

水素による髪紫外線ダメージ抑制効果について

大河内正一^{1)*}, 新原寛晃¹⁾, 山岡卓司¹⁾, 市田叶美¹⁾,
鍵和田聡¹⁾, 常重アントニオ¹⁾

(平成 29 年 9 月 25 日受付, 平成 29 年 12 月 14 日受理)

Hydrogen Inhibits Damaging Effects of UV Radiation on Hair

Shoichi OKOUCHI^{1)*}, Hiroaki NIIHARA¹⁾, Takuji YAMAOKA¹⁾, Kanami ICHIDA¹⁾,
Satoshi KAGIWADA¹⁾ and Antonio TSUNESHIGE¹⁾

Abstract

Ultraviolet (UV) radiation enhances the damage on hair caused by the presence of iron and copper ions in water. In this study, we found that a treatment with hydrogen can suppress such damaging effects. It seems that hydrogen eliminates hydroxyl radicals, which are responsible of damaging effects, formed *via* Fenton reaction in the presence of such metal ions.

Furthermore, to assess the effectiveness of hydrogen to inhibit the damaging effects of UV radiation, experiments were also conducted on keratin films (as replacement of hair filaments) using scanning electron microscopy for surface visualization, and damage quantification by fluorescence spectroscopy. Results have shown that hydrogen can prevent deleterious effects on hair against a combined presence of metal ions (originating from the water distribution pipes) and exposure to UV radiation.

Key words : hydrogen, hair fiber, keratin, UV radiation, metal ions

要 旨

毛髪の紫外線に対するダメージは、鉄や銅イオン水溶液に浸漬し、UVを照射することで、より一層の毛髪のダメージが促進され、それらに新鮮な温泉水と同様の還元系の特性を有する水素水処理をすることによってダメージが抑制されることを明らかにした。水素は、これら金属イオンとフェントン反応で生成され、毛髪のダメージの原因となる水酸基ラジカルを消去すると考えられる。毛髪の紫外線損傷の評価は、SEMによる視覚的評価で行った。

さらに、毛髪代替のケラチンフィルムを用いて、毛髪と同様の紫外線損傷実験を行い、SEMによる視覚的評価に加えて、蛍光強度測定による定量的評価からも、水素の有効性を明らかに

¹⁾法政大学生命科学部 (連絡先) 〒187-0022 東京都小平市上水本町 1-16-8. ¹⁾Faculty of Bioscience and Applied Chemistry, Hosei University (Contact address) 1-16-8 Jyoushi-Honcho, Kodaira-shi, Tokyo Japan 187-0022. *Corresponding author : E-mail okouchi@hosei.ac.jp, TEL 042-312-2772, FAX 042-312-2772.

した。それ故、これら金属イオンは水道配管が原因とも考えられるが、UV 照射と組み合わせられても、水素は毛髪へのより大きなダメージを抑制することが期待できる。

キーワード：水素，毛髪，ケラチンフィルム，紫外線，金属イオン

1. はじめに

毛髪へのダメージ要因として、紫外線、パーマ・カラー剤、摩擦などが挙げられる。また、近年水道水に含まれる銅イオンが髪に付着し、毛髪のダメージを促進させていることが報告 (Naqvil *et al.*, 2013) されている。これらの毛髪へのダメージは、基本的に酸化反応 (Kawasoe *et al.*, 2010; 藤井, 2013) であることから、毛髪のダメージ抑制には還元系が重要と思われる。そこで筆者らは、これまで温泉源泉と同様の還元系 (大河内ら, 1998, 1999, 2015; Okouchi *et al.*, 2002) を、家庭の浴槽水で人工的に実現する方法として、水素の有効性を提案 (大河内ら, 2003, 2005; Kurita *et al.*, 2014) してきた。その還元系の水素浴槽水に継続的に入浴することで、皮膚の弾力向上効果、さらにダメージ毛髪の水素水への浸漬で、髪の滑らかさおよび艶の向上効果 (大河内ら, 2005) を報告してきた。

