

平成 30 年 6 月 27 日現在

機関番号：14603

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26249051

研究課題名(和文) 脳内双方向通信マイクロフォトニックデバイスの研究

研究課題名(英文) Study on microphotonic devices with bidirectional brain communication

研究代表者

太田 淳(Ohta, Jun)

奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科・教授

研究者番号：80304161

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 31,000,000円

研究成果の概要(和文)：研究項目として(1)埋植デバイス高性能化、(2)ネットワーク回路との双方向通信、(3)生体外通信方式の確立の3つを実施した。埋植デバイス高性能化では極めて薄く低ダメージ化を狙ったチップを完成させた。また撮像と光刺激回路をデバイス上に実装し、細胞とデバイスとの双方向光電気通信を実現した。これらの機能を用いて複数の部位の神経活動の計測とパターン刺激を行うとともに、神経ネットワークとの双方向通信を行うことを試みた。生体外通信方式では、生体外への無線データ伝送について実施した。画像データを効率よく伝送する方式についての検討を行った。

研究成果の概要(英文)：We achieved (1) the improvement of performance of implantable devices, (2) bidirectional communication with neural networks, and (3) the establishment of out-body communication method. In high performance of implantable devices, an ultra-thin device with low-induced damage are developed and fabricated. The both functions of imaging and optical stimulation are integrated on a device and demonstrated a bidirectional communication with neural cells. In addition, we achieved optical measurement and stimulation in multiple points. Out-body communication is demonstrated in wireless manner and also demonstrated a method to transmit image data effectively.

研究分野：光電子工学

キーワード：イメージセンサ 埋植デバイス 蛍光検出 オプトジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

脳神経科学において、GFP (Green Fluorescence Protein), 二光子顕微鏡, 光トポグラフィ・NIRS (Near Infrared Spectroscopy), 光刺激など光技術の果たす割合はますます重要となっている。特にGFPやChR (Channel Rhodopsin) など遺伝子改変技術と組み合わせた光遺伝学は、従来の電気生理では困難な、特異的、局所的な神経応答や刺激が可能な手法として必須のものとなっている。

一般にこれらの手法では光学顕微鏡を用いるため、実験動物であるマウスやラットを麻酔下拘束状態で計測することが基本となる。しかし、記憶や学習機構の研究には迷路歩行などの行動実験のために自由行動が必要であり、またうつや統合失調症などの神経疾患の解明には覚醒下 (非麻酔下) での実験が必要となるが、光学顕微鏡を用いた従来手法では、非麻酔下、自由行動下での計測には限界がある。

これらの点を解決するため、近年図1(a)に示すようなマウス頭部に搭載した小型顕微鏡デバイス [1]や光ファイバ光学系 [2]により自由行動下での神経活動計測を目指した研究が行われ、一定の効果をあげている。しかし、光ファイバやケーブル等がない完全自由行動は実現できておらず、また脳表や脳内の浅い部分でのしかも限定された視野における計測となっているのが現状である。

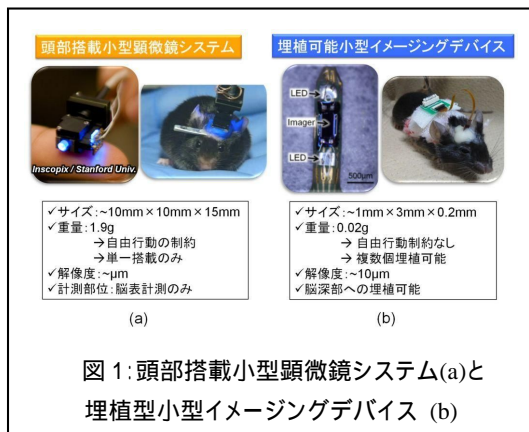


図1: 頭部搭載小型顕微鏡システム(a)と埋植型小型イメージングデバイス (b)

