



A. Furukawa

## 炭酸ガスレーザーによる医療用材料表面への 機能性アパタイトの溶着加工

古川 彰\*

### 1. まえがき

高齢者人口が増加するに従い、人工関節などの整形外科インプラントの需要は年々増加している。インプラントには、良好な生体適合性に加えて高い力学強度が要求される。例えば、チタンは軽量で強度が大きいいため好んで利用される金属材料であるが、ヤング率が骨より遥かに高いため、応力遮蔽効果により周囲骨に骨萎縮が生じインプラントの緩みが生じる場合がある。そのため、より生体骨と強度的にバランスの取れた材料を選択することが望ましく、この点で金属をプラスチックに置き換えた材料を開発する意味がある。従来は、プラスチックとして、生体内で安定かつ不活性な素材が用いられていたが、最近では、生体親和性かつ高い生体活性を有し、体内組織と調和し一体化するような新規材料への期待が高まっている。一例として、脊椎外科手術で椎体間の固定に用いられるポリエーテルエーテルケトン (PEEK) 製ケージ (インプラント) が挙げられる。PEEK 樹脂は骨に近い力学物性を有し生体適合性も良好であることから、従来のチタン製脊椎ケージより長期の安定した治療成績が期待されるが、課題として骨と PEEK が接着 (癒合) しないため、椎体間でケージの緩みや脱臼 (脱転) が生じる場合がある。そのため、PEEK 表面が生体活性を有し、骨芽細胞が表面で新生骨を形成し PEEK と生体骨間で骨癒合性を実現するような性質が望ましい。これ以外にも、人工関節その他に様々なプラスチック素材が利用されているが、一部の生分解性プラスチックを除き、これらは一般に生体不活性であり、体内で周囲組織と馴染まず界面で分離し、様々な不具合が生じる危険性を孕んでいる。従って、生体活性を有し、特に生体骨に対して良好な骨癒合性を有する新規なプラスチック材料の実現や、表面改質方法の開発が望まれている。

本研究では、本来生体不活性なプラスチック材料に対して、生体活性なアパタイト微粒子をレーザー加熱して表面に溶着することで、プラスチック表面に生体活性と骨癒合性を付与することを検討した。更に、材料表面に骨形成促進作用を付与することを意図し、アパタイト結晶中に骨形成促進作用を有する無機イオンを導入することで、骨癒合と骨形成の両方のプロセスを加速させる機能性インプラントの開発を意図した。具体的には、上記の PEEK 樹脂に加えて、人工関節等に利用される超高分子量ポリエチレン

(UHMWPE) や、人工靭帯に用いられるポリエステル繊維を対象とし、これらに骨癒合性と骨形成促進作用の両方の性質を付与することを試みた。UHMWPE は優れた力学物性と化学的安定性に加えて、表面摩擦係数が低いことから人工関節の摺動部材として人工股関節のカップや人工膝関節の脛骨インサートとして広く用いられている。但し、骨とは直接結合しないため、これを骨に固定するためにチタン製の支持部材を組み合わせ用いられているが、この支持部材の破損や周囲骨の骨萎縮で緩みが発生する場合がある。UHMWPE の優れた摺動性と力学物性を利用し、これに直接骨癒合性を付与することが出来れば、新たなデザインの人工関節の実現が期待される。靭帯再建には通常自家腱組織が用いられるが、腱の採取は侵襲性が高いため、これに代わる人工靭帯の利用が望まれるが、骨孔への固定が不十分で緩みが発生するため十分に利用されていない。

プラスチック表面の改質方法として、従来からプラズマ照射やイオンスパッタリングなどの物理化学的方法や、スピコーティングなどの塗工手法が用いられてきた。これらの処理で表面における細胞の接着性が向上し、増殖を高めることで生体活性を改善することが知られているが、プラスチック表面を直接新生骨で被覆し、生体骨と癒合させることは極めて困難であった。本研究では、骨の構成成分であるハイドロキシアパタイト (HAP) およびこれにストロンチウムや様々な異種イオンを導入したアパタイト微粒子を基材表面に溶着固定することで、生体内で新生骨を表面に析出させ、基材表面に生体親和性と骨癒合性を同時に付与する検討を進めた。

### 2. 実験方法

#### 2.1 実験系、試料作製及び解析方法

アパタイトは 9~10  $\mu\text{m}$  付近に P-O 伸縮運動による特徴的な赤外吸収バンドを有し、炭酸ガスレーザー (キーエンス社 3-Axis Laser Marker ML-Z9510) の発振波長 10.6  $\mu\text{m}$  と一致することから、アパタイトをレーザーで直接加熱した。後述するように、アパタイト微粒子分散液を基材に塗布して室温で乾燥させ、レーザー照射してアパタイトを加熱することでこれと接する基材表面を熔融させ、両者を溶着した。レーザーは、出力 30 W、スポット径 217  $\mu\text{m}$ 、スキヤンピッチ 140  $\mu\text{m}$  とし、Duty 100% の条件でラスタースキ

\* 奈良県立医科大学 医学部 整形外科学教室 博士研究員

ヤンした。試料の表面温度は高速デジタルピロメーター (LumaSense Tech. IGA6/23) およびサーモグラフィ (THG-01、Custom Corp) を使用して測定した。

