

大学のWatersらによりFree-D systemを用いたHeartMate IIの駆動実験が報告され¹¹⁾、さらにTETの開発、実用化研究が盛んになると考えられるため、国内での今後の開発研究にも期待したい。

3. 国内の動向について

人工心臓開発における国内の動向については、2014年3月に新潟県湯沢町で開催された第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会で報告された研究を主に紹介したい。本学会は1971年に渥美和彦先生を中心に、当時人工心臓開発に係わる研究者有志により発足し、第42回を迎えた。今回は、参加人数300名を超える学術集会となった。本会では、国内の人工心臓研究者が一同に介して議論を行うため、国内の最新動向を最も反映している学会の1つである。

国内の人工心臓製品に関する話題としては、現在、唯一の国産メーカーであるサンメディカル技術研究所より、従来の60%にポンプサイズを小型化したEVAHEART IIの開発についての報告があった。東北大学で実施された動物実験で77日間の生存が得られたことと、実験期間中の血液生化学的結果が報告され、従来型のポンプと遜色のない性能が示された^{12),13)}。また、wedge thrombus防止を目的として、チタンメッシュで被覆された新規脱血管を開発し、本開発品を採用した初の臨床症例の報告がなされ、より安全なデバイスへの改良が行われていると思われる。

一方、基礎開発の領域においては、国立循環器病研究センターの研究が報告された。従来から三菱重工およびニプロと共同で開発が行われてきた動圧浮上型軸流型補助人工心臓を、体格の小さい患者(想定体重15~30 kg)にも使用可能な形状に改良した新規モデルの開発が実施されており、ポンプ翼形状の変更および流入ポートを回転軸に対し直角に配置するデザインを採用し、慢性動物実験の準備を進めている¹⁴⁾。また、同様の動圧浮上技術を採用したディスプレイザブルタイプの遠心ポンプの開発も進行している。本新規ポンプは、モータ部を含め直径65 mm、全長130 mm、重量630 gであり、プライミングボリュームは15 mlと超小型の血液ポンプである。本ポンプを組み入れたextracorporeal membrane oxygenation (ECMO) モデルによる慢性動物実験では、実験中のヘパリン投与などを行わずに1ヶ月の安定した駆動を実証し、現段階では体外式の左心補助システムとしても適用を拡大することを検討している¹⁵⁾。また、神戸大学山根らにより、ディスプレイザブルタイプの携帯型小型軸流血液ポンプの開発に関する報告がなされている¹⁶⁾。

茨城大学からは、増澤らにより、磁気浮上技術を用いて

左右心用の2つの遠心ポンプを単一の磁気浮上モータにより駆動する定常流全置換型人工心臓の開発や¹⁷⁾、乳幼児や小児に適用可能な小型補助人工心臓¹⁸⁾、ペースメーカーのように胸部皮下筋層に植込み可能な薄型補助人工心臓の開発が報告された¹⁹⁾。

東京大学からは、螺旋流完全人工心臓の制御方法に左心房の拍動性振幅を用いて、左心房圧を推定する新しい手法が提案され²⁰⁾、また、新規開発として、percutaneous cardiopulmonary support (PCPS) に使用するシーケンシャルフローポンプの開発が発表された²¹⁾。

東北大学山家らのグループでは、形状記憶合金を用いた補助循環デバイスで、フォンタン循環の補助を行う研究が進んでおり、新しい分野への展開が期待できる研究である^{22),23)}。

その他、人工心臓関連の技術としては、NIPRO-LVAS用の新規駆動装置として、より小型化、携帯性を重視した空気駆動装置を国立循環器病研究センター住倉らが開発している。本機は、従来収縮期比率が固定であったが、今回の報告によりdirect current (DC) サーボモータを応用することで、収縮期比率を変化させることが可能となり、より実用化に近づいていると考えられる²⁴⁾。

4. おわりに

現在、人工心臓関連の開発は、周辺機器の改良整備が主体で、ポンプ本体など主要部品の開発研究に関しては、一時期の勢いを失っているようにも感じられる。しかしながら、前述した本邦での種々の研究は、将来的に非常に有望な研究であり、臨床からのエビデンスに基づいた新しい情報を活用し、より安全で優れた機器が開発されることを期待したい。

本稿の著者には規定されたCOIはない。

文 献

- 1) Kirklin JK, Naftel DC, Pagani FD, et al: Sixth INTERMACS Annual report: A 10,000-patient database. J Heart Lung Transplant 33: 555-64, 2014
- 2) 医薬品医療機器総合機構: トラッキング医療機器のデータ収集評価システム構築に関する検討について. Available from: http://www.info.pmda.go.jp/kyoten_kiki/track.html
- 3) The CVC HeartBeat Team: Meet the longest living HeartMate II LVAD recipient. Available from: <http://uofmhealthblogs.org/cardiovascular/meet-the-longest-living-heartmate-ii-lvad-recipient/14560/>
- 4) Thoratec社 ホーム ページ: HeartMate II® Pocket Controller. Available from: <http://www.thoratec.com/medical-professionals/vad-product-information/pocket-controller.aspx>

- 5) Thoratec社ホームページ: プレスリリース. Available from: <http://phx.corporate-ir.net/phoenix.zhtml?c=95989&p=irol-newsArticle&ID=1943285&highlight=>
- 6) McGee E Jr, Chorpennig K, Brown MC, et al: In Vivo Evaluation of the HeartWare MVAD Pump. J Heart Lung Transplant 33: 366-71, 2013
- 7) Okamoto E, Tomoda K, Yamamoto, K, et al: Development of a Compact, Highly Efficient, Totally Implantable Motor-Driven Assist Pump System. Artif Organs 18: 911-7, 1994
- 8) 山本 隆彦, 越地 耕二, 名和 礼成, 他: 完全体内埋込型人工心臓駆動用経皮エネルギー伝送システムのEMC—in vivoにおける伝導性妨害波の評価・検討一. ライフサポート 17(Suppl): 175, 2005
- 9) Pennstate Hershey社ホームページ: Welcome to Penn State LionHeart. Available from: <http://www.pennstatehershey.org/web/lionheart>
- 10) Abiomed社ホームページ: Available from: <http://www.abiomed.com/products/heart-replacement/>
- 11) Waters BH, Smith JR, Bonde P: Innovative Free-Range Resonant Electrical Energy Delivery System (FREE-D System) for a Ventricular Assist Device Using Wireless Power. ASAIO J 60: 31-7, 2014
- 12) 山重 大樹, 高崎 映子, 白石 泰之, 他: 小型化した植込み型補助人工心臓Evaheart(2)の適用による内臓機能並びに溶血の評価. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 131, 2014
- 13) 高崎 映子, 山重 大樹, 白石 泰之, 他: 術後非抗凝固療法下での植え込み型補助人工心臓の循環における凝固能の評価. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 130, 2014
- 14) 築谷 朋典, 水野 敏秀, 武輪 能明, 他: 小柄患者にも埋込可能な補助人工心臓の開発. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 47, 2014
- 15) 築谷 朋典, 武輪 能明, 水野 敏秀, 他: 動圧軸受式遠心血液ポンプの左心補助循環システムへの応用. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 36, 2014
- 16) 山根 隆志, 北村 佳祐, 道脇 昭: BTD用携帯型軸流血液ポンプの開発. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p.35, 2014
- 17) 山田 悠, 増澤 徹, ティムズ ダニエル: 左右心流量バランス機能を有した全置換型磁気浮上人工心臓. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 91, 2014
- 18) 長 真啓, 増澤 徹, 大森直樹, 他: 乳幼児, 小児に適用可能な磁気浮上補助人工心臓の開発. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 48, 2014
- 19) 村上 倫子, 増澤 徹, 小沼 弘幸, 他: 薄型補助人工心臓の開発. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 93, 2014
- 20) 呉 昇原, 斎藤 逸郎, 磯山 隆, 他: 心房コンプライアンスの非線形を用いた, 螺旋流人工心臓の左心房圧推定. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 134, 2014
- 21) 原 伸太郎, 磯山 隆, 斎藤 逸郎, 他: 緊急生命維持装置のためのシーケンシャルフローポンプの開発. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 135, 2014
- 22) 三浦 英和, 山田 昭博, ハシム モハメドオムラン, 他: 形状記憶合金線維を用いた循環補助デバイスに対する経皮的電力伝送に関する検討. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 74, 2014
- 23) 白石 泰之, 山田 昭博, 坪子 侑佑, 他: TCPC逆流を減少させるパッシブアクティブ型循環補助装置開発の試み. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 148, 2014
- 24) 住倉 博仁, 大沼 健太郎, 本間 章彦, 他: DCサーボモータを応用した収縮期比可変小型空気圧駆動装置の開発. 第42回人工心臓と補助循環懇話会学術集会抄録集, p. 149, 2014

小児用人工心臓のための小型 5 軸制御セルフベアリングモータ

5-DOF Control Miniaturized Self-bearing Motor for Paediatric Ventricular Assist Device

長 真啓^{*1}(学生員), 増澤 徹^{*2}(正員), 大森 直樹^{*1}, 巽 英介^{*3}

Masahiro OSA (Stu. Mem.), Toru MASUZAWA (Mem.), Naoki OMORI, Eisuke TATSUMI

A novel 5-degrees of freedom (DOF) controlled magnetically levitated motor has been developed for paediatric ventricular assist device (VAD). The motor has a top stator, a bottom stator and a levitated rotor which is sandwiched by the both stators. A double self-bearing motor mechanism enhances a higher rotating torque production and realizes a 5-DOF active control of rotor postures. This paper investigated a magnetic suspension ability and rotation ability of two motors which are made of soft magnetic iron and powder magnetic core. The developed motor is 28 mm in diameter and 41 mm in height. The maximum energy efficiency is sufficiently increased from 46 % to 72 % by using the powder magnetic core motor, although the magnetic axial attractive forces are only slightly reduced by 10 % of the soft magnetic iron motor. The powder magnetic core motor has sufficient performance as an actuator of the paediatric VAD.

Keywords: 5-DOF, double self-bearing motor, paediatric, ventricular assist device.

1 緒言

機械的循環補助は心不全患者の増加とドナー不足の観点から心臓移植あるいは心機能回復への橋渡しとして成人患者に実践的に使用されている。小児患者の救命においても補助人工心臓の適用は有効であるが、解剖学的な制限から既存の補助人工心臓は 10 歳以上の小児にのみに埋め込まれているのが現状である。このため、小さな小児に適用可能な補助人工心臓の開発が望まれる[1-4]。小児用補助人工心臓には、①年オーダーの機械的寿命を持つこと、②血球破壊や血栓形成が少ないこと、③体内へ埋め込むため小型であることが要求される。機械的接触部分を持たない磁気浮上型人工心臓は、高い機械的耐久性と血液適合性を得られるため注目を浴びている[5-9]。近年では、ロータ姿勢の 1 から 3 自由度を能動制御する磁気軸受とモータ両方の機能を併せ持つセルフベアリングモータが開発され[10-14]磁気浮上モータの小型化が実現されている。本研究では、小児用人工心臓への適用を目的とした小型な 5 軸制御アキシアルギャップセルフベアリングモータを新規に開発している。本稿では、ステータコア材料が電磁軟鉄および圧粉磁心の磁気浮上モータを制作し、磁気支持、回転性能評価を行ったので報告する。

2 方法

2.1 5 軸制御セルフベアリングモータの構造

提案する 5 軸制御磁気浮上モータは永久磁石アキシアルギャップモータを用いたダブルステータ構造であるため高いトルクを得ることができる。Fig. 1 に 5 軸制御磁気浮上モータの概要を示す。本モータは、同一構造を有する 12 突極の上部ステータ、下部ステータにより浮上ロータを軸方向上下から挟み込む構造を採る。浮上ロータの軸方向両表面にはモータステータと向かい合うように軸方向に着磁された 8 極の回転用永久磁石が配置されている。ロータの 5 自由度 (Z , X , Y , θ_x , θ_y) を能動的に制御するために、上下モータステータの各突極に軸方向位置・回転制御用および傾き・径方向位置制御用の 2 種類のコイルを独立に配置して

