

原 著

皮膚に対する界面活性剤の作用

Ⅳ. 親油基の異なる各種高級アルコール硫酸ナトリウムの  
皮膚に対する影響

岡 本 暉 公 彦 高 瀬 吉 雄

信州大学医学部皮膚科教室

ACTION OF THE SURFACTANTS UPON THE SKIN

IV. EFFECT OF SODIUM ALKYL SULFATES WHICH  
HAVE LIPOPHILIC GROUPS OF DIFFERENT ALKYL  
CHAIN LENGTH UPON THE SKIN

Kikuhiko OKAMOTO and Yoshio TAKASE

Department of Dermatology, Faculty of Medicine,  
Shinshu University

Key words: 界面活性剤 (Surfactant)  
高級アルコール硫酸ナトリウム (Sodium Alkyl Sulfate)  
表皮乾燥落屑性 (Skin Roughness)  
皮膚刺激性 (Skin Irritation)

I. 緒 言

親油基を異にする高級アルコール硫酸ナトリウムの皮膚刺激性はアルキル鎖長12が最も強いと B. E. Emery と L. D. Edwards<sup>1)</sup>, A.M. Kligman と W. M. Wooding<sup>2)</sup> により報告されている。また A. Szakall と K. H. Schulz<sup>3)</sup> は表皮角質層ケラチンから SH 基を強く遊離させる界面活性剤は刺激性が強くなり、さらに角質層に水を強く浸透させる界面活性剤が刺激性は強いと報告している。

一方界面活性剤を皮膚に接触させたとき紅斑、浮腫、水疱などの刺激性変化を生じなくとも、時に表皮乾燥落屑性変化を生じることがある。この表皮乾燥落屑性変化を引き起こす界面活性剤と紅斑、浮腫、水疱性変化を引き起こす界面活性剤は必ずしも同一化学構造を有しないことを著者はすでに報告した<sup>4) 5)</sup>。

今回親油基の異なる界面活性剤として高級アルコール硫酸ナトリウムのアルキル鎖長のみ異なる化合物を合成し検体とした。表皮乾燥落屑性変化または紅斑-浮腫-水疱性変化を引き起こす高級アルコール硫酸ナトリ

ウムほどの程度の長さのアルキル鎖すなわち親油基を有するか、さらに生ずる二種の変化すなわち乾燥落屑性変化および紅斑-浮腫-水疱性変化は、これら検体が皮膚にいかなる作用機序により作用したため、招来したかを検討した。

これらの発生機序を明らかにするためモルモット、ウサギ皮膚には上記検体を接触および皮内投与、ヒト皮膚には接触投与し、皮膚に生ずる変化を検査した。さらにヒト角質と検体との吸着、そのときのヒト角質からの蛋白質の溶出およびヒト角質の水結合能力に対する影響を鎖長別に検討した。培養ヒト健常表皮細胞に鎖長別検体を投与した時の毒性をも検査した。皮膚蛋白質への作用強度を知るため、酵素インベルターゼ活性の阻害性を、界面活性剤の界面活性能を知るため表面張力をも測定した。

これらの測定値より、表皮乾燥落屑性および紅斑-浮腫-水疱性変化と高級アルコール硫酸ナトリウムのアルキル鎖長との関連性をいささか知りえたので報告する。

I. 方 法

A. 実験動物での閉鎖貼布試験

高級アルコール硫酸ナトリウムのアルキル鎖長別の接触刺激性をモルモットおよびウサギを用いて検討した。ハートレー系モルモット(♀, 5匹, 平均体重375g)およびアンゴラウサギ(♀, 5羽, 平均体重2.55kg)の背部を電気バリカンで刈毛, さらに電気カミソリで剃毛する。剃毛背部に検体水溶液0.1mlを浸漬させたパッチテスト用絆創膏(鳥居薬品 K. K. 製, スモールサイズ)を24時間閉鎖貼布した。剃毛背部内での部位による刺激反応の差を除くため, 剃毛背部内のいずれの部位にも各々検体が行き渡るよう各々動物で検体の貼布位置を変え貼布した。また検体は二重盲検法で記号を付し試験に用いた。貼布終了後皮膚表面より肉眼判定し, さらに屠殺し, 剝離皮膚を透見して判定した。刺激の程度に評点を表1のごとく与え, 各々検体の刺激性を刺激値として現した。尚本判定基準は皮膚科学会貼布試験判定基準に剝離皮膚を透見した時の判定を付加したものである。また図中には標準誤差も合せて記入した。

