総 説

皮膚における過酸化反応
とその防御

河野 善行・高橋 元次

(株)資生堂薬剤開発研究所

(〒223 横浜市港北区新羽町 1050)

Peroxidation in Human Skin and Its Prevention

Yoshiyuki KOHNO and Motoji TAKAHASHI

Shiseido Research Center, Pharmaco Science Research Laboratories

(1050 Nippa-cho, Kohoku-ku, Yokohama-shi, 〒223)

Cosmetics and quasi-drugs will play new important roles in the aging and stressful society. We have proposed 3 clinical concepts, *i.e.*, anti-drying, anti-UV radiation and anti-oxidation to prevent the skin aging. Especially, the importance of anti-oxidation is discussed in this paper. The peroxidation of human skin surface lipids has been investigated by a CL-HPLC (chemiluminescence-high performance liquid chromatography) system. Squalene monohydroperoxide was produced at the forehead and the scalp as well as in the dandruff under daily life conditions in most of the cases. Therefore it was considered that squalene was the first target lipid on a human skin surface by an oxidative stress. In order to confirm the effect of hydroperoxides of the skin on cultured cells and the living skin equivalent, an authentic sample was prepared. We have also clarified the reaction rate constants of the skin surface lipids with singlet oxygen and free radicals. And we have also confirmed that the application of cosmetics and the ingestion of aliments containing antioxidants had a preventive effect against the lipid peroxidation on skin surface.

1 緒 言

高齢化社会、すなわち 65 歳以上の人口が 15 % 以上を占める社会へと現在日本は社会構造が変わりつつあり、その変換の速度は欧米の数倍であると言われている。そして健康が社会的にも大きな関心事になってきている。人々は、単に病気や虚弱でないという消極的な意味の「健康」には満足せず、「何事に対しても前向きの姿勢で取り組めるような精神的、肉体的そして社会的適応状態である」という WHO 憲章の定義にある質の高い「健康」を志向していると考えられる。“aging”に対応した医薬部外品や化粧品に社会的ニーズが求められるゆえである。

人体最大の器官である皮膚は、生命体を外界と区別する境界領域に位置し、夏は強い日差し、冬は寒風と外部環境から紫外線や乾燥と不断の刺激、ストレスにさらさ

れている。長年繰り返されるこのようなストレスは、たとえ個々は小さなものでも皮膚にダメージを蓄積すると考えられている。それゆえヒトの皮膚は眼や歯などと並んで“老徴”の現れやすい臓器としてよく認知されているとともに、古くからその加齢変化には関心が持たれてきた。

著者らは、皮膚状態悪化や老徴に関与する外部環境よりのストレスは、「乾燥」「紫外線」「酸化」があると考え、スキンケアという立場からそれぞれに対応する防御戦略として「乾燥防御」「紫外線防御」「酸化防御」の重要性を主張し続けてきた¹⁾。これらのストレスの内「乾燥」と「紫外線」に関しては、それらが及ぼす皮膚への影響について科学的にも理解されまたそれらに対する有効、有用な防御対策も講じられてきた。少なくとも講じられつつあると考えられる。しかしながら「酸化」についてはそれが生体の正常な代謝反応の一つであること、現象を正しくとらえる優れた方法論が少ない事などによ

連絡者：河野善行

り科学的なアプローチは少なかったと考えられる。

皮膚以外の臓器を対象とした研究においても最近特に生体内脂質の過酸化反応は、がん(癌)や老化との関連で注目を浴び^{2),3)}、生化学においてホットな研究領域の一つとなってきた。従来より油脂化学、食品化学や化粧品科学の立場からも不飽和脂肪酸などの油脂類の酸化反応について多くの研究がなされてきたが、著者らも原料開発部門において、化粧品原料としての油脂の酸化安定性を保障してきた⁴⁾。油脂類は、自動酸化メカニズムで酸化が進行すると考えられているが、皮膚構成脂質はどのようなメカニズムで酸化が進行するのであろうか。皮膚における脂質の酸化を観察し、その進行のメカニズムを明らかにすること、および過酸化反応の生体皮膚に及ぼす影響を明らかにすることを目的として著者らも研究を進めてきた。

