

鮭由来吸収性生体模倣複合材料の作製と評価

赤澤 敏之, 執行 達弘, 野村 隆文, 山岸 暢, 稲野 浩行, 中村 勝男
村田 勝*, 伊東 学**, 境 勝義***, 宮崎 聡****

Preparation and Characterization of Bioabsorbable Biomimetic Composite Materials Originated from Salmon

Toshiyuki AKAZAWA, Tatsuhiro SHIGYO, Takafumi NOMURA
Tohru YAMAGISHI, Hiroyuki INANO, Katsuo NAKAMURA
Masaru MURATA*, Manabu ITO**, Katsuyoshi SAKAI***, Satoshi MIYAZAKI****

抄 録

溶解析出法により道産鮭骨・皮を用いたアパタイトとコラーゲン (HAp-C) 複合材料を作製した。HAp-Cは Ca^{2+} 欠損型水酸アパタイト (HAp), I型コラーゲンとゼラチンの複合体であり, HApとコラーゲンの組成比 (H/C) に依存して, 283K合成でコラーゲン線維とHAp微結晶が, 293K合成でフロック状凝集粒子や線維配向の柱状粒子が観察された。水蒸気の吸着徐放特性では, 293K合成のH/C=2.2粉末の吸湿率と保湿率は市販品より高かった。水蒸気の吸着等温線では, 293K合成のH/C=2.2粉末は親水性が強く, 相対圧0.70~0.90で水蒸気吸着量は最高値を示した。ラット背部皮下組織内への埋入では, 巨細胞浸潤が認められ, 293K合成のH/C=3.5粉末は組織体液がHAp凝集粒子内へよく浸透した。生体模倣性HAp-Cは, 優れた生体吸収性, 生体適合性, 保湿性を有する水の吸収・吸着徐放材料として, 再生医療や化粧品産業への応用が可能である。

キーワード : 海洋資源, 生体模倣, アパタイト/コラーゲン複合体, 生体吸収, 水蒸気吸着, 保湿

Abstract

Biomimetic composites of hydroxyapatite (HAp) and collagen were prepared utilizing salmon bone and skin by a dissolution-precipitation method. The HAp/collagen composites (HAp-C) were constituted by Ca^{2+} -deficient HAp, I type-collagen and gelatin. Depending on the composition ratio (H/C) of HAp to collagen, at the synthetic temperature of 283K, collagen fibers and HAp microcrystals were seen, while at 293K, frock like-agglomerated particles or fiber like-oriented columnar ones were observed. Concerning water vapor-absorption-release characteristics, moisture absorption-and-retention coefficients for the H/C=2.2 powder synthesized at 293K were higher than those for commercial products. From water vapor-adsorption isotherms, the amounts of water vapor adsorbed for H/C=2.2 with strong hydrophilicity were the highest in the relative partial pressures of 0.70~0.90. At 2 weeks after implantation of the H/C=3.5 powder synthesized at 293K into the subcutaneous tissue of the back region in rats, multi-giant cell-infiltration was recognized and body fluid well permeated into agglomerated particles. Accordingly, the biomimetic HAp-C can be applied as water-absorbable adsorption-release materials having excellent bio-absorption, biocompatibility and moisture retention characteristics for regenerative therapy or cosmetic industry.

KEY-WORDS : Marine resource, Biomimetic, Apatite/Collagen composite, Bio-absorption, Water vapor-adsorption, Moisture retention

事業名 : 平成22-23年度経常研究, 課題名 : 海洋資源由来生体模倣材料の創製と応用, * 北海道医療大学歯学部 (School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido), ** 北海道大学大学院医学研究科 (Graduate School of Medicine, Hokkaido University), *** 北海道曹達株式会社 (Hokkaido Soda Co., LTD.), **** 井原水産株式会社 (Ihara Co., LTD.)

1. 緒言

近年、超高齢化社会の進展に伴い、骨折、感染症、外傷骨欠損の難治療疾患や歯周病患者が急増し、高齢化が進む北海道でも先端医療や再生医療の導入が注目されている。骨や歯の無機成分を有する水酸アパタイト ($\text{HAp:Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) は、優れた生体親和性と骨伝導性を有する生体硬組織代替材料として、人工骨、人口歯根及び骨充填材等へ臨床応用されている。しかしながら、市販の試薬合成のHApは生体吸収性が低く、既存骨と均質な置換は困難であるため、骨形成能が長期的に必ずしも有効な材料ではない¹⁾。