本研究代表者はJST-CRESTにより脳内埋植可能な小型イメージングデバイス「バイオメディカルフォトニックLSI」の開発を進め、有線ながら自由行動下でのマウス脳深部の組織である海馬における脳機能活動計測を実現してきた (図1(b)) [3], [4]。頭部搭載小型顕微鏡デバイスと比較して、小型軽量であり、脳深部における神経活動を広範囲に計測でき、オンチップ電極により電気刺激・計測や、光刺激用発光素子搭載により光刺激も実現できる。すなわち、脳深部における広範囲なマルチモーダルな計測・刺激を非麻酔下、自由行動下で可能とするデバイスである。

また研究代表者は H23-25 年度科研費基盤

研究(A)により「マイクロコミュニケータ - 超低侵襲生体・半導体インターフェイスデバイス -」を実施し、バイオメディカルフォトニックLSIを小型化・分散配置することで広範囲な計測を低侵襲な埋植で実現するデバイスを目指した (図2) [5]。また多数の埋植デバイス間の通信を脳内に直接信号を出力する脳内通信で行うことを提案し基礎実証を行ってきた[6]。研究代表者は以上のようなフォトニックデバイスの脳内埋植における一連の研究を通じて、フォトニックデバイスの脳神経活動計測の可能性を確信すると共に、更に脳にとって重要な機能でありまた適切な計測装置がない自由行動下での脳内ネットワーク回路の計測・刺激を可能とするシステムの創成が必須であるとの結論に至った。

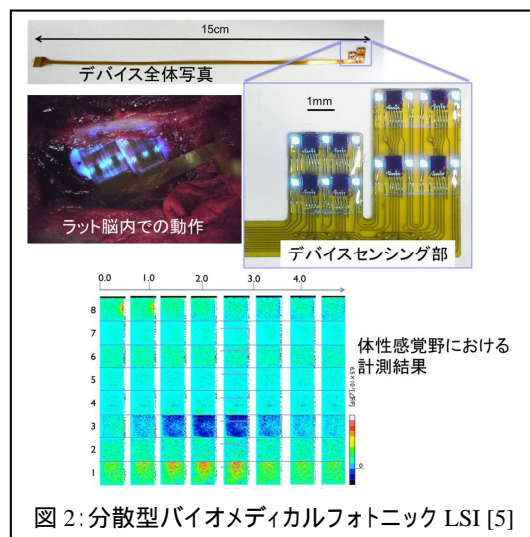


図2: 分散型バイオメディカルフォトニックLSI [5]

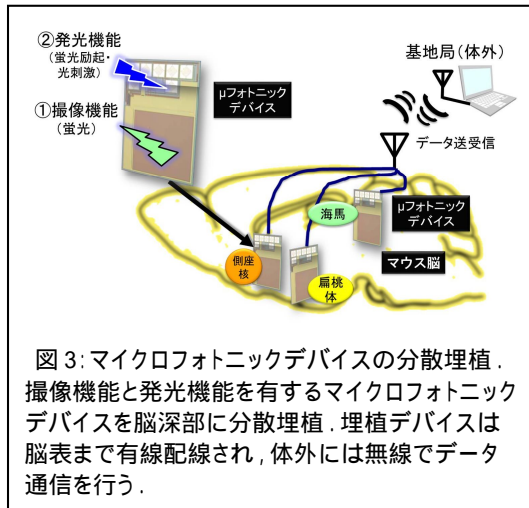
[1] K.K. Ghosh, et al. Nature Methods, 8, 871, 2011. [2] J. Sawinski et al., PNAS 106, 19557, 2009. [3] D.C. Ng et al., Sensors & Actuators A, 145-146, 176, 2008. [4] H. Tamura et al. J. Neuroscience Methods, 173 114, 2008. [5] T. Kobayashi et al., Biosensors and Bioelectronics 53, 31, 2013. [6] K. Sasagawa et al., IEEE BioCAS, Taiwan, 2012.

