

ヒト由来の生体材料を用いたテーラーメイド型化粧品基材の創出 —ヒト毛髪タンパク質とキトサンから成る複合フィルムの作製と性質—

信州大学繊維学部

藤井 敏弘

The technology of film production is important in the cosmetics and biomedical fields. We have developed convenient procedures for preparing human hair protein films and particles mainly consisting of hard keratins. Chitosan, a polysaccharide composed of D-glucosamine and N-acetyl-D-glucosamine, can form a film and is commercially used in various fields. Thus, we prepared the composite films consisting of human hair proteins and chitosan. The composite films were translucent and formed a micro phase separation structure, which has each crystal of two components. The films consisting of 70-95% hair proteins exhibited higher UV/VIS-absorption around 260-400 nm wavelength over the values that were obtained by summation of each component. The values of water content and contact angle decreased with increasing the content of hair proteins. The heat stability of hair protein was improved by the addition of chitosan. These results suggest that a simple mixing with chitosan can control the properties of the hair protein film including UV-absorption, water content, and contact angle. The composite film can be customized for individuals and will be a promising material with biocompatibility.

1. 緒言

私たちは、“セルフリサイクル”という理念を提唱している。これは、動物や他人由来ではなく自己由来で廃棄されているが再生可能な組織を原材料として有用加工品を作製する技術確立して、本人のために使用していただくという考え方である。この理由としては、自己由来の原料からできたモノを本人が使用するため、安全・安心な製品となることが期待できる。

セルフリサイクル製品の原料として、毛髪を第一に考えている。髪の毛は一生にわたり合成され、余分な毛髪は切られ不要物質として廃棄されている生体材料である。このため、血液などと比べ採取の負担が少なく、ある程度まとまった量を集めることが可能である。毛髪の70-80%は、ケラチンを主成分とするタンパク質で構成された硬組織である。ここからタンパク質を簡便に抽出する方法を見出して、信大法と名付けた¹⁻³⁾。次に、毛髪タンパク質フィルムを形成する方法を開発した^{4, 5)}。しかし、このタンパク質フィルムの力学的な強度が低いため適用範囲が狭い。フィルムは機械的な刺激を受けることにより、容易に粒子状態とすることができた。この作製と性質は本研究財団研究業績の中間報告集などで報告している^{6, 7)}。

キチンはエビやカニの甲殻から分離、精製される複合多糖の1種で、これを脱アセチル化することでキトサンは得

られる。キチンが多くの溶媒に対して不溶性なのに対し、キトサンは多種類の薄い有機酸に可溶で、加工しやすい利点をもつ。また、生体とのなじみが良く、生分解性、免疫効果、抗菌作用があるため化粧品や医用材料として使用されている⁸⁾。

本研究では、ヒト毛髪タンパク質粒子とキトサンが混合したフィルムを作り、両者の特性を有する複合フィルムの作製を試みた。

2. 実験

2.1 毛髪タンパク質粒子とキトサン溶液の調製と複合フィルムの作製

複数のボランティアから採取した毛髪を用い、エタノール洗浄を行った後に使用した。ヒト毛髪を信大法溶液（5 M 尿素, 2.6 M チオ尿素, 5 % 2-メルカプトエタノール, 25 mM Tris-HCl, pH8.5）に浸し、50℃下で3日間抽出を行った。ろ過と遠心操作により毛髪残渣を取り除き、毛髪タンパク質溶液（60-70 mg/ml）を得た³⁾。フィルム形成は、100 mM 酢酸緩衝液（pH4.0）を満たしたシャーレにタンパク質溶液を静かにキャストして行った。十分に洗浄後、回収したフィルムは超音波操作により粒子とした。キトサンは、その粉末を150 mM 酢酸水溶液に溶解した後蒸留水に対して透析を行い、約15 mg/mlのキトサン溶液を得た。

毛髪タンパク質粒子の懸濁液とキトサン溶液の混合溶液をテフロン板またはシャーレ上にフィルム重量1-3 mg/cm²となるようにキャストし、室温で一晩自然乾燥させることにより、厚さ15-50 μmの複合フィルムを作製した。



