

「新機能創成に向けた光・光量子科学技術」

平成 19 年度採択研究代表者

太田 淳

奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科 教授

バイオメディカルフォトリック LSI の創成

1. 研究実施の概要

本研究は、フォトリック技術と Si-LSI（大規模集積回路）技術を融合することで、バイオ技術、医療技術への適用を可能とする新しいバイオメディカルフォトリックデバイスの創成を目的とするものである。これまで研究代表者らは生体内埋植型 CMOS イメージセンサを開発し、マウス海馬内のセリンプロテアーゼ活性の時空間的ダイナミクスを計測することに成功している。この成果を元に上記新しいバイオメディカルフォトリック LSI を創成するため、本年度は、①バイオメディカルフォトリック LSI の高機能化と②生体内埋植可能なバイオメディカルフォトリック LSI の生体内動作検証を実施し、更に、③機能的脳疾患への適用において *in vitro* 検証系と脳機能ネットワーク解析の検討を行うことを目的とした。

①のバイオメディカルフォトリック LSI の高機能化においては、まずバイオメディカルフォトリック LSI 上の電極を用いた LTP 誘導実験を行った。また GFP（Green Fluorescence Protein）の発光による組織場所同定が可能なデバイスの開発を行い、GFP 検出を塩坂グループと共同で実施した。これらの成果を踏まえて次年度は自由行動下での分子イメージングを可能とするデバイス開発を行う。

②の生体内埋植可能なバイオメディカルフォトリック LSI の生体内動作検証では、バイオメディカルフォトリック LSI の開発と連携して、試作デバイスの生体内での動作検証を行った。現段階ではマウスを脳固定装置に拘束した状態で行っており、マウスが自由に行動できる非拘束状態での測定のための予備実験を行った。一方で、GFP をレポーターとしたトランスジェニックマウスの導入し、繁殖によって安定的に利用する体制を整えた。次年度はこれらの成果を元に自由行動下でのマウス脳活動計測を実施する。

③の課題では、機能的脳神経外科疾患においてバイオメディカルフォトリック LSI を応用すべく、軽度脳虚血、てんかん、パーキンソン病などを対象に、脳機能の変化を頭皮脳波、

皮質脳波、MEG、PET を用いて解析した。その結果、臨床症状を呈する脳腫瘍患者や臨床症状の発現がない軽度脳虚血においても特殊な脳律動の変化を検出できた。さらに、てんかん発作が生じていない発作間欠期の脳活動においてベンゾジアゼピン系神経回路の異常を検出できた。バイオメディカルフォトニック LSI により、脳皮質活動を電氣的ならびに光学的に同時精査することでこれら疾患におけるサブクリニカル（臨床症状が出現していない状態）な脳機能異常を検出し、脳機能障害の病態を解明出来る可能性が示唆された。次年度はこれらの機能異常を精度良く捉えうる LSI を設計し、並行して動物モデルを開発し、臨床応用への段階を進めていく。

2. 研究実施内容

（文中にある参照番号は 4. (1) に対応する）

マウス海馬の神経活動を高時間・空間分解能で *in vivo* リアルタイムイメージングするだけでなく、神経線維への電気刺激とそれに伴うシナプス応答を測定できる Pt 電極をバイオメディカルフォトニック LSI 上に搭載することにより蛍光計測と電気生理的な測定を単一デバイスで同時計測可能とした[1]。麻酔を施したマウスを用いた脳機能イメージング実験では試作したバイオメディカルフォトニック LSI を海馬に埋植した後、オンチップ Pt 電極を用いて記憶形成に関わる神経活動を誘導し、それに伴うシナプス応答を電気生理学的測定や酵素(セリンプロテアーゼ)の活性を蛍光を通じてセンサ面上で観測した。オンチップ Pt 電極により θ バーストと呼ばれる長期増強記憶 (LTP) を誘発する電気刺激パターンを行った。オンチップ電極による電気刺激により LTP が誘発され、それに伴いタンパク質分解酵素であるセリンプロテアーゼが発現する。あらかじめ導入しておいた非蛍光基質 MCA はこの分解酵素により蛍光基質 AMC となり、デバイスに集積化した蛍光励起用 LED 光源により蛍光パターンとしてバイオメディカルフォトニック LSI 面上で観測される。

