

脳内埋込み可能な
マイクロ LED 神経プローブ技術の確立
Brain-Implantable MicroLED Neural Probe Technology

2022 年 9 月

博士 (工学)

安永 弘樹

豊橋技術科学大学

論文内容の要旨 (博士)

博士学位論文名	脳内埋込み可能なマイクロLED神経プローブ技術の確立
---------	----------------------------

(要旨 1,200 字程度)

脳領域間や脳層間における神経細胞の関係性を明らかにするため、光で神経細胞を制御可能な光遺伝学技術は強力なツールであり、窒化ガリウム発光デバイスを用いた工学分野と神経科学分野との異分野融合による窒化物半導体の進歩と脳機能・医療の発達が期待される。その実現の鍵を握るのはマイクロLED神経プローブである。マイクロLEDを集積化させた上で、脳内へと刺入できる構造の基盤技術の開発とともに、脳内駆動時の温度上昇を把握することは生体応用する上での大きな課題である。そこで脳内へと刺入可能なマイクロLEDを集積化させたマイクロ神経LEDプローブを作製した上で、脳内での温度上昇を把握した上で動物実験による実証実験を行う、脳内埋込み可能なマイクロLEDプローブ技術の確立を目的とする。

はじめに、6個のマイクロLEDと15個の神経記録電極を集積したマイクロLED神経プローブを作製した。マウスの皮質組織からLFP信号の記録に成功した。次に、皮質組織内の光分布をシミュレーションし、光出力によって光刺激される神経細胞数を推定した。マイクロLEDの温度上昇はウォールプラグ効率と深い関連があることがわかった。そこで、マイクロLEDの温度上昇 (ΔT) の抑制を目指した裏面Agミラー構造の導入をすることでウォールプラグ効率向上を検討した。

次に、作製したマイクロLED神経プローブ駆動時の脳内における発熱とその影響を解析した。マイクロLEDの ΔT は、周囲の環境に対応した放熱パラメータを変化させることで決定した。脳内では大気中と比較して ΔT が減少する一方、脳組織に触れるLEDプローブ面積が減少すると、刺入深度の変化により ΔT が増加することが確認した。このことから、動物実験中に ΔT を事前に知ることは困難であることが示唆された。そこで、マイクロLEDの電気特性の温度依存性を用いて、脳内温度モニタリングの可能性を検討した。その結果、順方向電圧は温度に線形に依存することが確認した。得られた dV/dT (定電流駆動) または dI/dT (定電圧駆動) の値を用いて、空気中および脳内の時間に対する ΔT を推定したところ、サーモグラフィの観測結果と一致し、マイクロLEDを用いた脳内温度モニタリングによりマイクロLEDプローブ駆動時の温度上昇を評価可能とした。

ChR2が発現されたマウスを用いてマイクロLEDプローブと記録電極を刺入して局所フィールド電位 (LFP) の記録実験を行った。その結果、LED駆動時の脳内の発熱が 2°C 以下になる条件下においてLFPを観測することが確認できた。また、ChR2が発現されていないマウスに対して同様の記録実験を行うことで、熱刺激や電気刺激による反応でないことが明らかとなった。その結果、光出力が高いほど、光刺激による神経細胞活性化が抑制される運転条件下で、光刺激による神経細胞が活性化されることを確認した。マイクロLEDによる光刺激は、光遺伝学的な神経活動の制御に有効であることを実証した。

Abstract (Doctor)

Title of Thesis	Brain-Implantable MicroLED Neural Probe Technology
-----------------	--

Approx. 800 words

Optogenetics technology, in which neurons can be controlled by light, is a powerful tool for elucidating the relationship between brain regions and brain layers. Advances in gallium nitride semiconductors and the development of brain function and medicine are expected through the fusion of different fields of engineering and neuroscience using gallium nitride light-emitting devices. The MicroLED neural probe is the key to the realization of the above. The key to the realization of this technology is the development of basic technology for MicroLEDs that can be integrated and inserted into the brain, as well as the understanding of the temperature increase when driven into the brain. The purpose of this study is to establish a MicroLED probe technology that can be implanted in the brain.

First, the MicroLED neural probe with 6 MicroLEDs and 15 neural recording electrodes was fabricated. LFP signals were successfully recorded from mouse cortical tissue. Next, the number of neurons optically stimulated by the light output was estimated by simulating the light distribution in the cortical tissue. The results showed that the temperature rise of the MicroLED was closely related to the wall plug efficiency. Therefore, to suppress the temperature rise ΔT of MicroLEDs, a backside Ag mirror structure was introduced to improve the wall plug efficiency.

Next, the heat generation in the brain during the operation of the fabricated MicroLED neural probe and its effect were analyzed. The temperature rise ΔT of the MicroLED was obtained by changing the heat dissipation parameters corresponding to the ambient environment. The temperature rise ΔT in the brain decreased compared to that in the air, but as the area of the LED probe touching the brain tissue decreased, the depth of penetration changed and ΔT increased. This suggests that it is difficult to determine the temperature rise ΔT in advance during animal experiments. Therefore, the possibility of monitoring temperature in the brain was examined using the temperature dependence of the electrical characteristics of MicroLEDs. As a result, it was confirmed that the forward voltage depended linearly on temperature. The obtained values of dV/dT (constant current drive) or dI/dT (constant voltage drive) were used to estimate the ΔT in air and in the brain.

Local Field Potential (LFP) recordings were performed by inserting MicroLED probes and recording electrodes into ChR2-expressing mice; LFP was observed under conditions where the heat generated in the brain during LED operation was less than 2 °C. LFP was also observed under conditions in which ChR2 was expressed in the brain. The same recording experiment was also conducted in mice that did not express ChR2, and it was confirmed that the response was not caused by thermal or electrical stimulation. The results confirmed that under the manipulated conditions, the higher the light output, the more the neurons were activated by the light stimulation, demonstrating that light stimulation using MicroLEDs is effective in controlling neural activity.

目次

第1章 序論.....	1
1.1 光遺伝学の台頭.....	1
1.2 窒化ガリウム系によるマイクロ LED プロープ.....	5
1.2.1 窒化ガリウム系材料によるマイクロ LED	5
1.2.2 マイクロ LED プロープの現状	7
1.3 マイクロ LED プロープの課題	10
1.4 本研究の目的.....	12
参考文献.....	13
第2章 脳内埋込みマイクロ LED プロープの 作製技術と評価手法.....	17
2.1 緒言.....	17
2.2 窒化ガリウム LED の作製技術	17
2.2.1 誘導結合型プラズマ反応性イオンエッチング	17
2.2.2 高真空電子ビーム蒸着	20
2.2.3 プラズマ化学気相堆積.....	22
2.2.4 マルチターゲットスパッタリング	23
2.2.5 Si 深掘りエッチング	24
2.3 評価および解析手法.....	24
2.3.1 サーモグラフィ (A325sc) による熱解析	24
2.3.2 有限差分時間領域法による LED の光指向性の計算	25
2.3.3 モンテカルロ法による生体内光拡がりシミュレーション	25
2.3.4 熱解析シミュレーション	26
2.3.5 LED の電気・光学評価の測定系	27
2.3.6 LCR メータによるインピーダンス測定	28
2.4 結言.....	29
参考文献.....	30
第3章 高機能マイクロ LED プロープの開発	31
3.1 緒言.....	31
3.2 窒化物系発光ダイオードの基本的な作製工程	31
3.3 局所電界電位測定及び LFP 取得のためのマウス手術	37
3.4 神経電極プローブによる局所電界電位及びスパイクの測定	38
3.5 マイクロ LED の特性評価	39

3.6 Ag ミラー構造を有する高効率マイクロ LED.....	45
3.7 結言.....	47
参考文献.....	48
第 4 章 マイクロ LED プローブによる脳内温度モニタリング.....	49
4.1 緒言.....	49
4.2 マイクロ LED プローブの作製.....	49
4.3 マイクロ LED の大気中における温度上昇.....	51
4.3.1 マイクロ LED プローブ駆動時の温度分布.....	51
4.3.2 マイクロ LED プローブ温度上昇の周波数特性.....	53
4.3.3 マイクロ LED プローブ温度上昇の形状依存性.....	55
4.4 サーモグラフィを用いたマイクロ LED 神経プローブの脳内温度上昇.....	57
4.5 マイクロ LED の温度特性を利用した脳内温度モニタリング.....	62
4.6 結言.....	66
参考文献.....	67
第 5 章 マイクロ LED プローブによる効果的な <i>in vivo</i> 光刺激.....	69
5.1 緒言.....	69
5.2 脳内光刺激のための遺伝子改変マウス.....	69
5.3 脳内に埋め込んだマイクロ LED プローブによる光刺激.....	70
5.3.1 蛍光顕微鏡を用いた遺伝子発現の確認.....	70
5.3.2 マウスの CA3 領域の光遺伝学的刺激と CA1 からの局所電界電位 (LFP) の記録.....	71
5.4 マイクロ LED による効果的な光刺激.....	75
5.5 結言.....	77
参考文献.....	78
第 6 章 総括と今後の展望.....	79

第1章 序論

1.1 光遺伝学の台頭

人や動物は目や耳などを通して外界環境からの情報を処理し、行動を決定している。外界環境からの情報を得るためのチャンネルとして感覚があるが、その中には視覚、聴覚、味覚、嗅覚、体性感覚などの感覚器がある。ヒトの脳は約 1000 億個もの膨大な数の神経細胞が存在し、個々の神経細胞があらゆる脳領域をまたがって接続されることで複雑な神経ネットワークが形成され、情報の記憶・伝達などが行われている。しかし、未だに脳機能やネットワークの詳細な解明には至っていないのが現状である。これらの高度な情報処理を理解するために、複数の脳領域にまたがる測定技術が重要となる。fMRI や PET は脳表に対して広範囲を計測できるが、深部における局所的な空間分解能が低く、また、時間分解能が低いという特徴がある。そこで、神経電極プローブのように脳内に直接刺入することで脳表から脳深部といった深さ方向に対して網羅的に計測するために数百から千を超える神経電極が搭載されたデバイスが開発されてきている[1-3]。これらは、脳内に刺入するため、ターゲットとする神経細胞近傍を観察することが可能となっており局所的な計測に非常に優れている。しかしながら神経活動の計測のみでは特定の神経活動と行動を直接結びつけるが困難となってきた。行動や関連する疾患における神経活動の役割を明らかにするには、神経活動を測定するとともに、広範囲を空間分解能が高く操作を選択的に行うことが可能な多機能なデバイスが開発されることが重要である。

操作手法としては、電気刺激による神経活動の活性化が主に用いられてきた。電気刺激とそれに伴う行動の変化からその電極近傍の神経の担う生理的役割が解析されてきた。電気刺激は選択性が低く電極の近傍に存在する軸索や細胞体を非選択的に活性化してしまう。また、電気刺激では、局所の神経細胞を刺激していることが有効なのか、それとも抑制していることが有効なのかメカニズムが不明である。一方、作動薬や拮抗薬等の局所投与などの薬理学的手法は、神経の活性化と抑制の両方が可能であるが、時間的精度が低いだけでなく、細胞特異性、シナプス特異性も制御できないという欠点があった。脳深部との機能を解明には、より広範囲を選択的に多点刺激することが重要となる。さらに、特定の遺伝子欠損動物の行動解析では、発生過程における影響や他の神経による機能補償などが起こっている可能性を払拭できなかった。そこで 2005 年にスタンフォード大学の Karl Deisseroth が光 (Optics) と遺伝学 (Genetics) を組み合わせた新

たな手法である光遺伝学 (Optogenetics) を開発したことで神経科学分野に革命をもたらした[4, 5]. 光遺伝学とは, 光によって活性化[6, 7], もしくは抑制[8-11]されるタンパク分子を遺伝学的手法によって特定の細胞に発現させ, その機能をマウスやラット等を対象として光で操作する技術である. 光で神経細胞を操作する技術は電気刺激や薬物投与で行うことができない要素を補っている. 特定の神経の活動をミリ秒オーダーという高い時間精度で正確に操作することが初めて可能となり, また, 高い空間分解能で制御できるため, 神経活動と行動発現とを直接繋げる先駆けとなった.

脳深部まで刺入させる長さ, 刺入時に折れないための硬さ, そして脳組織を損傷させないための鋭さが必要となり, 光学ツールとして LED やレーザ光を外側から光ファイバと結合して光刺激へと適用された. 記録するための神経電極の外側に光ファイバを刺入させて光刺激を行う方法が主流であった. しかし, 光ファイバでは十分な光強度は得られるものの, 単一の標的領域しか刺激できず多層の多点刺激が困難であることや, 光ファイバと神経電極をそれぞれ刺入するため脳組織の損傷が考えられるほか, 同一細胞の刺激と記録が困難であるなど様々な課題点が存在していた. そこで, 光ファイバと神経電極をそれぞれ刺入するという課題を解決するため, 2012 年にラットとマカクザルの視床をターゲットとした光ファイバを封入したタングステン微小電極デバイスが報告されている[12]. このデバイスは図 1.1 に示す構造図のように先鋭化したタングステンと光ファイバが挿入された絶縁ガラスキャピラリーをピペットブラーで引っ張り, 潤滑剤を用いて光ファイバとのクラックを防止させながら密着させたものである. このようなデバイスはタングステンワイヤと光ファイバをガラスで一体的にコーティングすることで, 脳損傷を抑えることができる利点がある. 光ファイバは一般的に挿入方向のみ光照射が可能であるが, 照射領域はファイバ端面の加工・取り付けで制御可能である. 斜面ガイドカニューレを用いて光ファイバの一部を覆う方法[13]や, 光ファイバ端面にプリズムを取り付ける方法[14, 15]等(図 1.2) がある. 斜面にミラーコーティングを施すことで光の漏れを防ぐことができる. このようなファイバを中心にデバイス側の技術開発が進められており, 光以外の要素技術を付与することが可能となっているが, 選択的に多点光刺激, 自由行動下の実験が困難である. また, 二光子顕微鏡による観察[16]では, 動物を固定する必要があるため, 動物の自由行動実験が困難であった. そこで, アップコンバージョン物質の脳内埋め込みとトラッキングシステムを用いた赤外線照射技術の組み合わせにより, 自由に動ける動物実験が可能となった[17, 18]. しかしながら, 赤外線は深部まで到達が困難である.

光遺伝学当初は, 「ツール」や「アプリケーション」等の言葉はその分野においてロドプシンを指すことが主であった. ChR 変異体の研究が盛んに行われて

いた。しかし、光遺伝学の発展で抱える大きな課題として、新皮質のような脳の形態学的に機能の異なる層状構造を深さ方向に対して多点刺激する際に、複数本の光ファイバを挿入しなければならず、手術を複雑化し繊細な神経組織の損傷・病変等が挙げられる。近年、これらの解決に向けて図 1.3 に示すようなマイクロサイズ発光ダイオード(マイクロ LED)を有するプローブが研究されている[19]。図 1.4 に示すようにマイクロ LED プローブの利点は大きく 2 つある。1 つ目は無線電力給電を可能としており、有線ケーブルを取り除けることによる動物が自由行動可能という点である(図 1.4(a))。2 つ目は刺激領域の違いである。図 1.4(b)に光ファイバと LED を用いた場合の神経細胞の刺激範囲の違いを示す。光ファイバは異なる層に存在する神経細胞を刺激することが困難とされる。マイクロ LED を集積化したプローブを用いることで、深さ方向に対して集積化することで、異なる層に存在する神経細胞を刺激することが可能である。

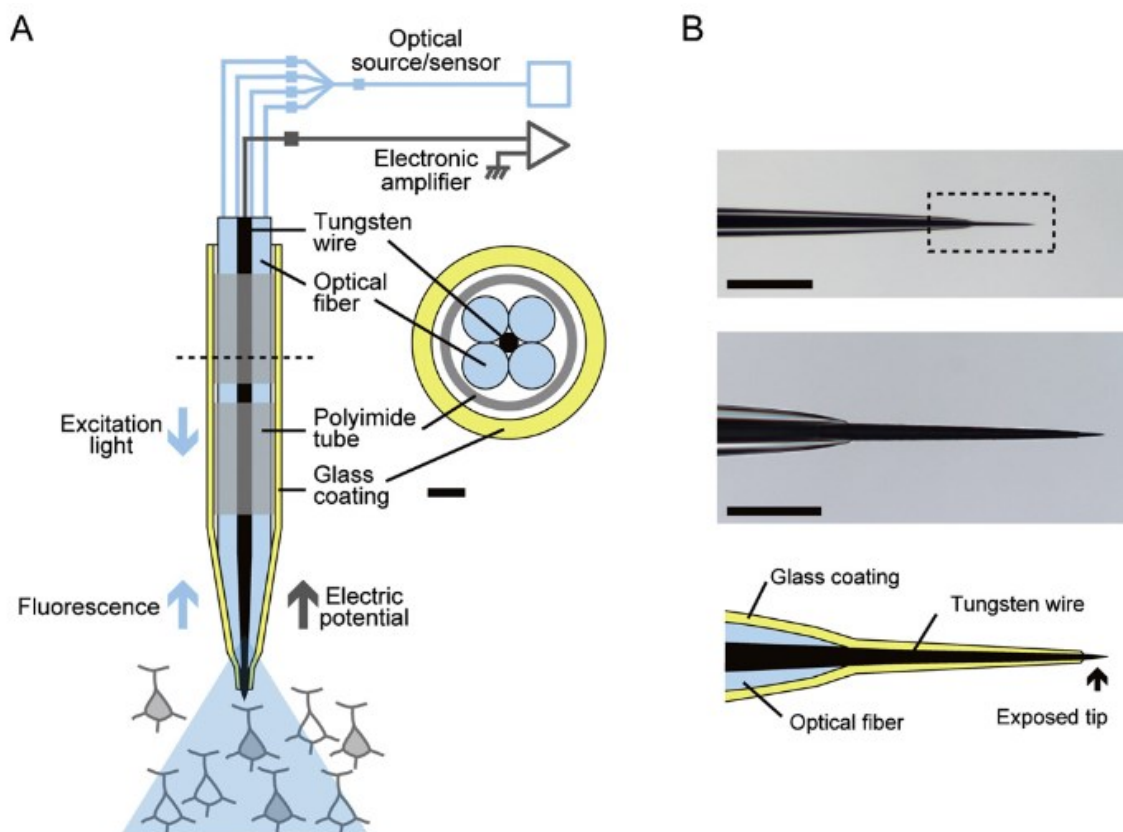


図 1.1 絶縁ガラスでコーティングされたタングステン電極を有する光ファイバ
(a) タングステン電極を有する光ファイバデバイスの概略図 (b) デバイスの顕微鏡像及び対応する構造[13]

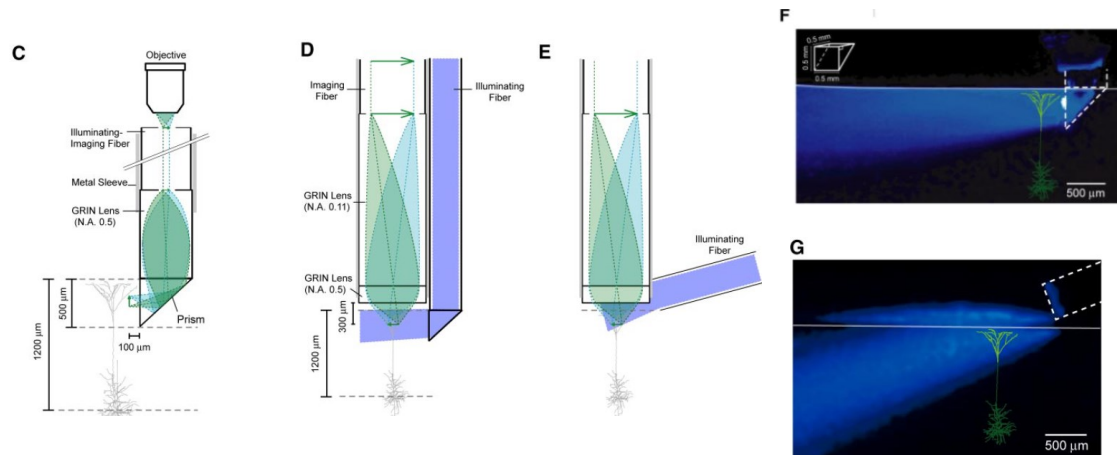


図 1.2 光ファイバをガイドカニューレ、プリズムを用いた際の構造および光線像[15, 16]