Creation of tailor-made type cosmetic materials using human bio-materials
—Preparation and properties of composite film consisting of human hair proteins and chitosan—

Toshihiro Fujii

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University

2. 2 吸収スペクトル測定

石英板上に約 1 mg / cm²となるようにキャストリングしてフィルムを作製した。吸収スペクトル (260–400nm) は分光光度計にて測定した。測定に使用したフィルムは、毛髪タンパク質粒子とキトサン溶液の混合溶液を、室温にて 3–5 時間自然乾燥させたものを使用した。フィルムの厚さは 15–20 μm であった。

2. 3 フーリエ変換赤外吸収スペクトル測定 (FT-IR)

赤外吸収スペクトル測定は FTIR-8400 (Shimadzu 製) を使用し行った。凍結粉碎したフィルムを臭化カリウムと混合し、タブレットに成型したものを使用した。測定範囲は 400 – 4600 cm⁻¹ で積算回数は 50 回とした。

2. 4 熱重量損失測定 (TG)

熱に対する挙動を調べるため、Thermo plus TG-8120 を使用し熱重量損失測定を行った。フィルムを細かく砕いたものを使用し、昇温速度は 10℃ / min で 100℃ から 500℃ まで温度を上昇させ、窒素中でフィルム重量を測定した。

2. 5 膨潤率測定

膨潤率は厚さ 40–50 μm のフィルム片 5–10 mg を使用し、37℃ で 2 時間蒸留水に浸すことで増加するフィルムの重量 (膨潤重量) を測定した。測定は 5 回行い、その平均値を算出した。

$$\text{膨潤率 (\%)} = (\text{膨潤重量 (g)} - \text{乾燥重量 (g)}) / \text{乾燥重量 (g)} \times 100$$

2. 6 接触角測定

接触角は FACE Measurement and Analysis System FAMAS を使用して測定した。フィルムは約 2 時間蒸留水で膨潤させた後、測定は 10 カ所で行い、その平均値を算出した。

3. 結果と考察

3. 1 フィルムの形態

ヒト毛髪タンパク質とキトサンを合計した質量を一定として、その質量比を変えた複合フィルムを作製した (Fig. 1)。毛髪タンパク質フィルムは薄茶色を帯び半透明である。一方、キトサンフィルムは透明なフィルムであった。複合フィルムにおいては、キトサン含量が 5–20% の複合フィルムは白味を帯びているが、20–80% のものではほぼ透明であった。SEM 観察において特別な構造は見られなかった。

3. 2 吸収スペクトル測定

フィルムの 260–400nm における吸光度を Fig. 2 に示した。複合フィルムはキトサンフィルムおよび毛髪タンパク質フィルムに比べて吸光度が増大し、毛髪タンパク質含量 80–90% の複合フィルムで特に高くなった。これは毛髪タンパク質含量 80–90% の複合フィルムが光を通しにくいフィルムであることを示しており、肉視によるフィルム観察の結果と一致していた。また 280nm 付近の波長において、キトサンフィルムにはピークが見られなかったが、