図 1 はその結果である。電気刺激後蛍光パターンの時空間変化が観測されており、LTP 誘導に成功したことが確認できた。

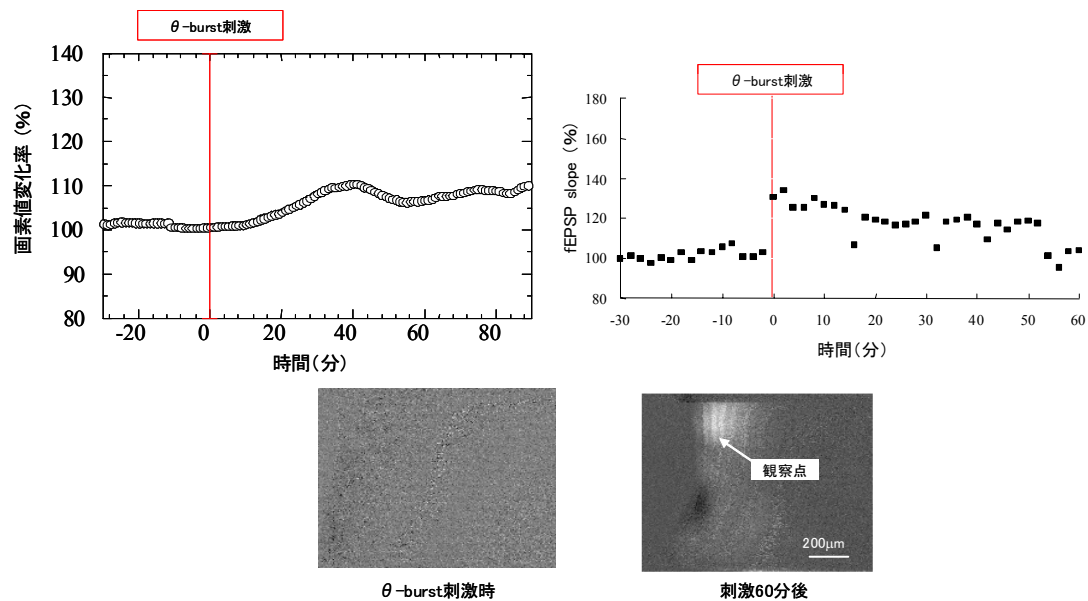


図 1 : オンチップ刺激電極による LTP 誘導実験結果

これらの実験はマウスを脳固定装置に拘束した状態で試作デバイスの生体内での動作検証を行っており、神経可塑性プロテアーゼ、神経の電気活動などを生体内で数時間程度安定的にモニターすることに成功した。また、ドーパミンを実験動物のレベルで測定する方法としてドーパミン合成酵素であるチロシンヒドロキシラーゼ GFP トランスジェニック動物を導入し、GFPの蛍光としてモニターする準備を行っており、すでにGFPを脳内モニターするためのバイオメディカルフォトニック LSI を試作しているので、これを拘束下動物により動作検証を行っているところである。

機能的脳疾患医療応用の検討

機能的脳疾患患者を対象に、頭皮脳波、皮質脳波を解析するため、デジタル脳波計、LSI 電極の正確な設置のため、定位脳手術用モータドライブ、手術ナビゲータならびに手術用顕微鏡を設置した。

これまでの研究から脳の機能発現ならびに機能異常には皮質脳波の律動異常が深い関係にあることが判明しており、本年度はバイオメディカルフォトニック LSI をこの現象の解析にどのように用いれば有効な結果が得られるか検討した[5]。とくに、前頭葉は運動、言語、認知、情意など多彩な機能を担っており、機能局在の自由度が高いことから多面的な解析を行った[9,10]。また、難治性てんかんを対象とした研究[7, 11]のなかではとくに、神経回路異常との関係を解明するベンゾジアゼピンレセプターの分布を画像化するイオマゼニールによる PET 解析を行った[7]。

非侵襲的な脳磁図による脳電気活動局在同定法のうち、SAM 法は脳磁図信号処理に空間フィルターを応用した信号解析法であり、きわめて高い空間指向性を特徴とする。本年度の研究ではとくに、脳賦活に伴う脳電気活動リズムの変調、すなわち事象関連同期(ERS)/

脱同期(ERD)の空間的広がりから脳機能領域を画像化する SAM 統計解析法を用い、脳腫瘍患者における運動機能解析を行ったので紹介する。

この研究では中心溝近傍 glioma 腫患者を対象とし、運動賦活による ERD を正常被験者と比較検討した。いずれの患者も運動は正常か軽度障害であった。運動賦活は 1-2Hz の自発的な片側ずつの離握手を繰り返す、その間と運動負荷間欠期の MEG 信号を α -low γ の各帯域について SAM 法で統計的に解析し、ERD の統計有意性(t 値)が 2.5 以上で最大値を示す領域を同定した。また、無負荷状態での β 帯域のパワー分布を左右大脳半球で比較したところ、患側半球では腫瘍存在部分を越えて広い領域のパワーの減弱を認めた。

