

令和元年6月17日現在

機関番号：14603

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K16652

研究課題名(和文) 小型脳活動・血流計測CMOSイメージングデバイスによる脳血管障害回復過程の解明

研究課題名(英文) Implantable device for measuring cerebral blood flow, neural activities and animal behaviors

研究代表者

春田 牧人(Haruta, Makito)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教

研究者番号：40733663

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：脳機能低下時や脳機能回復過程における血流変化が及ぼす影響を解明するために、自由行動実験で使用可能な超小型脳機能測定デバイスの開発を行った。脳機能低下や脳機能回復過程の血流変化を観察するためには、長期的かつ安定して脳表の血流を観察できるデバイスが必要である。本研究では、Fiber optic plateを用いた”Chronic FOP window”を開発し、1ヶ月以上の長期脳表計測を可能にした。本研究成果より、脳血流と脳活動、および行動の関連メカニズムの解明が期待できる。今後メカニズムの解明が進めば、脳血管障害治療に大きく貢献できると考える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳機能低下時や脳機能回復過程における血流変化が及ぼす影響を解明するために、自由行動実験で使用可能な超小型脳機能測定デバイスの開発を行った。特に、脳機能回復過程を詳細に調べるためには、1週間以上の長期に渡って安定して脳表観察を実現する必要がある。そのため、長期間の脳表脳機能測定を目的とし、新手法を用いた超小型脳機能測定デバイスの開発を行った。本手法では1ヶ月以上の長期観測を実現した。これにより、脳障害前後および回復過程における脳表観測を実現できるため、脳機能回復メカニズムの解明が期待できる。また、脳機能回復を目指した治療法開発や新薬開発において本手法を用いることで開発を推進することが可能になる。

研究成果の概要(英文)：For understanding mechanism of the cerebrovascular disease, we have observed brain activities and blood-flow in a small animal. We have developed a chronic blood-flow imaging device for long-time observing brain activity and blood-flow simultaneously. This device has a CMOS image sensor mounted on a small electronic substrate, a light source with green LEDs. In addition, we have improved an implantation method of the device. We make a special chronic window on a small animal head. The new method allowed observation of the brain surface for more than one month in an animal. Our chronic blood-flow imaging device contributes to development of therapy of the cerebrovascular disease.

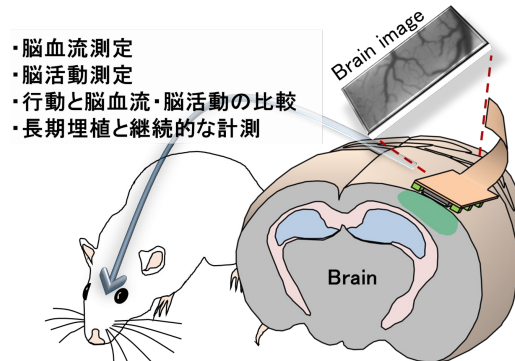
研究分野：生体計測デバイス

キーワード：CMOSイメージセンサ 脳機能イメージング 脳血流計測 生体埋植デバイス 自由行動実験 脳血管障害 長期計測 蛍光計測

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、脳血管障害の発症者数は増加傾向にある。脳血管障害は血栓や動脈瘤等により脳血流に障害が起き、脳機能に障害をきたす疾患である。脳血管内治療は脳血管障害からの脳機能の回復において重要な治療であり、関心が高い。脳機能の回復過程を理解するためには、回復過程における脳内で起きる事象を経時的に計測する必要がある。脳梗塞における臨床研究では、脳梗塞発症後の回復過程における脳機能と血流の継続的な動向を観察する手法として、非侵襲的な MRI (磁気共鳴画像診断) による脳機能損傷部位の計測と MRA (磁気共鳴血管造影) による血管の閉塞部位の特定が行われる [1]。これらの研究では発症からの回復過程における脳機能と血流の関係を観察する。血流に関する実験においては、血栓による虚血部位周辺で血管新生やバイパス血管が構築されることが報告されている [2]。しかし、基礎研究では小型の実験動物の脳機能を観察する機会が多く、脳機能回復の継続的な観察は困難であることが現状である。MRI や MRA をラットやマウスといった小形動物に応用している研究も行われているが、動物を拘束する必要があり脳機能の回復過程を経時的に観察することが困難である。そこで、本研究計画では小型実験動物の脳に埋め込み可能なイメージングデバイスであれば、継続的な脳観察に加え、脳機能の回復と動物の行動の関係を調査することが可能になると考えた (図 1)。