大城戸、吉野らは、皮表における脂質過酸化反応について検討しており、生体表が酸化防止力を有していること^{5),6)}、また皮表における脂質過酸化物(正確にはチオバルビツール酸反応物質:TBARS)の主な起源はスクアレンであると推定し、それはたとえばUV照射等によってTBARSが増加することを報告している^{7)~9)}。また*in vitro*の実験ではあるがTeoらは、スクアレンの光酸化反応で5-ヘプテン-2-オンを中間体としてホルマリンやマロンアルデヒドが生成することを報告している¹⁰⁾。早川らも、総脂質量に対する脂質過酸化物(TBARS)量は、20才代で最低値を示し、年代が上がるに従って徐々に増加することを報告している¹¹⁾。女子顔面黒皮症、肝ぱん(斑)、アトピー等の皮膚疾患においても、総脂質量に対する脂質過酸化物(TBARS)量が10~10数倍に上昇していることも報告されている¹²⁾。一方岡田らは真皮において発生すると考えられる活性酸素の障害性を考察するため、キサンチン-キサンチンオキシダーゼ系によりスーパーオキシドを発生させ、培養ヒト皮膚線維芽細胞に対する影響を検討した。スーパーオキシドは線維芽細胞のコラーゲン生成を抑制し、コラーゲナーゼ活性をこう進した¹³⁾。これらの変化は光加齢皮膚の真皮細胞外マトリックスで観察される変化と一致するとしている。さらに考察を進めるためには一般生活環境下で真皮で発生している活性酸素種の特異性やその量についての検討が今後の課題であると考えられる。

さらに、表皮や真皮まで包含した皮膚と活性酸素との関連についても過酸化反応による障害性だけでなくグルタチオンペルオキシダーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ、メタロチオネイン等のタンパク質・酵素の誘導、すなわち総合的な皮膚酸化防止システムの能力をも含めた議論もなされるようになってきている。これらの研究では、皮膚はたえず酸素に接し紫外線に暴露されま

た脂質や光感作物質が存在するため、活性酸素や脂質過酸化物を巻き込んだ光生物学反応がひき起こされやすい部位であるという認識にたっている^{14),15)}。

著者らは、ヒドロペルオキシドに対して高選択性と高感度性を有し、生体試料にも応用可能な分析手段である化学発光(CL)検出器を用いるCL-HPLC法^{16)~18)}に着目して、酸化ターゲットを皮膚とした場合のこの方法論の有効性について検討してきた^{19)~24)}。CL-HPLCは、今までも脂質過酸化反応の研究に主として用いられてきているチオバルビツール酸法(TBA法)と異なり一次生成物である脂質ヒドロペルオキシドを脂質クラスのレベルで定量することができる。すなわち本法を用いることにより、皮膚における過酸化反応の解明やそれを防止する効果的な薬剤の選択も可能であると考えられる。

本総説では、今までの著者らの研究を中心に皮膚における過酸化反応についてレビューする。

2 ヒト皮表における脂質過酸化反応

健康人の一般生活環境下の、ヒト表皮脂質の酸化挙動をCL-HPLC法を用いて検討した。太陽光を照射したヒト額部より採取した脂質、洗髪より所定時間後に採取したヒト頭皮の脂質、およびフケ中の脂質分析により、通常の生活環境下でも生体脂質成分であるスクアレンが過酸化反応を受け、皮表上でスクアレン分子に1個ヒドロペルオキシル基が付いたスクアレンモノヒドロペルオキシドが生成することを明らかにしてきた^{19),20)}。また光増感酸化反応によりスクアレンモノヒドロペルオキシド標品の調製をし^{20),25)}、定量的な議論もしてきた。CL-HPLC法におけるスクアレンモノヒドロペルオキシドの検出限界は200 fmol程度であった。ここでは紫外線被ばく量とヒト皮表におけるスクアレンモノヒドロペルオキシド生成量との関係をFig.-1に示した。

スキー場で快晴時のフィールドテストの結果では、スクアレンモノヒドロペルオキシドは皮表に照射されたUVエネルギーに比例して生成した。また個人によって感受性は異なるが紫外線が一番強い10時から14時の間に1h程スキーをすると皮表では100分子のスクアレンにつきほぼ1分子の割合でスクアレンモノヒドロペルオキシドが生成した。

次にヒト皮表におけるスクアレンからスクアレンモノヒドロペルオキシドへの転換率(SQ Conversion Ratio)を、脂質過酸化物量、過酸化反応の進行度合いを表すパラメーターとして用い、ヒト皮表における加齢変化を検討した。結果をFig.-2に示した。

ヒト皮表におけるスクアレン転換率は20歳代で最低値を示し、その後増加する傾向を示した。この結果は、早川らがTBA法を用いて観察した結果を支持するもの

Fig.-1 Lipid peroxidation on human skin surface.

