—技術報告—

染毛の形態検査における横断面観察の応用

松田秀明^{*1}, 窪田 聡^{*1}, 川野光一^{*2}, 佐藤 元^{*1}科学警察研究所^{*1}

〒277-0882 千葉県柏市柏の葉6-3-1

千葉県警察本部刑事部科学捜査研究所^{*2}

〒260-0024 千葉県千葉市中央区中央港1-71-1

The Application of Hair Cross Sectioning to Morphological Examination of Dyed HairsHideaki Matsuda^{*1}, Satoshi Kubota^{*1}, Kouichi Kawano^{*2} and Hajime Sato^{*1}*National Research Institute of Police Science^{*1}**6-3-1, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882, Japan**Forensic Science Laboratory, Chiba Prefectural Police H.Q.^{*2}**1-71-1, Chuukoukou, Chuukou-ku, Chiba 260-0024, Japan**(Received 2 August 2006; accepted 6 September 2006)*

With the spread of hair coloring, the number of cases where dyed hairs are examined as evidential samples is on the increase.

In forensic casework, hair color observed with the naked eye and light microscope is an important characteristic for morphological examination, while the color of dyed hair is considered of little importance and sometimes is excluded from examination because it no longer has its original color. It is experientially recognized that peculiar morphology is often observed in the cross section of dyed hairs. However, making cross sections of hair is so laborious that such observations are rarely employed in actual casework, and nothing more than noting whether hair is dyed or not is generally done. Then, for effective application of hair cross sectioning to morphological examination of dyed hairs, the sectioning method for hair samples was improved and cross section morphologies of dyed hairs made with a newly improved method were compared among Japanese females.

It requires a lot of time, labor and skill to make cross sections of hairs with the conventional hair cross sectioning method of using a celluloid plate as an embedding material. Cross sections of hairs can be made easily using the Technovit 7100, an embedding resin system based on glycol methacrylate. Cross sections made with the 'Technovit method' are of equal thickness and perpendicular to the hair shaft so that cross section morphologies such as a thickness and damage of cuticle, density of melanin granules and state of dyeing can be accurately appraised. In cross sections of dyed hairs collected from twenty Japanese females, several peculiar morphologies

that give useful information for morphological comparison were observed.

Key words: Forensic hair comparison, Dyed hair, Cross section, Resin embedding

緒 言

染毛は、毛髪美容処理のひとつで、以前は白髪を染める目的で行われる白髪染めが主流であった。染毛が鑑定資料とされることは稀であったため、染毛処理そのものが特徴形態とされる場合もあったが、おしゃれ目的の染毛（おしゃれ染め）が広く普及した現在では、染毛されていることは、もはや特徴とは見なされなくなっている。

毛髪の形態検査において、一般に色調は異同比較のための重要な指標とされているが¹⁾、多様な形態特徴を示す最近の染毛では、色調を重要な検査項目として評価することが困難になってきている。資料毛髪が染毛で、現場毛髪と対照毛髪の採取時期が明らかに異なる場合、もとの毛色が失われていない毛根近くの未染部分の色調に着目したり、染毛の影響を受けない、長さ、太さ、髄質の出現形態等を指標とするため、資料が未染毛の場合より異同比較が難しくなる傾向がある。

染毛は、ガラス板に挟んで肉眼的および光学顕微鏡的に観察するだけでなく、その横断面を観察することで、染色状態等の形態をより詳細に把握することができるが²⁾、そこから得られる形態情報が、異同比較を行う上でどの程度有用なのかについては、いまだ十分な検討がなされていない。また、毛髪の横断切片作製はかなり煩雑な作業であるため、日常的な毛髪鑑定では、横断面の検査はほとんど実施されていない。

そこで、本研究では、毛髪の横断切片の作製方法として、低温重合樹脂を用いた包埋方法について検討し、その方法を用いて染毛の横断面の作製および観察を行ない、そこで得られる形態情報が毛髪の形態学的異同比較に利用可能であるかを検討した。

材料および方法

1 材料

日常的に染毛している日本人成人女性20名から、

各人10本以上の自然脱落頭毛（染毛）の提供を受けた。

提供された染毛の長さおよび毛幹中央部の太さを計測し、その結果を、染毛の種類（おしゃれ染めか白髪染めか）や頻度（何か月おきに染毛するか）等の参考事項とともに Table 1 に示した。

20名のうち、おしゃれ染めをしているのは13名、白髪染めをしているのは5名であり、他の2名はおしゃれ染めと白髪染めを合わせたおしゃれ白髪染めを行っていた。おしゃれ染めの13名は全員が美容院で染毛していた。おしゃれ白髪染めの2名のうち1名は美容院で染毛していたが、もう1名は市販の染毛剤を用いて自宅で染めていた。白髪染めの5名については、2名が美容院で、3名が市販の染毛剤を用いて自宅で染毛していた。染毛の頻度については、1か月おきに染毛している人物もいるが、多くは2か月おきで、最も間隔をあける人物でも3か月おきに染め直していた。なお、最後の染毛から6か月以上経過した人物が1名含まれていた。

提供された染毛のうち、特に長いものや短いもの、また、特に太いものや細いものを除外して、提供者個人の平均的な形態を有していると考えられた3本を横断切片作製のための試料とした。

2 包埋法

(1) 包埋剤および包埋容器

毛髪の横断切片作製のための包埋剤として、グリコールメタクリレートを主成分とする低温重合樹脂テクノビット7100 (Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG) を用いた。

テクノビット7100は、主剤、硬化剤Ⅰおよび硬化剤Ⅱで構成されている。取り扱い説明書に従い、主剤100 g に対し、硬化剤Ⅰを1 g の割合で溶解して浸漬液を調製した。この浸漬液と100%エタノールを等量混合したものを予備浸漬液とし、また、用時に浸漬液15 ml と硬化剤Ⅱ1 ml を混合して包埋液とした。

Table 1 Dyed hair samples collected from twenty Japanese females.

