

家庭用品に使用される化学物質の細胞毒性：平成3～8年度  
対象化学物質の眼刺激性の予測

五十嵐良明\*・土屋 利江・中村 晃忠

Cytotoxicity of chemicals used in household products: Estimation of eye  
irritating potency of 25 chemicals tested during 1991 - 1996

Yoshiaki Ikarashi<sup>#</sup>, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura

Cytotoxicity potential of chemicals was evaluated by determining the concentrations inducing 50% reduction of neutral red (NR) uptake into Chinese hamster fibroblast V79 cells compared with control culture (IC<sub>50</sub>). The results of cytotoxicity test for surfactants with the data produced by the *in vivo* Draize eye and skin irritation test were compared. There was a good correlation between cytotoxicity and eye irritation score obtained from the Draize test. In contrast, no correlation was observed between Draize skin irritation score and cytotoxic potential of chemicals. Therefore, the NR cytotoxicity test was regarded as a possible *in vitro* model for predicting eye irritation. Based on the IC<sub>50</sub> values in the NR cytotoxicity test, the eye irritation classification (weak, moderate and strong) for each chemical used in household products has been established. We evaluated the cytotoxicity of 25 chemicals used for antimicrobial, rubber accelerator, rubber antioxidant, ultraviolet absorber *etc.* in household products, and estimated the eye irritating potency of these test chemicals according to the criterion.

**Keywords**: cytotoxicity, household product, eye irritation, classification  
(Received May 30, 1997)

緒 言

家庭用品にはさまざまな化学物質が使用されており、日常生活のいろいろな場面で有益な作用をもたらしている。しかし、こうした家庭用化学製品は消費者が直接接触する機会が多いため、その利用法によっては思わぬ健康被害を引き起こす可能性がある。そのため、家庭用品の製造段階から使用する化学物質の適切ナリスク管理を行うことが求められるが、現状では十分に行われているとは言えない。厚生省においては、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づき、規制基準の設定など必要な安全対策を講じると同時に、健康危害の防止対策として、平成3年度から使用頻度や事故、文献情報をもとに毎年4品目程度の化学物質を選定し、安全性評価の試験検査を行っている。試験項目としては、変異原性試験、28日または90日連続投与試験、生殖/発生毒性試験、感作性試験及び細胞毒性試験がある。

家庭用品による健康被害としては手のあれが常に上位にランクされており、使用される化学物質による刺激が一つの原因とされている。化学物質の眼及び皮膚に対する刺激

性を評価する試験法としては、古くからウサギを用いたドレイズ法が用いられている<sup>1)</sup>。しかし、判定が肉眼による主観の評価で定量性、再現性に欠けるなどの問題点が多く指摘されている。多くの研究者によって、種々の細胞を用いた細胞毒性試験はドレイズ眼刺激性試験法の代替法として有用であるとの報告がされており<sup>2-8)</sup>、我々もニュートラルレッド (neutral red, NR) の細胞内への取り込みを指標とする方法が、ドレイズ法の眼刺激性データとよく相関することを報告した<sup>9)</sup>。大野らは、ドレイズ眼刺激性試験の代替法として上げられる12種の試験法について、10種の試験物質を20の研究室で評価し、比較した。その結果、NRの取り込みなどで判定する細胞毒性試験法は、細胞の種類に関係なく、ドレイズ試験法と良好な相関性があることを示している<sup>10)</sup>。したがって、化学物質の細胞毒性強度を知ることが、これらを使用する家庭用化学製品による眼刺激性などの事故防止に有用な情報を与えるものとする。その一方で、皮膚刺激性との相関性の有無について確かめた実験は少ない。

本研究は最初に、細胞毒性試験から *in vivo* の刺激性強度を予測する基準設定のための検討を行った。そのためにまず、先のNR法のデータ<sup>9)</sup>を眼刺激強度のランク別に比較した。次に、化粧品に使われる界面活性剤について眼刺激性と同時に皮膚刺激性の定量的なデータを検索し、これ

\* To whom correspondence should be addressed: Yoshiaki Ikarashi; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext. 390; Fax: 03-3707-6950; E-mail: ikarashi@nihs.go.jp