ハイドロキシアパタイト (HAP) はHAP-100 (太平化学産業㈱) を使用し、それ以外のストロンチウムアパタイト (SrHAP)、ケイ酸ストロンチウムアパタイト (SrSiP)、亜鉛置換ケイ酸ストロンチウムアパタイト (SrZnSiP) は既報<sup>2)</sup> の合成法により合成した。各アパタイトに対して5質量%のクエン酸一水和物を添加して0.3 mm径のジルコニアビーズとともにエタノール中で湿式分散処理しコーティング液を作製した。

コーティング基材として、PEEK は VICTREX 社製 PEEK 450G を使用し、UHMWPE は淀川ヒューテック㈱製 UHMW-PE を使用し、何れも 13 mmφ×1 mm 厚の円形ディスクに加工して使用した。ポリエステル製人工靱帯は、Lied-Keio 補強用メッシュ (ユフ精器㈱) を利用した。人工骨はスーパーポア (β 型リン酸カルシウム人工骨、HOYA Technological㈱) を利用した。

表面の形状と元素分析は走査型電子顕微鏡 (SEM) (日立 SU3500 または TM4000) とこれに付属したエネルギー分散型 X 線分光器 (EDS) (Ametek Inc. Octane Plus) を使用した。

試料表面の摩擦係数は自動摩擦摩耗解析装置 TSf-503 (協和界面科学㈱) を使用し、水中に浸漬した状態で剛球に 100 g の荷重を加え試料表面を 1 mm/s の速度で移動する条件で 5 回測定しその平均を求めた。

## 2.2 細胞培養と実験動物への移植試験

細胞培養はF344ラット大腿骨から採取し培養後に得た骨髄間葉系幹細胞を $1 \times 10^6$  個/mlの浮遊液とした。これを試料表面に塗布し、接着細胞を搭載した試料を、12ウェルプレート内で培地を加え、14日間37°Cで培養した。培地はMEM培地にFBS (ウシ胎児血清) およびデキサメタゾン、β-グリセロリン酸、アスコルビン酸を加えた骨形成培地を使用し、2日毎に培地交換した。骨形成マーカーとして培地中に分泌されたオステオカルシン (OC) 濃度をELISA法により測定した。更にOCの遺伝子発現レベルとして、対応するmRNAをcDNAに変換後、RT-PCR法により定量した。人工骨の移植試験として、試料をラット背部に皮下移植し、4週後に摘出して脱灰後、H-E (ヘマトキシリン・エオシン) 染色により形成された新生骨の評価を行った。

## 3. 結果と考察

### 3.1 PEEK 樹脂に対するアパタイトの溶着加工<sup>1)</sup>

本研究では、骨の構成成分であるハイドロキシアパタイト (HAP) と、これとともに、骨形成促進作用を示すストロンチウムを導入した各種機能性アパタイトを合成し、それらをコーティング材料として利用した。これらを炭酸ガスレーザーにより様々な基材表面に溶着する検討を実施した。ストロンチウムアパタイト (SHAP) およびその誘導体 SrSiP, SrZnSiP は、前駆体の SrHPO<sub>4</sub> のアルカリ加水分解により合成した<sup>2)</sup>。得られたアパタイト粉末はクエン酸を少量添加してエタノール中で湿式分散処理し、100~200 nm 前後の平均粒子径を有するナノ粒子分散液を作製した。クエン酸は接着性を有し、基材表面にアパタイト粒子を一時的に固定化する作用を示した。クエン酸を添加したアパタイト分散液を PEEK 樹脂ディスク表面にコートし自然乾燥後にレーザー照射を行った。

レーザー照射はラスタースキャンによりディスク表面全体を照射したが、スキャン速度の最適化と併せて、各スキャンラインを複数回重ねることで、最終的に到達する最高表面温度を制御した。ここでは、各スキャンラインを 8 回繰り返して走査後、次のピッチに移動する方法でディスク全体を均一に加熱した。図 1 (a)には 1 スキャンラインを 8 回繰り返して走査した際の表面温度の変化の様子を示した。表面温度はスキャン回数およびスキャン速度の組み合わせで精密に制御することが可能であった。PEEK 樹脂の融点は 320°C 付近にあり、熔融すると表面の光沢が変化することから目視で熔融状態を確認した。図 1 (b), (c)にはスキャン照射直後にサーモグラフィでディスク表面を観察した際の表面温度分布を示したが、ディスク全体が均一に加熱されていることが確認できた。

レーザー照射はラスタースキャンによりディスク表面全体を照射したが、スキャン速度の最適化と併せて、各スキャンラインを複数回重ねることで、最終的に到達する最高表面温度を制御した。ここでは、各スキャンラインを 8 回繰り返して走査後、次のピッチに移動する方法でディスク全体を均一に加熱した。図 1 (a)には 1 スキャンラインを 8 回繰り返して走査した際の表面温度の変化の様子を示した。表面温度はスキャン回数およびスキャン速度の組み合わせで精密に制御することが可能であった。PEEK 樹脂の融点は 320°C 付近にあり、熔融すると表面の光沢が変化することから目視で熔融状態を確認した。図 1 (b), (c)にはスキャン照射直後にサーモグラフィでディスク表面を観察した際の表面温度分布を示したが、ディスク全体が均一に加熱されていることが確認できた。

