

「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ニック LSI の創成

1. 研究実施の概要

これまで CMOS イメージセンサ技術をベースにバイオメディカルフォトニック LSI (以下 bmp-LSI) の試作と動作検証を行ってきた。今年度は、①bmp-LSI の高機能化、②bmp-LSI の生体内動作検証とその完全埋植による記憶形成メカニズムの解明、③機能的脳疾患医療応用の検討、の各項目を実施してきた。その結果、マウス脳内に長期間埋植可能な bmp-LSI を実現し、それを用いて bmp-LSI をマウス脳内に埋植した状態で自由行動を行わせた状態で脳内神経細胞活動状態を記録することに成功した。これにより記憶形成メカニズムへの解明へと一歩前進することができた。また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、脳の生理学的解析のみならず、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を示唆することができ、bmp-LSI の機能的脳疾患医療への応用への道を拓くことができた。

2. 研究実施内容(文中にある参照番号は 4.(1)に対応する)

バイオメディカルフォトニック LSI (以下 bmp-LSI) の高機能化として、刺激電極の集積化、高分解能化と自由行動への対応がある。刺激電極の集積化は、Pt 電極を bmp-LSI 上に形成し¹⁻³⁾、実際に脳内埋植後電気刺激を行い、Long-term Potentiation (LTP; 長期増強現象) 誘発に成功した⁴⁾。これにより電気刺激→光検出をワンチップで行うことができ、クローズドループ制御への道を開拓することができた。高分解能化に関しては、包埋材料の検討とライトガイドアレイの導入を試みた。包埋材料は検討の結果従来のエポキシからパリレンに変更をした。パリレンを 10 μ m 以下に形成することで分解能向上を図った。また画素ピッチ 7.5 μ m と同じピッチを有するライトガイドアレイを試作した。ライトガイドアレイにより蛍光の入射角度がほぼ垂直方向に制限されるため蛍光画像のぼけを抑制できることが期待される。ライトガイドアレイを DRIE (Deep Reactive Ion Etching) 装置を用いて試作し、開発したセン

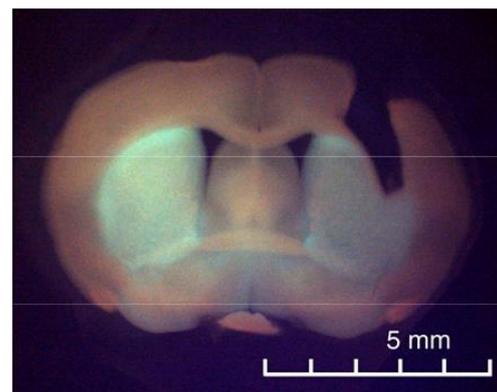


図 1 : bmp-LSI 埋植後の脳スライス蛍光写真

サ面上にこのライドガイドアレイをアライメントする方式により、センサ面上にライトガイドアレイを実装した。このライトガイドアレイ実装センサによりテストチャートを撮像した結果、分解能向上を確認することができた。現在数値的な評価を行っている。

自由行動マウス用センサを新たに開発した。センサ形状を細長くして脳内でよりしっかり固定されるようにすること、入出力配線数を従来の 20 本以上から 4 本に減らすことを試みた。実際に 4 本の入出力により鮮明な画像を撮像できることを確認した。現在マウス脳内埋植用に実装を行っているところである。

bmp-LSI をマウスに埋植し、自由行動状態で蛍光検出する方法を鋭意検討してきたが、今年度の研究について最も大きな成果は①bmp-LSI 基板形状の改良、②コネクターの軽量化、③ bmp-LSI センシング頭部固定化の考案、および④それらを動物体に固定するためのジャケットの改良等によって自由行動状態で蛍光検出する方法の基本形が完成したことである。今後、マイナーチェンジを繰り返す必要があるが、これにより数週間程度の連続記録を行えることになった。