2. 研究の目的

本研究は、脳内に分散的に埋植したマイクロフォトニックデバイスと神経回路との双方向の情報のやり取りを実現し、脳内の双方向マイクロフォトニックデバイスを創成することを目的とする (図3)。生体内に複数個完全埋植可能なマイクロフォトニックデバイスの実現にとどまらず、自由行動下で神経系と双方向に情報の授受を可能とするシステム実現を目指す。具体的には以下を明らかにする。

- (1) デバイス高性能化: マウス脳内に埋植可能で、蛍光画像取得機能, 光電気刺激機能を搭載したマイクロフォトニックデ

- バイスの実現．
- (2) ネットワーク回路との双方向通信：マウス脳内に分散埋植したマイクロフォトニックデバイスと神経回路との相互通信機能の実現．具体的な埋植部位としては海馬と扁桃体を想定し，情動と記憶機能のネットワーク回路計測を実施する．
 - (3) システム無線化：システムの無線化を実現．生体内の埋植デバイスは有線とし，体外へのデータを無線伝送する．無線系も含めてシステム全体はバッテリー駆動とするが，電力伝送の可能性も検討する．



3. 研究の方法

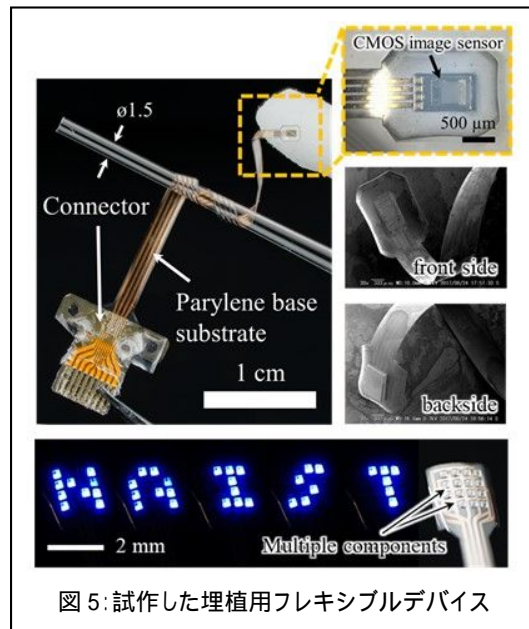
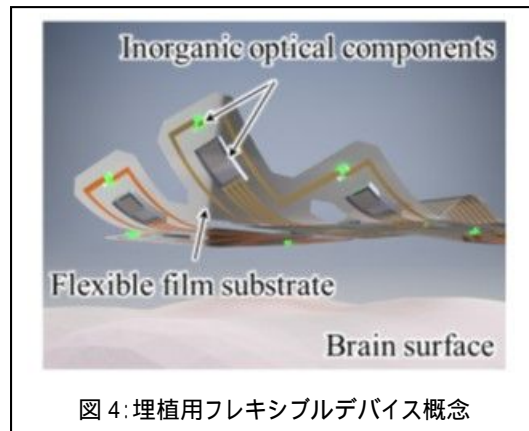
研究項目として(1)埋植デバイス高性能化，(2)ネットワーク回路との双方向通信，(3)生体外通信方式の確立の3つを実施する．埋植デバイス高性能化では極めて薄く低ダメージを狙ったチップを完成させる．また撮像と光電気刺激回路をデバイス上に実装し，細胞とデバイスとの双方向光電気通信を実現する．これらの機能を用いて複数の部位の神経活動の計測とパターン刺激を行い，神経ネットワークとの双方向通信を行う．生体外通信方式では，生体外への無線データ伝送について実施する．画像データを効率よく伝送する方式についての検討も行う．

