

パーマネントウェーブ処理毛髪内に生成する混合ジスルフィド基の ダメージに及ぼす影響

Damaging Effect of the Formation of Mixed Disulfide Groups in Permanent Waved Hair

鈴木 和之, 上門 潤一郎, 吉田 正人
Kazuyuki Suzuta, Jun-ichiro Kamikado, Masato Yoshida

株式会社ミルボン
Milbon Co.,LTD

パーマネントウェーブ処理において、還元過程で毛髪繊維内に生じる混合ジスルフィド基の毛髪微細構造に及ぼす影響を、マイクロビーム X 線小角散乱 (SAXS) 測定を行い評価した。チオグリコール酸やシステインで還元処理された毛髪繊維では、還元時間の増加とともに混合ジスルフィド濃度が増加する挙動が見られた。システアミンによる還元処理では、処理時間の増加とともに混合ジスルフィド濃度が減少するとともに、還元後酸化処理すると疎水基相互作用の増大によって脱膨潤が起こることが確認された。毛髪のチオール化合物による還元反応の構造的な位置は、リジンやアルギニン残基を側鎖にもつカチオンリッチの環境であることが想定された。

キーワード： 毛髪繊維、パーマネントウェーブ処理、混合ジスルフィド

背景と研究目的：

毛髪にウェーブ付与することは、様々なヘアスタイルを創出し、デザインの中を広げる技術的側面を担っており、半世紀に亘って広く研究されてきたが、ダメージの発生原因や詳しい反応機構は分かっていない。パーマネントウェーブ（パーマ）剤を用いたウェーブ形成法は毛髪をロットに巻いた状態でジスルフィド (SS) 結合を還元して、システイン残基に変換して置き、続いて酸化剤で再酸化して SS 基に戻し、新しい位置で再架橋化することによりウェーブ形態を固定する化学・物理過程を含んでいる。通常、還元剤は分子内に SH 基を持つチオール化合物 (RSH) が用いられる。還元剤の毛髪に対する還元度は、試薬の毛髪内部への拡散速度に依存する。毛髪ケラチン分子鎖 (K) 内の SS 結合 (KSSK) の還元反応は 2 段階の平衡反応からなり、第 1 段階では、KSH 基と混合ジスルフィド (KSSR) 基が生成され、第 2 段階では、生じた KSSR 基が RSH と反応し、KSH 基と還元剤の酸化体 (RSSR) を生成する。換言すれば、還元処理過程では、かさ高な混合ジスルフィド基が不可避免的に生成し、再酸化処理を経ても元の構造に戻すことは出来ない。還元位置が、 α 結晶及びマトリックスの何れの領域であっても分子充填が阻害され、結果として、曲げ、引張り、ねじり強度などの力学物性値の低下を招き、ダメージの原因になると推定されるが[1,2]、混合ジスルフィドと毛髪ダメージとの関係を裏づける研究は、これまでほとんど見られない。本研究では、パーマ毛髪内に残存する混合ジスルフィド基の微細構造に及ぼす影響を明らかにすることにより、毛髪ダメージの軽減を図ることを意図している。パーマ処理における再酸化過程は、繊維状タンパク質の構造再生の基本問題であり、パーマ業界において解決されるべき緊急且つ不可欠の課題である。

われわれは、混合ジスルフィド (KSSR) 基の生成条件をチオグリコール酸 (TGA)、システアミン (CYA) 及びシステイン (CySH) について研究した。当研究室において見出した、ポーラログラフやアミノ酸分析[3]或いは検量線を用いる示差走査熱量分析 (DSC) 法[4]による KSSR 基の間接的な評価方法により、KSSR 基の生成し易さは、TGA > CySH > CYA の順序で減少すると推定した。また、毛髪のウェーブセット効果やダメージの程度もほぼこの順序で軽減することが見出されている。本研究では、混合ジスルフィド含量を異にする様々なパーマ処理毛髪の内部構造の変化を解析することで、残存する混合ジスルフィド基の微細構造に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

実験：

毛髪繊維試料及び対象繊維試料の準備. 毛髪試料は常法によって精製を行い、長さ 19 cm、重さ約 0.5 g の毛束を調製し、実験に供した。予備的実験で得られた最適な還元及び酸化処理条件、特に還元剤及び酸化剤濃度、反応温度、pH、水洗時間を選択して処理を行った。本研究では、パーマ処理過程に含まれる 2 種類の試料、即ち還元後乾燥させた試料及び還元処理に続いて酸化処理を行った試料が用いられた。後者は、一般的なパーマ処理に相当する。毛束は直径 12 mm ロッドに巻きつけた状態で処理された。

還元後乾燥させた試料調製. 還元処理は、pH9.0 で 0.5M の濃度に調整された TGA、CYA 及び CySH の各還元剤水溶液 400 ml に、ロッドに巻きつけた毛束を室温で 10~40 分間浸漬し、引き続き蒸留水 400 ml 中に室温で 1 分間浸漬することにより行われた。タオルで余分な水分をふき取った後、X線回折実験の 12 時間前まで五酸化二リン (P₂O₅) の入ったデジケータ中に常圧下で保管した。