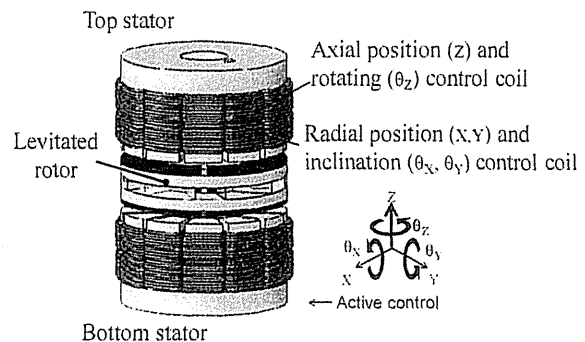


Fig. 1 Schematic of proposed 5-DOF control maglev motor

連絡先: 増澤 徹, 〒316-8511 茨城県日立市中成沢町 4-12-1, 茨城大学工学部機械工学科,
e-mail: masuzawa@mx.ibaraki.ac.jp

^{*1} 茨城大学

いる。浮上ロータに配置した回転用永久磁石とモータステータが発生する磁気支持・回転用の磁界のみを用いてロータの 5 軸制御と回転を行うため、磁気軸受や永久磁石軸受を追加する必要がなくモータを小型化することができる。

2.2 磁気浮上回転制御原理

2.2.1 軸方向位置および回転制御原理

本モータはベクトル制御を行うことで回転用磁界のみを用いて浮上ロータに軸方向支持力と回転トルクを独立に発生させる。Fig. 2 に軸方向支持力発生原理の概要を示す。回転用永久磁石が発生する磁界に対して、制御用電磁石により浮上ロータの上下のエアギャップのうち一方で磁界を強め、もう一方で磁界を弱める。これより、浮上ロータ上下に働く軸方向吸引力に不均衡が生じ、軸方向支持力が発生する。また、永久磁石と制御用電磁石により発生する磁界に位相差を与えることにより回転トルクが発生する。モータ突極の内径、外径を r_1 , r_2 とし、永久磁石の極対数を M 、回転用永久磁石の磁界 B_p と制御用電磁石の磁界 B_e との位相差を ψ とするとき、浮上ロータに働く軸方向支持力および回転トルクは以下の式で与えられる。

$$F = \frac{(r_2^2 - r_1^2)\pi}{\mu_0} B_p B_e \cos M\psi \quad (1)$$

$$T = \frac{\pi(r_2^2 - r_1^2)}{\mu_0} B_p B_e \sin M\psi \quad (2)$$

本式より、軸方向支持力および回転トルクはそれぞれ制御磁界の大きさと位相差により調節できる。これらを用いて浮上ロータの軸方向位置と回転を制御する。

2.2.2 傾きおよび径方向位置制御原理

本モータのロータ径方向位置および傾きの制御には $P \pm 2$ 極理論を採用する。本理論を用いるために回転用永久磁石の極数 P に対して傾き・径方向位置制御用コイルが発生する磁界の極数 E を $P \pm 2$ 極とする。Fig. 3 に y 軸回りの傾き復元トルクおよび x 軸方向の径方向磁気力の発生原理の説明図を示す。ロータに配置した永久磁石が 8 極、ステータが発生する制御磁界の極数が 6 極の場合について説明する。アキシヤルギャップモータに $P \pm 2$ 極理論を用いることにより、Fig. 3 (a) に示すような y 軸回りの傾き復元トルクが発生する。傾き制御磁界を B_t としたとき、浮上インペラに働く傾き復元トルクは次式となる。

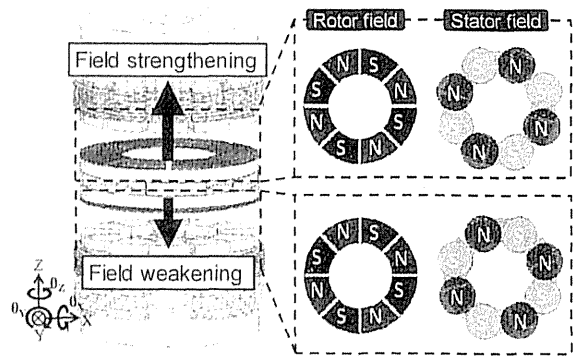
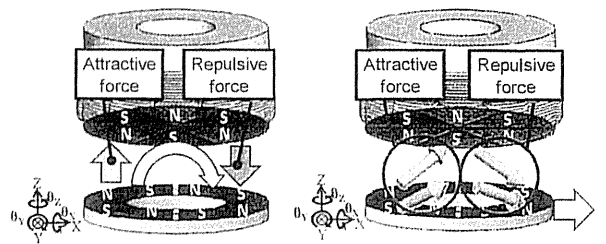


Fig. 2 Principle of axial position control



(a) Restoring torque production (b) Radial force production

Fig. 3 Principle of inclination and radial position control

$$F = \frac{(r_2^3 - r_1^3)\pi}{6\mu_0} B_p B_t \quad (3)$$

本式より、浮上インペラの回転角度によらず一定の傾き復元トルクを発生できることが分かる。傾き復元トルクの発生と同時に、 $P \pm 2$ 極理論に基づく磁極配置は Fig. 3 (b) に示すような吸引力と反発力を発生させる。これらの磁気力は径方向成分を含み、浮上インペラに径方向力が発生する。本モータは上下のステータにより傾き復元トルクと径方向力をそれぞれ調節することで、浮上ロータの傾きと径方向位置を独立に制御する。

2.3 浮上ロータの 5 軸制御方式

浮上ロータ 5 軸フィードバック制御系の説明図を Fig. 4 に示す。浮上ロータの X 軸、 Y 軸上に配置した渦電流変位センサ (PU-03A, 株式会社電子応用) を用いてロータ径方向位置を計測し、軸方向に三つ配置した渦電流変位センサを用いてロータ軸方向位置と径方向軸周りの傾き角度を計測する。ステータスロットに配置した三つのホールセンサ (HG-302C, 旭化成株式会社) を用いてロータ回転角度を検出する。各センサ出力信号からデジタル PID コントローラを用いて指令制御電流値を決定し、パワーアンプを介して上下ステータの各制御用コイルへ電流を印加することで、浮上ロータ 5 軸を制御する。

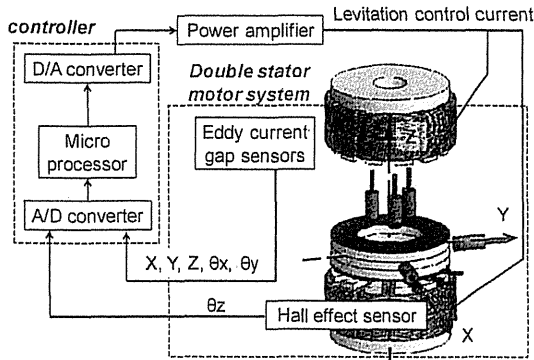


Fig. 4 Block diagram of 5-DOF control system

2.4 製作した磁気浮上モータ

小児用人工心臓の目標値をロータ回転数 4000 rpm, トルク 4 mNm において揚程 100 mmHg に対して流量 1.5 L/min を満たすことと決定し, 式(1)から式(3)を用いた理論解析および三次元数値磁場解析をもとに Fig. 5 および Fig. 6 に示す磁気浮上モータを製作した。モータ外径 28 mm, 高さ 41 mm である。ステータコア材料には, 小型モータ製作の簡単さから電磁軟鉄バルク材, ロータ回転に伴い生じる渦電流を抑制するために日立粉末冶金(株)モータ用高性能圧粉磁心材を使用した。軸方向位置・回転制御コイルと傾き・径方向位置制御コイルはそれぞれ 58 巻とした。ロータに配置した永久磁石は厚さ 0.7 mm, 保持力 960 kA/m, 残留磁束密度 1.18 T のネオジム磁石とした。

2.5 磁気浮上モータの性能評価実験

ステータコア材料を電磁軟鉄および圧粉磁心として製作した 2 種類の磁気浮上モータの軸方向の磁気支持性能および回転性能を評価するために, エアギャップ中の磁束密度分布, 軸方向力, 回転トルクと消費電力の測定を行った。本測定は一つのステータについて行い, 軸方向力測定以外のすべての測定におけるロータとステータ間のエアギャップ長さは 1.5 mm とした。

2.5.1 磁束密度測定

制御用コイルを励磁しない状態において, ロータに配置した永久磁石がエアギャップ中に発生させる磁束密度分布の評価を行った。Fig. 7 に磁束密度測定装置を示す。回転ステージによりモータを回転させ, ガウスメータを用いてエアギャップ中の磁束密度を電気角で 360 deg の角度間を 10 deg 間隔で測定した。

2.5.2 軸方向吸引力測定

エアギャップ 1.5 mm において, 制御用コイルへ与

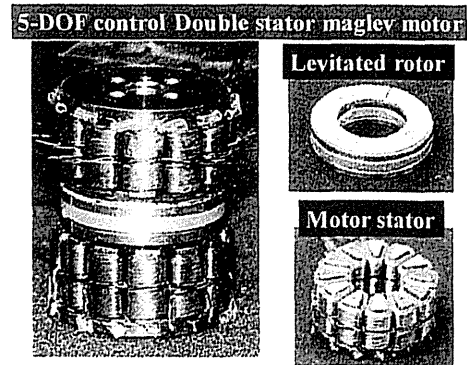


Fig. 5 Developed 5-DOF control maglev motor

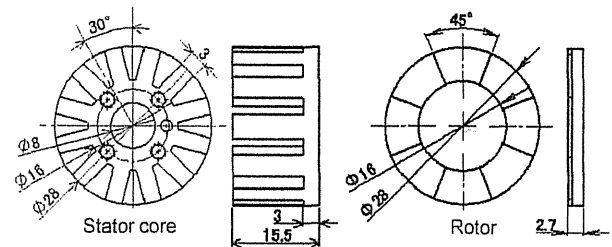


Fig. 6 Geometric parameters of developed maglev motor

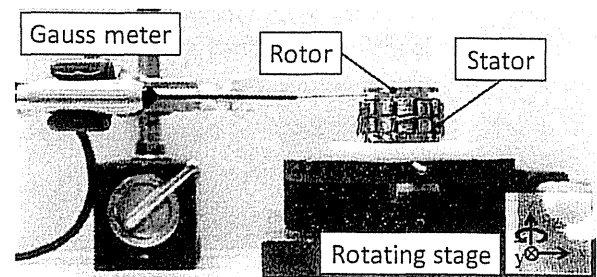


Fig. 7 Magnetic flux density measurement system

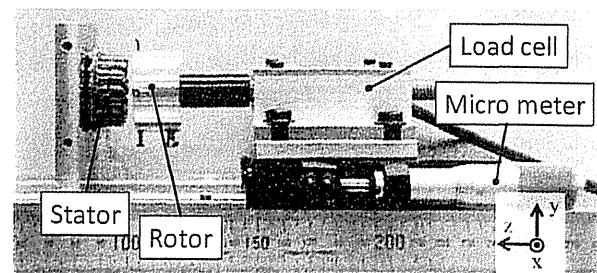


Fig. 8 Axial force measurement system

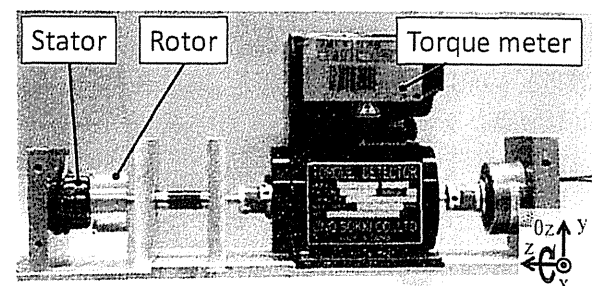


Fig. 9 Rotating torque and energy consumption measurement system

える励磁電流の波高値と位相差の変化に対してモータが発生する軸方向吸引力を測定した。また、ロータとステータ間のエアギャップを変化させたときのモータの軸方向吸引力を測定した。Fig. 8 に軸方向吸引力測定実験装置を示す。励磁電流の波高値を 0 A から 2 A とし、ロータ磁場とステータ磁場の電気角位相差を 0 deg から 180 deg まで変化させた。ロータとステータ間のエアギャップはマイクロメータを用いてステージを動かし 1 mm から 2 mm まで変化させた。