らについて細胞毒性試験を行い、*in vitro* と *in vivo* とのデータ間の相関性を調べた。その結果、細胞毒性試験は眼刺激性については比較的高い相関性で評価ができるものの皮膚刺激性を予測するには十分でないことがわかった。以上の検討から、家庭用品に使われる化学物質の細胞毒性の強度、すなわち眼刺激性をクラス分けする基準を設定した。さらに、平成3年度から8年度に選定した25品目について細胞毒性試験の結果を示し、先の基準をもとに刺激性のランク付けを行った。数種の品目についてはコロニー法<sup>11)</sup>による細胞毒性試験を行ったので、併せて結果を報告する。

## 実験方法

### 1. 細胞

チャイニーズハムスター由来線維芽細胞株 V79細胞を用いた。細胞は牛胎児血清を5%または10%含有させた Eagle's MEM 培地で培養した。

### 2. 細胞毒性試験

ニュートラルレッド (NR) 法：Borenfreund らの方法<sup>9)</sup> をもとに、既報<sup>9)</sup>に従って行った。すなわち、牛胎児血清を5%含有させた Eagle's MEM 培地に浮遊させた V79細胞を96穴プレートの各穴に  $9 \times 10^3$  cells/200  $\mu$ l ずつ入れ、37°C、5%CO<sub>2</sub>インキュベーターで24時間培養後、培地を除き、種々の濃度の被験物質を含有した培地200  $\mu$ l を加えて、さらに24時間培養した。次に、NR 溶液を加えて4時間培養後、ホルマリン溶液で細胞を固定洗浄後、酢酸エタノール溶液を加えて細胞内に取り込まれた NR を抽出し、540 nm における吸光度を測定した。各被験物質について濃度と吸光度との関係をグラフにプロットして、吸光度をコントロールの50%に減少させる濃度 (IC<sub>50</sub>( $\mu$ g/ml)) を求めた。

コロニー法<sup>11)</sup>：牛胎児血清を10%含有させた Eagle's MEM 培地に浮遊させた V79細胞を24穴プレートの各穴に 50 cells/500  $\mu$ l ずつ入れ、37°C、5%CO<sub>2</sub>インキュベーターで4時間培養後、培地を除き、種々の濃度の被験物質を含有した培地500  $\mu$ l を加えて、7日間培養した。ホルマリン溶液で細胞を固定後、ギムザ染色して、各穴に形成されたコロニー数を数えた。各化学物質についてコロニー数をコントロールの50%に減少させる濃度 (IC<sub>50</sub>( $\mu$ g/ml)) を求めた。

## 結果と考察

### 1. 細胞毒性試験とドレイズ試験との比較による刺激性のランク付けの設定

細胞毒性試験の眼刺激性試験法の *in vitro* 代替法としての可能性を見るためには、*in vivo* ドレイズ眼刺激性試験においても定量的な値を示し、それと比較することが重要である。Watanabe らは、ドレイズ試験において、種々の

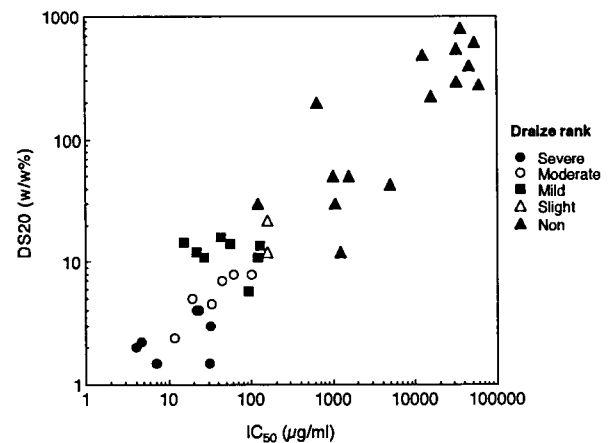


Fig. 1. Correlation between cytotoxicity *in vitro* and eye irritation in the Draize test

IC<sub>50</sub> value is the concentration that reduces the absorbance by 50% of control with neutral red cytotoxicity assay (ref. 9). DS 20 value is the concentration of each chemical extrapolated from the dose-response curve giving a Draize test score of 20 in the rabbit eye (ref. 4). Draize rank (ocular irritancy classification) was based on Draize test scores according to the scale of ref. 12 (ref. 4). The regression coefficient is  $\gamma = 0.93$ .