還元後酸化した試料調製. 前述のような様々な条件の下で還元処理された毛髪は、引き続き pH6.4 に調整された 8% 臭素酸ナトリウム水溶液 400 ml 中に室温で 20 分間浸漬された。その後、この毛髪を蒸留水 400 ml 中に十分浸漬することで水洗し、水気を取って風乾した。

マイクロビーム X線回折測定. 測定は、大型放射光施設 SPring-8 に設置された BL40XU で行った。X線回折測定は、X線波長 0.083 nm (X線エネルギー 15 keV)、カメラ長約 1327 mm、ビームサイズ約 5 μm (第 1 次ピンホール 5 μm、第 2 次ピンホール 10 μm)、ビームストップ φ 6 mm、及び検出器はイメージングインテンシファイア (4 inch) と CCD カメラ (ORCA-II-ER) を用いて行った。

反射強度の解析. 試料の繊維軸に対して垂直方向に X線を照射し、繊維外周部から半径方向に 5 μm の間隔でステップさせ、約 9 nm 付近に生じる赤道線反射強度を測定した。データの解析は Briki や Kreplak らの方法に従い、IF-IF 間距離 (A_m) を求めた[5,6]。

結果および考察：

毛髪のコハール化合物による還元反応は (1) 及び (2) 式の平衡反応によって示される[3]。



ここで、RSH_{ad} 及び RSSR_{ad} は水洗後も繊維内に残存している活性なチオール及びその酸化体である。KSH 及び KSSR は毛髪分子鎖上に生成されるチオール基及び混合ジスルフィド基である。所定時間還元され、水洗 1 分後 P₂O₅ デシケータ中で乾燥されるとき、平衡反応は完全に停止される。生成された高分子イオン種は近傍のタンパク質側鎖との間でイオン結合を生成し、タンパク質分子のコンフォーメーションの変化が起ると考えられる。

各チオール化合物による還元処理後に P₂O₅ デシケータ中で乾燥させた毛髪における還元処理時間 *t* と IF 間距離 A_m との関係を図 1 に示す。TGA 還元毛髪において、*t* が増加すると A_m 値はほぼ直線的に減少し、40 分後に未処理 (*t*=0) の値に対して約 1.8% 減少する。このことは、処理時間の増加に伴って混合ジスルフィド基、-SSCH₂COOH 濃度が増加し、カルボキシルイオンと近傍のペプチド鎖、例えば、リジン側鎖間にイオン結合が生成される結果、凝集が起ることを示唆している。CySH 還元毛髪においては TGA と同様な傾向を示すが、傾斜はやや小さく、40 分後の A_m 値は約 1.2% 減少する。この値は TGA 処理に比較して小さく、イオン結合の形成はより少ないと推定される。しかし、イオン相互作用の大きさは、-SSCH₂CH (NH₃⁺) -COO⁻ の pK 値 (=8.33) [7] に関係するので、イオン結合の実態は複雑である。CYA 還元毛髪においては TGA 及び CySH と異なり、A_m 値は *t*=10~20 分でやや減少するが 40 分で再び増加し、未処理の A_m 値と同程度まで回復する。これは、見かけ上イオン相互作用によるペプチド鎖の凝集は起らないことを意味する。混合ジスルフィド基、-SS-CH₂CH₂-NH₃⁺ のイオン性は pK=8.27[7] で、pH9.0 の本実験条件では、近傍の NH₃⁺ イオン (リジン及びアルギニン残基) が存在するならば、相互作用は可なり大きいと期待されるにも拘わらず A_m 値の変動は他の還元系と比較して小さい。このことは、処理時間が増加するにつれて混合ジスルフィド基濃度が減少したことによると考えられる。すなわち、(2) 式によって生じる CYA の酸化体が速やかに反応領域外に除去され、結果として (2) 式の平衡が右に移動し、それに伴って (1) 式の KSSR 基が速やかに失われたことによると思われる。

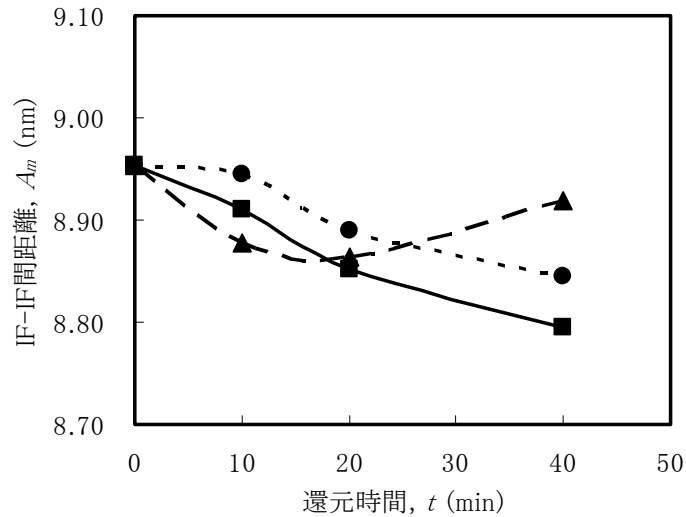


図 1. 各チオール化合物によって還元後乾燥させた毛髪における、還元時間 t と IF 間距離 A_m の関係：(■) TGA, (●) CySH, (▲) CYA。

