

別添 1

厚生労働科学研究費補助金

萌芽的先端医療技術推進研究事業

微小流路を備えた柔軟神経電極の開発

平成17年度 総括研究報告書

主任研究者 鈴木 隆文

平成18（2006）年 4月

研究報告書目次

目 次	
I. 総括研究報告	
微小流路を備えた柔軟神経電極の開発 鈴木隆文 (資料)	1
II. 分担研究報告	
1. 微小流路を備えた柔軟神経電極の開発 竹内昌治	11
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	17
IV. 研究成果の刊行物・別刷	19

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）  
総括研究報告書

研究課題名：微小流路を備えた柔軟神経電極の開発

課題番号：H17-ナノ-010

主任研究者 鈴木隆文 東京大学大学院情報理工学系研究科 特任講師

研究要旨

本研究は、柔軟なフィルム基板上に流路と電極とを配置した微小多点多機能神経プローブの開発とそれを用いた神経インタフェースシステムの試作を目的としている。これにより薬液投与と神経信号計測の統合など、次世代神経プローブに求められる様々な機能が実現可能になると考えられる。

平成17年度においては、(1)電極の作成方法の確立、(2)流路による薬液注入・吸引の確認、(3)流路内外の電極による神経信号計測、(4)流路へのポリエチレングリコール(PEG)等の導入による刺入時の硬化と刺入後の溶解の確認、(5)再生型電極への応用、について研究を進めてきた。

1) 電極の作成方法の確立 各種の仕様の電極を再現性良く作成するための電極作成方法について条件出しを行った。特に流路構造の強化に関して検討を行い、下層のパリレンの表面を荒らす処理を行うことによる流路構造の強化に成功した。また、熱的に接着強化を図る方法も開発した。

2) 流路による薬液注入・吸引の確認 流路のサイズや計上を変更し、薬液の注入吸引能力について確認を行った。

3) 流路内外の電極による神経信号計測 流路内の電極による神経電位計測と、流路外の基板上に配置した電極による神経電位計測を比較することにより、信号計測特性についての検討を行った。

4) 流路へのPEG等の導入による刺入時の硬化と刺入後の溶解の確認 流路内に生体内で溶解する物質を注入することを検討した。ポリエチレングリコール(PEG)による検討を行い、神経組織への刺入時にのみ必要な硬さが得られることを確認した。

5) 神経再生型電極への応用の検討開始 流路に再生軸索を誘導することによる、再生型電極の検討を開始した。試作版の作成に成功した。

分担研究者 1名

氏名：竹内昌治

所属機関：東京大学生産技術研究所マイクロメカトロニクス国際研究センター

職名：助教授

## A. 研究目的

### A-1 背景

生体の神経系に対する情報入出力を自在に行うことができるようになれば、従来小説の中で語られてきたような様々な応用の実現が可能となる。感覚神経に情報を入力することによって、視覚、聴覚、触覚などの人工感覚を生成することが可能となり、また逆に、生体の運動神経の情報を利用して、まるで自分の手のように動かすことのできる義手や、自律神経系の情報によって制御される人工臓器が実現できると考えられる。このような、生体の神経系と人工機器との間の直接的な情報入出力を実現するための技術・概念は神経インタフェースと呼ばれる。神経インタフェース技術は、上記のような補綴的な応用に留まらず、脳機能の解明、さらには拡張に利用することも考えられる。

神経インタフェースの実現のためには大きく分けて二つの課題がある。それは、いかにして生体の神経系と人工機器とを接続するかというデバイス面での課題と、神経系の信号をいかに解釈し、逆に神経系に情報を入力するかというコーディング面での課題である。

本研究は、前者のデバイス面での課題に関わるものである。従来の神経電極はシリコンをベースとした固い構造で、機械的侵襲に弱い神経細胞を痛めるだけでなく、神経組織の柔軟な動きに追従できずに、「ずれる」原因となっていた。さらに神経修飾物質などの液性系の情報にも近年注目が集まっているが、電極と統合されたシステムは皆無であった。

近年、神経電極の将来性及び重要性が認識され、特に国外において微小神経電極の開発研究が盛んであるが、いずれも装着(刺入)の容易さや材料面での制約からシリコンなどを電極基板とした「固い」構造を有するものである(図1)。神経電極から体外へのケーブル部を柔軟な構造にする研究や、表面電極をフィルム基板によって構成する試みはいくつか見られるが、本研究が提案するように剣山型神経電極の基板や剣山型の針状電極部自体が柔軟な構造を有することで侵襲や「ずれ」を防止し、さらに流路によって薬液の多点局

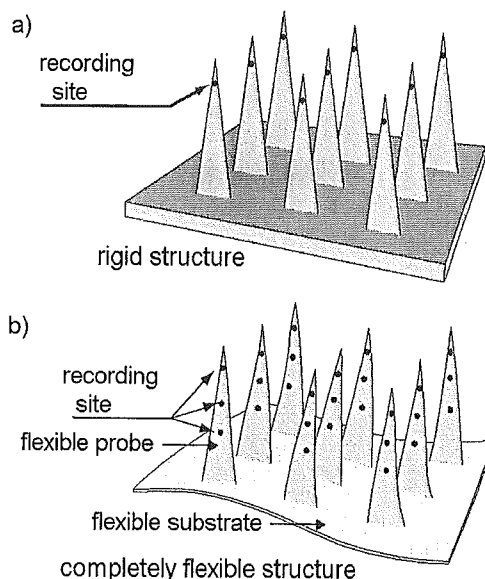


図1: 従来型の「固い」神経電極と、提案する「柔軟で」かつ計測刺激点が3次元に配置された神経電極

所注入まで目指すものは、いまだ報告されていない。しかしながら、神経電極の開発は欧米諸国における国家プロジェクトなどによって、ここ数年非常に加速されているため、本研究課題も一刻も早く遂行する必要があると考えられる。

また、神経インタフェースシステムの実現例としては、すでに人工内耳が臨床応用されているが、やはり神経電極の技術的制約から、電極数が約20個と、聴覚を再建するためには余りに少ないため、生成された音質に大きな問題がある。近年、我が国も含めた多くの国で進められている人工視覚研究でも、神経電極が開発上の大きな壁となっている。

### A-2 研究目的

そこで本研究では、神経への侵襲や「ずれ」を防止する柔軟性を備え、さらに液性系の情報の入出力を可能とする流路を備えた多点微小神経プローブ(図2)を開発し、それを用いた神経インタフェースシステムによって評価を行うことを目的とする。

主任研究者と分担研究者は、これまでに基板もプローブ部分も柔軟なフィルム(パリレ

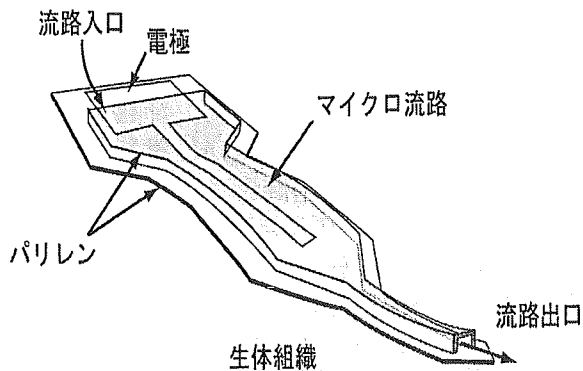


図2: 微小流路を備えた柔軟神経電極. 薬液入出力機能と神経信号入出力機能を兼ね備える. 神経電極は流路内外の任意の位置に配置可能である.

ンC) で構成した柔軟神経電極を開発してきたが(図3), 今回の提案する流路を備えた神経電極は, この柔軟電極をベースとして開発するものである.

具体的には以下の課題を遂行する. 個々の課題はin vitro系による評価から動物の神経を対象とした評価実験まで行う.

- A) 流路による薬液注入・吸引(サンプリング)技術の確立
- B) 流路内外に配置した電極による神経信号計測技術の確立
- C) 流路を利用した刺入時硬化と刺入後の柔軟化方法の検討
- D) 流路への再生神経軸索の誘導の検討
- E) 神経インタフェース試作システムによる評価(計測した多点の神経信号によって, ロボットハンドのような多自由度の人工機械を制御するシステムの試作を行う.)