生体埋め込み CMOS イメージングデバイス

図 1. CMOS イメージングデバイスの概要

本研究計画では、生体埋め込み CMOS イメージングデバイスにより小型実験動物における脳機能および脳血管の継続的な計測を実現する。

[1]J. G. Merino et al., Nat. Rev. Neurol., Vol. 6, No. 10, pp. 560–57 (2010)

[2]C. B. Schaffer et al. PLoS Biol., Vol. 4, No. 2, p. e22(2006)

### 2. 研究の目的

脳血管障害における脳機能回復メカニズムを詳しく理解するためには、脳血管障害モデル動物を使用し、障害発症から回復過程における脳機能と血流と行動の関係を観察する必要がある。しかし、モデル動物の脳機能と血流と行動を同時に観察する事が困難なために実現されていない。そこで本研究計画では CMOS イメージセンサ技術を応用し、自由行動実験においてマウスの脳における血流と脳機能の同時計測を実現する小型生体埋め込みデバイスを開発し、血流変化が引き起こす脳機能低下過程の観察、血流回復による脳機能回復メカニズムの解明を行う。さらに、行動実験中の脳機能計測が可能な小型生体埋め込み脳機能計測デバイスの特徴を活かし、リハビリテーションによって促進される脳機能回復のメカニズム解明に貢献する。

### 3. 研究の方法

脳虚血による脳機能疾患の進行過程やリハビリによる脳機能の回復過程を理解するためには、脳機能だけでなく、脳内血管の状態を同時に理解する必要がある。また、脳機能疾患からの脳機能の回復と動物の行動回復の関係を解明するためには、動物の自由行動下における脳機能計測技術が必要となる。本研究で開発する生体埋め込み脳機能計測デバイスは、小型化により、動物の行動をほとんど制限せずに高精度な脳機能計測を実現することが可能となる。また、1つのデバイスに複数の機能を搭載することで、自由行動下においても、脳内血管と脳機能を同時に計測可能にする。また、長期脳血流計測を実現するために、デバイスの設置方法の検討を行う。

### 4. 研究成果

脳機能低下時や脳機能回復過程における血流変化が及ぼす影響を解明するために、自由行動実験で使用可能な超小型脳機能測定デバイスの開発を行った。本年度は長期間の脳表脳機能測定を目的とし、新手法を用いた超小型脳機能測定デバイスの開発を行った。

脳機能低下や脳機能回復過程の血流変化を観察するためには、長期的かつ安定して脳表の血流を観察できるデバイスが必要である。本研究室では、Fiber optic plate を用いた "Chronic FOP window" を開発し、1ヶ月以上の長期脳表計測を可能にした。さらに、Chronic FOP window 設置後約1週間のマウスにおいて行動実験中の脳表血流計測を行い、脳刺激による血流応答およびマウスの行動変化を計測することに成功した (図 2)。本研究成果

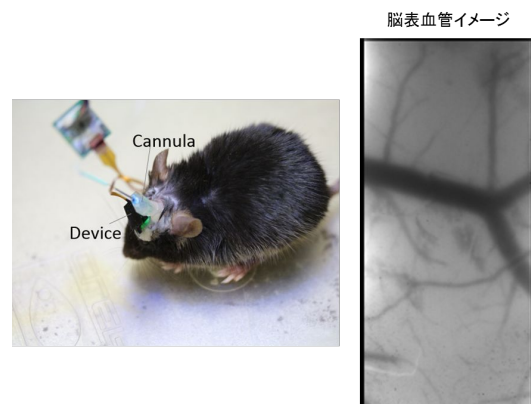


図 2. Chronic FOP window 設置マウスと脳表血流イメージング画像

は、"Chronic brain blood-flow imaging device for a behavior experiment using mice" として論文発表を行った。

次に、Chronic FOP window に対応した血流と脳機能の同時計測を実現する超小型脳機能測定デバイスの開発を行った。このデバイスでは、2色のLED光源と励起光除去用光学フィルタを搭載することで、血流と脳活動の同時計測を実現した。本実験では神経細胞内のカルシウムイオン濃度変化を検出するプローブである GCaMP6 を発現した遺伝子組み換えマウスを使用した。脳刺激後に蛍光変化および血流変化の両方が起きていることを超小型脳機能測定デバイスで観察することに成功した。本研究成果は、"A chronic blood-flow imaging device for a small animal's brain in a behavior experiment" として国際学会で発表を行った。本研究成果より、脳血流と脳活動、および行動の関連メカニズムの解明が期待できる。今後メカニズムの解明が進めば、脳血管障害治療に大きく貢献できると考える。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計3件)

