

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（感覚器障害分野））
分担研究報告書

MEMS/NEMS 技術を用いた人工感覚上皮の開発に関する研究

研究分担者	川野 聡恭	大阪大学基礎工学研究科
研究分担者	土井 謙太郎	大阪大学基礎工学研究科
研究分担者	新宅 博文	大阪大学基礎工学研究科

研究要旨： 本研究では、蝸牛の機能を代替する人工感覚上皮を開発し、新しい人工聴覚システムを確立することを目的としている。本年度は、これまでに開発した人工感覚上皮の周波数弁別能の広帯域化を目的として、膜厚の異なる微小振動梁を大量に製造する微細加工プロセス技術を開発した。そして、膜厚変化の効果により、試作した微小振動梁アレイの周波数帯域が約 11.4 倍に増大していることを明らかにした。

A. 研究目的

高度感音性難聴に対する治療法として人工内耳が広く用いられている。人工内耳は蝸牛における有毛細胞の役割である音を電気信号に変換する機能を代替し、聴覚を人工的に再生するものである。現在、一般臨床で用いられている人工内耳は体内に埋め込む刺激装置に加えて音声解析等を行う体外装置を必要とする。これに対して、著者らは無電源完全埋め込み型の新たな人工内耳の構築を目指し、蝸牛における基底板の振動特性を模擬した薄膜音響センサ、すなわち、人工感覚上皮を開発した。人工感覚上皮は圧電性の振動膜により印加音波の周波数弁別および音圧/電圧変換を可能とする。振動膜を細長い台形状に設計してあるため、局所的な振動の特徴周波数が位置によって連続的に変化する。これにより、蝸牛の基底板が有する周波数弁別能を人工的に再現する。また、振動膜表面には、電気信号を検出する薄膜電極が分散配置されている。その結果、印加した音の周波数と電極位置における特徴周波数が一致した場合に、その電極からの出力が最大化する。以上の現象を利用して、人工感覚上皮は音の周波数を弁別しながら、音圧/電圧変換を行うことが可能であり、生体の蝸牛における基底板と有毛細胞の機能を代替する。

しかし、これまでに開発した人工感覚上皮では、振動板の厚さが一定であることや材料物性が一様であることが主な要因となって、応答周波数帯域が人の可聴域(20Hz~20kHz)より狭いという問題があった。そこで、本研究では、音波を検知する振動部に厚み変化を与えることで応答周波数帯域を広げ、音響センサを集積化することを目指した。具体的には、グレイスケールリソグラフィを用いた加工法により、厚みが異なる微小振動梁の集合体を製作し、これを基盤とする音響センサの開発について検討した。さらに、製作した微小振動梁アレイの大気中における振動特性を計測した。ここから、厚み変化および製作時に生じる残留応力が応答周波数帯域に及ぼす影響について詳細に検討した。

B. 微小振動梁アレイの製作

通常のリソグラフィで用いられるフォトマスクは、光透過性が0%あるいは100%の二階調のパターンで構成される。一方、ここで用いたグレイスケールマスクは、上記の二階調に加えて光透過率が13%から70%の間で連続的に変化する64個の灰色部を有する。これにより64本の異なる厚さを有する微小振動梁を一度のリソグラフィプロセスにより形成することができる。微小振動梁のパターンは1.5 mm × 30 mmの領域に集積しており、長さが0.75 mmから1.5 mm、幅が50 μmから600 μmの範囲で変化する。ただし、各灰色部は、100 μmの黒色部、すなわち光透過性が0%のパターンで分離した。

グレイスケールマスクの製作方法を記す。まず、灰色部を構成するAl薄膜をガラス基板上に製膜する。ここでは、Al薄膜の膜厚を位置について連続的に変化させるため、成膜時にガラス基板と蒸着源の間にV字型の貫通溝があるシャドウマスクを設けた。通常、シャドウマスクは基板と密着させた状態で用いるが、ここでは基板から35 mm離れた位置に設置した。これにより、V字状の貫通溝の間隔が狭い部分ではAl膜が厚く、広い部分では薄くなる。最後に、通常のリソグラフィ法およびリフトオフ法により黒色部を製作し、グレイスケールマスクを完成させた。次に、微小振動梁アレイの製作プロセスを記す。こ

ここでは、梁の材料として Si 基板上に成膜した厚み約 200 μm のネガ型フォトリソ SU-8 3050 を用いた。グレイスケールマスクを介してフォトリソを露光すると、各灰色部における光透過性の違いにより、フォトリソの露光量が変化する。透過率が 100 %の部分では Si 基板表面までが露光される一方で、灰色部ではレジスト表面から光透過性に応じた深さまで露光される。その後、PEB(Post Exposure Bake)により露光部分の架橋を促進させ、基板近傍の未露光部を現像液により除去すると、基板に保持された梁状構造が形成される。形成される梁の厚さは、露光量に依存するため、灰色部の光透過率に応じて梁の厚さが増加する。以上の原理に基づき、厚みを連続的に変化させた微小振動梁アレイの製作および集積化が可能になる。また、露光時に 330 \pm 40 nm の波長成分のみを透過させるバンドパスフィルタを用いて、比較的減衰しやすい短波長成分を積極的に利用し、厚みの制御性向上を図った。図 1 に製作した微小振動梁アレイ全体の SEM 画像を示す。図 1 より、64 本すべての梁の製作に成功していることが確認できる。ただし、厚さ約 20 μm 以下の梁、すなわち、図 1 中 No.44~No.64 では、梁形状の変形が確認できる。この現象は後述する残留応力に起因していると考えられるが詳細は不明である。ここで製作した各梁を一本ずつ切断し、その断面の SEM 画像から微小振動梁の厚みを計測した。その結果、微小振動梁の厚みは 3.02 μm から 139 μm の間で変化していることが分かった。

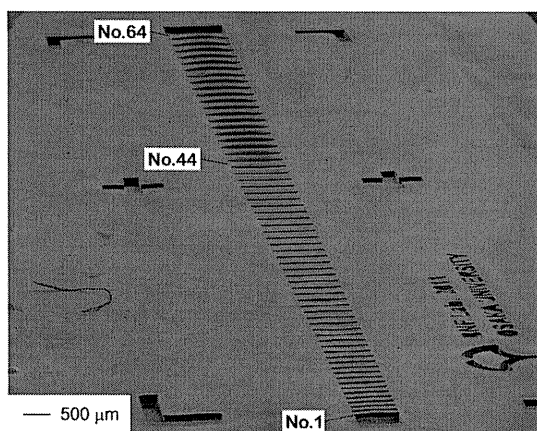


図 1 試作した人工感覚上皮の SEM 写真

C. 振動特性の計測

大気中における微小振動梁アレイの振動特性について記す。スピーカより正弦波状の音を印加し、梁の振動をレーザードップラ振動計で計測した。音波の周波数は 1.0 kHz から 350 kHz の範囲において 0.5 kHz 間隔で変化させた。また厚み変化による効果を評価するために、厚みが 18 μm 一定の微小振動梁アレイにおいても同様に計測した。

計測の結果から、厚み変化を有する振動梁アレイの応答周波数帯域は、11.0 kHz ($=f_1$)から 290 kHz ($=f_2$)であることが分かった。一方、厚み一定の振動梁アレイでは 41.0 kHz ($=f_3$)から 95.0 kHz ($=f_4$)であった。したがって、厚み変化を有する微小振動梁アレイにおいて、応答周波数帯域が約 11.4 倍 ($=f_2/f_1)/(f_4/f_3)$)に拡大していることが確認できる。以上の詳細を考察するため、矩形断面を有する両端固定梁を仮定し、次式より 1 次モード曲げ振動の共振周波数 f_{r1} を求めた。

$$f_{r1} = \frac{4.730^2}{2\pi L} \sqrt{\frac{E}{12\rho} \left(\frac{h}{L}\right)^2} \quad (1)$$

