

論文内容の要旨

博士論文題目

Application of CMOS-based devices for dual-site fluorescent imaging of pain processing brain regions

(痛み関連神経ネットワーク回路解明に向けた CMOS 蛍光イメージングデバイスのマウス脳内複数同時埋植に関する研究)

氏 名 Rebusi Romeo Brioso

(論文内容の要旨)

本研究は、マウス脳内に複数同時埋植した超小型 CMOS 蛍光イメージングデバイスが痛み関連神経ネットワーク回路の解明に有用であることを示したものである。

第1章では、本研究の背景と目的、および論文の構成について記述し、第2章ではマウス脳内埋植デバイスについて、現状と研究室における開発の経緯について述べるとともに、本研究の主眼である痛み関連神経ネットワーク回路研究の現状を記載している。

第2章では、デバイス実装とデバイスの改良について述べている。ニードル形状の蛍光イメージングデバイスを脳深部に正確に埋植できるように構造上の改良を行い、その結果埋め込み精度を向上させることに成功した。

第3章では、デバイス埋植方法について述べている。デバイスを埋め込むための手術方法に改良を行い、非常に小さな脳領域のターゲットのイメージングを可能とした。また2か所同時埋植方法についても記載をしている。

第4章では、標準的なホルマリンテストを適用した実験について方法とその結果について述べている。改良したデバイスを実際にマウスに適用し、ホルマリンテストを実施した。このテストは、低濃度のホルムアルデヒドをネズミの後肢に皮下注射することで痛みを誘発し、観察する標準的な方法である。本研究では GCaMP6 トランスジェニックマウスの左後肢に注射を行った。この実験では2個のデバイスを同時埋植し、痛みの体験である侵害受容の際の蛍光ニューロン活動データを収集した。対象となる脳領域は、痛みの処理に関与している右半球の中心扁桃体 (CeLC) と背側縫線核 (DRN) である。また、マウスが痛みを感じていることを確認するために、注射した後肢を舐めるという動作の行動データも収集した。これらのデータから、脳内蛍光の増加は侵害受容と相関していることが明らかになった。また、蛍光を発するタイミングは、ホルマリン試験で予想される2相性の痛みの反応と一致した。

第5章では、ホルマリン試験とフォン・フライの触覚試験を組み合わせた実験について方法とその結果について述べている。脳領域のターゲットは以前と同じである。これ

により痛覚過敏や痛みによる触覚過敏の兆候が観察できる。様々な硬さのフォン・フライ・フィラメントを用いて、ホルマリンと生理食塩水を注射したマウスの後肢に触覚を刺激し、ホルマリン由来の炎症性疼痛が触覚過敏を引き起こすかどうかを調べた。蛍光イメージングによる神経細胞活動計測結果では、グループ間で活動の違いが見られた。蛍光の強度は、マウスの痛覚過敏の有無と関連していた。

第6章では、本研究の成果と今後の展望について述べている。

(論文審査結果の要旨)

本研究は、超小型 CMOS 蛍光イメージングデバイスをマウス脳内複数同時埋植することで痛み関連神経ネットワーク回路解明を目指したものである。ニードル形状の蛍光イメージングデバイスを脳深部に正確に埋植できるように構造上の改良を行い、その結果埋め込み精度を向上させることに成功した。また、デバイスを埋め込むための手術方法にも改良を行った。これにより、非常に小さな脳領域のターゲットのイメージングを可能とした。

改良したデバイスを実際にマウスに適用し、ホルマリンテストを実施した。このテストは、低濃度のホルムアルデヒドをネズミの後肢に皮下注射することで痛みを誘発し、観察する標準的な方法である。本研究では GCaMP6 トランスジェニックマウスの左後肢に注射を行った。この実験では 2 個のデバイスを同時埋植し、痛みの体験である侵害受容の際の蛍光ニューロン活動データを収集した。対象となる脳領域は、痛みの処理に関与している右半球の中心扁桃体 (CeLC) と背側縫線核 (DRN) である。また、マウスが痛みを感じていることを確認するために、注射した後肢を舐めるという動作の行動データも収集した。これらのデータから、脳内蛍光の増加は侵害受容と相関していることが明らかになった。また、蛍光を発するタイミングは、ホルマリン試験で予想される 2 相性の痛みの反応と一致した。

さらに、このデバイスの有用性を検証するために、デバイスを 2 個同時埋植したマウスを用いてホルマリン試験とフォン・フライの触覚試験を組み合わせた実験を行った。脳領域のターゲットは以前と同じである。これにより痛覚過敏や痛みによる触覚過敏の兆候が観察できる。様々な硬さのフォン・フライ・フィラメントを用いて、ホルマリンと生理食塩水を注射したマウスの後肢に触覚を刺激し、ホルマリン由来の炎症性疼痛が触覚過敏を引き起こすかどうかを調べた。蛍光イメージングによる神経細胞活動計測結果では、グループ間で活動の違いが見られた。蛍光の強度は、マウスの痛覚過敏の有無と関連していた。

以上の結果、デバイス構造や手術方法の改良により、埋め込みの正確さと再現性が向上し、改良したデバイスは痛み関連神経ネットワーク回路解明に有用であることが実証された。これらの研究成果は、超小型蛍光イメージング埋込デバイスを他の方法に適用するための基礎として利用することができる。今後本技術を発展させることで、脳内神経ネットワーク回路解明に資するデバイスへの展開が可能であり、その成果は、学術的に新しい知見を見出していると判断され、審査委員一同は、本論文が博士（理学）の学位論文として価値あるものと認めた。