

審査の結果の要旨

氏名 小竹 直樹

本論文は「神経伝達物質の動態観察に向けた柔軟型グルタミン酸センサの開発」と題し、5章から成っている。近年、脳科学やブレインマシンインタフェースなどに代表される神経工学の進歩が目覚ましく、神経活動の計測・評価が非常に重要な技術要素となってきた。記憶や学習などの脳の機能は、多数の神経細胞が形成する神経ネットワークを神経信号が伝達することによって成立しており、基本的にはシナプス間隙で生じる神経伝達物質の放出と受容によって実現されている。シナプス間隙で放出される興奮性の神経伝達物質であるグルタミン酸は、記憶や学習など神経ネットワークの可塑的变化に関与し、また、虚血による神経細胞死や鬱病など様々な脳疾患の病態にも関与することが示唆されている。そのため、脳内のグルタミン酸の動態を低侵襲・実時間、かつ長期安定して計測することのできるセンシングシステムの開発は神経科学・神経工学の上で喫緊の要求であるが、未だ、満足しうるシステムは開発されていない。

本論文は柔軟で低侵襲かつ実時間的に脳内のグルタミン酸の動態を計測しうるマイクロセンサの開発を目指したものである。

第1章は序論で、脳内グルタミン酸計測の重要性、および、脳機能変化に伴うグルタミン酸濃度の変化を低侵襲的かつ実時間的に検出する際にセンサに必要なとされる特性・性能について述べ、また、これまで行われてきた脳内グルタミン酸計測の手法とその問題点、即ち、現在の主流である脳マイクロダイアリシス法では、時間的にも空間的にも分解能が十分ではなく、かつプローブを脳へ刺入、留置することによる周囲の脳組織の損傷は不可避なこと、また、微細加工技術であるMEMS技術により近年開発されてきたシリコン等の硬い基板から成るグルタミン酸センサについても脳組織損傷の低減が不十分であることなどを述べ、Brain-Machine Interface 領域において開発が進む柔軟型神経電極の素材と作製方法をベースに、脳組織損傷を低減し慢性計測に適した新たな柔軟型グルタミン酸センサの開発を提案している。

第2章は、「柔軟型センサ基板」と称し、刺入可能で、かつ慢性計測に適した

柔軟型センサの設計指針について検討を行い、目的を達成しうるものとして、基板材料に生体適合性が高く、柔軟かつ高い電気絶縁性を特徴とするパリレンCを用い、また、配線には金を用いた柔軟型センサの基板構造の設計と作製を行っている。柔軟なセンサ単体の脳への刺入を可能とするため、サイズは最小基板幅 100 μm 、基板厚 20 μm とし、50 μm \times 50 μm の4つのチャンネルを有するセンサを微細加工技術を用いて作製し、このパリレンCのセンサ基板が金配線を被覆する絶縁層として必要な特性を有する事、また、そのままの単体で生体の脳に刺入しうる機械的強度を有している事の確認を行っている。

第3章は、「柔軟型グルタミン酸センサ」と称し、前章において作製した柔軟型センサ基板の電極部位の表面にグルタミン酸酸化酵素を固定し、その酸化反応を利用した電気化学的方法によってグルタミン酸を検出するセンサの作製を行っている。電極部における白金黒メッキの活用、酵素の固定方法、固定する酵素量の3点について *in vitro* 実験で検証を行い、その結果、電極の表面積および白金黒メッキがセンサの感度向上に大きく寄与すること、酵素の固定方法では、包括法の場合に比べ、架橋法を用いて酵素を固定したセンサの方が感度が高く、また、架橋法で酵素の固定量を変えた際のセンサ感度については、固定する酵素の量を2倍にした際のセンサ感度の上昇率は1.4倍であったことなどが示された。これらの結果から、サイズ50 μm \times 50 μm の電極に白金黒メッキを施し、架橋法によって320 units/mlのグルタミン酸酸化酵素を固定した柔軟型グルタミン酸センサが、脳内で想定されるグルタミン酸濃度の変動を観察するに足る機能を有する事を確認し、センサの作製を行っている。なお、作製した柔軟型グルタミン酸センサの感度は14.0 pA/ μM まで向上し、その検出下限は1.4 μM で、単位面積当たりのセンサ感度に関しては、既存の基板型グルタミン酸センサを上回る値を示し、作製した柔軟型グルタミン酸センサが、既存のセンサと同等以上の機能を達成しうることを確認している。

第4章は、「生体内での柔軟型センサの性能検証」で、この章では第3章で作製し、*in vitro* で基本的な性能が確認された柔軟型グルタミン酸センサが生体の脳内においても有用であるか否かについて、麻酔下のラットを用いた *in vivo* 動物実験で検証を行っている。この検証実験では、神経細胞からのグルタミン酸の放出を引き起こすと言われている塩化カリウムの脳組織への注入を行い、これが電流値の上昇を引き起こし、その変化量が塩化カリウムの注入量に比例して増加すること、また、対照実験として、アガロース製の模擬脳内に同様に塩化カリウムの注入を行った際には電流値の上昇は認めなかったことから、ラットの脳内で観察された上記の電流値の上昇は、注入した塩化カリウムに誘発された神経細胞からのグルタミン酸の放出を本グルタミン酸センサによって捉えたものとしている。

第5章は「結論」で、以上の結果から、本研究により、パリレンCを基板材料とし、金を配線としたセンサ基板が脳機能計測に必要な電氣的・機械的特性を有している事、また、このセンサ基板の電極部位にグルタミン酸酸化酵素を固定した低侵襲マイクロ柔軟型センサが、グルタミン酸センサとして優れた性能を示し、生体の脳内においてもグルタミン酸濃度を測定しうることが実証され、その有用性が示されたとしている。

以上、これを要するに、本論文は、BMI 領域において開発が進む柔軟型神経電極の素材と作製方法をベースとし、脳組織損傷を低減し慢性計測に適したパリレンCをベースとした新たな柔軟型グルタミン酸センサの設計と開発を行ったもので、作製したセンサはグルタミン酸センサとして優れた特性を示し、生体の脳内においてもグルタミン酸濃度を測定しうることを実証している。以上、本研究は脳科学・脳工学領域などにおける脳機能計測に新たな可能性を拓いたものであり、医用工学、神経工学、神経科学に貢献するところが大きい。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。