そこで本研究では、髪の毛の紫外線によるダメージ抑制が、水素発生剤による水素水により可能かどうかの基礎的検討を行った。さらに、紫外線と銅イオンや鉄イオンなどの金属イオンとの組合せによる髪の毛のダメージの影響およびそれらのダメージ抑制が水素発生剤により可能かどうかの検討を行った。水素発生剤としては、実際の源泉かけ流し温泉 (栃木県芦野温泉, アルカリ性単純温泉) の浴槽に添加 (Kurita *et al.*, 2014) し、ボランティアによる継続的入浴で、皮膚の弾力性向上効果を確認した水素化マグネシウム ($\text{MgH}_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2 + \text{Mg}(\text{OH})_2$)、およびより水素が発生し易い水素化ホウ素ナトリウム ($\text{NaBH}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{H}_2 + \text{NaBO}_2$) を用いた。毛髪のダメージ評価は、SEM (走査型電子顕微鏡) 観察による可視的評価、および髪の毛の主成分であるケラチンおよびその関連タンパク質からなる毛髪代替のケラチンフィルム (川副ら, 2011; Fujii, 2012; 藤井, 2013) を用いての蛍光分析による定量的評価を検討した。

2. 実 験

2.1 毛髪による損傷度評価実験

毛髪は化学処理歴のない黒髪 (ビューラックス社) を未処理毛とした。紫外線照射 (254 nm) は、7月の東京都江東区の紫外線量ピーク値 1.68 W/m^2 、年間平均 0.15 W/m^2 に基づき (大崎ら, 2006)、UV ランプの紫外線強度 (照射距離 200 mm) 1.26 W/m^2 とし、1時間照射で約 8.4時間相当に対応させた。

実験は、毛髪を金属イオン (鉄イオン (FeSO_4) および銅イオン (CuSO_4)) を、それぞれ金属イオンとして各 10 ppm (=mg/L) 水溶液中に 15分浸漬後、精製水にそれぞれ 15分間浸漬し、紫外線 (UV) を 1時間照射 (Table 1 の (C)) した。この操作を 4回繰り返した。一方、水素による効果を見るため、上記毛髪処理 (C) で、精製水の代わりに水素水に替えて、同様に 4回の繰り返し処理 (D) を行った。なお、水素水は水素発生剤として、水素化マグネシウム (MgH_2) または水素化ホウ素ナトリウム (NaBH_4) 50.0 mg を、それぞれ精製水 100 mL に溶解し、それらの水溶液はいずれもアルカリ性になるため、アルカリによる毛髪ダメージを考慮して、クエン酸で pH を中性に調整した。それら水溶液の水素濃度は、いずれも水素の飽和濃度 (25°C) 付近の約 1.4~1.6 ppm の範囲であった。さらに、毛髪サンプルとして、Table 1 のコントロール (A) は、精製

Table 1 Treatment Protocol for Hair and Keratin Films.

sample	Treatment Method for hair
(A)	Control (Immersion in Purified Water or Aqueous Solution of Metal Ions for 15 minutes)
(B)	Immersion in Purified Water for 15 minutes → Exposure to UV Radiation for 1 hour
(C)	Immersion in Aqueous Solution of Metal Ions for 15 minutes → Immersion in Purified Water for 15 minutes → Exposure to UV Radiation for 1 hour
(D)	Immersion in Aqueous Solution of Metal Ions for 15 minutes → Immersion in Hydrogen Water for 15 minutes → Exposure to UV Radiation for 1 hour

水または金属イオン水溶液に15分間浸漬したものと、精製水に15分間浸漬後、紫外線を1時間照射したサンプル (B) を用意した。

それら毛髪サンプルの損傷度は、SEM (Cary Scope JCM-5000, (株)菱光社) で髪の表面構造の視覚的観察から評価を行った。

2.2 毛髪代替ケラチンフィルムによる損傷度評価実験

ケラチンとケラチン関連たんぱく質から構成される毛髪ケラチンフィルム ((株)信州 TLO) を用いて、Table 1 に示す毛髪と同様の処理を行った。なお、処理回数はケラチンフィルムが高感度なことから、Table 1 の処理を1回とした。

損傷度評価は、毛髪と同様に SEM による視覚的評価を行った。さらには、毛髪における酸化タンパク質のカルボニル基を特異的に蛍光標識可能なフルオレセイン-5-チオセミカルバジド (5-FTSC) を用い、その蛍光 (蛍光高度計 (ImageQuant LAS 4000, GEヘルスケア・ジャパン株式会社)) を検出することでケラチンフィルムの損傷度の定量的評価を行った。

3. 結果および考察

3.1 水素による毛髪の損傷抑制

毛髪は毛髪の内部を保護しているキューティクル (毛小皮)、内部のコルテックス (皮質)、メデュラ (髄質) から構成されている。若林 (2004) はキューティクルの損傷状態を、その形状別に7分類 (剥離, 磨耗, 割線, 穿孔, 黒点, 破壊, 脱落) で評価した。そこで、本研究でも SEM による毛髪の可視的損傷評価を、このキューティクルの損傷7分類で対応したが、結果的には Fig. 1 に示す5分類 (剥離, 磨耗, 割線, 穿孔, 破壊) が観察できた。