Fig.-2 Change of conversion ratio of SQ to SQHPO with aging at forehead site.

であった。幼児では、皮脂分泌も含めた調節機能や皮膚酸化防止能が未熟なため高い値を示したと考えられる。幼児皮表では他の脂質クラスの過酸化脂質も観察されるのもその特徴であった。皮表の脂質過酸化物から皮膚の酸化に対する防御作用、酸化防止力を考察すると、20歳代で完成しピークを迎えその後衰えていくと推察される。

さらに著者らは、横浜市立大学皮膚科池澤善郎助教授との共同研究で、アトピー性皮膚疾患患者皮表の脂質過酸化物を観察した。Fig.-3 にその結果を健常人と比較して示した。

アトピー性皮膚炎患者の皮表では、スクアレン転換率は健常人と比較すると有意に高く日光にさらされる額部で一番高い値を示した。アトピー性皮膚炎患者ではスクアレン転換率が、大きくばらつくのもその特徴であった。アトピー患者の背部皮表における脂質過酸化物の観察例を Fig.-4 に示した。

Fig.-3 Conversion ratio of SQ to SQHPO in AD patients and normal subjects.

Fig.-4 CL-HPLC patterns of skin surface lipids in AD patients and normal subjects.

この患者の例ではスクアレン以外の脂質クラスも著しく過酸化を受けていた。皮膚科医によるクリニカルスコアとスクアレン転換率との関係を検討したが、特に皮膚の乾燥とスクアレン転換率とは関係があることも認めた²⁶⁾。これらの結果よりアトピー性皮膚炎では、健常人と比較して皮表の酸化防止能が劣っていること、皮膚の状態と皮表脂質過酸化の進行度合いとは相関することが示唆された。

以上のようにスクアレンモノヒドロペルオキシドは、

これまで分析したほとんどの試料から検出され、スクアレンはヒト皮表の第一の酸化ターゲット脂質であると考えられる。そしてそれを定量することにより皮膚の酸化防止能や皮膚状態についても考察できることが示唆された。フケ中の脂質のように皮表において長時間存在する可能性のある場合や強い紫外線等の酸化ストレスにさらされた時、また乳幼児やアトピー性皮膚炎患者のように皮表の酸化防止能が劣っている場合にはスクアレン以外の脂質クラスにも過酸化反応が伝ば(播)進行することも観察することができた。

3 スクアレンモノヒドロペルオキシドの生体系に及ぼす影響

ヒト皮表で脂質過酸化反応が進行していることを検証してきたが、そこで生成する過酸化脂質であるスクアレンモノヒドロペルオキシドが培養細胞系への中程度の細胞毒性を有することも明らかにした²²⁾。Picard らもヒト由来の過酸化脂質の生体系への影響を検討するためスクアレンを過酸化して得られた酸化劣化物(混合物)を用いてケラチノサイトやモルモットの耳の組織培養系への影響を検討し、それが細胞内の色素粒子を増加させたり表皮構造をかく乱することを観察している^{27),28)}。著者らも実際の生体皮膚に近いヒト皮膚再構築系^{29),30)}に対する障害性を検討した。ヒト表皮細胞、ヒト線維芽細胞を用いて作られたヒト皮膚再構築系(Organogenesis社製 TESTSKIN™; Living Skin Equivalent)に対するスクアレンモノヒドロペルオキシド標品の影響を検討し、結果を Fig.-5 に示した。