表 1 皮膚刺激性の評価

判 定	評 点	刺 激 性
—	0	透見も陰性
±	0.5	透見のみ発赤を認める
+	1	皮膚面より発赤を認める
++	2	皮膚面より発赤, 浮腫を認める
+++	3	皮膚面より発赤, 浮腫, びらんを認める
卍	4	皮膚面より発赤, 浮腫, びらん, 潰瘍を認める

B. 実験動物での皮内投与による刺激性試験

高級アルコール硫酸ナトリウムの鎖長別検体を皮内注射して刺激性の評価をモルモットおよびウサギを用いて検討した。ハートレー系モルモット(♀, 5匹, 平均体重350g)およびアンゴラウサギ(♀, 5羽, 平均体重2.4kg)の背部を接触刺激性試験同様刈毛, 剃毛し, 検体の生理食塩水溶液0.05ml皮内注射し, 24時間後に表1の評価基準で刺激性を判定した。

C. 表皮乾燥落屑性試験

台所用洗浄剤使用により時に指および掌など手皮膚に表皮乾燥落屑性変化を引き起こす。この表皮乾燥落屑性変化を人工的に引き起こすには実験室的にヒトに

皿洗いなどの水仕事を行なわせるのがより好ましい方法である。しかし多数の試料の比較には被検者数が多数必要となり実行不可能である。著者は一定温度に保った検体液をヒト手指間に一定時間接触させ生ずる乾燥落屑性変化を判定, 評価する方法を考案した。

37°C に保った検体1%含有水溶液を浸漬させたガーゼを女子(15名, 19~30才)の手指間に室温(24±3°C)で30分間接触させ, のち流水で界面活性剤を洗い流す。接触24, 48時間後に接触部位の表皮乾燥落屑性変化を判定する。判定基準を表2のごとく定めて判定した(4) (5) (13)。

表 2 表皮乾燥落屑性変化の評価

判 定	評 点	表 皮 変 化
—	0	変化なし
±	0.5	軽微な乾燥, 粗糙化あるも落屑なし
+	1	乾燥, 落屑軽度
++	2	乾燥, 落屑中等度
+++	3	乾燥, 落屑著明

D. ヒト皮膚ケラチンへの吸着量, 皮膚から蛋白質の抽出性および抽出皮膚の水結合能(water binding capacity)測定

界面活性剤が皮膚に乾燥落屑性または紅斑浮腫性に作用するとき界面活性剤が皮膚とくに角質との結合性が高いほどその作用が強いとの推定が可能である。これを検討するため以下の実験を行なった。

健常ヒト足趾角質層をメスで擦過, 落屑を採集し, ドライアイスと共に乳鉢中で粉碎し35~60メッシュ(250~450μ)に粉末化した後真空下で乾燥した。この粉末角質50mgに0.01M検体含有生理食塩水溶液5mlを振盪のもとで37°C, 2時間作用させ, のち1500rpm, 10分遠心分離し, 上澄溶液中の検体量をアボット法<sup>6)</sup>で定量, 間接的に角質への検体の吸着量を求めた。

さらに上澄溶液中の総蛋白質量をLawry法<sup>7)</sup>で測定し, 総蛋白質量を仔牛血清アルブミン換算値で示した。

上澄溶液を除き, 角質をイオン交換水7mlで3回洗浄し, 減圧下で乾燥した。本乾燥角質粉末50mgの40°C, 相対湿度80±5%での吸湿量を測定した。

E. 培養ヒト健常表皮細胞に対する毒性

1968年古山により株化されたヒト健常表皮由来XX-male細胞<sup>8)</sup>を使用した。仔牛血清20%添加イー

グル MEM 培地を使用, 37°C で炭酸ガス同調細胞培養器で培養した。良好に増殖している細胞を0.08%トリプシン処理し, 単細胞化し, 300,000細胞/シャーレ(60,000細胞/ml) 当り分注し, 2日間培養し, 5ml PBS (-) 溶液\* で2度洗浄し, 0.005%を含有するPBS (-) 溶液を3ml添加し, 1時間静置する。のち培養液7mlを加えさらに2日間培養する。培養終了後PBS (+) 溶液\* 5mlで2度洗浄し, 中性ホルマリンで固定, ギムザ染色し, 表3の評価基準で細胞の数, 形態を検査する<sup>9)</sup>。