当該年度においては, 上記のA, B, Cを中心に, D, Eの検討も行う. プローブ自体はすでに試作により, 原理的な部分の確認までは行っており, 上記の目的は研究期間内に十分達成可能なものと考えられる. さらに申請研究期間を超えた長期的な目標としては, 柔軟な生体神経システムとの真に融合した神経インタフェースシステムの実現を考えている. このためには, 例えば新たに接続した義手をすみやかに違和感なく制御するために必要な適切なフィードバック信号の性質などに関して研究を行う必要がある.

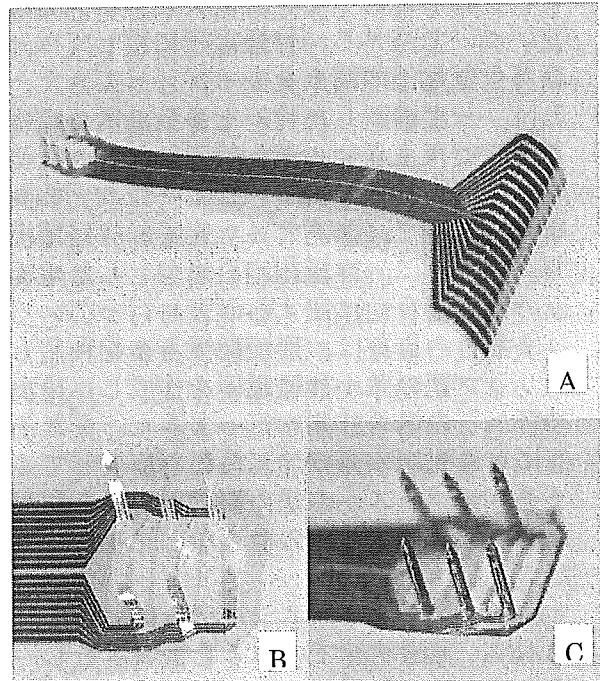


図3: 基板もプローブ部分もパリレンで構成した柔軟神経電極

### A-3 意義

本研究の成果は, 次世代の人工肢・人工臓器および人工感覚生成システムの実現に必要な不可欠の技術であり, 福祉社会実現の要求が増大しつつある現在社会の要望と合致するものであると同時に, 究極的なヒューマンインタフェースとしても利用し得るものである. また, 補綴的な医学領域での応用に留まらず, 非常に広範囲な応用が可能であり, 社会的・産業的にも非常に大きな意義があると考えられる.

装着後に柔軟化するなどの新しい装着方法を提案することで柔軟な神経電極を実現するという点と, 電極と流路とを多点で統合する点は大きな特色であり, 神経電極分野だけでなく, マイクロマシン分野においても従来なかった新しいアイデアである. 実現の暁には人工視覚などの神経インタフェース技術に大きく寄与するだけでなく, 機械的な侵襲度の低減が求められる医療マイクロデバイス技術全体への寄与も非常に大きいと考えられる.

### A-3 研究組織構成

本研究は鈴木と竹内の2名で遂行した. 2

名のこれまで行ってきた研究と本研究との関連について述べる。神経電極に関しては、神経再生型電極の開発を鈴木が行ってきた。これは、一度切断した神経を多数の微小電極孔を通して再生させ、再生軸索に対する計測・刺激を行うものである。また、竹内との共同研究によって、前述の3次元柔軟神経電極の開発、さらに、神経細胞を対象とした電極表面の生体適合性に関する研究を行っている。

また竹内自身は、形状記憶合金を利用したクリップ型の微小神経電極を作成し、昆虫の神経からの信号計測を行ってきた。またその他にも最先端の微細加工技術を駆使して、マイクロデバイスへの電力駆動、磁場を利用した微小三次元構造体の構築などを手がけてきた。

神経インタフェースシステムに関しては、鈴木は、覚醒状態でのヒトを被験者とし、マイクロニューログラム法（極細径の針電極を経皮的に神経束に刺入し、単一神経線維の計測・刺激を行う方法）を用いて、感覚神経への刺激波形と生成感覚との関係を求め、これを用いて、ロボットハンドの表面に装着した触覚センサからの情報を感覚神経への刺激波形へと変換・入力し、被験者に人工的触圧感覚を呈示するシステムを試作している。また、鈴木は、人工心臓の神経情報による制御に関する研究も行っている。

神経インタフェースの研究は、最先端の微細加工技術と生体神経での評価の両体制が密な連携をもって推し進めることが必要不可欠であり、本研究組織は上記の研究状況からも、本課題を遂行するのに十分な能力を有していると言える。

以下は研究代表者の鈴木の研究歴である。

平成5年度から平成9年度までは、東京大学大学院工学系研究科修士・博士課程（指導教官：舘暲教授(H4-8)、井街宏教授(H8)、藤正巖教授(H6, 7)）人工現実感と医用生体工学の両方の研究室に所属し、神経電極、特に神経の再生能力を利用した神経再生型電極の開発研究に携わった。マイクロマシニング技術、動物実験技術を習得し、自ら、神経電極の作成及び生体への埋め込みによる評価実験の両者を行なった。

平成10年度から平成17年度までは、東

京大学国際産学共同研究センター助手として

（平成14年7月からは、同大学情報理工学系研究科特任講師として）先端生体医用工学ラボ（満洲邦彦教授）に所属し、神経工学分野の研究に従事する。特に(A)自律神経系情報を利用した人工心臓制御システムの開発研究

(B)感覚神経線維電気刺激による人工触圧感覚生成に関する研究(C)神経電極の開発研究の3つの研究課題に関して、学生を指導すると共に、自らも主体的に取り組んで来た。(A)は生体の心臓と同様に、人工心臓も生体の神経系によって制御させようとするものである。(B)は、微小刺激法（タングステン微小針電極を覚醒ヒト被験者の手首部正中神経内に刺入して個々の感覚神経線維を刺激する方法）を利用して、人工的な触圧感覚を生成するものであり、将来的には感覚機能を備えた義手への応用を目指している。刺激波形と生成感覚量との定量的な関係を求めるなどの成果を得るとともに、それを応用してロボットハンドに加えられた圧情報を適切に変換して、被験者にその強度変化をも呈示可能なシステムを開発することに成功している。(C)は生体の神経系と人工機器との間の情報入出力を、長期間安定して生体に非侵襲で、究極的には多数の神経線維一本一本に対して行なうことのできるような神経電極の開発を目的とするもので、(A)や(B)をはじめとした、神経工学分野の基礎技術と位置付けられるものである。

## B. 研究方法

本研究は、流路を備えた微小柔軟神経プローブの開発と評価を目指すものである。以下に平成17年度の研究についての方法の詳細を記す。括弧内は主なる担当者を表す。

動物を対象とした実験については、全て東京大学動物実験実施マニュアルに基づいて行った。この中では、動物の苦痛の軽減などの原則に則って、麻酔薬の使用などについて具体的に規定されている。

### B-1. 研究方法（平成17年度遂行分）

#### 0) 電極の作成方法の確立（鈴木・竹内）

以下の各課題を遂行するために、各種の仕

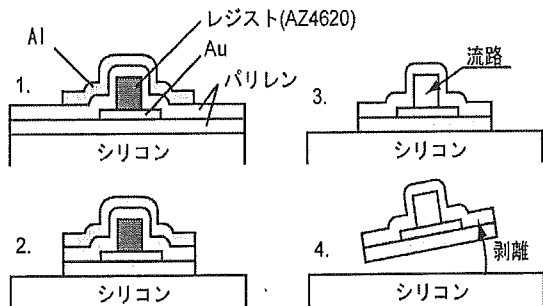


図4: 微小流路を備えた柔軟神経電極の作成方法. 厚膜レジストを犠牲層としてシリコンウェハ上で作成する. 最終的にはレジストをアセトンで除去し, ウェハから剥離して完成する.