動物の硬組織は細胞が構築した粒子形態、表面構造及び化学的性質を保持しているため、生体組織の再生や新陳代謝に有効な機能原料である²⁾。生体由来金属イオンと3次元的多孔構造は、細胞が増殖・分化する最適環境である。

我々は、道産動物骨由来アパタイト (b-HAp) は海面骨の細孔径と気孔率、微量金属イオンを保持したアパタイト固溶体であること、焼成・部分溶解析出法によりb-HApを原料とした傾斜機能アパタイト (fg-HAp) は優れた生体吸収性と体液浸透性を示すことを報告してきた^{2,3)}。骨形成蛋白質 (rhBMP-2) を担持したrhBMP-2/fg-HApは理想的な骨誘導性材料であり、ラット頭頂骨骨膜上への埋入では、fg-HApの崩壊と吸収、断片化fg-HApを包含した骨形成、fg-HAp周囲に多核巨細胞、新生骨周囲に骨芽細胞が観察された。

一方、動物由来コラーゲンは生体適合性や生分解性が高く、皮革、ゼラチン、食品、人工臓器及び人工皮膚等に利用されている。安全・安心な生体材料の開発と水産資源の有効利用を目的として、水産加工で廃棄処分される道産鮭皮からコラーゲンを抽出し、製造する技術が確立されている⁴⁻⁶⁾。低温水環境で育成された魚類由来コラーゲンは変性温度 (278~303 K) が低いため、ヒトの体温では変性・溶解し、蛋白質分解酵素により速やかに分解・吸収される。鮭皮由来コラーゲン溶液は、生体環境の温度とpHでは、自己組織化し線維ゲルを形成する。コラーゲンの線維化とコラーゲン分子間へ化学架橋の導入により、鮭皮由来コラーゲンの耐熱性は改善され、伸縮性細胞培養用基材が開発された⁷⁾。その線維ゲルを用いたヒト歯根膜細胞の培養では、増殖性は豚コラーゲン線維ゲルより約1.5倍高い値を示し、アルカリフォスファターゼ活性は7日後から増大し、分化機能の維持が立証された。

このような生体模倣材料は細胞や生体高分子の最適環境維持に効果的であるため、低温水環境で育成された魚類由来コラーゲンやアパタイトは、ヒト組織への埋入で早期の溶解吸収や良好な体液浸透が期待される^{8,9)}。

また、健康生活思考から、優れた保湿性、質感を有するコラーゲン系化粧品は、シートパック等に商品化されているが、多くの製品は牛由来であるため、安心素材の高機能製品の開発が要望されている。

医科・歯科領域の臨床には、生体模倣材料を用いた骨再生医療が重要であり、加齢臭と角質の分離除去には、吸着機能を付加した生体模倣化粧品が有望である。本報では、吸収性生体模倣材料の開発と応用を目的として、溶解析出法により道産鮭骨・皮を原料としたアパタイトとコラーゲン系複合材料を作製し、リン酸カルシウム結晶の析出・成長、コラーゲンの線維化条件を決定、微細構造に及ぼす混合組成比の影響を調べ、吸湿・保湿率や水蒸気吸着量を測定、動物実験の組織形態学的所見より生体親和性と組織適合性を検討した。

2. 実験方法

2.1 歯用冷却高速粉碎の試作と抜去歯の粉碎

HApとコラーゲンの出発原料として、鮭骨と鮭皮を用いた。鮭骨を解体、煮沸、大気中773~1373Kで焼成し、骨由来アパタイト (b-HAp) を作製した。それを HNO_3 水溶液に溶解後、 NH_3 水を添加し293K、pH 9~10で24h熟成、濾過、洗浄、凍結乾燥により溶解析出アパタイト (dp-HAp) を調製した。一方、鮭皮を脱脂、酸抽出、消化、塩析、透析により非抗原性の低濃度アテロコラーゲン水溶液を調製した⁶⁾。b-HAp水溶液とアテロコラーゲン水溶液を所定組成比 (H/C=1.0~3.5) で混合後、283~293K、pH7.5~7.9で熟成し、同様にして、アパタイト/コラーゲン (HAp-C) 複合材料を合成した⁸⁻¹⁰⁾。

2.2 各種粉末の物理化学的特性の評価

得られた試料について、X線回折 (XRD) より生成相を同定、走査型電子顕微鏡 (SEM) とデジタルマイクロスコープ (Digital Microscope: DM) より微細構造を観察、誘導結合プラズマ発光分光分析 (ICP) と電子線微小部分析 (EPMA) より化学組成を分析し、室温で24h真空脱気後、窒素吸着法によりBET比表面積と細孔径分布 (PSD) を測定した。