2.5.3 回転トルクおよび消費電力測定

ロータ磁場とステータ磁場の電気角位相差を 90 deg としてロータを回転させ、モータの発生トルクを変化させたときの消費電力の測定を行った。Fig. 9 に回転トルクと消費電力測定装置を示す。モータの回転トルクはヒステリシスブレーキにより負荷を調節することで変化した。ロータ回転数は PI 制御を用いて電流値を調節することで制御し、1000 rpm から 5000 rpm まで変化した。ロータ回転角度の検出は電気角 30 deg 間隔で行った。PI 制御に用いた比例ゲインは 0.5 mA/rpm、積分ゲインは 2.3 mA/(rpm・sec)とし、制御周波数は 10 kHz とした。測定した消費電力からモータ効率を計算し評価を行なった。

3 結果

3.1 磁束密度測定

エアギャップ中の磁束密度分布を Fig. 10 に示す。電磁軟鉄モータおよび圧粉磁心モータの磁束密度の最大値はそれぞれ、0.35 T、0.32 T であり、電磁軟鉄モータは圧粉磁心モータより 9 % 高い磁束密度となった。

3.2 軸方向吸引力測定

ロータ磁場と制御磁場との位相差の変化に対する軸方向吸引力変化の測定結果を Fig. 11 に示す。軸方向吸引力は励磁電流の波高値に比例して増加し、位相差の変化に伴い正弦波状に変化することを確認した。励磁電流 0 A における軸方向吸引力は、電磁軟鉄モータおよび圧粉磁心モータにおいて 5.6 N、5.3 N であった。励磁電流の変化に対する軸方向吸引力の変化量である力係数は電磁軟鉄モータおよび圧粉磁心モータにおいて 1.4 N/A、1.0 N/A であった。永久磁石の磁束により発生する軸方向吸引力、および力係数は電磁軟鉄モータの方が圧粉磁心モータより大きかった。Fig. 12 にエアギャップの変化に対する軸方向吸引力変化の測定結

果を示す。励磁電流 0 A における負のばね係数は、電磁軟鉄モータおよび圧粉磁心モータにおいて、それぞれ 6.9 N/mm、6.5 N/mm であった。

3.3 モータトルクおよび消費電力測定

製作した二種類の磁気浮上モータの発生トルクに対する消費電力およびモータ効率の変化を Fig. 13 に示す。電磁軟鉄モータおよび圧粉磁心モータともに最大回転数 5000 rpm 時に 10 mNm の回転トルクを発生可能であった。各モータの最高効率は、ロータ回転数 5000 rpm 時に電磁軟鉄モータでは 8 mNm において 46 %、圧粉磁心モータでは 6 mNm において 72 % であった。Fig. 14 に励磁電流の変化に対するモータ発生トルクの関係を示す。トルク定数は電磁軟鉄モータおよび圧粉磁心モータにおいて 15.2 N・mm/A、13.6 N・mm/A であった。

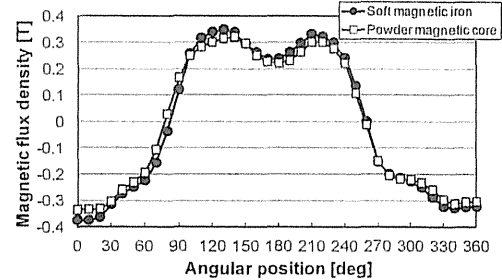
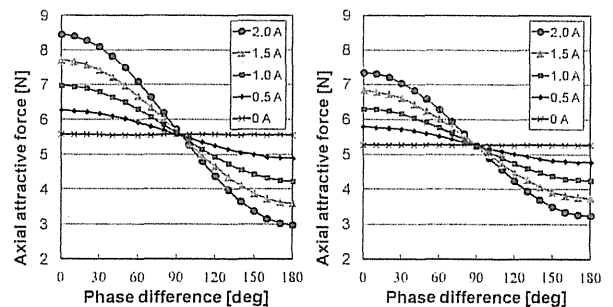
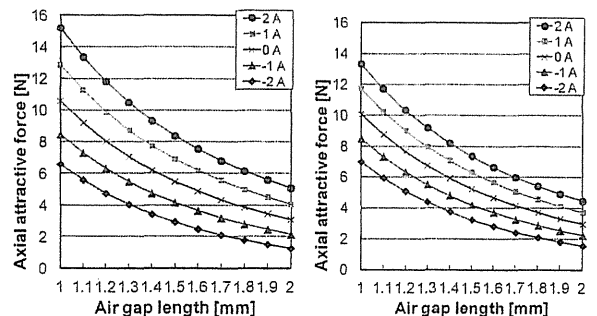


Fig. 10 Magnetic flux density distribution produced by the rotor permanent magnet



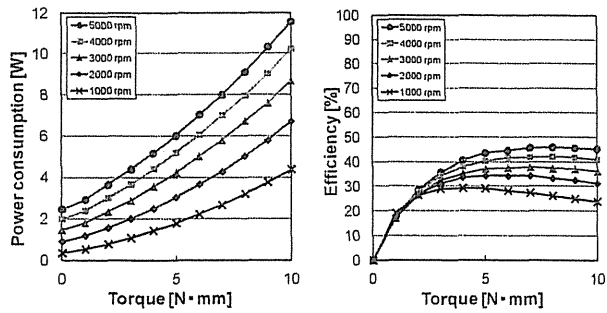
(a) Soft magnetic iron (b) Powder magnetic core

Fig. 11 Axial force and phase difference characteristics

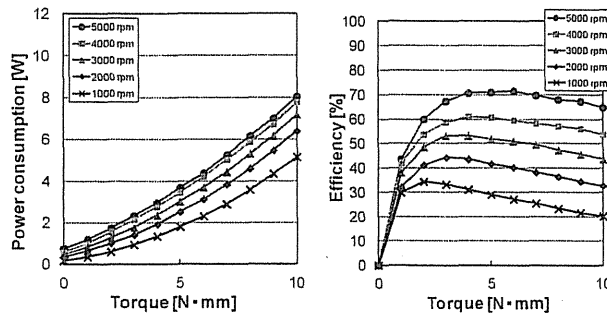


(a) Soft magnetic iron (b) Powder magnetic core

Fig. 12 Axial force and magnetic air-gap characteristics

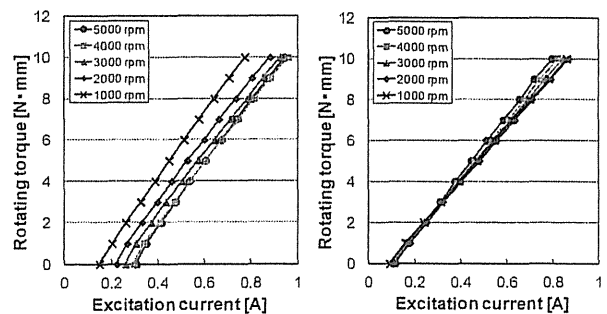


(a) Soft magnetic iron



(b) Powder magnetic core

Fig. 13 Power consumption and motor energy efficiency



(a) Soft magnetic iron

(b) Powder magnetic core

Fig. 14 Relationship between torque and excitation current

4 考察

永久磁石がエアギャップ中に発生する磁束密度は圧粉磁心モータの方が電磁軟鉄モータより低い値を示した。本点は、圧粉磁心材料の密度が 7.73 Mg/m^3 、電磁軟鉄バルク材料の密度が 7.87 Mg/m^3 であり、電磁軟鉄バルク材料と比較して鉄の充填度が小さい圧粉磁心材料では、透磁率が低くなるためであると考えられる。また、軸方向吸引力は磁束密度の大きさに比例するため、磁束密度の結果と同様に圧粉磁心モータは電磁軟鉄モータよりも低い軸方向吸引力を示した。しかし、軸方向吸引力の減少率はわずか 10 %であり十分ロータを磁気支持可能であると考えられる。

エアギャップの変化に対してモータが発生する軸方

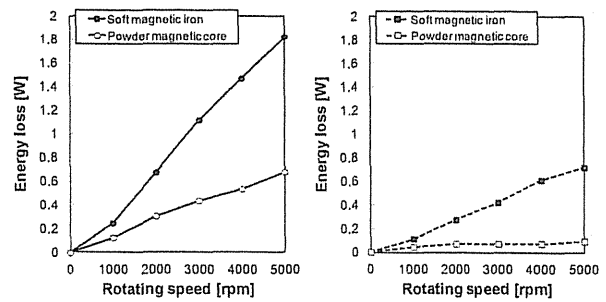


Fig. 15 Iron loss at no-load Fig. 16 Copper loss at no-load

向吸引力の変化の測定結果より、ロータ軸方向中心位置から電磁軟鉄モータは $\pm 0.4 \text{ mm}$ 、圧粉磁心モータは $\pm 0.3 \text{ mm}$ の範囲で上下ステータの軸方向吸引力を釣り合わせることができ、人工心臓に用いる磁気浮上モータとして十分な磁気支持性能を有しているものと考えられる。

モータの回転性能について、圧粉磁心モータはエアギャップ中の磁束密度が減少しトルク定数が 10 %程度低下したものの、小児用人工心臓に用いるモータの目標性能である回転数 4000 rpm、必要トルク 4 mNm を満たしており十分な回転性能を有していると考えられる。また、目標動作点において圧粉磁心モータは消費電力を 6 W から 3 W まで低減することができ、人工心臓として十分低い消費電力であると考えられる。本点は、圧粉磁心を用いることでステータコアに渦電流が流れにくくなり鉄損が減少すると同時に、銅損を低減できたためである。Fig. 15, Fig. 16 にロータ回転数に対する無負荷時の鉄損と銅損をそれぞれ示す。鉄損は入力電力と銅損の差から算出し、銅損はコイルの抵抗値と電流値から算出した。ロータの回転数増加に伴う鉄損の増加量は圧粉磁心において著しく減少する。これに付随して、鉄損を補いロータを回転させるために必要な電流による銅損も減少する。結果的に鉄損と銅損ともに減少することが分かる。

5 結言

小児用人工心臓のためのロータ 5 自由度を能動的に制御する小型なダブルステータ型アキシアルギャップセルフベアリングモータを新規に提案し、製作、評価を行った。ステータ材料に圧粉磁心を用いたモータは、電磁軟鉄を用いたモータと比較して磁気吸引力および回転トルクが 10 %低下したが、目標回転数 4000 rpm、発生トルク 4 mNm において消費電力を 3 W 低減でき、高効率なモータを実現可能であることを確認した。

遠心型ポンプと軸流型ポンプ

独立行政法人国立循環器病研究センター研究所人工臓器部

築谷 朋典

Tomonori TSUKIYA



1. はじめに

重症心不全患者のポンプ機能を代替する補助人工心臓は心臓移植までの繋ぎとして欧米で1980年代から使われ始めており、当初は、心臓の拍動を模した拍動流ポンプが用いられてきた。これはサイズが大きく小柄な日本人に植え込むことは困難であることが多く、より小型のポンプが切望されてきた。この要求に応えるべく、小型化が容易な連続流ポンプの開発が国際的に行われ、2000年代から実用化され始めた。連続流ポンプは拍動流ポンプに比べて著しい小型化が可能だけでなく、耐久性にも優れていることが明らかになり、急速に普及していった。日本でも、多くの研究者が連続流ポンプの開発を行っており、2011年4月からは国産2機種の内植込み型補助人工心臓が使用されるようになった。2013年4月からは、欧米で通算1万台以上も使用された実績を持つ補助人工心臓であるHeartMate II®(米国Thoratec社)が使えるようになった。このHeartMate II®は先行の国産2機種とは形状が大きく異なっていることに気づいた読者もいるかもしれない。どちらも連続流ポンプであるが、連続流ポンプには「遠心型ポンプ」と「軸流型ポンプ」という2つの形式があり、国産2機種は「遠心型」、HeartMate II®は「軸流型」である。「連続流ポンプ」として同様に扱われるこれらのポンプには、実は外観だけではない多くの違いが存在する。本稿では、この両者の違いを理解することを目的に、連続流ポンプの原理や構造に関して解説する。

