

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22098

研究課題名(和文) ナノ粒子によるアップコンバージョンを用いた光遺伝学用完全埋植・光無線神経プローブ

研究課題名(英文) Fully implantable and optical wireless neural probe for optogenetics using upconversion nanoparticle

研究代表者

田中 徹 (TANAKA, Tetsu)

東北大学・医工学研究科・教授

研究者番号：40417382

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、ナノ粒子によるアップコンバージョンを利用し、経皮で近赤外光が届かない標的部位の非侵襲光操作(抑制・興奮)を可能にする体内完全埋植型の光無線神経プローブを実現することを目的としている。今回、アップコンバージョンナノ粒子を利用した体内完全埋植型の光無線神経プローブの作製プロセスを確立するとともに、近赤外光照射による可視光発光を発光するアップコンバージョン神経プローブを実現した。また、近赤外光照射部と発光部が離れているアップコンバージョン神経プローブの作製にも成功した。これらの成果は、種々の病気の発生機序の解明や安全な治療の開発に繋がる重要な成果と言える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、アップコンバージョンナノ粒子を利用した体内完全埋植型の光無線神経プローブの作製プロセスを確立するとともに、近赤外光照射による可視光発光を発光するアップコンバージョン神経プローブを実現した。また、近赤外光照射部と発光部が離れているアップコンバージョン神経プローブの作製にも成功した。これらの成果は、種々の病気の発生機序の解明や安全な治療の開発に繋がる重要な成果と言える。

研究成果の概要(英文)：This study aims to realize a fully implantable optical wireless neural probe by using nanoparticle upconversion. This neural probe enables non-invasive optical manipulation (inhibition and excitation) of target areas where near-infrared light cannot reach by transcutaneous means. This study established a fabrication process of an optical wireless neural probe fully implantable in the body using upconversion nanoparticles. We realized an upconversion neural probe that emits visible light when irradiated with near-infrared light. We have also succeeded in fabricating an upconversion neural probe in which the near-infrared light-irradiating part and the light-emitting part are separated from each other. These results are important for elucidating the development of various diseases and developing safe treatments.

研究分野：半導体工学・神経工学

キーワード：神経プローブ 光遺伝学 アップコンバージョン

1. 研究開始当初の背景

人間の神経活動を非侵襲的に記録・解析・制御することは、神経回路の生理メカニズムの解明だけでなく、神経疾患に対する長期安全な治療や Brain-Machine interface を利用した新しい応用を実現するために非常に重要である。従来、神経活動の非侵襲的記録や刺激は電気や磁気を用いて経皮的に行われてきたが、実効的な方法と呼べるものではなかった。一方、K. Deisseroth と八尾の各グループがチャンネルロドプシン 2 (ChR2) を発現させた神経細胞の膜電位を光によって制御できることを、それぞれ 2005 年と 2006 年に世界に先駆けて発表した。その後、種々のロドプシンや光感受性タンパク質を用いて神経活動を光によって操作する光遺伝学 (オプトジェネティクス) という学術分野が確立し、世界中で精力的に研究が進められている。

光遺伝学において In-vivo の神経活動を光操作する方法は主に 4 種類ある。中でも頭蓋内に埋植した光ファイバを用いる侵襲的手法が最も代表的である。しかし太い光ファイバを脳深部に刺入することは侵襲性が大きく、光操作の標的部位が制限されるという欠点がある。LED を搭載したシリコン製の神経プローブを用いると、標的部位の制限はかなり解決されるが、侵襲的である上に LED からの発熱による損傷がある。光ファイバを搭載したシリコン神経プローブは簡易な構造で発熱もないが、侵襲性の問題は解決されていない。2014 年にランタニドナノ粒子 (LNP) によるアップコンバージョンを利用した抑制性の光操作方法が八尾らによって開発された。これは Yb³⁺ や Er³⁺ をドープした LNP に波長の長い (エネルギーが小さい) 近赤外光を照射し、多段階励起された系が基底状態に戻るときに放出する波長の短い (エネルギーが高い) 可視光で、チャンネルロドプシンを操作する方法である。ドープメントの種類やドーズ量を変えることで吸収波長と発光波長を制御できる。この方法は神経細胞膜近傍に発現させた LNP に外部から近赤外光を照射する光操作で、完全に非侵襲的である。しかし、近赤外光の到達する部位の神経細胞しか操作することができず、サルなど大型動物の光操作や将来的な人の脳深部刺激 (Deep Brain Stimulation) への応用は極めて難しい。