ここで、 E [Pa], h [m], L [m] および ρ [kg/m³] は、それぞれ、ヤング率、梁の厚み、長さおよび密度である。式(1)より、 f_{r1} は h に比例することから、厚み変化による帯域の拡大は 46.0 倍になることが期待される。しかし、計測値(11.4 倍)はこれを下回る。また、式(1)と測定値を比較すると、すべての梁において予測値が測定値を下回った。これは、梁の共振周波数が曲げのみならず、引張りの残留応力、すなわち、張力にも影響を受けていることが原因と考えられる。そこで、曲げおよび張力によるポテンシャルエネルギーと運動エネルギーをそれぞれ算出し、レイリー法に基づき

$$f = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{\frac{1}{2} \int_0^L \left[EI \left(\frac{\partial^2 y}{\partial x^2} \right)^2 + TA \left(\frac{\partial y}{\partial x} \right)^2 \right] dx}{\frac{1}{2} \int_0^L \rho A y^2 dx}} \quad (2)$$

から共振周波数を算出した。ここで、 A [m²], I [m⁴] および T [Pa] は、梁の断面積、断面二次モーメントおよび引張残留応力である。さらに、たわみ曲線 y の近似式には、

$$y = \frac{y_0}{2} \left(1 - \cos \frac{2\pi}{L} x \right) \quad 0 \leq x \leq L \quad (3)$$

を用いた。 y_0 [m]は梁中央部における最大振幅である。ただし、 T は、厚み 18 μm 一定の微小振動アレイより 19.0 MPa と求めた。実験結果との比較より、特に No.1~No.44 の梁において式(2)は式(1)よりも良い予測値を与えることが分かった。しかし、No.45 以降において測定値は式(1)に漸近し、厚みの減少と共に張力の影響が減少していくことが分かった。これは、薄い梁では少ない露光量に起因してレジストの架橋密度が低く、残留応力が小さくなったためと考えられる。また同時に、この結果は、本現象を利用し、厚み変化に加えて残留応力を積極的に制御した音響センサの開発可能性を示唆している。今後、本製造技術に関してさらなる検討を進め、より生体システムへ近い音解析システムの創製を目指したい。

D. 学会発表

1. Hirofumi SHINTAKU and Satoyuki KAWANO, Development of Bionic Auditory Membrane with Non-Uniform Thickness for Acoustic Sensor with Wide-Range Frequency Selectivity, Proceedings of ASME-JSME-KSME Joint Fluids Engineering Conference 2011, Hamamatsu, Japan, July (2011), pp. (36038-1)-(36038-2).
2. 新宅博文, 川野聡恭, 広帯域 MEMS 人工基底膜の振動特性, 日本機械学会 2011 年度年次大会 CD-ROM, pp. (J054061-1)-(J054061-2), 東京, 2011 年 9 月.
3. 小林誉幸, 新宅博文, 川野聡恭, 厚み変化を有する微小振動梁アレイのグレイスケールリソグラフィによる製作, 日本機械学会第 3 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム講演論文集, pp. 11-12, 東京, 2011 年 9 月.

基底板の振動挙動シミュレーション

— 蝸牛窓硬化および人工上皮挿入の影響 —

電気通信大学大学院情報理工学研究科

知能機械工学専攻 小池 卓二

1. 緒言

音の振動は、外耳道(ear canal)を通り、中耳の鼓膜(tympanic membrane)、耳小骨(ossicles)を経て内耳の蝸牛(cochlea)へと伝達される(Fig. 1(a)). 蝸牛内はリンパ液で満たされており、リンパ液の振動が基底板(basilar membrane, BM)と呼ばれる薄膜を振動させる(Fig. 1(b)). これにより基底板には、蝸牛基底部から蝸牛頂部へと向かう進行波が発生する. 進行波による基底板振幅は、入力周波数が低周波の場合には、蝸牛頂部側で最大となり、高周波の場合では基底部側で最大となる. このように、基底板上の各部位は、ある特定の周波数において最大振幅を示し、この周波数は特徴周波数(characteristic frequency, CF)と呼ばれている.

基底板上には、コルチ器(organ of Corti)と呼ばれる感覚細胞群が分布している(Fig. 1(c)). コルチ器内には、外有毛細胞(outer hair cell, OHC)と内有毛細胞(inner hair cell, IHC)と呼ばれる感覚細胞が存在する. OHC は音のナノメートルオーダの振動を増幅する働きがあり、IHC は基底板の機械的振動を電気信号に変換する. このため、基底板振動と聴力とは密接な関係が有る.

これまで蝸牛の機能解明のために、様々な計測が行われてきた. しかし、蝸牛は側頭骨内部にあることから、直接観察が難しい. そこで本研究では、有限要素法 (finite element method, FEM) によって、ヒト内耳の三次元 FEM モデルを作成した. まず、正常耳の内耳モデルを作成し、モデル挙動とヒトにおける計測結果とを比較し、不明なパラメータを決定した. また、臨床応用として、内耳モデルに内耳疾患を想定したパラメータを用いた解析を行い、疾患による聴力低下のメカニズムを力学的知見から明らかにした. さらに、人工聴覚上皮を鼓室階に挿入した場合に基底板振動のシミュレーションを行った.

2. 正常な内耳モデルの構築

2.1 内耳モデル

本研究では、アブミ骨(stapes)と前庭(vestibule)、直線形状の蝸牛からなるモデルを用いた(Fig. 2). 前庭部は、アブミ骨、輪状靭帯(stapedial annular ligament)、前庭窓(oval window)をモデル

化し、蝸牛内部は基底板、それを支持する骨ラセン板、蝸牛窓(round window, RW)および蝸牛小管(cochlea aqueduct)をモデル化している。また、ライスネル膜(Reisser's membrane, RM)を省略したモデル(Fig. 2)と、付加したモデルを作成し、ライスネル膜の有無による基底板振動への影響を調べた。

ここでは、解析の複雑化を避けるため、以下の仮定を導入し、モデルを単純化した。先行研究⁽¹⁾において、螺旋形状を直線形状にしたときの基底板振動への影響は小さかったことから、蝸牛モデルは直線形状とした。蝸牛各部の形状は、蝸牛基底部から頂部にかけて線形的に変化するものとした。また、蝸牛断面を矩形とした。リンパ液の体積、基底板、蝸牛窓の幅や厚さは、ヒトにおける報告データを基に決定した。基底板には、Fig. 2のX軸方向にコラーゲン線維が並んでいるため、異方性を有していることが予想されるが、本解析では異方性を考慮せず、等方弾性体と仮定した。リンパ液は、非圧縮性の理想流体と仮定した。

2.2 物性値および境界条件

モデル各部の物性値は、ヒトによる報告データを基に、一部をモルモットによる報告により補完した。リンパ液の粘度には、ヘマトクリット値が低い血液の粘度を使用した。境界条件は、基底板や蝸牛窓、輪状靭帯等の周囲を完全に固定した。また、実際の蝸牛は骨に囲まれている器官であることから、モデルでは、リンパ液の表面を剛体壁として定義した。音の入力は、アブミ骨頭部に、音圧 0.2Pa の正弦波を負荷した。なお、解析には汎用連成解析ソフトである CFD-ACE+Version2009.0 (ESI CFD Inc., 国内総代理店：(株)ウェーブフロント)を使用した。