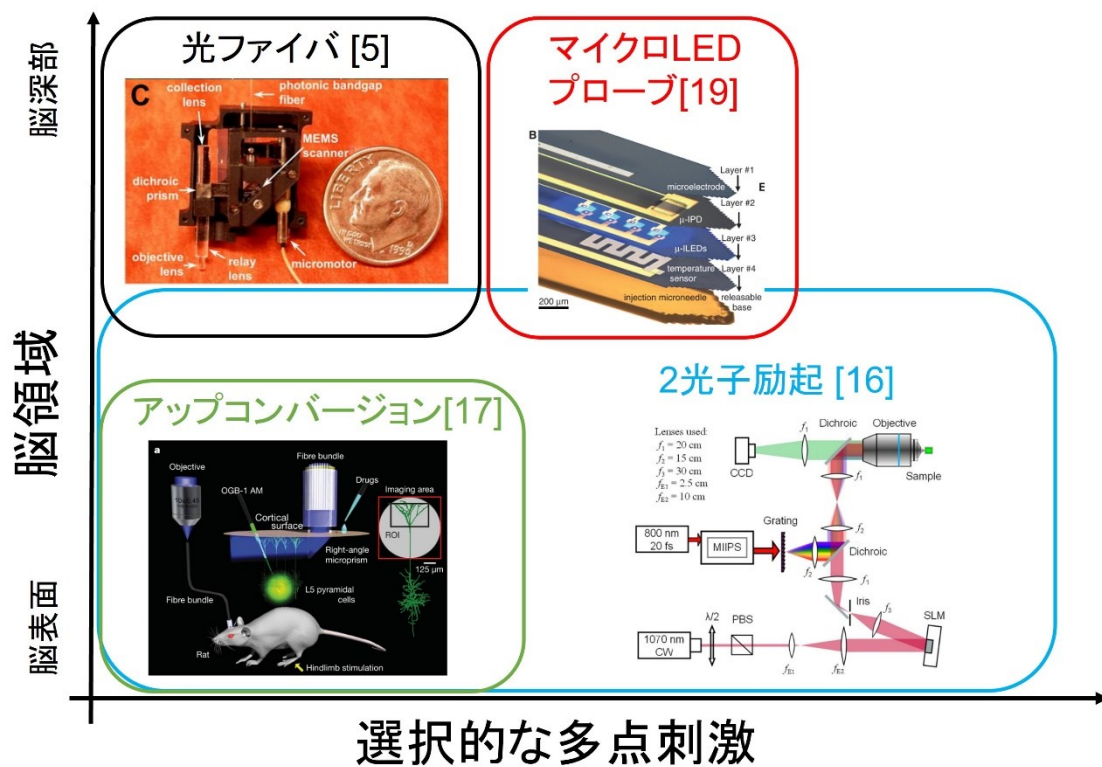


図 1.3 脳内の神経細胞を光刺激可能な光学アプリケーション

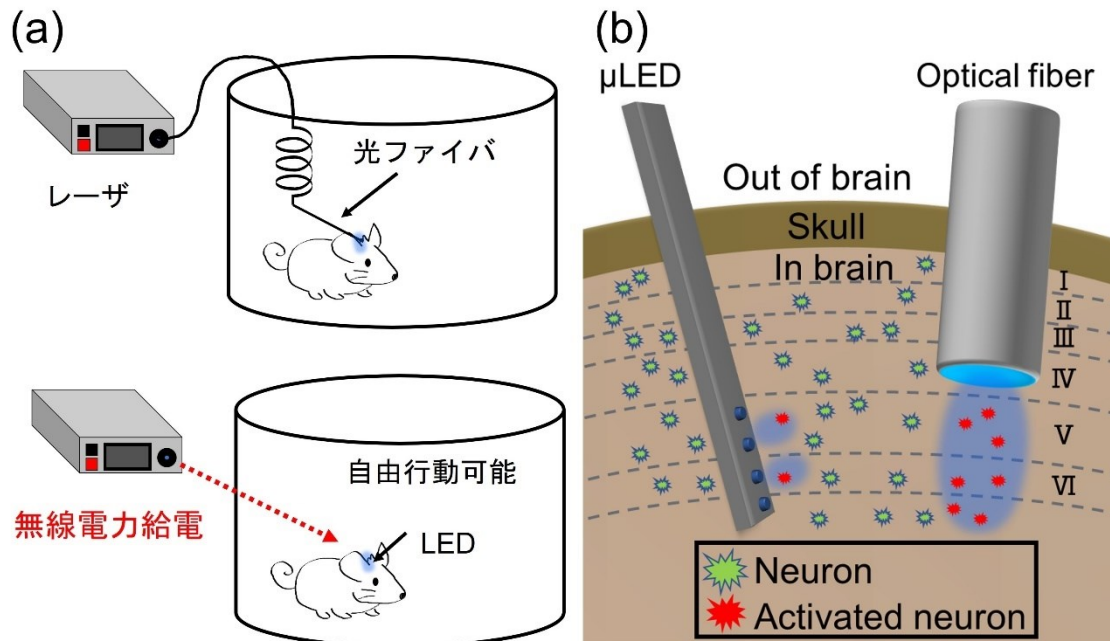


図 1.4 光ファイバと脳内刺入型 LED プローブの概略 (a) 光ファイバと LED プローブ利用時の自由行動の比較 (b) 光ファイバと LED プローブの脳内埋込み時の選択的多点刺激の比較

1.2 窒化ガリウム系 LED によるマイクロ LED プローブ

1.2.1 窒化ガリウム系材料によるマイクロ LED

前述の通り，脳深部光刺激における，刺入型発光デバイスの技術開発は重要なものであると認識できる．その中でも窒化物半導体の中で主要な材料の一つである窒化ガリウム系材料 (GaN) は，室温常圧下で 4 配位のウルツ鉱型構造が最安定相で，発光特性が直接遷移型のエネルギーバンド構造を持つ材料系である[20]．また，GaN の原子間距離は IV 族の Si や Ge，同じ III-V 族の GaAs 等と比較して非常に小さく，融点が高い．加えて硬度が高く，耐薬品性も非常に高いため，一般的にはドライエッチングを用いた加工が必要となる．その一方で，GaN の優れた化学的安定性，高熱伝導率等が利用可能となっている．過酷な環境・状況下（車載用などの高温環境下，各種放射線の降り注ぐ宇宙等）への適用が期待されている．また，GaN 系のデバイス・材料開発は，GaAs 等の他の化合物半導体に比べて環境負荷の低い材料である．

GaN 系 LED は赤崎氏・天野氏・中村氏らのノーベル賞受賞のきっかけともなった低温バッファ層，Si ドーピングによる n-GaN，低速電子線照射による p-GaN の実現により青色 LED の研究開発が進められた経緯がある[21, 22]．また，Al や

In と混晶させることで図 1.5 のように紫外から可視光領域を実現できることから、あらゆる光遺伝学実験が期待できる[21-25]. 青色から紫外にかけては、医療やバイオ応用、光触媒、植物工場やディスプレイなど様々な産業応用が存在する. このように GaN 系 LED におけるアプリケーションの拡張性は、赤色から赤外域における応用分野と比較すると明らかに高い. 近年では、非極性あるいは半極性面の利用[26, 27], 窒素極性面 (-c 面) の利用[28], 規則配列ナノコラム (nano-column) 成長技術[29]等の様々な研究が活発に行われている. 豊橋技術科学大学光電子集積グループでは、GaN マイクロ LED アレイ (図 1.6) とマイクロ LED 駆動用の CMOS 回路をフリップチップ接合により集積したデバイスを試作してきた[30, 31]. 規模としては 8×8 画素と 128×128 画素のデバイスを実現しており、GaN 系 LED の集積化に向けた技術は日々向上している.

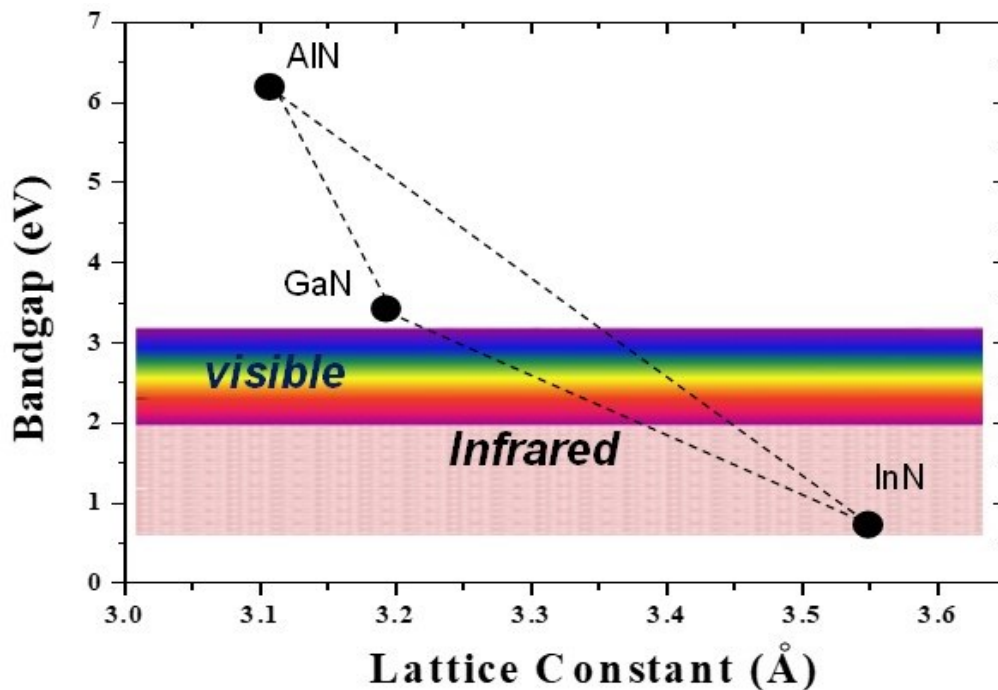


図 1.5 GaN 系の格子定数とバンドギャップエネルギーの関係[21-25]

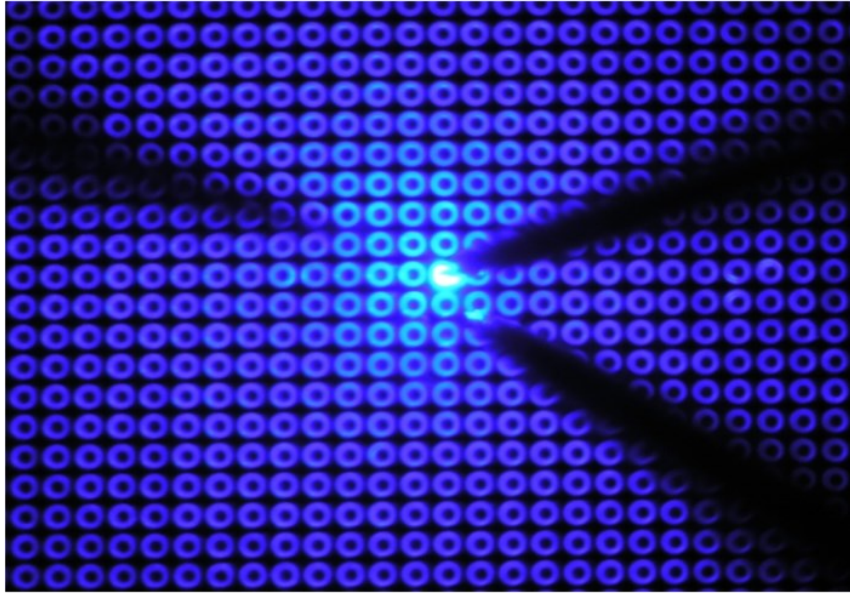


図 1.6 128×128 画素マイクロ LED アレイにおける 1 画素駆動時の発光像[30]

1.2.2 マイクロ LED プローブの現状

前述したように、神経細胞を操作するために光デバイスの開発が求められてきた。特定の領域を選択的に局所光刺激して、刺激されたニューロンの情報を記録し、関連する現象を追跡できるデバイスが必要である。そのため、近年ではマイクロ LED の集積および多機能化に向けて MEMS 技術を用いた工学的研究が行われている。複数のマイクロ LED を集積した針型 Si 神経プローブは、深さ方向の任意の領域で局所的な光刺激が可能である。2013 年に Niall McAlinden らのグループからマイクロ LED をプローブに集積したデバイスが報告されている(図 1.7)[32]。このデバイスは発光波長 460 nm のサファイア基板上 LED ウエハを用いて作製されており、全長 7 mm のプローブで先端部は長さ 1.3 mm、幅 80 μm となっており、先端部には、直径 40 μm 、間隔 250 μm のマイクロ LED が 5 個ずつ搭載された針型構造をもつプローブデバイスである。各 LED は最大で 1 mW の光照射でき効率は約 1%であることが報告されている。2016 年に Robert Scharf らによって開発されたデバイスの概略図を図 1.8 に示す[33]。このデバイスは長さ 3 mm、幅 100 μm 、厚さ 40 μm に加工されており、刺入時の組織の損傷を最小限に抑えることができる。1 シャンクには 16 個のマイクロ LED (直径 25 μm) が搭載されており、50 μm 間隔で配置されている。各マイクロ LED は電流 5 mA で約 400 mW/mm² の発光強度を出力することが可能である。特に、16 個のマイクロ LED 神経プローブは、局所的な神経活動を活性化させることができはじめている。このようにマイクロ LED を用いることで光ファイバと比較して高い空間

分解能で多層的に光照射が可能となる．また，図 1.9 に示すように LED デバイスと無線通信技術を組み合わせることで，動物の行動を制限することなく脳深部刺激を実現する新しい方法が提案されている[34]．しかしながら，これらのデバイスでは神経電極を搭載したプローブを別に刺入する必要がある．同一細胞の光刺激と記録を行うことが困難である．そこで，マイクロ LED 神経プローブによる光操作と，複数チャンネルの神経活動を同時にモニタリングできる神経電極を組み合わせることで，空間的に離れた脳領域の神経活動を同時に観察・制御することができ，より複雑な脳神経ネットワークの解明が可能となる．図 1.10 に示すようなモノリシック集積されたマイクロ LED/神経電極のプローブが開発されている[35, 36]．

これらのマイクロ LED プローブは，従来の光ファイバと比べて空間分解能が高く，深さ方向に対して多点刺激可能という利点があり，局所光刺激と単一ユニット記録を同時に実現することができる．さらに，マイクロ LED の光刺激という要素に加えて神経電極，流路，無線化などの付加価値が付与されてはじめており，世の中の期待の高さがうかがえる．

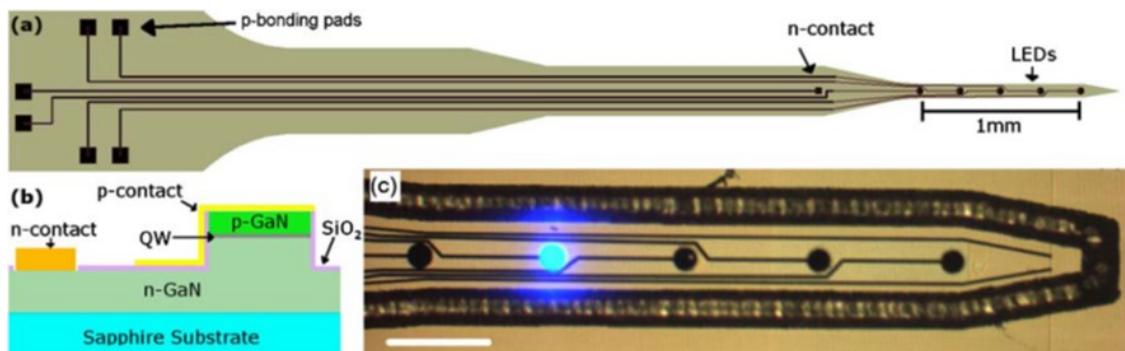


図 1.7 サファイア基板上にマイクロ LED を集積し，レーザーリフトオフ法で針型構造にしたマイクロ LED プローブの概略図[32]

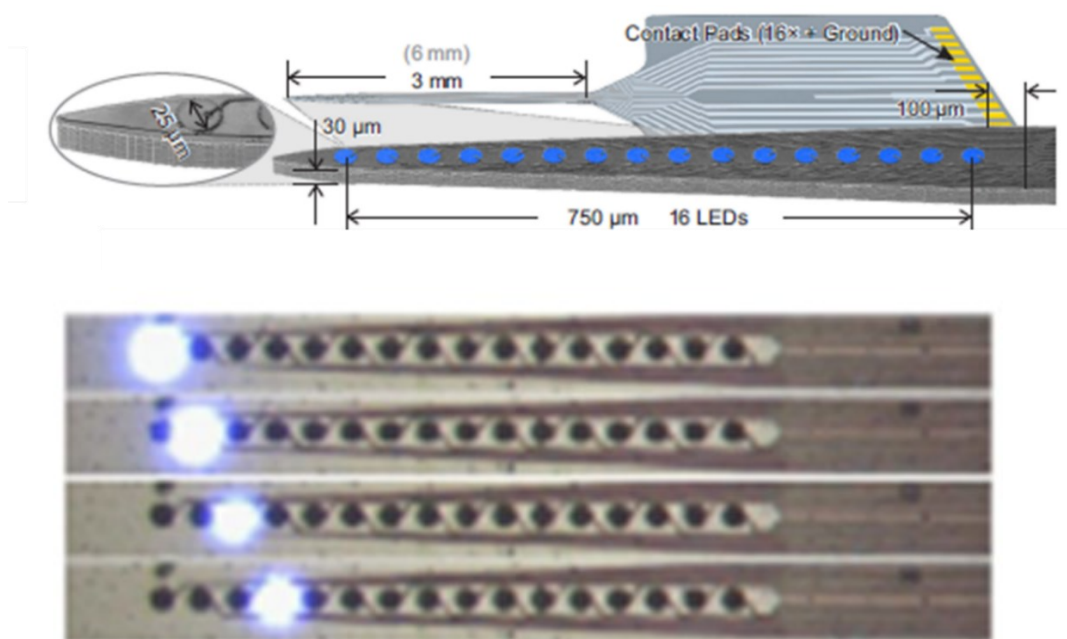


図 1.8 Si 基板上に 16 個のマイクロ LED が集積し、ボッシュプロセスにより針型構造にしたマイクロ LED プローブ (a) 構造図 (b) 発光写真[33]

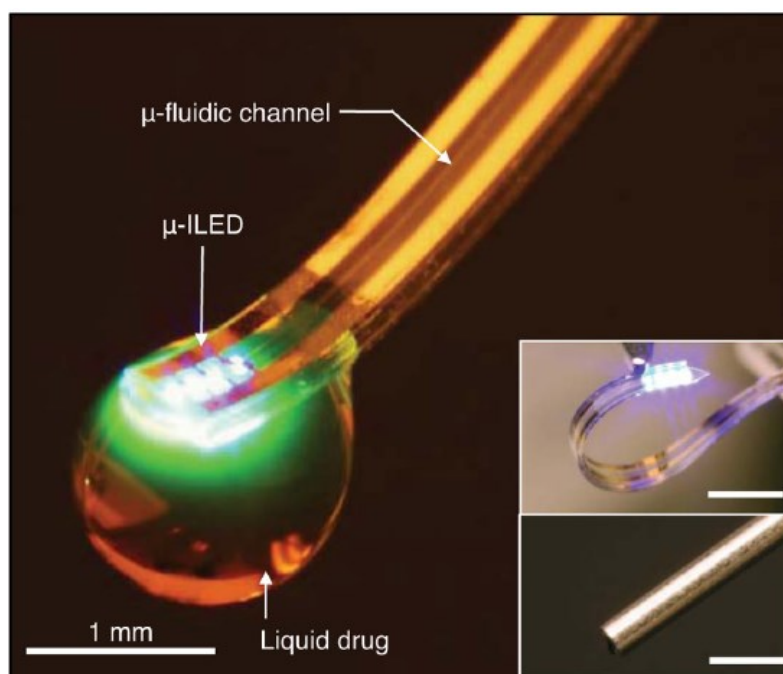


図 1.9 無線給電によるマイクロ LED と流路複合機能デバイス[34]

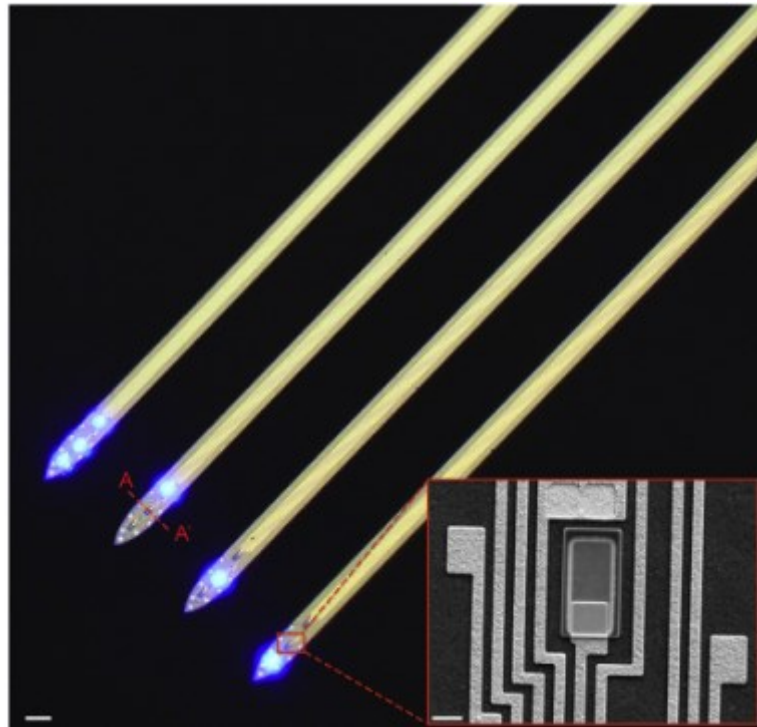


図 1.10 マイクロ LED と神経電極を隣接領域に集積したマイクロ LED プローブ[36]

1.3 マイクロ LED プローブの課題

窒化物半導体によるマイクロ LED を神経科学に活用されはじめている一方で、光出力が制限されてしまっている。これはマイクロ LED から発生する熱が原因であり、シミュレーションや大気中でのサーモグラフィによる測定[32]に留まっておりマイクロ LED を脳内に埋め込んだ状態での発熱に関する報告はほとんど無い。脳内の温度は安定したパラメータであると考えられている。しかしながら、現在の動物実験における人為的な神経機能の活性化を行うにあたって、脳内の温度上昇が発生することが明らかになっている。図 1.11 は脳内温度上昇における神経機能の影響を現しており、体温 (37°C) から 2°C の温度上昇で神経回路の組織機能への深刻なダメージ、そして 40 °C から 41 °C を超える持続的な温度上昇は脳組織の損傷が報告されている[37, 38]。また、米国医療機器振興協会によると、脳の損傷や熱刺激を避けるために、デバイスの温度上昇は 2 °C 未満に抑えられなければならない[39-41]。図 1.12 に示すような脳内にマイクロ LED プローブを刺入した場合を考える。脳組織が温度上昇する要因として、2 つ考えられる。一つは LED 駆動による素子温度の上昇、もう一つは LED から発せられる光

の吸収による温度上昇である．直径 200 μm のファイバを用いて波長 473 nm の青色光をマウスの脳組織に対して長時間照射したときの温度変化が検討されている．0.02 mW で活性化できており，温度上昇が 0.02 $^{\circ}\text{C}$ 以下と予測できるため，光による温度上昇はチャンネルを活性化する温度閾値を超えないと考えた[42]．光吸収による熱に関しては生体内に光源を埋め込むことで解決しうる．しかし，もう一つの要因であるマイクロ LED には駆動時の発熱が脳細胞を活性化させてしまうことが懸念される．脳内埋込可能なマイクロ LED プローブを光遺伝学へ実装するには，刺激を行うのに十分な光出力を得ながら温度上昇を把握した上でデバイス開発を行うことが求められる．