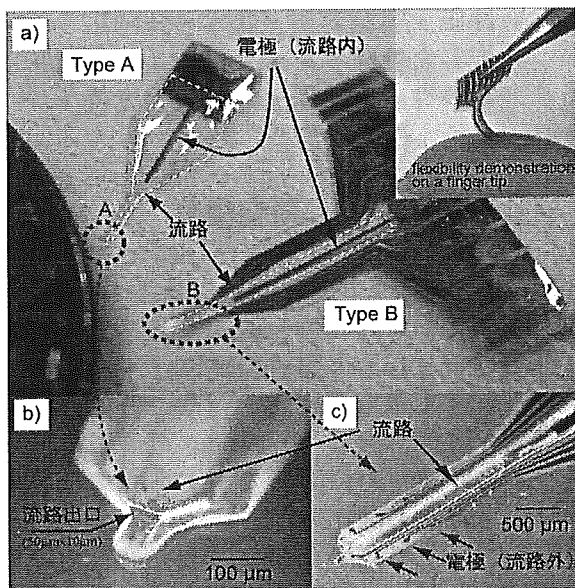


図5: 微小流路を備えた柔軟神経電極 (試作版). 流路出口のサイズは $50\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ . 流路内外に電極が配置してある.

様の電極を再現性良く作成するための電極作成方法について条件出しを行った.

A) 流路による薬液注入・吸引機能の確立 (鈴木・竹内)

流路の形状を変更し, 薬液の注入吸引能力について検討した. 特に, 吸引に際しては, 流路が陰圧でつぶれてしまうことが予想されるため, 流路内への「柱状構造」の構築を検討した.

B) 流路内外の電極による神経信号計測

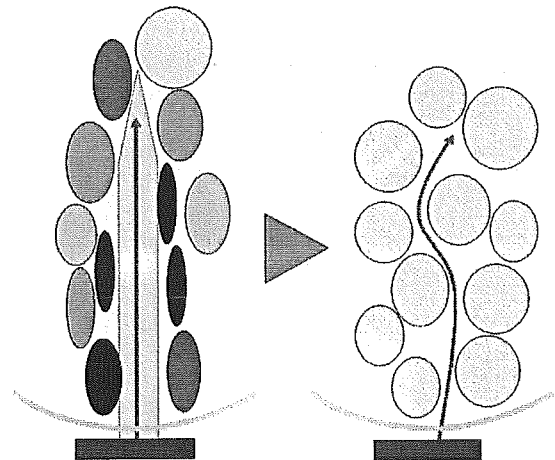


図6: 柔軟な電極を神経組織に刺入するために, 電極にポリエチレングリコール(PEG)等をコーティングする. PEGは組織内で溶解し, 神経組織への侵襲が抑えられる.

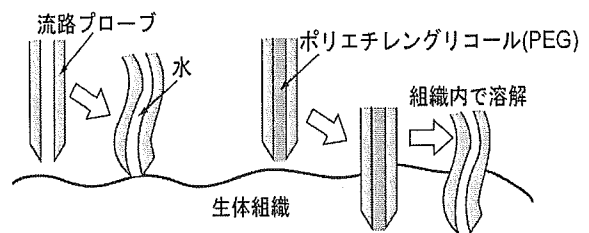


図7: 流路内にPEGを導入することによって従来のコーティング厚の再現性の問題が解決される.

(鈴木)

流路内の電極による神経電位計測と, 流路外の基板上に配置した電極による神経電位計測に関して, 計測波形, 長期間での影響等について検討を行った.

C) 流路へのPEG等の導入による刺入時の硬化と刺入後の溶解の確認 (鈴木・竹内)

柔軟なプローブは, そのままでは神経組織に刺入できないことが予想される. その対策として, 流路内に生体内で溶解する物質を注入することを検討した. ポリエチレングリコール(PEG)をはじめ, スクロース (ショ糖) など他の物質についても検討する.

この方法は, 流路のない柔軟電極においても提案してきたものである (図6) が, 表面をコーティングする方法では, コーティング

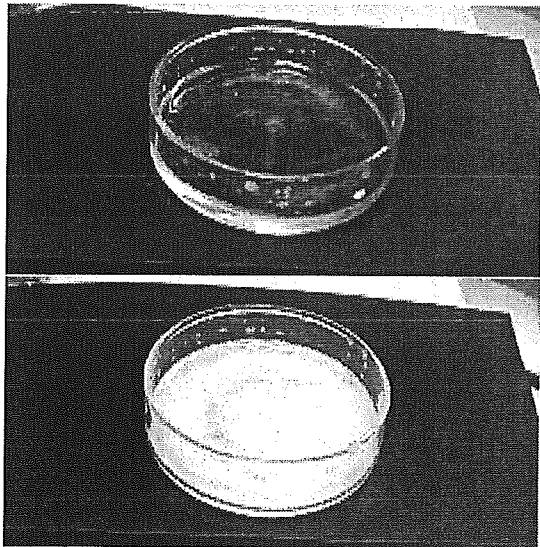


図8: ポリエチレングリコール. 約50℃で上の写真のように液体状になりディップ等によるコーティングまたは流路への導入が可能になる. 生体の温度 (約37℃) では固体であるが水溶性である.

厚の再現性に課題があった. 今回の流路を備えた柔軟電極においては, 流路を利用することによって, この再現性の問題が解決されることが期待される (図7).

#### D) 流路への再生神経軸索の誘導 (鈴木)

流路内に再生神経軸索を誘導し, 神経再生型電極としての可能性について検討した. 特に, 今年度は, 電極構造の作成上の問題について検討した.

再生型電極とは末梢神経の切断後の再生能力を利用した電極である. 詳細については, 添付資料1を参照.

### B-2 研究方法 (平成18年度以降の計画)

#### 【平成18年度】

#### X1) 前年度の課題Aと課題Bの統合及び多点化の検討 (鈴木・竹内)

流路からの薬液注入に対する神経細胞の応答を, 流路出口周辺に配置した神経電極で確認することを通じて, 流路機能と神経電極機能の統合を確認する. 特に薬液注入によるプローブの物理的な動きが電位計測に及ぼす影響について検討する. さらに多点化による相互の影響についても調べる.

#### X2) 長期埋め込みにおける侵襲性評価 (鈴

木)

柔軟構造による侵襲の低減について調べる. 硬さの異なるプローブによる影響を結合組織等を指標に調べる.

#### E1) 評価用神経インタフェースシステムの試作

ラット神経系と多チャンネルの入出力を行うシステムを試作する. 対象として多自由度のハンドシステムを制御する.

### ■平成19年度

#### X3) 統合電極の作成

ここまでの成果を統合した多チャンネル神経電極を作成する.

(鈴木・竹内)

#### E2) 評価・実証実験 (鈴木・竹内)

試作した神経インタフェースシステムにより, 電極性能の評価・実証実験を行う.

## C. 研究結果

### 0) 電極の作成方法の確立 (鈴木・竹内)

特に流路構造の強化に関して検討を行い, 上層のパリレンの形成の前に, 下層のパリレンの表面を荒らす処理を行うことによって, 流路を強化できることができた. また, さらに強化するために, 炉の中で熱的に接着強化を図る方法も開発した. 以降は, 必要強度に応じて, これらの2つの方法を選択的に用いることとした. 詳細については分担研究報告書に記す.

#### A) 流路による薬液注入・吸引の確認 (鈴木・竹内)

流路による薬液の注入吸引能力について確認した (図9). 流路内に構造を設けて「柱」とすることによって, 陰圧でつぶれにくい構造となることを示した.



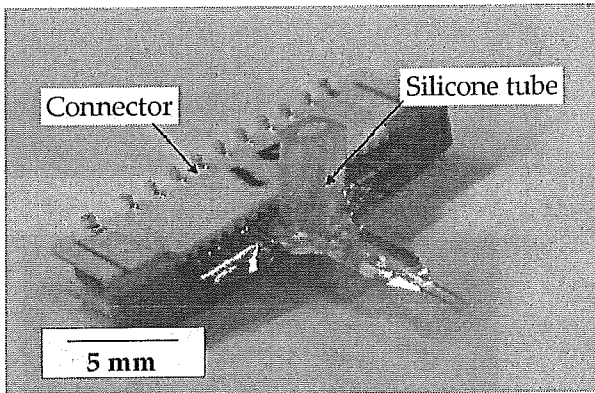


図9: 薬液入出力のためにシリコンチューブを接着した状態. 電極部にはフラット基板用のコネクタを装着している.

