

## 研究終了報告書

### 「生体光刺激のための侵襲型 LED デバイスの革新」

研究期間：2018年10月～2022年3月

研究者：関口 寛人

#### 1. 研究のねらい

LED は省エネ・高輝度な新たな光源として開発され、屋内の照明器具や交通信号、自動車のライト、イルミネーションとあらゆる領域で活用されている。近年、この LED をさらに 1/10、1/100 へと微細化し集積し新たな分野への活用を目指した「マイクロ LED 集積化技術」が注目されており、高輝度・高解像度マイクロ LED ディスプレイ、超高速無線通信技術「Li-Fi」、マイクロレンズ型ディスプレイへの応用展開が期待されている。

本研究では、微細集積が可能なマイクロ LED 技術を用いて神経科学分野で活用可能な新たな生体光操作ツールの創出を目指す。生体光操作においてマイクロ LED を活用すれば低侵襲に生体内へと埋め込みが可能で、発光色を選択して任意領域の神経細胞へと光刺激ができる。さらに神経電極を一体集積すれば、神経活動の同時電気記録が取得でき、選択的光刺激と同時計測技術を実現する。生体刺激として脳を対象として多点での光刺激手法を考えた場合、(i)脳深部の階層方向に対する選択的光刺激と(ii)脳面内方向の脳領野に対する選択光刺激の2つが考えられる。脳深部へのアプローチにおいては脳へと刺入可能な針型 LED デバイスが求められ、脳面内へのアプローチにおいては不規則な局面を持つ脳へと密着可能なシート型 LED デバイスが求められる。そこで、本研究では以下の2つのデバイス開発に取り組み、神経科学分野の研究者らと連携して、生体光操作を実証することを目的とする。

(a) 脳深部にアクセスできる針型 LED/神経電極デバイスの開発

(b) 面内に自在にアクセスできるフレキシブル LED/脳波計測シートの開発

#### 2. 研究成果

##### (1) 概要

新たな神経科学研究の開拓に向けて、マイクロ LED と脳波計測電極を集積した2つのタイプの生体光刺激ツールの開発に取り組んだ。

1 つ目は脳深部の神経細胞にアプローチするための針型構造を有する光刺激ツールである。低侵襲に脳深部へと刺入するため、これまで開発を進めてきたマイクロ LED チップを針型構造にする半導体加工技術を確立し、6つのマイクロ LED と15個の神経電極を搭載した針型 LED/神経電極プローブを実現した。搭載したマイクロ LED は均一な光・電気特性を示し、神経電極から局在フィールド電位(LFP)および単一ニューロンからのスパイク信号を取得することに成功して、選択的光刺激・同時計測技術の可能性を切り拓いた(原著論文2)。また開発したマウス実験により LED による生体光操作の有効性を実証した。

針型 LED プローブの更なる発展に向けていくつかの多機能集積技術の開拓を行った。光遺伝学と同時に局所領域への薬液注入を実現するため流路形成技術を確立し、LED を駆動しながら薬液が注入できることを実証した。さらに LED 駆動による温度上昇抑制のため、マイクロ LED とポリマー導波路を組み合わせたプローブ開発を行い、LED から2mm離れたポリマ

一導波路先端から発光が得られることを確認した(原著論文3)。また神経細胞の興奮／抑制の制御や同一個所の異なる細胞種の選択的操作に向けて求められる多色発光集積の実現に向けて、窒化物ナノ結晶による発光色制御技術を確立した(原著論文3)。

2つ目のツール開発は、大脳皮質広域にアプローチ可能なフレキシブル LED／脳波計測シートである。効率よく安定に光刺激および同時脳波計測を実現するために、不規則な局面をもつ脳へと密着可能で、取り扱いが容易なことが求められる。そこで、32ch の膜厚複合型電極シートを開発した。マウス実験では感覚刺激や歩行に関連する皮質脳波が低ノイズに計測され、開発シートの有効性が実証された。このシートに LED を搭載するが、市販 LED は大きく厚みもあるためシートに集積するとシートの柔軟性・密着性が失われてしまう。そこで、微細で厚みのないマイクロ LED をシート上に集積することを考えた。厚みのないマイクロ LED を利用するために LED 中空構造の形成技術および LED 転写技術を確立することで、薄くて曲げられる  $\mu$ LED フィルムを実現し、マウスの脳に密着して光遺伝学的手法に活用できる明るい青色発光が得られることを実証した。(原著論文1)