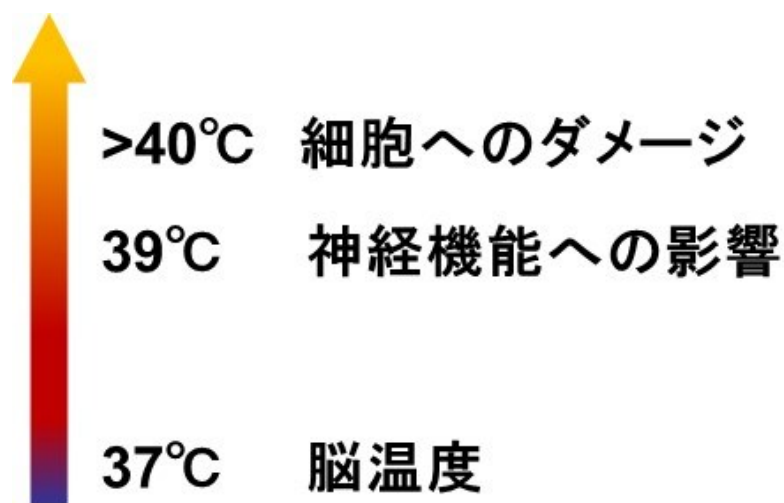


図 1.11 脳内温度上昇時に神経機能へと与える影響[37]

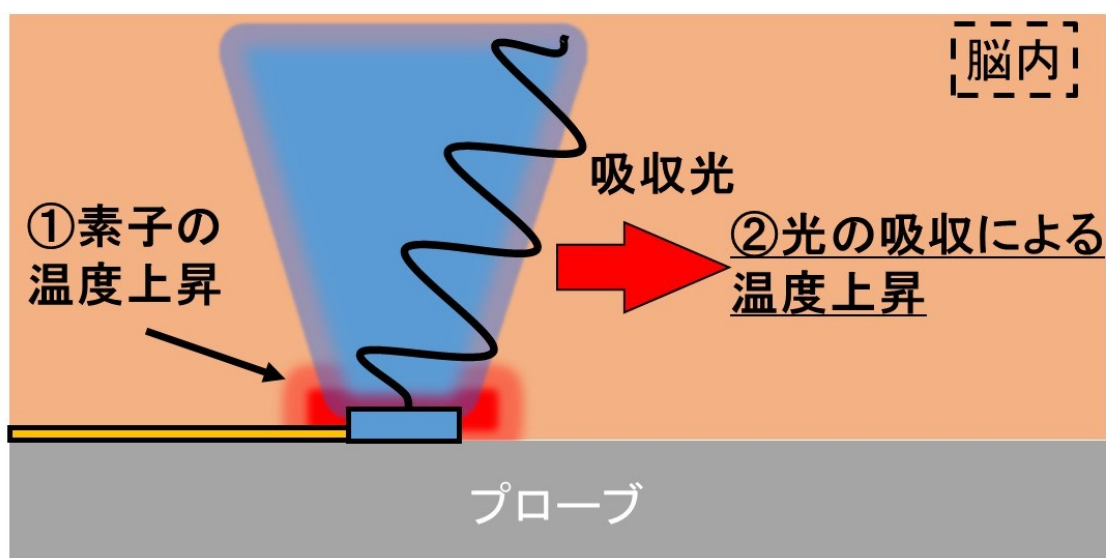


図 1.12 脳内 LED プローブ駆動時の温度上昇の発生起因の概略

1.4 本研究の目的

これまでに述べてきたように複雑な神経ネットワークを理解するためには、脳深部を含む広範囲の脳領域かつ選択的な計測とともに神経細胞の選択的な操作技術が重要な役割を担いつつある。その操作技術の中でも重要な手法の一つの光操作である。選択的な多点光操作として GaN 系材料からなる LED を針型構造に集積させた脳内埋込み型 LED プローブが有望である。脳内に埋込むためマイクロ LED から発生する熱が懸念されるが、脳内温度上昇を把握することは困難である。しかし、少なくともマイクロ LED プローブを大気中で駆動させたときの温度上昇や熱シミュレーションに関する報告によると課題となりうる。これに関して、最大光出力を制限するのは LED の効率であることは事実であるが、それらの関連性は明らかになっていない。また、脳内埋込可能とするためには脳内温度上昇を正確に把握する技術の確立が課題である。

本論文では、マイクロ LED を集積化させた高効率なマイクロ LED 神経プローブの作製技術を開発し、脳内埋め込み可能なマイクロ LED プローブ技術確立、そこから効果的な光操作を実証、脳内埋込み可能なマイクロ LED プローブ技術の確立を目的とした。第2章では、マイクロ LED 神経プローブの作製についての要素技術について述べる。第3章は、マイクロ LED を集積させた針型デバイス (マイクロ LED 神経プローブ) の作製、電気的特性評価、高効率 LED プローブに向けて検討を行い、ウォールプラグ効率と温度上昇の関係性を見出した上で光取り出し効率向上させる構造を提案した。第4章は、脳内で駆動させた時のマイクロ LED 神経プローブの温度上昇を把握した上で光刺激するためのマイクロ LED プローブ技術を検討した。第5章はマイクロ LED プローブによる脳内光刺激を行い第4章で検討した脳内での温度上昇が抑制された範囲内で使用し、脳内に埋め込んで LED プローブの実証実験を行った。第6章で本論文の総括とする。

参考文献

- [1] J. J. Jun, N. A. Steinmetz, J. H. Siegle, D. J. Denman, M. Bauza, B. Barbarits, A. K. Lee, C. A. Anastassiou, A. Andrei, Ç. Aydin, M. Barbic, T. J. Blanche, V. Bonin, J. Couto, B. Dutta, S. L. Gratiy, D. A. Gutnisky, M. Häusser, B. Karsh, P. Ledochowitsch, C. M. Lopez, C. Mitelut, S. Musa, M. Okun, M. Pachitariu, J. Putzeys, P. D. Rich, C. Rossant, W. L. Sun, K. Svoboda, M. Carandini, K. D. Harris, C. Koch, J. O. Keefe, and T. D. Harris, "Fully integrated silicon probes for high-density recording of neural activity", *Nature* **551**, 232-236 (2017).
- [2] J. E. Chung, H. R. Joo, J. L. Fan, D. F. Liu, A. H. Barnett, S. Chen, C. Geaghan-Breiner, M. P. Karlsson, M. Karlsson, K. Y. Lee, H. Liang, J. F. Magland, J. A. Pebbles, A. C. Tooker, L. F. Greengard, V. M. Tolosa, and L. M. Frank, "High-Density, Long-Lasting, and Multi-region Electrophysiological Recordings Using Polymer Electrode Arrays", *Neuron* **101**, 21-31 (2019).
- [3] C. Stringer, M. Pachitariu, N. Steinmetz, C. B. Reddy, M. Carandini, and K. D. Harris, "Spontaneous behaviors drive multidimensional, brainwide activity", *Science* **364**, 1-11 (2019).
- [4] E. S. Boyden, F. Zhang, E. Bamberg, G. Nagel, and K. Deisseroth, "Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity", *Nat. Neurosci.* **8**, 1263-1268 (2005).
- [5] K. Deisseroth, G. Feng, A. K. Majewska, G. Miesenbock, A. Ting, and M. J. Schnitzer, "Next-Generation Optical Technologies for Illuminating Genetically Targeted Brain Circuits", *J. Neurosci.* **26**, 10380-10386 (2006).
- [6] G. Nagel, T. Szellas, W. Huhn, S. Kateriya, N. Adeishvili, P. Berthold, D. Ollig, P. Hegemann, and E. Bamberg, "Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel", *Proc. Natl. Acad. Sci.* **100**, 13940-13945 (2003).
- [7] O. Yizhar, L. E. Fenno, T. J. Davidson, M. Mogri, and K. Deisseroth, "Optogenetics in Neural Systems", *Neuron* **71**, 9-34 (2011).
- [8] A. Matsuno-Yagi and Y. Mukohata, "Two possible roles of bacteriorhodopsin; a comparative study of strains of *Halobacterium halobium* differing in pigmentation", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **78**, 237-243 (1977).
- [9] Y. and B. R. C. Mukohata, Y. Sugiyama, K. Ihara, and M. Yoshida, "An Australian halobacterium contains a novel proton pump retinal protein: Archaelhodopsin", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **151**, 1339-1345 (1988).

- [10]F. Zhang, L. P. Wang, M. Brauner, J. F. Liewald, K. Kay, N. Watzke, P. G. Wood, E. Bamberg, G. Nagel, A. Gottschalk, and K. Deisseroth, "Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry", *Nature* **446**, 633-639 (2007).
- [11]X. Han and E. S. Boyden, "Multilpe-color optical activation, silencing, and desynchronization of neural activity, with single-spike temporal resolution", *PLoS One* **2**, 1-12 (2007).
- [12]D. R. Sparta, A. M. Stamatakis, J. L. Phillips, N. Hovelsø, R. Van Zessen, and G. D. Stuber, "Construction of implantable optical fibers for long-term optogenetic manipulation of neural circuits", *Nat. Protoc.* **7**, 12-23 (2012).
- [13]K. Tamura, Y. Ohashi, T. Tsubota, D. Takeuchi, T. Hirabayashi, M. Yaguchi, M. Matsuyama, T. Sekine, and Y. Miyashita, "A glass-coated tungsten microelectrode enclosing optical fibers for optogenetic exploration in primate deep brain structures", *J. Neurosci. Methods* **211**, 49-57 (2012).
- [14]K. M. Tye, R. Prakash, S. Y. Kim, L. E. Fenno, L. Grosenick, H. Zarabi, K. R. Thompson, V. Gradinaru, C. Ramakrishnan, and K. Deisseroth, "Amygdala circuitry mediating reversible and bidirectional control of anxiety", *Nature* **471**, 358-362 (2011).
- [15]M. Murayama, E. Pérez-Garci, H. R. Lüscher, and M. E. Larkum, "Fiberoptic system for recording dendritic calcium signals in layer 5 neocortical pyramidal cells in freely moving rats", *J. Neurophysiol.* **98**, 1791-1805 (2007).
- [16]R. Spesvytsev, H. A. Rendall, and K. Dholakia, "Wide-field three-dimensional optical imaging using temporal focusing for holographically trapped microparticles", *Opt. Lett.* **40**, 4847-4850 (2015).
- [17]S. Chen, A. Z. Weitemier, X. Zeng, L. He, X. Wang, Y. Tao, A. J. Y. Huang, Y. Hashimoto, M. Kano, H. Iwasaki, L. K. Parajuli, S. Okabe, D. B. Loong Teh, A. H. All, I. Tsutsui-Kimura, K. F. Tanaka, X. Liu, and T. J. McHugh, "Near-infrared deep brain stimulation via upconversion nanoparticle-mediated optogenetics", *Science* **359**, 679-684 (2018).
- [18]S. Hososhima, H. Yuasa, T. Ishizuka, M. R. Hoque, T. Yamashita, A. Yamanaka, E. Sugano, H. Tomita, and H. Yawo, "Near-infrared (NIR) up-conversion optogenetics", *Sci. Rep.* **5**, 1-10 (2015).
- [19]T. il Kim, Jordan G. McCall, Yei Hwan Jung, Xian Huang, and E. R. Siuda, "Injectable, Cellular-Scale Optoelectronics with Applications for Wireless Optogenetics", *Science* **80**, 211-216 (2013).

- [20] 高橋清 監修, 長谷川文夫, 吉川明彦 編著, "ワイドギャップ半導体 光・電子デバイス", 森北出版 (2006).
- [21] S. Nakamura, T. Mukai, and M. Senoh, "High-brightness InGaN/AlGaIn double-heterostructure blue-green-light-emitting diodes", J. Appl. Phys. **76**, 8189-8191 (1994).
- [22] S. Nakamura, M. Senoh, N. Iwasa, S. I. Nagahama, T. Yamada, and T. Mukai, "Superbright green InGaIn single-quantum-well-structure light-emitting diodes", Jpn. J. Appl. Phys. **34**, L1332-L1335 (1995).
- [23] H. Hirayama, Y. Enomoto, A. Kinoshita, A. Hirata, and Y. Aoyagi, "Room-temperature intense 320 nm band ultraviolet emission from quaternary InAlGaIn-based multiple-quantum wells", Appl. Phys. Lett. **80**, 1589-1591 (2002).
- [24] Y. Taniyasu, M. Kasu, and T. Makimoto, "An aluminium nitride light-emitting diode with a wavelength of 210 nanometres", Nature **441**, 325-328 (2006).
- [25] 皿山正二, "真のバルク GaN 単結晶の必要性と研究開発動向", 科学技術動向 (2008).
- [26] S. M. Sze, "Semiconductor Devices: Physics and Technology first edition", John Wiley & Sons Inc. (1985).
- [27] M. Kondow, K. Uomi, K. Hosomi, and T. Mozume, "Gas-source molecular beam epitaxy of $\text{GaIn}_{1-x}\text{As}_x$ using a n radical as the n source", Jpn. J. Appl. Phys. **33**, L1056-L1058 (1994).
- [28] K. Shojiki, J. H. Choi, T. Iwabuchi, N. Usami, T. Tanikawa, S. Kuboya, T. Hanada, R. Katayama, and T. Matsuoka, "Suppression of metastable-phase inclusion in N-polar (000 $\bar{1}$) InGaIn/GaIn multiple quantum wells grown by metalorganic vapor phase epitaxy", Appl. Phys. Lett. **106**, 1-5 (2015).
- [29] H. Sekiguchi, K. Kishino, and A. Kikuchi, "Emission color control from blue to red with nanocolumn diameter of InGaIn/GaIn nanocolumn arrays grown on same substrate", Appl. Phys. Lett. **96**, 96-99 (2010).
- [30] S. B. Shin, K. I. Iijima, J. I. Chiba, H. Okada, S. Iwayama, and A. Wakahara, "Integration of micro-light-emitting-diode arrays and silicon driver for heterogeneous optoelectronic integrated circuit device", Jpn. J. Appl. Phys. **50**, 04DG12-1 - 04DG12-4 (2011).
- [31] S. B. Shin, K. Iijima, H. Okada, S. Iwayama, and A. Wakahara, IEICE Trans. Electron. E95-C, 898 (2012).
- [32] N. McAlinden, D. Massoubre, E. Richardson, E. Gu, S. Sakata, M. D. Dawson, and K. Mathieson, "Thermal and optical characterization of micro-LED probes for in vivo optogenetic neural stimulation," Opt. Lett. **38**, 1-3 (2013).

- [33]R. Scharf, T. Tsunematsu, N. McAlinden, M. D. Dawson, S. Sakata, and K. Mathieson, "Depth-specific optogenetic control in vivo with a scalable, high-density μ LED neural probe", *Sci. Rep.* **6**, 1-10 (2016).
- [34]J. W. Jeong, J. G. McCall, G. Shin, Y. Zhang, R. Al-Hasani, M. Kim, S. Li, J. Y. Sim, K. I. Jang, Y. Shi, D. Y. Hong, Y. Liu, G. P. Schmitz, L. Xia, Z. He, P. Gamble, W. Z. Ray, Y. Huang, M. R. Bruchas, and J. A. Rogers, "Wireless Optofluidic Systems for Programmable In Vivo Pharmacology and Optogenetics", *Cell* **162**, 662-674 (2015).
- [35]F. Wu, E. Stark, P. C. Ku, K. D. Wise, G. Buzsáki, and E. Yoon, "Monolithically Integrated μ LEDs on Silicon Neural Probes for High-Resolution Optogenetic Studies in Behaving Animals", *Neuron* **88**, 1136-1148 (2015).
- [36]K. Kim, M. Vöröslakos, J. P. Seymour, K. D. Wise, G. Buzsáki, and E. Yoon, "Artifact-free and high-temporal-resolution in vivo opto-electrophysiology with microLED optoelectrodes", *Nat. Commun.* **11**, 1-12 (2020).
- [37]G. Rios, E. V. Lubenov, D. Chi, M. L. Roukes, and A. G. Siapas, "Nanofabricated Neural Probes for Dense 3-D Recordings of Brain Activity", *Nano Lett.* **16**, 6857-6862 (2016).
- [38]W. F. WALKER and I. D. A. JOHNSTON, "Temperature Changes", *Proceedings of the 28th IEEE EMBS Annual International Conference* 239-241 (1971).
- [39]T. Fujii and Y. Ibata, "Effects of heating on electrical activities of guinea pig olfactory cortical slices", *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* **392**, 257-260 (1982).
- [40]N. Matsumi, K. Matsumoto, N. Mishima, E. Moriyama, T. Furuta, A. Nishimoto, and K. Taguchi, "Thermal damage threshold of brain tissue - Histological study of heated normal monkey brains", *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*. **34**, 209-215 (1994).
- [41]L. S. Goldstein, M. W. Dewhirst, M. Repacholi, and L. Kheifets, "Summary, conclusions and recommendations: Adverse temperature levels in the human body", *Int. J. Hyperth.* **19**, 373-384 (2003).
- [42]E. Stark, T. Koos, and G. Buzsáki, "Diode probes for spatiotemporal optical control of multiple neurons in freely moving animals", *J. Neurophysiol.* **108**, 349-363 (2012).

第2章 脳内埋込みマイクロ LED プローブの 作製技術と評価手法

2.1 緒言

第1章では脳深部の神経細胞を光刺激可能なマイクロ LED プローブについて述べた。本章では、脳内埋込みのためのマイクロ LED プローブ作製に関わる装置群の原理構造を含む利用条件や針型構造や実装などについて述べる。また、マイクロ LED プローブの電流－電圧特性や光出力の測定方法、熱測定に用いられるサーモグラフィなどについて述べる。

2.2 窒化ガリウム LED の作製技術

2.2.1 誘導結合型プラズマ反応性イオンエッチング

エッチング技術は薬液を用いたウェットエッチングと反応性ガスを使用するドライエッチングに大別される。ウェットエッチングは薬液による化学反応を利用するためプラズマダメージがない利点がある。しかし、溶液に浸漬させるため、すべての方向に対して等しくエッチングを行う等方性エッチングである。そのため、アンダーカットが生じてしまう。ドライエッチングは縦方向のエッチング速度が横方向と比べて高く、アンダーカットが生じることが少ない、異方性エッチングである。今回は、GaN のエッチングを行うために、誘導結合型プラズマ反応性イオンエッチング (ICP-RIE: Inductivity coupled plasma reactive ion etching) (SAMCO 社製: RIE-101iPH) を用いた。

誘導結合型プラズマを使用することで、図 2.1 に示すようにプラズマを発生させる電力 (Antenna RF Power) と発生したイオンを試料に引き付ける電力 (Bias RF Power) を独立に制御出来ることから、高密度プラズマの発生が可能であり、表面のダメージ軽減および異方性の向上、高速エッチングが可能である[1]。GaN は塩素系ガスにより化学エッチングが可能であり、一般的に BCl_3 , Cl_2 などが用いられる。ICP-RIE で GaN エッチングに用いた条件は表 2.1 を用いた。静電チャックを機能させるためにステージ基板として 4 インチ Si 基板を用いている。表面材料には熱伝導率が高く、エッチングされにくい材料である AlN が選択されている。

針型構造形成に向けて Si エッチングの検討に続いて、図 2.2(a) に示されるように Si 層が露出するまで n-GaN 層を完全に除去する必要があった。そこで、メサ構造形成時と同様に ICP-RIE を用いて GaN エッチングを行った。試料は Si 基板上 GaN-LED ウエハのダイシング片を用いた。GaN のエッチングレートが約 240 nm/min なのでエッチング時間は 5 min, 15 min, 25 min, 35 min, 45 min とエッチングを行った。図 2.2(b) に示されるように 15 min 時は GaN と Si の干渉した反射光が確認でき、GaN 層を完全に除去できていなかった。25 min 時は支持基板である Si との干渉光が観察でき、Si が露出していることを光膜厚干渉計で確認した。エッチング時間を長くしていくほど、残留物のようなものが多く観察できた。さらに、35 min 以上エッチングを行った時に穴が無数観測された。これらの、表面を調査するためにエネルギー分散型 X 線分析 (EDX : Energy dispersive X-ray spectrometry) を行った。その結果、図 2.2(c) に示す構造物は GaN の残留であり、それ以外の穴を含めた場所は Si 層であった。この穴は、Ga と Si が反応を起こして発生したメルトバック・エッチングによるものだと考えられる。Si エッチングを行うには GaN エッチング 30 min から 35 min で十分と考えた。

表 2.1 ICP-RIE で用いたエッチング条件

Cl ₂ gas flow	30 sccm
SiCl ₄ gas flow rate	10 sccm
Ar gas flow rate	10 sccm
APC pressure	0.6 Pa
Anntena RF power	120 W
Bias RF power	30 W