濃度で試験物質を適用し、各濃度におけるドレイズスコアを求めて濃度反応曲線を作成した。次に、このグラフよりドレイズスコア=20を示す濃度 (DS20(w/w%)) を求め、これを眼刺激性強度の定量的な値とした<sup>9)</sup>。既に我々は、このうち38種の化学物質について NR 法によって細胞毒性試験を行い、その IC<sub>50</sub>値と DS20値とは相関係数0.93が得られることを報告した<sup>9)</sup>。今回は、細胞毒性強度による *in vivo* 眼刺激性強度のクラス分けを目的として、眼刺激性強度ランク (severe, moderate, mild, non) 別に記号の種類を変えて比較し直した (Fig. 1)。グラフ中には DS20が100以上の値を示すものがあるが、これは、その物質の刺激性が非常に弱いことを示している。すなわち、刺激性が非常に弱い物質は100%原液でもドレイズ試験で20のスコアを示さないが、この場合は濃度反応曲線を外挿していくため、結果として DS20値が100以上の値を示すことによる<sup>9)</sup>。眼刺激性ランクは Kay and Calandra のスケール<sup>12)</sup>によってドレイズ試験のスコアから分類したものである<sup>9)</sup>。眼刺激性が非常に強い severe な物質はいずれも IC<sub>50</sub>値は35  $\mu$ g/ml 以下、弱い (slight~non) 物質は100  $\mu$ g/ml 以上の値を示した (Fig. 1)。

小島らは、化粧品原料の界面活性剤13種 (Table 1) の眼刺激性と皮膚刺激性について定量的な評価を行っている<sup>13-15)</sup>。彼らは10%水溶液をウサギに点眼後1~168時間後の反応をドレイズ基準に従って評価し、最高の評点から試験物質の眼刺激性強度を表した<sup>13,14)</sup>。皮膚刺激性については、24時間閉塞貼布し除去後1時間目の評点から判定した<sup>13,15)</sup>。皮膚反応は評点の差が少なく、眼及び皮膚刺激評点の大きさの順序及びドレイズランクは必ずしも一致しな

Table 1. Draize eye and skin irritation in vivo and IC<sub>50</sub> values in neutral red cytotoxicity test in vitro for 13 surfactants

Chemical	Abbreviation	Draize test <sup>a)</sup>				Cytotoxicity test IC <sub>50</sub> (μg/ml) <sup>b)</sup>
		Eye irritation		Skin irritation		
		Score	Draize rank	Score	Draize rank	
<b>Cationic surfactants</b>						
Stearyl dihydroxyethoxyethyl hydroxyethyl ammonium chloride (20% solution)	SDAC	54.3	Severe	3.0	Severe	25.8
Stearyl trimethyl ammonium chloride (63% solution)	STAC	85.7	Severe	4.5	Severe	4.0
Alkyl benzyl dimethyl ammonium chloride (50% solution)	ABAC	85.3	Severe	8.0	Severe	12.4
Benzethonium chloride	BC	96.7	Severe	5.7	Severe	10.7
<b>Anionic surfactants</b>						
Sodium lauryl sulfate	SLS	55.7	Moderate	8.0	Severe	30.7
Sodium polyethylene laurylether sulfate (3 E.O.)	SPLS3	21.0	Slight	2.0	Moderate	138
Sodium polyoxyethylene laurylether sulfate (12 E.O.)	SPLS12	57.0	Moderate	3.7	Severe	330
Sodium tetradecenesulphonate (37% solution)	ST	36.7	Slight	4.3	Severe	263
Potassium laurate	PL	85.3	Moderate	4.2	Severe	36.1
<b>Nonionic surfactants</b>						
Polyethylene lauryl ether (9 E.O.)	POE-LE	63.0	Severe	1.2	Moderate	23.3
Polyethylene nonyl phenyl ether (10 E.O.)	POE-NPE	57.0	Moderate	0.7	Non	23.5
Sucrose lauric acid ester (38% solution)	SLAE	21.0	Slight	3.0	Severe	147
<b>Amphoeric surfactants</b>						
Lauryl dimethylaminoacetic acid betaine (31% solution)	LDAB	61.0	Moderate	3.0	Severe	126

<sup>a)</sup> All Draize eye and skin irritation data of test chemicals were quoted from the data of Kojima et al. (refs.13, 14).