表3 細胞毒性判定基準

評点	判定基準
0	細胞数コントロールと同じ, 形態正常
1	同上, 正常50%以上
2	同上, 正常50%以下
3	コントロールのほぼ半数, 正常10%前後
4	肉眼で細胞を認めない, 正常細胞なし
5	顕微鏡で細胞を認めない

一方, 細胞毒性の評価を定量化するため検体作用時に細胞より溶出するコレステロールを定量した。

前記のごとくトリプシン処理し, 単細胞化した細胞をPBS (-) 溶液で120,000細胞/mlになるように分散させる。検体を含有する同量のPBS (-) 溶液2.5mlを細胞分散溶液に添加し, 1時間インキュベートする。800rpm, 5分間遠心分離し上澄を集め, その上澄をクロロフォルム3mlで3回抽出, 抽出クロロフォルム溶液を濃縮, 乾固後, 100 $\mu$ lのクロロフォルムで再溶解し, ガスクロマトグラフィー法でコレステロールを定量化した。ガスクロマトグラフ条件を次に示す。

コレステロール定量条件

GC: 島津 4BM

Column: Silicon OV-1, 1% on chrosorb W (AWDMCS), 80/100 mesh, 1m $\times$ 3m $\phi$  glass

Column T: 230~300, 5°C/min

Injection T: 350°C

Detector T: 350°C

Gas Flow: He 60ml/min

Detector: FID

Gas: H<sub>2</sub>, 0.6kg/cm<sup>2</sup>, Air, 1.5kg/cm<sup>2</sup>

Sens: 12 $\times$ 8, Rang 64

Sensitivity: 10<sup>8</sup> $\Omega$

Sample Size: 10 $\mu$ l

Chart Speed: 0.5cm/min

No. 3, 1976

#### F. インペルターゼ活性の阻害性

一般に各種界面活性剤によりヒトに生ずる表皮乾燥落屑性変化は, 実験動物ではヒトに生じさせ得ると同様操作を実験動物(マウス, ラット, ヘアレスマウス, アンゴラウサギ, モルモット)の皮膚に加えても生じない。このヒトのみに認める表皮乾燥落屑性変化のin vitroの評価法として界面活性剤の酵素阻害性の測定が広く行なわれているが, 著者はすでにインペルターゼ活性の阻害性がin vivoとの相関性の高い優れた方法であることを指摘した<sup>4) 5) 13)</sup>。

インペルターゼ活性の阻害性の測定は H. Wilmsman の方法<sup>10)</sup>を用いた。

セーレンセン緩衝溶液 10ml にインペルターゼ (B DH Chemical Ltd. 340 E. U./ml) の5% 溶液 5ml を混合, 検体を一定量 (0~5ml) 加え, 39°C で24時間インキュベート, のちシユークロース (和光純薬K. K.) の30% 溶液 25ml を加え, 蒸留水で 50ml とし, 39°C で反応開始後2時間まで旋光度を測定した。旋光度の変化値より検体の酵素阻害性を算出した。

#### G. 界面張力

水に対する界面張力低下能の大きい界面活性剤が皮膚への滲透性が大きく, また皮膚からの皮脂, アミノ酸, 蛋白質の溶出性も強いと考えられるので界面張力を測定した。

上記検体の生理食塩水溶液をデュヌイ型表面張力計を用い, 37°C で水の表面張力の低下を測定した。

#### H. 検体

直鎖型高級アルコールのアルキル鎖長6から18のものを各々発煙硫酸を用いて硫酸化し, つづいて苛性ソーダで中和した。未反応アルコール, 副生した亡硝を除き, 各種アルキル鎖長を有する直鎖型高級アルコール硫酸ナトリウムを得た。これら検体の分析値を表4に示した。

### III. 結果

#### A. 実験動物での閉鎖貼布試験

高級アルコール硫酸ナトリウム各検体の接触刺激性を図1, 図2に示した。例えばアルキル鎖長6と18の高級アルコール硫酸ナトリウムではその分子量比は1.82であり, このため重量濃度による刺激性の比較は1分子当りの刺激性を知るには正しい成績が得られな