Subject	Number of collected hairs	Length (cm)		Thickness ^{a)} (μm)			Type of coloring ^{d)}	Manner of coloring ^{e)}	Interval of Treatments (month)	Reference
		Max. ^{b)}	Min. ^{c)}	Mean	Max. ^{b)}	Min. ^{c)}				
1	12	32.1	18.1	27.2	95	60	F	S	1~2	with permanent waving
2	12	25.7	12.3	20.4	110	75	F	S	2	with hair straightening
3	13	24.9	12.5	18.5	100	70	F	S	2	with permanent waving
4	12	25.8	14.1	19.4	105	75	F	S	2	with permanent waving
5	18	22.4	11.3	17.1	110	60	F	S	2	
6	18	16.1	8.8	12.6	130	55	F	S	2	
7	12	12.6	9.4	11.0	145	80	F	S	2	
8	16	13.5	6.8	10.0	100	70	F	S	3	
9	10	18.0	9.3	14.2	135	85	F	S	2	
10	13	13.4	8.1	10.9	100	60	F	S	2~3	
11	12	29.4	17.7	26.4	120	85	F	S	3	
12	11	20.2	9.2	15.7	105	60	F	S	3	6 months have elapsed since the last hair coloring
13	16	23.2	10.9	17.3	120	60	F	S	2	with color shampoo for a month
14	11	19.0	8.7	14.2	120	70	FG	S	2	with permanent waving
15	12	11.0	7.9	9.5	135	80	FG	H	3	
16	11	16.3	10.0	13.0	85	60	G	S	1	with permanent waving
17	12	14.9	7.2	10.7	90	65	G	S	2	
18	13	11.3	7.3	9.1	110	75	G	H	1~2	
19	14	14.1	10.2	11.8	100	75	G	H	1~2	
20	14	12.3	8.8	10.4	105	90	G	H	2	

^{a)} Thickness of hair shaft at the middle part, ^{b)} Max.: Maximum, ^{c)} Min.: Minimum. ^{d)} F: Fashionable hair coloring, FG: Fashionable gray hair coloring, G: Gray hair coloring. ^{e)} S: by hairdresser or hair-colorist at hair salon, H: by herself at home.

包埋容器は、毛髪的位置および方向を正確に定めながら、かつ、多数の試料を効率良く包埋する目的で、電子顕微鏡用の試料包埋板を用いた。包埋板はシリコンゴム製（堂阪イーエム，DSK 製シリコン包埋板， $12 \times 5.5 \times 3.5$ mm）と，プラスチック製（BEEM，プラスチック包埋板， $12 \times 5.5 \times 3$ mm）の2種類を用意した。

(2) 包埋条件の検討

テクノビット7100を用いて調製した包埋液を，シリコンゴム製およびプラスチック製の包埋板にそれぞれ流し込み，室温にて1時間放置後， 40°C ， 45°C ， 50°C および 55°C の各温度の下で加温し，加温開始から，1時間，3時間，6時間，12時間，24時間および48時間後における樹脂の硬化（重合）状態を観察した。十分に硬化したものは包埋板から取り出し，ブロック内部の毛髪が垂直に横断されるように調整しながらマイクロトーム（大和光機工業）の試料台に固定して，厚さ $20\text{ }\mu\text{m}$ で薄切した（フェザー：替刃S35）。切片が大きく変形したり，割れたりすることなく良好に作業が行えるかどうか確認して包埋条件を検討した。

3 染毛の横断面観察

(1) 試料の切り出し

染毛の毛根から 2.5 cm ， 5 cm ， 10 cm （以下 5 cm ごと）の部位の毛幹約 1 cm を切り出して試料とした。切り出した試料は， 1.5 ml マイクロチューブに1片ずつ入れて，以下に示す手順により，脱水，予備浸漬および本浸漬を行ってから包埋した。

(2) 脱水

試料を入れた各チューブに70%エタノール 0.5 ml を入れ，室温に1時間放置した。チューブ内の液を取り除いた後，100%エタノール 0.5 ml を入れ，室温に1時間置いて試料の脱水を行った。

(3) 予備浸漬

チューブ内の液を除去後，テクノビット7100を用いて調製した予備浸漬液 0.5 ml を入れ，室温で2時間放置した。

(4) 本浸漬

チューブ内の液を除去後，テクノビット7100浸漬液 0.5 ml を入れ，室温で3時間以上（24時間以内）放置した。

(5) 包埋

テクノビット7100包埋液をプラスチック製の包埋板に流し込み，そこに浸漬した試料を移した。後に行う薄切作業の際，毛幹に対して垂直に薄切されるように試料の向きを整え，室温に1時間置いた後， 50°C で3時間加温した。