## (2) 詳細

### 研究テーマ A「針型 LED 神経プローブの開発」

#### A-1: LED／神経電極プローブの開発

これまで培ってきたマイクロ LED 集積技術によって作製される LED チップを、低侵襲に脳深部へアプローチできるよう、針型構造へと加工する技術の確立が必要であった。加工性に優れた Si 基板をベースとした LED ウエハに着目し、ドライエッチング法を駆使して先鋭なニードル構造形成技術を確立し、マイクロ LED を搭載した神経プローブを実現した。4mm の針型プローブに 6 つのマイクロ LED(直径  $50\mu\text{m}$ )と 15 個の神経電極が搭載され、選択的光刺激・同時計測技術の可能性を切り拓いた(原著論文2)。

搭載した神経電極(Pt)のインピーダンスは  $100\text{k}\Omega$ ( $1\text{kHz}$ )であり、局在フィールド電位(LFP)および単一ニューロンからのスパイク信号が得られることを確認した。搭載されたマイクロ LED は均一な光・電気特性を示し、1.5%の外部量子効率を得られ、1mAにおいて神経活動を操作するのに十分な  $20\text{mW}/\text{mm}^2$  が達成された。モンテカルロ法に基づいた光伝搬シミュレーションを行い、脳内のニューロン密度から光刺激可能なニューロン数を見積もったところ、 $10\text{mW}/\text{mm}^2$  で 10~15 個程度、 $20\text{mW}/\text{mm}^2$  で 20~25 個程度が光刺激されることが推定され、局所的な神経活動の光刺激ができることが示された。また本プローブの生体応用に向けて LED 駆動時の発熱の影響が懸念されるため、大気中 DC 動作での LED 駆動電流と素子温度上昇  $\Delta T$  の関係を調査し、LED の発光効率と温度上昇の関係性の推定を行った。LED 発光効率が 3%以上得られれば  $100\text{mW}/\text{mm}^2$  という高い発光出力時においても  $1^\circ\text{C}$  以下の抑制が可能になると見積もられた。LED の電力効率の改善策として裏面ミラー構造を提案し、発光出力が 1.7 倍増大できることを実証した。また熱伝導解析によ

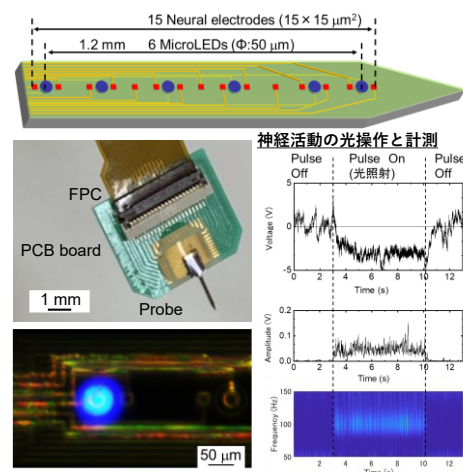


図 1. 開発した LED／神経電極プローブ

り脳内では大気中と比較して温度上昇が 1/5 程度に抑制されると見積もられ、LED プローブの生体応用における熱の影響は極めて小さいことが明らかとなった。開発した LED プローブを用いて海馬の CA3 を光刺激し、タングステンプローブを用いて投射先となる反側 CA1 を観察したところ、光に応答する LFP を取得し、本プローブによる神経活動の光操作の有効性を実証した。

#### A-2: LED 神経プローブへの多機能集積

多機能集積に向けて、LED プローブへの流路形成技術、ポリマー形成技術、LED の光検出器への応用、ナノ結晶による多色発光集積技術に取り組んだ。

光遺伝学と同時に局所領域への薬液注入を実現するため、ドライエッチング法と SiO<sub>2</sub> 成膜技術を用いてウエハ裏面に流路構造を形成する技術を開発した。外部の空気圧力に対して正確に流量制御できることが確認され、LED を駆動しながら薬液が注入できることが確認された。