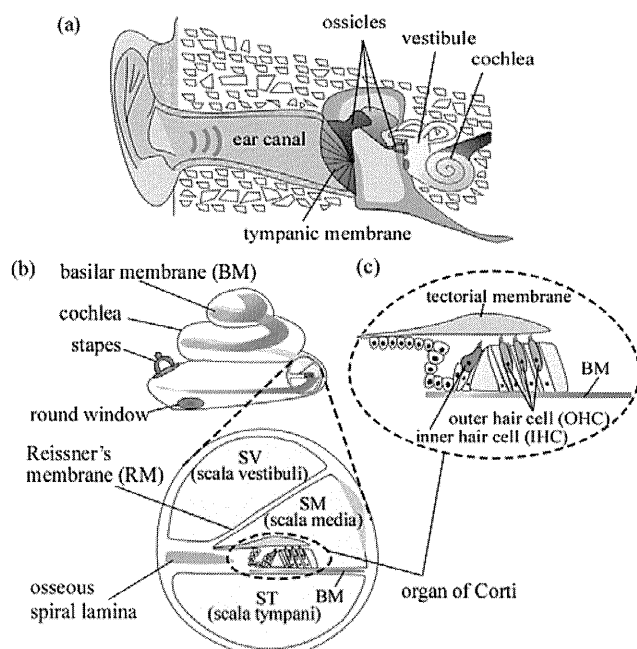


Fig. 1 Structure of the human auditory system.

(a) Human ear.

(b) Cross section of the cochlea.

(c) Organ of Corti.

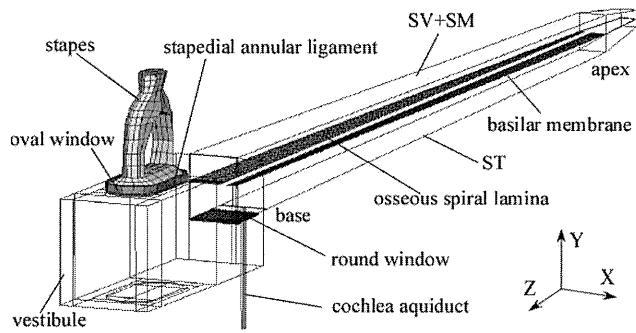


Fig. 2 FEM model of the human stapes and cochlea. The shape of the cochlea is straightened out for simplification of the analysis.

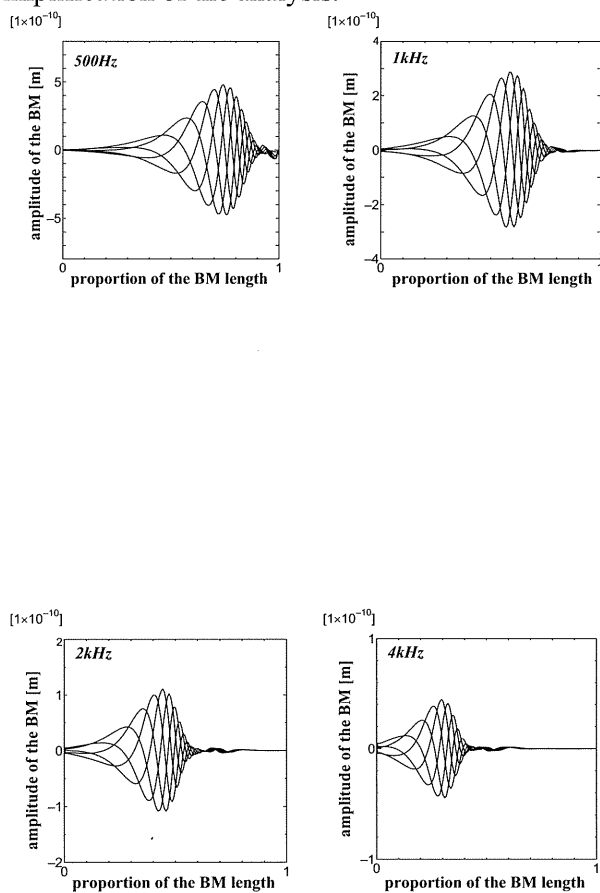


Fig. 3 Vibration mode of the basilar membrane (BM).

2.3. 内耳モデルの評価

Fig. 3 に、ライスネル膜を省略した内耳モデルにおいて、解析により得られた基底板の変形の時間変化を示す。縦軸が基底板変位、横軸が基底部からの距離を正規化した値であり、周波数は 500, 1k, 2k, 4kHz である。低周波数では蝸牛頂部(apex)側で、高周波数では蝸牛基底部(base)側で、基底板の振幅は最大となった。

Fig. 4 に、基底板の特徴周波数分布、すなわち、入力周波数と基底板上における最大振幅を示す部位の関係を示す。解析結果をドット（●：ライスネル膜を付加したモデル、○：ライスネル膜を省略したモデル）、測定結果⁽²⁾を実線で示す。ライスネル膜を付加したモデル、省略したモデルともに測定結果に近い値を示した。

Fig. 5 に、アブミ骨底板の振幅に対する基底板の振幅比の周波数変化を示す。解析結果をドット（●：ライスネル膜を付加したモデル、○：ライスネル膜を省略したモデル）、測定結果⁽³⁾を実線で示す。ライスネル膜を付加したモデル、省略したモデルにおいて大きな差は無かったが、ライスネル膜を付加したモデルの方が、高周波数において、より測定結果に近い値が得られた。

これらの結果から、ライスネル膜が基底板振動に及ぼす影響は小さかった。ライスネル膜を付加した内耳モデルの解析は、計算時間がかかる為、臨床応用には不向きである。そのため以下の解析では、ライスネル膜を省略した内耳モデルを使用した。

3. 難聴発生機序の解明：蝸牛窓骨化

3.1 背景

蝸牛は、周りを側頭骨と呼ばれる骨に囲まれているが、蝸牛窓と呼ばれる小孔があり、その小孔に張られている膜が、リンパ液の流動性と圧力を制御していると考えられている。進行波は基底板付近におけるリンパ液の圧力変化によって生じることから、蝸牛窓の可動性は基底板を振動させる上で重要な意味を持つ。先行研究⁽¹⁾では、この蝸牛窓が骨化した場合、蝸牛窓の駆動性が低下することで基底板の振動が低下することが報告されている。しかし、入力周波数を 1k, 5kHz に限定して解析を行っており、音声認識に必要な広い周波数域では解析はなされていない。そこで今回は、入力周波数を 125, 250, 500, 1k, 2k, 4k, 8kHz とし、各周波数における基底板振動の低下量を解析した。

3.2 解析結果・考察

蝸牛窓骨化耳では、蝸牛窓が骨化(ossified)した場合を想

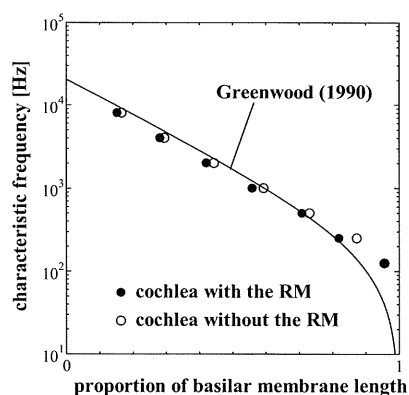


Fig. 4 Characteristic frequency map of the human cochlea from base to apex. The filled circles are obtained from the cochlea model with Reissner's membrane (RM). The open circles are obtained

from the cochlea model without RM. The solid line is measurement result obtained from the study of Greenwood (1990).