(6) 切片の厚さの検討

染毛の横断面の透過光による顕微鏡観察を良好に行うのに適した切片の厚さを検討した。マイクロトームを用いて，試料のはほぼ同じ部位から $5\text{ }\mu\text{m}$ ， $10\text{ }\mu\text{m}$ ， $20\text{ }\mu\text{m}$ および $30\text{ }\mu\text{m}$ の厚さの切片を連続的に薄切し，各横断面において観察される毛小皮や毛皮質の形態，メラニン果粒の量および染色の状態等を比較して，適切な切片の厚さを検討した。

(7) 横断面観察

20名の女性より提供された染毛の横断面の観察を行った。試料毛髪が毛幹に対して垂直に薄切されるように，包埋ブロックをマイクロトームの試料台に固定し，厚さ $20\text{ }\mu\text{m}$ の横断切片を作製した。切片をスライドグラス上に取り，グリセリンとカバーグラスで封入した。生物顕微鏡（透過光，400倍）を用いて，横断面における毛小皮の厚さおよび損傷の程度，メラニン果粒の量，染色の色調および染料の毛髪内部への浸透の程度を観察するとともに，個人内および個人間における形態比較を行った。

結 果

1 包埋条件の検討

シリコンゴム製およびプラスチック製の包埋板にそれぞれ包埋液を流し込み，異なる温度で加温した場合の樹脂の硬化（重合）状態およびマイクロトームを用いて包埋ブロックを薄切した際の作業の難易度，さらに，その後の包埋ブロックの変形の程度についてTable 2にまとめて示した。

樹脂の硬化に要する時間は，温度が高いほど短く， 40°C および 45°C では，完全に硬化するのに12時間から24時間を要するのに対し， 50°C では3時間， 55°C では1時間で硬化が完了した。

包埋板の材質と樹脂の硬化に要する時間との関係については，温度が 40°C および 45°C の場合には，シリコンゴム製の包埋板の方がプラスチック製よりも

Table 2 Difficulty of sectioning of resin blocks polymerized under various conditions using Technovit 7100.

Polymerization temperature (°C)		40		45		50		55	
Material of mold		Silicon	Plastic	Silicon	Plastic	Silicon	Plastic	Silicon	Plastic
Polymerization time (hours)	1	×	×	×	×	×	×	□	□
	3	×	×	×	×	○	○	—	—
	6	×	×	×	×	□	□	—	—
	12	△	×	△	△	—	—	—	—
	24	△	△	△	△	—	—	—	—
	48	—	△	—	—	—	—	—	—

×: Not suitable for sectioning because of insufficient polymerization of the resin.

△: Suitable for sectioning, but the resin block warped with the passage of time.

○: Suitable for sectioning without warp of the resin block.

□: Not suitable for sectioning because of brittleness of the resin block.

—: Not tested.

硬化が早く進行する傾向が認められたが、50℃以上では、包埋板の材質の違いによる明瞭な差は認められなかった。

薄切作業の難易度および包埋ブロックの変形の程度については、加温温度による差が認められた。45℃以下の温度で硬化させた場合、樹脂には適度な弾力性があるため、比較的容易に包埋ブロックを薄切することができた。しかし、硬化後の日数の経過とともに、包埋ブロックに強い反りが生じてしまい、ブロック内の毛髪を毛幹に対して垂直に薄切するのが難しくなった。一方、50℃以上の温度で硬化した包埋ブロックには、数日が経過しても強い反りは生じないが、加温時間が長いと樹脂が脆くなる傾向が認められた。50℃で6時間以上加温すると、樹脂がやや脆くなるため薄切が難しくなり、55℃では、加温時間が1時間のものでも、うまく薄切することができなかった。重合に要する時間、樹脂の硬さ（弾力性、脆さ）および包埋ブロックの変形を考慮すると、最適な包埋条件は50℃で3時間の加温と考えられ、以後の実験では、この条件で試料の包埋を行うこととした。

2 染毛の横断面観察

(1) 切片厚の検討

試料毛髪のほぼ同じ部位から得られた、厚さ5 μm 、10 μm 、20 μm および30 μm の切片において観察される横断面像を Fig. 1 に示した。染色が淡く

明るい色調の場合、厚さが10 μm 以下の切片では、染色の有無や染料の毛髪内部への浸透の程度について正確に把握することが困難であり、一方、厚さ30 μm の切片では、メラニン果粒の量を判定するのが難しくなった。厚さ20 μm の切片では、染色の状態とメラニン果粒の量の両方について正確な判定が可能であり、また、毛小皮の厚さや損傷状態についても良好に観察されるため、染毛の横断面観察には、切片厚を20 μm とするのが最も適当と考えられた。

(2) 横断面観察および形態比較

各試料の横断面を顕微鏡により観察し（400倍）、毛小皮の厚さ（磨耗）および損傷（変形）の程度、メラニン果粒の量、染色の色調および染料の毛髪内部への浸透の程度について、Table 3 に示した基準に従って分類するとともに、個人内および個人間における各試料の比較を行った。各試料の横断面において観察された各形態は、Table 4～6 に示した凡例を用いて、Table 7 にまとめるとともに、典型的および特徴的ないくつかの横断面像を Fig. 2 に示した。

1) おしゃれ染め

染毛試料提供者全20名中、黒髪を他の（より明るい）毛色に変えるための、いわゆる「おしゃれ染め」をしているのは13名で（Table 1 および7の Subject 1～13）、いずれも美容院で染毛したものである。横断面を観察した結果、1本の毛髪でも、観察

Fig. 1 Cross sections of a dyed hair cut at several different thickness.