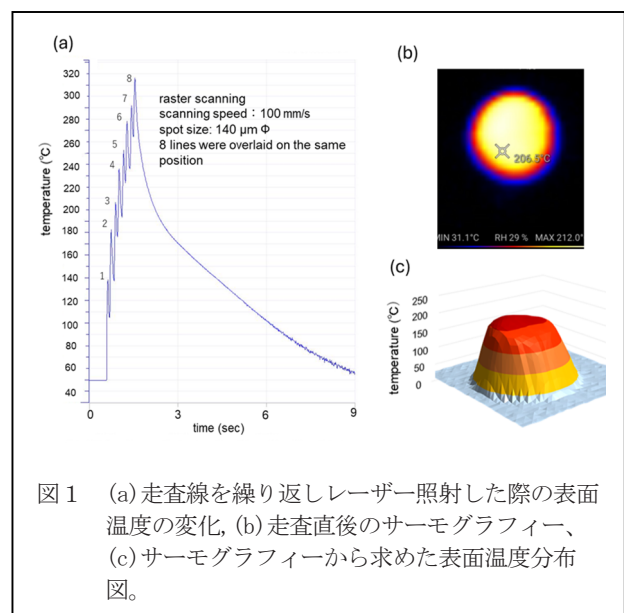


図 1 (a) 走査線を繰り返しレーザー照射した際の表面温度の変化, (b) 走査直後のサーモグラフィ、(c) サーモグラフィから求めた表面温度分布図。

図 2 (a)にはアパタイト (SrHAP) 分散液をコートし、未加熱の状態 SEM 観察した際のアパタイト粒子層断面を示した。この場合粒子層厚みは約 3 μm で PEEK 基板とは接着していないが、レーザー加熱後の SEM 観察 (b) では粒子層が基板に固着している様子が伺えた。

溶着したアパタイト層を酸により溶解除去して界面の様子を観察したところ、図 2 (c)に示すようにコート層下面で PEEK 基材表面は微小な凹凸を伴って隆起しており、表面に多数の細孔が形成されていることが認められた。隆起の高さは基材表面に対して約 2 μm 程度であった (d)。

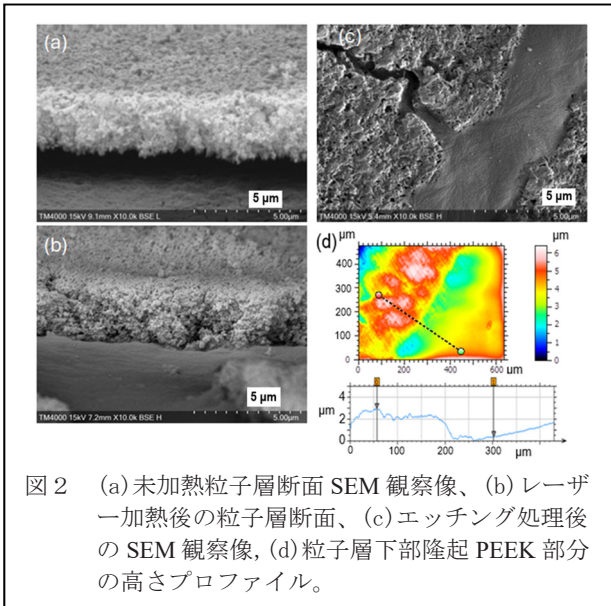


図2 (a)未加熱粒子層断面 SEM 観察像、(b)レーザー加熱後の粒子層断面、(c)エッチング処理後の SEM 観察像、(d)粒子層下部隆起 PEEK 部分の高さプロファイル。

上記の結果から、レーザー加熱後のコート層の内部には PEEK 樹脂が 2/3 の高さまで侵入しており、両者のコンポジットが層内で形成されていることが伺えた。アパタイト微粒子が集合して形成される多孔質層の内部に、熔融した PEEK 樹脂が浸透圧の作用により浸透したものと考えられる (melt infiltration)<sup>3)</sup>。レーザー加熱後のコート層は体積収縮でひび割れがあるものの、擦過しても剥離することなく PEEK 基板と一体化していることが確認された。

アパタイト層を熱溶着したディスク表面において骨芽細胞前駆細胞の培養をおこなった。図3には細胞培養前後のアパタイト (SrSiP) コート層表面の SEM/EDS 観察結果を示した。細胞培養前のコート層表面の SEM 像 (a) には SrSiP で完全に被覆された表面が観察され、元素分析結果 (b) でアパタイトの組成が確認された。細胞培養後には表面は一様に有機物 (ECM:細胞外マトリックス) とリン酸カルシウムで被覆されている様子が観察された (c), (d)。