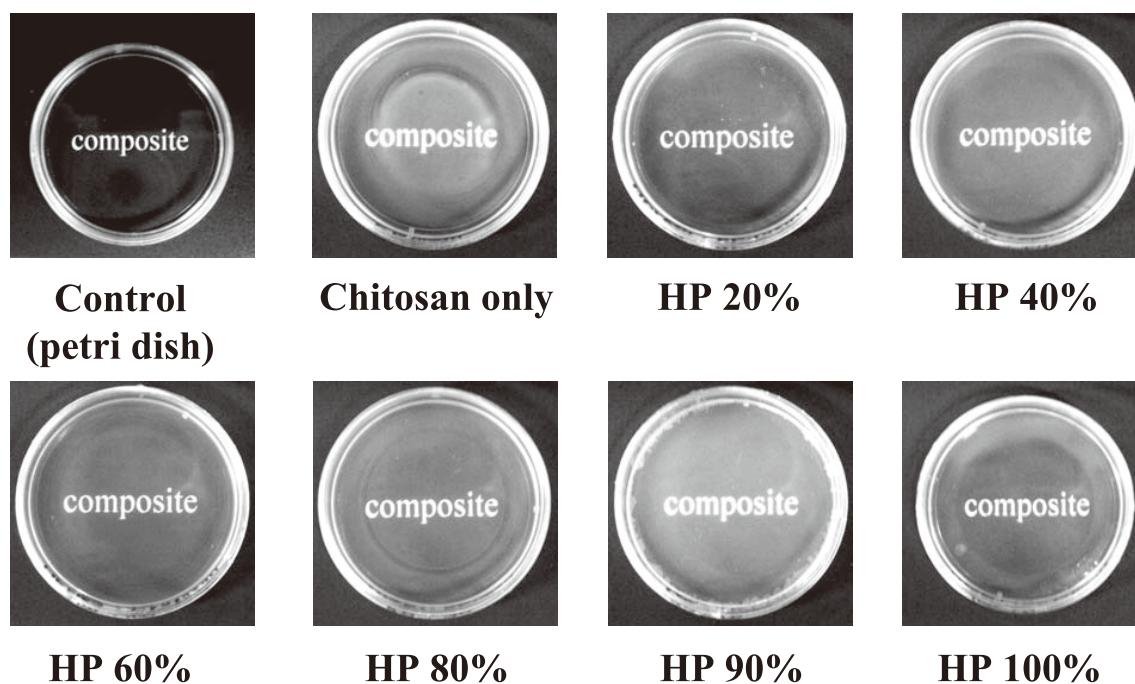


Fig. 1 Photographs of the composite films consisting of hair proteins (HP) and chitosan

毛髪タンパク質が加えられた複合フィルムでは吸収が見られた。これは主成分のケラチンを構成しているに芳香族のアミノ酸などに依っているものと思われる。特に、UV-B (290 - 320nm) と UV-C (200 - 290nm) の紫外線を吸収するため、UV 吸収および反射型のフィルムとなることが期待される。

3. 3 赤外吸収スペクトル測定 (FT-IR)

各フィルムの 400 - 4600 cm^{-1} における赤外吸収スペクトルを Fig. 3 に示した。複合フィルムの波形は、毛髪タンパク質フィルムとキトサンフィルムの波形を加算した波形を示した。仮に毛髪タンパク質とキトサン分子が互いに結合しポリイオンコンプレックスなどを形成すれば、新たな分子状態を示すピークが複合フィルムには生まれると考えられるが、今回作製したフィルムにおいては新たな分子状態の変化を示唆するピークは確認できなかった。このことから、タンパク質分子とキトサン分子がフィルム内で独立的に存在しているミクロ相分離の構造である可能性が高いものと思われた。