水蒸気の吸湿・保湿特性では、試料を288~308Kで4h真空脱気後、恒温恒湿器へ入れ、相対湿度80%、72h、さらに20~40%、55h放置し、その重量変化率を測定した^{11,12)}。

水蒸気の吸着特性では、室温で24h真空脱気後、自動吸着等温線測定装置 (日本ベル社製) を用いて298K、相対圧 (P/Ps) = 0~0.90の水蒸気吸着量 (吸着過程と脱着過程) を測定し、吸着過程と脱着過程の吸着等温線を作成した^{11,12)}。

2.3 各種粉末の生物検定

生体親和性や骨誘導特性の評価では、試料をウイスター (Wistar) 系ラット背部皮下組織内に埋入、2~4週後周辺組織を一塊として摘出、固定、脱灰し、ヘマトキシリン・エオジン (H-E) 染色後、光学顕微鏡より組織形態学的に観察した^{10,12)}。

3. 実験結果及び考察

3.1 b-HApの結晶性と微細構造に及ぼす焼成温度の影響

図1に、DMとSEMによる鮭肉を除去した鮭皮、393Kで24h乾燥、空气中1373Kで24h焼成した鮭骨の外観写真を示す^{11,12)}。(a)ではコラーゲン組織、(b)では脊椎動物の典型的な脊柱構造、(c)では海面骨由来の多孔構造が観察される。



図1 鮭由来材料の外観

((a)皮, (b)393K乾燥骨, (c)1373K焼成骨)

図2にSEMによる1073~1373K、24h焼成したb-HApの微細構造を示す^{10,12)}。XRDよりb-HApは単一相が得られ、ICPより微量のNa⁺、Mg²⁺含有Ca²⁺欠損型HApであった。焼成温度の上昇に伴い、HApの結晶性はよくなり顕著な粒子成長が進行し、1073~1273Kで板状と柱状粒子の交互配列、1373Kで3~10µmの板状巨大粒子が観察される。XRDよりHApの格子定数は六方晶系のa=0.942nm、C=0.688nmとなり、JCPDSカード(9-432)値とよく一致した。

3.2 dp-HApとHAp-C複合材料の合成

図3に、SEMによる283K、pH7.5~7.9で調製した鮭由来コラーゲンと293K、pH9~10で調製したdp-HAp凍結乾燥粉末の微細構造を示す。コラーゲンでは、蛋白質が変性しない温度と中性領域での調製により、架橋剤を無添加でもコラーゲンの線維化が認められる(図3(a),(c))。dp-HApでは、微結晶からなるフロック状凝集粒子が観察され、XRDとICPより低結晶性Ca²⁺欠損型HApが同定された(図3(b),(d))。

合成温度とpH条件の選定によりHApの分散性が良好な複合材料の作製が可能であり、HApとコラーゲンの混合組成

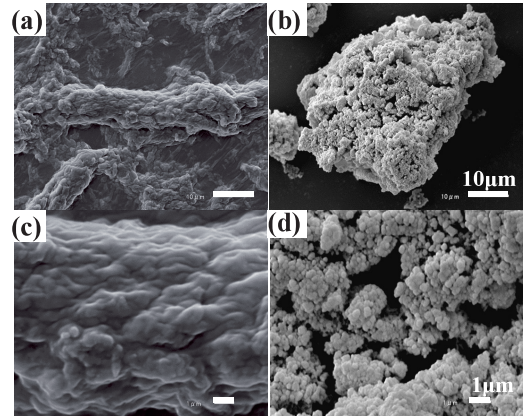


図3 鮭骨・皮由来コラーゲンとdp-HAp凍結乾燥粉末の微細構造 ((a),(c)コラーゲン;283K, (b),(d)dp-HAp;293K)

