

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：20106

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K16883

研究課題名（和文）脳の血流、神経活動および行動の同時計測を実現する生体埋め込みデバイスの開発

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）

公立千歳科学技術大学・理工学部・准教授

研究者番号：40733663

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：運動機能や情動、社会性行動と脳機能の関係を明らかにするために、行動実験中の脳活動を計測可能な小型計測デバイスが必要とされている。本研究では、独自設計の超小型CMOSイメージセンサを用いた脳機能計測用イメージングデバイスを新たに開発することで、行動実験中の脳活動の計測を目指した。独自設計のCMOSイメージセンサと2種類の光源用LEDを搭載した小型脳機能計測用CMOSイメージングデバイスの開発を行った。さらに、長期間の脳機能計測を実現するため簡易設置可能な構造を持つアルミ製の小型頭部固定治具を新たに開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来のイメージング技術ではレンズ等の大きな光学系を必要であるため、超小型化や多機能化が困難であった。本研究では独自のCMOSイメージセンサと微細デバイス実装技術を新たに開発することで、デバイス重量がわずか0.5gの脳血流と脳神経活動の同時計測可能な超小型イメージングデバイスを実現した。行動実験中の脳機能と脳血流を同時測定する事で、脳血管障害における脳機能と血流の関連性および脳機能障害のメカニズム解明に貢献できる。小型デバイスであることで経時的に脳機能を計測できるようになる。そのため、機能障害の過程やその回復過程を計測することが可能となり、予防法と治療法の開発に貢献できる。

研究成果の概要（英文）：To understand the relationship between motor, emotional, or social behaviors and brain functions, we need a small measurement device that can measure brain activities during behavioral experiments. In this study, we have developed an imaging device for measuring brain function with an ultra-small CMOS image sensor for measuring brain activity during behavioral experiments. The CMOS imaging device has a custom CMOS image sensor and two types of LEDs for light sources. In addition, we have developed a new small aluminum head plate with a simple installation structure for long-term brain function measurement.

研究分野：半導体デバイス工学

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 蛍光イメージング 自由行動実験 小型・軽量

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、研究者個人に帰属します。

### 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生じ脳機能に障害をきたす疾患である。そのため、脳血管障害の予防と治療は関心の高い分野である。しかし、現在の治療方法は損傷部位の特定と血流回復による脳機能回復であり、完全な脳機能回復を目指すものではない。損傷時の血流変化が脳の神経細胞に与える影響を解明することができれば、損傷部位や損傷程度にあわせた治療が実現可能となる。そのため脳血管障害のさらなる高度な治療には「脳の血流、神経活動および行動の同時計測」による機能解明が必要となる。血流 - 行動、神経活動 - 行動、血流 - 神経活動といったそれぞれ2つの相関に関する研究は行われているが、血流、神経活動および行動の3つを同時に計測し、その相関を明確に示した研究は行われていない。本研究計画では、「脳の血流、神経活動および行動の同時計測」の解明を実現し、新たな脳血管障害治療の開発に貢献する。

### 2. 研究の目的

本研究では、脳血管障害の発生メカニズムと脳血管障害発症時の神経細胞に与える影響を同時に計測できる新規技術の開発をした。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いが、脳機能の継続的な観察は困難であることが現状である。そこで本研究では「脳の血流、神経活動および行動の同時計測」による脳機能解明を目指した。本研究で開発する生体埋め込み脳機能計測デバイスは、3つの特性を持たせる必要がある。まず1点目に、CMOSイメージセンサ技術と微細デバイス実装技術によって小型化を実現することである。小型化することで、動物の行動を制限せずに脳機能計測を可能とする。2点目に、1つのデバイスで脳血流と脳神経活動を同時に計測可能とすることである。3点目には、長時間連続計測が可能ということである。この3点の特性を持つデバイスを作製、用いることで脳血管障害モデルマウスにおける脳血流、脳神経活動および行動の関連性の解明を目指した。