Eye irritation score was maximal average Draize eye score from 3 rabbit after application of 10% solution of test chemical.

Skin irritation score was average Draize skin score at 1 h after 24 h closed application of test chemical.

<sup>b)</sup> IC<sub>50</sub> was the concentration that reduced the absorbance by 50% of control with neutral red cytotoxicity test.

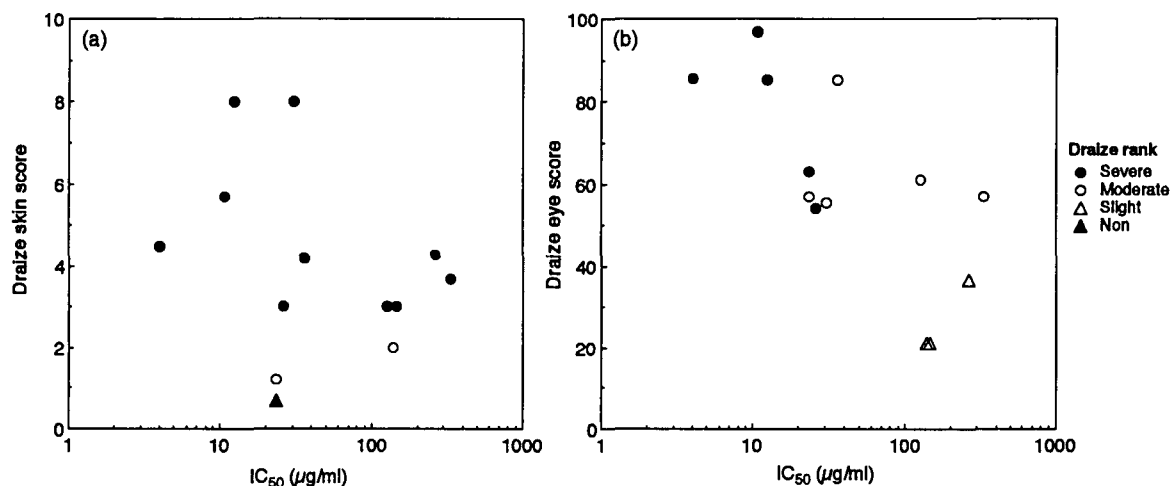


Fig. 2. Comparison of cytotoxicity with Draize skin score (a) or Draize eye score (b) for 13 surfactants  
Draize test data were quoted from refs. 13 and 14.

いことがわかる (Table 1). これらの化学物質について NR 細胞毒性試験を行った結果, 最も強い細胞毒性を示したものは STAC であり, 陽イオン性界面活性剤はいずれも強い細胞毒性を示した. 一方, 陰イオン性界面活性剤は高い IC<sub>50</sub> 値を示すものが多かった (Table 1).

眼刺激性及び皮膚刺激性試験での評点と細胞毒性試験での IC<sub>50</sub> 値をグラフにプロットした (Fig. 2). 眼刺激性と細胞毒性とは相関係数  $\gamma=0.73$  であり, 眼刺激性が severe と判定された物質の IC<sub>50</sub> 値はいずれも 26 μg/ml 未満であり, slight な物質は 100 μg/ml 以上であった. 一方, moderate クラスの物質は幅広い IC<sub>50</sub> 値をとった. 皮膚刺激性と細胞毒性との関係については, 皮膚刺激性が severe と同じランク付けされる物質でも IC<sub>50</sub> 値には大きな差が認められ, ランクが non とされた物質よりも高い IC<sub>50</sub> 値を示すものもあった. NR 細胞毒性試験と皮膚刺激性試験との間に相関

は認められなかった ( $\gamma=0.28$ ). したがって, 細胞毒性試験は化学物質の眼刺激性を予測するには有用であるが, 皮膚刺激性を予測するには不十分であると結論した. 皮膚の角質層への浸透性を考慮する因子が今回用いた細胞毒性試験にはないことが理由として考えられる. 近年, 皮膚刺激性の代替試験法として摘出皮膚培養キットなどの可能性が検討され始めている<sup>15)</sup>.