比(H/C)に依存し、結晶の配向性・凝集性、線維化が異なる複合粉末が得られた。283~293K、pH7.5~7.9で合成された低結晶性HAp-Cは、XRDとICPよりCa²⁺欠損型HAp、I型コラーゲンとゼラチンであった。図4にSEMによる283K合成のHAp-C凍結粉末の微細構造を示す^{11,12)}。H/C=1では柱状のコラーゲン線維、H/C=2.2と3.5ではフロック状凝集粒子が観察される。図5にそのHAp-C粉末のPSD曲線を示す。直径3~30nmの部分細孔容積は大きくマイクロ・メソ細孔が確認された。H/C値の増加に伴い細孔容積は減少した。比表面積(A_{SS})と全細孔容積(V_{TP})は、H/C=1.0で242m²・g⁻¹と0.790cm³・g⁻¹、H/C=2.2で178m²・g⁻¹と0.711cm³・g⁻¹、H/C=3.5(皮質骨や象牙質におけるアパタイトとコラーゲンの組成比に相当)で155m²・g⁻¹と0.382cm³・g⁻¹になった。図6と7に、293K合成のHAp-C凍結粉末の微細構造とPSD曲線を示す^{11,12)}。H/C=2.2で配向した柱状HAp粒子が認められ、H/Cの増加に伴い細孔容積は増加した。A_{SS}とV_{TP}は、H/C=2.2で16m²・g⁻¹と0.086cm³・g⁻¹、H/C=3.5で68m²・g⁻¹と0.543cm³・g⁻¹、dp-HApで202m²・g⁻¹と0.989cm³・g⁻¹になった。293K合成のHAp-C粉末の微細構造とPSD曲線の変化は、コラーゲンの変成近傍温度の合成による鮭皮由来コラーゲンの部分的ゼラチン化に起因している。

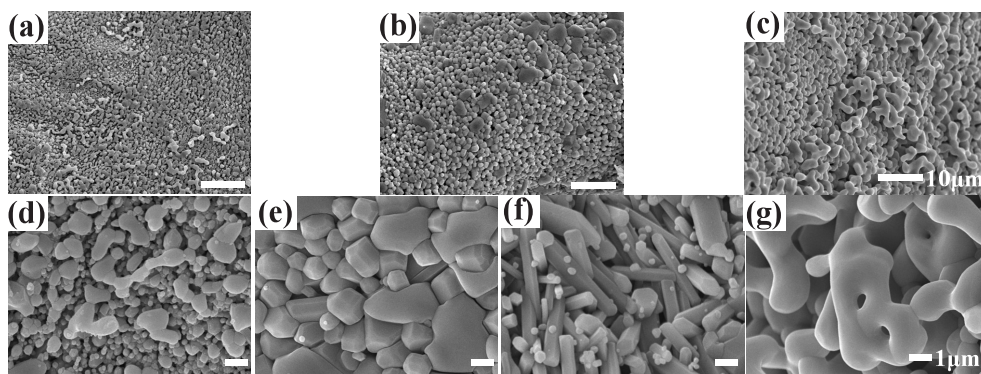


図2 鮭骨由来b-HApセラミックスの微細構造(空气中24h焼成, (a),(d)1073K, (b),(e),(f)1273K, (c),(g)1373K)

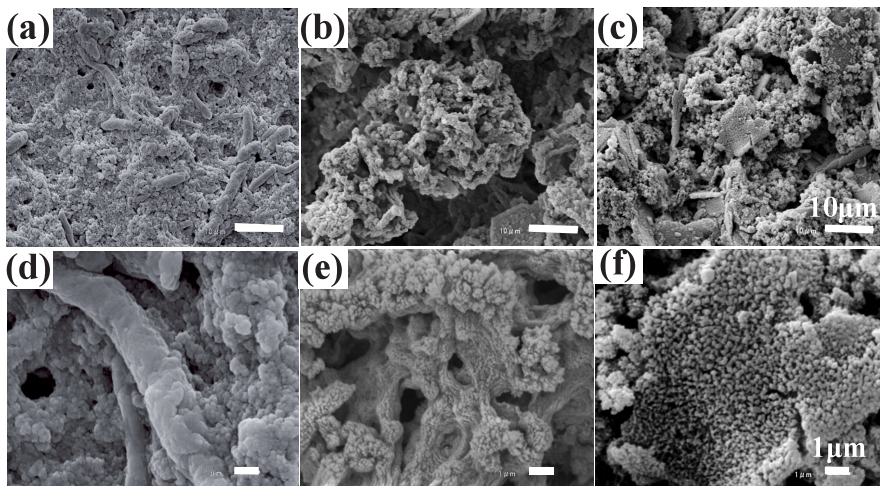


図4 鮭骨・皮由来HAp-C 凍結乾燥粉末の微細構造
 (合成温度283K, pH7.5-7.9, 24h, (a), (d)H/C=1, (b), (e)H/C=2.2, (c), (f)H/C=3.5)