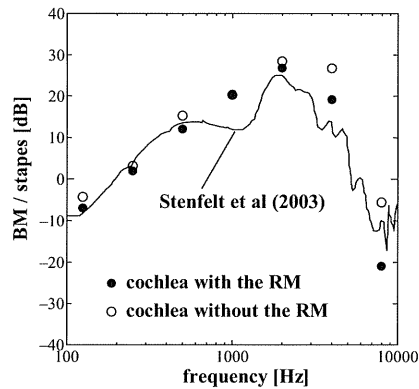


Fig. 5 Level of the basilar membrane (BM) displacement relative to the stapes footplate displacement. The filled circles are obtained from the cochlea model with Reissner's membrane (RM). The open circles are obtained from the cochlea model without RM. The solid line is measurement result obtained from the study of Stenfelt et al. (2003).

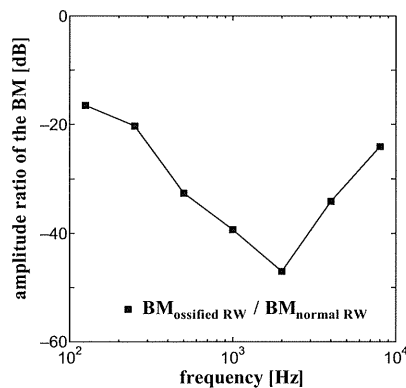


Fig. 6 Ratio of the maximum displacement ratio of the basilar membrane (BM) in the cochlea with ossified round window (RW) to that in the normal cochlea.

定し、蝸牛窓の変位を完全に固定して解析した。Fig. 6に、正常内耳に対する、蝸牛窓骨化耳における基底板の振幅比と、周波数の関係を示す。振幅比はすべて基底板の最大振幅を比較して導出した。蝸牛窓骨化時では500, 1k, 2k, 4kHzで30dB以上の基底板振動の低下がみられた。特に、2kHz時に振幅低下量は47dBと最大となり、基底板振動が最も抑制されることが分かった。基底板上には感覚細胞が分布しているため、基底板振動の低下により聴力が低下すると考えられる。このことから、蝸牛窓が骨化した場合、2kHzにおける聴力が最も低下することが考えられる。同様の現象が、耳硬化症患者の骨導音においても報告⁽⁴⁾されている。耳硬化症患者は、アブミ骨底板が固着することで、アブミ骨底板の可動性が下がり、気導音に対する聴力が低下する。耳硬化症の特徴として、2kHz時の骨導音が下がるとされており、これを Carhart notch と呼ばれている。したがって、蝸牛窓またはアブミ骨底板のど

ちらかが動きにくくなると、2kHz 時で聴力が低下するという点で、解析結果と臨床結果に共通点が見られた。解析結果は、蝸牛窓を固定することによって大きく振幅が低下したが、実際に蝸牛窓が完全に固定されるということは考えにくいいため、実際の内耳においては、本解析結果ほどには基板振動は低下しないと考えられる。また、正常内耳と蝸牛窓骨化耳における特徴周波数分布の違いは小さかったことから、蝸牛窓が骨化することで、周波数弁別に影響は無いと考えられる。

4. 人工上皮挿入の影響

4.1 背景

現在、MEMS/NEMS 技術を用い、完全埋め込み可能であり、外部電源を必要としない人工聴覚器および関連する手術手技の開発が行われている。これは、本来蝸牛有毛細胞が有する音刺激を電気信号に変換する能力を持つ圧電素子デバイス、すなわち人工聴覚上皮を作製し、体外器機を要しない人工聴覚システムを開発するものである。人工上皮は蝸牛内に留置され、音刺激により振動変形することで電気信号を生み出すが、人工上皮を蝸牛内に留置することで、本来の基板の振動にどのような影響が有るのかは不明である。そこで、鼓室階に人工上皮を挿入した場合の基板振動変化のシミュレーションを行った。

4.2 解析方法

Fig. 7 に、人工上皮挿入時の蝸牛モデルを示す。図のモデルは、人工上皮の長さが基板の長さに対して 1/1 の場合である。人工上皮は圧電素子と電極およびシリコンゴムから成るものとし、その形状は人工内耳の電極と同様なものと仮定し、長さを基板長さに対して 1/1, 3/4, 1/2 とした。それぞれのモデルを Fig. 8 に示す。人工上皮と基板・骨ラセン板の間隔は、基部から頂部にかけて一様に 0.04mm とし、その間には流体部分が存在する。人工上皮の位置は、鼓室階の中において、中央にある状態、基板の直下にある状態の 2 つを想定した。

人工上皮は、シリコンゴム(密度：1200 kg/m³)とプラチナ-イリジウム合金からなる金属線(密度：22000 kg/m³)で出来ているものとし、密度は 2500kg/m³ とした。ヤング率はシリコンゴムと同程度の 5MPa とし、ポアソン比は 0.49 とした。境界条件は、蝸牛基部における人工上皮断面を完全固定し、他の面は非固定として解析した。人工上皮を蝸牛窓から鼓室階へ挿入した場合、挿入後に蝸牛窓は軟組織により閉鎖され、固定されるものとした。そのため、本モデルにおいて(Fig. 7)、蝸牛窓を完全に固定して解析した。また、蝸牛窓を傷つけずに蝸牛壁に穴を開け、人工表皮を挿入した場合を想定し、蝸牛窓を固定しない状態についても同様に解析を行った。

4.3 解析結果・考察

4.3.1 人工上皮長さ

Fig. 9 に、正常内耳の基板振動に対する、人工上皮をモデル化した場合における基板振

動の振幅比の周波数変化を示す。ここで振幅比は、基底板の最大振幅値から導出した。人工上皮を挿入せず、蝸牛窓を固定した場合の解析結果 (Fig. 6 の結果と同じ) を四角形の点で示す。人工上皮挿入時の解析結果を、人工上皮の長さが基底板に対して 1/1 の場合は三角形 (塗りつぶしドットは蝸牛窓を固定した場合、白抜きドットは蝸牛窓を固定していない場合、以下同様) の点で、3/4 の場合はひし形の点で、1/2 の場合は円の点で示す。振幅比のグラフから、各モデルにおいて正常内耳に比べ基底板の振幅が低下した。以下、人工上皮の長さ

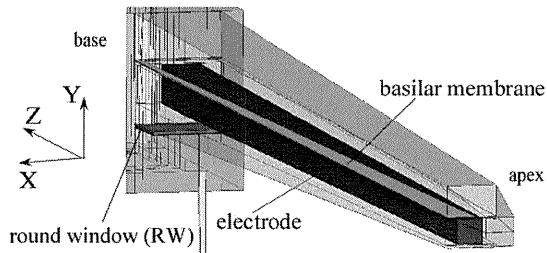


Fig. 7 Straight cochlea model with the artificial epithelium.

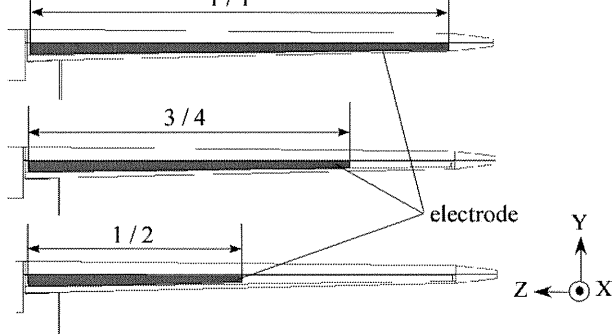


Fig. 8 Length of the artificial epithelium.