以上の結果から, Table 2 のような判定基準を作成した. ドレイズ試験でのスコア 20 は角膜が少し混濁する程度の非常に弱い反応であり<sup>1)</sup>, Watanabe らの報告<sup>4)</sup>にある DS 20 値が 200% 以上を示す物質は, ウサギの眼の感受性の高さを考えると, ヒトに対しても問題がないものと考えられる. また, 小島らのデータ<sup>13,14)</sup>との比較においても, 眼刺激性が slight な物質は NR 細胞毒性試験の IC<sub>50</sub> 値は 100 μg/ml 以上であった. 以上の事実と, 安全性評価のためでき

**Table 2.** Classification of chemicals into three different ranks of cytotoxic potentials judged from the IC<sub>50</sub> values in neutral red assay

IC <sub>50</sub> (µg/ml)	Rank of cytotoxicity	Prediction of eye irritancy
≤35	Strong	High possibility to induce a strong eye irritancy
35~350	Moderate	Possibility to induce a moderate eye irritancy
≥350	Weak	Scarcely possibility to induce an eye irritancy

**Table 3.** List of test chemicals

Chemical	Abbreviation
<b>Antimicrobial</b>	
1,2-Benzisothiazolin-3-one	BIT
2-Hydroxy-4-isopropyl-2,4,6-cycloheptatrien-1-one	HICHO
Isobornylthiocyanacetate	IBTA
Methyl-N-(2-benzimidazolyl)carbamate	MBIC
3,4,4'-Trichlorocarbaniilide	TCC
2,3,5,6-Tetrachloroisophthalonitrile	TPN
<b>Rubber accelerator</b>	
N,N'-Dibutylthiourea	DBTU
N,N'-Dilaurylthiourea	DLTU
N,N'-Diphenylthiourea	DPTU
Zinc dibutylthiocarbamate	ZDBC
Zinc diethyldithiocarbamate	ZDEC
<b>Rubber antioxidant</b>	
2,5-Di-tert-amyhydroquinone	DAHQ
2,5-Di-tert-butylhydroquinone	DBHQ
N-1,3-Dimethylbutyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine	DMBPPD
N,N'-Dimethylphenyl-p-phenylenediamine	DMPDP
6-Ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline	ETMDQ
2-Mercaptobenzimidazole	MBI
α-Methylbenzylphenol	MBP
Poly-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline	PTMDQ
<b>UV absorber</b>	
2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone	HMBP
p-tert-Butylphenylsalicylate	PTBPS
2-(2'-Hydroxy-3'-tert-butylphenyl)-5-chlorobenzotriazole	Tinuvin 326
2-(2'-Hydroxy-5'-methylphenyl)benzotriazole	Tinuvin P
<b>Solvent</b>	
N,N-Diethylethanolamine	DEEA
<b>Synergist</b>	
2,3,3,3,2',3',3',3'-Octachlorodipropylether	OCDFE

るだけ偽陰性の判定を少なくする方向で基準の作成を行うという点から、NR 細胞毒性試験で350 µg/ml 以上の IC<sub>50</sub>値を示す物質は弱い細胞毒性物質で眼刺激性を起こす可能性がほとんどないとし、35 µg/ml 以下の物質は強い細胞毒性物質で明らかな眼刺激性を起こす危険性があるとした。In vivo の眼刺激性は moderate, mild 及び slight と細かいクラス分けがされているが、相関性を見た結果からは細胞毒性試験でそこまでの細かい分類は不可能と判断した。よって、35~350 µg/ml の IC<sub>50</sub>値を示す物質は中程度の強度の細胞毒性物質として、眼刺激性が誘発される可能性がある物質と判定することにした。この判定基準は試験方法の改良や文献データの集積により、今後変更される可能性もある。

## 2. 家庭用品に使用される化学物質の細胞毒性試験

平成3年度から8年度までに試験対象物質として選定し、細胞毒性試験を行った物質を Table 3 に示した。抗菌剤6種、ゴム加硫促進剤5種、ゴム老化防止剤8種、紫外