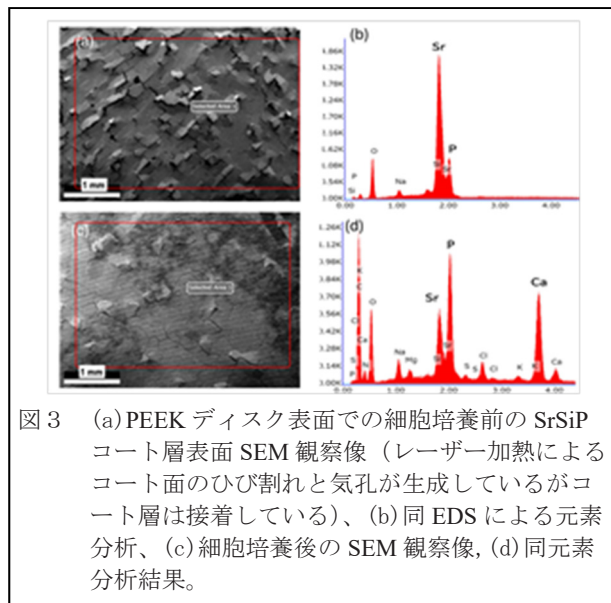


図3 (a)PEEK ディスク表面での細胞培養前の SrSiP コート層表面 SEM 観察像 (レーザー加熱によるコート面のひび割れと気孔が生成しているがコート層は接着している)、(b)同 EDS による元素分析、(c)細胞培養後の SEM 観察像、(d)同元素分析結果。

細胞培養後に培養培地中に分泌されたオステオカルシン (OC:骨芽細胞への分化マーカー) および対応する mRNA 発現量の比較を行った結果 (図4)、コントロールおよび HAP と比べてストロンチウムアパタイト群で明確に OC の発現が増加していることから、ストロンチウムの存在で骨芽細胞への分化が促進されていることが明らかとなった。

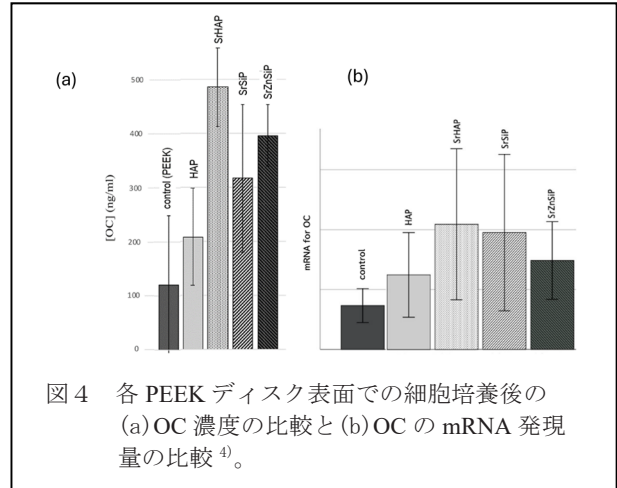


図4 各 PEEK ディスク表面での細胞培養後の (a)OC 濃度の比較と (b)OC の mRNA 発現量の比較<sup>4)</sup>。

以上の結果から、PEEK 基材表面にストロンチウムアパタイト層を設けることで、その表面において骨芽細胞前駆細胞の骨芽細胞への分化と増殖を促進させる作用を付与することが明確となった。従って、PEEK 樹脂製インプラント表面にストロンチウムアパタイトをレーザー溶着することで、生体活性なアパタイト層を強固に接着させ、その表面で骨形成を促進させることから、骨癒合性の向上に効果的であることが示唆される結果が得られた。

### 3.2 UHMWPE 樹脂に対するアパタイトの溶着加工<sup>5)</sup>

UHMWPE に対しても同様にレーザー溶着加工を行った。UHMWPE の融点は 145 °C 前後で、分子量は約 2000 kDa であり、熔融粘度が高く粒子間隙に浸透することが困難であると予想したが、レーザー溶着は問題なく進行し、微粒子層内への UHMWPE 鎖の浸透が確認された (図5)。

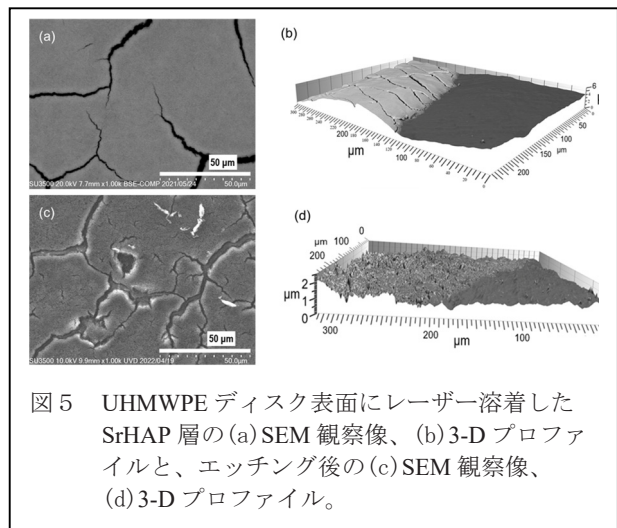
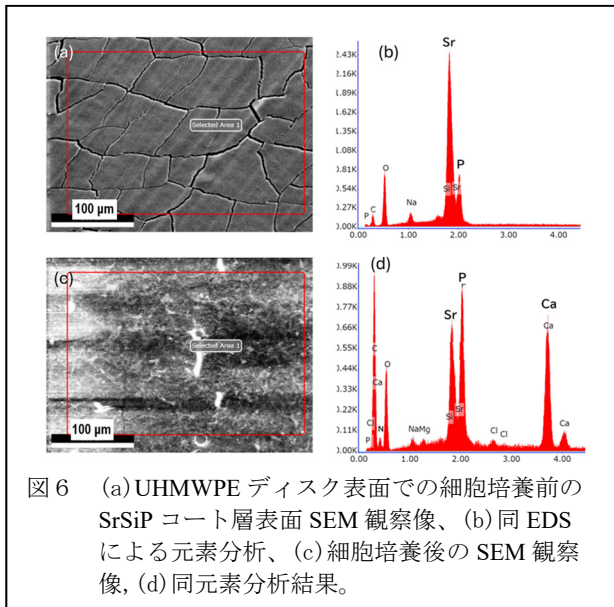
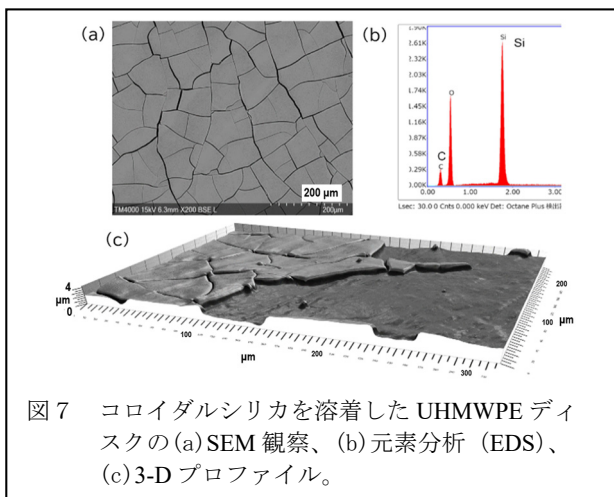