4. 研究成果

(1)埋植デバイス高性能化

埋植型イメージングデバイスには，高い時間・空間分解能とともに，より広い視野範囲かつより侵襲性が低く，光学的にも優れた特性を持つデバイス構造が必要である．そこで，平坦な有機薄膜上に極めて低背に複数の半導体素子を実装したデバイス形態を提案し(図4)，それを実現するプロセス技術を開発した．また，これを用いて埋植可能なイメージングデバイスを試作し，実際に脳機能に関わる血流動態のイメージングに成功した．デバイスは高いフレキシブル性を示し，顕著なダメージなしに軟弱な生体組織間に埋植可能であった．開発したプロセス技術は高い歩

留まりを得ることができ，複数センサ配置による広範囲観察への展開も見込まれる(図5)．



(2)ネットワーク回路との双方向通信

光による双方向通信を実現するために，神経細胞活動の計測と光刺激を行った．Ca イオンインディケータである R-GECO1 と光感受性イオンチャネルである ChR2 を共発現させた細胞 (Neuro2a) をデバイス上で培養した(図6)．試作デバイスは，ChR2 刺激用の青色 LED と R-GECO1 励起用の緑色 LED をイメージセンサ周囲に実装している．イメージセンサ表面には，赤色蛍光を選択的に検出できるフィルターが形成されている．これにより光刺激光源や蛍光励起光源の光ではなく，蛍光だけを検出することが可能である．

本デバイスを用いて，青色光刺激により細胞の興奮を，緑色励起光により細胞興奮を赤色蛍光で検出することに成功した(図7)．これによりネットワーク回路との双方向光通信への可能性を示すことができた．次にマウス脳に同じく R-GECO1 と ChR2 を発現させ光刺激と蛍光検出を試みたが現状では蛍光の検出はできていない．これは R-GECO1 の蛍光強度が弱いためと考えられる．GCaMP は蛍光強度は強いが R-GECO1 のように光刺激，蛍光励