線吸収剤4種、溶剤1種及び共力剤1種の計25種である。このうち、ZDEC は試験法の感度及び再現性を確かめるための標準物質として用いた。ZDEC は医用材料の生物学的安全性試験、細胞毒性試験の項目での標準物質として用いられている<sup>16)</sup>。それぞれの物質について試験した結果を Table 4 に示した。NR 法の IC<sub>50</sub> 値より Table 2 の判定基準に従って刺激性強度を求めた。加硫促進剤のうち carbamate 系はいずれも強い細胞毒性を示したが、thiourea 系の細胞毒性は弱く、同じ使用目的の物質でも毒性強度に大きな差が認められた。老化防止剤や抗菌剤も全般的に強い細胞毒性を示した。これに対して、紫外線吸収剤の細胞毒性はそれほど強くなかった。

コロニー法での IC<sub>50</sub> 値は NR 法に比べて、ほとんどの物質で小さな値をとった (Table 4)。NR 法とコロニー法での結果の比較をした結果、両者の間には良好な相関 ( $\gamma=0.84$ ) が認められ (Fig. 3)、試験法が変わっても評価に大きな変化はないことが明らかになった。1週間の培養では単に細胞膜破壊、タンパク質変性などによる毒性だけでなく、物質に暴露される細胞密度の違い及び代謝や細胞増殖能に対する影響が関わってくる。一部 NR 法とコロニー法で差が認められた物質もあったが、こうした点が原因となっているものと考えられる。既に、コロニー法はゴム製品の筋肉内埋植による組織炎症反応とよく相関することが報告されているが<sup>17)</sup>、今後多くの物質についてコロニー法で試験を行いドレイズ試験データとの比較をすることによって、コロニー法による眼刺激性予測基準も作成できると思われる。

以上、家庭用品に使用される物質の中には強い細胞毒性を示すものがあり、使用法によっては眼刺激性を引き起こす可能性があることがわかった。実際、ゴム製手袋や尿道カテーテルなどによる組織障害が報告されており、ゴム製品からの加硫促進剤の溶出が原因であることがわかっている<sup>18)</sup>。よって、製品からのこうした物質の発散、溶出を抑えるなどの処理は家庭用品による事故防止に有効である。また、毒性が弱い物質に切り替えるのも一つと思われる。しかし、その使用目的と方法によってはこうした処理ができない場合があるが、その場合は使用に当たって注意するよう情報を提供することが重要である。一方、強い細胞毒性を示すものでも使用量や配合量によっては問題のない可能性もある。実際の製品中の量的な問題については細胞毒性試験の IC<sub>50</sub> 一点の値だけでは予測しにくいこともある。こうした点については、例えば、試験時の用量反応曲線を参考に考えていく必要がある。

Table 4. Results of cytotoxicity tests

Chemical	NR assay		Colony assay
	IC <sub>50</sub> (μg/ml)	Classification	IC <sub>50</sub> (μg/ml)
<b>Antimicrobial</b>			
BIT	4.03	Strong	0.20
HICHO	29.0	Strong	0.76
IBTA	32.3	Strong	1.45
MBIC	23.1	Strong	- <sup>a)</sup>
TCC	407	Weak	3.4
TPN	0.65	Strong	0.034
<b>Rubber accelerator</b>			
DBTU	518	Weak	19
DLTU	1825	Weak	1260
DPTU	366	Weak	75
ZDBC	2.80	Strong	7.3
ZDEC	1.36	Strong	0.087
<b>Rubber antioxidant</b>			
DAHQ	5.40	Strong	3.2
DBHQ	35.0	Strong	-
DMBPPD	15.2	Strong	-
DMPPD	6.60	Strong	-
ETMDQ	64.0	Moderate	2.3
MBI	393.8	Weak	-
MBP	23.0	Strong	27.8
PTMDQ	118	Moderate	29
<b>UV absorber</b>			
HMBP	87.8	Moderate	-
PTBPS	53.3	Moderate	-
Tinuvin 326	226	Moderate	59
Tinuvin P	>500	Weak	139
<b>Solvent</b>			
DEEA	480	Weak	178
<b>Synergist</b>			
OCDPE	44.5	Moderate	-

<sup>a)</sup>Not tested.

