J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn.
報 文
27(3) 424 — 431 (1993)

毛髪の物性およびタンパク構造に対する紫外線の影響†¹

金高節子†², 富沢庫司朗†², 伊与博美†², 中村良治†³

日華化学株式会社 デミ毛髪科学研究所†²
福井大学 工学部生物化学工学科†³

The Effects of UV Radiation on Human Hair Concerning Physical Properties and Fine Structure of Protein

Setsuko Kanetaka†², Koshiro Tomizawa†²,

Hiromi Iyo†² and Yoshiharu Nakamura†³

NICCA Chemical Co. Ltd.†²
Fukui University†³

The effects of UV radiation on human hair were examined concerning physical properties and fine structure of internal protein. The breaking strength of sample hair decreased from 152g to 138g, depending on UV irradiation period for 0 to 55 hours. Water content decreased from 10 to 7% at first 10 hrs exposure and became almost constant after that. The significant damage brought by UV exposure was observed on the cuticle surface and the internal section of sample hair by SEM. M.W. and amino acid composition of extracts eluted by two kinds of solvent were examined. With the increase of UV irradiation period, M.W. seemed to decrease and cysteinic acid increased significantly. X-Ray diffraction analysis suggested that UV irradiation and elution process brought on sample hair affect not only hair surface but also the structure of internal keratinous protein. It may be concluded that the effects on physical properties of hair by UV irradiation are attributed to both the damage of cuticle and the degradation of internal prorein.

1. 緒 言

毛髪は皮膚と同様に紫外線によって大なり小なり損傷することは、既に知られていることであるが、このことはマリンスポーツや長時間の戸外労働に携わる人にとっては特に深刻な問題である。しかしながら、毛髪^{1), 2)} に対しては皮膚^{3) ~ 5)} に対

するような詳細な研究は、殆ど行われておらず、損傷の機構に関しては不明な部分が多い。

そこで本報では、紫外線によって毛髪が損傷していく機構を、破断強度、水分含量等の毛髪物性値の変化、走査型電子顕微鏡による毛髪表面観察および内部タンパク構造の変化の追跡等を通じて、明らかにしていくことを目的として研究を行ったので、その結果について報告する。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 毛髪試料

†¹ 第17回 IFSCC 横浜大会 ('92年10月)で口頭発表

†² 〒910 福井市文京4-23-1; 4-23-1 Bunkyou,
Fukui-city, 910 Japan

†³ 〒910 福井市文京3-9-1; 3-9-1 Bunkyou, Fukui-
city, 910 Japan

中国人毛（中国より輸入，年齢，性別履歴不詳）及び日本人バージン毛（15歳女子頭髮）

2.1.2 試薬

チオグリコール酸アンモニウムは佐々木化学製の市販原料を，また，2-メルカプトエタノール，尿酸，塩酸及び4N-メタンスルホン酸は半井テスク製の特級試薬を用いた。その他，電気泳動用試薬，アミノ酸分析用試薬は和光純薬製及び半井テスク製特級試薬を用いた。

2.2 実験方法

毛髪サンプルに対する紫外線照射は，東芝製400W 水銀紫外線照射ランプ（H-400P型）を用いた。その強度は，50cm 離れて $1.2\text{mW}/\text{cm}^2$ であり，UVA を選択する場合には，320nm 以下をカットする硬質ガラスフィルターを使用した。また，毛髪の溶出処理は0.5M 2-メルカプトエタノール/10M 尿素で行った。

照射した毛髪サンプルについて，強伸度測定，含水量の測定，走査型電顕による表面および断面の観察及びX線回折測定を行った。これら物性値の測定には上記日本人バージン毛を用いた。

強伸度の測定は，FUDOH レオメーター NRM-20107 J を使い 70~80 μm の毛髪30本について行い，その平均値を求めた。

含水量の測定は，照射後毛髪を1時間 25°C，20%RH の恒温恒湿に保った後，HIRANUMA エヴァポレーターを用いカールフィッシャー法により2回測定を行い，その平均値をとった。