次に、LED 駆動による温度の影響を完全に抑制するため、LED の発光を導波路によって脳深部へと導くためのポリマー導波路形成技術に取り組んだ。可視光に対して透明性を有するシクロオレフィン系ポリマーの成膜・加工技術を確立し、マイクロ LED 上部にポリマー導波路を形成することで 2mm 先のポリマー導波路先端から発光を観測した。さらにマイクロ LED に隣接するマイクロ LED を逆バイアス下で利用し光電流を検出することで LED の発光出力をモニタリングできることを実証した(原著論文3)。

異なる発光色を集積できれば神経細胞の興奮/抑制を制御し、また同一個所の異なる細胞種を選択的に操作できるため、その実現への期待は大きい。一方で、同一シャック上に異なる発光色を集積化するための技術は見出されていない。LED とナノ蛍光半導体材料の組み合わせによる多色集積化を実現するため、InGaN 系ナノ材料の開発を行った。分子線エピタキシー法を用いた選択成長技術によって Si 基板上に窒化物半導体ナノ結晶の位置・形状を制御した。成長条件およびナノ結晶のサイズによって発光色は青色～赤色まで変化することが見いだされた。今後、本結晶をマイクロ LED 上へと形成することによって、多色発光集積が実現されると期待できる。

#### 研究テーマ B「フレキシブル LED/脳波計測シートの開発」

##### B-1: 面内光刺激に向けたマイクロ LED 集積化技術の高度化

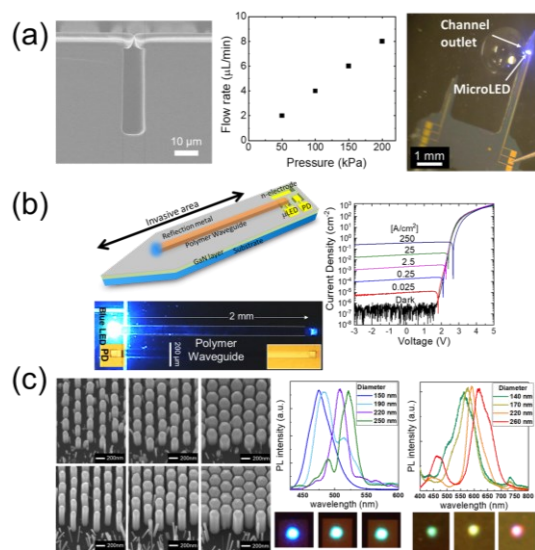


図 2. LED プローブへの集積技術 (a) 流路形成技術, (b) ポリマー導波路および LED 光検出技術, (c) 窒化物ナノ結晶による多色発光集積

面内の任意の領域を自在に光刺激するための基礎技術として独立駆動可能な 30 個のマイクロ LED アレイを開発・実装し、同一電流での駆動において均一性の高い発光出力分布が得られた。マイクロ LED 集積化技術の高度化に向けて、B イオン注入を用いた結晶絶縁化技術の確立により直径 3 $\mu\text{m}$  の極微細 LED の高密度集積に成功し、高い解像度での光刺激技術への可能性を切り拓いた。また素子の低抵抗化は発熱の抑制や高効率化の観点において重要であり、高ドーパ GaN:Ge 薄膜層導入による p 型 GaN 層へのトンネル接合を実現し、金属・半導体間において  $1 \times 10^{-7} \Omega \cdot \text{cm}^2$  という世界トップレベルの低コンタクト抵抗の実現に成功した。

