

論文内容の要旨

博士論文題目 Improving brain-implantable imaging devices by image segmentation algorithm and integration with laser-induced carbon electrode

(画像分割アルゴリズムとレーザー誘起炭素電極との統合による脳内埋植イメージング・デバイスの改良)

氏 名 CASTILLO VIRGIL CHRISTIAN GARCIA

(論文内容の要旨)

神経科学の進歩は、脳のセンシング技術の開発と密接に関連しており、マウスの脳内光学イメージングは、脳機能を理解するための主流の方法になりつつある。蛍光顕微鏡下で蛍光タンパク質を用いた光学イメージングは、単一細胞の分解能で広い視野で複数のニューロンをモニタリングし、適応タンパク質のニューロンタイプ特異的な発現につながる。ただし、これにはマウスを顕微鏡下に固定する必要があり、行動研究への適用は困難であった。CMOS(Complementary Metal Oxide Semiconductor)技術により実現した埋め込み型 CMOS イメージセンサー(ICIS)は、侵襲性を大幅に低減し、自由行動下のマウスの脳機能イメージングを可能とする。しかし、レンズシステムがないため、空間分解能が低く、関心領域(ROI)の決定が困難という課題があった。これに対し、この研究では、適応型二値化を備えたレンズレス蛍光イメージングシステムにおける ROI 決定を研究した。二値化を行う各操作のパラメータが ROI サイズにどのように影響したかを理解するために、偏最小二乗回帰を使用してアルゴリズムを最適化した。シミュレートされた ICIS データを使用して、提案手法の有効性を検証した結果、1000 回のシミュレーション条件に対し、400 回以上のシミュレーションで活動ニューロンの 100%を検出できることを確認した。さらに、各 ROI のカルシウムトレースを主成分分析と k 平均クラスタリングでクラスター化し、クラスターが、さまざまなタイプのニューロンの活動と非常によく相関していることを確認した。更に、このアルゴリズムを ICIS を用いた動物実験に適用し、マウスの

脳活動について、対照群と比較して統計的に有意な増加を得ることに成功した。

さらに、マルチモーダル計測に向けた電極形成手法についての提案と実証も行った。ICIS のユニークな利点は、他の脳モニタリング技術と簡単に統合できるカスタマイズ性にある。本研究では、既存の ICIS の防水コーティングを利用して、ハイブリッド部品や困難な製造を必要としない、より合理化されたマルチモーダルデバイスを試作した。

ポリマーであるパリレン-C を波長 266 nm の UV レーザーパルス照射によって炭化した。レーザー出力の増加により、電極がより速く形成されることが、サイクリックボルタンメトリー電流の増加によって検証された。しかし、ドーパミンの電気化学反応による信号は、 $1.59\ \mu\text{W}$ の低いレーザー出力によって形成した場合にのみ観察された。この条件で形成した電極では、X 線光電子分光法測定より酸素官能基の存在量の増加が確認され、ポリマーが炭化されていることが裏付けられた。さらに、このレーザー誘起カーボン電極を高速スキャンサイクリックボルタンメトリー(FSCV)によるドーパミンの電気化学的検出に適用した。この電極を用いて、マウスの脳における電気化学的活性の統計的に有意な増加が、観察された。次に、簡便な炭化法を利用して、マルチモーダル移植可能な光学的・電気生理学的センサーを作製し、生体内において蛍光信号と電気生理学的信号を同時に記録できることを実証した。

氏 名	CASTILLO VIRGIL CHRISTIAN GARCIA
-----	-------------------------------------

(論文審査結果の要旨)

脳機能イメージングを行う上で、微小な CMOS イメージセンサを利用した刺入可能な針状イメージングデバイスは、生体に対する低い侵襲性と軽い重量といった特長を有している。特に脳深部や観察対象の自由行動下におけるイメージングに高い適性がある。一方で、レンズを搭載していないことから、観察対象との距離が広がるにつれて著しく空間分解能が低下する。この場合、画像上に明暗のパターンが現れた場合にニューロンによるものなのか、あるいは、別の要因なのかを判別することが難しい。

本研究では、ニューロンの発火にともなう信号の検出を行う場合にどの領域に着目すればよいのかを、フレームごとの適応二値化と、その後の形態学的画像処理によるノイズ除去によって決定し、検出信号の精度を高める手法が提案された。さらに、この手法を実際の動物実験に適用し、このアルゴリズムを用いて、マウスの脳活動において、対照群と比較して統計的に有意な増加が現れることが観察された。

更に、光学的なイメージングと電気生理計測を同時に行うために、刺入型デバイスへの実装が容易なカーボン電極作製の手法について提案を行った。生体に埋植する刺入型イメージングデバイスは、従来から、生体内における防水のために、生体適合性のある樹脂であるパリレン-C によって全体を覆われている。本研究では、この樹脂層を紫外パルスレーザーの照射によって炭化した。本手法は電極層を追加で積層すること無く形成できるため、効率的にデバイスの作製が可能となる。作製したデバイスを用いて高速走査サイクリックボルタンメトリー法による計測を実施し、ドーパミン等を電気化学的に計測するための記録電極層として利用可能であることが実証された。

本研究で開発した画像処理手法は、刺入型の脳機能イメージングデバイスにおいて、対象とする信号をより高い精度で検出できる可能性を示しており、当該デバイスの適用範囲を広げることができるものと期待される。また、UV パルスレーザーを用いた樹脂層の炭化による電極形成手法は、刺入型イメージングデバイスとの適合性が高く、マルチモーダル計測デバイスへの展開を行う上で有用であると期待される。今後、これら技術を発展させることで、より高度な脳機能計測への展開が可能であり、その成果は、学術的に新しい知見を見出していると判断され、審査委員一同は、本論文が博士（工学）の学位論文として価値あるものと認めた。