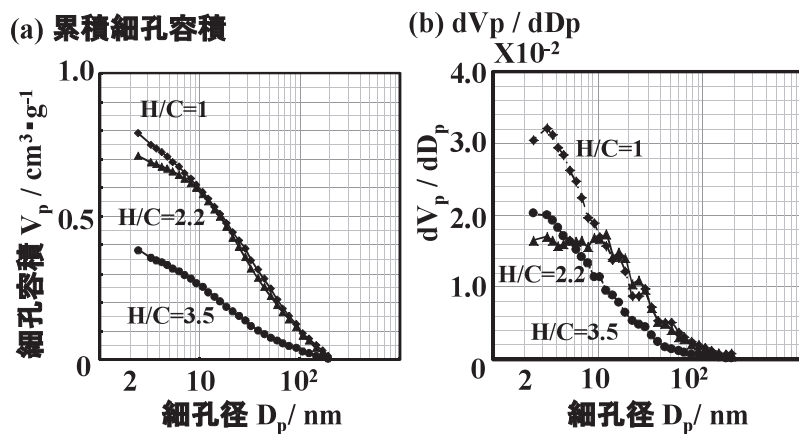


図5 鮭骨・皮由来 HAp-C 凍結乾燥粉末の細孔径分布曲線
 (合成温度283K, pH7.5-7.9, 24h, ■:H/C=1.0, ▲:H/C=2.2, ●:H/C=3.5)

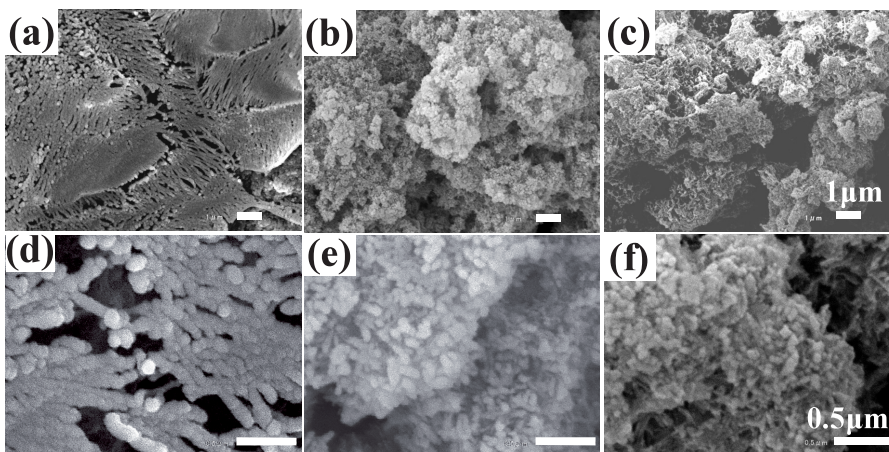


図6 鮭骨・皮由来 dp-HApとHAp-C 凍結乾燥粉末の微細構造
 (合成温度293K, pH7.5-7.9, 24h, (a), (d)H/C=2.2, (b), (e)H/C=3.5, (c), (f)dp-HAp)

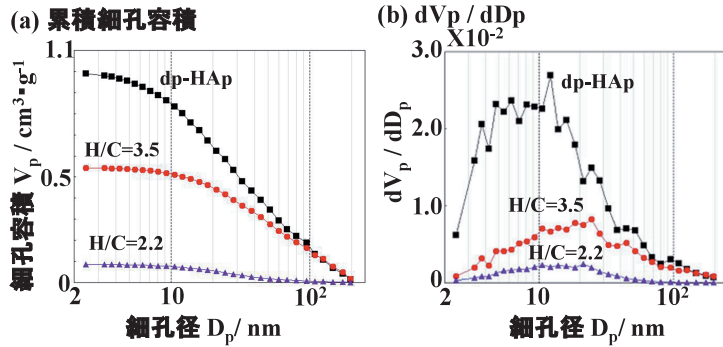


図7 鮭骨・皮由来 dp-HApとHAp-C 凍結乾燥粉末の細孔径分布曲線
(合成温度293K, pH7.5-7.9, 24h, ▲:H/C=2.2, ●:H/C=3.5, ■:dp-HAp)

3.3 HAp-C複合材料の水蒸気の吸着徐放特性

図8に本研究の合成粉末、市販化粧品粉末について、288Kにおける水蒸気の吸着徐放特性を示す^{11,12)}。各種粉末の重量は相対湿度80%の高湿環境に放置されると同時に7hまで急増し、20~40%の低湿環境に変換されると激減した。293K合成のH/C=2.2粉末は市販化粧品材料やヒアルロン酸粉末に比べ、重量増加率は大きく24hで86%に到達し、高湿から低湿への移行により約100hまで緩やかな重量減少が認められ、高い保湿率を示した。