つぎに bmp-LSI で線条体の GFP 蛍光(チロシンヒドロキシラーゼプロモーターにより可視化されたドーパミン神経の蛍光一写真)を検出する方法を検討し、LED 電流のオプティマイズ、埋植センサの深さや位置の検討を行った(図 1 の右破壊部位はセンサの位置を示す)。センサの感度をさらに向上させ、容易に GFP 蛍光を捕捉できるようセンサの調整を行う。

機能的脳神経外科疾患、特に、軽度脳虚血、てんかん手術対象患者を対象に、脳機能と頭皮脳波、皮質脳波、MEG、PET の解析を行った。

まず、難治性てんかんを対象とした研究では、神経回路異常との関係を解明しう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⁹⁾。

さらに、64 チャンネルの多電極システム(本研究予算で購入)を用い、標本として摘出したヒトの海馬や脳皮質スライスを対象に、微細多電極刺激・誘発電位を解析し、細胞構築と神経ネットワークの病態相関の検討を始めた。まだ予備的な結果であるが、海馬において、大きな誘発電位を示す細胞集団を認め、これとてんかん源性との相関を解析する予定である(一部は解剖学近畿地方会で発表)。

ついで、循環予備能の低下として捉えられ、安静時には脳血流低下を示さない程度の軽度の脳虚血状態において、MEGを利用した運動野皮質律動(β 帯域脱同期)の異常を検討した。これは、麻痺などの神経症状を来さない、いわゆるサブクリニカルな脳虚血といえるが、運動課題を遂行させると、運動野において同側脳賦活など、皮質律動異常が認められた。脳血管形成など脳血流を正常化させるとこれら皮質律動異常は正常化した。脳律動を解析することで、サブクリニカルな脳機能障害をも診断できる可能性を明らかにした¹¹⁾。

さらに、脳神経外科治療の改良を目的として、bFGF の利用¹⁰⁾や顕微鏡下手術における操作法の研究、脳腫瘍における自然経過解析の研究¹³⁾を行った。

一方、治療のため、運動野にグリッド電極を挿入した患者の皮質脳波を分析し、実際の運動器活動の前に生じる運動企図脳信号の解読に成功した¹⁴⁾。これはブレイン-コンピュータ・インターフェイスと称される成果である。これらにより、バイオメディカルフォトリック 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脳の生理学的解析のみならず、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。現在、これらの機能異常を精度良く捉えうる LSI を設計し、製作を開始しており、

来年度はこれらの応用を計る予定である。

3. 研究実施体制

(1)「太田」グループ(研究機関別)

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

- ・ バイオフォトニック LSI の高機能化

バイオメディカルフォトニック LSI の高機能化では、まず高分解能化を目指す。現在センサ面上には保護用のエポキシ樹脂が塗布されているが、これをパリレン等の高分子薄膜に置き換える事で解像度向上を図ると共に、センサ画素上にピンホールやマイクロレンズ等の光学系を形成することにより 100 μm 以下の分解能実現を目指す。

前年度確立した数日間にわたって生体内動作可能な包埋方式をもとに完全非拘束状態での計測を可能とするデバイス構成を検討する。

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

CMOS センサをマウス脳内に埋植し、freely moving 状態で蛍光検出する方法を鋭意検討してきたが、今年度の研究について最も大きな成果は①CMOS センサ基盤形状の改良、②コネクタの軽量化、③センサ頭部固定化の考案、および④それらを動物体に固定するためのジャケットの改良等によってfreely moving 状態で蛍光検出する方法の基本形が完成したことである。今後、マイナーチェンジを繰り返す必要があるが、これにより数週間程度の連続記録を行えることになった。

つぎに CMOS センサで線条体の GFP 蛍光(チロシンヒドロキシラーゼプロモーターにより可視化されたドーパミン神経の蛍光一写真)を検出する方法を検討し、LED 電流のオプティマイズ、埋植センサの深さや位置の検討を行った。センサの感度をさらに向上させ、容易に GFP 蛍光を捕捉できるようセンサの調整を行う。