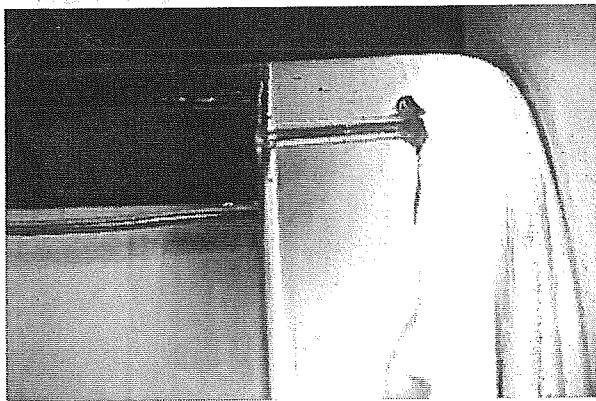


図10: 薬液注入能力の実証のために、インクを放出させる実験.

#### B) 流路内外の電極による神経信号計測 (鈴木)

特に流路内の電極による神経電位計測能力を確認した. ラット大脳皮質への刺入実験によって, 流路内の電極によっても神経信号が計測可能であることが示された.

#### C) 流路へのPEG等の導入による刺入時の硬化と刺入後の溶解の確認 (鈴木・竹内)

柔軟なプローブは, そのままでは神経組織に刺入できないことが予想されるため, 対策として, 流路内に生体内で溶解する物質を注入することを検討した. まず, ポリエチレングリコール(PEG)による検討を行い, 生理食塩水への浸水の数分後にPEGが溶解していることを, 連続計測した電極インピーダンスが

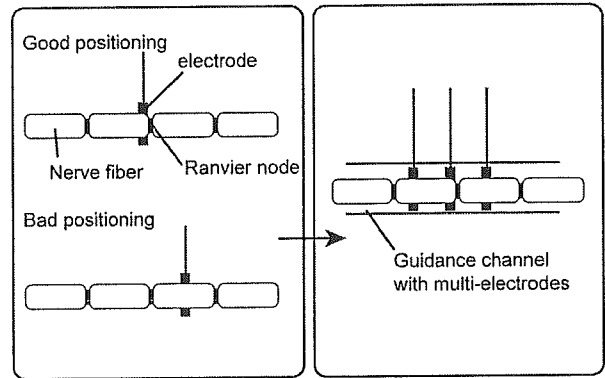


図11: 従来の再生型電極の計測上の問題点. 従来提案されてきた再生型神経電極はいずれも平面状の構造であり電極と神経線維とは1点でのみ接触するため, 電極がランビエノードから遠い場合に計測できないことが考えられる. 今回提案する再生型電極では, 流路内に複数の電極を配置することによって, この問題の解決を図る.

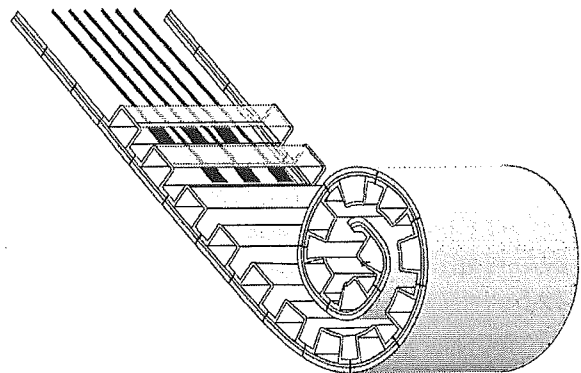


図12: 今回提案する再生型電極. フィルム上に多数の流路構造を並べ, 巻いて固定してから流路内の厚膜レジストを除去する. 各流路内には複数の電極を配置可能である.

急激に低下することによって確認した. さらに, 神経組織への刺入に必要な硬さが得られていることも確認した. PEG以外の物質として, スクロースなども検討したが, 流路への導入がPEGに比較して困難であった.

#### E) 神経再生型電極への応用の検討開始

流路に再生軸索を誘導することによる, 再生型電極の検討を開始した. 試作版の設計を行い, 現在, 電極の作成を行っている.

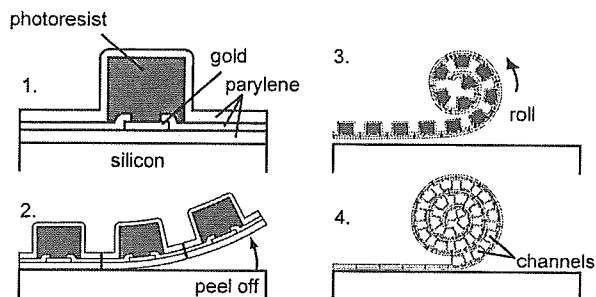


図13: 提案する再生型電極の作成方法。  
フィルム上に多数の流路構造を並べ、巻いて固定してから流路内の厚膜レジストを除去する。

#### D. 考察

##### 0) 電極の作成方法の確立 (鈴木・竹内)

この課題については、分担研究報告書において記す。

##### A) 流路による薬液注入・吸引の確認 (鈴木・竹内)

流路による薬液の注入吸引能力について定量的に確認した。さらに「弁」構造を付与することによって、注入吸引量のより正確な制御が可能になると考えられるため、検討中である。

##### B) 流路内外の電極による神経信号計測 (鈴木)

特に流路内の電極による神経電位計測機能について、ラットを用いた実験によって評価を行った。流路内の電解液を安定させることによる、より安定した計測の実現を検討中である。

##### C) 流路へのPEG等の導入による刺入時の硬化と刺入後の溶解の確認 (鈴木・竹内)

ポリエチレングリコールによる実験においては数分後に流路内のPEGが溶解することが確認されたが、この「数分間の溶解」が神経組織への侵襲の低減に与える影響について、より詳細な検討が必要である。PEG以外の物質として、今年度はスクロースを検討したが、現段階では、PEG以上の特性は得られていな

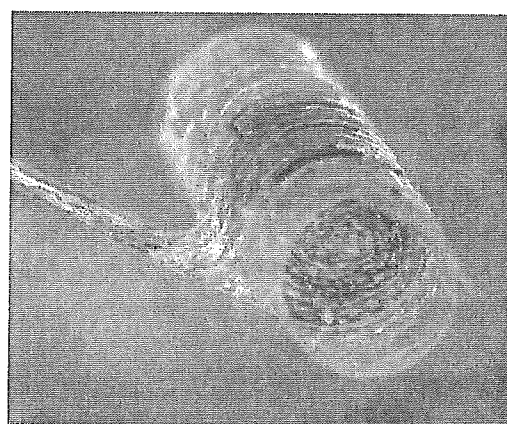
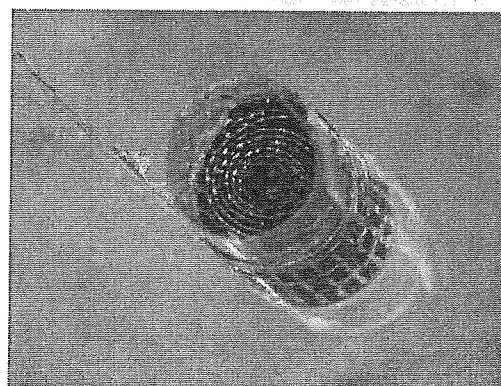
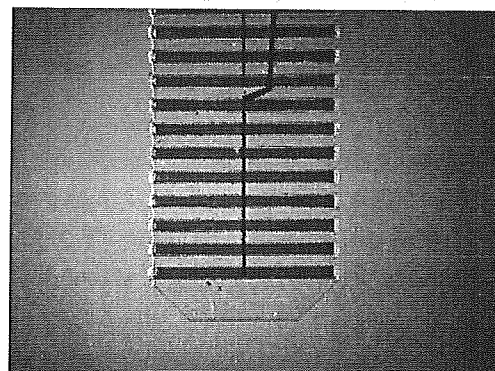
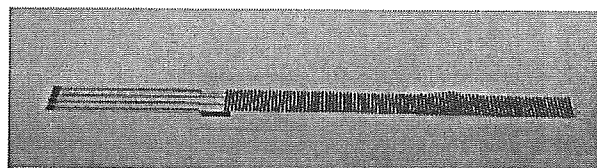


図14: 試作した再生型電極の写真

い。次年度も新たな物質の検討も行う予定である。

#### E) 神経再生型電極への応用の検討開始

流路に再生軸索を誘導することによる、再生型電極の検討を開始した。試作版の設計と製作を行った。多数の流路構造を再現性良く作成する技術的知見を得ることができた。次年度には実際に計測実験による評価まで行う予定である。