図9に、HAp-C (H/C=2.2) 凍結乾燥粉末について、288K~308Kにおける水蒸気の吸着徐放特性を示す¹¹⁾。293K合成の粉末は、283K合成の粉末より重量変化率が顕著に高くなり、コラーゲンの部分的ゼラチン化と線維状配向の柱状粒子によって吸湿・保湿率の熱安定性が維持できることが分かった。恒温恒湿器内で試料の保持温度が高い場合の方が、コラーゲンの熱変性によって重量変化率は低くなる傾向がみられた。

試料の固液界面における水分子の吸着挙動を推測するため、気固系の水蒸気吸着等温線を測定した。図10に、293K合成のdp-HApとHAp-C粉末における298Kの水蒸気吸着等温線を示す^{11,12)}。全ての粉末について吸着・脱着工程で水蒸気吸

着量のヒステリシスが認められ、特に、H/C=2.2粉末の脱着過程では、相対圧0.45~0.60で不連続な吸着等温線が得られた。この不連続な曲線は、H/C=2.2粉末が水蒸気分圧に依存し材料表面で水分子を吸着するのみならず、材料内部に吸収する特性を持つことを示唆している¹²⁾。

水の単分子層吸着を意味する相対圧0~0.3での吸着量は、H/Cの減少に伴い、BET表面積の減少と対応して減少した。材料表面上で単分子層水分子の親和性を考察するため、親水性と疎水性の判定指標として、窒素吸着によるBET比表面積に対する水蒸気吸着によるBET比表面積の比率 ($R_{w/N}$) を計算した。コラーゲン含有量の増加に伴い、 $R_{w/N}$ の序列はdp-HAp(1.17) < H/C=3.5(1.67) < H/C=2.2(4.47)となり、親水性が向上することが明らかになった。

一方、固液界面の水分子の吸着挙動に近い、水蒸気の多分子層吸着を意味する相対圧0.70~0.90での吸着量は、dp-HApとH/C=3.5よりH/C=2.2の方が顕著に大きい値になった。これらの結果から、H/Cは気固や固液界面の境界膜の厚さと水分子の吸着強度に影響を与え、親水性表面を持つH/C=2.2粉末は固液界面で比較的厚い境界膜を形成し、水分子を強く吸着・吸収すると推察される¹²⁾。

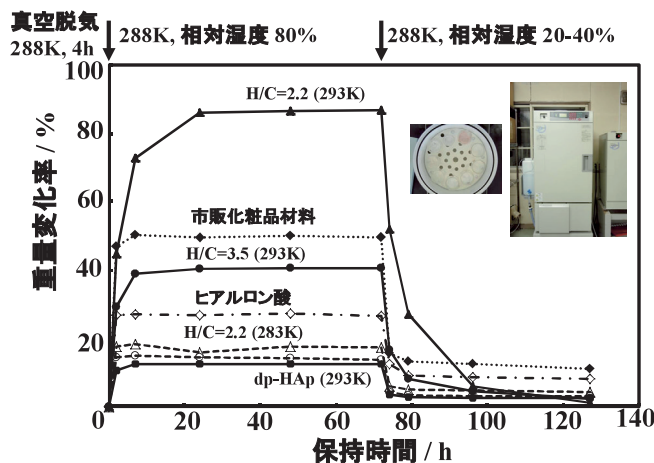


図8 各種粉末の水蒸気の吸着徐放特性

(保持温度288K, 相対湿度変化20-80%, ○:H/C=2.2(合成温度283K), ●:H/C=2.2(293K), △:H/C=3.5(283K), ▲:H/C=3.5(293K), ■:dp-HAp(293K), ◆:市販化粧品材料, ◇:ヒアルロン酸)

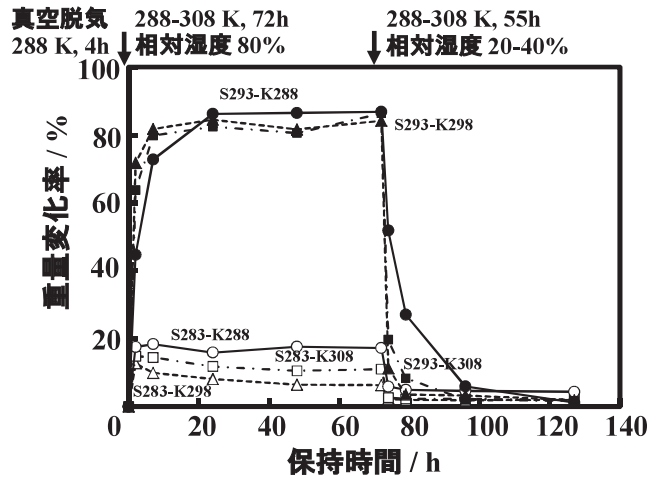


図9 HAp-C凍結乾燥粉末の水蒸気の吸着徐放特性

(●:合成温度293K, 保持温度288K (S293-K288), ▲:S293-K298, ■:S293-K308, ○:S283-K288, △:S283-K298, □:S283-K308)

