

論文内容の要旨

<博士論文題目> **Development of CMOS image sensors for subretinal stimulation and on-chip bioimaging of the brain**

「網膜刺激及び脳埋め込みオンチップイメージング用 CMOS イメージセンサの開発」

<氏名> **David Ng Chee Keong**

<論文内容の要旨> (1,200字程度)

バイオイメージングデバイスは医学的診断や工学的研究などに広く用いられている。従来のバイオイメージングデバイスは空間的、時間的な分解能に限界があり、適用分野が制限されている。本研究では、これらの分解能向上を目的として CMOS イメージセンサを適用したバイオイメージングデバイスの開発を行った。また、CMOS 技術によって作製したデバイスはイメージングだけでなく、電気刺激や電位検出機能などをワンチップに集積化することが可能であり、生体細胞や組織の形状や活動の観察に非常に有用であることが期待される。

【CMOS イメージセンサを用いたオンチップバイオイメージングの研究】

蛍光イメージングは、蛍光色素を用いた分子やタンパク質の検出技術として広く用いられている。本研究では、蛍光イメージング用 176×144 画素(QCIF)CMOS イメージセンサチップを設計、試作した。チップサイズは 2 mm×2.5 mm、画素サイズは 7.5 μm 角である。センサチップを *in vivo* 蛍光イメージングに適用するには、デバイスを小型薄型に実装し、低侵襲イメージングを実現する必要があった。実装には 150 μm 厚の CMOS センサチップをフレキシブル基板に貼り付けてエポキシ樹脂で包埋した。励起光除去フィルターとしてカラーレジストをデバイスの上にスピコートした。厚さ 3 μm のレジストで励起光抑圧-44 dB 以上を得た。一方、蛍光色素 AMC からの蛍光の透過率 80% 以上を達成した。実装したデバイスは厚さ 350 μm であり、小動物の脳を観察するときを与える組織へのダメージを最小限にできる。このデバイスを用いた脳機能イメージングとして、マウス脳海馬におけるセリンプロテアーゼの活性発現のイメージングを試みた。実験には非蛍光化した基質(VPR-MCA、PGR-MCA)を用いた。カニンニン酸(Kainic acid)を導入してプロテアーゼを分泌させ、基質を変化して AMC を生じさせた。蛍光イメージングにより脳のセリンプロテアーゼの活動を観察可能であることを明らかにした。その結果、プロテアーゼの時間経過及び反応開始を同定することに成功した。

【CMOS イメージセンサを用いた人工視覚デバイスの研究】

人工視覚デバイスは、CMOS イメージセンサに電気刺激機能を付加したデバイスを眼球内に埋植し、失明患者の網膜への 2 次元的な電気刺激により視覚を再生させることを目的としたデバイスである。人工視覚デバイスには、網膜細胞刺激に適した刺激パルス波形任意制御、細胞の刺激閾値以上の電荷注入が不可欠である。本研究では、16×16 画素の CMOS 人工視覚デバイスを設計・試作した。試作したデバイスの画素は、パルス周波数変調方式(PFM)フォトセンサと刺激回路、100 μm 角の刺激電極パッドで構成されている。刺激電流値は 3 ビット線形及び指数的に増幅回路で調節される。生理食塩水中への刺激電流注入実験を行い、刺激パルス波形の任意制御および 400 μA(細胞の刺激閾値以上)の電流出力を達成した。

以上のように、本研究では CMOS 技術を用いてバイオイメージング用及びバイオインターフェイス用デバイスの開発を行い、その性能を評価し、生体細胞や組織の形状や活動の観察に非常に有用であり、その応用の可能性を実証した。 以上

(論文審査結果の要旨)

バイオイメージングは、医学的診断や工学的応用などに極めて重要かつ魅力的な新技術分野である。本研究では、従来不可能だった脳深部の高解像度 *in vivo* イメージングを目的として、CMOS 技術によるバイオイメージングデバイスの開発を行うとともに、人工視覚をターゲットに想定した CMOS 技術による撮像・神経刺激デバイスを開発した。

本博士論文は、CMOS 技術のメリットを活かして、以下に示すような優れた技術成果や新規の知見を得て纏めたものである。

1. 蛍光イメージングするためにパルス幅変調(PWM)方式とパルス周波数変調(PFM)方式 CMOS フォトセンサ回路を設計・試作・評価した。PWM 方式フォトセンサによる蛍光イメージングではダイナミックレンジ約 120dB、蛍光色素濃度約 1 nM の検出が実証された。
2. センサチップを *in vivo* 蛍光イメージングに適用するためには、デバイスを小型薄型に実装し、低侵襲イメージングを実現する必要がある。本研究では、センサチップの新しい実装方法を開発し、実装したデバイスを用いて *in vitro* 脳スライスイメージングに成功した。また、センサの解像度は脳の形態学的観察に十分使用可能であることを確認した。
3. *In vivo* 模擬実験を行うために、脳ファントムを作製した。ファントムはアガロースゲル 1%とスキムミルク濃度 6.4%で作製され、マウス脳の光学特性とほぼ同じである。脳ファントムを用いて *in vivo* 模擬実験を行い、深さ 500 μm までのイメージングが可能であることを明らかにした。また、*in situ* 蛍光イメージングを行い、*in vivo* 蛍光イメージング実験の最適条件（励起光：波長 387 nm, 20 μW ）を示した。
4. 実装したデバイスを用いて初めて *in vivo* 脳機能イメージングに成功した。実験には非蛍光化した基質(VPR-MCA, PGR-MCA)を用いた。カイニン酸(KA : Kainic acid)を導入することによりプロテアーゼを分泌させ、基質を変化して AMC を生じる。蛍光イメージングにより脳のセリンプロテアーゼの活動を観察が可能である。その結果、プロテアーゼの時間経過(5 時間以上)及び反応開始(腹腔内に KA を導入して約 1 時間 30 分後)が正確に同定された。
5. 人工視覚デバイスには、細胞に適した刺激を行うための刺激パルス波形任意制御、細胞の刺激閾値以上の電荷注入が不可欠である。刺激電流値は増幅回路により 3 ビット線形及び指数的に調節される。生理食塩水中への刺激電流注入実験を行い、刺激パルス波形の任意制御および 400 μA (細胞の刺激閾値以上)の電流出力を達成した。
6. バイオイメージングやバイオセンシングデバイスを湾曲して使用する場合がある。本研究で、PFM 式フォトセンサをベースにした LSI デバイスの歪依存性を調べた結果、人間眼球の曲率に曲げたときの PFM の出力周波数変化は 4%以下であった。この測定結果はシミュレーションした結果と一致し、曲げによる性能劣化が許容できることを実証した。

以上のように、本論文は、CMOS 技術によるバイオイメージングデバイス及び人工視覚用神経刺激デバイスの研究開発に関するもので、得られた独創的な先端融合技術及び新しい知見は学術上極めて有意義であるばかりでなく工学的にも高い価値を有している。

よって、本博士論文審査及び最終試験の結果、審査員一同は David Ng Chee Keong の本論文が博士(工学)の学位論文として高い価値を有するものであると評価し、合格と認めた。

以上