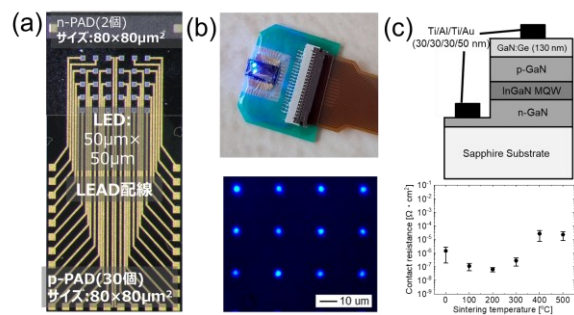


図 3. (a)  $\mu\text{LED}$  アレイの開発, (b) 発光写真, (c) GaN:Ge 薄膜層導入による低抵抗コンタクト形成

#### B-2: フレキシブルマイクロ LED / 脳波計測シートの開発

大脳皮質広域において効率よく安定に光刺激および同時脳波計測を実現するために、不規則な局面をもつ脳へと密着可能なフレキシブルシート型デバイスの実現が求められる。まずは脳波計測の実現に向けて、パリレン材料を用いてシート周囲を 13 $\mu\text{m}$ 、電極部を 3 $\mu\text{m}$  とした 32ch の膜厚複合型電極シートを開発し、脳への密着性と取り扱いの容易性の両性質を確保することに成功した。本シートを用いたマウスによる動物実験によりすべてのチャンネルから低ノイズで皮質脳波が計測され、感覚刺激や歩行に関連する脳波計測が得られることが実証された。

次に、このように脳に密着可能な電極シートと LED の一体集積化に向けた検討を進めた。市販される LED は大きさが 200 $\mu\text{m}$  角以上で厚みが 50 $\mu\text{m}$  以上と厚いためフレキシブルシート上に並べても高い柔軟性は得られない。そこで厚みが 5 $\mu\text{m}$  となるマイクロ LED 薄膜を並べることを提案し、薄膜層のみをピックアップするための中空構造形成技術と LED 転写技術の開拓に取り組んだ。初期的には XeF<sub>2</sub> を用いた等方性ガスエッチング法により LED 中空構造

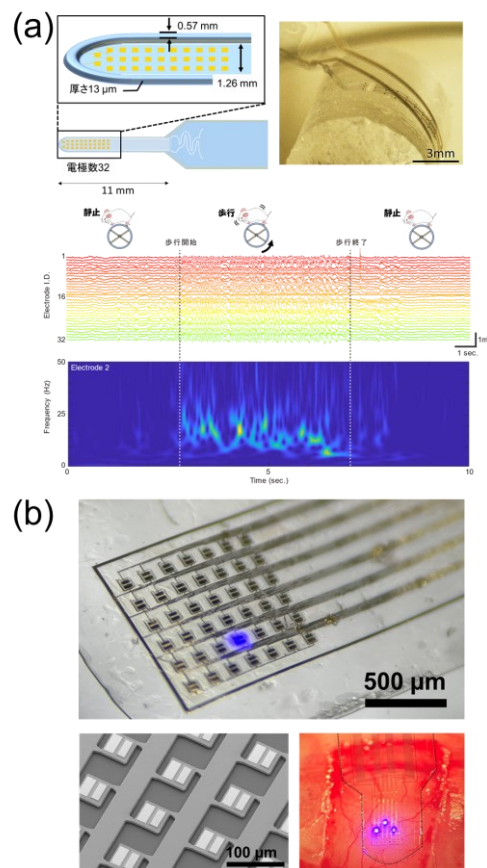


図 4. (a) 皮質脳波計測シートの作製と動物実験による脳波計測, (b)  $\mu\text{LED}$  フィルム, 中空構造の作製, 脳表での  $\mu\text{LED}$  の発光写真

の作製に成功したが、LED サイズおよび LED の高密度集積に課題を挙げられたため、KOH 溶液による Si 基板異方性エッチング技術を確認して、任意のサイズをもつマイクロ LED を高密度に集積化したマイクロ LED 中空構造の作製に成功した。その後、熱剥離機能シートを用いた転写技術の確立に取り組み、99%以上の転写率で回転ズレ・位置ズレすることなくパリレンシート上へのマイクロ LED の転写を成功し、薄くて軽く、曲げても光を照射する性能が低下しない多点マイクロ LED アレイ極薄フィルムを実現した。実際にマウスの脳表面に密着して光遺伝学実験に利用可能な明るい青色発光が得られることを実証した(原著論文1)。これらの開発技術を統合すれば、近い将来フレキシブルマイクロ LED/脳波計測シートが実現されるものと考えられる。

### 3. 今後の展開

針型 LED/神経電極プローブは、デバイスとしての実現の目途が立ち、動物実験へと活用を開始していくフェーズに入りつつあるが、より効果的な利用に向けては LED 発熱の抑制や安定した神経活動の記録、LED 駆動での発生が予測される神経電極への光・電気ノイズの発生が課題となる。動物実験によるフィードバックを得ながら、デバイス開発の改善を続けていくとともに、デバイス作製の歩留まりを上げるための技術開発が必要となる。また本取り組みでは LED との組み合わせまでは達成できなかった窒化物ナノ結晶を用いた多色集積化が今後求められていく。