### 3. 研究の方法

脳血流と脳神経活動計測を同一デバイス上で実現する生体埋め込みCMOS計測デバイスの開発を行った。本デバイスは、独自設計のCMOSイメージセンサ、光学フィルタ、光学素子、2色のLED光源で構成される。生体シグナルの取得にはコンタクトイメージング法を採用することで、センサの生体接着面における鮮明な脳画像の取得が可能となる。これによりレンズや絞り等の光学系が不必要となり計測デバイスの超小型化を実現可能にした。次に脳血流と脳神経活動を計測するため、2種類のLED光源を登載した。血流観察のための吸光イメージング光学系で、緑光LED(波長535nm)を使用した。535nmの波長は、血中のヘモグロビン(酸化・還元型共に)が強い吸光度を持つ波長であるため、鮮明な血管像を得ることができる。そのため、その反射光強度を測定することで脳表血流測定を行った。図1に開発したデバイスの概要図を示す。次に、脳神経活動計測のために蛍光イメージング用の光学系を設置した。GFP蛍光を計測するために、青光LED(波長470nm)を励起光源として使用し励起光除去フィルタ(ロングパス、波長500nm)をCMOSイメージセンサ上に搭載した。本研究ではCa<sup>2+</sup>蛍光プローブを持つGCaMP遺伝子組み換えマウスを用いた脳機能計測実験を行った。

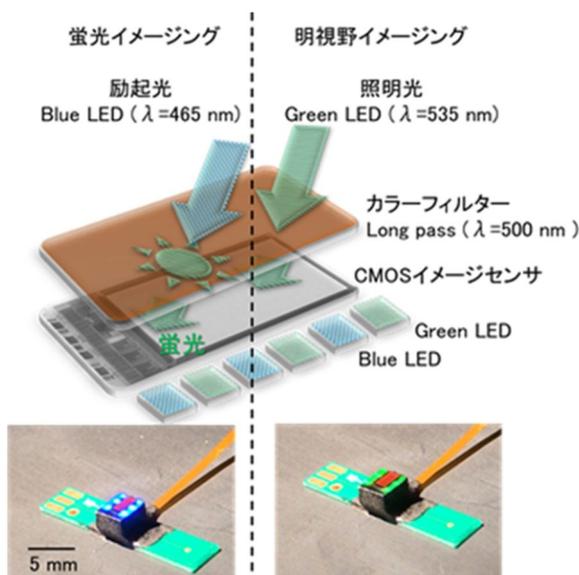


図1.脳血流と脳神経活動計測を同一デバイス上で実現する

### 4. 研究成果

本研究では、大脳皮質体性感覚野における脳血流と脳神経活動の同時計測を目指した小型動物の頭部に設置可能な超小型イメージングデバイスの開発を行った。独自設計の超小型CMOSイメージセンサを用いた脳機能計測用イメージングデバイスを新たに開発することで、行動実験中の脳活動の計測を目指した。

まず、デバイスをマウス頭部に低ストレスで設置可能な慢性脳血流計測用イメージングデバイスの改良を行った。これまでの慢性脳血流計測用イメージングデバイスでは、Chronic FOP

window(“Chronic brain blood-flow imaging device for a behavioral experiment using mice”(Biomedical Optics Express 10(4),1557-1566, 2019/3/4)が埋植されたマウスの頭部にイメージングデバイスを設置する際に、マウスを拘束または麻酔後に接着剤によって固定する必要があった。そのため、簡易設置デバイスの開発と試作デバイスを用いた自由行動実験中の脳血流観察実験を行った。センサ部と Chronic FOP window 部の小型化を行うため、3DCAD を用いた筐体設計と 3D プリントを用いた筐体の試作を行った。これにより構造の最適化を行う事ができた。図2に試作したデバイスを示す。小型化されたデバイスは非拘束のマウスに対して安定してデバイスを固定することができ、行動実験中においても脳表の血流変化を観察することに成功した。実際に、デバイスに搭載した簡易設置可能な構造により、1ヵ月以上の連続した脳機能計測が可能であることを示した。また、長期埋植が可能な Chronic FOP window を用いることで、気圧変動に伴う脳血流に対する五苓散とロキソプロフェンの効果を評価することに成功した。本研究成果は、“Goreisan regulates cerebral blood flow according to barometric pressure fluctuations in female C57BL/6J mice”(Journal of Pharmacological Sciences,154(2),45-51,2023/12/7)として論文誌で発表した。