図5 UHMWPE ディスク表面にレーザー溶着した SrHAP 層の (a)SEM 観察像、(b)3-D プロファイルと、エッチング後の (c)SEM 観察像、(d)3-D プロファイル。

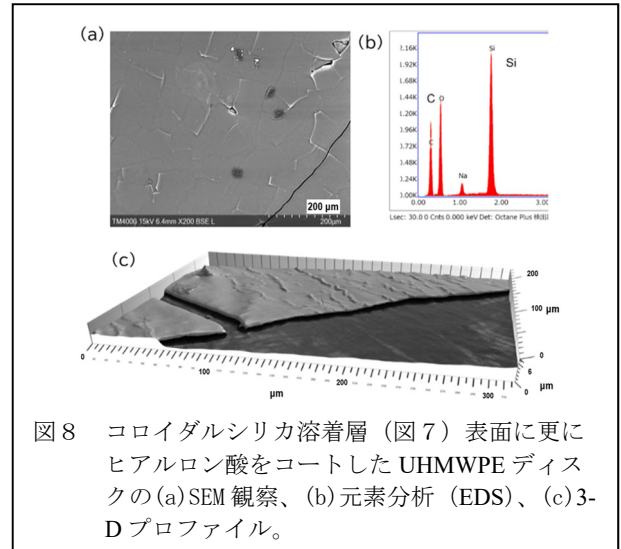
未処理 UHMWPE ディスクを比較として、アパタイトをレーザー溶着した UHMWPE ディスク表面で、PEEK の場合と同様に骨芽細胞前駆体細胞の培養を行った。未処理の UHMWPE の場合には細胞の初期接着が不良で、細胞の増殖に乏しく形態の変化は認められなかったが、アパタイトを溶着した系では何れも細胞数が顕著に増加し、アクチンフィラメントの伸長による細胞の形態変化も観察された。細胞培養前後の SrSiP 溶着 UHMWPE ディスク表面の様子を図 6 に示したが、PEEK の場合と同様に、培養後のディスク表面に顕著な ECM の蓄積とリン酸カルシウムの沈着が観察された。こうした特徴は基材の種類に関わらず、コートしたアパタイトの性質に拠ることが示された。



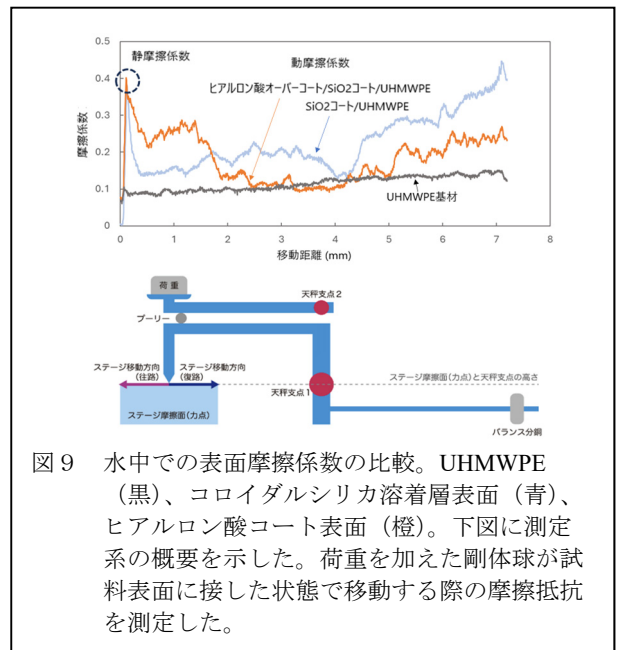
人工関節の摺動材として利用する場合、摩擦による微粒粉の発生が問題になる。関節液中において UHMWPE 表面の潤滑性を増加させるため、ヒアルロン酸を UHMWPE 表面に固定化することを試みた。両者を直接結合することは困難であるため、中間層にコロイダルシリカをレーザー溶着した層を設け、その表面の水酸基とヒアルロン酸の側鎖官能基とを架橋剤で結合することを試みた。