X線回折パターンの測定は20~30本束ねた毛髪について，東芝X線発生装置 XC40H 型 (35kV, 10mA, Ni フィルター濾過, 1.54Å の CuK α 線) を用い広角で6時間露光で行った。

強度測定は理学電気装置 2020A 型 (35kV, 15mA, Ni フィルター濾過 CuK α 線，散乱スリット: 0.5 ϕ ，受光スリット: 1 $\times$ 1mm) を用い，散乱角 1° から 35° の範囲で行った。

溶出タンパクの分析には中国人毛髪を用いた。10g の細断した中国人毛の照射サンプルは振盪恒温水槽で 40°C，1時間，2種類の溶出液（0.5M チオグリコール酸/10M 尿素又は0.5M 2-メルカプトエタノール/10M 尿素）100ml を用い

て溶出操作を行った。溶出後，毛髪を濾別し，濾液と洗液を合わせ，分画分子量 3500 の透析チューブにいれ，蒸留水を流しながら2日間透析を行った後，溶出液は，-110°C で約2日間，完全凍結乾燥を行った後，精秤し，溶出率を算出した。溶出タンパクの分子量は，SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動により標準タンパクをマーカーとして測定した⁶⁾。溶出タンパクのアミノ酸組成分析は 4N-メタンスルホン酸中で，110°C，24時間加水分解を行った後，1N-NaOH で中和，島津 LC9A 型アミノアナライザーにより行った⁷⁾。

3. 結果

3.1 紫外線照射時間と破断強度の関係

Fig.-1 に，上述の条件で測定した日本人バージン毛の全波長 UV あるいは UVA 照射時間と破断強度の関係を表す。

破断強度は全波長 UV および UVA のいずれについても照射時間に対してほぼ直線的に減少している。56時間照射で，約10%の強度の減少が見られた（T検定により危険率5%で有意差ありと判定された）。

Fig.-1 Breaking strength of UV or UVA irradiated hair samples.

3.2 紫外線照射と含水量の関係

Fig.-2 は日本人バージン毛サンプルに UV あるいは UVA 照射後，上述の条件で測定した含水量と照射時間の相関を表したグラフである。

最初の10時間の照射で含水量は約半分以下が

Fig.-2 The relations between water content and UV or UVA irradiation time.

り、その後はほぼ一定に保たれる。UV および UVA のいずれについてもこの傾向は同じで (UVA より UV の方がやや大)、毛髪内の自由水は照射により蒸発しやすいが、タンパクに結合している構造水は比較的逃げにくいことを示していると思われる。ただし、UV 照射に伴う温度上昇による寄与を調べた結果を図中コントロールに示した。約 30% の寄与が見られた。

3.3 照射毛髪 of 表面および断面の状態

Fig.-3 は走査型電子顕微鏡による 56 時間 UV 照射日本人バージン毛の表面および断面の写真である。

照射後のキューティクルは剥離あるいは融解しているように見える。断面の写真から毛髪は照射

unirradiated hair

irradiated hair

a) hair surface

b) cross section

Fig.-3 SEM photographs of unirradiated and irradiated hair.

により、間充タンパクが水分を失い、組織の劣化が起こり、裂け易くなったと説明できると思われる

る。サンプル毛は、照射によって赤色化したが、今回カラーコンピューターにより定量的に表わす

blank hair

UV irradiated hair

30% extended hair

UV irradiated hair after 30% extending

Fig.-4 X-ray diffraction patterns.

ことはできなかった。

一方 UVA を同時間照射した場合、電顕観察の結果からほとんど損傷は見られなかった。

3.4 照射毛髪のア線回折

Fig.-4 の X 線回折パターンは日本人毛の ブランク毛と 56 時間 UV 照射したそれとの比較、および 30% 延伸毛と、30% 延伸後 56 時間 UV 照射を行った毛髪との比較である。

延伸していない毛髪の場合、典型的な α -ヘリックスのパターン、すなわちヘリックス鎖間距離に相当する $9.8\text{\AA}$ のバンドと、ピッチに相当する $5.1\text{\AA}$ のシャープなアークが鮮明に認められる。

