

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K13278

研究課題名(和文)新規神経賦活手法を用いた複合型人工視覚

研究課題名(英文)Combined Visual Prosthesis with a Novel Neural Stimulation

研究代表者

末松 尚史(Suematsu, Naofumi)

大阪大学・工学研究科・助教

研究者番号：30779517

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：人工視覚における近赤外レーザー光刺激の有用性評価を目的として、マウス視覚野に912 nm(細胞膜の主要構成物質である脂質による吸収率が比較的高い)のレーザー光パルスを与えた際の神経細胞発火率の変化を測定した。同手法によって惹起される発火率変化は、通常の視覚刺激によって惹起される変化と比較して小さく、あまり有効な刺激・抑制手法ではないことが示唆された。同時に、人工視覚研究分野における動物を用いた視知覚評価のための、検出課題学習系の構築も行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究分野は、失明患者の視覚を取り戻すこと目指している。

本研究課題で得られた成果はそのものは、残念ながら今後の機器開発等に積極的に活かせるものでは無かったが、今回確認した条件は有効ではない可能性があるということが分かった。これは今後の同分野における基礎研究において、次に確かめるべき条件への足掛かりとなる。

研究成果の概要(英文)：For the purpose of the evaluation of the near-infrared laser stimulation in the visual prosthesis, I measured changes of neural firing rate in the mouse visual cortex induced by 912-nm laser pulses. The induced changes were smaller than the ones induced by a standard visual stimulus, suggesting that this stimulation condition is not efficient for neural activity manipulations.

Also I constructed a detection-task training system for evaluating animals' visual perception in the research field of the visual prosthesis.

研究分野：神経科学

キーワード：神経補綴 視覚野 近赤外レーザー光刺激 人工視覚

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

世界保健機関の発行した「Global data on visual impairment 2010」によると、世界中で視覚障害に苦しむ患者は推定 2 億 8 千 5 百万人にも上り、内 3 千 9 百万人が失明患者である。これは 200 人に 1 人以上という高い比率で失明患者が存在するというを示しており、その治療法確立は急務の課題である。失明原因別に見ると、白内障が 51%と最も多く、緑内障 8%、加齢黄斑変性症 5%などが続く。これらの内、白内障は濁った水晶体の代わりに眼内レンズを挿入する外科手術により治療の可能な場合もあるものの、緑内障や加齢黄斑変性症、その他網膜色素変性症など、網膜並びに視神経に原因がある場合には、滲出型加齢黄斑変性症を除けば、治療法は確立されていないのが現状である。そのため現在世界中で、これら視覚障害に苦しむ患者の視覚再建を目的として、人工視覚技術(視覚経路に電気刺激を与え賦活し、視覚を補綴する技術)の研究が進められている。その内の一つが、大脳皮質視覚野を刺激対象とした「皮質刺激型人工視覚」である。この技術には主に面電極もしくは刺入型電極による電気刺激が用いられる。前者は比較的多くの電流が必要であり、且つ刺激範囲が広くなる。結果として再建される視覚は大きく粗い光点となってしまう、小さく細かい物体の情報を与えるには不向きである。また後者は、小電流・高解像度であるものの、侵襲度が高いという問題点がある。適用疾患が広く、より高解像度、より低侵襲な人工視覚技術のためには、従来型とは異なる刺激手法が必要である。そこで本研究では、電極刺入の必要が無く、かつ局所の刺激が可能となることを期待して、近赤外レーザー光を用いた神経刺激手法の有用性評価を目指した。

2. 研究の目的

失明患者の視覚再建を目指した人工視覚技術の研究が世界中で進められているが、侵襲度の高さや再建される視覚の解像度の低さなど、未だ発展すべき余地が大きい。近年、電極刺入や遺伝子導入の必要が無く、より微小な領域の神経賦活手法として近赤外レーザー光刺激が、主に聴覚分野の研究で用いられている。本研究では、同刺激手法を大脳皮質一次視覚野に適用した際に誘発される神経活動の計測を通して、皮質内刺激型人工視覚システムにおける有用性を評価することを目的とした。また、人工視覚研究分野における動物を用いた視知覚評価のための、行動実験系構築を目指した。

3. 研究の方法

近赤外レーザー光刺激の視覚皮質神経細胞活動への効果を検証する実験には、頭部固定条件下のマウスを用いた。ガス麻酔(イソフルラン, 2%, 0.2 l/min)条件下で頭部固定フレームを取り付け、覚醒条件下での刺激・記録を行った。手術時には腹腔内アトロピン注射唾液等の分泌を抑え、筋肉内デキサメタゾン注射により浮腫等の炎症を抑えた。動物頭部を固定した状態で刺激(直径 200 μm 光ファイバー, 912 nm)・計測(細胞外電位記録, NeuroNexus A1x16-5mm-50-177-A16, 50 kHz)を行った。計測後のデータに対してオフラインスパイクソーティング(複数の細胞活動が混ざった波形を個別細胞の活動に切り分ける)を行い、個々の神経細胞の活動を抽出及