UHMWPE 表面にコロイダルシリカ (オルガノシリカゾル MA-ST, 平均粒子径 12nm) をコーティングし、常温で乾燥後表面をレーザー照射し 150°C まで加熱した。図 7 にレーザー溶着したコロイダルシリカ層の表面の SEM 像と元素分析結果を示した。コート面の接着性は極めて強固で強く擦過しても剥離しなかった。コロイダルシリカ層をアルカリ水溶液で溶解して SEM によりコーティング界面の様子を観察したところ、コート面において UHMWPE 表面の隆起が認められ、シリカ粒子間の微小間隙に UHMWPE のポリマー鎖が浸透していることが示された。



コロイダルシリカ層の表面にヒアルロン酸 (分子量 600 ~ 1200 kDa) 水溶液 (2% TEOS 添加) をコートして加熱処理した。図 8 にヒアルロン酸をコートした際の表面の SEM 像と元素分析結果を示した。コーティングによりコロイダルシリカ層の微細なひび割れ部分は埋められたが、幅の広いひび割れ部分は埋まらなかった。



ヒアルロン酸をコートしたディスクの表面は水中に浸漬すると粘液質のゼリー状に変化した。この状態で水中において表面の摩擦係数を測定し、図9に示す結果を得た。静摩擦係数(測定開始時の摩擦係数)および動摩擦係数(移動中の摩擦係数)を比較したところ、UHMWPEは平滑で低い摩擦係数を示したが、コロイダルシリカをコートした場合、コート層表面の凹凸の影響で摩擦抵抗が増加し、摩擦係数が増加した。ヒアルロン酸をオーバーコートすることで動摩擦係数はベースのUHMWPEと同程度に低下したが、表面の凹凸の影響で摩擦係数の変動が大きくなった。コロイダルシリカ層の厚みが大きいことが原因であるため、これをさらに薄くすることが摩擦抵抗を下げる上で有効と考えられる。

### 3.3 人工靭帯に対するアパタイトの溶着加工<sup>6)</sup>

ポリエステル(PET)繊維を束ねて構成される人工靭帯を用いて、これの表面にアパタイトをレーザー溶着することで、表面に骨癒合性を付与する検討を実施した。骨癒合性の評価として、疑似体液中からのリン酸カルシウムの析出と固定化について評価した。PET繊維は20 $\mu\text{m}$ 径の細い繊維で、融点以上の温度で容易に融着し変形したが、短時間レーザー照射条件で、繊維の変形を伴わずにアパタイトを熱溶着した。図10(a)にSrSiP分散液をコートし、レーザー溶着した人工靭帯のSEM写真を示した。同(b)にはEDSによる表面の元素分析結果を示した。加熱温度は150~160 $^{\circ}\text{C}$ の範囲が最適であった。この温度範囲において繊維を変形することなくコーティング層は接着した。これを疑似体液中に浸漬したところ37 $^{\circ}\text{C}$ 2週間で表面はリン酸カルシウムで覆われ、SrSiPコート量を遥かに上回る量のリン酸カルシウムが沈着していることが分かった(図10(c),(d))。析出したリン酸カルシウム層は擦過することで最表層は部分的に脱落したが、SrSiP層の大部分はPET繊維に強固に接着していた。

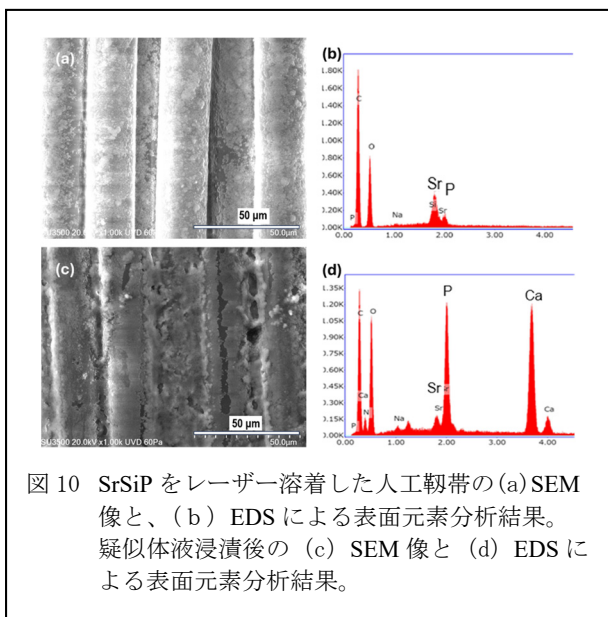


図10 SrSiPをレーザー溶着した人工靭帯の(a)SEM像と、(b)EDSによる表面元素分析結果。疑似体液浸漬後の(c)SEM像と(d)EDSによる表面元素分析結果。