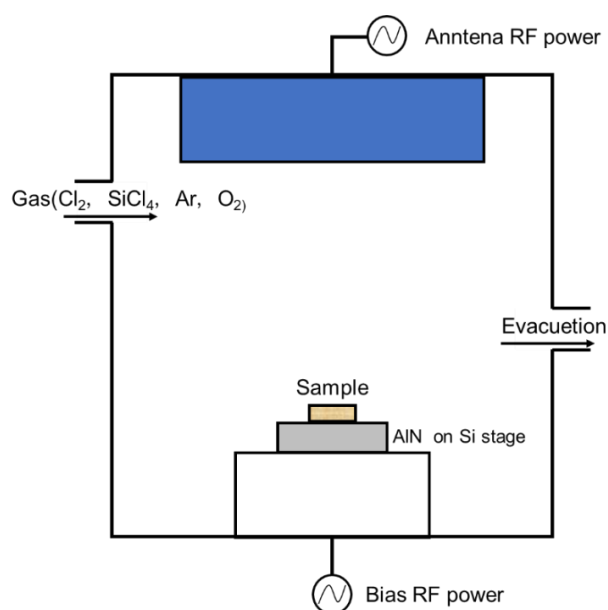


図 2.1 誘導結合型プラズマ反応性イオンエッチングの構成図

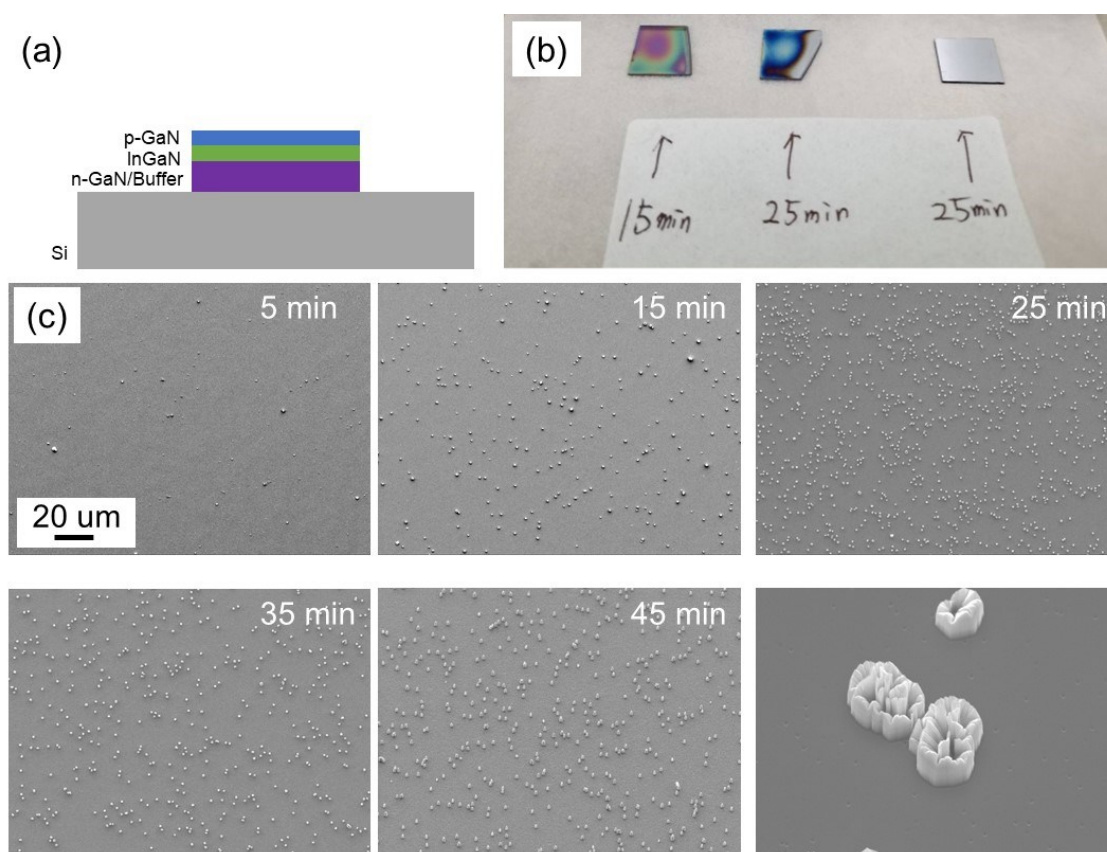


図 2.2 ICP-RIE による GaN エッチング構造 (a) 断面図 (b) 時間を 5 min から 45 min エッチングしたときの SEM 像

2.2.2 高真空電子ビーム蒸着

真空蒸着装置には原料の加熱方法の違いで抵抗加熱式と電子線加熱式が挙げられる。抵抗加熱式は蒸着材料を抵抗体に入れて通電加熱して飛ばすことで蒸着を行う。図 2.3 に示すように電子ビーム蒸着法は電子ビームを金属原料に当て、上部のサンプルに所望の厚さを成膜する技術である。この真空蒸着法はサンプルを設置する箇所に冷却水を流すため、抵抗加熱蒸着法に比べ低温プロセスで高融点材料を蒸着できる。本研究では電極のパターニングをリフトオフプロセスで行う。そのため、抵抗加熱式では輻射熱でレジストが加熱されて硬化してしまい不向きであるため、電子線加熱式 (SANVAC ED-1600) を用いた。

この電子ビーム蒸着を用いて Al を蒸着する時は、補充する蒸着原料の量に注意する必要がある。Al はハースライナ上にタングステンボートを置いて、その上に Al 原料を補充した。Al は溶けるとタングステンボート上で広がりやすく、回り込んでしまうリスクがある。金属の多層構造を蒸着の際に回り込んでしまうと、ハースが回転する際にタングステンボートが割れてしまい蒸着が不可能となる。そのため、Al の原料粒の補充は 6 粒程度とした。蒸着膜厚はタングステンボートを使用しているため最大 100 nm 程度である。

また、ITO (Indium-Tin-Oxide 10wt%, $\phi 10 \times t 5$ mm) を蒸着する際は真空度が 1×10^{-5} Pa まで真空引きを行う。これは、脱ガス時に ITO に含まれる酸素によって真空度が急激に悪くなるためである。そのため、蒸着中圧力は $1-2 \times 10^{-4}$ Pa で行った。さらに、電子銃の駆動電流が 15 mA で 0.5 Å/sec 程度と他原料と比べて早く、原料 1 粒で 400 nm 程度の蒸着となる。

n 電極の蒸着金属及び膜厚に関しては Ti/Al/Ti/Au (80/30/150/50 nm) と Ti/Au (100/200 nm) の二通りを試行した。どちらもオーミック接触を可能としていた。しかしながら、金属蒸着後の酸化膜の穴あけ工程において、図 2.4 に示すように顕著な差が現れた。図 2.4(a) に関しては金属が明らかに剥がれている。一方で、図 2.4(b) は BHF 処理後も膜が剥がれていなかった。そこで、LED 神経プローブ作製プロセスでは Ti/Au (250/50 nm) を採用した。

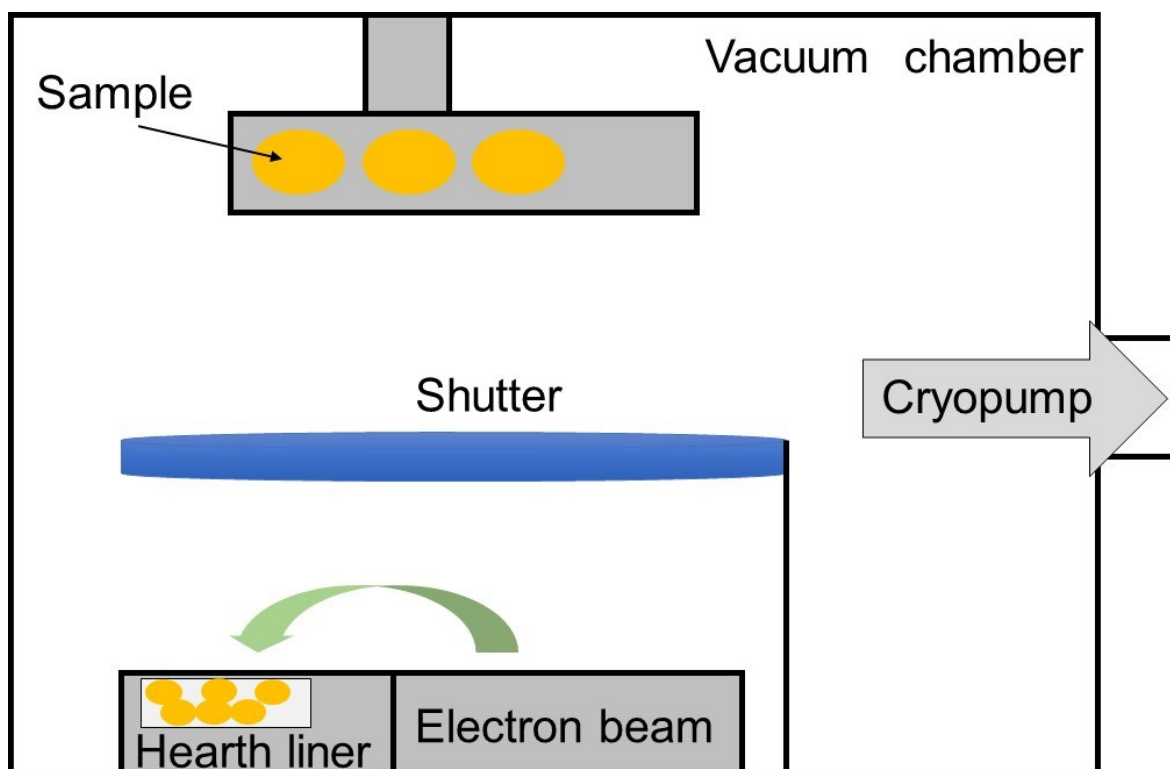


図 2.3 電子ビーム蒸着装置の概略図

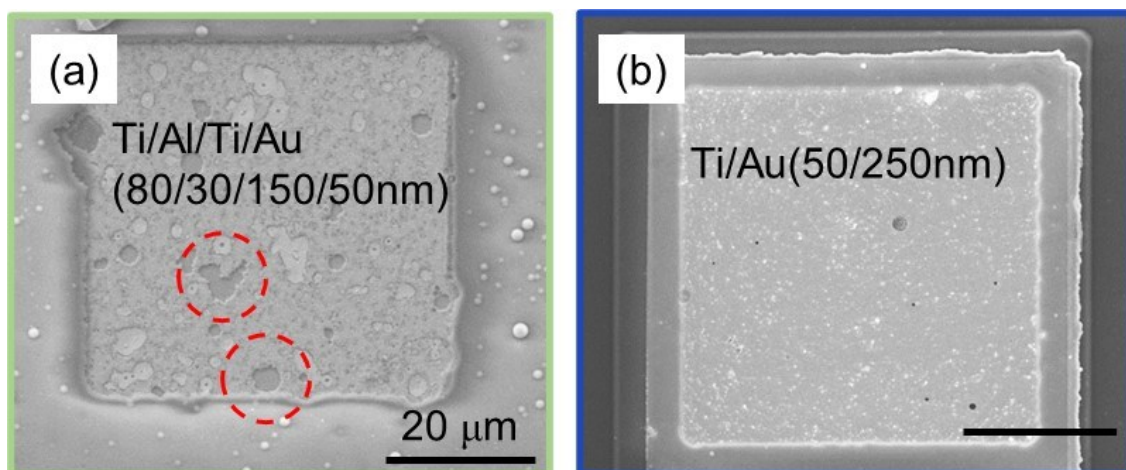
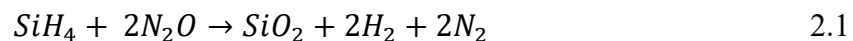


図 2.4 金属の膜厚差による BHF 直後の金属表面状態 (a) Ti/Al/Ti/Au の表面状態 (b) Ti/Au の表面状態

2.2.3 プラズマ化学気相堆積

化学気相堆積法 (CVD: Chemical vapor deposition) は原料をガスで供給し、化学反応を利用して基板表面に薄膜を形成する技術である。本研究における絶縁膜の役割として、多層配線のための層間絶縁膜、外部からの物理的ダメージに対する保護として SiO₂ を用いた。CVD では、供給するガス分子と堆積する物質とは異なり、過程で化学反応が必要となる。この時の化学反応を発生させるために与えるエネルギーによって減圧 CVD やプラズマ CVD (PECVD: Plasma enhanced chemical vapor deposition) などが挙げられる。減圧 CVD は熱エネルギーを与えて化学反応を発生させて薄膜を形成する方法である。堆積過程で 700 °C を超える温度で薄膜形成を行っている[2]。

PECVD (PD-220Ns) は成膜対象とする試料を設置したチャンバー内にガスを導入して低温で絶縁膜堆積を行える。電極形成後のプロセスとなるため、本研究では低温堆積が可能な PECVD を用いた。原料となるガスは SiH₄ と N₂O で化学反応は以下の式となる。



SiH₄ は爆発性ガスであるため、扱いには細心の注意が必要である。堆積後の膜厚測定は、光干渉式膜厚計を用いた。サファイア基板上 GaN-LED ウエハを用いた時は、サファイアおよび GaN が透明で測定不可のため、Si 基板を同時に成膜することで膜厚を確認した。表 2.2 に PECVD による SiO₂ の堆積条件を示す。

表 2.2 PECVD を用いた SiO₂ の堆積条件

Deposition temperature	300 °C
SiH ₄ gas flow rate	65 sccm
N ₂ O flow rate	120 sccm
RF power	300 W
APC (deposition)	67 Pa
Deposition rate	54-55 nm/min

2.2.4 マルチターゲットスパッタリング

本研究で作製するマイクロ LED プロープの配線と GaN 層を絶縁する SiO₂ 堆積には、図 2.5 で示す装置構成のマルチターゲットスパッタ装置 (ANELVA C-7250) を使用した。スパッタリングは、コーティングや薄膜形成に用いられる、物理的気相成長法(PVD)の一種で、真空中でプラズマを用いて金属や酸化物などのターゲット原子を対象物に成膜する技術である。真空蒸着法と比較してスパッタ方式は膜の基板との付着力が強く、高融点物質の膜形成が容易であり、広い面積で均一な膜が得られるなどの特徴がある。また、RF(高周波)スパッタは電子とイオンの移動度の差を利用してターゲット表面に負の直流バイアスを誘起してスパッタを行うもので絶縁体でもスパッタできる[3]。

原理としては、コーティングを施したい対象物と、ターゲット(コーティング材料)を真空チャンバー内に配置し、真空ポンプで排気して真空にする。そしてアルゴン等のガスを少し入れて、真空チャンバー側を陽極とし、ターゲット側を陰極として、数百ボルトの電圧を印可する。するとアルゴンが放電してプラスイオンとなり、陰極であるターゲットに急激に引き寄せられてターゲットに激突する。それによってターゲット表面が分子レベルの塊で弾き飛ばされ、ターゲットに向かい合っている対象物に付着する。このようにして対象物がコーティングされる。真空中で処理を行うのは、Ar をイオン化するため、スパッタリングで飛ばしたターゲット分子を対象物に届かせるため、そして不純物の少ない膜をつくるためである。

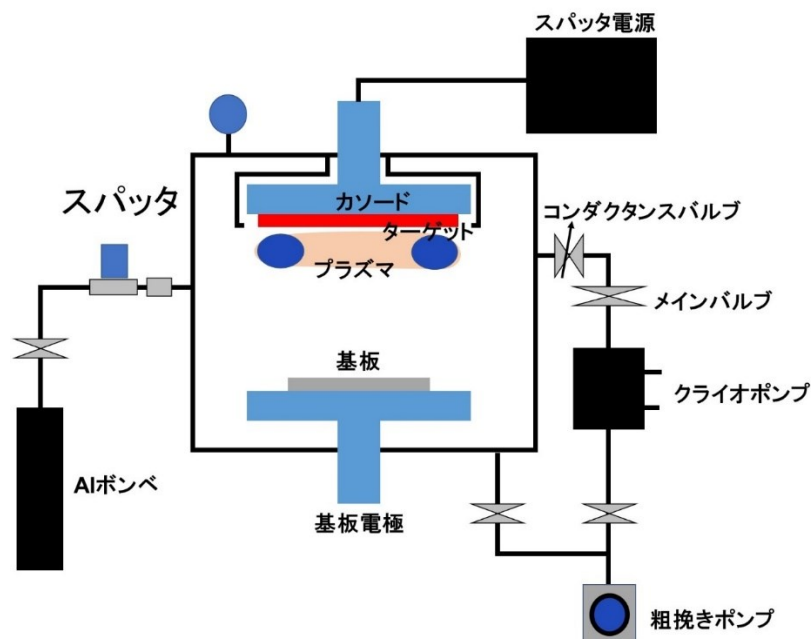


図 2.5 マルチターゲットスパッタ装置の構成図

2.2.5 Si 深掘りエッチング

アスペクト比が 50 以上と高い Si エッチングを行う際に、ドライエッチングは異方性と述べたが、垂直形状を作製するのは困難である。そこで、ICP-RIE (Inductivity coupled plasma-reactive ion etching) (MUC21-RD: Sumitomo Precision Products CO., LTD.) を表 2.3 に示す各種条件でボッシュプロセスを行った。エッチングガスとして SF₆ を流入してエッチング後、側面を保護するパッシベーションガスとして C₄F₈ を流入する。これを 1 サイクルとして、所望のエッチング量が得られるサイクル数を行うことで高いアスペクト比を実現できる。

表 2.3 ICP-RIE (MUC21-RD) エッチング時の各種条件

Etching time	12 sec
Passivation time	11 sec
SF ₆ flow rate	130 sccm
C ₄ F ₈ flow rate	85 sccm
APC (deposition)	67 Pa
Coil RF: Etching/Passivation	600 W/600 W
Platen RF: Etching/Passivation	21 W/0 W
APC pressure: Etching/Passivation	2.0-6.0 Pa/6.0 Pa

2.3 評価および解析手法

2.3.1 サーモグラフィ (A325sc) による熱解析

LED に供給された電力エネルギーは光に変換されるものと、変換されなかったエネルギーは熱になる。プローブ状の LED を駆動したときの発熱をサーモカメラによって温度特性を評価した。サーモカメラは熱を検知する機能を搭載したカメラで、直接肌やものに触れて温度を測る温度計とは異なる方法で温度を測定する[4]。熱を持つ人やものは実は目に見えない赤外線という光を発している。サーモカメラはその赤外線を検知する。温度が高ければ高いほど赤外線の強さは強くなり、逆に温度が低いと赤外線が弱くなる。つまり、サーモグラフィは赤外線放射の強さを検知し、強ければ (=温度が高ければ) 赤く表示し、弱ければ (=温度が低ければ) 青く表示した。計測した温度に合わせて画像処理を行い、色をつけることで視覚的に温度の分布がわかりやすい画像や温度プロットを表示することができる。

2.3.2 有限差分時間領域法によるLEDの光指向性の計算

FDTD 法は Maxwell 方程式を直接差分化して、電磁界を数値的に求める解析手法である[5]。これは、1966 年に Yee によって提案されたもので、系を時空間的に離散化したのち、偏微分を差分に置き換えて電磁界を直接求めるという、コンピュータに適合した数値解析手法である。FDTD 法の特徴は以下の通りである。

- (1) 導波路構造が光波の伝搬方向に沿って変化している場合の電磁界解析にも適用可能。
- (2) 反射波を自動的に考慮出来るため、周期構造や屈折率差の大きい媒質を含む場合など、反射の影響が無視できない導波構造でも効率よく計算できる。
- (3) メモリの節約にともなう、有限解析領域の教会から生じる物理的な反射波の影響を抑制するため、適切な吸収境界条件の使用が不可欠。
- (4) 時間変化も扱えるので、非定常状態あるいは過渡現象の解析が行える。また、分散性や非線形性などを含む媒質に対しても適用出来る。
- (5) すべて数値的に解くため、汎用性がある反面、光波領域では計算時間が他の電磁界数値解析法に比べて極度に長くなる。そのため使用にあたっては、対称性や周期性を利用するなどして、必要とされる制度の範囲内で計算領域を必要最小限に絞る必要がある。

実際に FDTD 法は光波領域において様々な応用がなされており、フォトニック結晶中での電磁界解析、あるいは回折格子などでの光波伝搬解析が行われている。ビーム伝搬法 (BPM : beam propagation method) は、一般的に形状や屈折率分布などの導波路構造が断面内のみならず光波の伝搬方向に対しても緩やかに変化しているような場合に、電磁界を数値的に求めるのに威力を発揮する解析手法として知られている。

本研究における FDTD 計算には CYBERNET 社の FullWAVE を用いた。また、導波路のモード計算には CAD-layout に付属した Compute-modes 機能 (BPM 方式) を利用した。

2.3.3 モンテカルロ法による生体内光拡がりシミュレーション

皮膚に光を照射すると、皮下の生体組織内で光は多重散乱し再び皮膚表面に射出される。この射出される光の割合を表す反射率や光の経路が、近年、美容分野や医療分野をはじめとする様々な分野で利用されている[6]。モンテカルロ法とは、乱数を使用して確率的に計算し、統計学的に解を推定する手法である。本

シミュレーションは Matlab を用いて解析した。

2.3.4 熱解析シミュレーション

本研究では、実測による評価だけではなく、シミュレーションによる検討を行うことで、LED 駆動時の脳内温度特性をより詳細かつ網羅的に把握する。シミュレーションソフトには COMSOL Multiphysics を用いた。シミュレーションを行う上でそのシミュレーション結果が妥当なのかどうか判断するのは困難である。本研究では、実測を行った時と同じ条件下でシミュレーションを行い、その実測値と比較することで妥当性を確認した。シミュレーションモデルを図 2.6 に示す。マウスの脳の形を再現することは困難であるため、サイズが $6\text{ mm} \times 9\text{ mm} \times 9\text{ mm}$ の直方体とした。図 2.6 に示すようにマイクロ LED プローブを脳表から $50\text{ }\mu\text{m}$ 離れた位置に深さ 2.5 mm の位置に刺入させる。脳内の温度を $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，その外部の温度とマイクロ LED プローブの初期温度を $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ として，LED 駆動後に脳表とマイクロ LED 上部が定常状態になるまでシミュレーションを行った。Si, GaN, 大気の 3 つの材料特性は予めシミュレーションソフトに導入されていたものを使用して，脳の材料特性は熱伝導率を 0.5 W/m/K ，密度を 1040 kg/m^3 ，定圧熱容量を 3650 J/kg/K ，粘性係数を $4 \times 10^{-3}\text{ Pa}\cdot\text{sec}$ とした [7]。

