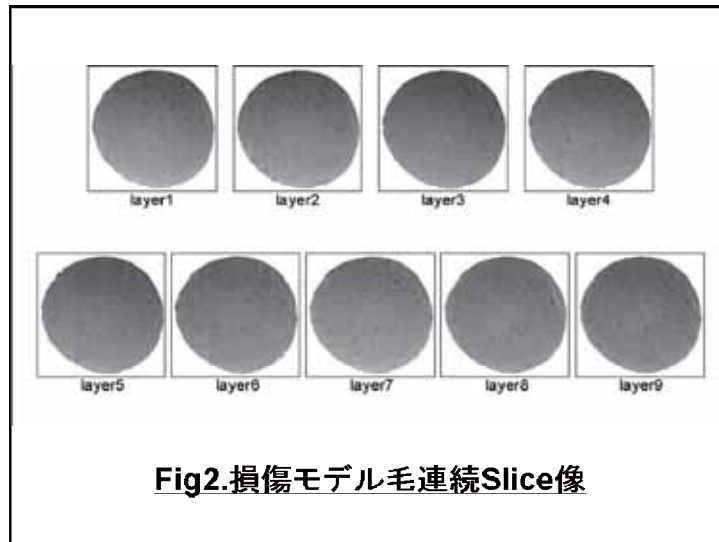
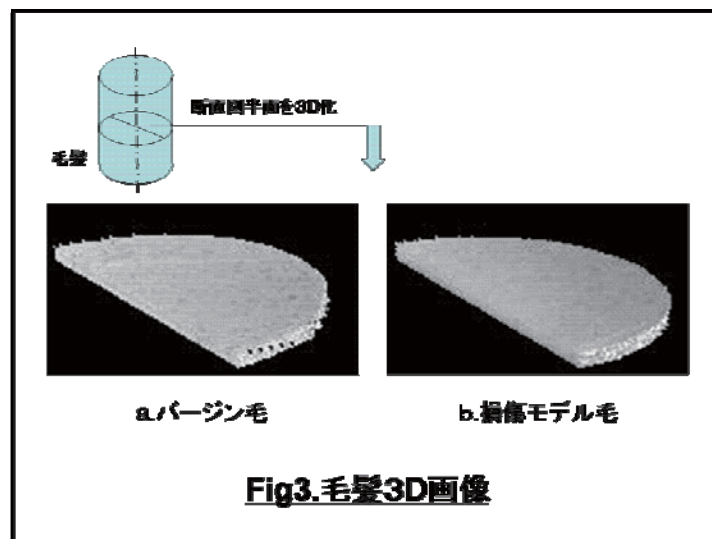


Fig1.毛髪Slice像

Fig. 2には、損傷モデル毛の $0.2\mu\text{m}$ 間隔の連続した 9 層の Slice 画像を示す。ヴァージン毛髪も同様に連続した 8 層の Slice 画像を取得した。



更に、Fig. 3 では、各々の毛髪から得られた連続 Slice 画像を基に再構成した 3D 画像を示す。



5. 考察

2006B 期では、1 枚の断面画像を取得するのに約 20 時間を要していたが、今回の実験では、3D 画像取得に数層の Slice 画像を得る必要があり、測定点数、信号量を減らすことなく測定時間を約 1/5 に短縮した。得られた画像も Fig. 1 に示すように、前回同様の画像が得られ、本測定手法が、前処理を必要とせず日常状態のまま、毛髪内部の微細構造観察が可能な手法である事を確認した。更に、それにより、三次元化に必要な数層の連続した Slice 画像を取得する事ができた。

Fig. 2 に例として示した損傷モデル毛の 9 層の連続 Slice 画像を再構成する事により、Fig. 3 に示すような 3D 画像を取得する事ができた。しかしながら、直径約 70

μm の毛髪に対して約 $2\mu\text{m}$ 弱の厚さの3D画像の為、内部構造変化に関する考察をする事は困難であった。内部構造変化に関する詳細な検討をする為には、少なくとも数十層分の断面画像を取得して三次元化する必要があるが、1試料の測定に時間を掛ける、あるいは、更に時間の短縮化を図る事で、より多くのSlice画像の取得が可能となれば、3D画像での毛髪内部の構造変化を詳細に捉える可能性がある事が、今回の実験により示唆された。

更に、本研究の目的である3D画像からの損傷毛髪の空洞部位の立体形状や支配領域の数値化を試みた。手法としては、コントラストの差異から、閾値を設けて2値化して低密度領域である空洞化領域を抽出する事により行ったが、Fig. 1で見られるように1Slice画像内で、照射側と非照射側でコントラストに差異が生じてしまい空洞化とみられる領域のみを抽出する事が出来なかった。これは、試料変形やドリフトの影響もあると思われ、それらの事を含め、測定時若しくは画像取得時に1Slice画像内の均質なコントラストを得る手法を検討する必要がある。

今回の実験により、本測定手法が、更なる測定時間の短縮化及び取得画像内のコントラスト調整、及び毛髪への照射ダメージの影響等の課題はあるものの、他の毛髪内部構造観察手法では得ることができない詳細な立体画像の取得が可能であり、微細構造変化を立体的に捉える事により、毛髪損傷メカニズムの解明、損傷防止・治癒技術の開発の可能性が示唆された。

6. 引用文献

- 1) 課題番号 2006B0133 利用報告書