\* : Dulbecco & Vogt<sup>14)</sup>の平衡塩類溶液で CaCl<sub>2</sub> と MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O を含まないものを PBS (-), 含むものを PBS (+) と表す<sup>14)</sup>。

表 4

界面活性剤の分析値

分析項目	アルキル鎖長	C <sub>n</sub> H <sub>2n+1</sub> OSO <sub>3</sub> Na の n の 数										
		6	8	10	11	12	13	14	15	16	17	18
有効成分 (%)		98.8	98.9	99.1	98.9	99.2	99.6	97.2	99.4	98.9	99.5	99.2
水分 (%)		1.2	1.1	0.9	1.1	0.8	0.4	0.6	0.6	0.8	0.5	0.7
無機物 (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
未反応高級アルコール (%)		痕跡	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡	2.1	痕跡	0.2	痕跡	痕跡
塩化ナトリウム (%)		痕跡	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡	0.1	痕跡	0.1	痕跡	痕跡
アルキル基分布 (%)	6	96.6										
	8	2.6	99.9	0.3								
	10			97.4								
	11				100							
	12					99.8						
	13						100					
	14							99.3				
	15								100			
	16									97.9		
	17										100	
	18											99.5

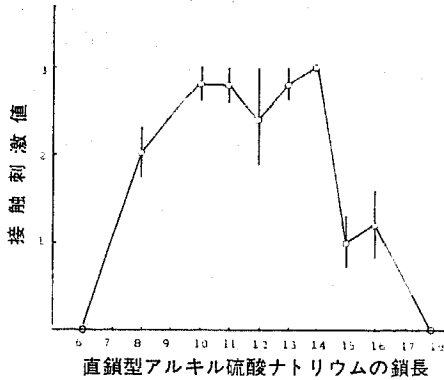


図 1 0.5%アルキル硫酸ナトリウム水溶液, 0.1ml, 24時間閉鎖貼布, モルモット背部除去24時間後肉眼判定

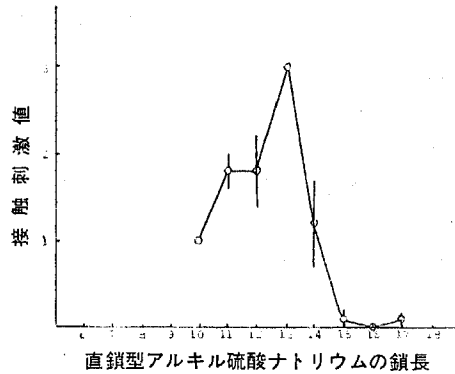


図 2 0.17Mアルキル硫酸ナトリウム生理食塩水溶液, 0.1ml, 24時間閉鎖貼布, ウサギ背部, 除去24時間後肉眼判定

い。よって著者は同一分子数での刺激性の比較を行なった。またそのときの分子数, すなわちモルを0.17に選んだのはラウリル硫酸ナトリウムの0.5%が0.17Mに相当するためである。

動物の皮膚温度は約 37°C であるが, このような温度においてもアルキル鎖長15以上のものはほとんど溶解せず14でもかなりの結晶析出がみられ, 13以下でないと均一な溶液が得られなかった。このため不溶性の物質では可能な限り均一に分散させて貼布試験を行っ

た。

高級アルコール硫酸ナトリウムは均一に溶解する検体, すなわちアルキル鎖13以下では, アルキル鎖長の長いもの, つまり親油性の大きいものほど接触刺激性が大きい(図2)。

B. 実験動物での皮内投与による刺激性試験

高級アルコール硫酸ナトリウム各検体の皮内注射による刺激性を図3, 図4に示した。

同一モル濃度の高級アルコール硫酸ナトリウムの刺

激性の比較はアルキル鎖長が長くなると刺激性が増加する(図4)。接触刺激性と異なりアルキル鎖長14以上でも刺激性は強く認められた。これは生理食塩水に不溶または難溶であるアルキル鎖長14以上の検体も組織内に入ると組織液などで溶解し刺激性を示すのか、または不溶物として炎症を誘導するのであろう。