次に、各チオール化合物で還元後酸化した毛髪における、還元処理時間 t と IF 間距離 A_m との関係を図 2 に示す。還元後酸化した毛髪においては酸化時に SS 基の再生が起るが同時に、酸化処理後の水洗・風乾状態にある毛髪繊維内では、還元処理によって生成された混合ジスルフィド基が引き続き存在する[3]。TGA 処理毛髪において、 t の増加に伴う A_m 値の減少はごく僅かであり、40 分後でも未処理 ($t=0$) の値に対して約 0.6% 程度の減少である。CySH 処理毛髪においては、20 分後の A_m 値は大きく減少しているものの、40 分後においては未処理の A_m 値と同程度である。また、両処理毛髪における A_m 値は、図 1 に示された還元毛髪の A_m に比較して総じて高い値である。これは、通常のパーマ処理における自然乾燥状態では、毛髪繊維内に生じた混合ジスルフィド基と近傍のペプチド鎖間のイオン結合の形成はほとんど見られず、混合ジスルフィドの末端基は主に自由イオン相互作用の役割を演ずることを意味する。CySH に見られる 20 分処理の A_m 値の低下は前述したような理由でイオン相互作用の複雑さを示している。これに対して、CYA では、 $t=20$ 分のとき他の系では見られないような異常と思われる A_m 値の上昇が起こるが、その後急速に A_m 値が低下する。 A_m 値の上昇はペプチド側鎖の水和カチオンと混合ジスルフィド基の持つカチオン種同士の反発が原因と思われる。また、 $t=20$ 分以上の処理で見られる大きな逆転現象は、前述したように $RSSR_{ad}$ が水洗により脱離し、続いて $KSSR$ 基が KSH 基に変換されるためイオン相互作用が減少し、疎水基相互作用が増大することにより脱膨潤が起ったためと考えられる。

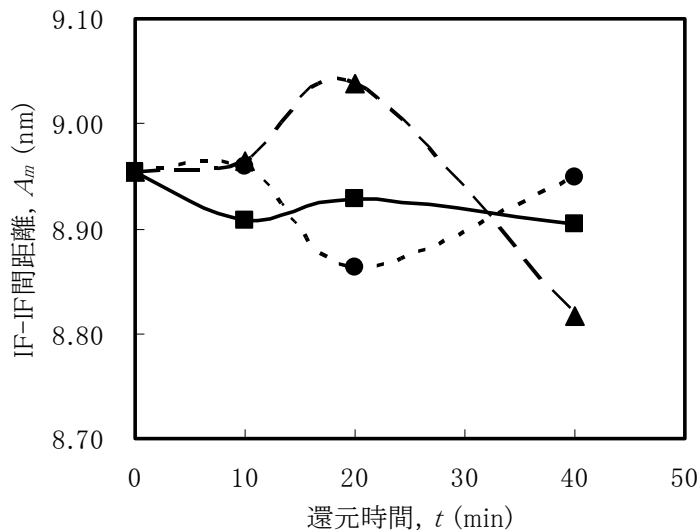


図 2. 各チオール化合物によって還元後酸化した毛髪における、還元時間 t と IF 間距離 A_m の関係：(■) TGA, (●) CySH, (▲) CYA。

何れにしても毛髪のコオール化合物による還元反応の構造的位罫は、カチオンリッチの環境であることが想定される。これは、CYA の場合についても、(1) 式の KSSR 基が容易に失われる条件であることとも一致する。

今後の課題：

本研究から、パーマ処理によって生成される混合ジスルフィド基の生成と脱離の挙動が、使用する還元剤によって異なることが、マイクロビーム X 線回折実験を通じて見出された。今後、混合ジスルフィド基の生成を制御する理論や技術を確立し、還元、水洗、酸化過程における平衡反応に着眼した毛髪損傷の防止に対する新規な考え方に基づいた商品開発が可能になると考えられる。

参考文献：

- [1] K. Suzuta et al., *IFSCC Congress*, Osaka, Japan, 2006, pp.352.
- [2] S. Ogawa et al., *Sen-i Gakkaishi*, **64**, 137 (2009).
- [3] S. Ogawa et al., *Sen-i Gakkaishi*, **65**, 15 (2009).
- [4] S. Ogawa et al., *Sen-i Gakkaishi*, **65**, 24 (2009).
- [5] F. Briki et al., *Biochim. Biophys. Acta*, **1429**, 57-68 (1998).
- [6] L. Kreplak et al., *Biophys. J.*, **82**, 2265-2274 (2002).
- [7] M. Friedman, *The Chemistry and Biochemistry of the Sulfhydryl Group in Amino Acids, Peptides and Proteins*, Pergamon Press, New York, 1973, p.1-24.