フレキシブル皮質脳波シートは技術的な課題もクリアされ、脳波計測に利用できる段階に至っており、今後は 64ch 以上のより高密度の多点電極シートの作製開発が求められる。さらに脳に密着可能な  $\mu$ LED フィルムも技術基盤が確立され、今後動物実験に展開していくことが求められる。またマイクロ LED と電極シートの一体集積化までは至らなかったが、個々のデバイスの技術は確立できており実現に向けた主な問題点はクリアできているので半導体プロセス技術を精査し技術を高めることで1~2年の範囲の中でデバイスとしての完成を迎えると考えている。それ以降は、針型デバイスで予測されることと同様、動物実験を経て表面化する課題に対応してデバイスの改善を図っていく必要がある。今後は、神経科学者らとの連携をより強めて、新しい神経科学研究の開拓や将来的には医療技術への応用へと寄与していきたいと考えている。

### 4. 自己評価

本研究の目的は、新しい神経科学研究の開拓に向けて、LED デバイスにしかできない光操作計測技術を創出すべく、多点刺激、多色集積、神経活動の同時計測といったアドバンテージを有する LED 神経プローブの開発を行うことであった。これまでに培ってきたマイクロ LED 集積化技術を発展させることで、多点刺激、同時計測を可能にする針型 LED/神経電極プローブの実現に成功した。また本さがけ研究では、デバイス開発フェーズで終わることなく、動物実験での有効性を示し神経科学者らと連携することが求められていたが、開発デバイスを実装し、生体中での光操作、神経活動計測に成功することができたため、本プロジェクトは十分な成果が得られたものと考えている。また皮質脳波計測シートは実用レベルで利用できるところまで開発が進んでおり、アプローチ手段のない側頭皮質への電極設置ができる見込みがたつた。また高密度かつ微細にマイクロLEDの中空構造を形成す

る技術、熱剥離シートの適用による精度の高い一括転写技術の双方を確立することで薄く曲げられる脳に密着可能な LED フィルムの開発に成功した。今後これらの技術基盤を基礎にして、フレキシブル LED/皮質脳波計測シートの開発を行い、近い将来動物実験で活用していきたいと考えている。2 つのタイプのデバイス開発の成果は、それぞれ Japanese Journal of Applied Physics, Applied Physics Express に掲載したが、いずれも Spotlights 論文と呼ばれる注目論文に選出され、世の中の関心を集めた。

今後は、神経科学者らとの連携をさらに深めて、動物実験における長期安定性、光操作同時計測におけるノイズ除去等、実用化に向けたデバイスの改善を図っていき、革新的な生体光操作ツールを生み出したいと考えている。

さきがけ研究は、これまでに培ってきたマイクロ LED 集積化技術を、神経科学分野で活用しようと研究を開始した直後でのご支援であり、新たなフィールドを駆け出していく上で非常に大きな助けとなった。また本領域を通じて異分野の多くの研究者らと出会い、連携する機会を与えていただいたこと、七田総括を始めとして多くの関係者らに深く感謝したい。神経科学分野において真に求められるツールの実現のため、今後も着実に研究を進め、ここで築くことのできた新たな研究者ネットワークを通じて、社会に貢献していくつもりである。

## 5. 主な研究成果リスト

### (1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数:5件

1. H. Sekiguchi, H. Matsuhira, R. Kanda, S. Tada, T. Kitade, M. Tsutsumi, A. Nishikawa, A. Loesing, I. Fukunaga, S. Setogawa and N. Ohkawa, "Adhesionable flexible GaN-based microLED array film to brain surface for in vivo optogenetic stimulation", Applied Physics Express, 15, 046501 (2022). doi: 10.35848/1882-0786/ac5ba3