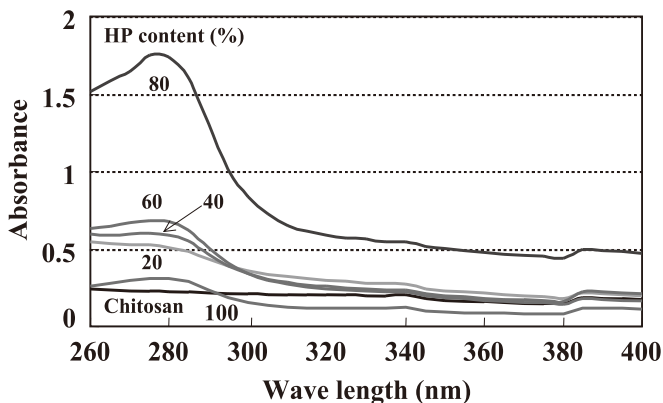


Fig. 2 Spectrometry of the composite films

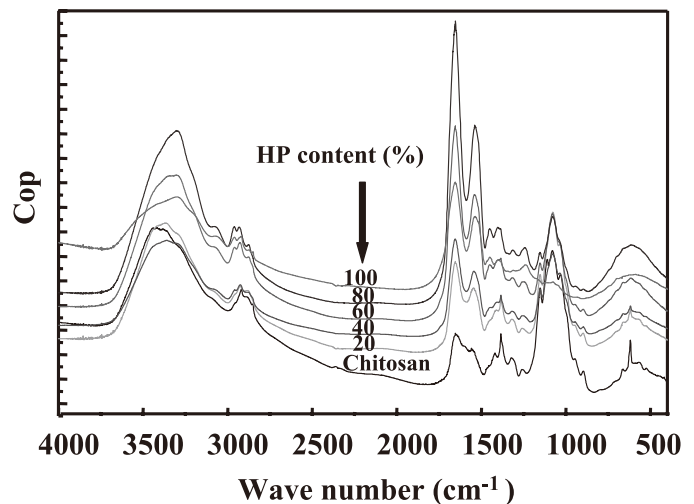


Fig. 3 FT-IR spectra of the composite films

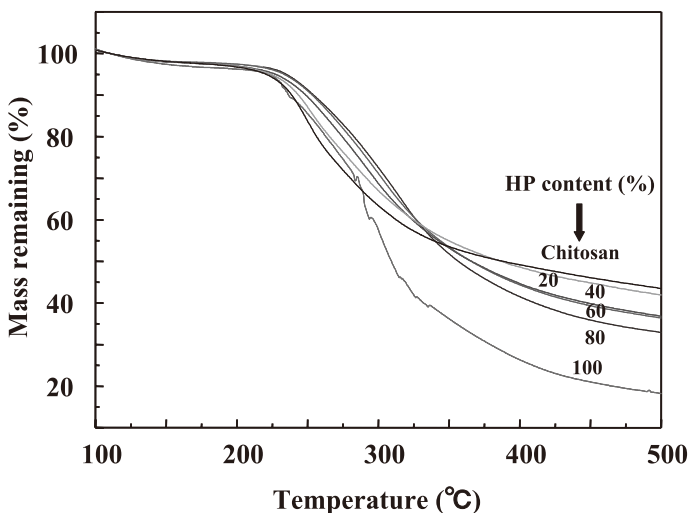


Fig. 4 Thermogravimetric curves of the composite films

3. 4 熱重量損失測定 (TG)

フィルムの熱重量損失測定 (TG) の結果を Fig. 4 に示した。フィルムは 250°C 付近から分解が始まり、徐々に重量を損失していった。500°C においては、毛髪タンパク質フィルムが重量の約 80% を損失しているのに対し、キトサンフィルムでは約 60% に留まっていた。複合フィルムにおいては毛髪タンパク質含量が少ないフィルムほど重量の損失は少なかった。したがって、キトサンを含むことにより、複合フィルムは毛髪タンパク質フィルムよりも熱に対する安定性が增大することが示された。

3. 5 膨潤率

フィルムを 2 時間蒸留水に浸したときの膨潤率を Fig. 5 に示した。最も重量が増加したキトサンフィルムにおいては、乾燥時の約 2.5 倍の水分重量を含んだ。毛髪タンパク質含量が増加するにしたがって膨潤率は減少し、毛髪タンパク質フィルムでは乾燥時の重量とほぼ同量の水分を含んだ。

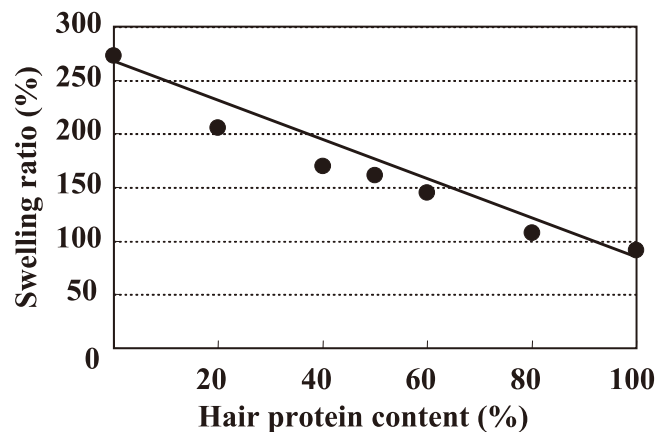


Fig. 5 Water content of the composite films

ていた。キトサンは親水性ゲルを形成するといわれているため、両者の比率によりフィルムの膨潤率は調節が可能となる。

フィルムを24時間蒸留水に浸しその溶出率を調べたところ、いずれのフィルムにおいても10%以下であった。また70%エタノール処理をしたフィルムにおいても同様な結果が得られた (data not shown)。