による振幅低下量の違いを、周波数別に述べる。

250Hz において、蝸牛窓を固定した場合、人工上皮の長さが短い方が基底板の振幅低下は小

さかった。250Hz では、人工上皮が短い方が、聴力は低下しにくいものと考えられる。500Hz では、蝸牛窓を固定した場合、人工上皮長さが基底板に比べ 3/4 の場合、基底板の振幅が最も低下していた。これは、500Hz において、特徴周波数位置の付近には人工上皮の先端が位置しており、その付近のリンパ液の流動性が低下した為、振動が低下したのではないかと考えられる。

1kHz, 2kHz, 4kHz の基底板振幅は、蝸牛窓を固定した場合、人工上皮挿入時における人工上皮の長さが長い方が基底板振幅は大きかった。また、人工上皮を挿入していない場合と比較しても、人工上皮挿入時の方が基底板振動は大きかった。この原因を探るべく、リンパ液の圧力を解析結果から導出した。

Fig. 10 に、2kHz 入力時の、前庭階(SV)側と鼓室階(ST)側の基底板付近のリンパ液の圧力差を示す。縦軸に前庭階側の圧力から鼓室階側の圧力を差し引いた値を、横軸に基底板基部からの距離を正規化した値を示す。Fig. 10(a)は、蝸牛内に基底板に対して 1/1 の長さの人工上皮を挿入した場合、Fig. 10(b)は人工上皮を挿入していない場合である。両モデルにおいて、蝸牛窓を固定して解析した。人工上皮を挿入していない場合に比べ、挿入時の方が、前庭階側と鼓室階側の圧力差が大きいことが分かる。基底板の進行波は、前庭階側と鼓室階側のリンパ液の圧力差によって駆動されることから、その圧力差が小さい場合、基底板振動も小さくなると思われる。人工上皮挿入時において、より大きな圧力差が生じた原因は、人工表皮の剛性が関係しているものと考えられる。そこで、人工上皮のヤング率をより大きい 200GPa として解析を行った。

Fig. 11(a)に、人工上皮のヤング率を 5MPa として解析した時の基底板の振動モードを、Fig. 11(b)に、人工上皮のヤング率を 200GPa として解析した時の基底板の振動モードを示す。両者ともに、蝸牛内に基底板に対して 1/1 の長さの人工上皮を挿入した場合の結果である。図のように人工上皮のヤング率を 200GPa とした場合には、5MPa 時に比べ基底板振動の変位が低下した。また、正常内耳に対する基底板の振幅低下量は 48dB となり、人工上皮を挿入せず蝸牛窓を固定した場合における低下量に近い値を示した。

以上の結果から、蝸牛窓を固定した場合、シリコンのような柔らかい人工上皮を挿入することで、人工表皮表面が変形し、蝸牛窓同様リンパ液に圧力変化を生じさせる働きを持つのではないかと考えられた。それゆえ、1k から 4kHz では、蝸牛窓を固定した場合には、人工上皮挿入時の方が基底板振動は大きかったと考えられる。

蝸牛窓を固定しない場合は、人工上皮の長さによる基底板振動の変化は小さかった。よって蝸牛窓を正常に保ったまま、蝸牛壁に穴を開け、人工上皮を挿入するといった手術方法によって、聴力の改善が図れる可能性が有ると考えられる。

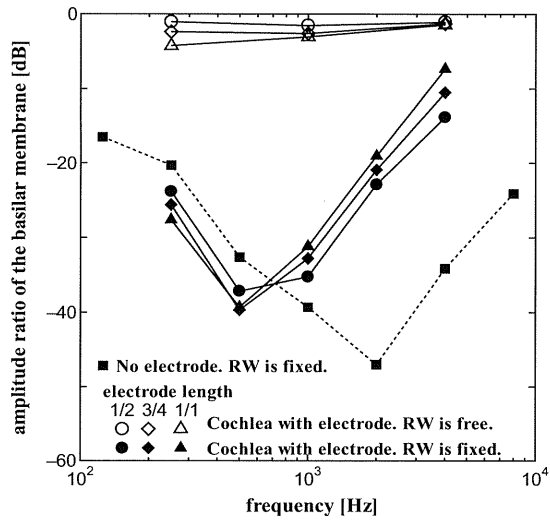


Fig. 9 Ratio of the maximum displacement ratio of the basilar membrane in the cochlea with the artificial epithelium in the center of the scala tympani to that in the normal cochlea.

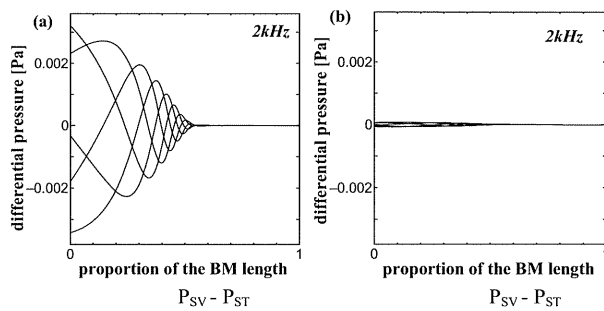


Fig. 10 Differential pressure of the scala vestibuli (SV) and the scala tympani (ST). Round window is fixed. (a) Cochlea with the artificial epithelium. (b) No artificial epithelium.

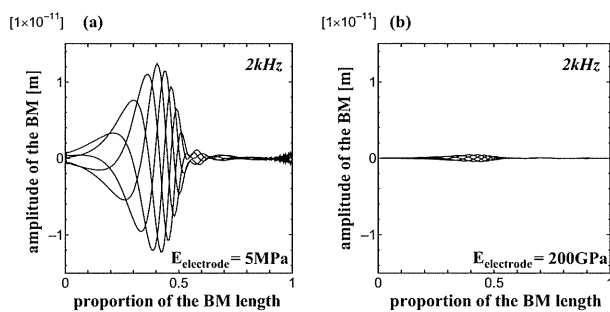


Fig. 11 Vibration mode of the basilar membrane (BM). Round window is fixed. Young's modulus of the artificial epithelium is (a) 5MPa (b) 200GPa.

4.3.2 人工上皮挿入位置

Fig. 12 に、人工上皮を基底板直下に挿入したモデルにより得られた、正常内耳に対する基底板振幅比の周波数変化を示す。Fig. 9, Fig. 12 から、人工上皮を基底板の直下に挿入した場合(Fig. 12)は、鼓室階の中央に挿入した場合(Fig. 9)に比べ、基底板振幅は低下した。基底板近傍に人工上皮が存在すると、基底板近傍のリンパ液の流動性が低下し、基底板の振動は低下すると考えられる。人工上皮の長さが基底板に対して 1/2 と短い場合には、人工上皮位置の影響は低周波数域において小さかった。人工上皮が短い場合には、頂部側の基底板付近に人工上皮は存在しないため、低周波数域において振幅の低下は小さくなると思われる。

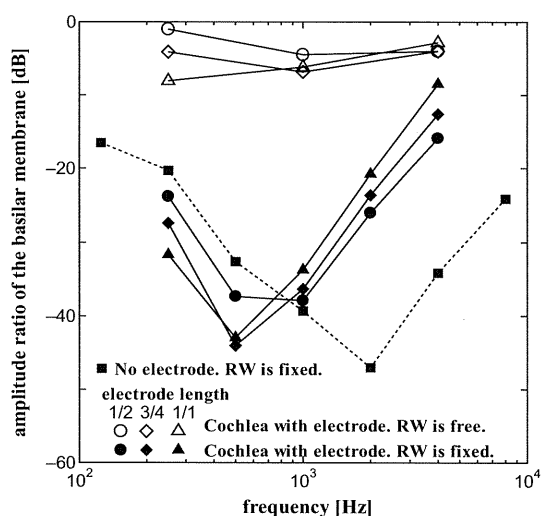


Fig. 12 Ratio of the maximum displacement ratio of the basilar membrane in the cochlea with the artificial epithelium inserted just under the basilar membrane to that in the normal cochlea.