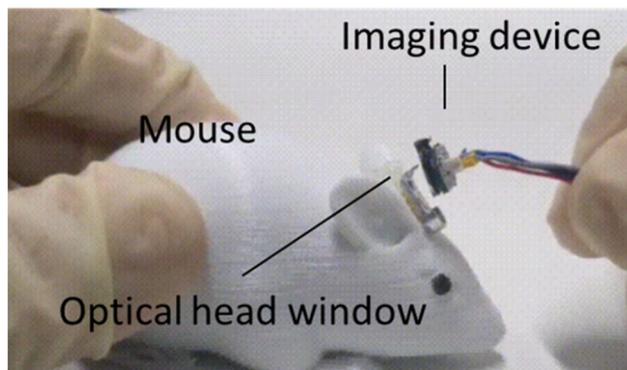


図2.デバイスに搭載した簡易設置可能な構造

次に、2色LEDを搭載したデバイスと超小型CMOSイメージセンサの組み合わせによる、蛍光計測および脳血流計測機能の評価を行った。まず、脳血流と脳酸素代謝の同時計測を実現するため、独自設計のCMOSイメージセンサと2色LED(緑色光[波長525nm], 赤色光[625nm])を搭載した小型脳機能計測用CMOSイメージングデバイスの開発を行った。簡易設置構造と2色LED(波長525nm, 625nm)を搭載した小型イメージングデバイスによる脳表の総血流変化および血中モグロビンの酸化還元変化を観察した。本実験では行動実験中の2種類の血流変化の計測に成功し、“Modular head-mounted cortical imaging device for chronic monitoring of intrinsic signals in mice”(Journal of Biomedical Optics,27(2),026501,2022/02/14)として学術論文誌で発表した。2色LEDによる蛍光計測機能評価のために、培養細胞を用いた明視野・蛍光観察実験を行った。小型細胞観察用チャンバーを試作し、カルシウム蛍光プローブ(Fluo-8)で染色した培養細胞の蛍光観察と明視野観察に成功した。さらにこのデバイスには、MEA(Micro Electrode Array)を搭載し、イメージングによる細胞観察と電気生理記録を行う事にも成功した。本研究成果は、“Miniaturized Cell Fluorescence Imaging Device Equipped with Multielectrode Array”(Sensors and Materials,34(4(4)),1587-1599,2022/4/26)として学術論文誌で発表した。

最後に、脳血流・脳機能計測を目的した超小型蛍光・血流イメージングデバイスの開発を行った。このデバイスにはCMOSイメージセンサと血流観察用LED(波長535nm)、蛍光励起用LED(波長465nm)と励起光カット用ロングパスフィルタ(500nm Cut-On)が搭載した。試作デバイスを用いて、マウスの行動実験中における脳機能計測を試みた。カルシウム蛍光プローブGCaMP6を発現する遺伝子組み換えマウスを対象とし、実験では脳刺激

に応答する血流変化と蛍光変化を同時に計測する事を試みた。図3に試作した超小型蛍光・血流イメージングデバイスをマウスに設置した時の様子を示す。本研究成果は、“脳表血流・蛍光観察用ヘッドマウントCMOSイメージングデバイス”,第83回応用物理学学会秋季学術講演会,2022/9/20で、口頭発表を行った。本発表は、注目講演として選ばれ、応用物理学会から注目講演プレスリリースが行われた(<https://www.jsap.or.jp/pressrelease/pr20220914>)。