スクアレンは4h後24h後ともまったく障害反応を示さなかった。皮膚刺激性の知られているある種の界面活性剤等では4h後で障害反応が起こることが確認されているが、スクアレンモノヒドロペルオキシドは4h後では障害反応を起こさず、皮表に24h接触させた時に特異的に障害反応を示した。しかもその値より、ケラチノサイトのみならず線維芽細胞も障害を受けたものと考えられる。このことはスクアレンモノヒドロペルオキシドの透過によりヒト皮膚再構築系に障害を与えたのではなくスクアレンモノヒドロペルオキシド由来のラジカルがラジカル反応により伝ばしていき皮膚細胞に障害を与えたものと推定された。フケ中の脂質分析やまた乳幼児やアトピー性皮膚炎患者の皮表上でスクアレンモノヒドロペルオキシドより他の脂質クラスへと酸化が伝ば進行する現象を観察してきたが、この系も皮膚内部で酸化が伝ば進行する例と考えられる。

4 ヒト皮表における脂質過酸化反応の物理化学的検討

ヒト皮表を生体色素や色々な脂質種が混在している反

Fig.-5 Effect of squalene monohydroperoxide on TESTSKIN™.

応場と考え、脂質過酸化反応の物理化学的考察を愛媛大学向井和雄教授と共同で進めてきた³¹⁾。

ヒトの皮表には、皮脂せん(腺)から排出された皮脂に表皮細胞由来の脂質が混ざり常時 0.4~0.05 mg/cm²の脂質が存在している。また今までその機能としては、過度の水分蒸散を防ぎ角層に適度な湿度、柔軟性を与えることや外部からの有害物質や細菌の進入を防ぐこと等が考えられていた。著者らはその構成脂質と種々の活性酸素種との反応性に注目した。活性酸素の1種である一重項酸素の皮膚への影響は最近特に注目されてきている。荒金らは一重項酸素に特有の 1,268 nm の発光を検出し、いろいろな増感剤の光増感反応により発生する一重項酸素の定量を行ってきた。そして皮膚で発生する一重項酸素は皮膚常在菌である *Propionibacterium acnes* が生成するポルフィリン類であると推定している。また一重項酸素により真皮マトリックスであるコラーゲンのヒスチジン残基の橋かけ反応が起こっていることも推定している³²⁾。さらに検出器の感度を上げ実際の皮膚での一重項酸素の検出が期待される。

著者らは脂質類についてその一重項酸素消光速度定数 k_Q を求めた。一重項酸素を定量的に発生させ、消光の基準物質としてフラン化合物を用い、脂質類を共存させ、両者を発生した一重項酸素に競争反応させ k_Q の値を求めた。結果を Table-1 に示した。

一重項酸素は二重結合と化学反応し、過酸化物を作り消去される。スクアレンと二重結合を分子中に同じく6個持っているドコサヘキサエン酸エチルとの反応速度定数を比較するとスクアレンの方が40倍程度高い。スクアレンの化学構造より考察すると二重結合の α 位のメチ

Table-1 Rate constants ; The second-order rate constant of quenching of singlet oxygen by SQ (k_Q) in BuOH at 35°C.

Compounds	k_Q ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)
SQ	2.66×10^6
γ -Ethyl linolenate	3.22×10^4
EPA ethyl ester	1.56×10^5
DHA ethyl ester	7.17×10^4
α -TocH	1.21×10^8
BHT	2.32×10^6
2-Methyl-2-pentene	4.91×10^5
<i>trans</i> -2-Hexene	$<10^4$
Mixture of <i>cis</i> - and <i>trans</i> -2-hexene	$<10^4$

ル基の効果により二重結合の電子密度が高くなり親電子試薬である一重項酸素と反応しやすくなったためと考えられる。以上のことと先に論じてきたヒト皮表でスクアレンが酸化の第一ターゲットとなっていることは皮表で一重項酸素が生成している間接的な証拠でもあると考えられる。

次に脂質類とラジカルとの反応性について検討を行った。生体で発生するフリーラジカル($LOO\cdot$, $LO\cdot$, $HO\cdot$)のモデルとしてフェノキシラジカル($PhO\cdot$)、ビタミンEラジカル(ジイソプロピルトコフェリルラジカル: $VE\cdot$)を用い $PhO\cdot$, $VE\cdot$ と脂質類を反応させた。

1-ブタノール溶媒中でフェノキシラジカル、ビタミンEラジカルの吸光度を観察することにより、式(1)(2)の二次反応速度定数 k_s , k_3 の値を求めた。結果をTable-2, 3に示した。

活性メチレンを多く持っている脂質がラジカルに対して高い反応性を有していた。しかしながらスクアレンは、二重結合を1個しか有していないオレイン酸と同等レベルまでに水素が引き抜かれ難くなっている。すなわちスクアレンは、ラジカル連鎖反応を開始したり進行したりしにくいと考えられる。