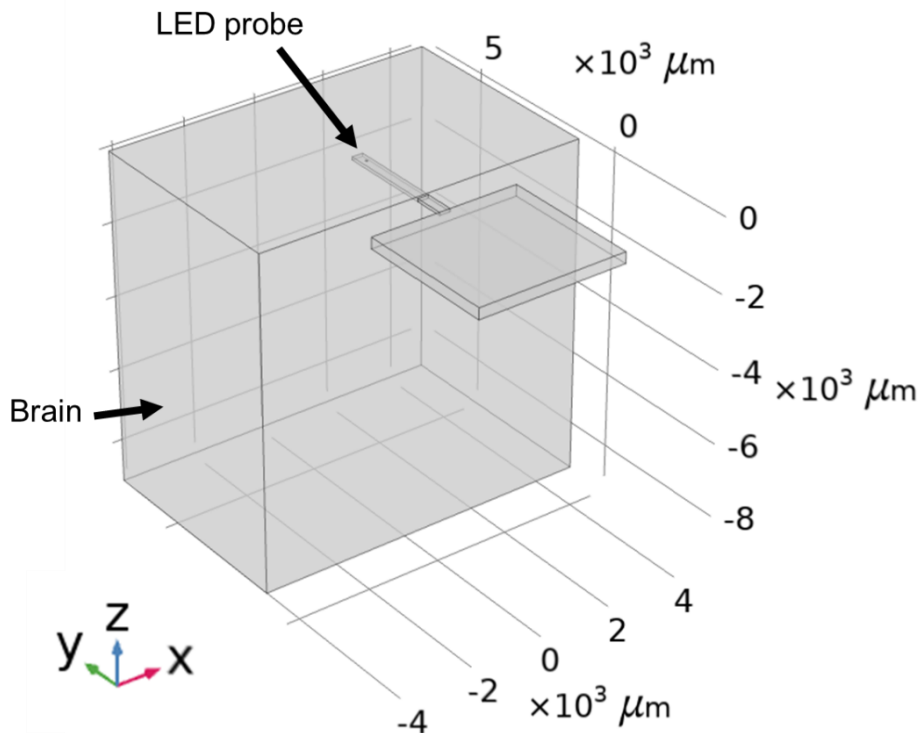


図 2.6 LED プローブを脳端から $50\text{ }\mu\text{m}$ 刺入した時の温度上昇解析モデル

2.3.5 LED の電気・光学評価の測定系

図 2.7 に作製したマイクロ LED プロープの電気特性測定および発光強度測定の測定系を示す。電気特性の構成は、実装したマイクロ LED プロープの PCB 基板から FPC コネクタを仲介して、マイクロ LED の p 電極と n 電極に対応する部分を測定機器であるソースメータ (KEITHLEY 社製 2450 Source Meter) に接続して、DC 電流を注入して測定を行う。発光強度測定の構成は、図 2.7 に示すように電気特性の構成に加えて、マイクロ LED 直上にパワーセンサ (Ophir 社製 PD300-UV) を、治具を用いて設置して、受光した光をパワーメータ (Ophir 社製 Nova) で発光強度の測定を行う。パワーセンサの性能は、有効口径 10 mm × 10 mm, 測定波長範囲 220 nm から 1100 nm, 測定パワーレンジ 2 μ W から 300 mW である。発光強度はマイクロ LED とパワーメータとの距離で大きく値が変化するため、LED とパワーメータの距離をジグで調節してから設置することに注意する必要がある。

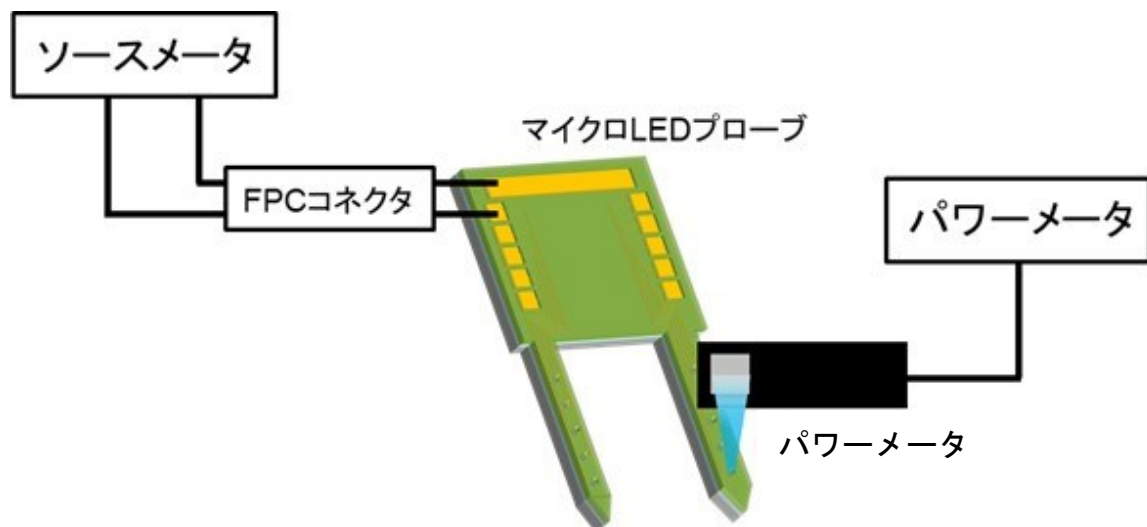


図 2.7 マイクロ LED プロープ直上にパワーメータを設置した発光強度の測定系

2.3.6 LCR メータによるインピーダンス測定

高密度な神経電極の性能評価方法として、生理食塩水内での電極インピーダンスを測定した。生理食塩水とは、体液と浸透圧が極めて同等の塩化ナトリウム水溶液（食塩水）のことで、主に医療で静脈内注射又は点滴静注するときや、注射用医薬品の希釈に用いられている。この生理食塩水を体液と見なして、生体内での電極インピーダンスを測定し、生体での神経活動を読み取れるレベルのインピーダンス値であるかを確認した。構成図を図 2.8 に示す。生理食塩水内を脳内に見立てるため、正弦波パルス発振器を用いて生理食塩水内に正弦波パルスを送る。その状態で、作製した神経電極プロブを生理食塩水内に入れて、神経電極のプロブ先端にあるパッド部と取り出し部のパッドをタングステンニードルで接触させて、それぞれを測定器に接続し、インピーダンス測定を行った。生体の電気信号パルスが msec オーダであるため、100 Hz から 100 kHz での電極インピーダンス値が測定できるように、本研究では 40 Hz から 1 MHz までパルス周波数を変化させた時の神経電極の電極インピーダンス値を測定した。

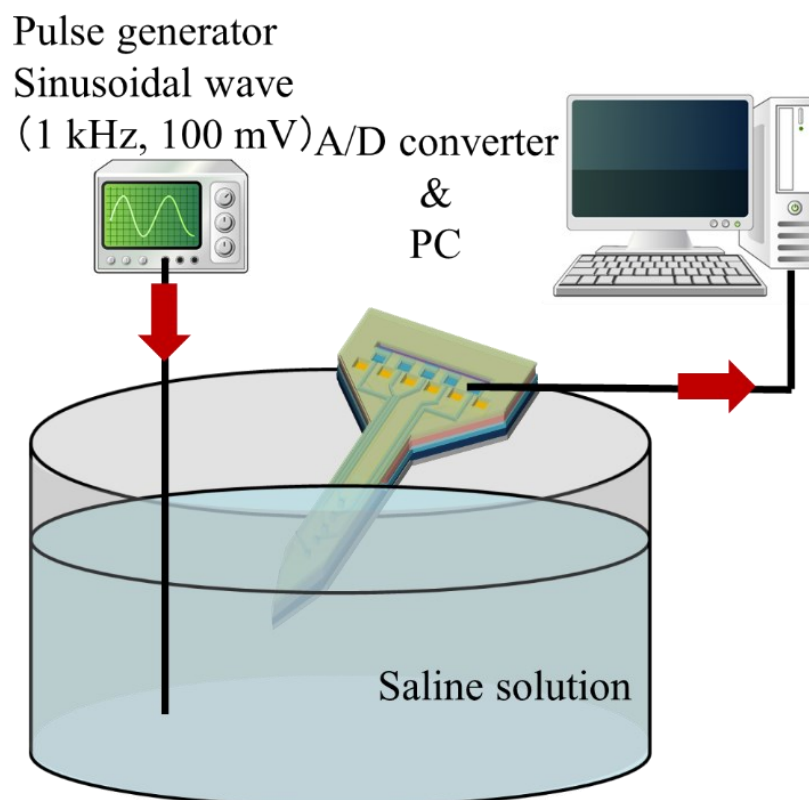


図 2.8 生理食塩水内に Pt 神経電極プロブを入れて LCR メータを用いたインピーダンス測定

2.4 結言

本章では, 脳内埋込み GaN 系マイクロ LED デバイス作製に関わる装置の原理や各種条件, 作製方法や取り扱った評価手法及び解析手法について述べた. デバイスプロセス開発に関する研究を進める上で実施した改善や工夫についても記載した.

参考文献

- [1] 前田和夫, “初めての半導体製造材料”, 技術評論社 (2011).
- [2] 白藤立, “プラズマ CVD の化学反応工学”, 高温学会誌 (2011).
- [3] 星陽一, “スパッタリング”, 応用物理 (1979).
- [4] FLIR 社 a325sc 公開資料, <https://www.flir.jp/support/products/a325sc/#Overview>, 最終アクセス確認: 2022/11/30
- [5] 左貝潤一, “光導波路の電磁界数値解析手法”, 森北出版 (2015).
- [6] S. L. Jacques, L. Wang, “Monte Carlo Modeling of Light Transport in Tissues”, Opt. Response Laser-Irradiated Tissue **2607**, 73-100 (1995).
- [7] M. M. Elwassif, Q. Kong, M. Vazquez, M. Bikson, “Bio-heat transfer model of deep brain stimulation-induced temperature changes”, J Neural Eng. **3**, 306-315 (2006).

第3章 高機能マイクロ LED プローブの開発

3.1 緒言

第1章で述べたように本研究では、生体内光刺激デバイスとしてマイクロ LED プローブの開発を目指している。マイクロ LED は異なる領域を自由自在に多点発光することを可能としており、脳機能分野の発展が期待できる。米国医療機器振興協会によると、脳の損傷や熱刺激を避けるために、デバイスの熱の増加は 2°C 未満に抑制されなければならない[1-3]。動物行動実験では、集団神経活動を制御するためにマイクロ LED の高光出力が必要である。しかし、発熱と光出力はトレードオフの関係を示す[4]。そのため、脳組織における温度上昇と光出力の関係を把握することは重要である。LED プローブは温度上昇が生体に及ぼさない範囲内で使用されており、脳領域単位での光刺激を行うためにはより高出力かつ温度上昇を抑制できうるマイクロ LED の開発が求められる。また、それらの信号を取得するための神経電極がマイクロ LED 近傍に配置されることが重要である。そこで、本章ではまず、神経電極による神経活動を記録した。また、マイクロ LED を作製して温度上昇の検討後、マイクロ神経電極とマイクロ LED と一体集積プローブの開発を行った。

3.2 窒化物系発光ダイオードの基本的な作製工程

作製したデバイスの模式図を図 3.1 に示す。デバイスの幅は $170\text{ }\mu\text{m}$ 、デバイスの厚さは $300\text{ }\mu\text{m}$ 、針の根元から先までの長さは 4 mm 、LED の大きさは直径 $50\text{ }\mu\text{m}$ の円状である LED は 6 個配置され、LED の前と後ろに $10\text{ }\mu\text{m}$ のところと LED と LED の間に一辺 $15\text{ }\mu\text{m}$ の正方形の神経電極が 15 個配置されている。それぞれの LED は個別に制御でき、神経電極は個々に信号を測定することが可能であるように設計を行った。

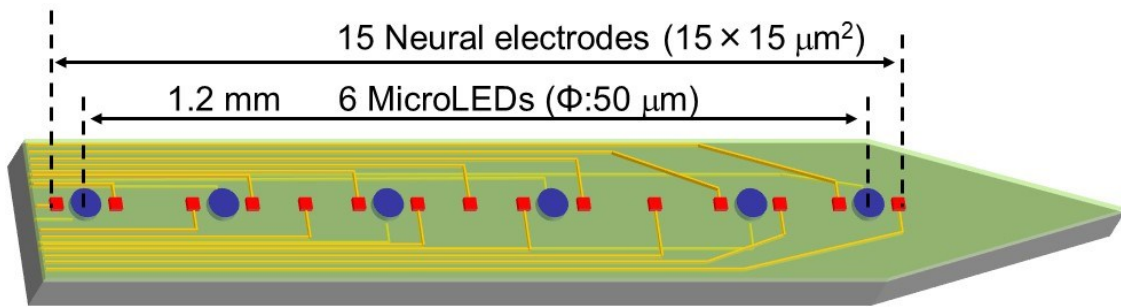


図 3.1 $15 \times 15 \mu\text{m}^2$ の神経電極 15 個と直径 $50 \mu\text{m}$ のマイクロ LED 6 個を一体集積したプローブの構造 (参考文献[5]より許可を得て転載)

以下に一体集積型 LED プロセスを示す。図 3.2(a) に示すように Si 基板上の GaN 系 LED ウエハを用いた。

(1) メサ構造形成

ポジ型レジスト ip3100 を用いてフォトリソグラフィを行い、図 3.2(b) に示すように素子分離を行うために ICP-RIE を用いて n-GaN 層を露出させる。フォトリソグラフィは、まず Si 基板上 GaN 系 LED 基板を 150°C で 5 分間塗布前ベークを行った後、クーリングを 5 分間行った。次に界面活性剤として OAP を用いて 1st: 500 rpm で 5 秒間、2nd: 4000 rpm で 20 秒間スピncーotaを行い塗布し、さらに ip3100 を用いて同条件で塗布した。プリベークを 90°C で 90 秒間行った後、両面アライナ装置を用いて 7 秒間露光を行った。露光後はベークを 110°C で 90 秒間行い NMD-3 を用いて 10 秒間現像を行った。n-GaN 層を露出させるためには p-GaN 層と InGaN 層をエッチングする必要がある。p-GaN 層と InGaN 層の合計膜厚は 300 nm から 400 nm であるため、エッチング深さが 400 nm を超える必要があり、エッチングに対するマージンをもたせて 600 nm のエッチングを行った。

(2) 配線形成用層間酸化膜 (SiO_2) 形成

p 型電極用のコンタクトホール形成にリフトオフプロセスを採用した。ネガ型レジスト AZ5214E を用いてフォトリソグラフィを行い、マルチターゲット RF スパッタによって SiO_2 を $1 \mu\text{m}$ 堆積した。まず基板を 110°C に 5 分間プリベークした後、リフトレジストにネガレジストである AZ5214E を 1st: 1000 rpm で 5 秒間、2nd: 4000 rpm で 30 秒間スピncーotaを用いて塗布した。その後両面アライナ装置を用いて i 線フィルタを通し、パターン露光を行った。リバーサルベークを 120°C で 2 分間行った後、i 線フィルタを用いて 20 秒間全面露光を行った。現像は NMD-3 を用いて基板を 1 分間浸すことでパターンが形成された (図 3.2(b))。その後、アセトンを用いてリフトオフすることで、図 3.2(c) に示すよう

に p 電極, n 電極形成用コンタクトホールを開口した.

(3) p 電極 (ITO 電極) 形成, n 電極形成, LED 独立駆動用金属配線形成

LED の光を上部から取り出すため, 導通し可視光領域で高い透過率を示す ITO を用いて p 電極形成を行った. ネガ型レジスト AZ5214E を用いてフォトリソグラフィを行い, ITO の蒸着には高真空電子ビーム蒸着法で 200 nm 堆積した後にリフトオフプロセスを行うことで p 電極を形成した (図 3.2(d)). その後 O_2 雰囲気中で 400 °C, 7 分間シンタリングを行った. 異なる深さの脳領域を光刺激するため, LED は個々に制御できなければならない. そこで, 高真空蒸着装置を用いて Ti/Au を堆積し, 層間絶縁膜上に金属配線と, 露出した n-GaN 層を導通させるために, n 電極形成を行った (図 3.2(d), 図 3.2(e)). パターン形成は p 電極と同様にリフトオフプロセスを採用した. 膜厚がそれぞれ 100/200 nm で蒸着を行った. 金属配線幅は 10 μm でボンディングパッド領域は $450 \times 450 \mu\text{m}^2$ である.

(5) LED, 神経電極絶縁用 SiO_2 形成

LED と神経電極層を絶縁するため SiO_2 を形成した. このとき n 電極と LED の金属配線パッドを外部電源と導通させるために, パターニングする必要がある. SU-8 の塗布により, n 電極と LED の金属パッドの露出範囲は 5 μm 小さくなる.

(6) 神経電極形成

異なる深さでの脳活動を記録するため電極は個々に信号を測定できるようパターニングを行う. LED と神経電極絶縁レジスト層の上に神経電極として Ti/Pt を形成した. それぞれの膜厚は 40 nm/10 nm である. 配線幅は 5 μm , ボンディングパッド領域は $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ である.

(7) 生体保護用 SU-8 膜

生体保護用 SU-8 を神経電極上に塗布する. 針先端の神経電極パッドとボンディングパッド上は信号の計測のため SU-8 がないようにパターニングされている. また n 電極とマイクロ LED の金属配線のボンディングパッド領域も露出するようにパターン形成されている.

(8) SiO_2 のウェットエッチングによるプローブ構造の形成

ポジ型レジスト iP3100 を用いてフォトリソグラフィを行い, BHF16 を用いて刺入型構造を形成した. BHF16 によるレジストのエッチングを防ぐため現像後にポストバークを 150 °C で 2 分間行った. エッチングレートは 400 nm/min で 2

分 30 秒エッチングを行った。

(9) Si エッチング

Si エッチングプロセスを行うためには装置の仕様上、作製している基板を 4 インチ基板にレジストを用いて張りつける必要がある。作製中の基板と 4 インチ基板を 130 °C で塗布前ベークを行った。Deep-RIE を用いて図 3.2(f) に示すように Si 基板をエッチングし、針型構造を形成した。

(10) PCB 基板とのワイヤーボンディングによる実装

PCB 基板とマイクロ LED プロブのボンディングパッド部を Au ボンダーによるワイヤーボンディングを行った。

(11) PDMS による Au 配線の保護

接合後の Au ワイヤーが切断してしまうことを防ぐため、粘度の高い PDMS を用いてコーティングを行った。注意点として電源との接続部であるコネクタはカプトンテープを用いて保護する必要がある。

(12) パリレンコーティング

側面の Si 基板は露出しており、生体にとって有害な物質である。そのため、パリレン成膜装置を用いて生体親和性が高いパリレン C の膜厚 1 μm を蒸着した。パリレンコータの装置の仕様上、被覆率が高く PCB と FPC 接続部はカプトンテープ等を用いて十分に保護する必要がある。

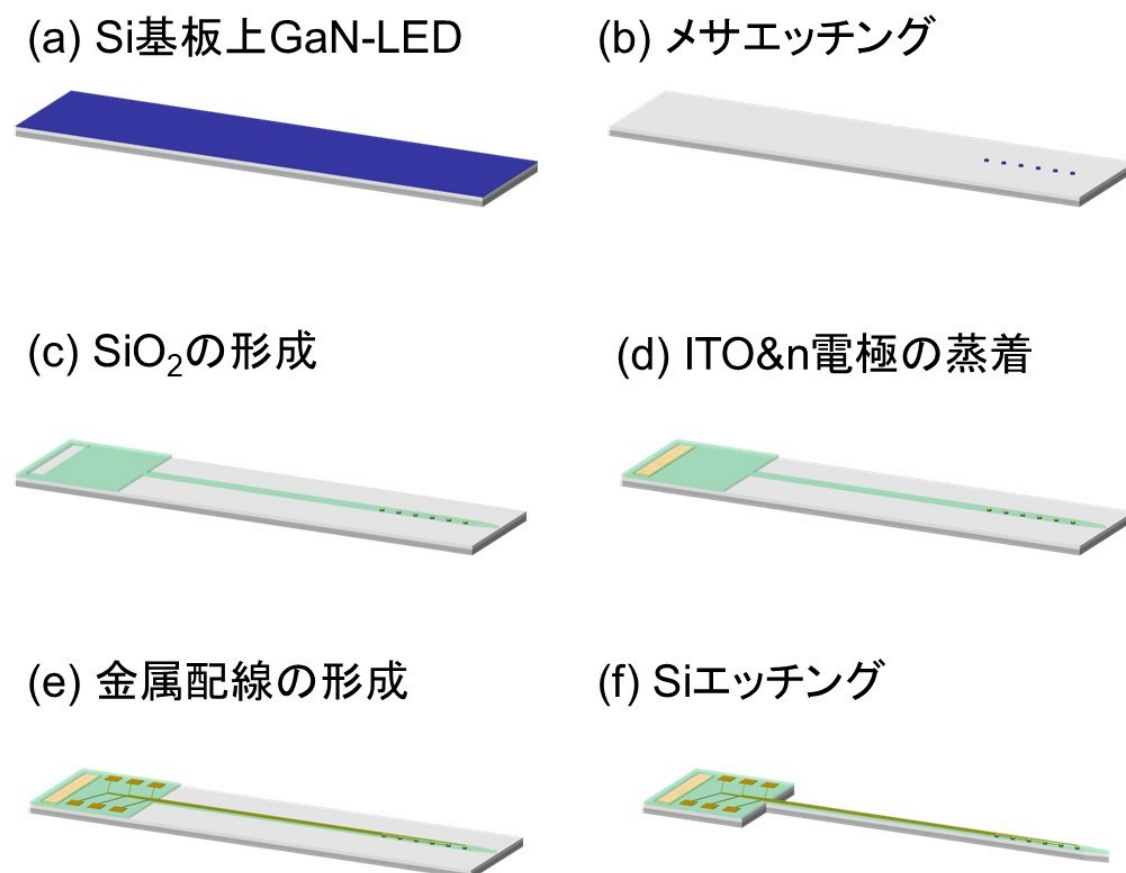


図 3.2 マイクロ LED と神経電極の一体集積プローブの作製プロセス (a) 発光波長 460 nm の Si 基板上 LED 基板の初期状態 (b) 塩素系ガスによる素子分離用メサエッチング (c) 層間絶縁膜用 SiO_2 形成 (d) p 電極として透明な ITO 電極, n 電極として Ti/Au (100/200 nm) 形成 (e) ワイヤーボンディングのための引出し金属配線として Ti/Au (100/200 nm) 形成 (f) 針型構造のための Si エッチング

作製した一体集積型 LED プローブを, 図 3.3 に示すように, $12.6 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$ のコンパクトな設計の PCB 基板に実装した. デバイス実装後の質量は約 0.16 g と小さいため, 動物への負担ほとんどない. 図 3.4 は, 開発した神経プローブの LED 動作前と動作中の光学顕微鏡画像である. マイクロ LED は個別に駆動させることができた. 脳内へと刺入可能かどうかを事前実験するためアガロース (5%) を用いて刺入実験をした. 図 3.5 に示すようにマイクロ LED プローブをマニピュレータで固定して, アガロースに対して垂直に刺入していくことで, 破損せずにアガロース内で発光することに成功した.