起，蛍光のスペクトルが明確に分離できないため計測に困難が伴う．今後の検討が必要である．

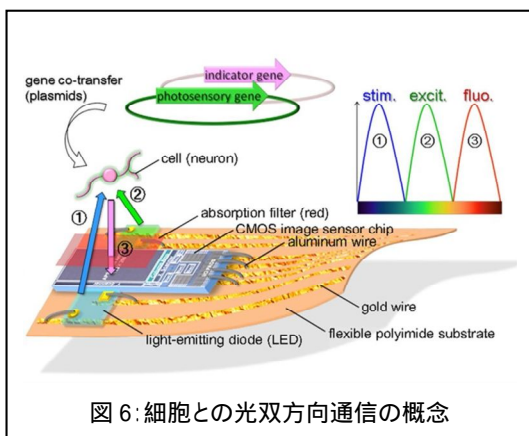


図 6:細胞との光双方向通信の概念

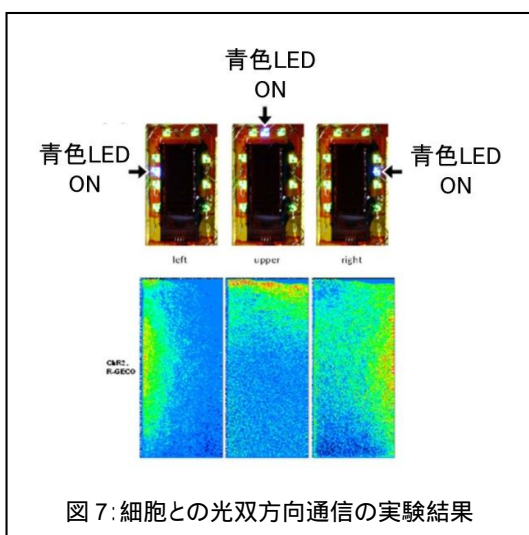


図 7:細胞との光双方向通信の実験結果

(3)生体外通信方式の確立

生体内に埋植したイメージセンサによって取得した画像を外部へ無線で伝送するシステムを考案した．図 8 に提案する埋植型多点撮像デバイスのコンセプトを示す．本デバイスでは，複数のイメージセンサが取得した情報を，PWM 出力を表す矩形波として出力する．出力信号に合わせて LED 光源を点滅させることで，センサを埋め込まれたマウスと外部回路間での配線の排除を狙った．信号線を排除し，独立した電源系を集積させることで配線接続によるマウスの行動制限を大幅に緩和することができる．光源には，生体に対して透過性がよい近赤外光を用いた．シリコン基板上に形成されたイメージセンサで計測可能な波長は 300 nm-1100 nm の波長帯であるため，その領域に重ならない 1300 nm の近赤外光を用い，無線通信を試みた．

試作した小型デバイスのイメージセンサをマウス脳表上に配置し，各イメージセンサの画像を赤外線 LED の ON/OFF により送信した．図 9 に複数のイメージセンサで取得し，近赤外線によって受信回路に入力したマウス脳表血管像を示す．各画像で明るさにバラつき

があるものの，異なる箇所の血管像を撮像することができた．本実験より，複数のイメージセンサで取得した画像を配線なしで生体外で取得する方法を確立できた．

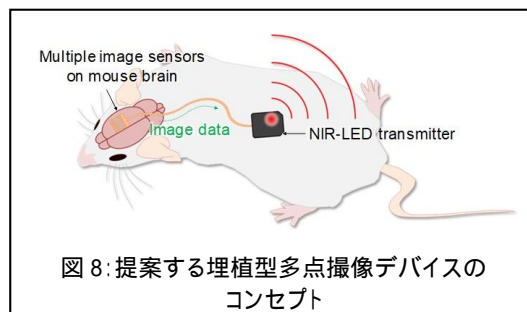


図 8:提案する埋植型多点撮像デバイスのコンセプト

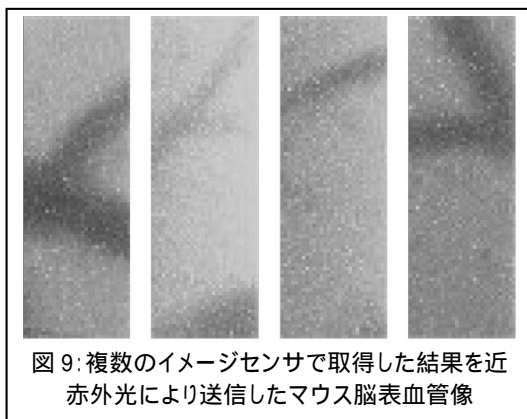


図 9:複数のイメージセンサで取得した結果を近赤外光により送信したマウス脳表血管像

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 15 件)

- J. Ohta, Y. Ohta, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, M. Haruta, T. Kobayashi, Y.M. Akay, M. Akay, "Implantable microimaging device for observing brain activities of rodents," Proc. IEEE, 査読有, 105(1), 158-166, 2017. DOI: 10.1109/JPROC.2016.2585585
- H. Takehara, H. Hayami, K. Nagata, Y. Ohta, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, "Implantable micro-sized image sensor for data transmission with intravital optical communication," IET J. Eng., 査読有, 2017(1), 4-6, 2017. DOI: 10.1049/joe.2016.0311
- H. Hayami, H. Takehara, K. Nagata, M. Haruta, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda and J. Ohta, "Wireless Image-Data Transmission from an Implanted Image Sensor through a Living Mouse Brain with Intra-Body Communication," Jpn. J. Appl. Phys., 査読有, 55(4S), 04EM03, 2016. DOI: 10.7567/JJAP.55.04EM03

T. Yamaguchi, H. Takehara, Y. Sunaga, M. Haruta, M. Motoyama, Y. Ohta, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, "Implantable self-reset CMOS image sensor and its application to hemodynamic response detection in living mouse brain," Jpn. J. Appl. Phys., 査読有, 55(4S), 04EM02, 2016. DOI: 10.7567/JJAP.55.04EM02