Figure 1 に、金属イオン水溶液として、 Fe^{2+} 水溶液に対する結果の一例を示す。精製水および Fe^{2+} 水溶液への15分間の浸漬 (A) のみでは、髪のキューティクル損傷に特に異常は見られなかった。しかし、精製水浸漬後に UV 照射 (B) した毛髪では、剥離と磨耗が観察され、さらに精製水の替りに Fe^{2+} 水溶液浸漬後、精製水に浸漬し UV 照射 (C) 場合では、剥離, 磨耗, 割線, 穿孔, 破壊が観察され、毛髪に大きなダメージが観察された。しかし、 Fe^{2+} 水溶液浸漬後、精製水の替りに水素水に浸漬し UV 照射 (D) した場合、剥離, 磨耗のみで、割線, 穿孔, 破壊が観察されず、

Red: Peeling Off, Purple: Abrasion, Orange: Perforation,
Light Green: Cracking, Deep Green: Destruction

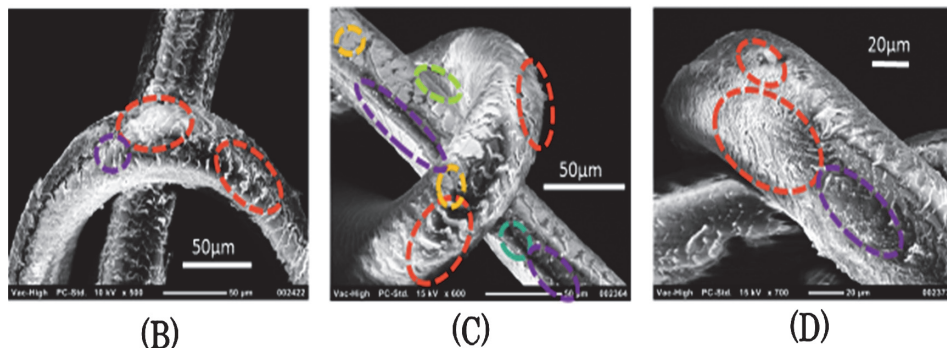


Fig. 1 Image obtained by scanning electron microscopy showing details of damaged hair of (B) to (D) in Table 1.

水素水浸漬によるキューティクル損傷のダメージが大きく抑制される視覚的観察結果が得られた。

また、金属イオンとして、 Cu^{2+} 水溶液の場合、 Cu^{2+} 水溶液への15分間の浸漬後のUV照射(C)で剥離、磨耗、割線、穿孔、破壊の大きなダメージが観察された。しかし水素の存在(D)により、剥離、磨耗のみで、 Cu^{2+} 水溶液の場合も Fe^{2+} 水溶液と同様のダメージ損傷抑制効果が視覚的に観察できる結果が得られた。髪へのダメージは、水道水の水道配管に鉄管や銅管が使用されていることから、金属イオンとして鉄や銅が想定されるが、両金属イオンともに、紫外線照射により、髪の毛のダメージがより増大する結果が得られた。それらの原因としては、紫外線によるオゾン生成に基づき過酸化水素が生成(渡辺, 1990)され、(1)~(4)式に示すフェントン反応により、酸化力がより強化されるものと考えられる。



フェントン反応により、 Fe^{2+} および Fe^{3+} の価数の異なるどちらの鉄イオンでも、強力な酸化力を有する水酸基ラジカルが生成され、水素はそれら水酸基ラジカル($\cdot\text{OH}$)を消去(Ohsawa *et al.*, 2007)することにより、毛髪の損傷を抑制していると考えられる。銅イオンの場合でも、同様に生成される水酸基ラジカルを、水素が消去し、毛髪のダメージ損傷を抑制すると考えられる。

なお、毛髪のダメージ損傷抑制効果に、水素水の生成に用いた MgH_2 および NaBH_4 に差は見られなかった。

3.2 水素による毛髪代替ケラチンフィルムの損傷抑制

毛髪代替ケラチンフィルムは、毛髪からケラチンタンパク質を抽出し、自己集合を誘導して膜上に固定化したもので、Fig. 2に示すように数百ナノメートルの粒子がネットワーク状に繋がり、毛髪ケラチンと非常に類似したアミノ酸組成を有している。そのため、毛髪の紫外線などのダメージ評価が可能(Kawasoe *et al.*, 2010; Fujii, 2012; 藤井, 2013)とされている。