Fig. 2 Cross sections of dyed hairs collected from different subjects.

Each section was prepared at 2.5 cm, 5 cm, 10 cm (and then every 5 cm) from the root.

Table 3 Morphological characteristics examined for cross section of dyed hairs.

Characteristic	Classification
Thickness of cuticle	Thick $2.5 \mu\text{m} \leq$ Medium $1.5 \mu\text{m}$ or $2 \mu\text{m}$ Thin $0.5 \mu\text{m}$ or $1 \mu\text{m}$ Not observed
Damage of cuticle	No damaged Slightly damaged Damaged
Density of melanin granules	Heavy Medium Light Not observed
Shade of dye	Deep Medium Pale Not observed
Permeation of dyes	Into the center of cortex (medulla) into the mid-depth of cortex
Deep coloring of cuticle	Observed Not observed
Color of dyeing	Dark Brown (DB) Yellowish Brown (YB) Yellow (Y) Reddish Dark Brown (RDB) Reddish Brown (RB) Orange (O) Not dyed ($\times$)

する部位によって、異なる横断面像が観察された。毛根側から毛先側に向かっての横断面像の変化については、多くの毛髪で共通した傾向が認められた。その代表的な例は、Table 1 および 7 の Subject 1～8, Fig. 2 の Subject 2, 6 および 7 である。毛小皮は毛根に近い部位では厚く、損傷も軽度であるが、毛先側では磨耗により薄くなり、細胞層が波打つように変形して間隙が観察された。メラニン果粒は毛先側ほど減少（分解・退色）しており、染色の色調は、毛根に近い部位で赤みの弱い暗い色調を呈することが多いが、毛先側では黄みの強い明るい色調へと変化していた。

Table 5 Legend of symbols used for classifying the density of melanin granules of dyed hair.

Density of melanin granules ^{a)}	Symbols
Heavy	
Medium	
Light	
Not observed	$\times$

^{a)} Density of melanin granules at the periphery of hair cortex was classified (because the decomposition of melanin granules from hair coloring proceeds from the periphery to the center of hair cortex).

Table 4 Legend of symbols used for classifying thickness and damage of cuticle of dyed hair.

Thickness of cuticle	Damage of cuticle ^{a)}		
	No damaged ^{b)}	Slightly damaged ^{c)}	Damaged ^{d)}
Thick $2.5 \mu\text{m} \leq$			
Medium $1.5 \mu\text{m}$ or $2 \mu\text{m}$			
Thin $0.5 \mu\text{m}$ or $1 \mu\text{m}$			
Not observed			

^{a)} The shape of cuticle and density of cuticular layers were classified.

^{b)} Cuticle forms a concentric circle, and cuticular layers overlap closely.

^{c)} Cuticle transforms lightly, and small gaps are observed in cuticular layers.

^{d)} Cuticle transforms strongly in waves, and cuticular layers loosely separate.

Table 6 Legend of symbols used for classifying shades of dye, permeation of dyes and deep coloring of cuticles of dyed hair.

Shade of dye	Permeation of dyes			
	into the center of cortex		into the mid-depth of cortex	
Deep		Deep coloring of cuticle ^{a)}		Deep coloring of cuticle ^{a)}
Medium
Pale
Not observed	×			

^{a)} Distinctive coloring of cuticles that is not related to the dyeing of cortex.

毛先側ほど、毛小皮の摩耗および損傷が進行し、メラニン果粒は減少して、明るい色調となる点では、多くのものが同様の傾向を示したが、形態変化の大きさは人物によって差異を示した。大きな変化のため、毛根側と毛先側とで横断面像が著しく異なるもの、毛先近くにおいて急激な変化を示すもの、反対に、毛幹の全長にわたってほとんど変化のないもの等が認められた。また、他のおしゃれ染めの毛にはない特徴ある付加的な染色が観察された人物も認められた。

長さが20 cm以上の毛では、多くの場合、毛根側と毛先側とで横断面の形態が大きく異なっていた。これらの毛の毛先側では、毛小皮がほぼ完全に摩耗し、メラニン果粒はほとんど消失して、黄みの強い淡い色調を呈する特徴的な横断面像が観察された (Table 1 および 7 の Subject 1~4, Fig. 2 の Subject 2)。

毛小皮の磨耗や損傷、メラニン果粒の減少および淡い色調への変化は、多くの場合、毛根側から毛先側に向かって徐々に進行する傾向を示した。しかし、毛根部から毛幹の中央部にかけては横断面像にほとんど変化がないが、毛先近くにおいて毛小皮が消失し、淡い色調となる急激な形態変化を示すものや (Table 1 および 7 の Subject 9, Fig. 2 の Subject 9)、通常は毛根より20 cm以上離れた部位において観察されるような大きな形態変化が、10 cmあるいはそれより毛根に近い部位で生じているものも (Table 1 および 7 の Subject 10, Fig. 2 の Subject