5. 結言

解析結果より、次に示す所見が得られた。

- (1) 蝸牛窓が骨化などで固着した場合、すべての周波数において基底板振動は低下した。基底板の振幅は 2kHz で最も低下し、正常時に比べ 47dB 振幅が低下した。実際の蝸牛では、蝸牛窓が完全に固定されることは無いため、聴力低下量はこれよりも少ないものと考えられる。
- (2) 内耳に人工上皮を挿入する場合は、人工上皮の長さを短くし、容積を小さくする方が、500Hz 以下における基底板振動を障害しにくい。
- (3) 蝸牛窓を傷つけずに蝸牛壁に小孔を開け、人工上皮を挿入するといった手術方法により、聴力の改善が図れる可能性がある。

研究成果の刊行に関する一覧表

著書

なし

論文

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	出版年・巻号・頁
Inaoka T, Shintaku H, Nakagawa T, Kawano S, Ogita H, Sakamoto T, Hamanishi S, Wada H, Ito J.	Piezoelectric materials mimic the function of the cochlear sensory epithelium.	Proc Natl Acad Sci USA	108(45):18390-5, 2011.
中川隆之、川野聡恭、伊藤壽一	完全埋め込み型 MEMS 人工内耳	Clinical Neuroscience	29: 1379-1381, 2011.
伊藤壽一	人工内耳の適応に関する考察	耳鼻臨床	2011;104(1):1-6
石川正昭、平海晴一、山本典生、坂本達則、金丸眞一、伊藤壽一	人工内耳手術における電極入れ替え症例の検討.	日本耳鼻咽喉科学会会報	114:5; 498-504, 2011
Doi, K., Onishi, I., Kawano, S.	Abinitio molecular dynamics of H ₂ dissociative adsorption on graphene surfaces	CMES - Computer Modeling in Engineering and Sciences	77 (2), pp. 113-136, 2011.
Doi, K., Kato, K., Kawano, S.	Characterization of polymer structures based on Burnside's lemma	Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics	84 (1), art. no. 011805, 2011.
Koike, T., Sakamoto, C., Sakashita, T., Hayashi, K., Kanzaki, S., Ogawa, K.	Effects of a perilymphatic fistula on the passive vibration response of the basilar membrane.	Hearing Research.	2012 Jan;283(1-2):117-25

Piezoelectric materials mimic the function of the cochlear sensory epithelium

Takatoshi Inaoka^{a,1}, Hirofumi Shintaku^{b,1}, Takayuki Nakagawa^{a,2}, Satoyuki Kawano^b, Hideaki Ogita^a, Tatsunori Sakamoto^a, Shinji Hamanishi^c, Hiroshi Wada^d, and Juichi Ito^a

^aDepartment of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan; ^bDepartment of Mechanical Science and Bioengineering, Graduate School of Engineering Science, Osaka University, Osaka 560-8531, Japan; ^cDepartment of Mechanical Engineering, Sendai National College of Technology, Miyagi 981-1239, Japan; and ^dDepartment of Bioengineering and Robotics, Graduate School of Engineering, Tohoku University, Miyagi 980-8579, Japan

Edited by Dale Purves, Duke University Medical Center, Durham, NC, and approved September 13, 2011 (received for review June 25, 2011)

Cochlear hair cells convert sound vibration into electrical potential, and loss of these cells diminishes auditory function. In response to mechanical stimuli, piezoelectric materials generate electricity, suggesting that they could be used in place of hair cells to create an artificial cochlear epithelium. Here, we report that a piezoelectric membrane generated electrical potentials in response to sound stimuli that were able to induce auditory brainstem responses in deafened guinea pigs, indicating its capacity to mimic basilar membrane function. In addition, sound stimuli were transmitted through the external auditory canal to a piezoelectric membrane implanted in the cochlea, inducing it to vibrate. The application of sound to the middle ear ossicle induced voltage output from the implanted piezoelectric membrane. These findings establish the fundamental principles for the development of hearing devices using piezoelectric materials, although there are many problems to be overcome before practical application.

cochlear implant | hearing loss | mechano-electrical transduction | traveling wave | regeneration

The cochlea is responsible for auditory signal transduction in the auditory system. It responds to sound-induced vibrations and converts these mechanical signals into electrical impulses, which stimulate the auditory primary neurons. The human cochlea operates over a three-decade frequency band from 20 Hz to 20 kHz, covers a 120-dB dynamic range, and can distinguish tones that differ by <0.5% in frequency (1). It is relatively small, occupying a volume of <1 cm³, and it requires ~14 μW power to function (2).

The mammalian ear is composed of three parts: the outer, middle, and inner ears (Fig. 1A) (3). The outer ear collects sound and funnels it through the external auditory canal to the tympanic membrane. The cochlea consists of three compartments: scala vestibuli and scala tympani, which are filled with perilymph fluid, and scala media, which is filled with endolymph fluid (Fig. 1C). The scala vestibuli and scala tympani form a continuous duct that opens onto the middle ear through the oval and round windows. The stapes, an ossicle in the middle ear, is directly coupled to the oval window. Sound vibration is transmitted from the ossicles to the cochlear fluids through the oval window as a pressure wave that travels from the base to the apex of the scala vestibuli through the scala tympani and finally to the round window (Fig. 1B). The scala media are membranous ducts that are separated from the scala vestibuli by Reissner's membrane and separated from the scala tympani by the basilar membrane. The pressure wave propagated by the vibration of the stapes footplate causes oscillatory motion of the basilar membrane, where the organ of Corti is located. The organ of Corti contains the sensory cells of the auditory system; they are known as hair cells, because tufts of stereocilia protrude from their apical surfaces (Fig. 1D). The oscillatory motion of the basilar membrane results in the shear motion of the stereociliary bundle of hair cells, resulting in depolarization of hair cells.

The cochlea amplifies and filters sound vibration by means of structural elements, especially the basilar membrane, and through

an energy-dependent active process of fine-tuning that is largely dependent on the function of the outer hair cells. The location of the largest vibration in the basilar membrane depends on the frequency of the traveling wave (Fig. 1E) (4, 5). The width, thickness, and stiffness of the basilar membrane vary along the length of the cochlear spiral. Because of this variation in mechanical impedance, high-frequency sounds amplify the motion of the basilar membrane near the base of the cochlea, whereas low-frequency sounds amplify its motion near the apex (Fig. 1E). Hair cells within a frequency-specific region are selectively stimulated by basilar membrane vibration according to the traveling wave theory. The mechanical filtering of sound frequency by structural elements of the cochlea allows it to function as a highly sophisticated sensor. Additional details of cochlear macro- and micro-mechanics can be found in the review by Patuzzi (6).

Both inner and outer hair cells are arranged in four rows along the entire length of the cochlear coil (Fig. 1D). The single row of inner hair cells plays a central role in transmission of sound stimuli to the auditory primary neurons, whereas the three rows of outer hair cells amplify and filter sound vibration. The outer hair cells are capable of somatic electromotility driven by the molecular motor protein prestin, which is located in the outer hair cell membrane (7). The electromotility of outer hair cells contributes to the fine-tuning to sound frequency (8–11). The stereocilia also play a role in signal amplification in amphibians. Active hair bundle motions correlated with transduction channel gating resonate with the stimulus and enhance basilar membrane movement. A more detailed description of the mechanisms of cochlear amplification can be found in the review by LeMasurier and Gillespie (12).