Figure 2に、毛髪代替ケラチンフィルムを、毛髪の場合と同様にTable 1のサンプル(A)~(D)に

示す処理後, それらケラチンフィルムの SEM 画像を撮影したものを示す. 図から明らかなように, ケラチンフィルムの密度が紫外線未照射のコントロール (A) と比較して, 紫外線照射処理した (B) で低下していることが観察された. さらに, Fe^{2+} 水溶液に浸漬した後の紫外線照射 (C) では, よりケラチンフィルムの密度が低下し, しかしそれらに水素水処理した後の紫外線照射 (D) では, (C) に比較して密度低下が抑制されていることが, SEM による視覚的観察から明らかとなった.

Figure 3 に, 毛髪代替ケラチンフィルムの蛍光強度の測定結果を示す. 蛍光強度測定の実理は, ケラチンなどのタンパク質に熱や酸などの刺激を与えることで変性するが, これはタンパク質のらせん構造を形成するペプチド結合の水素結合が切れ, カルボニル基が露出するようになる. そこに

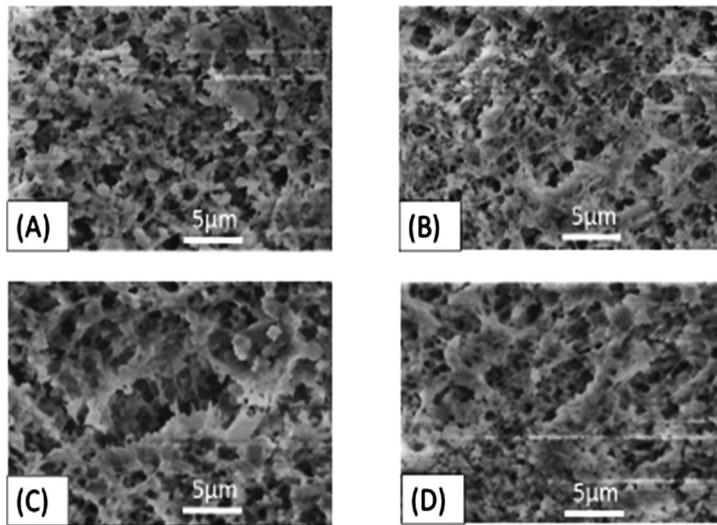


Fig. 2 Image obtained by scanning electron microscopy showing details of damaged keratin films of (B) to (D) in Table 1 as hair substitute (A) : hair sample not damaged.

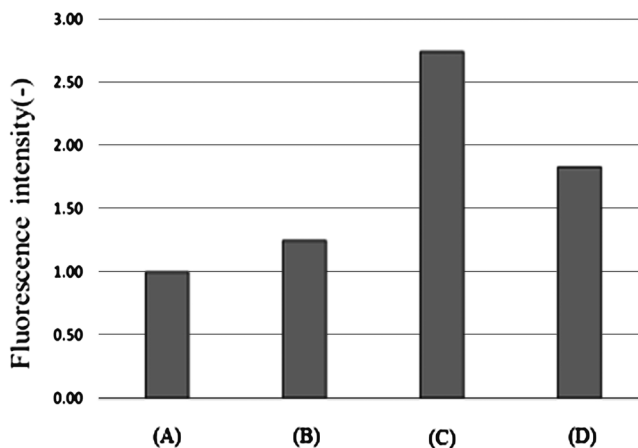


Fig. 3 Comparison of fluorescence intensity of damaged keratin films of (B) to (D) in Table 1 as hair substitute.

反応性の高いヒドラジン基を有する 5-FTSC を反応させることで、蛍光標識され蛍光強度の測定が可能となる。そのため、紫外線などによる酸化によるタンパク質変性が進行する程、すなわち酸化損傷度が大きくなる程、蛍光強度は大きくなる。Figure 3 には、コントロール (A) を基準として、それぞれ処理したサンプルの蛍光強度比を求めた結果を示す。UV 単独照射 (B) では、蛍光強度比はほぼ 1 近くダメージはそれほど大きくないが、それに鉄や銅イオン (C) が加わることで、さらに蛍光強度比は大きくなり、ダメージを増幅させていることが分かる。しかし、精製水の代わりに水素水に浸漬 (D) させると、蛍光強度は小さくなり、ダメージを軽減することが定量的に明らかとなった。なお、使用した水素発生剤の MgH_2 および $NaBH_4$ どちらも効果に差は見られなかった。