"Chronic brain blood-flow imaging device for a behavioral experiment using mice," Makito Haruta, Yuki Kurauchi, Masahiro Ohsawa, Chihiro Inami, Risako Tanaka, Kenji Sugie, Ayaka Kimura, Yasumi Ohta, Toshihiko Noda, Kiyotaka Sasagawa, Takashi Tokuda, Hiroshi Katsuki, Jun Ohta, Biomedical Optics Express, vol.10(4), pp.1557-1566, 2019, 査読有り. doi: 10.1364/BOE.10.001557

"Propranolol prevents cerebral blood flow changes and pain-related behaviors in migraine model mice," Yuki Kurauchi, Makito Haruta, Risako Tanaka, Kiyotaka Sasagawa, Jun Ohta, Akinori Hisatsune, Takahiro Seki, Hiroshi Katsuki, Biochemical and Biophysical Research Communications, vol.508(2), pp.445-450, 2019, 査読有り. doi:10.1016/j.bbrc.2018.11.173

"Implantable optogenetic device with CMOS IC technology for simultaneous optical measurement and stimulation," Makito Haruta, Naoya Kamiyama, Shun Nakajima, Mayumi Motoyama, Mamiko Kawahara Yasumi Ohta, Atsushi Yamasaki, Hiroaki Takehara, Toshihiko Noda, Kiyotaka Sasagawa, Yasuyuki Ishikawa, Takashi Tokuda, Hitoshi Hashimoto, Jun Ohta. Japanese Journal of Applied Physics, vol.56, pp.057001-1-057007-7, 2017, 査読有り. doi:10.7567/JJAP.56.057001

### 〔学会発表〕(計5件)

"Visualization of weather-related headache pathology by implantable CMOS imaging device," Yuki Kurauchi, Makito Haruta, Risako Tanaka, Hina Kawamoto, Takahiro Seki, Kiyotaka Sasagawa, Jun Ohta, Hiroshi Katsuki, NEUROSCIENCE 2018, San Diego Convention Center, San Diego, USA, 2018.

"A chronic blood-flow imaging device for a small animal's brain in a behavior experiment," Makito Haruta, Yuki Kurauchi, Ayaka Kimura, Yasumi Ohta, Toshihiko Noda, Kiyotaka Sasagawa, Takashi Tokuda, Hiroshi Katsuki, and Jun Ohta, NEUROSCIENCE 2018, San Diego Convention Center, San Diego, USA, 2018.

"小型動物用超小型イメージングデバイスによる脳疾患モデルマウスの脳血流・脳機能同時計測," 春田 牧人, 日本薬学会第138年会, 石川県, 2018年, [招待公演].

"細胞観察用蛍光・明視野ポータブルイメージングシステム," 春田 牧人, 中元 健太, 野田 俊彦, 笹川 清隆, 徳田 崇, 太田 淳, 第40回日本神経科学大会, 神奈川県, 2017年.

"An implantable imaging device for observing the recovery process from cerebrovascular disease in small animal brains," Makito Haruta, Yoshinori Sunaga, Takahiro Yamaguchi, Toshihiko Noda, Kiyotaka Sasagawa, Takashi Tokuda and Jun Ohta, 2016 GLOBAL RESEARCH EFFORTS ON ENERGY AND NANOMATERIALS, National Taipei University of Technology, Taipei, Taiwan, 2016, [Invited Speaker].

### 〔図書〕(計0件)

### 〔産業財産権〕

#### 出願状況(計1件)

名称: 小型動物用埋植デバイス

発明者: 春田牧人, 太田淳, 徳田崇, 笹川清隆, 野田俊彦, 水本旭洋, 安本慶一, 荒川豊

権利者：同上  
種類：特許  
番号：特許願 2018-170119 号  
出願年：平成 30 年  
国内外の別：国内

取得状況（計 0 件）  
無し

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://mswebs.naist.jp/LABs/pdslab/index-j.html>

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者  
無し

(2)研究協力者  
研究協力者氏名：倉内 祐樹  
ローマ字氏名：Kurauchi Yuki

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。