Sensorineural hearing loss (SNHL) is a common disability caused by loss of hair cells (13, 14). Most cases of SNHL are irreversible, because mammalian hair cells have a limited capacity for regeneration (15, 16). The loss of outer hair cells diminishes the fine-tuning of the cochlea to sound frequency. The loss of inner hair cells results in profound hearing impairment because of lack of transmission of auditory signals from the cochlea to the central auditory system. At present, therapeutic options for profound SNHL are limited to cochlear implants, which have partially restored the hearing of more than 120,000 patients worldwide (17). A cochlear implant has both external and internal parts. The former includes microphones, speech processors, and transmitters, and the latter includes receivers,

Author contributions: H.S., T.N., S.K., T.S., H.W., and J.I. designed research; T.I., H.S., H.O., and S.H. performed research; H.O., S.H., and H.W. contributed new reagents/analytic tools; T.I., H.S., T.N., S.K., T.S., and S.H. analyzed data; and T.I., H.S., and T.N. wrote the paper.

The authors declare no conflict of interest.

This article is a PNAS Direct Submission.

Freely available online through the PNAS open access option.

¹T.I. and H.S. contributed equally to this work.

²To whom correspondence should be addressed. E-mail: tnakagawa@ent.kuhp.kyoto-u.ac.jp.

This article contains supporting information online at www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.1110036108/-DCSupplemental.

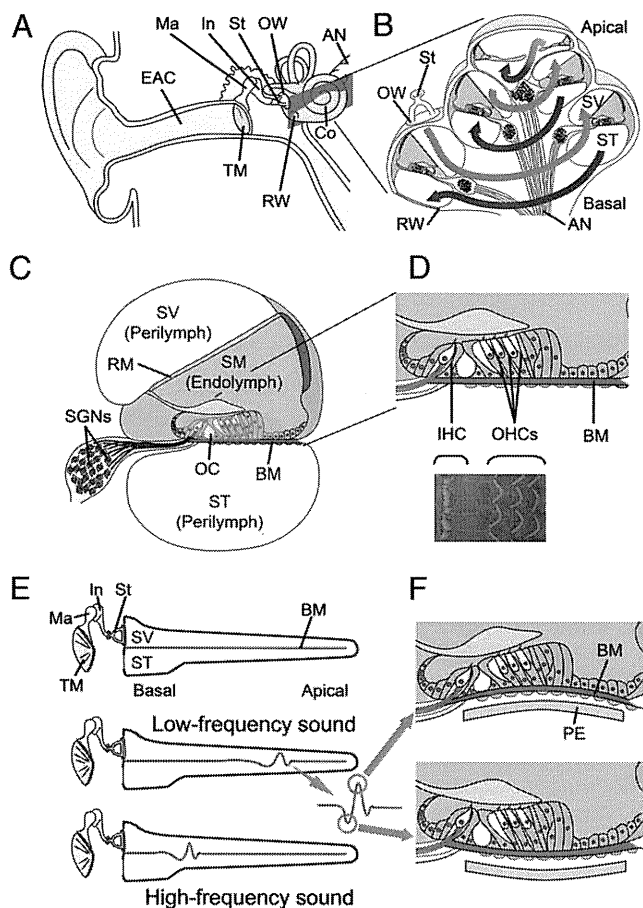


Fig. 1. Anatomy of the mammalian cochlea. (A) Schematic drawing of the human auditory system. AN, auditory nerve; Co, cochlea; EAC, external auditory canal; In, incus; Ma, malleus; OW, oval window; RW, round window; St, stapes; TM, tympanic membrane. (B) Schematic drawing of a cochlear coil. Sound vibrations transmitted to the cochlea fluid in the scala vestibule (SV) through the OW travel up from the basal turn to the apical turn (red lines) and then back to the basal turn (blue lines) in the scala tympani (ST). (C) Schematic drawing of a cochlear duct. The ST and SV are filled with the perilymph. The scala media (SM), which is separated from the ST by Reissner's membrane (RM) and separated from the SV by the basilar membrane (BM), is filled with the endolymph. The organ of Corti (OC) is located on the BM. Spiral ganglion neurons (SGNs) are located in the modiolus of the cochlea. (D) Schematic drawing and scanning EM of the organ of Corti. One row of inner hair cells (IHCs) and three rows of outer hair cells (OHCs) are arranged along the entire length of the cochlear coil. (E) Schematic drawing of traveling wave theory. Low-frequency sounds vibrate the BM in the apical portion of a cochlea, whereas high-frequency sounds provoke vibration in the basal portion of a cochlea. (F) Schematic drawing showing the vibration of the BM and a piezoelectric membrane (PE) implanted in the ST of a cochlea in response to sound stimuli.

stimulators, and electrode arrays, which are surgically inserted under the skin or into the cochlea. Arrays of up to 24 electrodes are generally implanted into the scala tympani, and they directly stimulate the auditory primary neurons. The conversion of sound stimuli to electrical signals is performed by the external speech processor and transmitter and the internal receiver and stimulator. A battery is required to generate electrical output. Schematics and additional descriptions of the history, present status, and future directions of cochlear implants can be found in the work by Zeng et al. (17).

The traveling wave theory proposed by von Békésy (4, 5) was validated using cochleae from cadavers, indicating that, even after complete loss of hair cell function, the mechanical tonotopy for sound frequency remains within the cochlea. This phenomenon also persists in deafened cochleae. However, to our

knowledge, electrical hearing devices have not yet used mechanical cochlear tonotopy for sound frequency. In theory, an implantable device that converts sound vibration to electric potential could be fabricated using microelectromechanical systems and implanted close to the basilar membrane of the cochlea. The vibration of the basilar membrane in response to sound stimuli should be transmitted to the implanted device, generating an electrical output (Fig. 1F). According to the traveling wave theory, tuning for sound frequency should be determined largely by where the device is implanted.

To test this hypothesis, we developed a prototype artificial cochlear epithelium using a piezoelectric membrane, which functions as a sensor with the capability for acoustic/electric conversion without a battery (18). The piezoelectric device, although not life-sized, showed a tonotopic map for frequencies of 6.6–19.8 kHz in air and 1.4–4.9 kHz in silicone oil, and it generated maximum electrical output from an electrode placed at the site of maximum vibration. In the present study, we showed that the electrical output from a prototype device in response to sound stimuli induced auditory brain-stem responses (ABRs) in deafened guinea pigs. We fabricated a life-sized device using microelectromechanical systems and tested its responses to sound application when implanted in the guinea pig cochlea. Our findings are a major step to developing an implantable artificial cochlear epithelium that can restore hearing.

Results and Discussion

Effects of Kanamycin and Ethacrynic Acid on Auditory Primary Neurons and Hair Cells. To examine the potential of a piezoelectric device to induce biological ABRs in deafened guinea pigs, we established a model in which all hair cells were lost but auditory primary neurons remained to avoid the confounding effects of hair cell-mediated responses. Adult Hartley guinea pigs (*n* = 6) were administered an i.m. injection of kanamycin (KM; 800 mg/kg) followed by an i.v. injection of ethacrynic acid (EA; 80 mg/kg), and the compound action potential was measured to monitor hearing function. A total loss of hearing was observed 7 d after the administration of drugs in all animals at all tested frequencies. We then examined the thresholds of electrically evoked ABRs (eABRs), which are generated by direct electrical stimulation of the auditory primary neurons to determine the survival of these cells in the animal model. Measurements of eABR showed no significant elevation of eABR thresholds in animals treated with KM and EA compared with normal animals (2.50 ± 0.50 V in normal animals, 2.83 ± 0.37 V in test animals). Histological analysis revealed no significant loss of spiral ganglion, whereas there was a total of loss of hair cells in test animals (Fig. S1).