■ 著者連絡先

独立行政法人国立循環器病研究センター研究所人工臓器部
(〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1)
E-mail. tsukiya@ncvc.go.jp

2. 人工心臓とは血液にエネルギーを与える機械

1) 液体のエネルギーとは

遠心型ポンプと軸流型ポンプの違いを理解するために、人工心臓が補助する対象である心臓のポンプ機能について考えることにする。体循環に血液を送る左心の働きを例にとると、

- ①心筋が弛緩して左心室が拡張し、左心房から左心室に血液が流入する。
- ②左心室が収縮をはじめ、左心室内の圧力が上昇する(等容性収縮)。
- ③左心室内の圧力が上昇し大動脈圧を超えると大動脈弁が開き、左心室がさらに収縮して血液が大動脈側に流出し、左心室内容積が減少する。
- ④血液が流出し、心筋が弛緩すると左心室内の圧力が低下し大動脈弁が閉鎖し、心室充満が始まる。

というサイクルで血液が全身へと流れる。これが心臓のポンプ機能であり、大動脈圧という高い圧力に負けないで血液を流すという働きをする。この一連の動作は、物理的には「血液にエネルギーを与える」ということである。

心臓の場合は、心室が収縮することによって心室の「圧力」を高めるのだが、血液の持つエネルギーには、このような圧力エネルギーの他にも、液体が流れる「速度」によって決まる運動エネルギーや、地上からの「位置」によって決まる位置エネルギーのようなかたちがある。例えば、開心術中の体外循環において、患者と貯血リザーバの高さの差を利用して血液を貯血リザーバへと流す落差脱血法は、位置エネルギーの差を利用して血液を流している。

理想的な液体では、血液の持つこれらの3つのエネルギーの状態はお互いへと変化することが可能だがその総和は一定である(ベルヌーイの定理)。式で書くと以下のよ

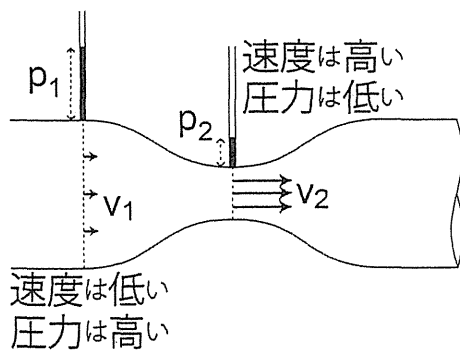


図1 圧力エネルギーと運動エネルギーの変化
狭い部分（添え字2）は広い部分（添え字1）の半分の直径であれば、断面積は1/4、速度は4倍、運動エネルギーは16倍になる。

うになる。

$$\frac{1}{2} \rho v^2 + p + \rho gh = \text{Const.}$$

(運動エネルギー) (圧力エネルギー) (位置エネルギー) 一定

ただし ρ は流体の密度、 v 流体の速度、 p 圧力、 h 高さ、 g 重力加速度とする。

例えば、図1に示すように途中で直径が変化する管の中を血液が流れている状態を考えてみる。管の直径が大きいところでは血液の速度 (v_1) は遅いが、直径が小さいところの速度 (v_2) は速い。仮に、小さい部分の直径が大きい部分の半分だと仮定すると、管路の断面積は1/4、すなわち流速 (v_2) は v_1 の4倍になる。運動エネルギーは式で書くと $\frac{1}{2} \rho v^2$ なので、流速が4倍になると、運動エネルギーは16倍にもなる。この場合、高さは同じため運動エネルギーの増加分だけ圧力エネルギーは低下する。圧力トランスデューサで計測してみると、この部分の圧力が低くなっているはずである。このように、エネルギーの形態は流れる状態によって変化するが、エネルギーの総和は状態が変わっても一定に保たれる。よって液体にエネルギーを与えるには、

- ① 心臓のように力を加えることによって圧力エネルギーを加える。
- ② 液体を加速して運動エネルギーを加える。
- ③ 高い位置に液体を運ぶことで位置エネルギーを与える。

これらいずれの方法でも液体にエネルギーを与えることが可能である。ただし、実際の血液には粘性とよばれる粘りがあるため、流れる途中にエネルギーを徐々に失う（圧力損失とも呼ばれる）。

2) 連続流ポンプの原理

連続流ポンプの内部では羽根車を高速で回転させること

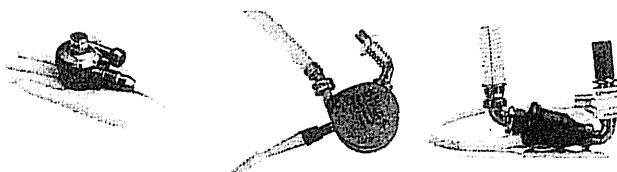


図2 日本で使用されている体内植込み型補助人工心臓
左：EVAHEART®, 中：DuraHeart®, 右：HeartMate II®。

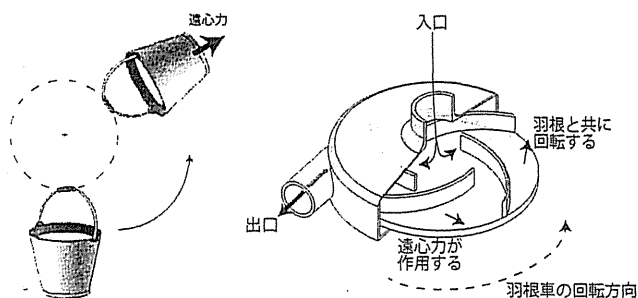


図3 回転するバケツ（左）と遠心型ポンプの羽根車（右）

によって血液に運動エネルギーが与えられ、血液を連続的に駆出することが可能になる。必要な回転速度は主に羽根車の直径により決まり、直径が小さければ回転数を高くする必要がある。

3) 遠心型ポンプと軸流型ポンプ

補助人工心臓として使用されている連続流ポンプは、その形状から大きく遠心型と軸流型という2種類のポンプに分類できる。2011年4月から日本で使用されているEVAHEART®（サンメディカル技術研究所）とDuraHeart®（テルモ）は遠心型、2013年4月から使用出来るようになったHeartMate II®（米国Thoratec社、国内販売はニプロ）は軸流型である。

外観上の特徴としては、遠心型ポンプは羽根車が円盤状であるため奥行きを持ち、中心に入口、端部に出口を持っている。一方、軸流型ポンプは細長い本体をもち、出入口がそれぞれ両端についている（図2）。

遠心型ポンプは、図3に示すように回転軸に垂直な円板上に、翼型を円形に並べた羽根車を持っており、以下のような原理で液体を輸送する。

- ① モーターが回転することにより羽根車が高速回転する。
- ② 羽根車の中の血液は、羽根とともに回転することによって運動エネルギーを与えられる。同時に、回転する液体には遠心力が作用する。（これは、水を入れたバケツを速く回転させると中の水がこぼれないことを経験した読者なら理解できるだろう。遠心力が外向きに作用していると考えれば説明できる。同様に、遠

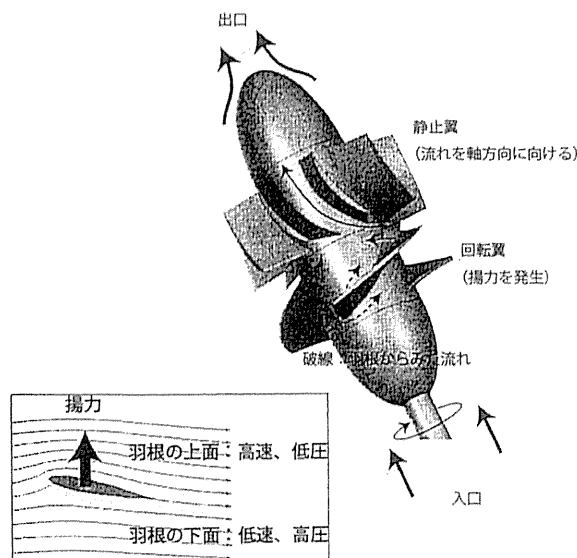


図4 軸流型ポンプの羽根車

心型ポンプでも遠心力によって外部の液体の圧力が上昇する。)

③上記の作用により、圧力が高くなった外周部に設けられた出口から高い圧力の血液が流出する。

④液体は圧力によって体積を変えないため(非圧縮性)、流出した分だけ中心部から羽根車に血液が流入することにより、中心から外周の出口に向かって連続的に血液が流れる。

一方、軸流型ポンプは円筒状の回転軸に放射状に羽根を並べた形状をしている(図4)。高速で回転する羽根が血液を回転させることは遠心型と同じである。羽根に乗って流れを見てみると、ちょうど飛行機の翼と同じように、血液が羽根の上下に分かれて通過するように見える。図4左下に示した飛行機の翼の例では、羽根の上下の形状がわずかに異なっており、羽根の上面の方が速く流れる。すなわち、速度エネルギーが大きくなっている。その分、羽根の上面では圧力エネルギーが小さくなり、下面の圧力の方が高くなるために、あのように巨大な機体をも飛行させることができるだけの揚力を発生させる。

一方、軸流型ポンプの場合には羽根が羽根車に固定されており、羽根に作用する揚力によって羽根は下方向には動かず、その反作用として血液の方に上向きの力がかかる。この力を駆動力として血液が圧力に逆らって出口の方に流れる。これが軸流型ポンプの原理である。羽根を通過した血液は強く旋回しているので、ディフューザとよばれる静止翼列を通過させることによって、流れを出口の方向に変える必要がある。このような構造なので、軸流型ポンプで

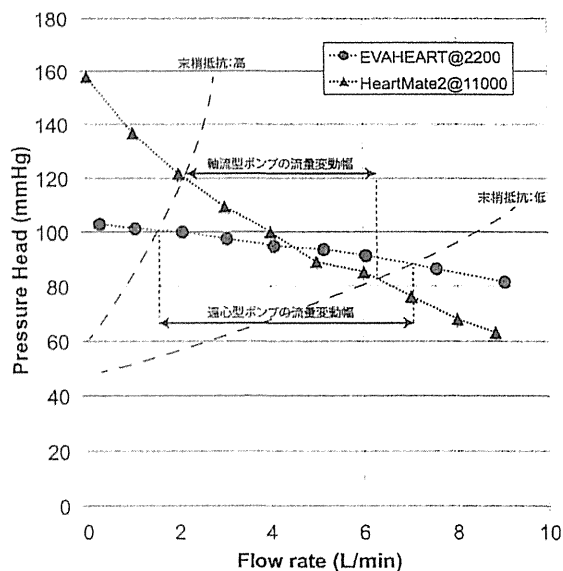


図5 遠心型ポンプと軸流型ポンプの特性曲線

は出入口が一直線上に存在することになる。軸流型ポンプは遠心型ポンプよりも直径を小さくできる利点がある一方で、必要とする回転数は高くなる。

人工心臓としての機能は、もちろんどちらの型式でも実現可能である。では、遠心型ポンプと軸流型ポンプには性能面で明らかな差があるだろうか。

連続流ポンプは同じ回転数で運転していても、血液を流している回路(人工心臓の場合は末梢循環)の状態によって運転条件(流量と圧力)が変化する。よって、ポンプの性能を示すときには、ある一定回転数のもとで流量と圧力の関係、すなわち特性曲線を使用する。例として図5に遠心型ポンプ(EVAHEART®)と軸流型ポンプ(HeartMate II®)の特性曲線の例を示す。EVAHEART®は2,200 rpm²⁾、HeartMate II®は11,000 rpm³⁾での特性曲線である。特性曲線よりどちらも流量5.0 l/minのときに約90 mmHgの圧力を発生できることがわかる。EVAHEART®のような遠心型ポンプは、流量が変化しても発生圧力があまり変化しないのに比べ、HeartMate II®のような軸流型ポンプは流量に対する圧力の変化幅が大きい。この特性曲線の違いから、回路の変動(末梢抵抗の変化)に対する流量の変化幅は遠心型ポンプの方が軸流型ポンプより大きくなることがわかる。図5では、末梢抵抗が高い状態から低い状態へと変化した場合、軸流型ポンプの流量は約2.0 l/minから6.0 l/min強へと変化するのに対し、遠心型ポンプの流量は約1.5 l/minから7.0 l/minまで変化する。また、補助人工心臓は左心室に脱血管を挿入して運転されており、左心室に拍出能力がある程度残っている場合には、収縮に合わせてポン