4. ま と め

毛髪および毛髪代替のケラチンフィルムに、鉄や銅イオン水溶液に浸漬し、さらに UV を照射することで、より一層ダメージが促進されることが分かった。また、それらダメージ毛に温泉源泉と同様の還元系の特性を有する水素処理をすることによりダメージの抑制効果が見られた。このことから水素は、水道水中に含まれる可能性のある鉄や銅などの金属イオンと UV 照射が組み合わせられても、毛髪へのより大きなダメージを抑制することが明らかとなった。さらに、ケラチンフィルムを用いて毛髪の代替評価ができる可能性が示唆された。このことから、毛髪の損傷度をケラチンフィルムの蛍光強度によって定量的評価が可能となった。

引用文献

- 藤井敏弘 (2013) : ケラチンフィルムを用いた各種毛髪ダメージ評価試験, コスメティックステージ, 8, 20-26.
- Fujii, T. (2012) : Hair keratin film as a substitute device for human hair, *J. Biol. Macromol.*, 12, 3-15.
- 川副智行, 渡辺智子, 藤井敏弘 (2011) : ケラチンフィルムを用いた毛髪タンパク質の光劣化に関する新規定量法の開発, *日本化粧品技術者会誌*, 45, 100-107.
- Kawasoe, T., Watanabe, T., Fujii, T. (2010) : Visualization of modified human hair by artificial sunlight with carbonylated proteins as an indicator of hair damage, *J. Jpan. Cosmet. Sci. Soc.*, 34, 287-291.
- Kurita, Y., Umeda, K., Ikeda, S., Okouchi, S. (2014) : Effects of Magnesium Hydride as Reductive Bath Additive on the Skin, *J. Hot Spring Sci.*, 63, 317-327.
- Naqvil, K.R., Marsh, J.M., Godfrey, S., Davis, M.G., Flagler, M.J., Hao, J., Chechik, V. (2013) : The role of chelants in controlling Cu(II)-induced radical chemistry in oxidative hair colouring products, *Int. J. Cosmet., Sci.*, 35, 41-49.
- 大河内正一, 水野 博, 草深耕太, 石原義正, 甘露寺泰雄 (1998) : 温泉水のエイジング指標としての酸化還元電位, *温泉科学*, 48, 29-35.
- 大河内正一, 新原寛晃, 栗田繕彰, 梅田一輝 (2015) : 光反応による水素化硫黄泉について, *温泉科学*, 65, 104-113.
- 大河内正一, 大波英幸, 庄司未来, 大野慶晃, 池田茂男, 阿岸祐幸, 萩原知明, 鈴木 徹 (2005) : 電解還元系の人工温泉水の皮膚および髪に与える効果, *温泉科学*, 55, 55-63.
- 大河内正一, 菅野こゆき, 勝本雅之, 鈴木雅樹, 甘露寺泰雄, 漆畑 修 (1999) : 温泉水および皮膚の ORP (酸化還元電位) と pH の関係, *温泉科学*, 49, 59-64.

Okouchi, S., Suzuki, M., Sugano, K., Kagamimori, S., Ikeda, S. (2002) : Water desirable for the human body in terms of oxidation-reduction potential (ORP) to pH relationship. *J. Food Sci.*, **67**, 1594-1598.

大河内正一, 竹崎大輔, 大波英幸, 阿岸祐幸, 甘露寺泰雄, 池田茂男 (2003) : 電解還元系の人工温泉について, *温泉科学*, **53**, 1-9.

大崎香緒里, 飯村文成, 石井康一郎, 小野雅司 (2006) : 東京都内における有害紫外線モニタリング結果について, *東京都環境科学研究所年報*, 2006, 111.

Ohsawa, I., Ishikawa, M., Takahashi, K., Watanabe, M., Nishimaki, K., Yamagata, K., Katsura, K., Katayama, Y., Asoh, S., Ohta, S. (2007) : Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals, *Nat. Med.*, **13**, 688-694.

若林萌 (2014) : 走査型電子顕微鏡観察により明らかになった毛髪の損傷形態と栄養状態との関連, *金城学院大学院人間生活学研究科論集*, **14**, 13-20.

渡辺文夫 (1990) : 紫外線によるオゾンの生成と分解 (第1報), *日本化学会*, **1990**, 732-739.