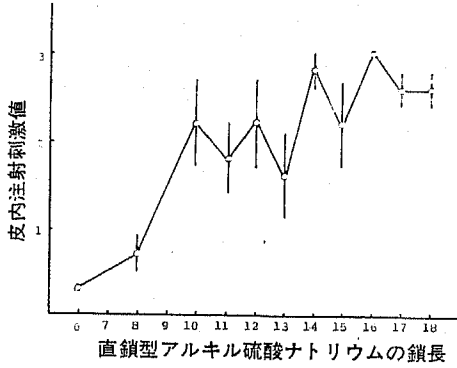


図3 1%アルキル硫酸ナトリウム生理食塩水, 0.05ml, 皮内注射, モルモット背部注射24時間後判定

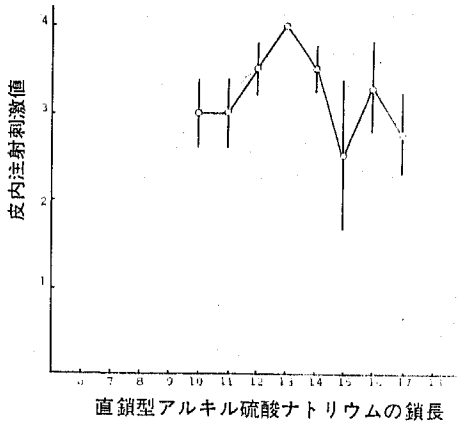


図4 0.17Mアルキル硫酸ナトリウム生理食塩水溶液, 0.05ml, 皮内注射, ウサギ背部, 注射24時間後判定

C. 表皮乾燥落屑性試験

表皮乾燥落屑性試験成績を図5に示した。

重量濃度で観察すると, ヒトの手指間での表皮乾燥落屑性変化はアルキル鎖長6, 8, 10と強まり, 10から12が最も強く, 14, 16, 18と減少する。アルキル鎖長13以上の検体の表皮乾燥落屑性が弱まるのは界面活性剤そのものの溶解性が低下し, 1%水溶液では一部分のみ溶解し作用濃度が低下したためであろう。

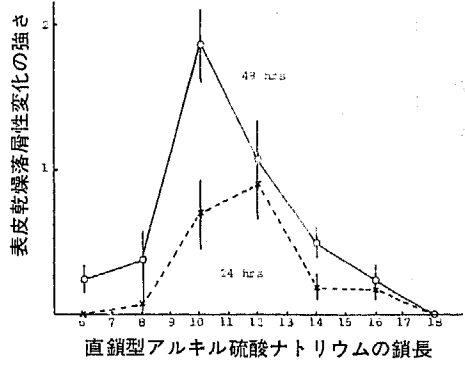


図5 1.0%アルキル硫酸ナトリウム水溶液, 室温, 30分間手指間に接触, のち流水洗浄, 接触24, 48時間後肉眼判定

D. ヒト皮膚ケラチンへの吸着量, 皮膚から蛋白質の抽出性および抽出皮膚の水結合能測定

ヒト足蹠角質粉末に対する検体の吸着量を図6に示した。

アルキル鎖長が長くなると吸着量も増加し11~12で最大となり以後減少する。アルキル鎖長15以上は界面活性剤が溶解せず実験は行えなかった。14も前述のごとく結晶は析出するがあえて行なってみた。