プの流量は増加し、拡張に合わせて減少するが、この変化の幅も特性曲線に応じて決まる。すなわち、特性曲線が平坦な遠心型ポンプは、特性曲線が急峻な軸流型ポンプに比べて、条件の変化に伴う流量変化量が大きいといえる。同程度の心機能が残存している患者に補助人工心臓を装着したときに計測される流量変動の振幅の差は、主にこの特性曲線の差に起因している。

さて、体内に植え込む人工心臓としてはどちらが適しているのだろうか。人工心臓は産業用のポンプと比べてサイズが非常に小さい。遠心型ポンプを例にすると、産業用ポンプの羽根車の直径は数十cmから大きなものでは数mにも達する。人工心臓用ポンプの羽根車は現在使用されているもので5cm以下である。このサイズでは、液体の粘っこさ(粘性)の効果が大きく出るようになる。大きなポンプで水飴のようにドロドロした液体を流すようなもので、こうなると、エネルギー効率がとても低くなり、理論上発生するはずの圧力は出にくくなる。この効果はポンプが小さくなればどんどん顕著になる。現状とは矛盾しているようだが、エネルギーを有効に利用するという観点からは、人工心臓としては遠心型ポンプも軸流型ポンプもどちらも理想的ではない、というのが答えとなろう。しかしながら、小型化によって体内植え込みが可能となる利点は何物にも替えがたく、血液を安全に流すための多くの工夫によって、今では安全に使用されている。軸流型ポンプは直径が小さいので回転数が極めて高くなり、血球を著しく破壊し血液ポンプには向かないと直感的に思われていたが、1990年にWamplerらによって提唱されたHemopump⁴⁾の出現によりその有効性が初めて実証された。この軸流型ポンプは、鼠径部から下行大動脈の内部へ超細径軸流型ポンプを挿入し、流入部のみ左心室内に挿入する方式で、心原性ショック状態の救命などの目的で一時的な循環維持を行うものであったが、回転数は約20,000 rpmと高速であるにもかかわらず臨床使用可能であったことは、医師のみならず当時の多くの研究者に大きな衝撃を与えた。現在では米国Abiomed社のImpella[®]という超小型軸流ポンプが同様の使い方をするポンプとして使用されている。このように、工学的な設計法からは困難であると考えられる形状であっても、その特徴を最大限利用した様々なデバイスが開発されてきた。

3. 神様にはかなわない

産業用ポンプの世界で約100年にわたって築かれてきたポンプ設計理論に従って、補助人工心臓としての駆動条件に最適な形状を算出すると、連続流ポンプは不利で、いわ

ゆる往復動ポンプ(ピストンポンプ)が適しているという領域に入る。生物の心臓がエネルギー的な理由からポンプとして最適な形状に進化したのかどうかはさておき、血液ポンプとしての心臓が工学的にみても往復動ポンプの領域にあることは驚きである。残念ながら、植込み型補助人工心臓として開発されてきた拍動型ポンプは、サイズおよび耐久性の面で限界があり、現在ではほとんど使用されなくなった。現在では、超小型連続流ポンプの出現により、成人患者を対象とした体内植込み型補助人工心臓が普及した。その成功により、乳幼児にも使用可能な人工心臓、あるいは血管内に挿入し部分的な流量補助を可能とする人工心臓など、さらに小型化したポンプに対する要求がますます高まっている。人工心臓をさらに小型化することのメリットは計り知れないものがあるが、小型化すればそれだけ液体の粘性に起因して効率が著しく低下することになる。小児患者では、流量は低いが高圧は成人とさほど変わらず、ポンプが出すべき圧力は大人と変わらないことを考えると、小型化すればさらに回転数を上げる必要がある。人工心臓の開発に関わる者としては、連続流ポンプという形式には工学的にみて小型化に限界があることも忘れずにおきたいと考えている。そろそろ連続流ポンプ以外の新しい型式のポンプを開発するべき時期に来ているのかもしれない。

4. 参考書の紹介

最後に、より詳しい情報を必要とされる読者のために、連続流ポンプに関する参考書を以下に示す。

1) 流体力学入門書

①武居昌宏：マンガでわかる流体力学。オーム社、東京、2009

②小峯龍男：よくわかる最新流体工学の基本。秀和システム、東京、2006

2) ターボポンプの設計論

③ターボ機械協会編：ターボ機械入門編。日刊工業新聞社、東京、2005

④ターボ機械協会編：ターボポンプ新改訂版。日刊工業新聞社、東京、2011

産業用ポンプの設計者向けに書かれた入門書であるが、実務者が対象であることもあり、設計理論、運転上の問題とその対策に至るまで詳しく解説されている。

⑤Gulich JF: Centrifugal Pumps. Springer, Berlin, Heidelberg, 2010

遠心型ポンプの設計理論について、極めて詳細に書か

れた専門書であり、遠心型ポンプに関わるほぼ全ての事項が網羅されている。約1,000頁の大書。

3) 人工心臓の解説書

- ⑥ 日本人工臓器学会編：人工臓器は、いま：暮らしのなかにある最先端医療の姿。 はる書房，東京，2012
人工心臓をはじめ，あらゆる人工臓器について分かりやすく解説した入門書。
- ⑦ Kormos RL, Miller LW, ed: Mechanical Circulatory Support: A Companion to Braunwald's Heart Disease. Elsevier Saunders, Philadelphia, 2012
- ⑧ Joyce DL, Joyce LD, Loebe M, ed: Mechanical Circulatory Support: Principles and Applications. McGraw-Hill Companies, New York, 2012
両者とも人工心臓の歴史と最新のデバイスにいたるまでの詳細な説明を掲載している。特に後者ではデバイス毎の項目が掲載されており，各デバイスの内容を理解するのに適している。

本稿の著者には規定されたCOIはない。

文 献

- 1) Kirklin JK, Naftel DC, Kormos RL, et al: Fifth INTERMACS annual report: risk factor analysis from more than 6,000 mechanical circulatory support patients. J Heart Lung Transplant 32: 141-56, 2013
- 2) Yamazaki K, Saito S, Kihara S, et al: Completely pulsatile high flow circulatory support with a constant-speed centrifugal blood pump: mechanisms and early clinical observations. Gen Thorac Cardiovasc Surg 55: 158-62, 2007
- 3) Thoratec Corporation: HeartMate II® Left Ventricular Assist System Instruction for Use. Available from: http://www.thoratec.com/_assets/download-tracker/106020_E_-_HeartMate_II_Pocket_IFU_NA.pdf
- 4) Frazier OH, Wampler RK, Duncan JM, et al: First human use of the Hemopump, a catheter-mounted ventricular assist device. Ann Thorac Surg 49: 299-304, 1990

Acceleration of robust “biotube” vascular graft fabrication by in-body tissue architecture technology using a novel eosin Y-releasing mold

Yasuhide Nakayama, Takahiro Tsujinaka

Division of Medical Engineering and Materials, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishiro-dai, Suita, Osaka 565-8565, Japan

Received 25 June 2012; revised 28 March 2013; accepted 6 June 2013

Published online 2 August 2013 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/jbm.b.32999

Abstract: A novel eosin Y-releasing mold was designed to accelerate the fabrication of *in vivo* tissue engineered autologous vascular prosthetic tissues, called the “biotubes.” The mold was prepared by addition of an aqueous solution of eosin Y (1~6 w/v%) to the agar gel (0.3%), which was attached to the luminal surface of the microporous acrylate tube (diameter, 5 mm; length, 28 mm; pore size, 0.5 mmφ). The eosin Y release period was controlled by the number of pores (3~160). On embedding the molds into dorsal, subcutaneous pouches of rats for 1 week, completely encapsulated biotubes, mainly consisting of collagen, with thick walls ($418.2 \pm 173.4 \mu\text{m}$) and robust mechanical properties (elastic modulus, $956.2 \pm 196.5 \text{ kPa}$; burst pressure $5850 \pm 2383 \text{ mmHg}$) were formed. These values were, respectively,

more than 4.3, 3.8, and 5.6 times greater than the corresponding controls (acrylate rods). The high elastic modulus of the biotubes was obtained even with a small number of micropores (3), and a low concentration of eosin Y (1%) within a very short embedding period (5 days), irrespective of rat weights. This innovative method for rapid production of vascular grafts with thick walls and robust mechanical properties may be adaptable for the sub-emergency clinical use of biotubes in regenerative medicine. © 2013 Wiley Periodicals, Inc. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*, 102B: 231–238, 2014.

Key Words: eosin Y, biotube, vascular grafts, tissue formation, *in vivo* tissue engineering

How to cite this article: Nakayama Y, Tsujinaka T. 2014. Acceleration of robust “biotube” vascular graft fabrication by in-body tissue architecture technology using a novel eosin Y-releasing mold. *J Biomed Mater Res Part B* 2014;102B:231–238.

INTRODUCTION

Conventional grafts, such as Dacron or expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE), have shown clinically satisfactory durability; however, they have several disadvantages, such as thrombogenicity; late stenosis and occlusion from intimal hyperplasia especially in small caliber grafts; susceptibility to infection; and lack of growth potential. The ongoing search for the ideal graft has sought to overcome these limitations through the development of various tissue-engineered vascular grafts and the reporting of their clinical utility. In such grafts, biodegradable polymers^{1–3} or decellularized biomaterials^{4,5} are commonly used as scaffolds to enable host cells to rebuild the vessel architecture; autologous cell seeding and culturing within bioreactors before *in vivo* placement is usually necessary to improve their antithrombogenicity and performance.

In an alternative approach, autologous tubular tissues, called biotubes, were developed through the application of *in-body* tissue architecture technology. These structures were evaluated for use as small-caliber vascular grafts (diameter, 1.5~3 mm) in animal experiments, where the biotubes were demonstrated to be able to withstand aortic pressures (burst pressure, ~1000 mmHg).⁶ This technology

is advantageous because the prostheses do not induce immunological rejection, exhibit nontoxic biocompatibility, and might adapt to the recipient's growth. In addition, these tissue prostheses can be fabricated in a wide range of shapes and sizes to suit each individual recipient. Most importantly, neither complex *in vitro* cell management nor special aseptic laboratory facilities are required, which are both expensive and time consuming.

Recently, this technology was applied to the development of heart valve tissues, with or without stents for transcatheter valve implantation. However, the wall thickness of the biotubes formed within the subcutaneous space was less than 100 μm , even after several months of embedding using the classical preparation molds.⁷ The wall thickness of the biotubes was found to be somewhat controlled by the type and surface chemistry of the materials used in the molds. Previously, in order to accelerate the fabrication of biotubes, novel, wing-attached rod molds were designed for the tissue rolling process.⁸ By using such molds, wall structures with functions similar to those of native arteries were acquired within 4 weeks, even though a 2-step *in vivo* tissue incubation process was required. In an alternative method, a novel drug-coated mold was designed using nicotine as a

Correspondence to: Y. Nakayama (e-mail: nakayama.yasuhide.ri@mail.nccvc.go.jp)

Contract grant sponsor: Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan

model drug⁹ due to its physiological angiogenic activity.¹⁰ Nicotine was applied to the mold surface in a thin gelatinous matrix, using a photocurable gelatin, and tissue formation and rich angiogenesis in the biotubes were accelerated. After having embedded the nicotine-coated biotubes for 2 weeks, burst strengths of about 2700 mmHg were obtained.