30% 延伸したものでは、 $5.1\text{\AA}$ のアークは認められず β -構造への移行を示している^{8),9)}。延伸、無延伸いずれの場合も、UV 照射により、全体に回折像はぼやけてくる。この事は、UV による毛髪タンパクの結晶性の低下を示しているといえるかも知れない。

この結果を更に詳しく調べるために、種々の条件で処理した毛髪のア線回折強度測定を 1° から 35° の範囲で赤道方向と子午線方向について行った (Fig.-5)。

赤道方向の $9.8\text{\AA}$ のバンドは UV 照射のみによつては強度が変化しないが、照射後溶出操作や延伸操作を行うことにより、このバンドの強度が減少してくるのが判る。子午線方向の強度測定から、 α -ヘリックスのピッチにあたる $5.1\text{\AA}$ のピークが UV 照射のみでは変化しないが、照射後溶出処理を行ったものではこのバンドは低位にシフトし、 β -シート構造を示すと思われる回折ピークが子午線方向 $4.5\text{\AA}$ 付近に認められるようになった。溶出操作を加えることにより、更にこの傾向は強まっており、30% 延伸のパターンに近づいてくる。更に、延伸と溶出を組み合わせることにより、この傾向は一層強まってくる。これらの結果から、UV 照射のみではマイクロフィブリルの α -ヘリックスは直接影響を受けないが、低結晶性タンパクのシスチン結合が開裂して動き易くなり、還元剤液を用いる溶出操作による引張り力が加わることにより、一部、 β -構造への再配列が行われたと推察される。

(1) equatorial direction

(2) meridional direction

Fig.-5 Densitometric analysis of various patterns.

[blank]: blank hair, [UV]: UV irradiated hair, [UV, Elu]: hair eluted by 2-mercapto ethanol/10M Urea after UV irradiation, [Elu.]: hair eluted by above sol., [30% Ex.]: 30% extended hair, [30% Ex. UV]: UV irradiated hair after 30% extension, [30% Ex. Elu.]: hair eluted by above sol. after 30% extension, [30% Ex. UV Elu.]: hair 30% extended, then UV irradiated and eluted by above sol.

3.5 溶出タンパクの性状について

UV および UVA 照射を行った中国人毛からの 2-メルカプトエタノール/10M 尿素による溶出物は、ケラチン性および非ケラチン性タンパク、メラニン分解物、脂質および痕跡量のミネラルから

なっていることが確かめられた。

Fig.-6 に示す SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって求められた溶出タンパクの分子量は、5,000 から 60,000 の範囲に分布している。更に分子量は UV 照射時間が長くなるほど徐々に低くなっているのが認められる。この低い部分は、UV によるジスルフィド結合の開裂により劣化したタンパクに相当するものと思われる。

これらの溶出物の溶出率と照射時間との関係を Fig.-7 に示す。

照射の初期段階 (28時間) で一旦上昇し、更に

(a) UV

(b) UVA

Fig.-6 SDS polyacrylamide gel electrophoresis of eluted products.

Fig.-7 The rate of elution depending on UV or UVA irradiation time.

- UV exposed and eluted by 0.5 M 2-mercaptoethanol in 10M urea
- ▲— UV exposed and eluted by 0.5 M ammonium thioglycolate in 10M urea
- UVA exposed and eluted by 0.5M 2-mercaptoethanol in 10M urea
- △-- UVA exposed and eluted by 0.5M ammonium thioglycolate in 10M urea

過剰の照射で緩やかではあるが減少する傾向を示した。この傾向は、照射の初期段階ではケラチンタンパクはジスルフィド結合の開裂により低分子量化し溶出し易くなるが、過剰な照射を行うことにより架橋結合が逆に促進され溶出し難い状態になるものと考えられる。

2-メルカプトエタノール/10M 尿素による、UV あるいは UVA の 56 時間照射の毛髪溶出タンパクのアミノ酸組成の一例を示す (Table-1)。また、特徴的なアミノ酸についての照射時間との相関を Fig.-8 に示す。