### E. 結論

これまでのところ、ほぼ当初の計画通りの成果が得られている。さらに、平成18年度に主に検討する計画であった再生型電極への応用についても、検討を開始することができた。

### F. 健康危険情報

(研究の結果、得られた成果の中で健康危険情報(国民の生命、健康に重大な影響を及ぼす情報として厚生労働省に報告すべきものがある場合や、研究過程において健康危険情報を把握した場合には、国民の生命、健康に重大な影響を及ぼすと考えられる内容と理由を簡潔に記入するとともに、その情報源(研究成果、研究者名、学会発表名、雑誌等の詳細)について記述する。)

特にありません。

### G. 研究発表

#### G-1. 論文発表

下記の発表の内容をベースとした論文投稿を準備中である。

#### G-2. 学会発表

- 1) 加藤康広, 西野美晴, 鈴木隆文, 満洲邦彦: 生分解性ポリマーによるドラッグデリバリーシステムを用いた薬剤徐放型神経インタフェースの試作, 第20回生体・生理工学シンポジウム論文集, 17-18 (2005)
- 2) Takafumi Suzuki, Naoki Kotake, Kunihiko Mabuchi, Shoji Takeuchi: Nobel Flexible regeneration-type nerve electrode with integrated micro fluidic channels, Pro

ceeding of International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology, in press (2006)

- 3) Yasuhiro Kato, Miharu Nishino, Itsuro Saito, Takafumi Suzuki, Kunihiko Mabuchi: Flexible Intracortical Neural Probe with Biodegradable Polymer for Delivering Bioactive Components, Proceeding of International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology, in press (2006)

### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

課題Eの再生型電極に関する特許出願を準備中である。

## 1. 資料1 神経再生型電極

従来の針型の電極を刺入する方式の神経電極では、どうしても長期間にわたる安定した刺激を行うことが原理的に困難である。これは主に「ずれ」が原因であると考えられる。神経再生型電極は、このような問題に対応できるものと期待されている。

末梢神経系を構成する神経細胞の軸索(神経線維)は切断されると中枢側から末梢側に向けて再生軸索を伸ばして行くことが知られている。(末梢側の神経細胞は変性していくが、残ったシュワン細胞から何らかの再生誘引物質が放出されると考えられている。)

そこで、切断した神経束の断端間に多数の電極孔の開いた薄膜状の電極を置くと、孔を通過した再生軸索の活動電位を計測することができる(図15)。これが神経再生型電極の原理であり、

①電極と軸索とが物理的電氣的にしっかりと固定される

②電極孔の径を調整することによって、1～数本の軸索を対象とすることも可能である

③多チャンネル化が容易であるなどの利点を有している。

神経束の一部または全部を切断する必要があるため、応用が限定されるが、人工心臓制御や、義肢の制御、人工感覚生成といった、すでに神経を切断されている症例への応用が期待されている。

近年、こうした神経再生型電極の研究は、主にシリコンを基板として開発されてきたが、生体内に埋め込む際に電極の脆弱性が問題となってきた。主任研究者らのグループは、神経再生型電極を、柔軟なポリイミドフィルムをベースとして開発してきたが、本文中で記述したような2次元構造に由来する課題は解決されなかった。

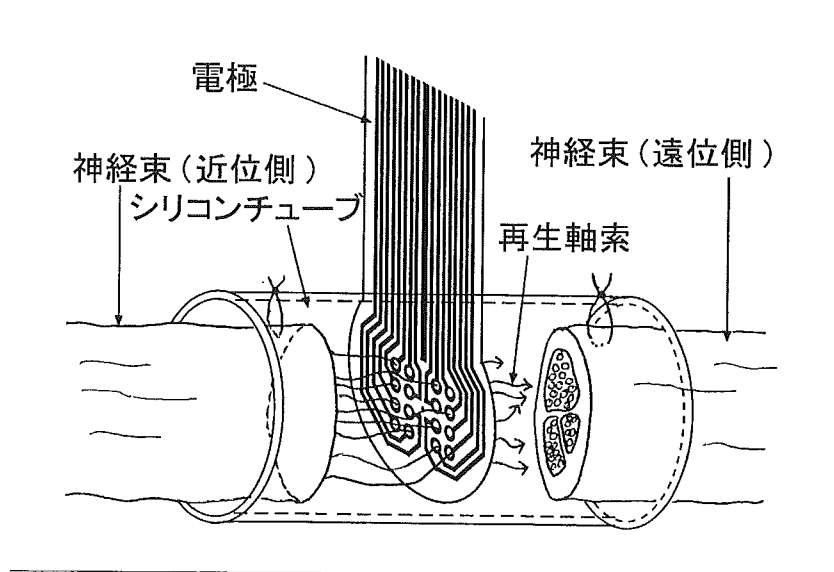


図15：従来型の神経再生型電極の原理図

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）  
分担研究報告書

研究課題名：微小流路を備えた柔軟神経電極の開発

課題番号：H17-ナノ-010

分担研究者 竹内昌治

東京大学生産技術研究所マイクロメカトロニクス国際研究センター 助教授

研究要旨

本研究課題は、柔軟なフィルム基板上に流路と電極とを配置した微小多点多機能神経プローブの開発とそれを用いた神経インタフェースシステムの試作を目的としている。これにより薬液投与と神経信号計測の統合など、次世代神経プローブに求められる様々な機能が実現可能になると考えられる。研究課題の全体については総括研究報告書に詳しいが、本分担研究報告書においては、竹内の担当した課題について報告する。

平成17年度においては、研究課題全体としては、(1)電極の作成方法の確立、(2)流路による薬液注入・吸引の確認、(3)流路内外の電極による神経信号計測、(4)流路へのポリエチレングリコール(PEG)等の導入による刺入時の硬化と刺入後の溶解の確認、(5)再生型電極への応用、について研究を進めてきたが、特に(1)の電極作成方法の確立は、以降の研究の遂行の基盤技術となる重要なものである。特に流路構造の強化が大きな課題となっていたので、その課題の解決に多くの時間を費やした。結果として、下層のパリレンの表面を荒らす処理による方法と、熱的に接着強化を図る方法の2方法について検討を行い、必要な強度を得ることに成功した。

また、(5)の神経再生型電極への応用の検討についても、多数の流路構造の構築に技術的課題が多かった。その課題の解決についても述べる。

研究目的などは、総括研究報告書と重複する部分が多いので簡潔に述べる。

A. 研究目的

A-1 背景

従来の神経電極は金属ワイヤやシリコンをベースとした固い構造であり、機械的侵襲に弱い神経細胞を痛めるだけでなく、脳や神経束などの神経組織の柔軟な動きに追従できずに、「ずれる」原因となっていた。さらに神経修飾物質などの液性系の情報にも近年注目

が集まっているが、電極と統合されたシステムは皆無であった。

近年、脳科学や補綴システム開発の基盤技術としての神経電極の将来性及び重要性が認識されるようになり、特に国外において微小神経電極の開発研究が盛んであるが、いずれも装着(刺入)の容易さや材料面での制約からシリコンなどを電極基板とした「固い」構造を有するものである。神経電極から体外へのケーブル部を柔軟な構造にする研究や、表面電極をフィルム基板によって構成する試みはいくつか見られるが、本研究が提案するよう

に剣山型神経電極の基板や剣山型の針状電極部自体が柔軟な構造を有することで侵襲や「ずれ」を防止し、さらに電極に統合された流路によって薬液の多点局所注入まで目指すものは、いまだ報告されていない。しかしながら、神経電極の開発は欧米諸国における国家プロジェクトなどによって、ここ数年非常に加速されているため、本研究課題も一刻も早く遂行する必要があると考えられる。

#### A-2 研究目的

そこで本研究では、神経への侵襲や「ずれ」を防止する柔軟性を備え、さらに液性系の情報の入出力を可能とする流路を備えた多点微小神経プローブを開発し、それを用いた神経インタフェースシステムによって評価を行うことを目的とする。