今までに観察してきた色々な皮膚状態における脂質過酸化物の観察結果や脂質の酸化関連の物理化学的性質等を総合して考察し、ヒト皮表で生起している過酸化反応をFig.-6に模式的に表した。

ヒト皮膚において、まず最初は反応性の高い活性酸素である一重項酸素に対応してこれを消去しなくてはならない。前述したようにスクアレンは一重項酸素に対して早い反応速度を有しているので皮表でそれを消去し、それが他の生体成分と反応するのを防ぐ。しかし生成した

Table-2 Rate constants ; The second-order rate constant of SQ with $PhO\cdot$ (k_s) in BuOH at 25°C.

Compounds	k_s ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)	Number of active hydrogen	k_{abstr}/H ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)
SQ	4.42×10^{-5}	44	1.00×10^{-6}
Methyl oleate	4.18×10^{-5}	4	1.05×10^{-5}
Ethyl linoleate	1.22×10^{-3}	2	6.09×10^{-4}
γ -Ethyl linolenate	2.05×10^{-3}	4	5.13×10^{-4}
Ethyl arachidonate	3.02×10^{-3}	6	5.03×10^{-4}

Table-3 Rate constants ; The second-order rate constant of SQ with di-iPr-Toc $\cdot$ (k_3) in BuOH at 25°C.

Compounds	k_s ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)	Number of active hydrogen	k_{abstr}/H ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)
SQ	2.52×10^{-4}	44	5.73×10^{-6}
Methyl stearate	1.84×10^{-5}	0	—
Methyl oleate	6.19×10^{-5}	4	1.55×10^{-5}
Methyl linoleate	9.25×10^{-3}	2	4.62×10^{-3}
Methyl linolenate	1.85×10^{-2}	4	4.63×10^{-3}
Ethyl arachidonate	2.96×10^{-2}	6	4.94×10^{-3}
EPA methyl ester	3.41×10^{-2}	8	4.26×10^{-3}
DHA methyl ester	4.81×10^{-2}	10	4.81×10^{-3}

スクアレンモノヒドロペルオキシドは新たなストレスすなわちフリーラジカルを発生する可能性がある。しかしながらスクアレンはこれらのラジカルとは反応しにくいのでラジカル連鎖反応でその害を拡大することはない。このように皮表においてスクアレンは大変都合のよい性質を有しているようである。次にスクアレン転換率を用いて考察してみる。たとえばアトピー性皮膚炎や加齢した皮膚の例がそうであるが、スクアレンが少なくスクアレン転換率が高い状態の皮膚よりも、スクアレンが多くスクアレン転換率は低い状態の皮膚の方が、外部の酸化ストレスの影響から皮膚を防御したりまたラジカル連鎖反応しやすい脂質を酸化より防御していると考えられ、皮膚はよりよい状態と考えられる。このように酸化という観点から皮膚を考察するときスクアレン転換率は適切なパラメーターであると考えられる。

ほ(哺乳)乳類に存在している皮表脂質を調べるとスクアレンを皮表脂質として有している哺乳類はヒト以外には

Table-4 Percentage composition of some mammalian skin surface lipids.

Component lipids	Man	Rat	Mouse	Guinea pig	Gerbil	Sheep	Dog	House	Cow	Mole	Mink
Squalene	12	0.5	5		10					70	
Wax esters	26	17	10	33	10	46	42	38	3	15	92
Sterol esters	3	27							38	5	5
Wax diesters type I		10	65	24	36	21	32		8		
Wax diesters type II		11							30		
Wax triesters								48			
ω -Hydroxyacid lactones											
Glyceryl ether diesters		8		28							
Triglycerides	57		6		26				4	1	
Free fatty alcohols				6	9	11			1	1	1
Free sterols	2	6	13	9	9	12	9	14	4	3	1
Free fatty acids										1	1
Polar lipids										2	

"Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin"
L.A. Goldsmith ed. (1991)

Fig.-6 Lipid peroxidation on human skin surface.

$n=7$, MEAN $\pm$ SD, paired t-test

Fig.-7 Protection against lipid peroxidation on skin surface by cosmetics.