薄くて軽くて曲げることができるフレキシブルフィルムの利用を目指し、その上にサイズが 100 $\mu\text{m}$  以下と小さく厚さ数  $\mu\text{m}$  となる極微薄のマイクロ LED の多点配置を試みた。水酸化カリウム溶液による異方性ウェットエッチング法を適用することで、LED 層下部を選択的に除去し、高密度に配置されたマイクロ LED 中空構造を形成した。中空構造の形成により LED 層が基板から分離されたため、熱剥離シートを用いて一括で LED 層のみを剥がし、マイクロ LED および生体適合フィルムであるパリレンフィルムのどちらも損傷することなく、フィルム上にマイクロ LED を配列させることに成功した。この実装マイクロ LED フィルムは曲げても光照射特性が劣化することなく、実際にマウスの脳表面に密着して光遺伝学実験に利用可能な明るい青色発光が得られることを実証した。

2. H. Yasunaga, T. Takagi, D. Shinko, Y. Nakayama, Y. Takeuchi, A. Nishikawa, A. Loesing, M. Ohsawa, H. Sekiguchi\*, "Development of a neural probe integrated with high-efficiency MicroLEDs for in vivo application", Japanese Journal of Applied Physics, 60, 016503 (2021). doi:10.35848/1347-4065/abcffa

脳深部において選択的光刺激・同時計測を可能にするための 6 つのマイクロ LED と 15 個の神経電極を備えた LED 神経プローブを開発した。搭載する神経電極を用いて、局在フィールドポテンシャルおよび単一ニューロンからのスパイク信号が計測されることを示し

た。また広範囲の光刺激に向けた LED の高輝度化に向けて素子発熱の問題に着目し、搭載 LED の電力効率と温度上昇の関係性を明らかにした。発熱抑制に向けた効率改善策として Ag ミラー構造の導入を提案し、電力効率を 1.8 倍へと上昇できることを実証した。

3. H. Sekiguchi\*, H. Yasunaga, K. Tsuchiyama, R. Nitta, “Neural optical probe with monolithically integrated intensity-monitoring  $\mu$ LED and polymer waveguide for optogenetics”, *Electronics Letters*, 55, 619 (2019). doi:10.1049/el.2019.0300

脳深部へと刺入するための針型プローブ構造の形成技術を確認し、光遺伝学ツールとして活用するためのマイクロ LED、ポリマー導波路、逆バイアス下で利用する LED 光検出器を一体集積した LED/導波路/PD デバイスを開発した。LED 駆動における素子温度上昇を調べ、ポリマー導波路を用いることで光刺激部の温度上昇が抑制できる可能性を示した。また駆動 LED の光出力を、隣接 LED によって光出力の時間的変化をモニタリングできることを示した。

## (2) 特許出願

研究期間累積件数: 0 件

## (3) その他の成果 (主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

### <学会発表>

1. 関口 寛人, 安永弘樹, 中山雄晟, 前田吏輝, 新古大輔, 西川敦, Loesing Alexander, 稲波千尋, 大澤匡弘, 福永泉美, アンサンブルな脳神経活動の解明に向けたマイクロ LED ツールの開発, 第 81 回応用物理学会秋季学術講演会, 9p-Z03-7, オンライン開催, 2020 年 9 月. (招待講演)
2. H. Sekiguchi, H. Yasunaga, K. Yamane, A. Wakahara, Fabrication of neural optical probe using GaN-based blue  $\mu$ LED, The 7th International Conference on Light-Emitting Devices and Their Industrial Applications, Pacifico Yokohama, Kanagawa, Japan, April 24th, 2019. (Invited)
3. H. Sekiguchi, H. Yasunaga, K. Tsuchiyama, K. Yamane, H. Okada, A. Wakahara, Monolithic Integration of GaN-micro-LED and Si-MOSFET for Bio-application, The 26th International Display Workshops, FMC4/LCT4-3, Sapporo, Japan, November 27th-29th, 2019. (Invited)

### <プレスリリース>

1. 薄くて曲げられる多点マイクロ LED アレイ極薄フィルムで脳に光照射  
豊橋技術科学大学, 獨協医科大学, 沖縄科学技術大学院大学, 2022 年 3 月 18 日  
<https://www.eurekalert.org/news-releases/946737>  
<https://www.jst.go.jp/pr/announce/20220318-3/index.html>
2. Micro LEDs for medical applications: ALLOS' GaN-on-Si epiwafers are used for in-vivo brain/machine interface by Toyohashi University  
ALLOS GmbH, Toyohashi University of Technology, 2021 年 3 月 3 日  
<https://www.allos-semiconductors.com/news/brain-machine-interface-toyohashi-university/>