(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

- ・ 機能的脳疾患医療応用の検討

(a) 機能的脳疾患への適用可能性を検討するための in vitro 検証

塩坂チームと共同で、試作デバイスの生体内での動作検証を行う。これと並行し、パーキンソン病やてんかんのモデル動物の開発を進める

(b) 脳機能ネットワークの解析

これはヒトを対象とした研究を含むため、倫理委員会で承認が得られるよう倫理的側面を検討する。バイオメディカルフォトニック LSI から得られる情報を処理するための統計的解析法を検討する。研究は段階的に進め、まず安全性に問題がないと考えられる、てんかんや脳腫瘍の手術において、医療用に承認されているグリッド電極により得られる神経活動情報から脳高次機能信号を抽出できるかどうか検討する。また、摘出した神経組織標本を用いバイオメディカルフォトニック LSI の動作確認を行う。また、LSI より神経刺激、薬剤放出を行い、神経機能制御の可能性を探る。

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*, 145-146, pp. 176-186, 2008.
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), pp. 121-130, 2008.
3. D. C. Ng, T. Tokuda, S. Shiosaka, Y. Tano, J. Ohta, "Implantable Microimagers," *Sensors* 8, 3183-3204 2008.
4. H. Tamura, D.C. Ng, T. Tokuda, H. Naoki, T. Nakagawa, T. Mizuno, Y. Hatanaka, Y. Ishikawa, J. Ohta, S. Shiosaka, "One-chip sensing device (biomedical photonic LSI) enabled to assess hippocampal steep and gradual up-regulated proteolytic activities," *J. Neuroscience Methods*, 173: 114-120, 2008.
5. Harada, A., Shiosaka, S., Ishikawa, Y., and Komai, S. Acute stress increases neuropeptide Y mRNA expression in the mouse hippocampus through the glucocorticoid pathway. *Neurosci Lett* 436, 273-277, 2008.
6. Horii, Y., Yamasaki, N., Miyakawa, T., and Shiosaka, S. Increased anxiety-like behavior in neuropeptide Y (kallikrein-related peptidase 8) gene-deficient mice. *Behav Neurosci* 122, 498-504, 2008.
7. Ishikawa, Y., Horii, Y., Tamura, H., and Shiosaka, S. Neuropeptide Y (KLK8)-dependent and -independent synaptic tagging in the Schaffer-collateral pathway of mouse hippocampus. *J Neurosci* 28: 843-849, 2008.
8. Izumi, A., Iijima, Y., Noguchi, H., Numakawa, T., Okada, T., Hori, H., Kato, T., Tatsumi, M., Kosuga, A., Kamijima, K., et al. Genetic variations of human neuropeptide Y gene and psychiatric disorders: polymorphism screening and possible association with bipolar disorder and cognitive functions. *Neuropsychopharmacology* 33: 3237-3245, 2008.

9. 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 Intractable Epileptogenic Foci on I-123 Iomazenil Brain SPECT Images. *J Nucl Med* 49: 383-389, 2008
10. Hashimoto N, Taniguchi M, Kato A, Fujimoto Y, Yoshimine T: Management of skull base defect with bFGF after extensive skull base surgery -Two-case report-. *Minim Invas Neurosurg* 51: 136-139, 2008
11. 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* 39: 2769-2775, 2008
12. Islam, M. S., Tatsumi, K., Okuda, H., Shiosaka, S., and Wanaka, A. Olig2-expressing progenitor cells preferentially differentiate into oligodendrocytes in cuprizone-induced demyelinated lesions. *Neurochem Int.* 54:192-198, 2009.
13. Hashiba T, Hashimoto N, Izumoto S, Suzuki T, Kagawa N, Maruno M, Kato A, Yoshimine T: Serial volumetric assessment of the natural history and growth pattern of incidentally discovered meningiomas. *J Neurosurg* in press, 2009
14. Yanagisawa T, Hirata M, Saitoh Y, Kato A, Shibuya D, Kamitani Y, Yoshimine T: Neural decoding using gyral and intrasulcal electrocorticograms. *Neuroimage*, in press, 2009

(2) 特許出願

平成 20 年度 国内特許出願件数 : 0 件 (CREST 研究期間累積件数 : 0 件)