The *in-body* tissue architecture technology is depend on tissue capsulation phenomenon, which is one of normal body defense mechanisms, induced by trivial stimulation such as very weak inflammation reaction against the material surface. Therefore, we estimated that the release of chemicals with little positive physiological activity also might have potential of acceleration of biotube preparation. According to the strategy eosin Y was selected as a model chemical. There is little report on eosin Y about the physiological activity of tissue formation or angiogenesis. Our urgent goal on the biotube development is shortening of preparation period of biotubes with thick and strong tissue walls in less than 1 week, suitable for sub-emergency cases.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of an Eosin Y-eluting Mold

Eosin Y-eluting molds were prepared, according to the schematic diagram shown in Figure 1, using 3 kinds of acrylate parts, including a tube (outer diameter, 5 mm; wall thickness, 0.5 mm; length, 24 mm) with micropores (diameter, 0.5 mm; number of pores, 3–160 per mold, 0 for control), a rod (diameter, 2 mm; length, 24 mm), and 2 caps (diameter, 5 mm; length, 4 mm). The various acrylate parts were prepared using a three-dimensional inkjet printing system (Project HD3000, 3D Systems, SC). A cap was connected to one end of the acrylate rod and the rod was inserted into the center of the lumen of the microporous acrylate tube (Figure 1, step 1). The aperture space between the tube and the rod was filled with agar (0.3%) (Figure 1, step 2). After room-temperature gelation of the agar, the rod was removed (Figure 1, step 3). The cylindrical space formed at the center of the agar gel was filled with a phosphate buffered saline (PBS) solution containing eosin Y (Figure 2, concentration, 0.5–6%, 0% for control, Wako Pure Chemicals, Osaka, Japan), and the other end of the tube was capped (Figure 1, step 4). As a control, an acrylate rod, without micropores or eosin Y was used.

Biotube preparation

The acrylate molds, with or without eosin Y, were surgically embedded into dorsal, subcutaneous pouches of anesthetized Wistar rats ($n = 40$; weight range of 100–300 g). In each rat, four rods from the same group were embedded (at least $n = 6$ for each point in Figure 5). Anesthesia was induced by isoflurane (Nissan Chemical Industries, Tokyo, Japan; concentration, 1.5%, in oxygen; flow, 500 mL/min). After predetermined periods, 3 days to 2 weeks, the molds were harvested, with the surrounding capsular tissues, to obtain the biotubes.

All animal experiments were acute experiments performed under aseptic conditions in compliance with the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animal*, published

by the US National Institutes of Health (NIH Publication No 88-23, revised 1996). The research protocol (No. 12002) was approved by the ethics committee of the National Cardiovascular Center Research Institute (Osaka, Japan).

Measurement of eosin Y release

The amount of eosin Y released from the microporous molds was determined spectrophotometrically. After immersing the acrylate molds into a saline solution (100 mL), absorbance of the solution was measured at predetermined times, using a UV/visible light spectrophotometer (UV-1700, Shimadzu, Kyoto, Japan) at a wavelength of 518 nm.

Histological examination

Recovered biotube specimens were fixed in a 10% formalin solution and embedded in paraffin. For histological evaluations, the embedded tissue was thin-sectioned (3–5 μ m) for routine hematoxylin and eosin staining. Some histological sections were stained with either Masson's trichrome stain for collagen or with elastica-van Gieson stain for elastin.

Measurement of elastic modulus

The elastic modulus of the biotubes was examined using a custom designed tensile tester. Tubular samples were cut circumferentially and opened. Tissue specimens, 10 mm \times 10 mm, were tested under humid conditions. The load was recorded until the samples ruptured, with a tissue-extension rate of 0.05 mm/s. Elastic modulus values were obtained from the maximum slope of the deformation-force relationships.

Statistics

Results were expressed as the means of at least six tests and the standard errors of the mean were also calculated.

RESULTS

Release character of eosin Y

The water solubility of Eosin Y allowed it to easily penetrate the highly water-swelled agar gel, coloring the internal volume of the acrylate tube red (A and B in Figure 1). In the absence of the acrylate tube, an initial burst release of eosin Y occurred upon immersion of the colored agar into a PBS solution (Figure 3A); the microporous tube covering the gel restricted the release of the dye. Irrespective of the number of micropores in the tube, eosin Y was released almost linearly up to about 50% of the initial dye content (Figure 3A). The release rate, determined by the initial slope of the release curve, increased as the number of micropores increased (Figure 3B). The period over which the release of the dye occurred could be controlled by the number of micropores: the higher the number of micropores, the shorter the length of the estimated release period (Figure 3C).

Preparation of biotubes

When the acrylate molds, as controls, were embedded into the subcutaneous pouches of rats for 1 week, the molds

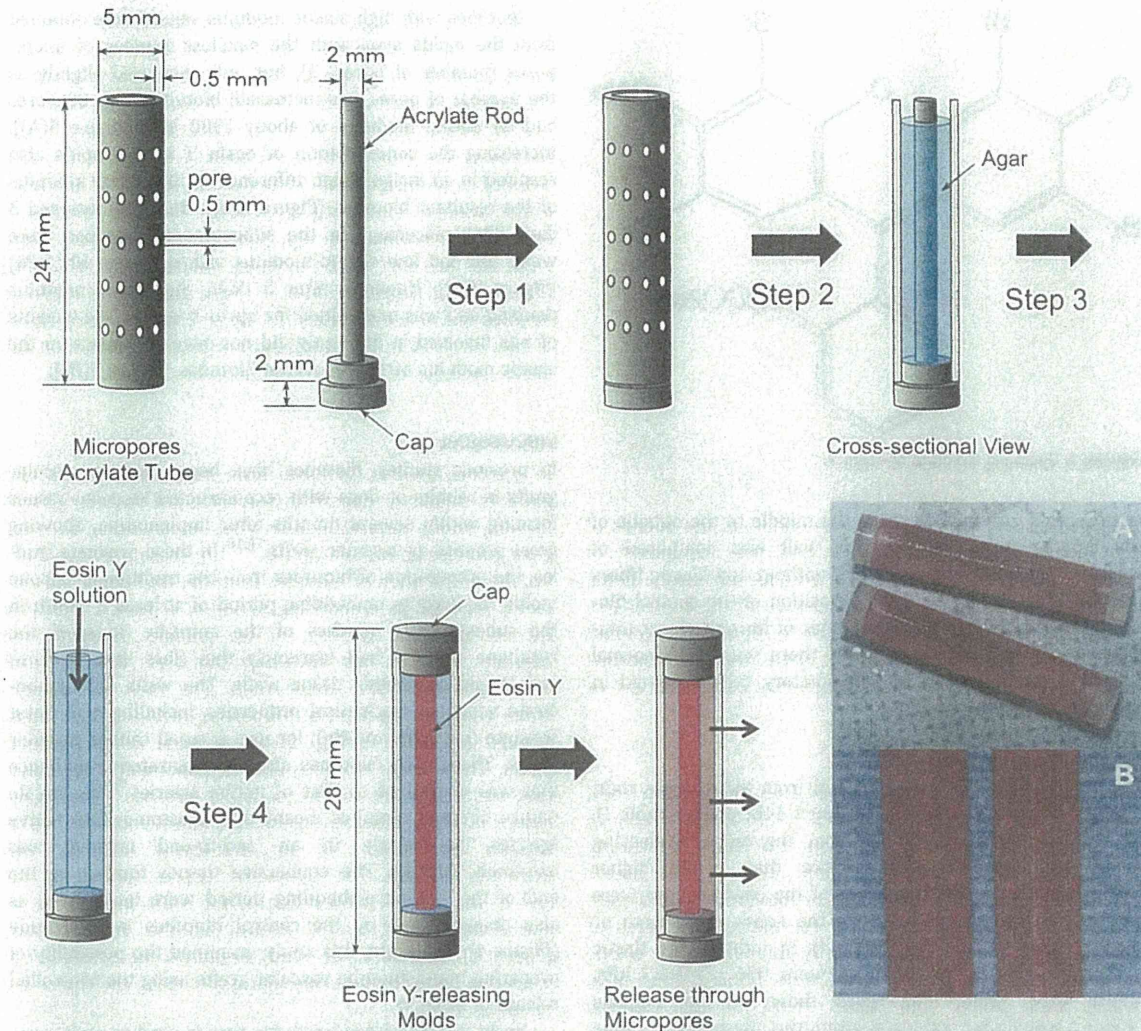


FIGURE 1. The sequential preparation method of eosin Y-releasing molds. A PBS solution of eosin Y was added to the agar tube (step 3), which was closely attached to the luminal surface of microporous acrylate tubes (step 2). Eosin Y was released through the micropores. The whole view (A) and the magnification view (B) of the eosin Y-releasing molds with micropores. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at wileyonlinelibrary.com.]

were covered with a very thin and almost transparent layer of connective tissue, similar to that observed in a previous report in which silicone molds were used as controls¹¹ [Figure 4(A)]. Because the developed tissues were fragile, complete harvesting of the molds was extremely difficult [Figure 4(B)]. On removal of the molds, the incomplete tubular connective tissues, with thin-walled membranes, collapsed [Figure 4(C)]. As indicated by the yellow arrows in Figure 4(G), the resultant biotubes had a thin wall thickness of $97.2 \pm 22.8 \mu\text{m}$ (Table I), and demonstrated little vascular ingrowth into the biotube membrane.

In contrast, when the eosin Y-containing molds were embedded into the subcutaneous pouches of rats for 1 week, the area surrounding the molds was fully covered

with thick connective tissue [Figure 4(D)]. The developed tissues were easily harvested from each subcutaneous pouch since there was little adhesion between the developed connective tissue and the surrounding original tissues [Figure 4(E)]. Upon removing the molds, tubular biotube tissues were obtained [Figure 4(F)]. Almost all of eosin Y (over 80%) was excluded from the mold after 1 week of embedding, irrespective of number of micropores. As indicated by the yellow arrow in Figure 4(I), the biotubes obtained were very thick-walled ($418.2 \pm 173.4 \mu\text{m}$ in Table I) and intensely colored red, which was different from the color of eosin Y [Figure 4(F)]. Since tubular shape was maintained in the biotubes, their handling was very easy. As indicated by the yellow arrow heads in Figure 4(K), rich

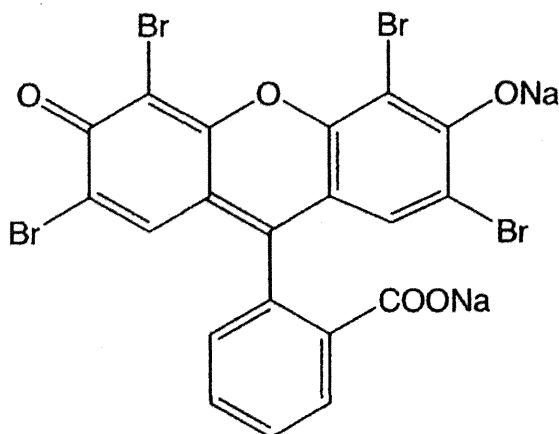


FIGURE 2. Chemical structure of eosin Y.

angiogenesis was induced from the middle to the outside of the biotube layer. The biotube wall was composed of collagen-rich tissue [Figure 4(K)], without any elastic fibers [Figure 4(L)], similar to the composition of the control biotubes [Figure 4(H)]. A large number of fibroblasts accumulated at the luminal surface, but there was no abnormal collection or infiltration of inflammatory cells observed in the walls of the biotubes.