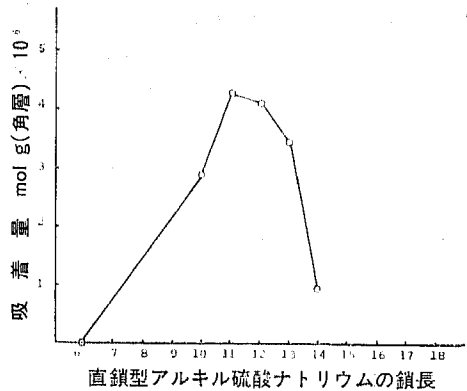


図6 0.01Mアルキル硫酸ナトリウム生理食塩水溶液5mlを50mgの角質粉末と37°Cで2時間インキュベート時の角質層への界面活性剤の吸着量

このように足蹠角質粉末に作用させた界面活性剤溶液中に溶出してきた可溶性蛋白質量を図7に示した。

生理食塩水溶液で角質を洗浄処理したときでも角質1g当り102mgの可溶性蛋白質が溶出した。界面活性

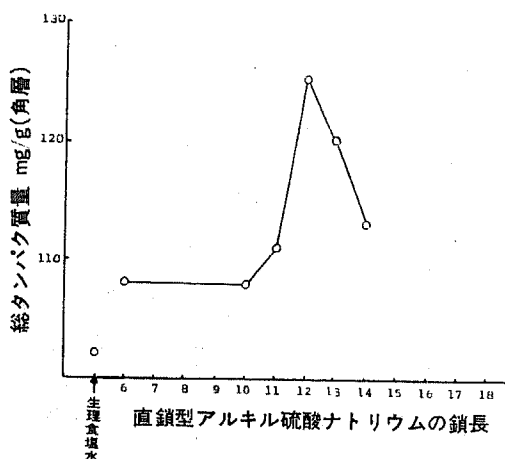


図7 0.01Mアルキル硫酸ナトリウム生理食塩水溶液 5ml を 50mg の角質粉末と 37°C で 2時間インキュベート時の角質層からのタンパク質溶出量

剤が添加されると溶出量は増大し最高 125mg に達した。アルキル鎖長 6, 10 はほぼ同量の溶出量であり, 11, 12 と増大し, 12 を最高として減少した。

このように可溶性蛋白質を抽出された足蹠角質の水結合能は図 8 にみられるごとくアルキル鎖長 6 でやや大きい値を示すが, 他では生理食塩水作用後の足蹠角質の水結合性と差を認めなかった。

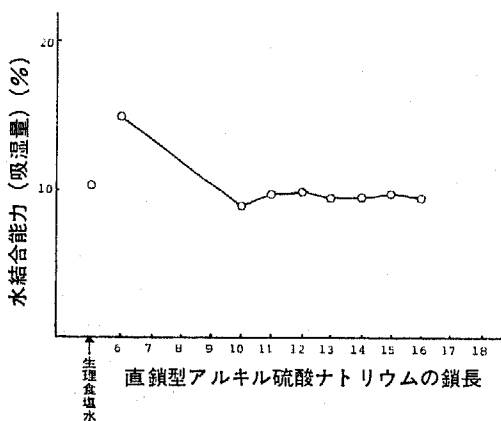


図8 0.01Mアルキル硫酸ナトリウム生理食塩水溶液 5ml を 50mg の角質粉末と 37°C で 2時間インキュベート時の角質層粉末を乾燥し, 40°C, 湿度 80% に 1.5 時間保った時の吸湿量

E. 培養ヒト健常表皮細胞に対する毒性  
XX-Male 細胞に対する毒性を図 9 に示した。アル

キル鎖長が長くなると細胞毒性が増加し, 13 で最も毒性が強く, 以後アルキル鎖長が長くなると減少する。0.005% の低濃度であってもアルキル鎖長 14 以上では難溶または不溶性であり, そのため均一に溶解する 13 で最大の細胞毒性を示した。この細胞毒性の肉眼および顕微鏡的判定を定量的に知るため細胞から溶出するコレステロールを測定した結果を図 10 に示した。図 10 にみられるごとく細胞毒性を細胞からのコレステロール溶出量で定量的に知ることができる。よって細胞からのコレステロール溶出量は細胞毒性に対応する数値として用い得る。

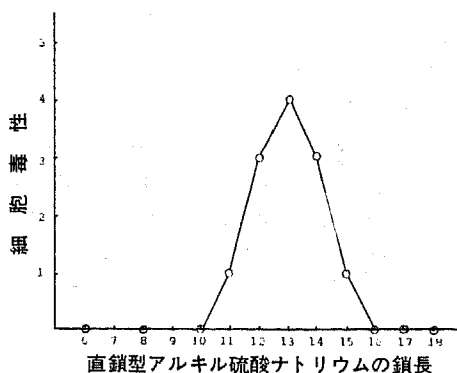


図9 0.005% アルキル硫酸ナトリウム PBS (-) 溶液インキュベート (60分) 後 3.3 倍の Eagle MEM 添加後 2 日間培養後の XX-Male 細胞に対する毒性