Generation of ABRs by a Piezoelectric Device in Living Guinea Pigs.

A prototype piezoelectric device (Fig. 2A) containing a PVDF membrane (40- μ m thickness) was fabricated using microelectromechanical systems as described previously (18). The piezoelectric membrane was used as a transducer, and its electrical outputs were amplified by 1,000-fold. For stimulation of auditory primary neurons, platinum-iridium ball electrodes were implanted into the scala tympani of the cochlear basal turn (Fig. 2B). Typical ABRs in response to increased acoustic stimuli were recorded in our model animals (Fig. 2C).

When acoustic stimuli of 104.4 dB sound pressure level (SPL) were applied to the piezoelectric membrane, the first positive wave of ABRs was clearly identified at a latency of 1.07 ± 0.05 ms (Fig. 2C), which was identical to the latency of the first positive wave in eABRs (0.98 ± 0.06 ms) in guinea pigs in the present study (Fig. S2). In general, the first wave of eABRs corresponds to wave II of normal ABRs (19). Compared with the latency of wave II of normal ABRs in normal guinea pigs (*n* = 4, 2.99 ± 0.11 ms) (Fig. S2), the latency of the first positive wave of piezoelectric device-induced ABRs was ~ 2 ms short. However, the latency of the first positive wave of piezoelectric device-

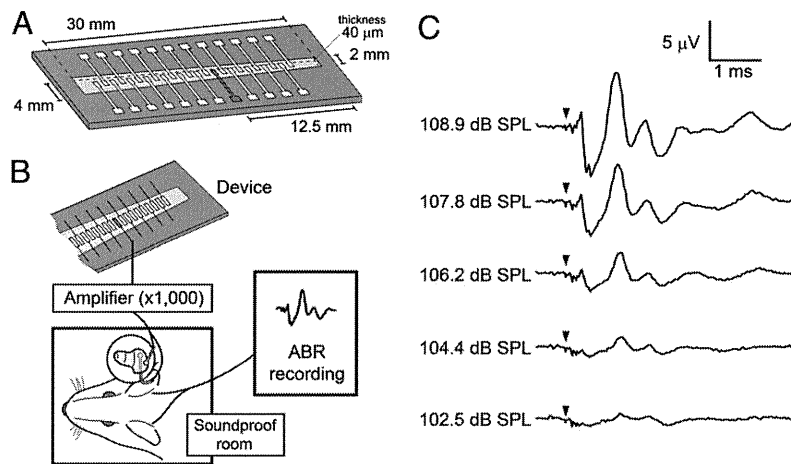


Fig. 2. ABR recording using a prototype device. (A) Schematic drawing of a prototype device with a piezoelectric membrane (yellow). A piezoelectric membrane has a thickness of 40 μm and a length of 30 mm. An array of 24 electrodes, made of aluminum thin film, is fabricated on the upper side of a piezoelectric membrane, which is aligned in the midline of the trapezoidal slit of the stainless plate. An electrode used in the experiment of stimulating auditory primary neurons is located 12.5 mm from the shorter side of the trapezoidal membrane (shown in red). (B) Schematic drawing of a setting for ABR recording using a piezoelectric device. Electrical signals generated by a piezoelectric membrane in response to acoustic stimuli are amplified and transferred to the cochlea. Bioelectrical signals were recorded as ABRs from needle electrodes inserted dorsal to ears. (C) ABRs by electrical signals derived from a prototype device by acoustic stimuli. Arrowheads indicate the timing of acoustic stimuli.

induced ABRs was almost similar to the latency between waves I and II of normal ABRs (0.83 ± 0.04 ms). These findings showed that the piezoelectric membrane generated biological ABRs by converting acoustic stimuli to electrical signals.

Transmission of Sound Vibration from the External Auditory Canal to the Implanted Piezoelectric Device. The transmission of sound waves from the external auditory canal to a piezoelectric mem-

brane implanted into the cochlea is crucial to realize hearing recovery by a piezoelectric device based on the traveling wave theory. To test the transmission of sound waves from the external auditory canal to a piezoelectric membrane, we developed an implantable device that was specialized for the basal turn of the guinea pig cochlea (Fig. 3 A and B). The device contained a PVDF fluoride trifluoroethylene [P(VDF-TrFE)] membrane with a frequency response of 16–32 kHz, which corresponded to

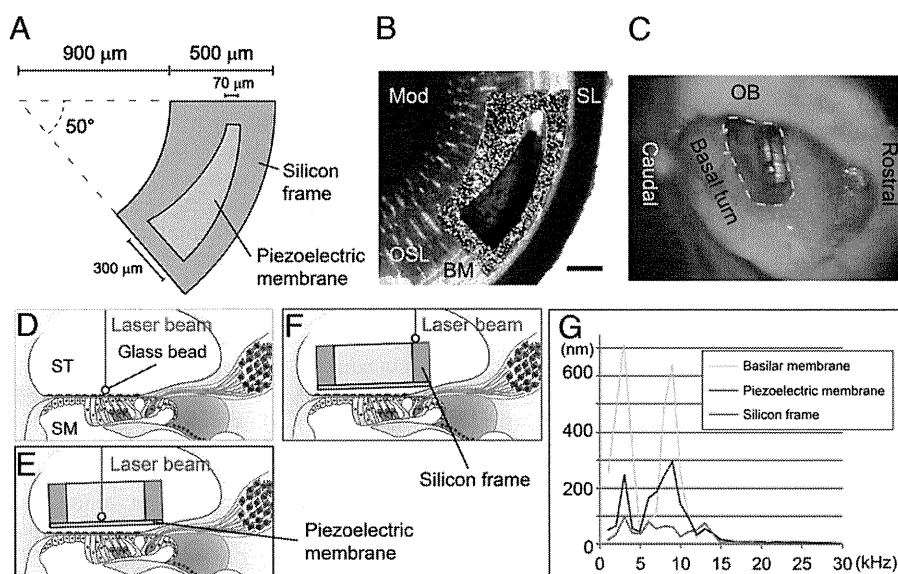


Fig. 3. Sound transmission from the external auditory canal to a piezoelectric device implanted in the cochlea. (A) Design of an implantable piezoelectric device. (B) A merged image of an implantable piezoelectric device and the basal turn of the guinea pig cochlea. To determine the radius of curvature of the outer border and the inner border of the fan-shaped silicon frame and location of the slit in the silicon frame, we measured radius of curvature of the cochlear basal turn, length between an inner edge of the spiral ligament (SL) and a medial end of the osseous lamina (OSL) where the device will be implanted, and length of the basilar membrane (BM; length between inner edge of spiral ligament and lateral end of osseous lamina). An outline of the silicon frame is shown by a red dotted line. The silicon frame is positioned on the osseous spiral lamina, and the slit of the device is located adjacent to the BM. Mod, cochlear modiolus. (Scale bar: 200 μm .) (C) A microscopic view of an implanted device in the basal turn of the guinea pig cochlea. The yellow dotted line indicates an opening in the basal turn of the cochlea. OB, otic bulla. (D–F) Schematic drawings of measuring vibration amplitudes using a laser Doppler vibrometer. A glass bead is placed on the BM (D), piezoelectric membrane (E), or silicon frame (F). Red lines indicate a laser beam from a laser Doppler vibrometer. SM, scala media; ST, scala tympani. (G) Vibration amplitudes of a BM (green), piezoelectric membrane (blue), and silicon frame (red) corresponding to frequencies of applied sounds.