びレーザー光刺激由来のノイズの除去を行った。行動実験にはガス麻酔条件下で頭部固定フレームを装着したマウスを用いた。課題学習期間中は体重を記録し、週齢を基準にして計算される標準体重もしくは学習開始時の体重の 80%を

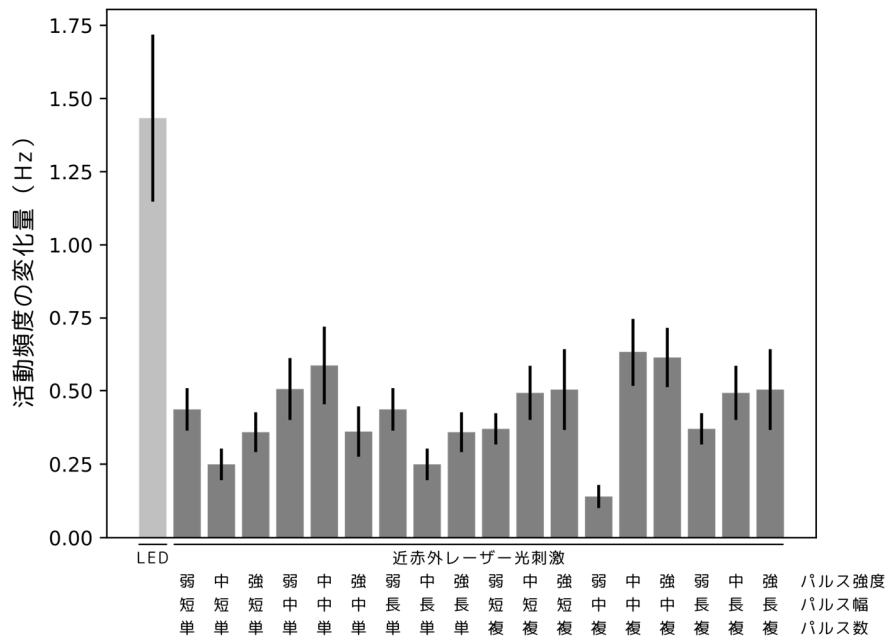


図 1: 神経活動頻度の変化量。LED 点灯の 100 ミリ秒前後の活動頻度の変化が 2 割以上の神経細胞のデータのみ抽出。縦軸は各刺激開始 100 ミリ秒前後の活動頻度変化量の絶対値。下段表は刺激条件。パルス強度の弱、中、強は約 2、50、100 ミリワット。パルス幅の短、中、長は 200、400、800 マイクロ秒。パルス数の単、複は単発、10 発 (100 Hz)。平均値 ± 標準誤差。

下回らない程度の摂水制限を設け、報酬として与える水の価値を高めた。

4. 研究成果

近赤外レーザー光刺激による神経細胞の賦活原理として、細胞に熱を与えることによる細胞膜の容量成分の変化が挙げられる (Shapiro et al., 2012)。本研究では脂質 (細胞膜の主要構成物質) による吸光率が高い 920 nm (Allen et al., 2012) 付近 (912 nm) のレーザー光を用い、神経細胞による熱の吸収が多く、近赤外レーザー光刺激の効果が高まることを期待した。スパイクソーティングによって神経細胞様の活動波形が得られていても、LED 点滅に対する応答が惹起されない場合は今回の解析から除外した。LED の点灯に応じた活動頻度変化と比較して、近赤外レーザー光刺激試行においては低い活動頻度変化しか得られなかった (図 1)。この結果から、視覚皮質神経細胞の賦活 (もしくは抑制) 手法として、波長 912 nm の近赤外レーザー光刺激は有効ではない可能性が示唆された。水の吸光率の高い波長は他にも存在する (1210 nm など)。今後それらの波長を用いた実験も必要である。

行動実験系構築を目的として、頭部固定条件下マウスに視覚刺激検出課題を課すシステムを作成した。マウス眼前に設置した LED の点灯時にマウスが給水口を舐めることで、電磁弁操作により短時間水報酬を与えた。試行間の待ち時間はランダムに設定し、LED 点灯に関係無く時間経過で給水口を舐めるという学習が成立することを防いだ。待ち時間中に給水口を舐めると、その待ち時間をリセットした。課題学習初期には LED 点灯からマウスが給水口を舐めるまでの経過時間は様々な値を取っていたが、中期・後期と学習が進むにつれて徐々にその経過時間は短くなっていった (図 2、1 段目から 3 段目)。このことから、このマウスには課題学習が成立した (LED