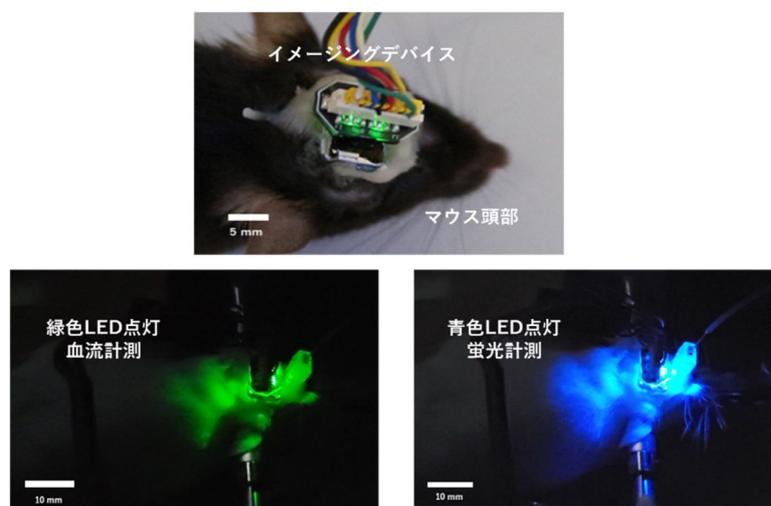


図3. 2色のLED光源を搭載した超小型蛍光・血流イメージングデバイス

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sais Barbara Teixeira, Haruta Makito, Tso Kuang-Chih, Hagita Mizuki, Hagiwara Takanori, Sugie Kenji, Kimura Ayaka, Takehara Hironari, Tashiro Hiroyuki, Sasagawa Kiyotaka, Ohta Jun	4. 巻 34
2. 論文標題 Miniaturized Cell Fluorescence Imaging Device Equipped with Multielectrode Array	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 1587 ~ 1587
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM3758	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 -

1. 著者名 Mark Christian Guinto, Makito Haruta, Yuki Kurauchi, Taisuke Saigo, Kazuki Kurasawa, Sumika Ryu, Yasumi Ohta, Mamiko Kawahara, Hironari Takehara, Hiroyuki Tashiro, Kiyotaka Sasagawa, Hiroshi Katsuki, Jun Ohta	4. 巻 27
2. 論文標題 Modular head-mounted cortical imaging device for chronic monitoring of intrinsic signals in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Optics	6. 最初と最後の頁 026501-1-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1117/1.jbo.27.2.026501	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 -