10) 認められた。

一方で、20 cm以上の長さがあるにもかかわらず、横断面において観察される各形態が、毛幹の全長にわたってほとんど変化しない特徴的な例も認められた (Table 1 および 7 の Subject 11, Fig. 2 の Subject 11)。

また、最後の染毛から6か月以上経過した人物では、毛根から2.5 cmの部位が未染であった (Table 1 および 7 の Subject 12)。白髪染めしている人物も含め、他の19名では、毛根近くの未染部分は長いものでも1 cm程度であった。

他の特徴的な形態としては、一般のおしゃれ染めの毛の染色像に加えて、毛小皮が付加的に濃く着色されている例が認められた (Table 1 および 7 の Subject 13, Fig. 2 の Subject 13)。

おしゃれ白髪染めを美容院で行っている人物では、多くのおしゃれ染めの毛で観察される黄みの強い色調ではなく、むしろ白髪染めの毛で多く観察されるやや赤みの強い色調が観察された (Table 1 および 7 の Subject 14, Fig. 2 の Subject 14)。一方、自宅でおしゃれ白髪染めをしている人物では、黄みの強い色調が観察されたが、他の人物とは異なり、毛根近くにおいて毛小皮が薄く、また、メラニン果粒が少ないという特徴的な形態が認められた (Table 1 および 7 の Subject 15, Fig. 2 の Subject 15)。

2) 白髪染め

白髪を黒あるいはそれに近い濃色に染める、いわゆる「白髪染め」をしているのは5名で、そのうち

Table 7 Cross section morphologies of dyed hairs collected from twenty Japanese females.

Subject	Characteristics	Distance from hair root along hair shaft (cm)						
		2.5	5	10	15	20	25	30
1	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	DB	DB	YB	YB	YB	Y	YB
2	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	DB	YB	YB	YB	YB	Y	
3	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	DB	YB	YB	Y	Y		
4	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	DB	DB	YB	YB	Y		
5	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	DB	DB	YB	YB	Y		
6	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	DB	DB	YB	YB			
7	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	YB	YB	YB				
8	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	DB	YB	YB				
9	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	DB	YB	YB	YB			
10	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	YB	YB	Y				

Table 7 Cross section morphologies of dyed hairs collected from twenty Japanese females (Continued).

Subject	Characteristics	Distance from hair root along hair shaft (cm)						30
		2.5	5	10	15	20	25	
11	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	YB	YB	YB	YB	YB	YB	
12	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	×	DB	DB	YB			
13	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	DB	DB	YB	YB	YB		
14	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	DB	DB	DB				
15	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	YB	YB	YB				
16	cuticle							
	melanin granules	×	×	×	×			
	dyeing	RDB	RB	0	0			
17	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	RDB	RDB	RB				
18	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	DB	RDB	RDB				
19	cuticle							
	melanin granules	×	×	×				
	dyeing	Y	Y	0				
20	cuticle							
	melanin granules							
	dyeing	RDB	RDB	RDB				

2名は美容院で染毛しているが (Table 1 および 7 の Subject 16 および 17), 他の 3 名は市販の白髪染め剤を用いて自宅で染毛したものである (Table 1 および 7 の Subject 18~20).

白髪染め毛においても, 毛先側ほど毛小皮の磨耗や損傷が大きく, また, メラニン果粒が残存しているものでは, その量が毛先側ほど少なくなる傾向を示したが (Table 1 および 7 の Subject 16~19, Fig. 2 の Subject 16 および 18), 材料とした毛髪が比較的短い (最長でも 20 cm 以下) こともあり, おしゃれ染めの毛で観察されたような, 毛根側と毛先側とで, これらの形態が著しく異なる例は認められなかった.

染色の色調については, おしゃれ染めの毛では, 赤みの強いものは少なく, 特に毛先側では多くが黄みの強い色調を呈していたのに対し, 白髪染めの毛では, 全体に赤みの強い色調が観察された. また, おしゃれ染めの毛では, 全長で染色状態にほとんど変化のないものが少数認められた他は, いずれも毛先側ほど淡色となっていたが, 白髪染めの毛では, これとは逆に毛先側ほど濃色となる例が 2 名に認められ, とともに自宅で染色している人物であった (Table 1 および 7 の Subject 18 および 19, Fig. 2 の Subject 18).

なお, 染料の浸透が浅く, 毛皮質の中心部が未染色となっている横断面像が, 試料提供者 20 名中 11 名において認められた. このうち 6 名は, 毛根側あるいは毛先側の一部で毛皮質の中心部が未染色となっていたが (Table 1 および 7 の Subject 2, 3, 6, 9, 13 および 15, Fig. 2 の Subject 2, 6, 9, 13 および 15), 5 名は毛幹の全長で毛皮質中心が未染であった (Table 1 および 7 の Subject 5, 8, 10, 14 および 20, Fig. 2 の Subject 14 および 20).

考 察

おしゃれ染めや白髪染めの普及に伴い, 実際の鑑定においても, 染毛が鑑定資料となる場合が多くなっている.