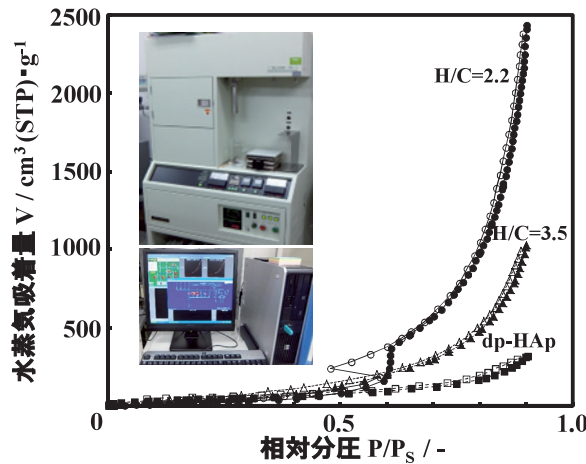


図10 鮭骨・皮由来 dp-HApとHAp-C 凍結乾燥粉末の水蒸気吸着等温線

(吸着温度298K, ○●:H/C=2.2, △▲:H/C=3.5, ■□:dp-HAp, ●▲■:吸着過程, ○△□:脱着過程)

3.4 HAp-C複合材料の生体組織適合性

293K合成のdp-HApとHAp-C粉末の生体組織適合性を評価するため、両粉末をラット背部皮下組織内へ埋入、摘出し、組織形態学的に観察した。図11に埋入2週後の典型的なH-E標本を示す^{8, 10, 12)}。両粉末では、コラーゲンは完全に吸収され、化膿性炎症はなくHAp粒子の表層に多核巨細胞浸潤が

観察されることから、良好な生体吸収性と生体親和性が確認された。生体組織環境では、dp-HAp粉末は特殊な細孔構造と化学的性質を有する生体活性表面を形成、多核巨細胞の導入と分化を誘導し、生体模倣性HAp-C粉末は、適度な蛋白質やサイトカイン吸着徐放性により優れた骨伝導性を示すと考えられる。dp-HAp粉末に比べて A_{SS} と V_{TP} が小さいH/C=3.5粉末では、組織体液がよく浸透した100~500 μm のHAp粒子が認められる。この組織体液の浸透は、HAp-C粉末が凝集しながら組織体液や血液を吸水する性質を意味し、吸収性止血材としての可能性が示唆された。

以上の結果から、道産鮭骨・皮由来HAp-C複合体は、H/C値、温度、pH等の析出条件の選定により、材料の表面構造と化学的性質を制御し、生体組織に適当な生体関連材料の設計が可能であり、化粧品原料、蛋白質の吸着、細胞の付着・増殖性に優れた吸収性生体模倣材料へ応用展開が期待される。

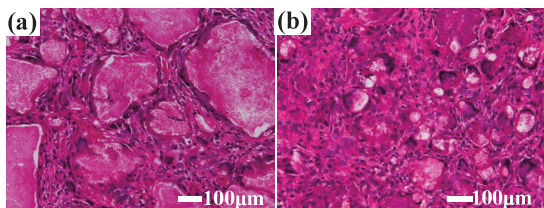


図11 ラット背部皮下組織内へ埋入、2週後摘出粉末のH-E標本写真 (293K合成, (a)H/C=3.5, (b)dp-HAp)