1. 著者名 Kurauchi Yuki, Ryu Sumika, Tanaka Risako, Haruta Makito, Sasagawa Kiyotaka, Seki Takahiro, Ohta Jun, Katsuki Hiroshi	4. 巻 154
2. 論文標題 Goreisan regulates cerebral blood flow according to barometric pressure fluctuations in female C57BL/6J mice	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 47 ~ 51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2023.12.001	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14件（うち招待講演 2件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 春田 牧人, Mark Christian Guinto, 太田 安美, 河原 麻実子, 竹原 浩成, 田代 洋行, 笹川 清隆, 太田 淳
2. 発表標題 脳表観察用ヘッドマウント蛍光イメージングデバイスの開発
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 春田 牧人, Guinto Mark, 太田 安美, 河原 麻実子, 竹原 浩成, 田代 洋行, 笹川 清隆, 太田 淳
2. 発表標題 脳表血流・蛍光観察用ヘッドマウントCMOSイメージングデバイス
3. 学会等名 第83回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Makito Haruta, Mark Christian Guinto, Kazuki Kurasawa, Yasumi Ohta, Mamiko Kawahara, Hironari Takehara, Hiroyuki Tashiro, Kiyotaka Sasagawa, Jun Ohta
2. 発表標題 長期計測可能な脳血流・神経活動計測用イメージングデバイスの開発
3. 学会等名 NEURO2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Barbara Teixeira Sais, Makito Haruta, Kuang-Chih Tso, Mizuki Hagita, Takanori Hagiwara, Kenji Sugie, Ayaka Kimura, Hironari Takehara, Hiroyuki Tashiro, Kiyotaka Sasagawa, Jun Ohta
2. 発表標題 Compact device for simultaneous cell electrophysiological signal and fluorescence imaging acquisition
3. 学会等名 NEURO2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 倉澤 和暉, Guinto Mark Christian, 春田 牧人, 竹原 浩成, 田代 洋行, 笹川 清隆, 太田 淳
2. 発表標題 ウス頭部に簡易設置可能な小型蛍光・血流観察用イメージングデバイス
3. 学会等名 第82回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Mark Christian Guinto, Makito Haruta, Taisuke Saigo, Kazuki Kurasawa, Hironari Takehara, Hiroyuki Tashiro, Kiyotaka Sasagawa, Jun Ohta
2. 発表標題	Chronic monitoring of intrinsic optical signals in the mouse cortex using an implantable CMOS-based imaging device
3. 学会等名	The 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society/the 1st CJK International Meeting (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	Teixeira Sais Barbara, Tso Kuang-Chih, Makito Haruta, Hironari Takehara, Hiroyuki Tashiro, Kiyotaka Sasagawa, Jun Ohta
2. 発表標題	Development of Small Fluorescence Imaging Device with Multi-Electrode Array for the Electrophysiology
3. 学会等名	10th International IEEE EMBS Conference on Neural Engineering (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	西郷 太輔, Ronnakorn Siwadamrongpong, Mark Christian Guinto, 堀田 朱里, 春田 牧人, 竹原 浩成, 田代 洋行, 笹川 清隆, 太田 淳
2. 発表標題	慢性脳血流観察にむけたCMOSイメージングデバイスの開発
3. 学会等名	第37回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム・第12回集積化MEMSシンポジウム (FT2020)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	春田 牧人, 西郷 太輔, Ronnakorn Siwadamrongpong, Mark Christian Guinto, 堀田 朱里, 竹原 浩成, 田代 洋行, 笹川 清隆, 太田 淳
2. 発表標題	小動物用小型イメージングデバイスによる動物の行動と脳機能の相互関連性の解明
3. 学会等名	第81回応用物理学会秋季学術講演会 (招待講演)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名 倉澤 和暉, 西郷 太輔, Guinto Mark, 春田 牧人, 竹原 浩成, 田代 洋行, 笹川 清隆, 太田 淳
2. 発表標題 低ストレス慢性脳表血流計測用CMOSイメージングデバイスの開発
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 春田 牧人, 西郷 太輔, 竹原 浩成, 笹川 清隆, 太田 淳
2. 発表標題 行動と血流および脳機能の相互関連性解明を目指した小 型イメージングデバイスの開発
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西郷 太輔, 竹原 浩成, 春田 牧人, 笹川 清隆, 太田 淳
2. 発表標題 慢性脳血流観察用 CMOS イメージングデバイスの小型化
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 春田 牧人, 倉内 祐樹, 大澤 匡弘, 笹川 清隆, 徳田 崇, 太田 淳
2. 発表標題 慢性脳観察用イメージングデバイスの開発
3. 学会等名 バイオ・マイクロシステム研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 春田 牧人
2. 発表標題 超小型脳機能・脳血流イメージングデバイスの開発
3. 学会等名 感覚研究ワークショップ『センシング医工学の現状と展望』
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>応用物理学会秋季学術講演会 注目講演プレスリリース  <a href="https://www.jsap.or.jp/docs/pressrelease/JSAP-2022autumn-chumoku-06.pdf">https://www.jsap.or.jp/docs/pressrelease/JSAP-2022autumn-chumoku-06.pdf</a></p>
---

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	太田 淳 (Ohta Jun) (80304161)	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授  (14603)	
研究協力者	笹川 清隆 (Sasagawa Kiyotaka) (50392725)	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・准教授  (14603)	
研究協力者	倉内 祐樹 (Kurauchi Yuki) (70631638)	熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・准教授  (17401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	大澤 匡弘  (Ohsawa Masahiro)  (80369173)	帝京大学・薬学部・教授     (32643)	

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