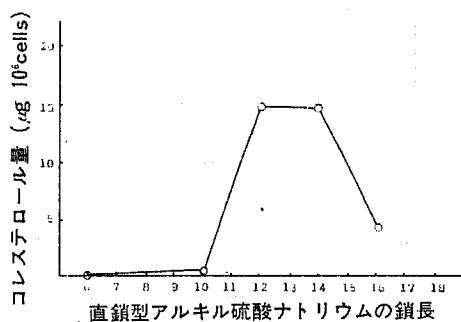


図10 0.005% アルキル硫酸ナトリウム PBS (-) 溶液インキュベート (60分) 後 PBS 溶液中に XX-Male 細胞より溶出したコレステロール量

F. インペルターゼ活性の阻害性

図 11 に酵素インペルターゼ活性の阻害率を示した。高級アルコール硫酸ナトリウム各検体の酵素に対する作用は強く, 0.0004M という低濃度で 100% 阻害を示

すものもあった。また0.0004Mで39°Cの時すべての検体は均一な溶液であった。アルキル鎖長6から11までは阻害性を示さず、12で阻害が始まり13以上では100%阻害性を示した。

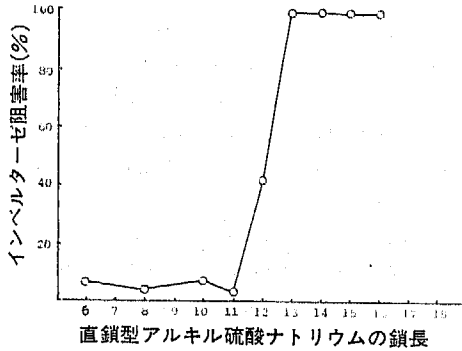


図11 0.0004Mアルキル硫酸ナトリウム溶液をインペルターゼに作用させた時の阻害性を示す

G. 界面張力

37°C、0.001Mのときアルキル鎖長15は明らかに結晶の析出を認め、14もわずかに結晶の析出を認めた。このためアルキル鎖長14以上では結晶の析出した状態で界面張力を測定した。0.0001Mおよび0.001Mではアルキル鎖長の増加とともに界面張力も低下した。しかし0.01Mでは6、17を除いて他はほぼ同等の界面張力を示し差を認め難かった。本測定値よりアルキル鎖長が長い方が界面張力低下能が高く、17を除いて15以上では完全に溶解しなくとも微量に溶解する量で界面張力を低下させ得る。

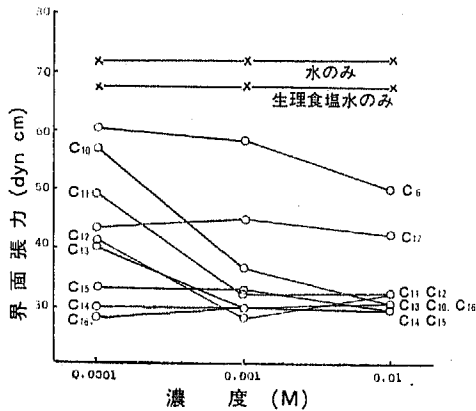


図12 直鎖型アルキル硫酸ナトリウム、生理食塩水溶液の37°Cでの界面張力 (C15:0.001M以上で白濁沈澱を生じる)

VI. 考察

高級アルコール硫酸ナトリウムの接触刺激性は、アルキル鎖が長い、すなわち親油性が増加すると増大するが、一定以上にアルキル鎖長が長くなるとこの実験シリーズでは14以上になると水への溶解性が低下するためむしろ刺激性は一見減少し、均一に溶解する最大鎖長13付近で最強の刺激性を示した。しかし界面活性剤を注射で皮内投与すると水に難溶性のアルキル鎖長14以上でも組織液等で徐々に溶解あるいは不溶解物そのものの刺激によるためか刺激性が現われると考えられる。

ヒト表皮の乾燥落屑性変化はアルキル鎖長10~12の検体に最も強く現れた。実験的な表皮の乾燥落屑性変化は検体の一回接触では一度のみ生じ、また落屑後の表皮には水疱、ピラン、浸出液を認めない。

界面活性剤溶液による表皮乾燥落屑性変化の発生原因は、1) 脱脂作用により表皮皮脂が除かれ、角質層の水分保持能が劣った。2) 角質層に作用し、水結合能の高い可溶性蛋白質およびアミノ酸が溶出した。3) 角質層が変性され、水結合能の低下と硬化をきたした。4) 角質間の結合物が洗い出された。5) 角質層の細胞間結合物が変性させられ、角質層間の結合性を失った。6) これら1~5までの各種組合せが考えられる。