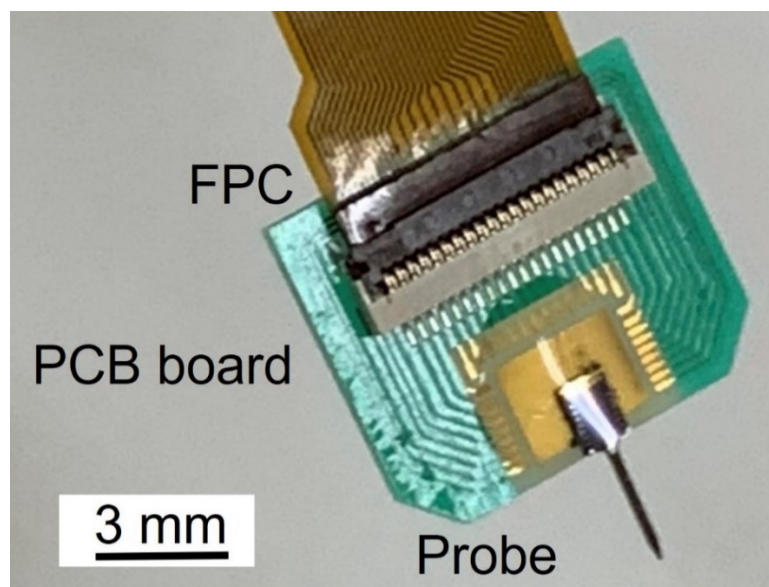


図 3.3 マイクロLED 神経プローブの PCB 基板とワイヤーボンディング及び 1 μm 厚さのパリレンコーティング実装後の写真(参考文献[5]より許可を得て転載)

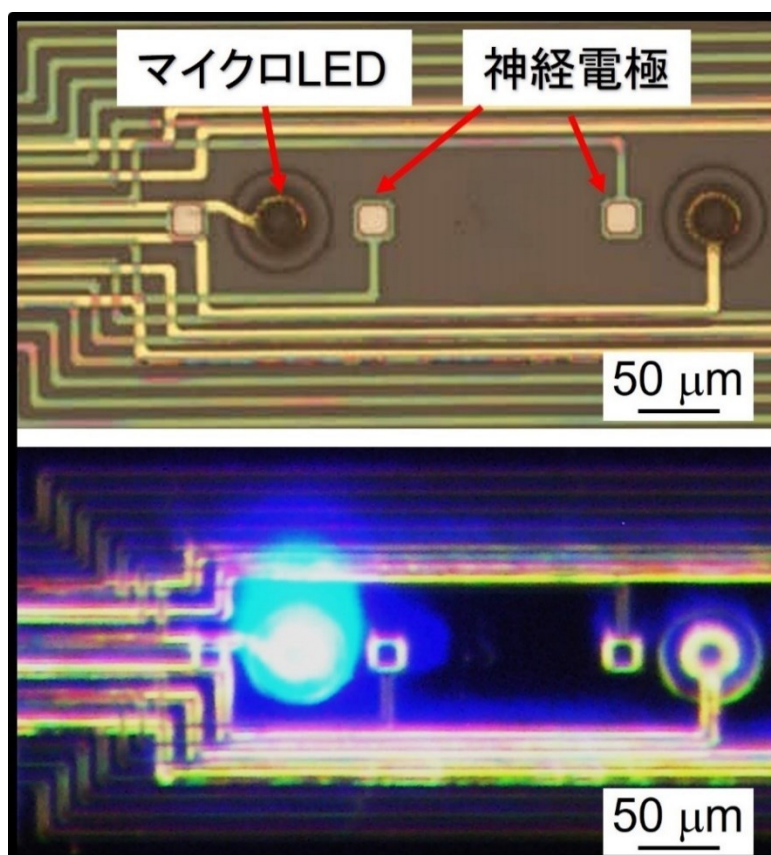


図 3.4 マイクロLED と神経電極の一体集積プローブの顕微鏡像 (上図) と発光像 (下図)(参考文献[5]より許可を得て転載)

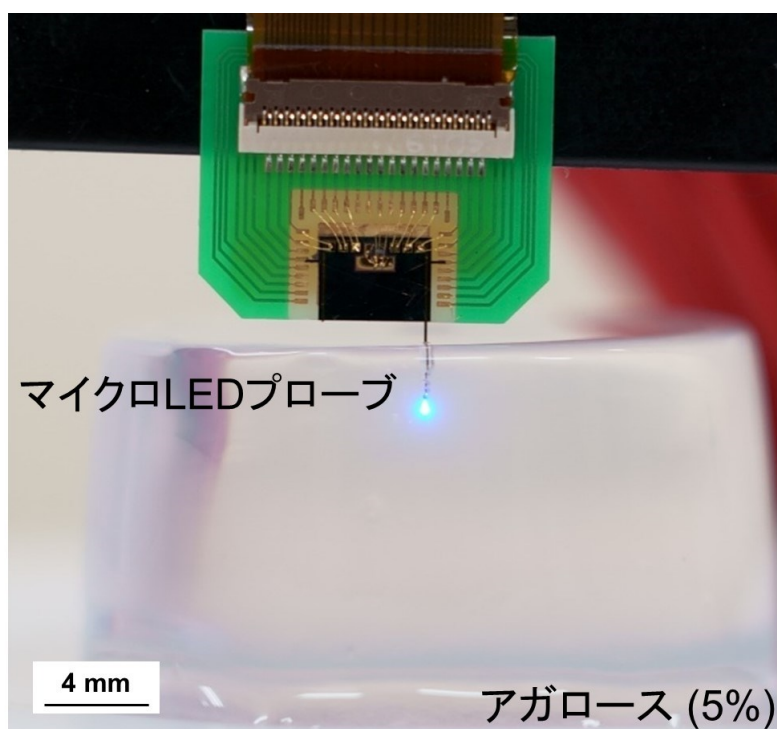


図 3.5 マイクロ LED プローブをアガロースへ刺入させて電流 0.1 mA で駆動させた時の発光像

3.3 局所電界電位測定及び LFP 取得のためのマウス手術

動物実験のプロトコルはすべて名古屋市立大学動物愛護委員会の承認を受け、米国国立衛生研究所、日本薬理学会のガイドラインに準拠して実施した。C57BL6 マウスを 1.2 g/kg ウレタンで麻酔した (i.p.)。その後、脳定位固定装置に装着した。全身麻酔が維持されていることを確認するために、侵害受容反射がないことを手術の間中確認した。各動物の直腸温は 36 °C から 37 °C に維持された。ブレグマとラムダが同じ高さになるように頭位を調整した。体性運動皮質の上に小さな頭蓋窓を作った。神経電極プローブを硬膜表面下 1 mm から脳内に垂直に刺入した。その後、プローブの位置を 20 分から 30 分間維持し、安定させた後、硬膜表面下約 2 mm まで緩やかに刺入した。プローブをナノコネクタ (A79026-001, Omnetics Connector Corporation, Minneapolis, MN) を介して 32 チャンネルヘッドステージ (C3314, Intan Technologies, Los Angeles, CA) に接続し、192 倍に増幅し、20 kHz でデジタル化した。多重化された信号は Open Ephys Acquisition Board で取得され PC に保存した。

広帯域信号は、まずオフラインで 1250 サンプル/秒にダウンサンプリングされた。その後、3 次ゼロ位相ラグバターワースフィルタを適用してフィルタリング

し、それぞれ 1-625 Hz と 500-3000 Hz の範囲にある局所電界電位 (LFP) とスパイク信号を取得した。本章における全てのデータは、特に断りのない限り、MATLAB プラットフォーム (RRID:SCR_001622; Mathworks, Natick, MA, USA) を用いて解析した。

3.4 神経電極プローブによる局所電界電位及びスパイクの測定

神経電極の特性を調べた。インピーダンスは、200 Hz で約 600 k Ω 、1 kHz で約 100 k Ω と小さかった。電極インピーダンスが低いほど電磁波干渉アーチファクトが小さくなることに対応するため、期待される[2]。具体的には、電極と生理食塩水との界面における静電容量成分が周波数の上昇とともに減少するため、電極インピーダンスは周波数の上昇とともに減少した。麻酔下のマウスの神経活動を観察するために、急性電気生理学的記録を行った。図 3.6(a) に示すように、神経電極プローブを脳組織内にスムーズに挿入した。図 3.6(b) は、15 チャンネルの神経電極プローブで記録した、神経細胞の LFP の一例である。見てわかるように、すべての神経電極から LFP 信号が得られている。また、神経プローブでは、個々のニューロンの活動電位に相当する神経スパイクも検出した。

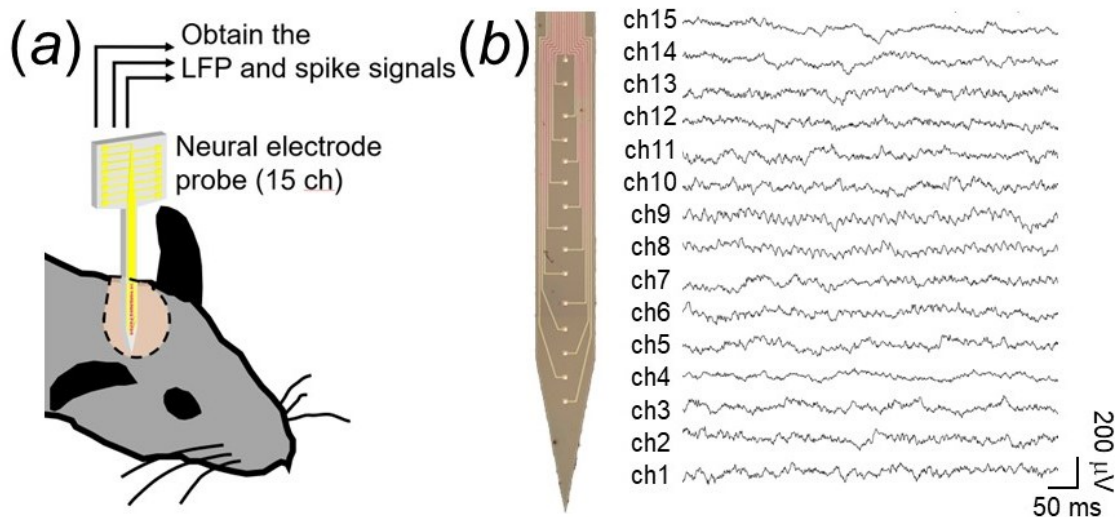


図 3.6 (a) $15 \times 15 \mu\text{m}^2$ の神経電極を 15 個集積させた神経電極プローブをマウスの皮質組織への刺入 (b) 15 チャンネルの神経電極プローブの拡大写真と神経細胞から記録された LFP (参考文献[5]より許可を得て転載)

3.5 マイクロ LED の特性評価

次に、神経電極一体型 LED プローブに搭載したマイクロ LED の電気特性および光学特性を評価した。図 3.7 に示すように EL (Electro Luminescence) 測定で発光スペクトルを評価すると発光波長 460 nm の明瞭な青色発光が得られた。図 3.8 に 3 つのマイクロ LED の電流－電圧 (I-V) 特性を示す。対応する電流－電圧曲線 (I-V 特性) は非常に安定しており、3.2 V の立ち上がり電圧を確認した。図 3.8 は、マイクロ LED の典型的な連続動作における電流－光出力 (I-L) 曲線と効率垂下曲線を示している。環境温度は室温であった。1 mA で 38 μ W に相当する 19.3 mW/mm² の光出力が得られ、外部量子効率 は 1.4% であった。

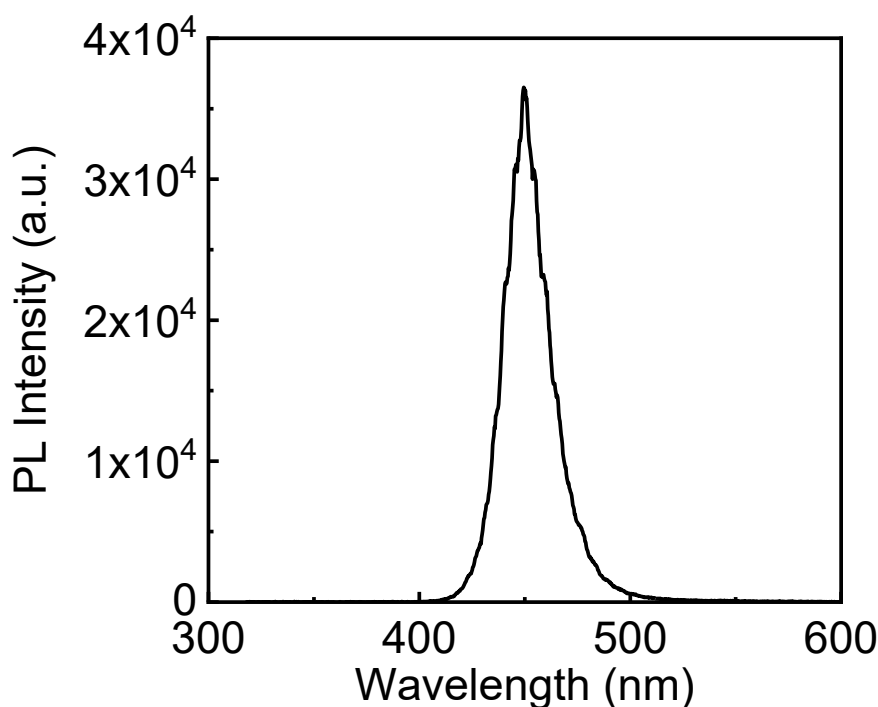


図 3.7 マイクロ LED プローブ先端上に集積したマイクロ LED の EL 発光のスペクトル

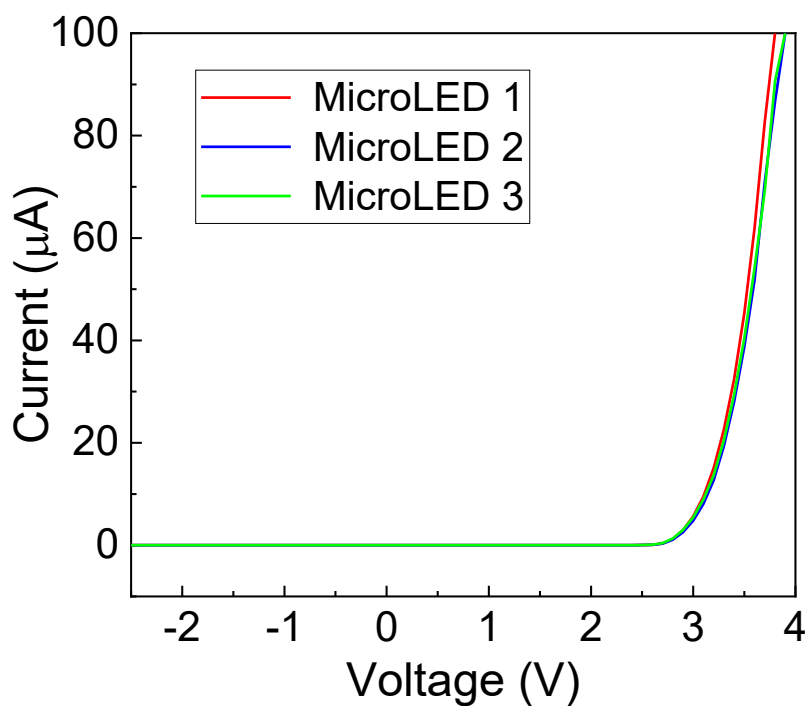


図 3.8 マイクロLEDプローブ先端上に集積した3つの代表的なマイクロLEDの電流－電圧特性 (参考文献[5]より許可を得て転載)

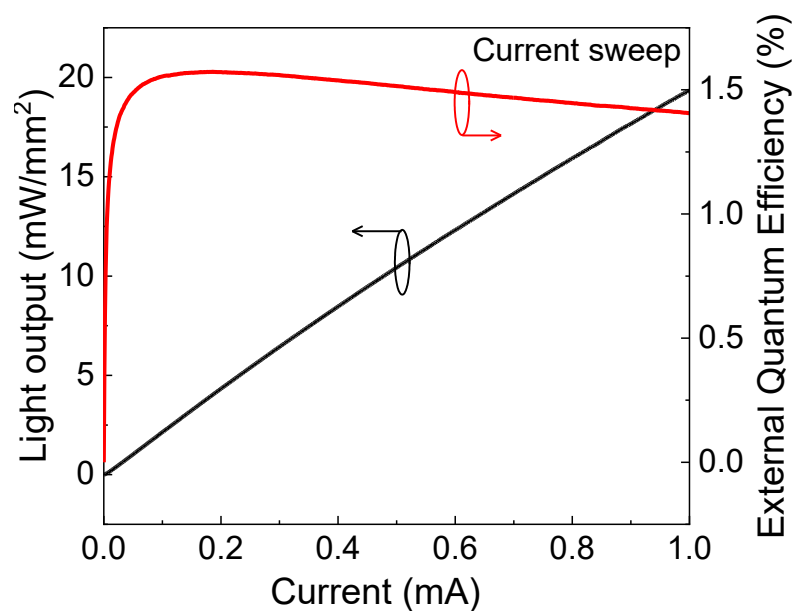


図 3.9 マイクロLEDプローブ先端から350 μm に集積された直径50 μm のマイクロLEDの電流に対する光出力及び外部量子効率 (参考文献[5]より許可を得て転載)

発光に取り出せなかった入力電力は熱に変換されるため、動物実験では発光効率を優先させる必要がある。わずかな温度上昇でも、神経ネットワークの機能を変化させたり、脳組織を損傷させたりする可能性がある。したがって、プローブを動物実験に実装する前に、マイクロ LED がどの程度の熱を発生させるかを知ることが必要である。デバイスの発熱の程度を評価する前に、動物実験に必要なマイクロ LED の光出力を決定した。光出力と刺激される神経細胞数の関係を近似するため、電磁界解析とモンテカルロ法により、デバイスが脳組織内にどのように光を分布させるかをシミュレーションした。マイクロ LED プローブの空間分解能は、マイクロ LED のサイズだけでなく、各マイクロ LED からの光の散乱によって決まるため、光の分布は空間分解能の観点からも重要である。マイクロ LED の放射特性については、直径 $50\ \mu\text{m}$ のマイクロ LED の条件でも、電磁界解析によりランバート分布が得られる。波長 $460\ \text{nm}$ の光を照射した条件下でシミュレーションを行った。電磁界解析は 2.2 節で述べたように有限差分時間領域法を用い、ランバート分布が得られることを確認した。次に、脳組織は光を散乱しやすいため、モンテカルロ法を用いて脳組織内の光伝搬をシミュレーションした。灰白質脳組織の散乱係数、異方性係数、吸収係数はそれぞれ、 $s = 105\ \text{cm}^{-1}$ 、 $g = 0.88$ 、 $a = 0.6\ \text{cm}^{-1}$ となった[4]。LED 基板部分は GaN を用い、光源は GaN-LED ウェハに使用されている InGaN MQW の発光波長である $460\ \text{nm}$ とした。空間屈折率は脳内を想定し、生理食塩水の屈折率である 1.33 を用いており、吸収係数は $20\ \text{cm}^{-1}$ とした。図 3.10 は、直径 $50\ \mu\text{m}$ のマイクロ LED 一個からの光が脳組織内でどのように散乱するかをモンテカルロ法でシミュレーションした結果であり、白線は、マイクロ LED 表面の各光出力において、 $1\ \text{mW}/\text{mm}^2$ まで光が広がる領域を示している。 $10\ \text{mW}/\text{mm}^2$ の発光強度で入力したとき神経細胞が活性化するとされる発光強度 $1\ \text{mW}/\text{mm}^2$ は $125\ \mu\text{m}$ 地点まで到達し、同時に横方向への光が $50\ \mu\text{m}$ 程度広がることが示された。今後は光広がりを考慮したデバイス設計を検討していく必要がある。また、大気中で角度分解エレクトロルミネッセンス測定を行ったところ、対応するシミュレーション結果とほぼ同じ結果が得られた。このように、光出力を上げると、光刺激された神経細胞の数が増加することが分かった。神経細胞の平均密度は $9.2 \times 10^4/\text{mm}^3$ であることが報告されている[6]。図 3.10 より求められた 5, 10, 20, 50, $100\ \text{mW}/\text{mm}^2$ のときの光広がりの体積と神経細胞の平均密度から刺激される神経細胞の数は、図 3.11 に示すようにそれぞれ 5, 12, 25, 120, 320 個とおおよそ推定された。LED プローブの端面から漏れる光を評価したところ、上部から取り出した光の 10%以下であった。これは、刺激されるニューロン数が極めて少ないため、問題ないと考えられる。また、対象となる脳部位によって、刺激できるニューロンの数や面積が異なることに留意する必要がある。

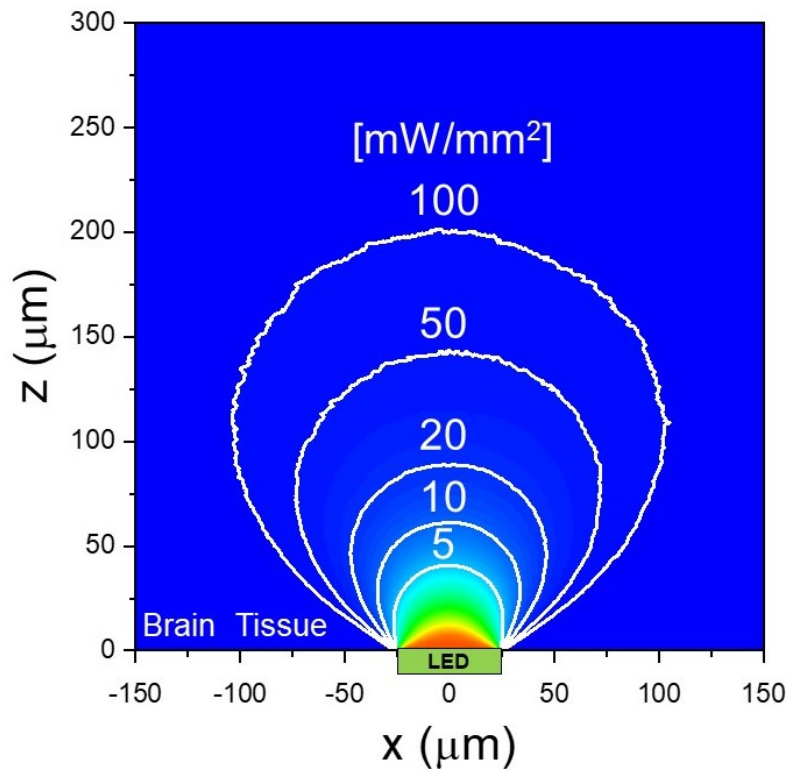


図 3.10 直径 $50\ \mu\text{m}$ のマイクロ LED1 個から皮質組織内を伝播する光のモンテカルロシミュレーションにより異なる光出力の指向性 (参考文献[5]より許可を得て転載)