### 3.4 $\beta$ -TCP人工骨に対するアパタイトの溶着加工<sup>7)</sup>

ここまではプラスチックに対するレーザー溶着を検討したが、セラミックスについても同様な検討を実施した。医療用セラミックスとして多孔質HAPや $\beta$ -TCP(リン酸三カルシウム)から成る人工骨が利用されている。多孔質内部で骨芽細胞が増殖して新生骨を産生し、骨再建の足場として機能する。しかしながら自家骨移植のレベルに遠く及ばないため、既存の人工骨に更に骨再生を促進させる機能を付与することが望まれる。ストロンチウムアパタイトには骨再生促進作用が認められることから、これを既存人工骨にレーザー溶着して骨形成を高める検討を実施した。

図11には、既存の $\beta$ -TCP人工骨に対してSrSiP微粒子をコーティングし、レーザー照射で300 $^{\circ}\text{C}$ 付近まで加熱した後水洗した試料のSEM観察像を示した。表面および断面に対するSEM/EDS観察による構成元素のマッピング解析から、人工骨の表面および内部に均一にSrSiPがコーティングされていることが確認された。人工骨内部にはレーザー光は照射されていないが、セラミックスの熱伝導率が比較的高いため、表面温度が内部まで効率的に伝導してアパタイトが熱固定されたことを示している。

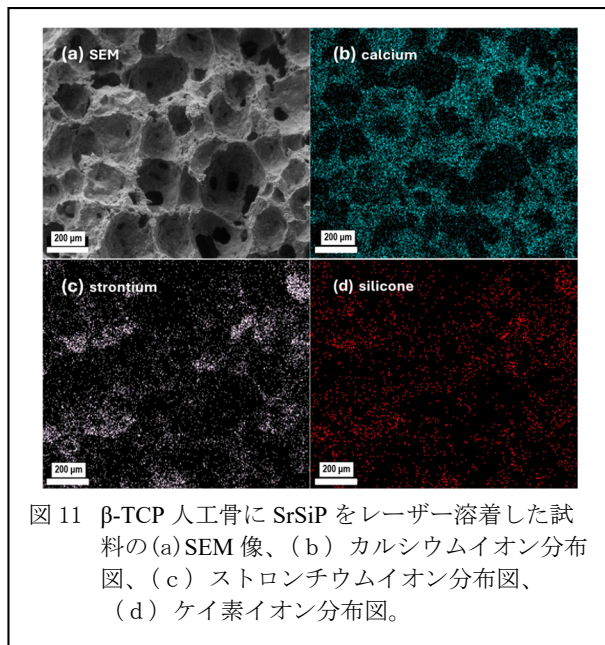


図11  $\beta$ -TCP人工骨にSrSiPをレーザー溶着した試料の(a)SEM像、(b)カルシウムイオン分布図、(c)ストロンチウムイオン分布図、(d)ケイ素イオン分布図。

SrSiPを溶着した人工骨を比較試料と共にラットの背部に皮下移植した。4週後に摘出し、H-E染色により細孔内の新生骨形成の様子を観察した(図12)。元の人工骨(a)の場合と比較して、SrSiPを溶着した人工骨(b)では、細孔内部の新生骨形成が顕著に生じており、SrSiP溶着層の存在で骨形成が促進されていることが示された。

同様に、ケイ素イオンとともに更に亜鉛イオンをドーブしたSrZnSiPについても同様に評価を行ったところ、同様に顕著な新生骨の形成が認められた。今後更に様々な無機イオンの導入やそれらの至適濃度の決定などの検討を進めることが期待される。

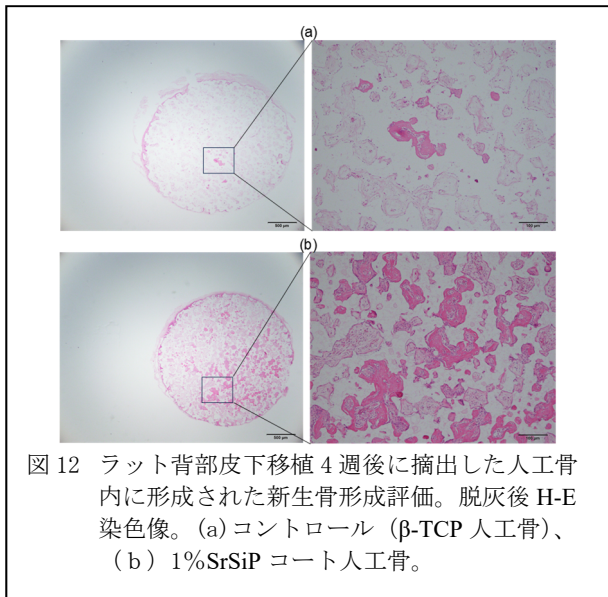


図 12 ラット背部皮下移植 4 週後に摘出した人工骨内に形成された新骨形成評価。脱灰後 H-E 染色像。(a)コントロール ( $\beta$ -TCP 人工骨)、(b) 1%SrSiP コート人工骨。

### 3.5 その他の検討

#### 3.5.1 プラスチック製人工骨の試作検討

人工骨はリン酸カルシウムの焼結多孔質体で生体吸収性が長所であるが、硬くて脆いためコラーゲンとの複合体である生体骨のような強靱な性質は期待できない。これに対して先に示したようなプラスチック材料の中で生体骨に近い力学物性を有する素材は多種あることから、本研究で開発したアパタイトのレーザー溶着技術を利用してプラスチックの焼結多孔質体の表面および細孔内部にアパタイトをレーザー溶着することで、人工骨として機能できる材料の創出を試みた。