具体的には以下の課題を遂行する。個々の課題はin vitro系による評価から動物の神経を対象とした評価実験まで行う。

- A) 流路による薬液注入・吸引（サンプリング）技術の確立
- B) 流路内外に配置した電極による神経信号計測技術の確立
- C) 流路を利用した刺入時硬化と刺入後の柔軟化方法の検討
- D) 流路への再生神経軸索の誘導の検討
- E) 神経インタフェース試作システムによる評価（計測した多点の神経信号によって、ロボットハンドのような多自由度の人工機械を制御するシステムの試作を行う。）

当該年度においては、上記のA, B, Cを中心に、D, Eの検討も行う。プローブ自体はすでに試作により、原理的な部分の確認までは行っており、上記の目的は研究期間内に十分達成可能なものと考えられる。さらに申請研究期間を超えた長期的な目標としては、柔軟な生体神経システムとの真に融合した神経インタフェースシステムの実現を考えている。このためには、例えば新たに接続した義手をすみやかに違和感なく制御するために必要な適切なフィードバック信号の性質などに関して研究を行う必要がある。

本分担研究報告書においては、特に課題Aと課題Dの製作面での課題に焦点を当てる。

#### A-3 意義

本研究の成果は、次世代の人工肢・人工臓器および人工感覚生成システムの実現に必要な不可欠の技術であり、福祉社会実現の要求が増大しつつある現在社会の要望と合致するものであると同時に、究極的なヒューマンインタフェースとしても利用し得るものである。また、補綴的な医学領域での応用に留まらず、非常に広範囲な応用が可能であり、社会的・産業的にも非常に大きな意義があると考えられる。

## B. 研究方法

本研究は、流路を備えた微小柔軟神経プローブの開発と評価を目指すものである。以下に平成17年度の研究についての方法の詳細を記す。括弧内は主なる担当者を表す。

動物を対象とした実験については、全て東京大学動物実験実施マニュアルに基づいて行う予定である。この中では、動物の苦痛の軽減などの原則に則って、麻酔薬の使用などについて具体的に規定されている。

#### B-1. 研究方法（平成17年度遂行分）

##### 0) 電極の作成方法の確立（鈴木・竹内）

以下の各課題を遂行するために、各種の仕様の電極を再現性良く作成するための電極作成方法について条件出しを行った。特に流路構造を強化する方法の検討に重点を置いた。結果として下層のパリレンの表面を荒らす処理による方法と、熱的に接着強化を図る方法の2方法について検討を行った（図1）。

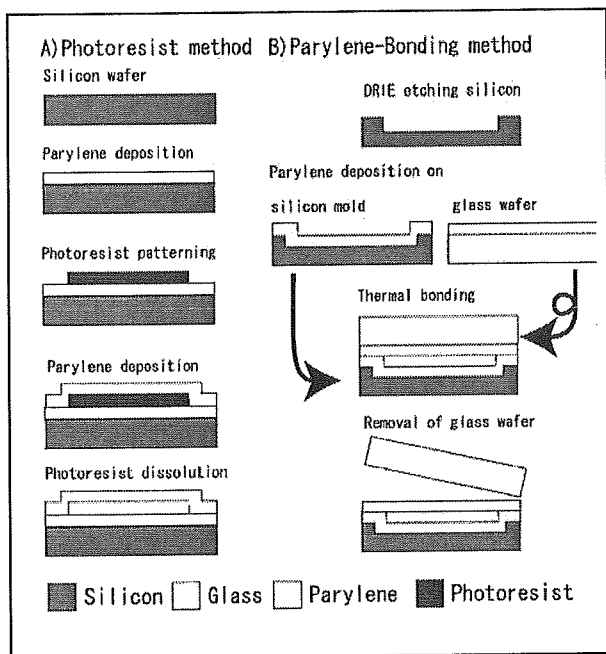


図1: 圧膜レジストの犠牲層を用いる方法と、あらかじめ溝型構造を作ったパリレンを貼り合わせる方法。

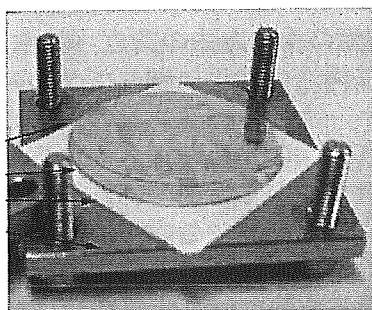
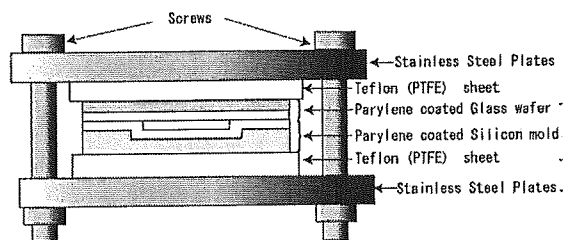


図2: 貼り合わせ法において使用する器具。2枚のステンレス板で2枚のパリレンを強力に挟みこみ、そのまま約150℃の炉で熱する。

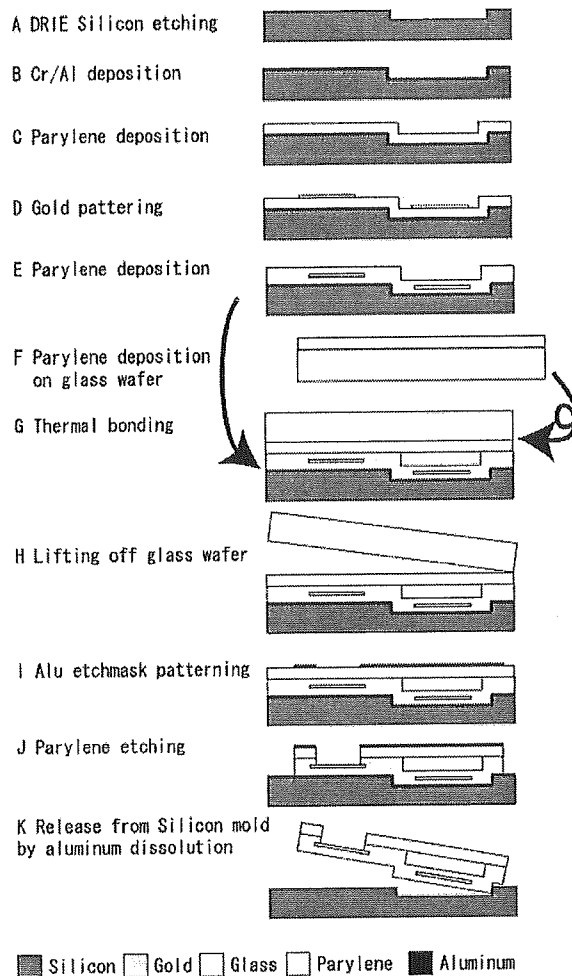


図3: 貼り合わせ法の詳細プロセス。溝型構造を作成するために、まずDeepRIEによってシリコンウェハに溝を掘る。

- A) 流路による薬液注入・吸引機能の確立 (鈴木・竹内)  
略 (総括研究報告書で記述)
- B) 流路内外の電極による神経信号計測 (鈴木)  
略 (総括研究報告書で記述)
- C) 流路へのPEG等の導入による刺入時の硬化と刺入後の溶解の確認 (鈴木・竹内)  
略 (総括研究報告書で記述)
- D) 流路への再生神経軸索の誘導 (鈴木・竹内)  
流路内に再生神経軸索を誘導し、神経再生型電極としての可能性について検討した。

## B-2 研究方法（平成18年度以降の計画）

【平成18年度】

X1) 課題Aと課題Bの統合及び多点化の検討  
（鈴木・竹内）

流路からの薬液注入に対する神経細胞の応答を、流路出口周辺に配置した神経電極で確認することを通じて、流路機能と神経電極機能の統合を確認する。特に薬液注入によるプローブの物理的な動きが電位計測に及ぼす影響について検討する。さらに多点化による相互の影響についても調べる。

E1) 評価用神経インタフェースシステムの試作

ラット神経系と多チャンネルの入出力を行うシステムを試作する。

対象として多自由度のハンドシステムを制御する。

■平成19年度

X3) 統合電極の作成

ここまでの成果を統合した多チャンネル神経電極を作成する。（鈴木・竹内）

E2) 評価・実証実験（鈴木・竹内）

試作した神経インタフェースシステムにより、電極性能の評価・実証実験を行う。

## C. 研究結果

0) 電極の作成方法の確立（鈴木・竹内）

特に流路構造の強化に関して検討を行い、上層のパリレンの形成の前に、下層のパリレンの表面を荒らす処理を行うことによって、流路を強化できることができた。また、さらに強化するために、炉の中で熱的に接着強化を図る方法（貼り合わせ法）も開発した。