Mechanical properties

The control biotube tissues, derived from the acrylate rods, burst at a luminal pressure of 1050 ± 446 mmHg (Table I). In contrast, biotubes formed from the eosin Y-releasing molds had burst strengths more than 5-fold higher (5850 ± 2383 mmHg) than those of the controls, and were close to the values measured for the native aortic arch or thoracic aorta (beagle dog) (Table I). In addition, the elastic modulus values of the biotubes were 956.2 ± 196.5 kPa, which were about four times those of the controls (254.5 ± 188.0 kPa) and were within the physiological range of values determined for aortic arches (499.4 ± 88.8 kPa) and aortas (1267.1 ± 353.3 kPa).

Biotubes with high elastic modulus values were obtained from the molds even with the smallest number of micropores (number of pores: 3), but only increased slightly as the number of pores was increased; biotubes with 80 pores had an elastic modulus of about 1000 kPa [Figure 5(A)]. Increasing the concentration of eosin Y in the molds also resulted in an insignificant difference in the elastic modulus of the resultant biotubes [Figure 5(B)]. Biotubes removed 3 days after placement in the subcutaneous pouches were weak and had low elastic modulus values (about 400 kPa) [Figure 5(C)]. However, after 5 days, the elastic modulus doubled and was maintained for up to 2 weeks. The weights of rats involved in the study did not have an impact on the elastic modulus of the recovered biotubes [Figure 5(D)].

DISCUSSION

In previous studies, biotubes have been used as vascular grafts in rabbits or dogs with reconstructed vascular tissues forming within several months after implantation, showing great promise as vascular grafts.^{12,13} In these previous studies, the preparation of biotubes from the traditional, silicone molds required an embedding period of at least 1 month in the subcutaneous pouches of the animals. However, the resultant biotubes had extremely thin (less than 100 μ m) and fragile connective tissue walls. The walls did demonstrate adequate mechanical properties, including high burst strength (ca., 1000 mmHg), for use as small caliber vascular grafts. These early biotubes also demonstrated compliance that was equivalent to that of native arteries.⁷ The fragile nature of these biotubes meant that anastomosis to native arteries, particularly in an end-to-end manner, was extremely difficult. The connective tissues formed by the end of the 1-week embedding period were incomplete, as also demonstrated by the control biotubes in this study (Figure 4). Therefore, this study examined the possibility of preparing better biotube vascular grafts using the controlled release of eosin Y.

Eosin is a fluorescent red dye that is used to stain cytoplasm, collagen, and muscle fiber, facilitating their visualization under a microscope.¹⁴ As a result, eosin is most often

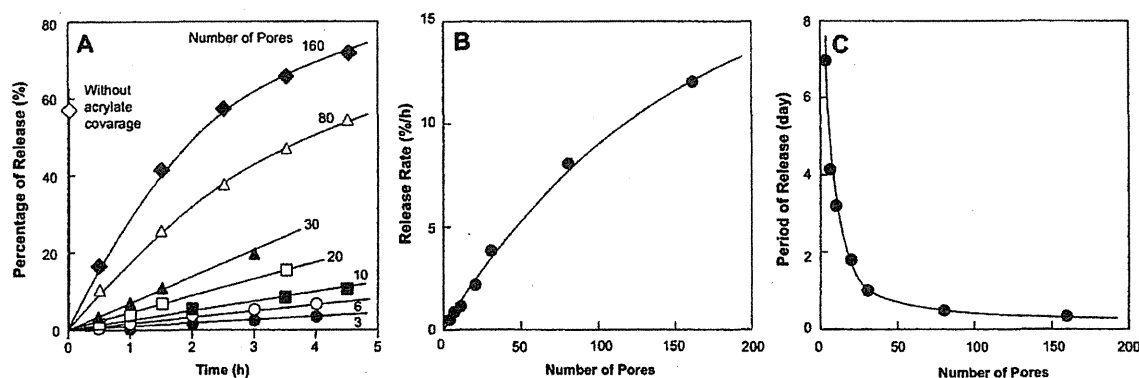


FIGURE 3. A: Release curves of eosin Y from the molds into PBS (100 mL). B: Estimated release rate (%/h) determined from the initial slopes in (A). C: Calculated period of release (days) from the data in (B).

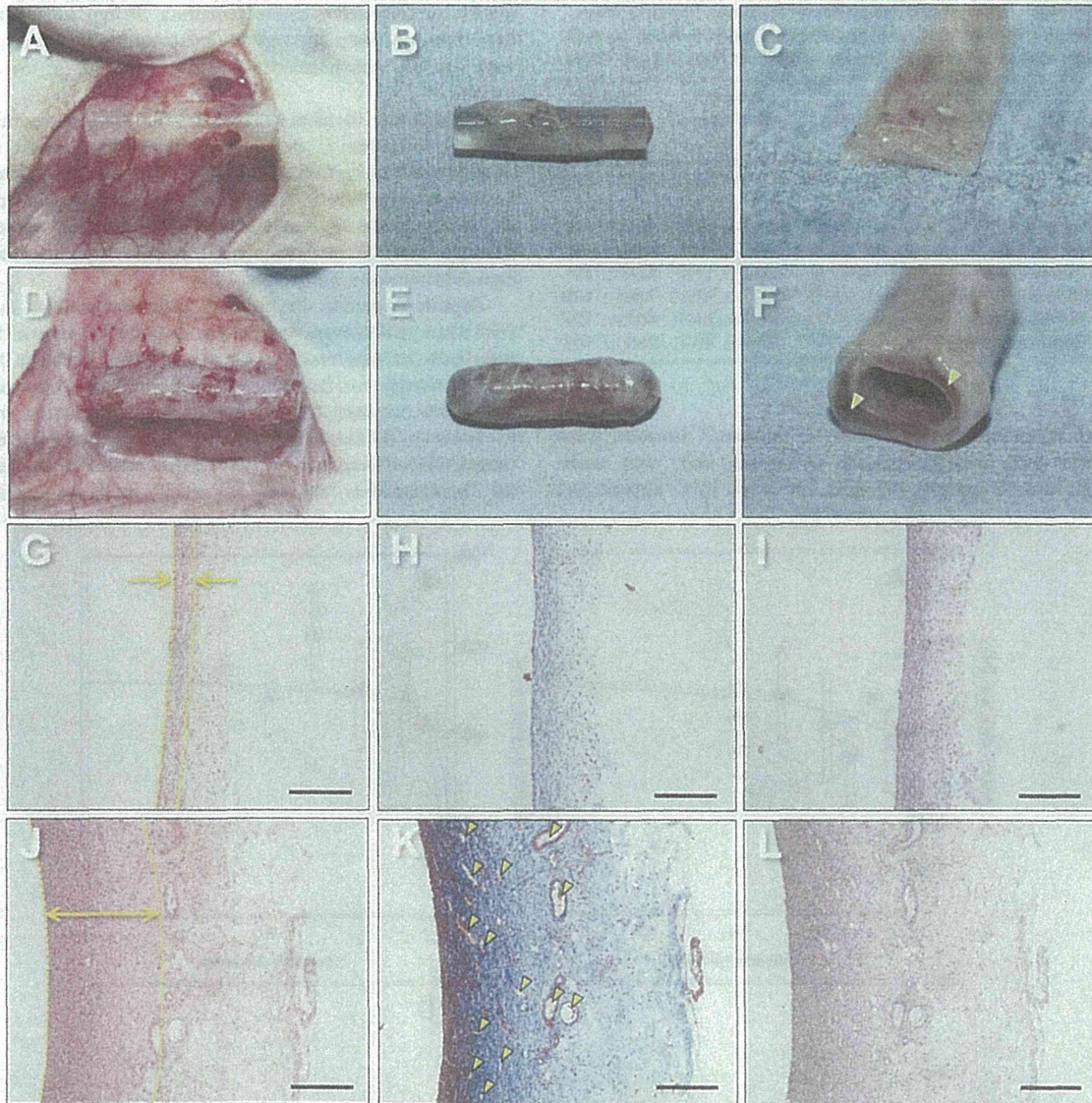


FIGURE 4. A: Macroscopic observation of a biotube formed around the control acrylate mold in the subcutaneous space and the external view of the incomplete biotube with (B) or without (C) the acrylate mold. D: Macroscopic observation of biotube formed around the eosin Y-releasing mold in the subcutaneous space and an external view of the biotube with (E) or without (F) the acrylate mold. Circumferential sections of biotubes prepared from the acrylate molds (G, H, I) and from the eosin Y-releasing molds (J, K, L). Hematoxylin and eosin stained biotube sections (G, J). Masson trichrome stained biotube sections (H, K). Elastica-van Gieson stained biotube sections (I, L). The yellow arrows in G and J shows the layers of the biotubes, which were connected with very fragile mucous membrane-like connective tissues at their outer surfaces. The yellow arrow heads in K indicate capillaries. In all histological photos (G–L), the luminal side is on the left. Bar = 200 μ m.

used as a counterstain to hematoxylin, and together, they constitute one of the most commonly used staining techniques in histology. Eosin can also be used as a photo-crosslinkable compound for the preparation of hydrogels because it can generate radicals that form covalent bonds by a proton transfer reaction upon photoirradiation.¹⁶ Therefore, photo-crosslinkable gelatin, prepared by partial deriva-

tization of eosin Y into gelatin, has been investigated for use in a number of biomedical applications, e.g., as a matrix for drug delivery,¹⁶ a tissue adhesive,^{15,17} a post-operative wound dressing, a coating material for implantable medical devices,¹⁸ and as a scaffold material in regenerative medicine.¹⁹ Recently, eosin Y-derivatized gelatins have also been used as coating materials for drug immobilization on molds

TABLE I. Mechanical Properties of Biotubes Prepared From Eosin Y-Releasing Molds and Control Acrylate Rods, as well as Observed in Native Arteries Obtained From Beagle Dogs

Sample	Thickness (μm)	Elastic Modulus (kPa)	Burst Pressure (mmHg)
Eosin Y-releasing Mold	418.2 \pm 173.4	956.2 \pm 196.5	5850 \pm 2383
Acrylate Rod	97.2 \pm 22.8	254.5 \pm 188.0	1050 \pm 446
Aortic Arch	—	499.4 \pm 88.8	4550 \pm 346
Thoracic Aorta	—	652.2 \pm 178.9	5200 \pm 751
Abdominal Aorta	—	1267.1 \pm 335.3	7350 \pm 1820
Carotid Artery	—	787.8 \pm 246.1	4013 \pm 1297
Pulmonary Artery	—	709.4 \pm 93.6	2300 \pm 1051

to accelerate the fabrication of biotubes.⁹ However, there was little benefit achieved by coating only with eosin-derivatized gelatin; the eosin provided little physiological

activity for connective tissue formation. To our knowledge, there have not been any reports documenting the effects of eosin on the enhancement of tissue ingrowth or on its toxicity.

In this study, biotubes with thick walls were successfully prepared following a short, 5-day embedding period by using a novel eosin Y-releasing mold. The agar tubes acted as storage reservoirs of eosin Y and the microporous acrylate tubes acted as barriers for its controlled release, although most of the eosin was released from the mold upon subcutaneous embedding.