その結果、正常被験者では β 帯域の脱同期が一貫して対側 M1/S1 に認められたが、low γ やとくに α 帯域の脱同期は個体差が大きかった。脳腫瘍患者の β 帯域脱同期は健側運動においては同様に対側 M1/S1 に認められたが、患側運動においては同側半球の M1/S1 に認められ、さらに一部の症例では前運動野にも認められた。

すなわち、正常か軽度運動機能障害の脳腫瘍患者において、患側運動時、同側運動野の ERD が有意に認められた。脳腫瘍患者においては脳虚血や外傷と比較し、機能損傷は緩やかに生じる。健側半球の運動野の動員は、患肢機能を維持するための機能代償機構が示唆された[8]。バイオメディカルフォトリック LSI ではこれらの変化はより精密かつ定量的に検知しうる事が期待され、特に機能回復、リハビリテーションへの応用が期待出来る。

3. 研究実施体制

(1)「太田」グループ

①研究分担グループ長:太田 淳(奈良先端科学技術大学院大学、教授)

②研究項目

- ・バイオメディカルフォトリック LSI の高機能化
- ・超小型バイオメディカルフォトリック LSI とその分散システムの開発

(2)「塩坂」グループ

①研究分担グループ長:塩坂貞夫(奈良先端科学技術大学院大学、教授)

②研究項目

- ・バイオメディカルフォトリック LSI の生体内動作検証
- ・バイオメディカルフォトリック LSI の完全埋植による記憶形成メカニズムの解明

(3)「加藤」グループ

①研究分担グループ長:加藤 天美 (近畿大学、教授)

②研究項目

- ・臨床応用にむけて, 脳表面電極, 脳深部刺激応用の検討

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

- [1] D. C. Ng, H. Tamura, T. Mizuno, T. Tokuda, M. Nunoshita, Y. Ishikawa, S. Shiosaka, J Ohta, "An implantable and fully-integrated complementary metal-oxide semiconductor device for in vivo neural imaging and electrical interfacing with the mouse hippocampus," *Sensors & Actuators A*, in press.
- [2] D. C. Ng, T. Nakagawa, T. Mizuno, T. Tokuda, M. Nunoshita, H. Tamura, Y. Ishikawa, S. Shiosaka, J. Ohta, "Integrated in vivo neural imaging and interface CMOS devices: design, packaging, and implementation," *IEEE Sensors J*, 8 (1), 121-130, 2008.
- [3] Ishikawa, Y., Horii, Y., Tamura, H., & Shiosaka, S. (2008). Neuropsin (KLK8)-dependent and -independent synaptic tagging in the Schaffer-collateral pathway of mouse hippocampus. *J Neurosci*, 28(4), 843-849.
- [4] Horii, Y., et al. (2008). Increased anxiety-like behavior in neuropsin (kallikrein-related peptidase 8) gene-deficient mice. *Behavioral Neuroscience*. In press
- [5] Oshino S, Kato A, Hirata M, Kishima H, Saitoh Y, Fujinaka T, Yoshimine T : Ipsilateral motor-related hyperactivity in patients with cerebral occlusive vascular disease. *Stroke* in press, 2008
- [6] Kato H, Shimosegawa E, Oku N, Kitagawa K, Kishima H, Saitoh Y, Kato A, Yoshimine T, Hatazawa J : MRI-Based Correction for Partial Volume Effect Improves Detectability of Intrac table Epileptogenic Foci on I-123 Iomazenil Brain SPECT Images. *J Nucl Med* 49 383-389 2008
- [7] Oshino S, Kato A, Wakayama A, Taniguchi M, Hirata M, Yoshimine T: Magnetoencephalographic analysis of cortical oscillatory activity in patients with brain tumors: Synthetic aperture magnetometry (SAM) functional imaging of delta band activity. *NeuroImage* 34:957-964, 2007
- [8] Hirata M, Koreeda S, Sakihara K, Kato A, Yoshimine T, Yorifuji S : Effects of the emotional connotations in words on the frontal areas - a spatially filtered MEG study. *NeuroImage* 35 420-429 2007

- [9] Saitoh Y, Hirayama A, Kishima H, Shimokawa T, Oshino S, Hirata M, Tani N, Kato A, Yoshimine T : Reduction of intractable deafferentation pain due to spinal cord or peripheral lesion by high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) of the primary motor cortex. J Neurosurg 107 555-559 2007
- [10] 田中順子、加藤天美、尾崎由和、山崎麻美 : 定位的ラジオ波焼灼術により、てんかん発作および情動障害が改善した視床下部過誤腫の1例. てんかん研究 25(2) 81- 87 2007