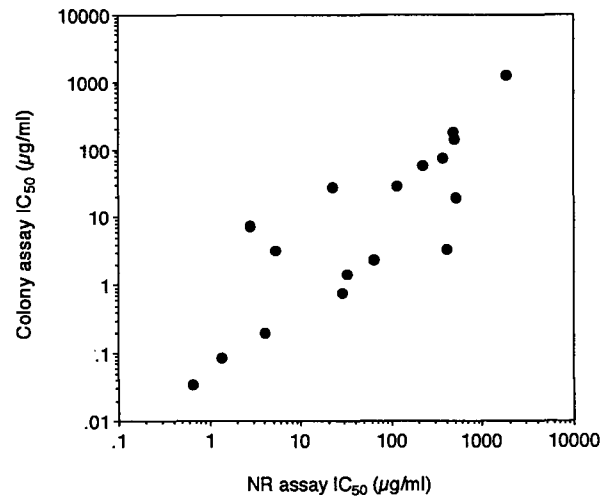


Fig. 3. Comparison of IC<sub>50</sub> values in neutral red (NR) assay with those in colony assay for 17 chemicals used in household products

## 文 献

- 1) J. H. Draize, G. Woodward and H. O. Calvery: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **82**, 377~390 (1994)
- 2) E. Borenfreund and O. Borrero: *Cell Biol. Toxicol.*, **1**, 55~65 (1984)
- 3) K. Y. Chan: *Alt. Methods Toxicol.*, **3**, 405~422 (1985)
- 4) M. Watanabe, K. Watanabe, K. Suzuki, O. Nikaido, I. Ishii, H. Konishi, N. Tanaka and T. Sugahara: *Toxicol. In Vitro*, **3**, 329~334 (1989)
- 5) C. Shopsis and S. Sathe: *Toxicology*, **29**, 195~206 (1984)
- 6) E. Borenfreund and J. A. Puerner: *Toxicol. Lett.*, **24**, 119~124 (1985)
- 7) H. North-Root, F. Yackovich, J. Demetruilas, M. Gacula, Jr. and E. Heinze: *Toxicol. Lett.*, **14**, 207~212 (1982)
- 8) H. Torishima, H. Arakawa, S. Matsui and M. Watanabe: *AATEX*, **1**, 20~26 (1990)
- 9) Y. Ikarashi, T. Tsuchiya and A. Nakamura: *J. Toxicol. - Cut. & Ocular Toxicol.*, **12**, 15~24 (1993)
- 10) Y. Ohno, T. Kaneko, T. Kobayashi, T. Inoue, Y. Kuroiwa, T. Yoshida, J. Momma, M. Hayashi, J. Akiyama, T. Atsumi, K. Chiba, T. Endo, A. Fujii, H. Kakishima, H. Kojima, K. Masamoto, M. Masuda, S. Matsukawa, K. Ohkoshi, J. Okada, S. Sakamoto, K. Takano and A. Takanaka: *In Vitro Toxicol.*, **7**, 89~94 (1994)
- 11) A. Nakamura, Y. Ikarashi, T. Tsuchiya, M.-A. Kaniwa, M. Sato, K. Toyoda and M. Takahashi: *Biomaterials*, **11**, BIOMAT 89, 92~94 (1990)
- 12) J. H. Kay and I. C. Calandra: *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **13**, 281~289 (1962)
- 13) 小島肇夫, 花村朝夫, 佐藤 淳, 小西宏明, 吉村 功: 日本動物実験代替法学会第6回大会要旨集, pp. 126~127 (1992)
- 14) H. Kojima, A. Hanamura, S. Miyomoto, A. Sato, H. Konishi and I. Yoshimura: *Toxic. In Vitro*, **9**, 333~340 (1995)
- 15) 小島肇夫, 森 栄治, 花村朝夫, 佐々木哲治, 真鍋幸子: 粧技誌, **30**, 402~409 (1996)
- 16) 厚生省薬務局医療機器開発課監修: 医療用具及び医用材料の基礎的な生物学的試験のガイドライン1995解説, 薬事日報社 (1996)