H. Takehara, Y. Katsuragi, Y. Ohta, M. Motoyama, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, and J. Ohta, "Implantable micro-optical semiconductor devices for optical theranostics in deep tissue," Appl. Phys. Exp., 査読有, 9(4), 047001, 2016. DOI: 10.7567/APEX.9.047001

T. Kobayashi, M. Haruta, K. Sasagawa, M. Matsumata, K. Eizumi, C. Kitsumoto, M. Motoyama, Y. Maezawa, Y. Ohta, T. Noda, T. Tokuda, Y. Ishikawa, J. Ohta, "Optical communication with brain cells by means of an implanted duplex micro-device with optogenetics and Ca²⁺ fluoroimaging," Sci. Rep., 査読有, 6(21247), 1-13, 2016. DOI: 10.1038/srep21247

T. Tokuda, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, J. Ohta, "CMOS-Based Optoelectronic On-Chip Neural Interface Device," IEICE Trans. Electron., 査読有, E99-C(2), 165-172, 2016. DOI: 10.1587/transle.E99.C.165

Y. Sunaga, H. Yamaura, M. Haruta, T. Yamaguchi, M. Motoyama, Y. Ohta, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, Y. Yoshimura, J. Ohta, "Implantable Imaging Device for Brain Functional Imaging System using Flavoprotein Fluorescence," Jpn. J. Appl. Phys., 査読有, 55(3S2), 03DF02, 2016. DOI: 10.7567/JJAP.55.03DF02

K. Sasagawa, T. Yamaguchi, M. Haruta, Y. Sunaga, H. Takehara, H. Takehara, T. Noda, T. Tokuda, J. Ohta, "An Implantable CMOS Image Sensor with Self-Reset Pixels for Functional Brain Imaging," IEEE Trans. Electron Dev., 査読有, 63(1), 215-222, 2016. DOI: 10.1109/TED.2015.2454435

T. Yamaguchi, Y. Sunaga, M. Haruta, M. Motoyama, Y. Ohta, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, "Fluorescence imaging under background light with a self-reset CMOS image sensor," J. Eng., 査読有, 2015(11), 328-330, 2015. DOI: 10.1049/joe.2015.0046

H. Takehara, Y. Ohta, M. Motoyama, M. Haruta, M. Nagasaki, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, "Intravital fluorescence imaging of mouse brain using implantable semiconductor devices and epi-illumination of biological tissue,"

Biomed. Opt. Exp., 6(5), 査読有, 1553-1564, 2015. DOI: 10.1364/BOE.6.001553

M. Haruta, Y. Sunaga, T. Yamaguchi, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, "Intrinsic signal imaging of brain function using a small implantable CMOS imaging device," Jpn. J. Appl. Phys., 査読有, 54(4S), 04DL10-1-04DL10-6, 2015. DOI: 10.7567/JJAP.54.04DL10

H. Hayami, Y. Ishii, K. Sasagawa, T. Noda, T. Tokuda, J. Ohta, "Digital signal transmission from fully implantable CMOS image sensor in simulated body environment," Electron. Lett., 査読有, 50(12), 851-853, 2014. DOI: 10.1049/el.2014.0765

M. Haruta, C. Kitsumoto, Y. Sunaga, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, "An implantable CMOS device for blood-flow imaging under freely moving experiments of rats," Jpn. J. Appl. Phys., 査読有, 53(4S), 04EL05, 2014. DOI: 10.7567/JJAP.53.04EL05

H. Takehara, K. Miyazawa, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, S.H. Kim, R. Iino, H. Noji, J. Ohta, "A CMOS image sensor with stacked photodiodes for lensless observation system of digital enzyme-linked immunosorbent assay," Jpn. J. Appl. Phys., 査読有, 53(4S), 04EL02-1- 04EL02-5, 2014. DOI: 10.7567/JJAP.53.04EL02

[学会発表](計10件)

K. Sasagawa, M. Haruta, T. Yamaguchi, H. Hayami, K. Nakamoto, K. Fujimoto, Y. Sunaga, Y. Ohta, T. Noda, T. Tokuda and J. Ohta, "Implantable Imaging Devices for Observation of Neural Activities," The 2017 International Conference on Brain Informatics(BI2017), Grand Gongda Jianguo Hotel, China, 2017/11/16.