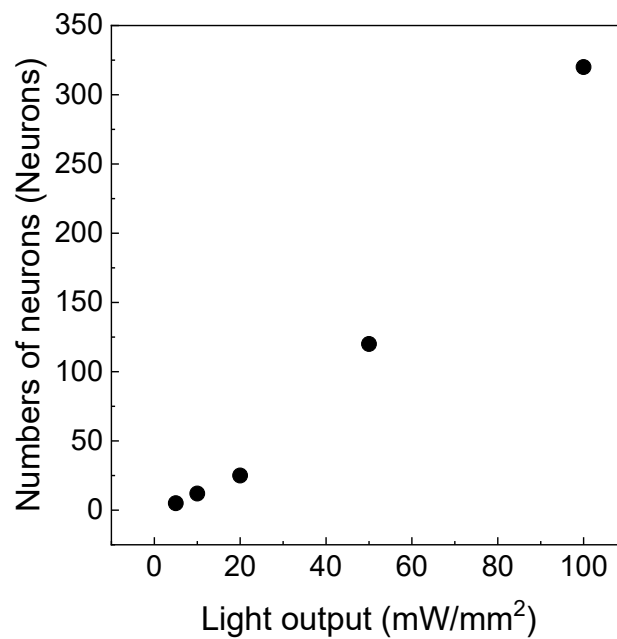


図 3.11 マイクロ LED 端からの光出力と神経細胞の密度 $9.2 \times 10^4 / \text{mm}^2$ によっ

て光刺激されると見積もられる神経細胞数

次に、非冷却サーモグラフィ (FLIIR325sc) を用いて、連続動作条件下でのマイクロ LED の温度上昇の程度を評価した。図 3.12 は、電流値を上昇させたときの温度上昇 (ΔT) である。マイクロ LED のウォールプラグ効率は、1 mA で約 0.8% であった。電流を 0.5 mA から 5.0 mA まで増加させると、 ΔT は 0.35 °C から 5.2 °C まで単調に増加した。また、生体の温度上昇は、脳組織が熱を吸収するためと考えられる。そこで、波長 460 nm、光出力 50 mW/mm² での光吸収による温度上昇を計算したところ、0.01 °C 以下であった。これは、マイクロ LED によるデバイスの温度上昇と比較して、極めて低い値であることを示している。

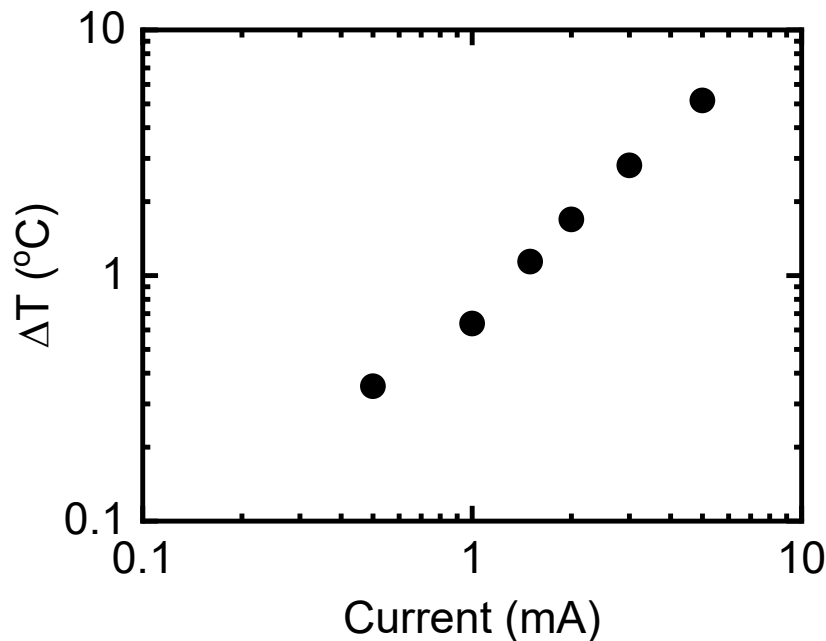


図 3.12 サーモグラフィを用いた大気中における Si 基板上 LED (20 mm 角) に集積されたマイクロ LED の電流に対する温度上昇

発光に使われなかったエネルギーはすべて熱に変換されると仮定すると、温度上昇の程度は入力電力とウォールプラグの効率で決まることになる。光が脳組織に散乱することを考慮すると、マイクロ LED の活性化エネルギーは 1 mW/mm² であり、特定の神経活動の光制御が可能となる[1, 2, 7]。時空間的相関の解明を目的として、提案する一体集積型プローブを用いて局所神経活動を制御する場合、各マイクロ LED による光刺激は数ミリ秒から数十ミリ秒のパルス刺激となるため、温度上昇をより抑制することが可能である。しかし、*in vivo* の動物実験では、より広い範囲を光刺激する必要がある。そのため、高光出力時の装置温度を下げるため

に、ウォールプラグの効率を上げる必要がある。また、温度上昇とウォールプラグ効率の関係性を明らかにする必要がある。図 3.13 は、各光出力におけるウォールプラグ効率に対する温度上昇である。温度上昇は、ウォールプラグ効率が電流に依存しないと仮定して、図 3.11 に示した温度上昇変化のデータから導き出されたものである。図 3.13 に示すように、ウォールプラグ効率が高ければ高いほど、温度上昇が小さくなっていることがわかる。20 mW/mm²では、ウォールプラグ効率が 0.8%で 0.6 °Cの温度上昇となった。しかし、100 mW/mm²では、1.2%以上のウォールプラグ効率を達成できれば、温度上昇を 2 °C以下に抑えることが可能である。高出力と低いウォールプラグ効率の組み合わせは、高い駆動電流の結果であり、図 3.13 に示すように、温度上昇は効率低下の影響を強く受けるため、この条件は相対的に高い温度上昇につながる[8-11]。したがって、高い光出力による光刺激実験を行うときはウォールプラグの効率を上げることを優先させることが重要である。今回作製したマイクロ LED のウォールプラグ効率は 0.8%であった。さらなる、プロセス設計の最適化やデバイス設計の LED エピタキシャル構造のカスタマイズにより、ウォールプラグ効率を向上させることが可能である。そこで各マイクロ LED 直下にミラーを作製することで効率向上を図った。

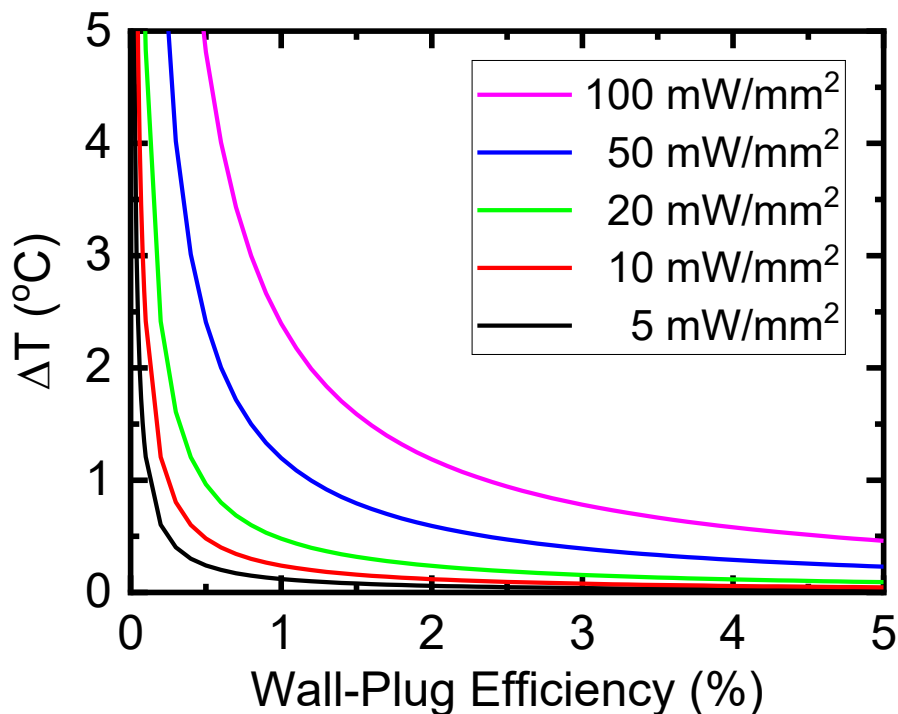


図 3.13 直径 50 μm のマイクロ LED の光出力 5, 10, 20, 50, 100 mW/mm² でのウォールプラグ効率に対する推定された温度上昇 (参考文献[5]より許可を得て転載)

3.6 Ag ミラー構造を有する高効率マイクロ LED

マイクロ LED の作製後、マイクロ LED の下にある Si 基板を深掘り反応性イオンエッチングでエッチングした。マイクロ LED 駆動時による温度上昇抑制のための光取り出し効率向上を図った。具体的には、Ag ミラー構造をプロセスに導入しデバイス作製と評価を行った。現段階では、プローブ作製プロセスに導入するに至っていないため、針型構造にされていないチップでのマイクロ LED を用いることとした。図 3.14 に Ag ミラー構造導入プロセスを示す。まずは、3.2 節で述べたように LED プロセスを行い、チップのマイクロ LED を作製した。次に Si エッチングにより、裏面の Si を除去し、GaN 層を露出させた。高真空蒸着装置を用いて、裏面の露出した GaN 層に Ag を 200 nm 蒸着することで Ag ミラー構造を作製した。この構造では、Si 基板が光の吸収を抑え、Ag ミラーが光を反射するため、マイクロ LED の上面での光出力が高くなる。図 3.15 は、Ag ミラーを用いた場合と用いない場合のマイクロ LED の I-L 特性を示している。また、マイクロ LED 上に Si フォトディテクタを配置し、光出力を評価した。電流が増加するにつれて光出力が増加することが確認した。しかし、Ag ミラー有りのマイクロ LED は、Ag ミラー無しのマイクロ LED の約 2 倍の光出力を有していた。さらに、3 mA で約 90 mW/mm² の光出力が得られ、ウォールプラグ効率は 1.4%と、Ag ミラーなしのマイクロ LED の約 1.8 倍に向上している。このことから、LED を連続点灯させた場合、Ag ミラーを用いたマイクロ LED の温度上昇は、Ag ミラーを用いないマイクロ LED の半分以下であると考えられる。これらの結果は、比較的大きな体積の皮質組織を光遺伝学的に刺激するための集積型マイクロ LED 神経プローブの実現に向けた基礎的なステップとなる。神経科学分野への応用には、皮質組織内での LED 動作の信頼性が高いことが重要であり、さらに、デバイス表面の生体適合性コーティング技術の開発が必要である。

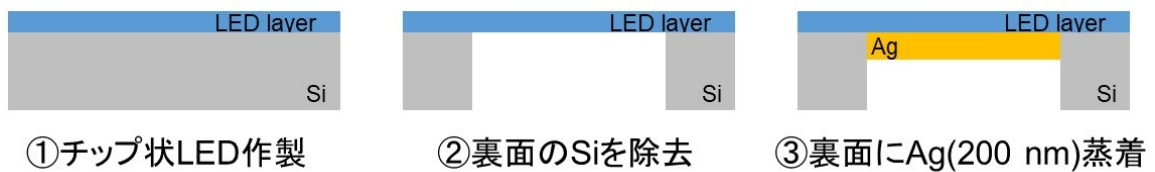


図 3.14 GaN 系 LED 基板裏面の Si を除去することによる導入された裏面 Ag ミラー構造 LED の作製プロセス

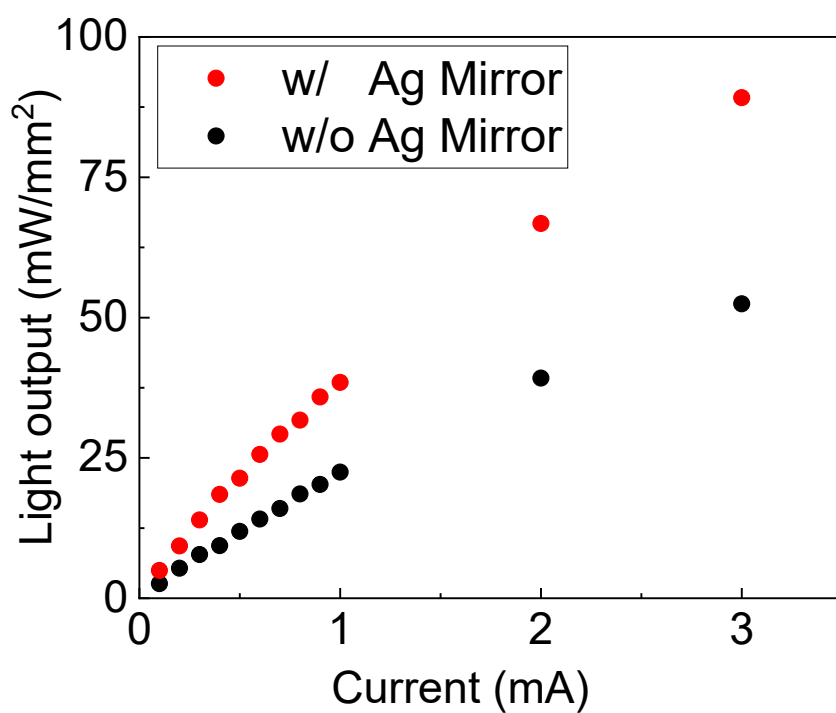


図 3.15 マイクロ LED 裏面への Si 除去後の Ag ミラー構造導入の違いによる電流－光出力特性の比較 (参考文献[5]より許可を得て転載)

3.7 結言

本章では、光遺伝学的応用のために、6 個のマイクロ LED と 15 個の神経記録電極を集積した神経プローブを作製した。マウスの皮質組織から LFP と神経スパイク信号の記録に成功し、神経電極の有効性を示した。次に、作製したマイクロ LED プローブの特性を評価した。マイクロ LED は整合性の高い I-V 特性を示し、それぞれ約 20 mW/mm^2 の光出力、1 mA での外部量子効率 は 1.4% であった。さらに、皮質組織内の光分布をシミュレーションし、光刺激面積と光刺激された神経細胞数を推定した。また、マイクロ LED の連続動作時の温度上昇を評価したところ、電流を 0.5 mA から 5 mA に増加させると、温度が 0.35°C から 5.2°C に上昇することが分かった。この結果をもとに、温度上昇とウォールプラグ効率の関係を定量化し、今後の神経科学研究を目的としたマイクロ LED 光遺伝技術開発の発展に大きく関わっていく。最後に、マイクロ LED の背面に Ag ミラーを作製することで、ウォールプラグの効率が向上することを確認した。これらの結果は、開発した神経プローブが *in vivo* 生体刺激の研究のためのツールとして有用であることを示唆する結果を得られた。

参考文献

- [1] F. Wu, E. Stark, P. C. Ku, K. D. Wise, G. Buzsáki, and E. Yoon, "Monolithically Integrated μ LEDs on Silicon Neural Probes for High-Resolution Optogenetic Studies in Behaving Animals", *Neuron* **88**, 1136-1148 (2015).
- [2] K. Kim, M. Vöröslakos, J. P. Seymour, K. D. Wise, G. Buzsáki, and E. Yoon, "Artifact-free and high-temporal-resolution in vivo opto-electrophysiology with microLED optoelectrodes", *Nat. Commun.* **11**, 1-12 (2020).
- [3] B. Slischka, A. Nishikawa, and A. Loesing, *semiconductor TODAY*, **15**, 48 (2020).
- [4] A. N. Yaroslavsky, P. C. Schulze, I. V. Yaroslavsky, R. Schober, F. Ulrich, and H. J. Schwarzmaier, "Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues in vitro in the visible and near infrared spectral range", *Phys. Med. Biol.* **47**, 2059-2073 (2002).
- [5] H. Yasunaga, T. Takagi, D. Shinko, Y. Nakayama, Y. Takeuchi, A. Nishikawa, A. Loesing, M. Ohsawa and H. Sekiguchi, "Development of a neural probe integrated with high-efficiency MicroLEDs for in vivo application", *Jpn. J. Appl. Phys.* **60**, 016503-1 - 016503-5 (2021).
- [6] A. Schüz and G. Palm, "Density of neurons and synapses in the cerebral cortex of the mouse", *J. Comp. Neurol.* **286**, 442-455 (1989).
- [7] E. Stark, T. Koos, and G. Buzsáki, "Diode probes for spatiotemporal optical control of multiple neurons in freely moving animals", *J. Neurophysiol.* **108**, 349-363 (2012).
- [8] X. Ni, Q. Fan, R. Shimada, Ü. Özgür, and H. Morkoç, "Reduction of efficiency droop in InGaN light emitting diodes by coupled quantum wells", *Appl. Phys. Lett.* **93**, 91-94 (2008).
- [9] J. Piprek, "Efficiency droop in nitride-based light-emitting diodes", *Phys. Status Solidi Appl. Mater. Sci.* **207**, 2217-2225 (2010).
- [10] M. Calciati, M. Goano, F. Bertazzi, M. Vallone, X. Zhou, G. Ghione, M. Meneghini, G. Meneghesso, E. Zanoni, E. Bellotti, G. Verzellesi, D. Zhu, and C. Humphreys, "Correlating electroluminescence characterization and physics-based models of InGaN/GaN LEDs: Pitfalls and open issues", *AIP Adv.* **4**, 067118-1 - 067118-24 (2014).
- [11] V. A. Jhalani, J. J. Zhou, and M. Bernardi, "Ultrafast hot carrier dynamics in GaN and its impact on the efficiency droop", *Nano Lett.* **17**, 5012-5019 (2017).

第4章 マイクロ LED プローブによる脳内温度モニタリング

4.1 緒言

本章ではマイクロ LED を神経科学に活用する際の大きな問題は、マイクロ LED プローブ時の駆動部での発熱評価手法を検討した。米国医療機器振興協会によると、脳の損傷や熱刺激を避けるために、デバイスの熱の増加は 2°C 未満に抑制されなければならないため、脳組織における温度上昇と光出力の関係を把握することは重要である。サーモグラフィを用いて大気中の評価がなされており、シミュレーションと組み合わせること脳内の温度上昇が推定されているに留まっている。そこで、本章では脳内の温度上昇評価法の検討を行い、動物実験において有効に活用できるマイクロ LED プローブの検討を行った。

4.2 マイクロ LED プローブの作製

第3章で述べたように、脳組織に器具をスムーズに刺入するための光刺激用針型構造体であるマイクロ LED を搭載した LED プローブを作製した。針型プローブの幅、長さ、厚さはそれぞれ 3.3 mm , $300\text{ }\mu\text{m}$, $300\text{ }\mu\text{m}$ であった。作製したプローブは $15.5\text{ mm} \times 14.3\text{ mm}$ の PCB 基板に実装しオムネティクスコネクタを FPC で接続することで外部からの電源供給を用意としている。また生体実験を行う前に、プローブに厚さ $1\text{ }\mu\text{m}$ の生体適合性のあるパリレン C を成膜した。図 4.1(左図) は、コンパクトコネクタ (NSD-36-AA-GS, OMNETICS, Minneapolis, U.S.) に接続した PCB 基板に実装したマイクロ LED 神経プローブの写真である。プローブは、針の先端から 2 mm の領域に直径 $50\text{ }\mu\text{m}$ のマイクロ LED を 5 個配置したものである。各マイクロ LED は独立して駆動することができる。例えば、3 つのマイクロ LED から明るい青色の発光が得られた (図 4.1(右図))。動物実験への干渉を避けるため、PCB 基板の不要な部分を取り除いた。作製したマイクロ LED プローブの電氣的・光学的特性は、ソースメータ (6241A, ADCMT, Saitama, Japan) およびパワーメータ (PD300-UV, Ophir Optronics, Jerusalem, Israel) を用いて評価した。マイクロ LED プローブの光出力は、パワーメータにできるだけ近づけて測定した。図 4.2 は、代表的なマイクロ LED の電流－光出力－電圧 (I-L-V) 特性である。しきい値電圧 3.2 V で明確な整流特性が観測され、

光出力は 1 mA で約 15 mW/mm^2 であった．チャネルロドプシン 2 (Channelrhodopsin: ChR2) の活性化には 1 mW/mm^2 の光出力が必要であること[2, 3] とマイクロ LED の指向性[3]を考慮すると，得られた光出力は光遺伝的刺激に十分であると期待された．また，外部量子効率 (EQE) のピークは約 1%であり，神経プローブに LED を組み込んだ先行研究[4-7]と同様の値であった．