点灯中に給水口を舐めれば水報酬が得られると覚えたとみなし、視覚皮質への電気刺激を行う試行をランダムに挿入したところ、電気刺激を与えてから給水口を舐めるまでの経過時間はLED点灯のものと類似の傾向を示した(図2、4段目)。しかしながら、「待ち時間中に一定時間経過後に給水口を舐め、水報酬が得られなければ少し長い時間経過後に再度舐める(つまり電気刺激に応じて舐めているのではない可能性がある)」という行動が一部の試行において観察出来たため、この実験系では電気刺激によって惹起された行動を評価するのは困難であると考えた。そのため今後は、正答しない限りは水報酬が得られない弁別課題を導入した行動実験システムを用いた行動評価が必要である。

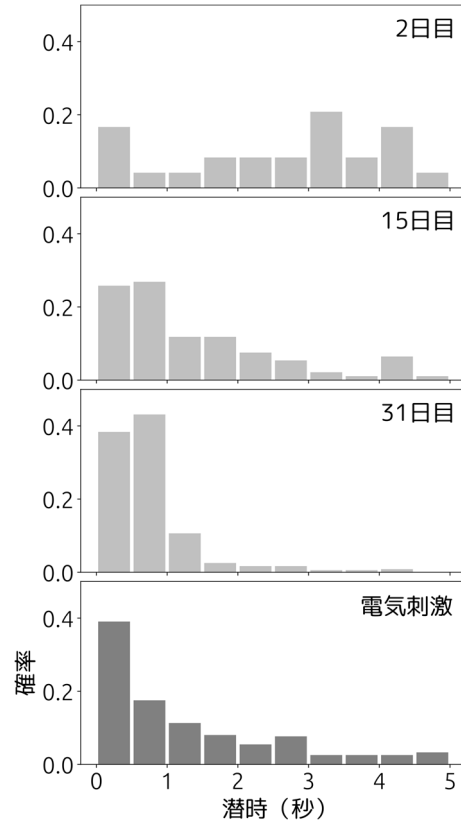


図2: 検出課題成績。横軸はLED点滅開始もしくは視覚皮質への電気刺激開始から、給水口を舐めるまでの経過時間。

参考文献

Shapiro, M. G., Homma, K., Villarreal, S., Richter, C.-P., & Bezanilla, F. (2012). Infrared light excites cells by changing their electrical capacitance. *Nature Communications*, 3, 736. <https://doi.org/10.1038/ncomms1742>

Allen, T. J., Hall, A., Dhillon, A. P., Owen, J. S., & Beard, P. C. (2012). Spectroscopic photoacoustic imaging of lipid-rich plaques in the human aorta in the 740 to 1400 nm wavelength range. *Journal of Biomedical Optics*, 17(6), 061209. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.6.061209>

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 de Levy Oliveira Lucas, Suematsu Naofumi, Yagi Tetsuya	4. 巻 None
2. 論文標題 Spatiotemporal Analysis of Simultaneous Repetitive Electrical Stimulation with Voltage Sensitive Dye	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 2018 IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1109/BIOCAS.2018.8584719	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Soshi Miyamoto, Naofumi Suematsu, Yuichi Umehira, Yuki Hayashida, Tetsuya Yagi	4. 巻 7
2. 論文標題 Age-related changes in the spatiotemporal responses to electrical stimulation in the visual cortex of rats with progressive vision loss	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14165
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-14303-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 末松尚史、萩原一誠、宮本崇司、菅祥平、大越知樹、八木哲也
2. 発表標題 人工視覚によって誘発される光覚の行動学的評価
3. 学会等名 視覚科学フォーラム 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 L. L. Oliveira, N. Suematsu, T. Yagi
2. 発表標題 Spatiotemporal Analysis of Simultaneous Repetitive Electrical Stimulation with Voltage Sensitive Dye
3. 学会等名 2018 IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Ogoshi, S. Miyamoto, N. Suematsu, T. Yagi
2. 発表標題 Trans-dural electrical stimulation to rodent visual cortex with round-tip pressing electrode
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naofumi Suematsu, Kouki Takatani, Yuki Hayashida, Yuka Okazaki, Tetsuya Yagi
2. 発表標題 Quantitative Characterization of Neural Responses Induced by Microstimulation in Mice Visual Cortex for Designing a Visual Prosthetic Stimulation
3. 学会等名 The Eye and The Chip 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Naofumi Suematsu https://scholar.google.com/citations?user=6AfELI1AAAAJ

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