Y. Ohta, M. Kawahara, Y. Sunaga, M. Haruta, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta "Visualizing neural activities in mouse brain under stress and protease activities using implantable imaging device," NEUROSCIENCE 2017, Walter E. Washington Convention Center, Washington DC, USA, 2017/11/15.

H. Hayami, M. Haruta, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, "Multi-area Imaging Device by Using Implantable Image Sensors for Simple Brain Functional Imaging," 2016 GLOBAL RESEARCH EFFORTS ON ENERGY AND NANOMATERIALS, GIS TAIPEI TECH Convention Center, Taiwan, 2016/12/24.

K. Sasagawa, T. Yamaguchi, M. Haruta, Y. Sunaga, Y. Ohta, H. Takehara, H. Takehara,

T. Noda, T. Tokuda, J. Ohta, “An Implantable Needle Shape Image Sensor with an On-Chip Thinned LED,” 2016 International Conference on Solid State Devices and Materials (SSDM2016), Tsukuba International Congress Center, Tsukuba, 2016/9/28.

Y. Ohta, M. Motoyama, M. Haruta H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, Visualizing neuronal activities of the deep brain in a freely-moving mouse by using implantable micro imaging devices, Neuroscience2015, McCormick Place Convention Center, Chicago, USA, 2015/10/18.

H. Hayami, K. Nagata, M. Haruta, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, Wireless Data Transmission in a Brain Tissue with Intra-Body Communication by a Micro-Sized Image Sensor, 2015 International Conference on Solid State Devices and Materials, Sapporo Convention Center, Hokkaido, Japan, 2015/9/28.

T. Yamaguchi, Y. Sunaga, M. Haruta, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, Improvement of Power Consumption and SNR of Self-reset Pixels for an Implantable CMOS Image Sensor, 2015 International Conference on Solid State Devices and Materials, Sapporo Convention Center, Hokkaido, Japan, 2015/9/28.

H. Takehara, M. Haruta, Y. Ohta, M. Motoyama, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, Implantable semiconductor imaging devices for in vivo optical imaging of brain, The Optics in the Life Sciences Congress, Optics and the Brain, Pinnacle Vancouver Harbourfront Hotel, Canada, 2015/4/15.

Y. Sunaga, M. Haruta, T. Yamaguchi, M. Motoyama, Y. Ohta, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, J. Ohta, An Implantable Green Fluorescence Imaging Device Using Absorption Filters with High Excitation Light Rejection Ratio, Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS 2014), SwissTech Convention Center, Lausanne, SWITZERLAND, 2014/10/23.

H. Hayami, K. Sasagawa, H. Takehara, T. Noda, T. Tokuda, J. Ohta, An Implantable Subminiature PWM Image Sensor Based on Body Channel Communication, International Conference on Solid State Devices and Materials (SSDM), Tsukuba International Congress Center, Tsukuba, 2014/9/11.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

<http://mswebs.naist.jp/LABs/pdslab/index-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

太田 淳 (OHTA, Jun)

奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科・教授

研究者番号：80304161

(2) 研究分担者

田村 英紀 (TAMURA, Hideki)

星薬科大学・先端生命科学研究センター・特任准教授

研究者番号：80437516

(3) 連携研究者

徳田 崇 (TOKUDA, Takashi)

奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科・准教授

研究者番号：50314539

笹川 清隆 (SASAGAWA, Kiyotaka)

奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科・助教

研究者番号：50392725

野田 俊彦 (NODA, Toshihiko)

奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科・助教

研究者番号：20464159

(4) 研究協力者

なし