毛髪の形態検査において, 一般に色調は重要な検査項目とされている. しかし, 染毛が資料の場合には, もとの毛色が失われているため, 色調は異同比

較のための重要な指標とはされず, 多くの場合は, 単に染毛処理の有無について言及するのみである.

毛髪が染毛であるかどうかは, 横断面を観察して, 毛小皮や毛皮質の本来は無色である部分の着色を確認することで確定的に判定できるが, 染毛処理の有無を知るだけならば, 横断面の観察をしなくても, 毛根付近での急激な色調の変化や毛先側の不自然な色調を確認することで, ほとんどの場合は判定が可能である. そのため, 現在, 毛髪の横断面観察は, ごく少数の資料に対し, しかも, 特別に必要なある場合に限り実施される検査となっている.

しかしながら, 横断面観察を行うことで, 単に毛小皮や毛皮質の着色の有無だけでなく, 染毛処理によって減少 (分解・退色) したメラニン果粒の残存状態, 染色の色調や染料の毛髪内部への浸透の程度といった, いわば「染まり方」について, 特徴ある形態が認められる場合がある. さらに, ある程度の長さがある毛髪では, 1 本の毛髪でも, 部位 (毛根からの距離) によって, この「染まり方」や毛小皮の厚さおよび損傷の程度が異なる場合があることが経験的に知られている. しかし, 横断面観察の作業が煩雑なこともあり, これら「染まり方」や毛小皮の厚さおよび損傷の程度等の形態情報が, 異同比較を行う上でどの程度有用であるかについては, これまでほとんど検討がされていなかった.

毛髪の横断面を観察するには, セルロイド製のスンプ C 板 (志賀昆虫社) を用いたセルロイド包埋法により横断切片を作製するのが, 本邦では最も一般的な方法となっている. 毛髪の横断切片作製法としては, セルロイド包埋による方法の他, 包埋剤としてパラフィン³⁾, セロイジン⁴⁾ およびエポキシ樹脂^{5,6)} を用いる方法や, 毛髪を保定するために木製のブロック⁷⁾, バルサ板^{8,9)}, 窓を開けたカード^{10,11)}, 細孔を空けたプレート^{12,13)} やポリエチレンの細管¹⁴⁾ を用いる方法, さらに, 専用の機器^{15,16)} を用いる方法がある. 染毛の横断面における「染まり方」や毛小皮の厚さおよび損傷の程度を観察し, 比較するためには, 毛髪の特定の部位を, 一定の厚さで, かつ, 毛幹に対してできる限り垂直に薄切する必要がある, また, 毛髪の消費量も最小限にとどめることが望まれる. これまでに報告されている方法

の多くは、包埋の作業が大変に煩雑であったり、薄切の作業に熟練を要し、あるいは、多くの時間を費やすため、多数の資料を取り扱うことが困難なものや、また、作業は比較的簡単であっても、厚さが一定で、毛幹に垂直な切片を得るのが難しいものであり、実際の鑑定や検査において、染毛の形態を個人間で比較する目的には適さないと考えられた。

そこで、毛髪の横断切片の効率的な作製方法として、テクノビット7100を用いた包埋による方法を検討した。テクノビット7100はグリコールメタクリレートを主成分とする低温重合樹脂で、組織検査用包埋剤として利用されている。

テクノビット7100にはテフロン製の専用の包埋容器が別途市販されており、この包埋容器を用いた場合には、試料を包埋液中に置き、室温に1時間放置後、35～45℃で1時間加温して樹脂を重合させる。専用の容器には、ウェル(穴)が10個しかないため、同時に多数の試料を包埋するには複数の容器を用意する必要がある。また、ウェル1個の容積が約1 ml あるため、包埋液の消費量が多く、さらに、硬化した包埋ブロックを容器から取り出すために専用の固定台と固定樹脂を必要とするため、かかる費用はかなり高いものとなる。今回、専用の容器の代わりに用いた電子顕微鏡用の包埋板は、ウェル(穴)の容積が200～250 μ l と小さく、しかも安価なため、多数の毛髪試料を包埋するのに都合が良いと考えられた。さらに、シリコンゴム製およびプラスチック製のどちらの包埋板にも柔軟性があり、包埋板を折り曲げるだけで、硬化した包埋ブロックを容易に取り出せることも利点となっている。そこで、専用の容器の代わりに、電子顕微鏡用の包埋板を用いた場合の最適な包埋条件(温度および時間)について検討した。

加温の温度が低いと樹脂の硬化の進行が遅く、40℃や45℃では、薄切が可能となるまでに12時間から24時間を要した。この条件で重合させた樹脂には適度な弾力性があるため、薄切は容易に行えたが、硬化後2、3日で、包埋ブロックに強い反りが生じた。毛髪の横断面形態を的確に把握するためには、毛髪を毛幹に対してできる限り垂直に薄切する必要があるが、ブロックの反りにより、内部の毛髪が適

切な方向を保った状態でミクロトームの試料台に固定するのが難しくなった。包埋板のウェル(穴)表層(上層)の樹脂は、ウェル内部に比べると硬化の進行が遅いため、硬化に長い時間をかけると、表層部と内部で樹脂の性状に差が生じ、それが後にブロックの反りの原因になると考えられる。