UV 照射時間と共にシステイン酸は明らかに増大しているが、チロシンおよびトリプトファンは徐々に減少している。この結果は、反応性に富むジスルフィド結合が UV エネルギーにより酸化的に開裂した後、活性酸素により更に酸化が進みシステイン酸が生成されたと説明できる。

Table-1 Amino acid composition of extracts from 56 hrs irradiated hair by 2-mercaptoethanol/10M urea

Amino acid	UV 56hr. mol%	UVA 56hr. mol%
CySO ₃ H	3.02	1.29
Asp	6.01	4.56
Thr	6.92	11.77
Ser	16.90	17.90
Glu	12.21	10.92
Pro	4.47	9.77
Gly		
Ala	10.86	10.37
Cys (half)	7.14	4.35
Val	7.00	5.87
Met	0.48	0.29
Ile	2.21	2.36
Leu	6.29	5.75
Tyr	1.92	2.93
Phe	2.26	2.45
His	0.78	1.00
Trp	trace	0.38
Lys	1.83	0.91
Arg	6.88	7.14

Fig.-9 Typical analysis chart of amino acids composition.

二種類の溶出液による溶出タンパクのアミノ酸組成の間には差は見られなかった。

4. 結論および考察

毛髪の UV による損傷に関しては、既に言われてきたことであるが、損傷の内容に関しては報告が少なく僅かに毛髪の赤色化に関するものが見られるだけである。

今回の私共の実験結果は、使用した UV ランプの下での毛髪サンプルに対するものであり、これが直ちに太陽光の下での毛髪に与える影響とは言えないかも知れないが、今回の実験結果から、毛髪は紫外線に暴露されることにより、表面キューティクルが損傷するだけでなく内部構造まで影響を受けることが傾向としては起こりうる事が明らかにされた。その結果、毛髪の強度低下や水分量の減少によるパサツキや枝毛、またメラニン分解による赤毛などが生じることが示唆された。

更に UV エネルギーによるシスチン結合の開裂およびシステイン酸の増大による損傷、またその上にパーマや染毛などの薬剤処理が加わるとタンパク溶出が促進され、更に内部タンパク構造まで変化を受け、これが更に物性変化を促進する可

Fig.-8 Change of composition of several amino acids with irradiation time.

他方、チロシンとトリプトファンは UV エネルギーを選択的に吸収して構造変化を起こすといわれており、本研究の結果でもそのことが示されたと言える。事実、長時間照射でその近くに同定不明のピークが明瞭に見られた (**Fig.-9**)。また、

能性が示された。しかしながら、毛髪の複雑な構造や個体差などのゆえに今回の実験から内部構造に及ぼす影響をすべて明らかにすることはできなかった。また、毛髪に含まれる脂質に対する影響については、今回手をつけることができず今後の課題として残された。

引用文献

- 1) 龍田真伸, 植村雅明, 鳥居健二, 松岡昌弘, 粧技誌, **21**, 43~49 (1987)
- 2) L. J. Wolfram and L. Albrecht, J. Soc. Cosmet. Chem. **38**, 179~191 (1987)
- 3) 土屋 徹, 堀井和泉, 中山靖久, 粧技誌, **22**, 10~14 (1988)
- 4) 福田 實, 長沼雅子, 岩井美枝子, 中山靖久, 粧技誌, **22**, 5~9 (1988)
- 5) 岡田富雄, 他, 粧技誌, **19**, 105~110 (1985)
- 6) Y. Nakamura, K. Kosaka, M. Tada, K. Hirota and S. Kunugi, Proc. 7th. Int. Wool Text. Res. Conf. Tokyo, **1**, 171~180 (1980)
- 7) 金高節子, 宮田勝保, 中村良治, 粧技誌, **24**, 5~11 (1990)
- 8) Fraser and Macrae "Conformation in Fibrous Protein" p. 469~477 (1977)
- 9) J. C. Garson, J. Doucet, G. Isocariss and J. L. Lévesque, J. Soc. Cosmet. Chem., **41**, 347~358 (1990)

(1993年4月20日受理)