2. 研究の目的

本研究は、(1) ナノ粒子によるアップコンバージョンを利用し、経皮で近赤外光が届かない標的部位の非侵襲光操作 (抑制・興奮) を可能にする体内完全埋植型の光無線神経プローブを実現すること、(2) サル等大型動物の光操作や、標的部位 (脳) から遠く離れた部位 (手足等) への近赤外光照射による神経活動の操作を可能にすることを目的としている (図 1 参照)。この目的を達成することは、オプトジェネティクスを脳深部刺激 (Deep Brain Stimulation) やてんかん治療等の人の医療に適用することの端緒を開くと考えている。

従来、手足の振戦を伴うアルツハイマーやジストニア、急な発作を伴うてんかんは服薬による治療が行われているが、薬の効かない難治性の場合には脳深部刺激やてんかん焦点の除去などの外科的治療に頼らざるを得ず、体内埋植電池を使った脳深部電気刺激を恒久的に行うことになっていた。しかしながら、開頭手術や数年毎の埋植電池の交換手術が必要なために、患者にとっては肉体的にも経済的にも大きな負担となっている。本研究で開発する技術によって、病気の発生機序が神経学的に明らかにされ、有線の電気による脳深部刺激やてんかん焦点刺激が、光による無線の非侵襲刺激に変われば、過電圧・過電流による刺激や電池の漏電等の人体への電氣的ダメージが無くなり、治療の安全性が飛躍的に向上することになる。

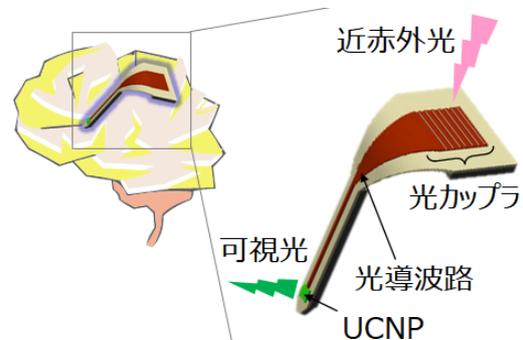


図 1 ナノ粒子によるアップコンバージョンを用いた光遺伝学用完全埋植・光無線神経プローブ

3. 研究の方法

研究目的を達成するためには、ロドプシンや光感受性タンパク質を発現させた大型動物の脳深部等の標的部位にアップコンバージョン用ナノ粒子 (Up-Conversion Nano-Particle; UCNP) を近接留置すること、及び近赤外光が届く部位に UCNP を留置することの相反する課題を解決する必要がある。本研究では、シリコン神経プローブ上の照射部位と発光部位をフレキシブルな光導波路で接続することで、両部位の遠隔配置を可能にする。標的部位に UCNP を近接留置するために、シリコン神経プローブ先端に UCNP を混合した感光性塗布膜を任意の形状でパターンニング作製して発光部位とする。シリコン神経プローブ上に、近赤外光を伝搬可能なフレキシブル光導波路と、垂直に入射する近赤外光を水平方向の光導波路に伝搬する光結合器 (光カップラ) を有する照射部位

を作製する。ドーパントの種類やドーズ量を変えることで近赤外光から種々の波長の可視光を照射可能な UCNP を設計作製する。作製した光無線神経プローブを実験動物に完全埋植し、照射部位(例えばマウスの足)と発光部位(マウスの脳)の距離を離れた状態で光操作可能か検証するシステムを作製する。研究代表者の田中は半導体プロセス・デバイス・集積回路の専門家であり、UCNP 材料と光無線神経プローブ構造の設計を担当する。研究協力者である八尾は光遺伝学の世界的権威であり、光無線神経プローブを用いた動物実験を担当する。必要に応じて、UCNP 材料設計にも加わる。