4. 結言

鮭骨・皮を原料としたHAp-C粉末を作製し、生体模倣材料の設計・制御技術を検討した結果、下記の結論が得られた。

- 1) b-HApは微量Na⁺、Mg²⁺含有Ca²⁺欠損型HApであり、焼成温度の上昇に伴い結晶性は向上、顕著な粒子成長が進行し、格子定数は六方晶系のa=0.942nm, C=0.688nmであった。
- 2) HApとコラーゲンの組成比(H/C)に依存して、凝集性、配向性、線維化、微細構造が異なるHAp-Cが得られた。
- 3) 283~293KとpH7.5~7.9合成のHAp-Cは、低結晶性Ca²⁺欠損型HAp、I型コラーゲンとゼラチンの複合体であった。
- 4) 293K合成では、H/C値の増加に伴い比表面積と全細孔容積は増加し、3~30nmの部分細孔容積は大きい値になった。
- 5) 288~308K保持の水蒸気の吸着徐放特性では、293K合成のH/C=2.2は、市販品に比べ吸湿率と保湿率が高く、優れた熱安定性を示した。
- 6) 298Kの水蒸気の吸着等温線では、吸着・脱着過程で水蒸気吸着量のヒステリシスがみられ、293K合成のH/C=2.2は親水性が強くなり、水蒸気吸着量が最高値を示した。
- 7) ラット背部皮下組織内への埋入では、多核巨細胞浸潤が認められ、293K合成のH/C=3.5は、100~500μmのHAp粒子内へ組織体液が浸透し、凝集性、生体吸収性が検証された。

以上より、道産鮭骨・皮由来HAp-Cは、優れた吸湿性、保湿性、生体適合性を有することから、組織再生や新陳代謝に有効な生体模倣材料として、再生医療現場、細胞工学、医薬学分野での研究、化粧品原料への応用が可能である。

引用文献

- (1) T. Kawakami, Y. Kuboki, J. Tanaka, S. Hijikata, T. Akazawa, M. Murata, R. Fujisawa, H. Takita, M. Arisue, Regenerative Medicine of Bone and Teeth -with special references to biological principles, problems and their indicators-, Journal of Hard Tissue Biology, Vol.16, No.3, pp.95-113, (2007)
- (2) 赤澤敏之, 村田勝, 伊東学, Phosphorus Lett., 生体模倣セラミックスの開発と骨再生工学, No.66, pp.4-13, (2009)
- (3) 赤澤敏之, 執行達弘, 野村隆文, 稲野浩行, 板橋孝至, 山岸暢, 中村勝男, 日高青志, 万城目聡, 三津橋浩行, 高橋徹, 村田勝, 長野二三, 田崎純一, 飯田俊二, 柏崎晴

彦, 大久保直登, 柴田智裕, 菊地雅彦, 歯のバイオリサイクル医療技術の開発と応用, 北海道立総合研究機構工業試験場報告, No.311, pp.51-59, (2012)

- (4) S. Yunoki, T. Suzuki, M. Takai, Stabilization of Low Denaturation Temperature Collagen from Fish by Physical Cross-Linking Methods, J. Bioscience and Engi., Vol.96, No.6, pp.575-577, (2003)
- (5) S. Yunoki, N. Nagai, T. Suzuki, M. Munekata, Novel Biomaterial from Reinforced Salmon Collagen Gel Prepared by Fibril Formation and Cross-Linking, J. Bioscience and Engi., Vol.98, No.1, pp.40-47, (2004)
- (6) 特許 第4064435号, コラーゲンゲルおよびその製造方法.
- (7) 井原慶児, 永井展裕, 柚木俊二, 森一生, 鮭皮コラーゲンのバイオマテリアル化技術の開発と商品化, 生物工学会誌, Vol.85, No.3, pp.126-131, (2007)
- (8) 赤澤敏之, 村田勝, 伊東学, 飯田俊二, 執行達弘, 野村隆文, 稲野浩行, 山岸暢, 中村勝男, 宮崎聡, プラスチック成形加工学会第19回秋季大会講演予稿集, p.61, (2011)
- (9) 赤澤敏之, 村田勝, 南田康人, 執行達弘, 野村隆文, 稲野浩行, 山岸暢, 中村勝男, 伊東学, 飯田俊二, 宮崎聡, 日本セラミックス協会2012年 年会講演予稿集, p.358, (2012)
- (10) Akazawa, T., Murata, M., Ito, M., Iida, S., Shigyo, T., Nomura, T., Inano, H., Yamagishi, T., Itabashi, K., Nakamura, K., Key Engi. Mate., Characterization of Bio-absorbable and Biomimetic Apatite/Collagen Composite Powders Derived from Fish Bone and Skin by the Dissolution-Precipitation Method, Vol.493-494, pp.114-119, (2012)
- (11) Akazawa, T., Murata, Nomura, T., Shigyo, T., Sakai, K., Minamida, Y., Kabir, A., Yamagishi, T., Iida, S., Ito, M., Nakamura, K., Miyazaki, S., Key Engi. Mate., Surface Design and Water Vapor-Adsorption Characteristics of Biomimetic Composite Materials Derived from Salmon Resource, Vol.529-530, pp.430-435, (2013)
- (12) 赤澤敏之, 村田勝, 伊東学, Phosphorus Lett., 動物骨の利活用と機能性誘導, No.76, pp.9-20, (2013)