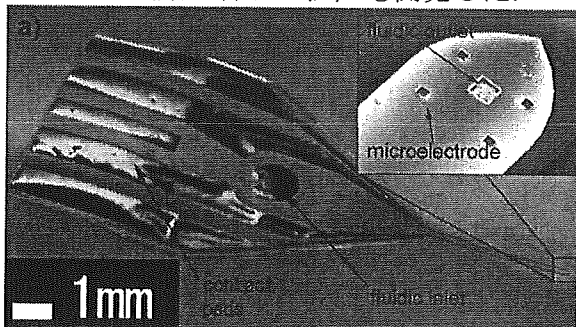


図4: 作成した神経電極

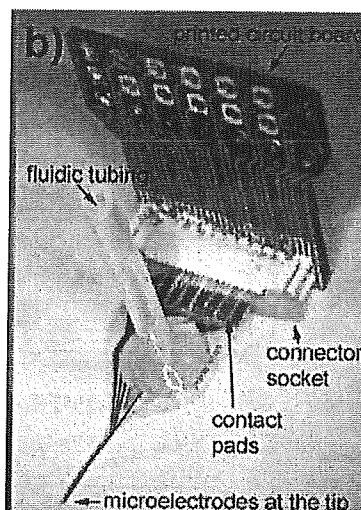


図5: 神経信号計測用コネクタと薬液注入用シリコンチューブをつけた状態

以降は、必要強度に応じて、これらの2つの方法を選択的に用いることとした。

D) 流路への再生神経軸索の誘導（鈴木・竹内）

流路構造を利用した再生型神経電極の特に製作面について検討した。再現性良く流路構造を作成するために、レジストフィルムの利用などを検討したが、流路内へのフィルムの残留などが大きな問題となった。結果として液体型の厚膜レジストを使用し、コート条件等を工夫することで問題を解決した。

## D. 考察

0) 電極の作成方法の確立（鈴木・竹内）

流路構造の強化に関して2つの方法を開発したが、上層のパリレンの形成の前に、下層のパリレンの表面を荒らす方法が、作成プロセス数も少なく簡便である。実際微量の薬液注入に関しては、この方法による強度で十分であると考えている。炉の中で熱的に接着強化を図る方法では、流路構造は非常に強いものとなった。以降は、必要な強度に応じて、これらの2つの方法を選択的に用いることが可能である。

E) 神経再生型電極への応用の検討開始



流路に再生軸索を誘導することによる，再生型電極の製作面での課題の解決を図った．試作版の設計と製作を行い，厚膜レジストの選定や条件出しに成功した．次年度に様々な形状の再生型電極を作成するための作成面での準備を整えることができた．

## E. 結論

これまでのところ，ほぼ当初の計画通りの成果が得られている．さらに，平成18年度に主に検討する計画であった再生型電極に関しても作成面での検討を開始することができた．

## G. 研究発表

### G-1. 論文発表

下記の発表の内容をベースとした論文投稿を準備中である．

### G-2. 学会発表

1) Takafumi Suzuki, Naoki Kotake, Kunihiro Mabuchi, Shoji Takeuchi: Nobel Flexible regeneration-type nerve electrode with integrated micro fluidic channels, Proceeding of International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology, in press (2006)

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

課題Eの再生型電極に関する特許出願を準備中である．

## 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍 該当なし

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
加藤康広, 西野美晴, 鈴木隆文, 満洲邦彦	生分解性ポリマーによるドラッグデリバリーシステムを用いた 薬剤徐放型神経インタフェースの試作	第20回生体・生理工学シンポジウム論文集		17-18	2005
Takafumi Suzuki, Naoki Kotake, Kunihiko Mabuchi, Shoji Takeuchi	Nobel Flexible regeneration-type nerve electrode with integrated micro fluidic channels	Proceeding of International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology		in press	2006
Yasuhiro Kato, Miiharu Nishino, Itsumuro Saito, Takafumi Suzuki, Kunihiko Mabuchi	Flexible Intracortical Neural Probe with Biodegradable Polymer for Delivering Bioactive Components	Proceeding of International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology		in press	2006

# 生分解性ポリマーによるドラッグデリバリーシステムを用いた 薬剤徐放型神経インタフェースの試作

## Preliminary Model of a Flexible Neural Probe Containing Biodegradable Polymer for Delivering Bioactive Components

加藤 康広<sup>1</sup>, 西野 美晴<sup>2</sup>, 鈴木 隆文<sup>2</sup>, 満洲 邦彦<sup>2</sup>

Yasuhiro KATO<sup>1</sup>, Miharuru NISHINO<sup>2</sup>, Takafumi SUZUKI<sup>2</sup>, Kunihiko MABUCHI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東京大学大学院工学系研究科 先端学際工学専攻

<sup>2</sup>東京大学大学院情報理工学系研究科 システム情報学専攻

<sup>1</sup>Dept. of Advanced Interdisciplinary Studies, Grad. School of Engineering, The University of Tokyo

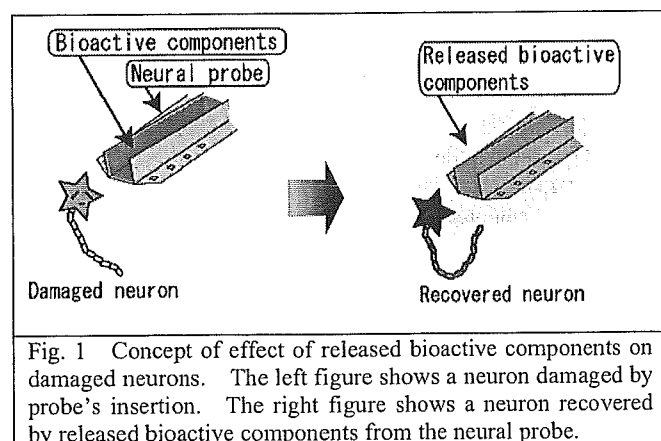
<sup>2</sup>Dept. of Information Physics and Computing,  
Grad. School of Information Science and Technology, The University of Tokyo

**ABSTRACT** A preliminary model of a flexible neural probe containing a biodegradable polymer for delivering bioactive components was designed and fabricated. The probe based on the flexible material of parylene has a hollow structure to seed biodegradable polymeric microspheres with bioactive components, such as nerve growth factor (NGF), in order to promote regrowth of damaged neural tissues around electrodes. NGF was slowly released from the microspheres in a phosphate-buffered saline (PBS) solution for 2 weeks, and the released NGF increased the number of PC-12 neurites and extended their length. These results have shown the possibility that the preliminary model of the neural probe can be applied for chronically recording along with neural regeneration.