あまり多くは見当たらない³³⁾ (Table-4)。

ヒト皮膚においてはなぜコレステロール生合成の代謝シーケンスを切断してまでスクアレンを皮表に存在させなくてはならないのであろうか。酸化防御から考えるとそのヒト皮表における存在の合目的性も理解できる。

5 皮表における脂質過酸化反応の防御

ヒト額部を用いて、太陽光暴露前にUV吸収剤、酸化防止剤含有の化粧水を塗布してスクアレンモノヒドロペルオキシド生成量の比較をし、結果をFig.-7に示した。

化粧水塗布群はスクアレンモノヒドロペルオキシド生成を有為に抑制していた。

がん予防との因果関係等で β -カロテンが最近注目されているが³⁴⁾、 β -カロテンの摂取効果とヒト皮表における脂質過酸化反応との関係を検討した。12 mg/d の

割合で β -カロテン〔(株)資生堂製 β -カロテン〕を連続摂取し、額部にBLBランプを用いてUVを照射した。摂取前後で皮表における脂質過酸化反応を観察し、結果をFig.-8に示した。

2か月間 β -カロテンを連続摂取することで摂取前と比較して皮表でのスクアレンモノヒドロペルオキシド生成が有意に低く抑えられていた³⁵⁾。最近染谷らによっても動物実験で確認されたがカロテノイドを連続摂取することでまず血中のカロテノイド濃度が増えさらにそれが皮表に蓄積され皮表における脂質過酸化反応を防御したものと考えられる³⁶⁾。皮表における過酸化反応防御という意味で化粧品や食品の有用性を言及できる例と考えられる。

Fig.-8 Protection against lipid peroxidation on skin surface by aliments containing β -carotene.

6 まとめ

著者らは新しい方法論である CL-HPLC を用いて皮膚をターゲットとした脂質過酸化反応において種々の新しい知見を得ることができた。

脂質過酸化反応の進行を皮表より皮内へと考察してきたが、著者らが推定している過酸化反応のスキームを Fig.-9 に示した。

皮膚は外界と直接接する臓器であるため、種々の酸化ストレスに直接さらされることとなる。その中で最も重要なものはやはり UV と考えられるが、その他公害問題³⁷⁾も最近では考慮しなくてはならないと考えられる。

ヒト皮表においては、まずスクアレンが第一の酸化ターゲットとなると考えられる。強い酸化ストレスにさらされた場合や生成したスクアレンモノヒドロペルオキシドを放置することで皮表においても他の脂質クラスへの酸化の伝ば進行が起こると考えられる。また *in vitro* の皮膚モデル系ではあるが、酸化の伝ば進行によって、表皮・真皮の細胞に障害を与える現象も観察してきた。最近 Colin らによって一般生活環境下の酸化ストレスによってもヒト角層上層のタンパク質のカルボニル残基が増加したり、ヒト角層中のカタラーゼ活性が低下していることも報告されている³⁸⁾。このような皮膚の構成分子に障害を与える過酸化反応は、皮表に酸化防止剤、

Fig.-9 Lipid peroxidation in human skin.

UV吸収剤を適用することや食物摂取によっても防御できることを本総説でも示してきた。

今後は過酸化反応が老徴や皮膚状態を悪化させる直接的な証拠や皮膚の恒常性に障害を与える証拠を捕えること、さらにはそれを防御するよりち密で洗練された防御戦略を構築することが必要と考えられる。