Capsule formation, the primary principle involved in *in vivo* tissue architecture technology, is based on one of the main body defense reactions against artificial implants. If a strong defense reaction occurs, excess inflammatory cells accumulate, resulting in inhibition of capsule formation, due to a delay in fibroblast ingrowth. Acrylate, an inert and biocompatible material used in the control molds, is an inert and biocompatible material, is widely used in medical

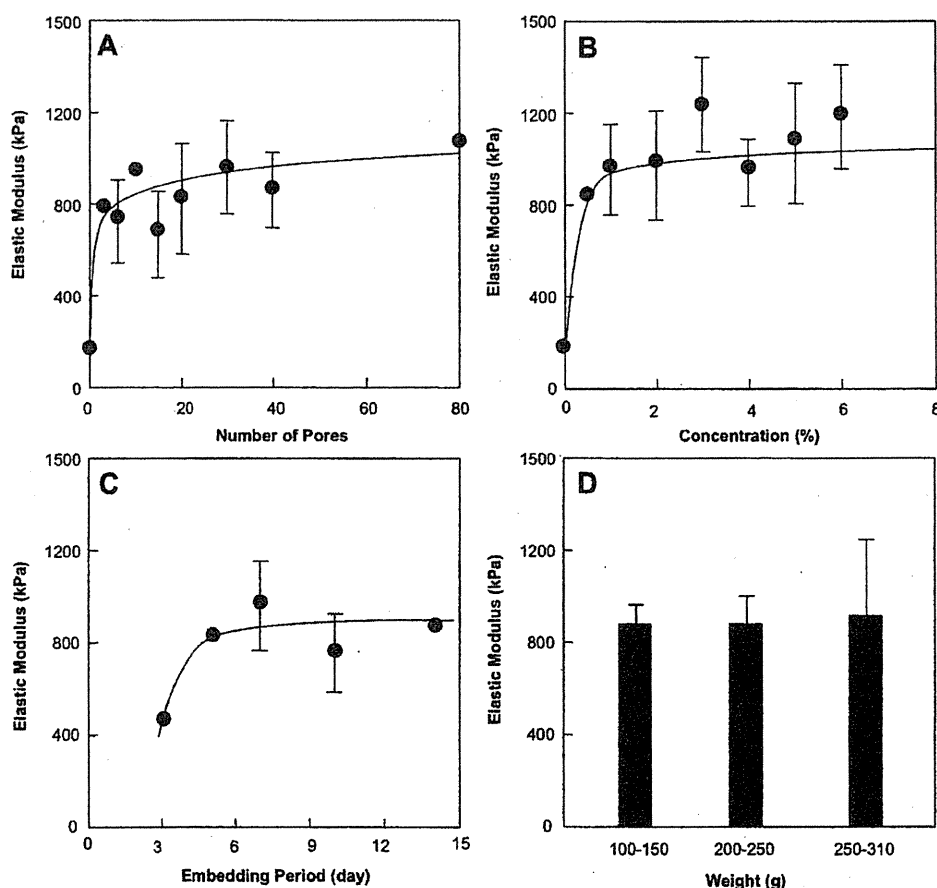


FIGURE 5. Biotubes formed from eosin Y release molds. The relationships between elastic modulus and number of pores (A), the concentration of eosin Y in the molds (B), the length of the embedding period (C), and the weight of rats (D). Preparation conditions in (A): 1% w/v concentration of eosin Y, and an embedding period of 7 days; in (B): the number of micropores = 30, with an embedding period of 7 days; in (C): the number of micropores = 30, with a 1% (w/v) concentration of eosin Y; in (D): the number of micropores = 30, with a 1% (w/v) concentration of eosin Y, and an embedding period of 7 days.

devices and does not allow sufficient capsule formation with a 1-week embedding period. The release of eosin Y, however, significantly enhanced capsule formation. Even though there is a little report about physiological activity of eosin Y, an appropriate host defense reaction was stimulated by the release of eosin Y, resulting in enhanced biotube formation. Interestingly, neither the number of pores in the acrylate nor the concentration of eosin Y had significant effects on the robust formation of biotubes. This suggested that a little stimulation by eosin Y would control connective tissue formation and further suggested that the releasing molds reported in this study might be used in other applications without toxicity.

One of the most effective methods to activate angiogenesis is the introduction of bioactive substances, such as cytokines, vascular endothelial growth factor (VEGF)^{20,21} and basic fibroblast growth factor (bFGF).^{22,23} The slow release of VEGF has been reported to promote angiogenesis and is effective in neovascularization therapy for peripheral, arterial, and cardiac ischemia. In a preliminary study, the slow release of VEGF from the mold surface promoted neovascularization in biotube tissue (data not shown). Furthermore, impregnation of VEGF into polyurethane grafts enhanced the ingrowth of transanastomatic tissues and transluminal capillaries.²⁴ Therefore, other compounds, such as VEGF, bFGF, or nicotine, are expected to function in a similar physiological manner when released from these microporous molds and may allow further enhancement of biotube formation.

Capillary formation is one of the most important requirements for the construction of three-dimensional, thick, and functional tissues in tissue engineering, as the diffusional supply of oxygen can only support a tissue thickness of less than 200 μm . Eosin Y stimulation also induced the significant formation of matured capillaries, composed of both endothelial cells and smooth muscle cells. These neovessels also supported the increased thickness of the biotube tissues. Natural, strong antithrombogenic activity is provided by the complete endothelialization of the luminal surface and is highly desirable. However, the preparation of an endothelialized-biotube surface in an *in vivo* reactor is extremely difficult and the preparation of such a surface *in vitro* requires complex cell management and processing. Therefore, wall structures that attain complete endothelialization at an early stage of the implantation are desirable. Furthermore, rich angiogenesis, including the recruitment of large numbers of endothelial cells, in the biotube walls was hypothesized to promote endothelialization of the luminal surface. In other words, upon contact with the blood flow after implantation, capillary migration from the wall to the luminal surface could be induced in order to supply the endothelial cells.

In this study, significant cellular migration to the surface of the acrylate rods with concomitant angiogenesis was promoted by eosin Y release. The tissue that formed on the surface of the structure was primarily colonized by fibroblasts. To our knowledge, this is the first report describing the acceleration of tissue formation triggered by eosin Y. How-

ever, it was considered that eosin Y itself had a very little activity for tissue formation or angiogenesis. In encapsulation process of this study, continuous weak stimulation by eosin Y was effective. Degree of stimulation might be important in enhancement of the process. Too much stimulation would induce inflammation reaction. Therefore, other inert chemicals even with a little physiological activity for tissue formation or angiogenesis could enhance the encapsulation. Biotubes with remarkably thick walls and an appropriate rigidity were formed within the short, 5-day embedding period. Since efficient nutrition was maintained as a results of the rich angiogenesis throughout the wall, the newly developed tissue could survive even within the thick surrounding tissues. We are currently devising animal experiments to evaluate the *in vivo* performance of these newly developed biotubes.

CONCLUSIONS

The application of the newly developed eosin Y-releasing mold brought about accelerated fabrication of thick-walled biotubes with robust angiogenesis that may be used as large-caliber vascular grafts. The biotubes exhibited mechanical properties, including sufficient rigidity to maintain patency for easy anastomosis and a high elastic modulus for withstanding blood pressure changes, which were suitable for such applications.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Ms. Manami Sone for her technical support in this study.

REFERENCES

- Hibino N, McGillicuddy E, Matsumura G, Ichihara T, Naito Y, Brauer C, Shin'oka T. Late-term results of tissue-engineered vascular grafts in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2010;139: 431-436.
- Yokota T, Ichikawa H, Matsumiya G, Kuratani T, Sakaguchi T, Iwai S, Shirakawa Y, Torikai K, Saito A, Uchimura E, Kawaguchi N, Matsuura N, Sawa Y. In situ tissue regeneration using a novel tissue-engineered, small-caliber vascular graft without cell seeding. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008;136:900-907.
- Iwasaki K, Kojima K, Kodama S, Paz AC, Chambers M, Umezumi M, Vacanti CA. Bioengineered three-layered robust and elastic artery using hemodynamically-equivalent pulsatile bioreactor. *Circulation* 2008;118:S52-S57.
- Quint C, Kondo Y, Manson RJ, Lawson JH, Dardik A, Niklason LE. Decellularized tissue-engineered blood vessel as an arterial conduit. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:9214-9219.
- Helne J, Schmiedl A, Cebotari S, Karck M, Mertsching H, Haverich A, Kallenbach K. Tissue engineering human small-caliber autologous vessels using a xenogenous decellularized connective tissue matrix approach: Preclinical comparative biomechanical studies. *Artif Organs* 2011;35:930-940.
- Huang H, Zhou YM, Ishibashi-Ueda H, Takamizawa K, Ando J, Kanda K, Yaku H, Nakayama Y. In vitro maturation of "biotube" vascular grafts induced by a 2-day pulsatile flow loading. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;91:320-328.
- Nakayama Y, Ishibashi-Ueda H, Takamizawa K. In vivo-tissue engineered small-caliber vascular graft prosthesis consisting of autologous tissue (biotube). *Cell Transplant* 2004;13:439-449.
- Sakai O, Kanda K, Ishibashi-Ueda H, Takamizawa K, Ametani A, Yaku H, Nakayama Y. Development of the wing-attached rod for acceleration of "Biotube" vascular grafts fabrication in vivo. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;90:412-420.

9. Sakai O, Kanda K, Takamizawa K, Sato T, Yaku H, Nakayama Y. Faster and stronger vascular "Biotube" graft fabrication in vivo using a novel nicotine-containing mold. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;90:412-420.
10. Heeschen C, Weis M, Cooke JP. Nicotin promotes arteriogenesis. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:489-496.
11. Yamanami M, Yamamoto A, Iida H, Watanabe T, Kanda K, Yaku H, Nakayama Y. 3-Tesla magnetic resonance angiographic assessment of a tissue-engineered small-caliber vascular graft implantation in a rat. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010;92:156-160.
12. Watanabe T, Kanda K, Yamanami M, Ishibashi-Ueda H, Yaku H, Nakayama Y. Long-term animal implantation study of biotube-autologous small-caliber vascular graft fabricated by in-body tissue architecture. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2011;98:120-126.
13. Watanabe T, Kanda K, Ishibashi-Ueda H, Yaku H, Nakayama Y. Autologous small-caliber "biotube" vascular grafts with argatroban loading: A histological examination after implantation to rabbits. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010;92:236-242.
14. Jocelyn H. Bruce-Gregorios, MD.: *Histopathologic Techniques*, JMC Press Inc., Quezon City, Philippines, 1974.
15. Nakayama Y, Matsuda T. Photocurable surgical tissue adhesive glues composed of photoreactive gelatin and poly(ethylene glycol) diacrylate. *J Biomed Mater Res* 1999;48:511-521.
16. Okino H, Nakayama Y, Tanaka M, Matsuda T. In situ hydrogelation of photocurable gelation and drug release. *J Biomed Mater Res* 2002;59:233-245.
17. Nakayama Y, Matsuda T. Newly designed hemostatic technology based on photocurable gelatin. *ASAIO J* 1995;41:M374-M378.
18. Nakayama Y, Ji-Youn K, Nishi S, Ueno H, Matsuda T. Development of high-performance stent: gelatinous photogel-coated stent that permits drug delivery and gene transfer. *J Biomed Mater Res* 2001;57:559-566.
19. Fukaya C, Nakayama Y, Murayama Y, Omata S, Ishikawa A, Hosaka Y, Nakayama Y. Improvement of hydrogelation ability and handling of photocurable gelatin-based crosslinking materials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;91:329-336.
20. Witzembichler B, Asahara T, Murohara T, Silver M, Spyridopoulos I, Magner M, Principe N, Kearney M, Hu JS, Isner JM. Vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C/VEGF-2) promotes angiogenesis in the setting of tissue ischemia. *Am J Pathol* 1998;153:381-394.
21. Silvestre JS, Tamarat R, Ebrahimian TG, Le-Roux A, Clergue M, Emmanuel F, Duriez M, Schwartz B, Branellec D, Lévy BI. Vascular endothelial growth factor-B promotes in vivo angiogenesis. *Circ Res* 2003;93:114-123.
22. Hosseinkhani H, Hosseinkhani M, Khademhosseini A, Kobayashi H, Tabata Y. Enhanced angiogenesis through controlled release of basic fibroblast growth factor from peptide amphiphile for tissue regeneration. *Biomaterials* 2006;27:5836-5844.
23. Schweigerer L, Neufeld G, Friedman J, Abraham JA, Fiddes JC, Gospodarowicz D. Capillary endothelial cells express basic fibroblast growth factor, a mitogen that promotes their own growth. *Nature* 1987;325:257-259.
24. Masuda S, Doi K, Satoh S, Oka T, Matsuda T. Vascular endothelial growth factor enhances vascularization in microporous small caliber polyurethane grafts. *ASAIO J* 1997;43:M530-M534.