## 1 INTRODUCTION

### 1.1 Neural Probe

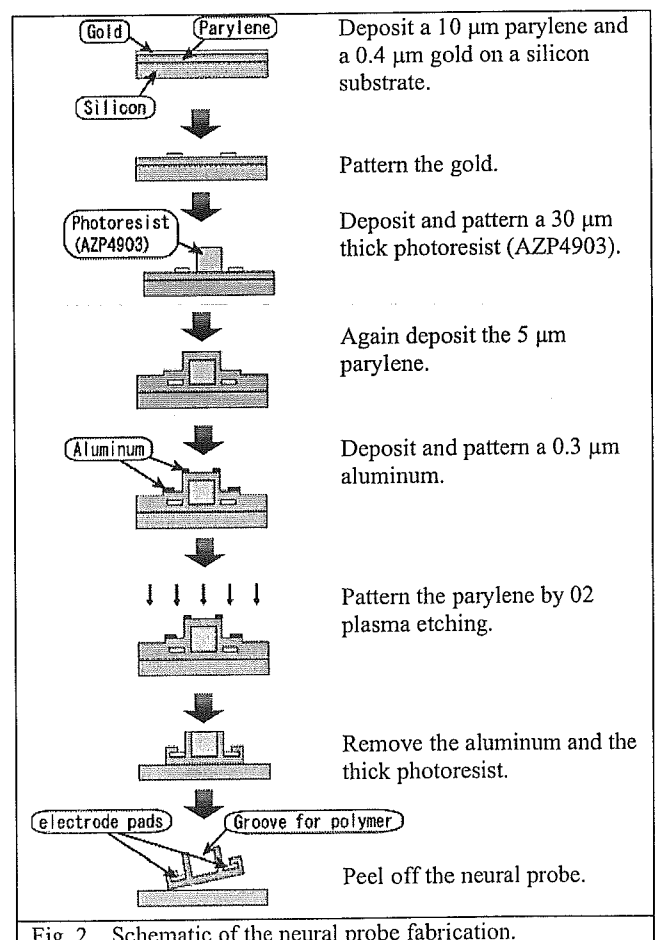
In the past decade, a neural probe has been used in Brain-Machine Interface (BMI), neuroscience like an electrophysiological investigation, and a medical treatment such as Parkinson's disease and epilepsy. There are, however, no suitable electrodes for long-term neural recording, nor are there optimal probes to stimulate the brain for the treatments and use of BMI systems chronically. In order to solve these issues, the neural probe must be designed to perform multi-channel recording and stimulation, to be inserted less invasively in the brain tissue, and to promote regrowth of damaged neural tissues around the electrodes. Therefore, we have been developing a new flexible neural probe to achieve better recording and stimulation of neural activities for a long-term[1], while integrating Micro Electro Mechanical System (MEMS) technology, parylene[2] which is biocompatible and flexible materials, and a drug delivery system (DDS). In the DDS, a biodegradable polymer with bioactive components of nerve growth factor (NGF) was applied for delivering bioactive components to damaged neurons around the electrodes in the neural probe as shown in Figure 1.



## 2 METHODS

### 2.1 Neural Probe Fabrication

Figure 2 illustrates the method of fabricating the neural probe fabrication.



## 2.2 Microsphere Preparation

NGF with ovalbumin (OVA) was encapsulated in the biodegradable polymer of PLGA 85/15 by a solvent evaporation method[3]. The method of fabricating the microspheres is as follows. First, 0.2g of OVA and 30 $\mu$ g of NGF in 4ml of a chloroform solution with 1g of PLGA were dispersed by a polytron homogenizer for 5 min at 8000 rpm. The protein-polymer dispersion was again homogenized in 20 ml of a 1% PVA solution for 5 min at 8000 rpm. The formed emulsion was stirred in 300 ml of a 0.1 % PVA solution for 3 hours at room temperature. The microspheres were centrifuged, washed repeatedly with distilled water more than 3 times, and freeze dried for 48 hours. The microspheres were stored at -20 $^{\circ}$ C prior to use.

## 3 RESULTS

### 3.1 Neural Probe

A preliminary neural probe was designed (Fig. 3). A complete structure of the probe is in the process of fabrication to increase the height and adjust the width of a groove for seeding microspheres.

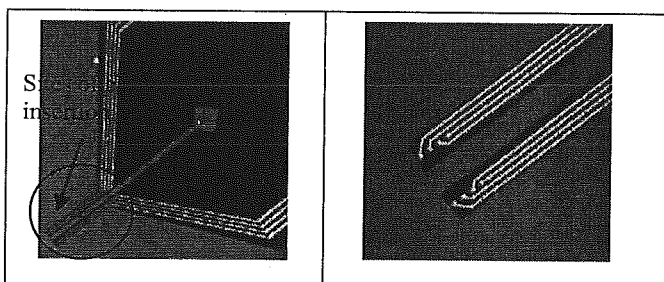


Fig. 3 Photos of the preliminary neural probe. The left photo shows the neural probe. The right photo is the magnification of the electrode's site.

### 3.2 Microspheres

The microspheres were fabricated with an optimal size between 10 and 30  $\mu$ m to seed in the groove of the probe (Fig. 4).

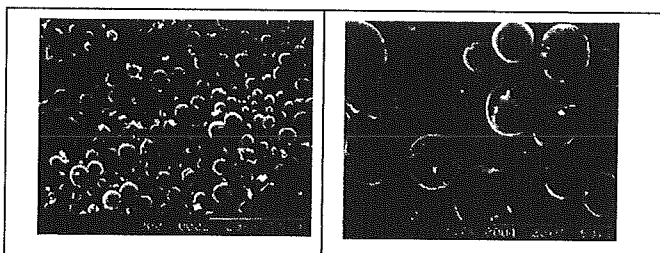
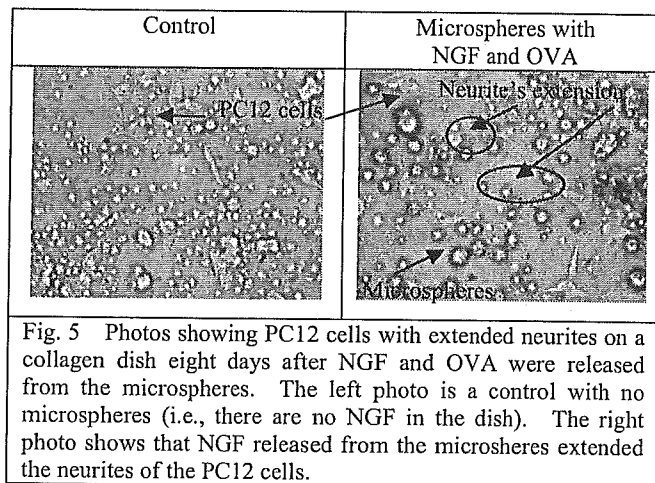


Fig. 4 Photos of the size distribution of the microspheres by a scanning electron microscope.

### 3.3 NGF Release

0.2 g of the microspheres were immersed in 10 ml of a phosphate-buffered saline solution (PBS) and incubated at 37 $^{\circ}$ C. At each time point (24h, 48h 72h 168h 336h), the suspension of the microspheres was centrifuged (10 min, 1000 rpm). 5 ml of the supernatant was then collected and replaced with 5 ml of a fresh PBS. The microspheres were again suspended by vortexing for 5 min. The total amount of NGF released from the microspheres was measured by an Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay. NGF was constantly released between 2-6 ng/ml at each time point, and more than 160 ng of NGF had been released after 336 hours.

The bioactivity of NGF released from the microspheres was assessed using the PC12 cells (Riken Cell Bank). The PC12 cells were incubated on a collagen dish with a serum-free condition. Control consisted of the PC12 cells with no microspheres. After the microspheres were incubated on a dish for 8 days, it was observed that the neurites of the PC12 cells were longer and more numerous than those of the control neurites. This indicates that the NGF released from the microspheres remained bioactivity.



## 4 CONCLUSIONS

The preliminary flexible neural probe was designed and fabricated. It was succeeded in loading bioactive components of NGF with OVA into the biodegradable polymer. The size of the polymer was optimized between 10 and 30  $\mu$ m for embedding the probe. NGF was slowly released in 2 weeks that may induce regeneration of neural tissues. In the in vitro experiment, an efficacy of the released bioactive components was observed, since the neurites of the PC12 cells were extended and increased by the NGF released from the microspheres. Thus, these have shown possibilities that the neural probe provides an optimal implant environment and extends the longevity of the tissue-electrode interface along with neural regeneration.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr.Saito and Dr.Nakagawa at Chinzei Laboratory in Research Center for Advanced Science and Technology at Graduate School of Engineering in the University of Tokyo for practical suggestions and a probe fabrication. We also thank VLSI Design and Education Center in the University of Tokyo for a mask fabrication.

## REFERENCES

- [1] 加藤康広, 鈴木隆文, 満洲邦彦: 生分解性ポリマーを用いた薬剤徐放型神経プローブに関する基礎的研究, 生体医工学, 43, suppl.1(2005)
- [2] TAKEUCHI S, SUZUKI T, MABUCHI K, FUJITA H: 3D Flexible Multichannel Neural Probe Array, Journal of Micromechanics and Microengineering, vol.14, pp.104-108, 2004.
- [3] CAO X, SCHOICHT MS: Delivering neuroactive molecules from biodegradable microspheres for application in central nervous system disorders, Biomaterials. Feb;20(4), pp.329-39, 1999.