図 13 にポリプロピレン (PP) 焼結多孔質体に SrZnSiP をレーザー溶着した試料の SEM 写真を示した。焼結多孔質体の表面が SrZnSiP 粒子で被覆されていることが分かった。この場合、気孔率は 50%前後で気孔径約 200  $\mu\text{m}$  の連通孔を形成していることが認められた。細孔内部にはレ

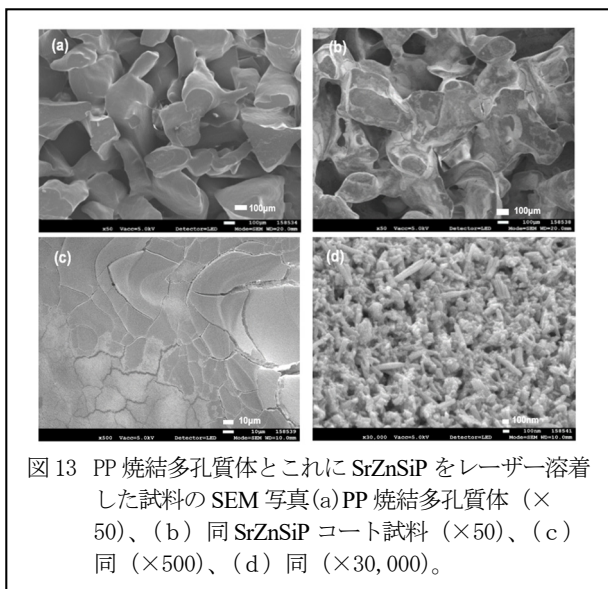


図 13 PP 焼結多孔質体とこれに SrZnSiP をレーザー溶着した試料の SEM 写真(a)PP 焼結多孔質体 ( $\times 50$ )、(b) 同 SrZnSiP コート試料 ( $\times 50$ )、(c) 同 ( $\times 500$ )、(d) 同 ( $\times 30,000$ )。

ーザー光は到達しないが、コーティングしたアパタイト層の熱伝導率が高いためレーザー照射で細孔内のアパタイト層まで溶着していることを確認した。

#### 3.5.2 プラスチック表面でのアパタイトの結晶成長と選択的核酸吸着担体の試作<sup>8),9)</sup>

プラスチック表面においてアパタイトの結晶成長を行い、特定の結晶面が露出した異方性アパタイト結晶層を基材表面に形成する検討を実施した。即ちストロンチウムアパタイトの前駆体である SrHPO<sub>4</sub> 結晶を微粒化して基板表面にレーザー溶着し、アルカリ水溶液中において基材表面でストロンチウムアパタイト結晶を成長させた。SrHPO<sub>4</sub> 結晶を低温で加水分解すると NaSrPO<sub>4</sub> (ナストロファイト) 結晶を経由して、ファイバー状のストロンチウムアパタイト結晶が生成することを見出している。図 14 には UHMWPE ディスク表面に繊維状 SrHAP 結晶を成長させた試料の SEM 写真を示した。ファイバー状結晶の側面に Sr イオンが配向し、この面に対して、核酸の選択的吸着が起こることを確認した。

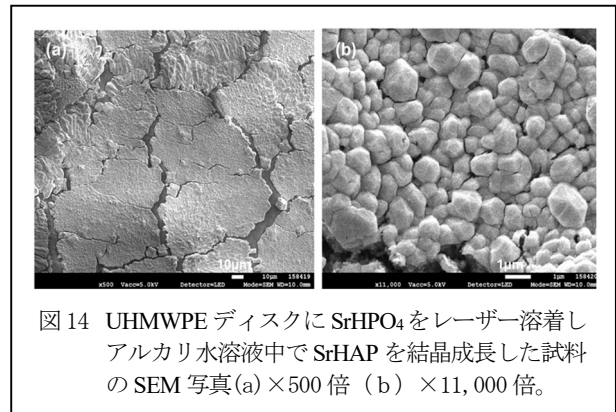


図 14 UHMWPE ディスクに SrHPO<sub>4</sub> をレーザー溶着しアルカリ水溶液中で SrHAP を結晶成長した試料の SEM 写真(a) $\times 500$ 倍 (b) $\times 11,000$ 倍。

### 謝 辞

本研究は、公益財団法人天田財団からの一般研究助成により実施した研究に基づいていることを付記するとともに、同財団に感謝いたします。

### 参考文献

- 1) Furukawa, A., et al., Mater. Chem. Phys. (2022) 288, 126352.
- 2) Furukawa, A., Ceram. Int. (2021) 47, 21848–21861.
- 3) de Jongh, P.E. & Eggenhuisen, T.M., Advanced Materials, (2013) 25(46), 6672.
- 4) Kawasaki, S., et al., BMC Musculoskelet. Disord. (2020) 21, 692.
- 5) Furukawa, A. & Tanaka, Y., Coatings, (2023) 13, 580.
- 6) Egawa, T., et al., BMC Musculoskelet. Disord. (2019) 20(1) 1-9.
- 7) Sugimoto, H., et al., BMC Musculoskelet. Disord. (2021) 22, 673.
- 8) Furukawa, A. & Tanaka, Y., Crystals, (2022) 12, 1705.
- 9) 特開 2021-132622 (出願日 2020.2.28)