3.6 接触角測定

蒸留水中でのフィルムの接触角を Fig. 6 に示した。接触角はキトサンフィルムが約40°で最も高く、毛髪タンパク質含量が増加するにしたがって減少する傾向を示した。毛髪タンパク質フィルムにおいて約35°であった。接触角は濡れ特性を評価するための指標のひとつで、一般的に高いほど撥水性が高いと考えられている。毛髪タンパク質フィルムはキトサンとの混合化によりその接触角を微妙に調節することが可能であることが明らかとなった。

4. 結 語

中間報告などでヒト毛髪タンパク質フィルムから機械的な刺激により微粒子への変換とその形態と性質について報告した^{6, 7)}。今回は、毛髪タンパク質微粒子を利用してキトサンと混合したフィルムを作製し、その形態と物理化学的な性質に重点をおいて調べた。この結果、両者は相分離しているフィルムであるが、キトサンが毛髪タンパク質フィルムに混合されることにより機械的な強度の改善が見られた。また、キトサンが5～20%添加されることにより白濁化が生じることと、キトサンの添加量に依存した複合フィルムの膨潤率の増大と接触角の微増が認められた。

キトサンが衛生関連の商品に利用されている一因として、抗菌作用を示すことに依っている。今後、フィルムの抗菌性についての評価を行い、コスメトロジー分野における個人対応型新規素材としての可能性を検討する。

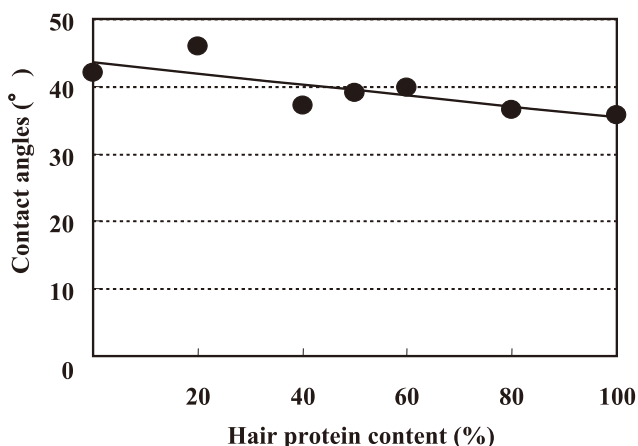


Fig. 6 Contact angles of the composite films

謝辞

本研究にご助成頂きました財団法人コスメトロジー研究振興財団に深謝申し上げます。また、本研究の遂行にあたり、共同研究者の野田裕人君に厚く御礼申し上げます。

(参考文献)

- 1) 藤井敏弘：セルフメディケーションに向けたヒト毛髪蛋白質フィルムの創製と販売, バイオインダストリー, 19(12), 22-27, 2002.
- 2) 藤井敏弘, 小林俊一：セルフ-リサイクルに向けたヒト毛髪タンパク質からの個人対応材料の開発, 日本化粧品学会誌, 30(1), 5-9, 2006.
- 3) Nakamura, A., Arimoto, M., Takeuchi, K., and Fujii, T.: A rapid extraction procedure of human hair proteins and identification of phosphorylated species, Biol. Pharm. Bull., 25, 569-572, 2002.
- 4) Fujii, T., Ogiwara, D., and Arimoto, M.: Convenient procedures for human hair protein films and properties of alkaline phosphatase incorporated in the film. Biol. Pharm. Bull., 27, 89-93, 2004.
- 5) Fujii, T. and Ide Y.: Preparation of translucent and flexible human hair protein films and their properties, Biol. Pharm. Bull., 27, 1433-1436, 2004.
- 6) Kobayashi, S., Morikawa, H., Ishii, S., and Fujii, T.: Development of blood analog fluids using human hair protein particles. JSME Int. J. Ser. C, 48, 494-498, 2005.
- 7) 藤井敏弘：Preparation and properties of protein particles from human hair, コスメトロジー研究振興財団 研究業績中間報告集, 16, 25-31, 2007.
- 8) 戸倉清一：物性・機能と用途, 矢吹稔編, :最後のバイオマスキチン、キトサン, 技報堂出版, 1995, 51-86頁.