4. 研究成果

2019 年度は、破碎分級処理によって粒子径を数ミクロンまで均一化した UC ナノ粒子を、生体適合性フレキシブル材料でもある感光性塗布膜中に高濃度・均一に拡散するプロセス技術、及び任意形状の UC ナノ粒子発光領域を神経プローブの任意領域に作製するプロセス技術を確立した。このプロセス技術を用いて UC ナノ粒子光無線神経プローブを作製し、近赤外光照射による青・緑・赤の各色の発光に成功した(図 2 参照)。また、作製した UC ナノ粒子光無線神経プローブを用いて動物実験を行い、マウスの脳内埋め込みと近赤外光照射実験を行って脳内で発光させることにも成功している。UC ナノ粒子の標的部位への留置と近赤外光による非侵襲光操作を可能にする最も有効な方法を確立でき、これは光遺伝学の生体応用における重要な成果である。さらに UC ナノ粒子を混合した生体適合性フレキシブル薄膜表面に光結合器(グレーティングカップラ)構造を作製するプロセス技術を確立し、近赤外照射光の薄膜内伝搬にも成功している。今年度は、これらの成果を応用物理全般に関する国際会議で発表し、該当分科において最も高い評価を受けた。

2020 年度は、生体適合性フレキシブル有機材料を基材とする UC プローブに関して、UCNP による可視光の発光部だけを先に形成し、その後、プローブ本体となる有機材料を二重成膜・加工するプロセスを開発した。これによって UCNP 発光部と照射部を分離すること、及び UCNP 発光を照射部まで UC プローブ内伝播させることが可能になった。つまり、近赤外光が直接届かない標的部位の非侵襲光操作を可能にする体内完全埋植型光無線神経プローブの作製に成功した。さらに、UC プローブ内伝播中の光損失を低減するために、照射部以外をカバー材料で覆うことを提案し、プロトタイプを作製を行った。これによって UCNP 発光の照射部への到達率を数倍に大きくすることに成功した。今年度は、これらの成果を応用物理全般に関する国際会議で発表し、該当分科において最も高い評価を受けた。

本研究では、アップコンバージョンナノ粒子を利用した体内完全埋植型の光無線神経プローブの作製プロセスを確立するとともに、近赤外光照射による可視光発光を発光するアップコンバージョン神経プローブを実現した。また、近赤外光照射部と発光部が離れているアップコンバージョン神経プローブの作製にも成功した。これらの成果は、種々の病気の発生機序の解明や安全な治療の開発に繋がる重要な成果と言える。

(謝辞)