図12の界面張力測定値より界面張力低下能の大きい検体が接触刺激性、皮内注射時の刺激性、表皮乾燥落屑性は強く、また図6より角質層への吸着性も強い。界面張力低下能の強い検体がより可溶性蛋白質を溶出する。しかしこのように検体により可溶性蛋白質を溶出させられた角質層の水結合能は、生理食塩水で洗浄処理した角質層の水結合能と有意な差を認めなかった。この溶出蛋白質は角質層間結合性物質であろうと考える。つまり表皮乾燥落屑性変化は角質層の細胞間結合物質の溶出と皮脂膜の脱落により発生するものであろう。進行性指掌角皮症の患者が健常者に比べてより指掌の乾燥粗癢化を示すのは、皮脂膜が健常者に比べて容易にアセトンエーテルで脱脂されることを著者らは既に示した<sup>11)12)</sup>。高級アルコール硫酸ナトリウムのごとき界面活性剤により角質層から蛋白質の除去性を著者は今回見出したが、患者と健常者との比較検討は行いえなかった。

一方紅斑、浮腫、水疱、出血などの刺激作用は界面活性剤が角質層を通過し、マルピギー層または真皮に入ったときに生ずる。そのため界面活性剤が均一に溶

解しているか否かは重要な要素となる。

また培養細胞レベルでの細胞毒性とコレステロール溶出量とよく一致する成績をえたが界面活性剤が細胞膜の脂質成分に作用してコレステロールを溶出するため、細胞膜がキ弱体化し毒性が現れるのであろう。

(本論文の要旨は昭和50年4月、第74回日本皮膚科学会総会(京都)で発表した。)

### 文 献

- 1) B. E. Emery & L. D. Edwards The pharmacology of soaps, III, The irritant action of sodium alkyl sulfates on human skin., J. Amer. Pharm. Assoc., 29 : 254-255, 1962
- 2) A. M. Kligman & W. M. Wooding : A method for the measurement and evaluation of irritants on human skin., J. Inv. Derm., 49 : 78-94, 1967
- 3) A. Szakall und K. H. Schulz : Die permeation von fettalkohol sulfaten und natriumseifen definierter kettenlänge (C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub>) in die intakte menschliche haut, ihr zusammenhang mit den reizwirkungen., Fette Seifen Anstrichmittel, 62 : 170-175. 1960
- 4) 岡本暉公彦 : Skin roughness と Invertase 活性の阻害性の関係. 日本皮膚科学会, 新潟地方会, 第211回, 1973
- 5) 岡本暉公彦 : 皮膚に対する界面活性剤の作用, 界面活性剤による手荒れ刺激性ならびにインペルターゼ活性の阻害性について. 油化学, 23 : 726-729, 1974
- 6) JIS-0102-1971, 日本工業規格, 工場排水試験方法. 昭和46年7月1日改正, 日本工業標準調査会
- 7) 水島三一郎, 赤堀四郎編 : 蛋白質の定量法, 蛋白質化学, (2). 120-121, 昭和36年, 共立出版(東京)
- 8) J. Furuyama, Y. Mori & H. Kikkawa, A male bearing XX sex chromosome constitution in human, Proc. XII. Intern. Congr. Genet., 1 : 216, 1968
- 9) 高瀬吉雄 : 化粧品に使われるタール色素と皮膚. 日皮会誌, 84 : 651-658, 1974
- 10) H. Wilmsman, The inhibition of saccharase activity by anionics a screning test for

physiological compatibility Amer. Perf. & Cos., 78 : 21-26, 1963

- 11) 岡本暉公彦, 高瀬吉雄, 井上隆義 : KTPP 皮膚素因研究. 日本皮膚科学会信州地方会 第68回, 1969
- 12) 岡本暉公彦, 高瀬吉雄 : 進行性指掌角皮症の研究. 信州医誌, 24 : 131-141, 1976
- 13) 岡本暉公彦 : The Selection of Mild Surfactants for the skin, International Federation of Society of Cosmetic Chemist VIII (1972) Hamburg
- 14) R. Dulbecco & M. Vogt, Plaque Formation and Isolation of Pure Lines with Poliomyelitis Viruses, 99, 167-182, 1957

(51. 9. 10 受稿)