一方、50℃や55℃の高い温度では、樹脂の硬化は早く進行し、その後数日が経過しても、ブロックの反りはほとんど生じないため、ミクロトームへの固定は容易であった。ただし、高温で硬化した樹脂は、硬く脆くなる傾向があり、55℃で硬化させたもののや、50℃でも6時間以上加温したものは、薄切が困難となった。

実際の鑑定や検査では、多数の毛髪資料の横断切片を作製する必要が生じ、それに伴って、薄切作業に数日を要する事態が想定される。テクノビット7100による毛髪の包埋を電子顕微鏡用の包埋板を用いて行う場合には、包埋に要する時間、薄切作業の容易さおよび包埋ブロックの反りを考慮して、50℃、3時間の加温が最適な包埋条件と考えられた。

テクノビット7100を用いた包埋法により、これまでより簡便に毛髪の横断切片が作製できるようになった。そこで、この方法によって染毛の横断面を観察し、染色状態等の形態が異同比較のための情報として利用可能かどうか検討した。

各試料毛髪の横断面観察に先立ち、作製する横断切片の厚さについて検討した。テクノビット7100を用いた包埋法により、厚さ5 μ m から、ほぼ一定の厚さの横断切片が得られたが、メラニン果粒の減少(分解・退色)および残存の状態、染色の色調や染料の毛髪内部への浸透の程度、さらに毛小皮の厚さや損傷の程度についてより正確に把握することが可能で、かつ、これらの形態について、試料間での比較が容易に行える切片の厚さは20 μ m と考えられた。

毛小皮がすり減ったり、傷ついた場合、保護剤等を用いることにより、磨耗や損傷の進行を抑えることはできるが、根本的な修復は不可能である。そのため、通常、毛小皮は毛先側ほど薄くなるが、染毛を行うと、薬剤の作用により、磨耗や損傷がより重度になることが知られている。染毛後は、繰り返し

の洗髪による色落ちのため、徐々に明るい色調へと変化するが、毛小皮の損傷が進行した毛先側ほどこの色落ちは大きくなる。また、継続して染毛を繰り返す場合、頭髮全体の色調バランスや、薬剤による毛髪へのダメージを考慮して、新たに叢生した毛根側への処置（リタッチ）が主として行われる¹⁷⁾。そのため、美容院での専門家による染色の場合、色調は毛根側では濃く、毛先側ほど明るくなるのが一般的である。この傾向は、今回観察した多くの染毛で同様に認められたが、毛幹上の部位（毛根からの距離）が同じでも、そこで観察される横断面像は、個人により大きく異なる場合があった。これは、毛の長さに沿った各形態の変化の大きさ（毛根から離れるにしたがって横断面がどのように変化するか）に個人差があるためで、もとの毛の性状に加え、染料の種類や染毛の方法、処置の頻度、日常のヘアケア等、さまざまな要因によるものと考えられた。なお、おしゃれ白髪染めの毛や白髪染めの毛の中には、毛先側ほど濃い色調となっているものや、あるいは毛根近くの毛小皮が薄くなっているものが認められたが、これらはいずれも自宅で染毛している人物のもので、素人の未熟な染毛技術のために生じた形態と考えられた。

染毛を継続して行っている人は、おしゃれ染めで2～3か月毎に、また、白髪染めでは1～2か月毎に染め直しているようである。提供された染毛は全て自然脱落毛であり、抜け落ちる前には、ほとんど、あるいは全く伸長していなかったと考えられ、毛根付近の未染部分は短く、ほとんどが1 cm以下であった。ただし、今回、毛髪提供者の中に、最後に染毛してから6か月以上経過した人物が1名おり（Table 1 および7のSubject 12）、この人物には、毛根付近の未染部分の長さが3 cm以上あるものが認められ、形態学的異同比較のための有用な情報となり得ると考えられた。

染色の色調については、おしゃれ染めの毛の多くが、赤みが弱くやや暗い茶褐色から黄みの強い明るい色調を呈するのに対し、白髪染めの毛は、全体に赤みの強い濃い色調のものが多かった。おしゃれ染めも白髪染めも、現在はほとんどが酸化染毛剤を用いており、染毛のしくみは両方で全く同じである。

酸化染毛剤は、主として、アルカリ、酸化剤および発色剤の3つで構成されている。発色剤は、フェニレンジアミンやアミノフェノール等のジアミン系化合物であり、これらが毛髪内部に浸透し、酸化重合して不溶性となり、ケラチンタンパクに染着する¹⁸⁾。目的とする毛色に応じて、複数の発色剤を組み合わせて用いるのが一般的であるが、もとの毛色より明るく染めることが多いおしゃれ染めに比べ、白い毛を濃く染めるための白髪染め剤には、濃色を呈する発色剤がより多く含まれている。おしゃれ染めの毛と白髪染めの毛との間に観察された色調の違いは、染毛剤に含まれる発色剤の種類や量の違いによるものと考えられる。

永久染毛剤である酸化染毛剤では、染料が毛髪内部まで浸透し、多くの場合、毛皮質の中心（毛髄質）まで染色されるが、中には、染料の浸透が浅く、毛皮質の中心部が未染色となっているものが認められ、「染まり方」を比較する際の指標のひとつになると考えられた。