本研究への JSPS 科研費 19K22098 助成に関し、心より感謝申し上げます。

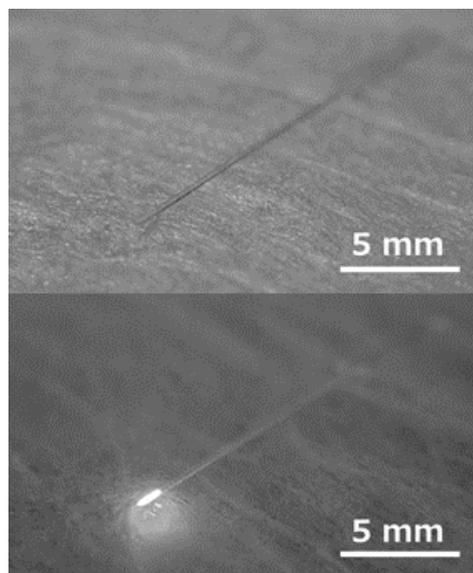


図 2 作製した UC ナノ粒子光無線神経プローブの写真
(上)近赤外光照射なし
(下)近赤外光照射あり

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Fen Yang, Shota Urayama, Haruki Nagasaki, Hisashi Kino, Takafumi Fukushima, Tetsu Tanaka
2. 発表標題 Fabrication and Evaluation of Neural Recording Microelectrode on Opto-Neural Probe with Upconversion Nanoparticles Light Emitter
3. 学会等名 2020 International Conference on Solid State Devices and Materials (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shota Urayama, Fen Yang, Haruki Nagasaki, Hisashi Kino, Takafumi Fukushima, Tetsu Tanaka
2. 発表標題 Development of Optical Waveguiding Neural Probe with Upconversion-Nanoparticle Light Emitter for Optogenetics
3. 学会等名 2020 International Conference on Solid State Devices and Materials (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 楊 芬、浦山 翔太、長崎 春樹、木野 久志、福島 誉史、田中 徹
2. 発表標題 Effect of Light Emission on Recording Electrodes of Opto-Neural Probe with Upconversion Nanoparticles
3. 学会等名 第68回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長崎 春樹、浦山 翔太、楊 芬、木野 久志、福島 誉史、田中 徹
2. 発表標題 多段階励起による発光現象を用いた 光遺伝学用神経メッシュプロブの提案と作製
3. 学会等名 第68回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shota Urayama, Hisashi Kino, Takafumi Fukushima, and Tetsu Tanaka
2. 発表標題 Development of Wireless Opto-Neural Probe with Upconversion Nanoparticles (UCNP) for Optogenetics
3. 学会等名 2019 International Conference on Solid State Devices and Materials (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浦山 翔太、木野 久志、福島 誉史、田中 徹
2. 発表標題 光遺伝学用UCNPオプト神経プローブの発光強度特性評価
3. 学会等名 第80回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 虫明 元、田中 徹、片山 統裕、小山内 実	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 202-220(総ページ: 371)
3. 書名 マウス・ラット モデル作製・解析プロフェッショナル 第3章 生理機能の解析 4. 多機能整理計測プラットフォーム	

1. 著者名 Makoto Osanai, Hideki Miwa, Atsushi Tamura, Satomi Kikuta, Yoshio Iguchi, Yuchio Yanagawa, Kazuto Kobayashi, Norihiro Katayama, Tetsu Tanaka, Hajime Mushiake	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 471-479(総ページ: 663)
3. 書名 Optogenetics: Light-Sensing Proteins and Their Applications in Neuroscience and Beyond (Advances in Experimental Medicine and Biology, 1293) 31 Multimodal Functional Analysis Platform: 1. Ultrathin Fluorescence Endoscope Imaging System Enables Flexible Functional Brain Imaging	

1. 著者名 Tetsu Tanaka, Norihiro Katayama, Kazuhiro Sakamoto, Makoto Osanai, Hajime Mushiake	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 481-491(総ページ: 663)
3. 書名 Optogenetics: Light-Sensing Proteins and Their Applications in Neuroscience and Beyond (Advances in Experimental Medicine and Biology, 1293) 32 Multimodal Functional Analysis Platform: 2. Development of Si Opto-Electro Multifunctional Neural Probe with Multiple Optical Waveguides and Embedded Optical Fiber for Optogenetics	

1. 著者名 Norihiro Katayama, Mitsuyuki Nakao, Tetsu Tanaka, Makoto Osanai, Hajime Mushiake	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 493-500(総ページ: 663)
3. 書名 Optogenetics: Light-Sensing Proteins and Their Applications in Neuroscience and Beyond (Advances in Experimental Medicine and Biology, 1293) 33 Multimodal Functional Analysis Platform: 3. Spherical Treadmill System for Small Animals	

1. 著者名 Hajime Mushiake, Tomokazu Ohshiro, Shin-ichiro Osawa, Ryosuke Hosaka, Norihiro Katayama, Tetsu Tanaka, Hiromu Yawo, Makoto Osanai	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 501-509(総ページ: 663)
3. 書名 Optogenetics: Light-Sensing Proteins and Their Applications in Neuroscience and Beyond (Advances in Experimental Medicine and Biology, 1293) 34 Multimodal Functional Analysis Platform: 4. Optogenetics-Induced Oscillatory Activation to Explore Neural Circuits	

〔産業財産権〕

〔その他〕

田中(徹)・木野/福島研究室 http://www.lbc.mech.tohoku.ac.jp/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	八尾 寛 (Yawo Hiromu)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関