〔平成7年(1995年)1月27日受理〕

文 献

- 1) 尾沢達也, フレングランスジャーナル, 20 (7), 43 (1992)
- 2) 八木國夫, 中野 稔監修, “活性酸素”, (株)医歯薬出版 (1987)
- 3) 中野 稔, 浅田浩二, 大柳善彦編, “活性酸素”蛋白質核酸酵素 臨時増刊, 33 (1988)
- 4) 植原計一, 富田健一, フレングランスジャーナル, 14 (1), 48 (1986)
- 5) 吉野和廣, 松尾幸郎, 大城戸宗男, 日皮会誌, 91, 1175 (1981)
- 6) 吉野和廣, 皮膚と美容, 17, 2693 (1985)
- 7) M. Ohkido, K. Yoshino, I. Matsuo, “*Biochemistry of Normal and Abnormal Epidermal Differentiation*”, Tokyo. Univ. of Tokyo Press, (1980) p. 269
- 8) 吉野和廣, 日皮会誌, 90, 1081 (1980)
- 9) 吉野和廣, 松尾幸郎, 日皮会誌, 91, 53 (1981)
- 10) H.C.H. Yeo, T. Shibamoto, *Lipids*, 27, 50 (1992)
- 11) 早川律子, 上田 宏, 井沢洋平, 浅井淳平, 香粧会誌, 2 (1), 6 (1978)
- 12) 早川律子, 日皮会誌, 81, 11 (1971)
- 13) 田中浩, 岡田富雄, 粧技誌, 28, 172 (1994)
- 14) 宮地良樹, 日本臨床, 46, 2252 (1988)
- 15) 花田勝美, 西日皮膚, 53, 915 (1991)
- 16) T. Miyazawa, K. Yasuda, K. Fujimoto, *Anal. Lett.*, 20, 915 (1987)
- 17) T. Miyazawa, K. Yasuda, K. Fujimoto, T. Kaneda, *Anal. Lett.*, 21, 1033 (1988)
- 18) 宮澤陽夫, 油化学, 38, 800 (1989)
- 19) 河野善行, 阪本興彦, 富田健一, 堀井和泉, 宮澤陽夫, 油化学, 40, 715 (1991)
- 20) 河野善行, 阪本興彦, 中村哲治, 宮澤陽夫, 油化学, 42, 204 (1993)
- 21) 河野善行, 阪本興彦, 富田健一, 活性酸素・フリーラジカル, 3, 331 (1992)
- 22) 河野善行, 萩野滋延, 森 眞輝, 阪本興彦, 中村哲治, 高橋元次, 粧技誌, 27, 33 (1993)
- 23) 河野善行, 高橋元次, フレングランスジャーナル, 21 (11), 35 (1993)
- 24) 河野善行, 阪本興彦, 高橋元次, 諸沢敬二, 香粧会誌, 17 (4), 195 (1993)
- 25) 福沢健治, 寺尾純二, “脂質過酸化反応実験法”, (株)広川書店 (1990)
- 26) Y. Kohno, M. Takahashi, J. Ohsawa, K. Kitamura, Z. Ikezawa, *Tricontinental Meeting of JSID, SID and ESDR*, No. 575 (1993)
- 27) M. Picard, C. Zompetta, C. De Luca, A. Amantea, A. Faggioni, M. Nazzaro-Porro, S. Passi, *Photodermatol Photoimmunol Photomed.*, 8, 105 (1991)
- 28) M. Picard, C. Zompetta, C. De Luca, M. Cirone, A. Faggioni, M. Nazzaro-Porro, S. Passi, G. Prota, *Arch Dermatol Res.*, 283, 191 (1991)
- 29) E. Bell, N. Parenteau, R. Gay, C. Nolte, P. Kemp, P. Bilbo, B. Ekstein, E. Johnson, *Toxin. in Vitro*, 5, 591 (1991)
- 30) R. Gay, M. Swiderek, D. Nelson, A. Ernesti, *Toxin. in Vitro*, 6, 303 (1992)
- 31) 江川義史, 長岡伸一, 向井和男, 河野善行, 高橋元次, 第33回油化学討論会・研究発表会, 講演要旨集, p. 202 (1994)
- 32) 笠 明美, 荒金久美, 増永卓司, 新本浩一, 長野哲雄, 廣部雅昭, 益子信郎, 粧技誌, 28, 163 (1994)
- 33) L.A. Goldsmith ed., “*Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin*” New York, Oxford University Press (1983) p. 575
- 34) 末松一夫, 活性酸素・フリーラジカル, 4, 332 (1993)
- 35) 河野善行, 米田宜弘, 高橋元次, 宮澤陽夫, 第57回日本皮膚科学会東支部学術大会, プログラム・抄録集, p. 57 (1993)
- 36) K. Someya, Y. Totsuka, M. Murakoshi, H. Kitano, T. Miyazawa, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 40, 315 (1994)
- 37) 嵯峨井 勝, 市瀬孝道, 活性酸素・フリーラジカル, 4, 423 (1993)
- 38) C. Colin, B. Boussouira, D. Bernard, D. Moyal, Q.L. Nguyen, *18th International I.F.S.C.C. Congress, Preprint Vol. 1°* p. 50 (1994)