染毛剤としては、他にカラーシャンプーやカラーリンス等の一時染毛剤も使われているが、酸化染毛剤とは異なり、染色が毛小皮および毛皮質の辺縁に限定される。今回の染毛提供者の中にも、普段は美容院で染毛しているが、暗めの毛色に変えるため、市販のヘナ（植物性染料）入りのシャンプーを使用していた人物がおり（Table 1 および7のSubject 13, Fig. 2のSubject 13）、酸化染毛剤のみによる他の染毛とは全く異なった「染まり方」は、異同比較のための有用な情報となり得ると考えられた。

毛小皮の摩耗や損傷、染色の色調や、これらの形態の毛根側から毛先側にかけての変化の大きさは、個人内においても多少のバラつきがある。また、多くの場合、染毛処理が2か月前後の間隔で段階的に施されるため、形態変化の流れが部分的に逆転して観察されることもある。少数の毛髪において観察された形態がそのままその個人の頭毛全体を反映しているとは限らないが、染毛の複数個所の横断切片を作製して、個々の横断面形態や毛根側から毛先側にかけての変化を観察し、さらに個人に特徴的な形態を見出すことにより、これまで単に染毛処理の有無のみを結果とすることが多かった染毛の色調検査に

において、異同比較のためのより多くの情報が得られるものと考えられた。

結 語

テクノビット7100を用いた包埋による毛髪横断切片作製法は、現在広く行われているセルロイド包埋による方法に比べ、包埋および薄切の作業が容易であり、厚さが一定で、毛幹に垂直な切片を得ることができた。

テクノビット7100を用いた包埋による方法で、日本人成人女性20名の染毛の横断切片を作製し、毛小皮の厚さおよび損傷の程度、メラニン果粒の減少（分解・退色）および残存の状態、さらに、染色の色調や染料の毛髪内部への浸透の程度について観察するとともに、各人物間での比較を行ったところ、全般に同様の形態が観察されたが、毛の長さに沿った各形態の変化の大きさ（毛根から離れるにしたがって横断面がどのように変化するか）には個人差が認められた。また、人物によっては、異同比較のための有用な指標となる特徴的な形態が認められた。

これまで染毛の色調検査では、染毛処理の有無のみを判定するにとどまることが多かったが、可能であれば、毛幹に沿った複数個所の横断面を観察することによって、異同比較のための有用な形態情報が得られる場合があると考えられた。

文 献

- 1) Robertson, J.: *Forensic Examination of Hair* (Forensic Science Series), pp. 84–119, Taylor & Francis, London (1999).
- 2) 科学警察研究所：捜査のための法科学 第一部〈法生物・法心理学・文書鑑定〉. pp. 95–99, 令文社, 東京 (2004).
- 3) Shelley, W. S. and Ohman, S.: Technique for cross sectioning hair specimens. *J. Invest. Dermatol.*, **52**, 533–536 (1969).
- 4) Das-Chaudhuri, A. B.: A note on Martin's method of hair microtechnique for preparing cross section. *Anthropol. Anz.*, **39**, 135–137 (1981).
- 5) Rosen, I. S. and Kerley, E. R.: A epoxy method of embedding hair for histologic sectioning. *J. Forensic Sci.*, **16**, 236–240 (1971).
- 6) Pepper, M. C. and Lantis, S. D. H.: A new technique for cross sectioning free hairs. *J. Invest. Dermatol.*, **68**, 111–112 (1977).
- 7) Fiala, G. F.: Preparation of hair for cross section examination. *Am. J. Phys. Anthropol.*, **14**, 73–74 (1930).
- 8) Mathiak, H. A.: A Rapid method of cross-sectioning mammalian hairs. *J. Wildl. Managem.*, **2**, 162–164 (1938).
- 9) Cooper, R. M. and Kirk, P. L.: An improved technique for sectioning hairs. *J. Crimi. Law Criminal. Pol. Sci.*, **44**, 124–127 (1953).
- 10) Kneberg, M.: Improved technique for hair examination. *Am. J. Phys. Anthropol.*, **20**, 51–67 (1935).
- 11) 津本定男, 前坊 毅, 生駒栄喜：毛髪横断面計測のための一改良法. 人類誌, **73**, 50–53 (1965).
- 12) Ford, J. E. and Simmens, S. C.: Fiber section cutting by the plate method. *J. Text. Inst. Proc.*, **50**, 148–158 (1959).
- 13) Petraco, N.: A modified technique for the cross-sectioning of hairs and fibers. *J. Pol. Sci. Admin.*, **9**, 448–450 (1981).
- 14) Fong, W. and Inami, S. H.: Simple, rapid, and unique hand techniques for cross-sectioning fibers and hair. *J. Forensic Sci.*, **33**, 305–309 (1988).
- 15) Steggerda, M.: Cross sections of human hair from four racial groups. *J. Hered.*, **31**, 475–476 (1940).
- 16) Vernall, D. G.: A study of the size and shape of cross sections of hair from four races of men. *Am. J. Phys. Anthropol.*, **19**, 345–350 (1961).
- 17) 日本ヘアカラー協会：ヘアカラー入門. pp. 25–46, 新美容出版, 東京 (2002).
- 18) 大門一夫：毛髪大全科. pp. 240–259, JBC アカデミー本部, 東京 (2003).