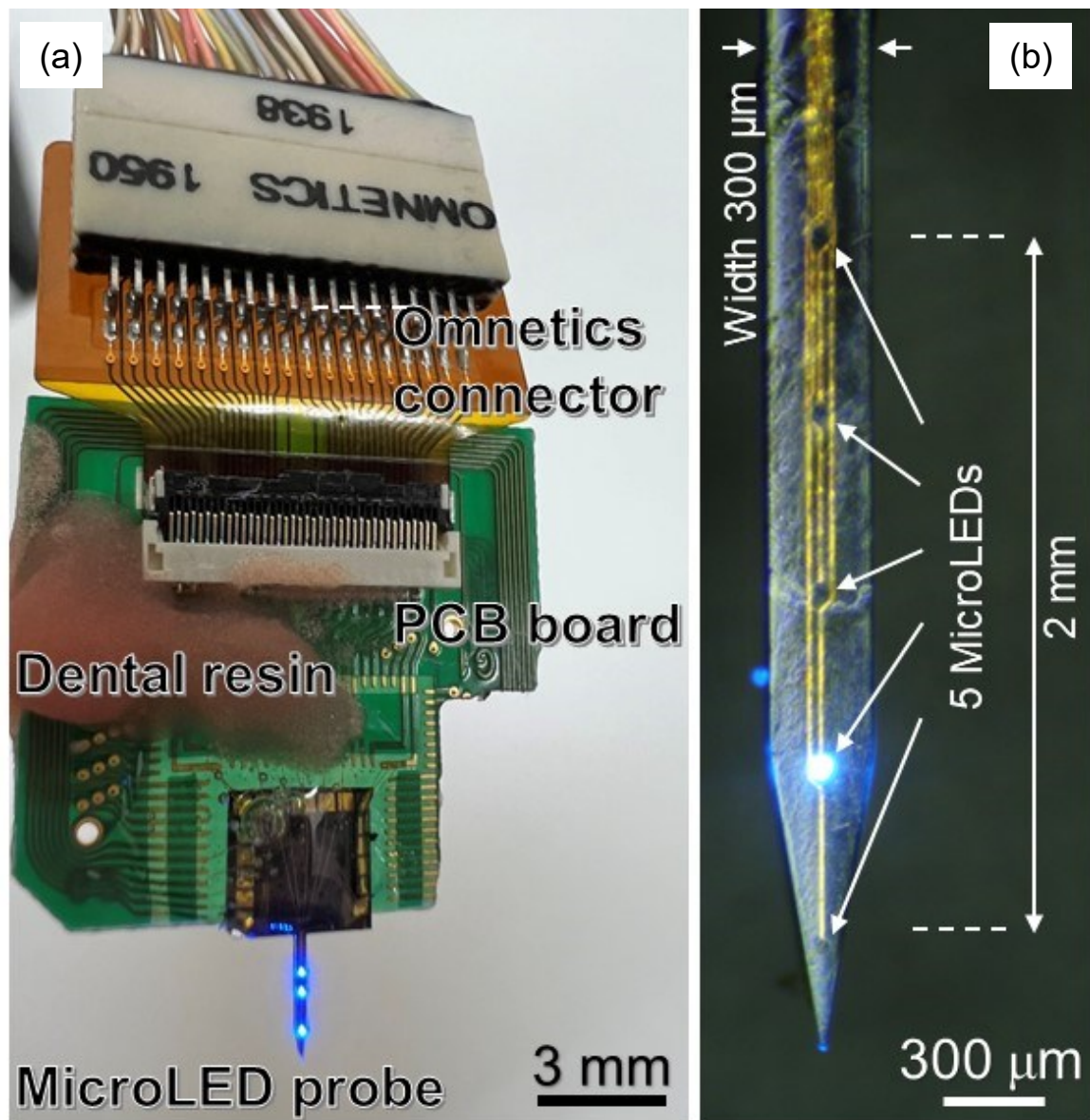


図 4.1 (a) PCB 基板に実装されたマイクロ LED プローブの発光像 (b) 直径 50 μm ，先端 2 mm の中にマイクロ LED が 5 個集積されたマイクロ LED プローブの青く発光している発光像 (参考文献[1]より許可を得て転載)

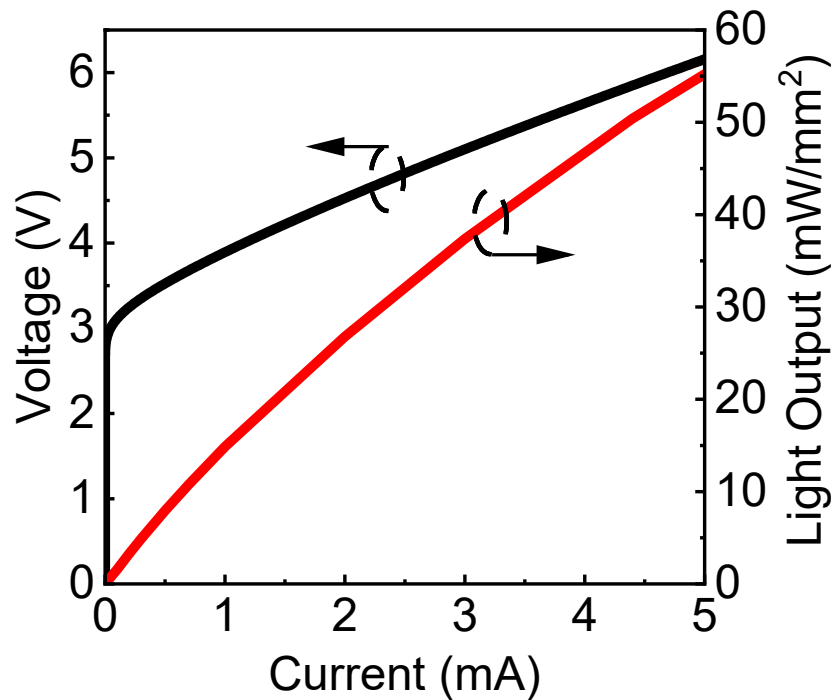


図 4.2 オムネティクス 1960 と接続可能な PCB 基板に実装されたマイクロ LED プロープの電流－光出力－電圧特性 (参考文献[1]より許可を得て転載)

4.3 マイクロ LED の大気中における温度上昇

4.3.1 マイクロ LED プロープ駆動時の温度分布

本章では、作製したマイクロ LED が駆動したときの素子温度の上昇について評価を行った。図 4.3 に実際にサーモグラフィによって測定した画像と LED を駆動したときのプローブ全体の温度上昇を示す。デバイス是最もプローブ体積が小さい幅 $100\ \mu\text{m}$ 、厚さ $100\ \mu\text{m}$ を用いて最も先端に位置する LED を駆動させた。DC 電流 $0.3\ \text{mA}$ を電流注入した。LED 部が最も温度上昇が大きくパッド部に近づくにつれて低くなっている。プローブ先端の温度が急激に下がっている点については、サーモグラフィの分解能が $25\ \mu\text{m}$ のため、Si 基板以外を検出したことが要因である。この結果より、マイクロ LED プロープの温度上昇を明らかにするために LED に焦点を当てて測定を行うこととした。

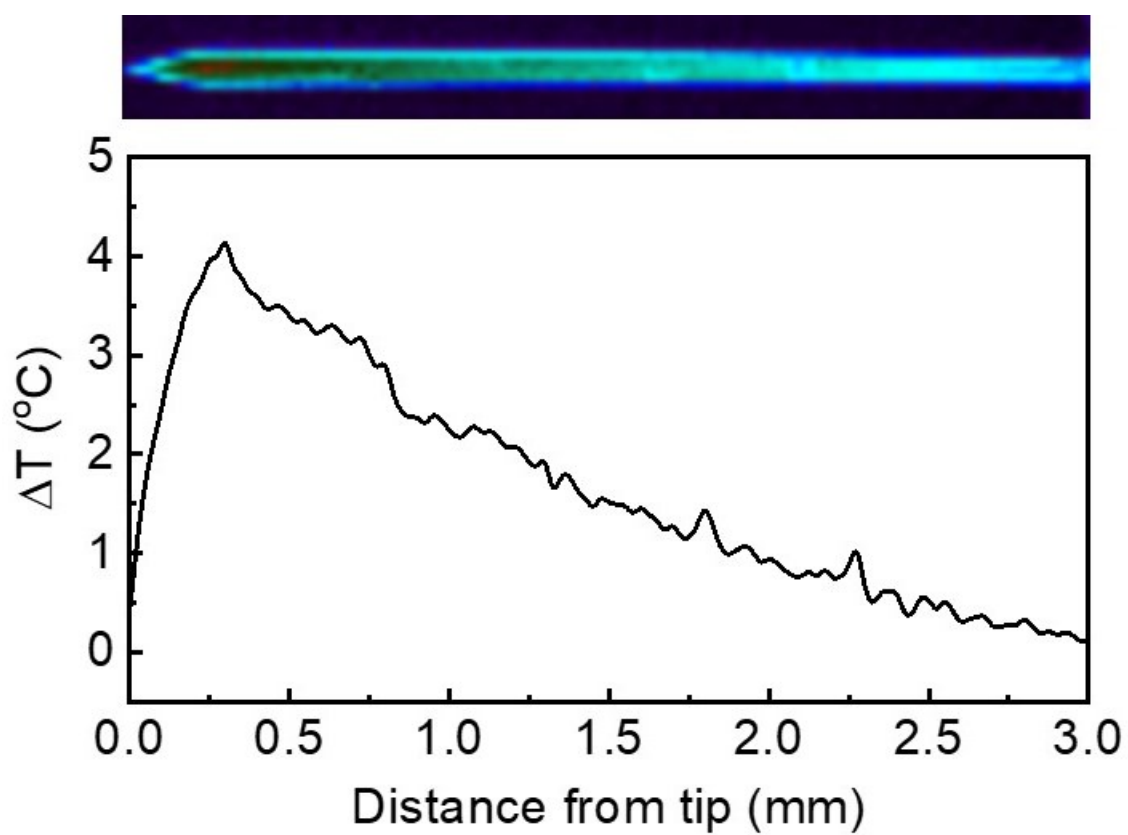


図 4.3 サーモグラフィを用いた大気中におけるマイクロ LED プローブ先端から 350 μm に集積された直径 50 μm のマイクロ LED の温度上昇分布

4.3.2 マイクロ LED プローブ温度上昇の周波数特性

DC 電流を印加した場合は, 1°C を越えてしまうような結果となったが, ChR2 を光刺激によって活性化させるには, デューティ比 50% が最適とされているため[8], その条件でパルス駆動による評価を行うこととした. 図 4.4(a) に周波数 1 Hz, デューティ比 50%, 0.5 mA で駆動したとき電圧を示す. また, LED の温度上昇を図 4.4(b) に示す.

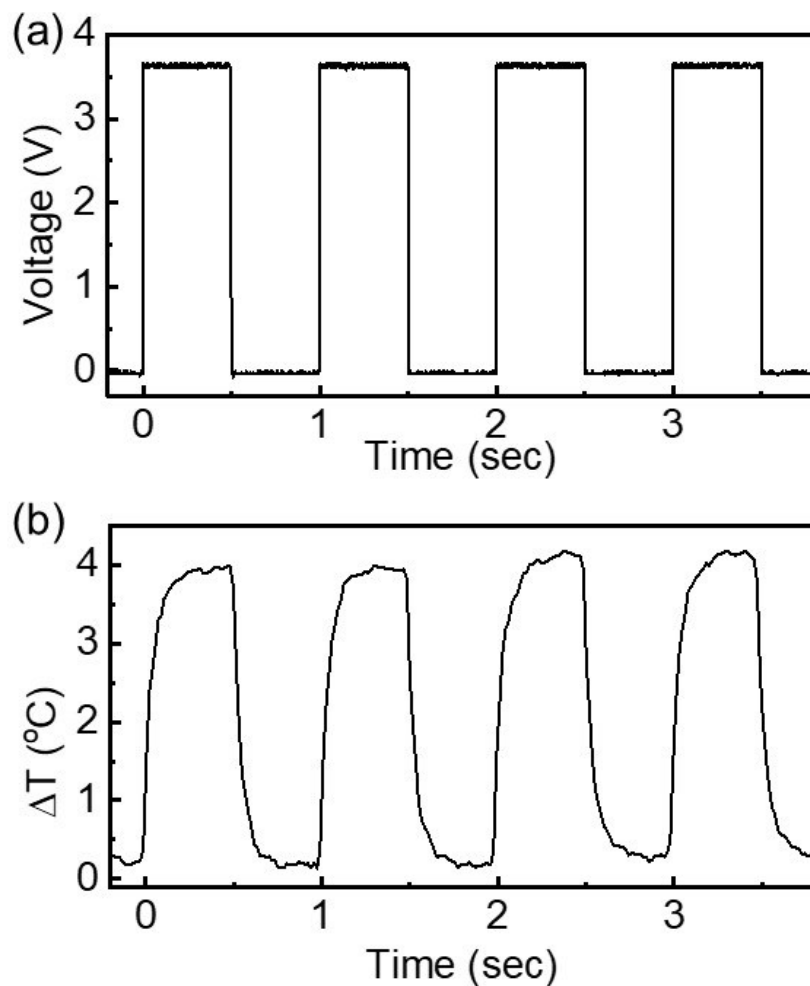


図 4.4 LED プローブを周波数 1 Hz, Duty 比 50%, 電流 0.5 mA で駆動 (a) LED の電圧波形 (b) LED の温度上昇

これよりマイクロ LED をオンした瞬間からオフになるまでの電圧波形の時間 (図 4.4(a)) に対して温度上昇 (図 4.4(b)) が追従できていることが確認できた. この結果を踏まえて, LED の温度上昇のパルス幅依存性を評価することとした.

図 4.5 にマイクロ LED の温度上昇に対するパルス幅依存性を示す．周波数は 1 Hz, 5 Hz, 10 Hz で測定を行ったが，サーモカメラの性能限界が関係して，5 Hz, 10 Hz のパルス幅が低い領域は考慮しないこととした．周波数 1 Hz の温度上昇に着目すると，パルス幅が低くなることで温度上昇が低くなっていることがわかる．本研究では青色光によって反応する ChR2 を想定しており， τ_{th_on} が 1.21 msec, τ_{th_off} が 13.5 msec となっている．周波数 10 Hz でパルス幅 5 msec から 50 msec の条件で光応答タンパク質が最も再現性高く応答することがわかっている．しかし，本研究で用いるサーモカメラの性能により測定はパルス幅 30 msec 以下は温度の追従が難しい．これらのことから，本研究では周波数 1 Hz でパルス幅 50 msec の駆動条件において 2℃以下となることを理想とした．

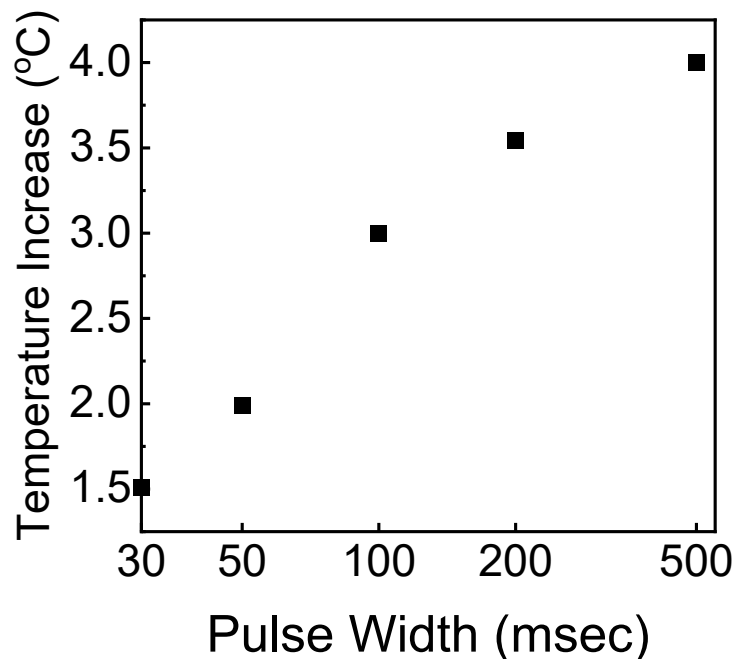


図 4.5 サーモグラフィを用いた大気中におけるマイクロ LED プロープ先端から 350 μm に集積された直径 50 μm のマイクロ LED の温度上昇に対するパルス幅依存性

4.3.3 マイクロ LED プローブ温度上昇の形状依存性

次に位置が異なるマイクロ LED の素子温度上昇を比較することとした。図 4.6 にパッド部からの針先端をプローブ長さとした時の LED 駆動時の温度変化を比較した。マイクロ LED の集積がプローブ先端に近づくにつれて温度が上昇していることがわかる。先端の LED は 1°C を越える結果となっていたが、パッド部に最も近い LED は温度上昇が小さい結果となった。要因としては、先端は排熱性能が低いことが考えられる。これよりプローブの体積が放熱性能に大きく依存すると考え、プローブ厚さとプローブ幅が大きいデバイスで比較することとした。図 4.7 と図 4.8 にプローブ厚さとプローブ幅が異なるデバイスを用いて温度上昇を比較した結果を示す。

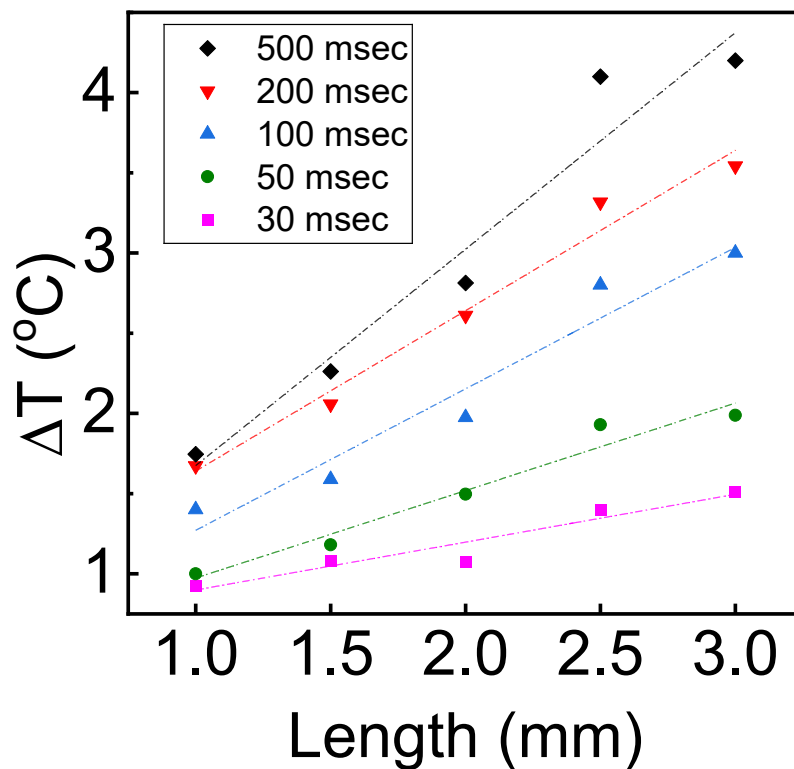


図 4.6 サーモグラフィを用いた大気中におけるマイクロ LED プローブ先端から $350\ \mu\text{m}$ に集積された直径 $50\ \mu\text{m}$ のマイクロ LED の温度上昇に対するプローブ長さ依存性

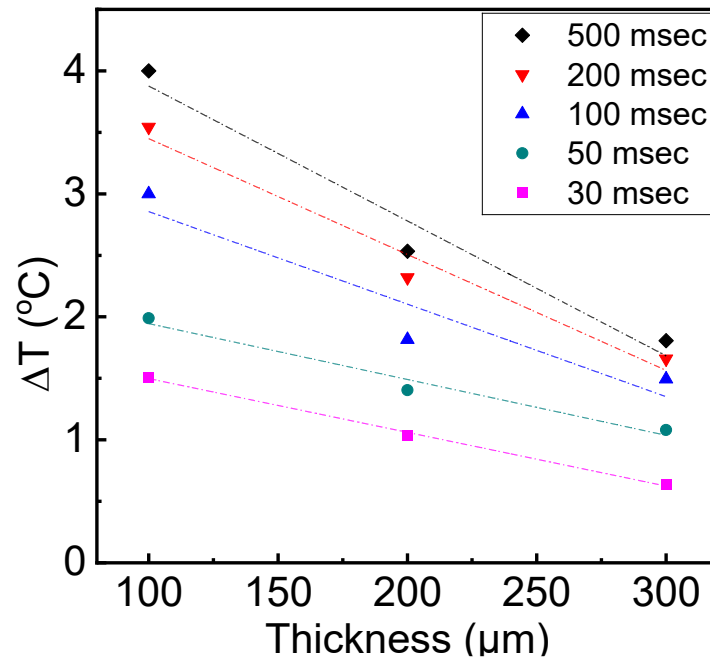


図 4.7 サーモグラフィを用いた大気中におけるマイクロ LED プロープ先端から 350 μm に集積された直径 50 μm のマイクロ LED の温度上昇に対するプロープ厚さ依存性

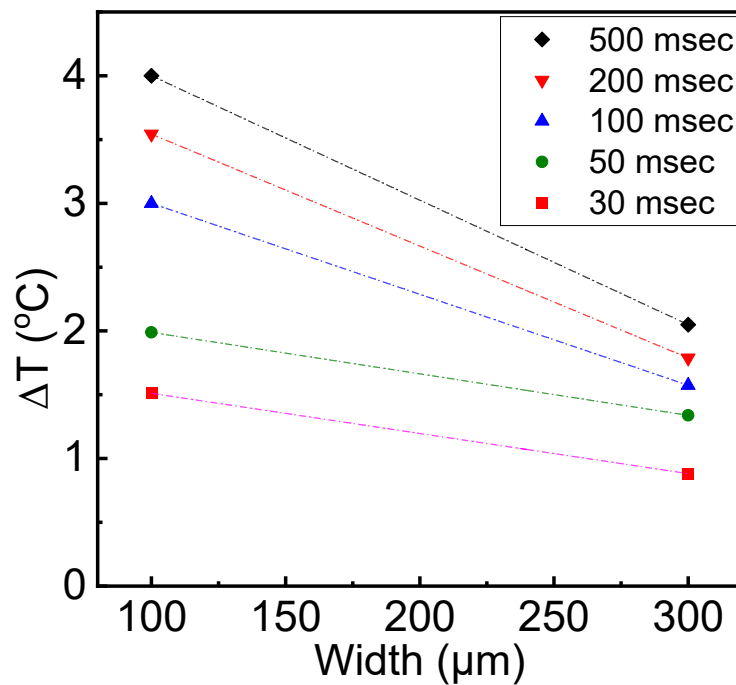


図 4.8 サーモグラフィを用いた大気中におけるマイクロ LED プロープ先端から 350 μm に集積された直径 50 μm のマイクロ LED の温度上昇に対するプロープ幅依存性

プローブ厚さ 100 μm , 幅 100 μm の LED プローブと比較すると, プローブ体積が大きいデバイスの方は温度上昇が小さい結果となった. 多少であるが, 厚さが大きいデバイスの方がより温度上昇が低いことが確認できた. またプローブ厚さ 300 μm , 幅 100 μm の LED をデューティ比 5 % で駆動したときの温度上昇が 1 $^{\circ}\text{C}$ 程度に抑制できているが確認された. これらの結果から, 機械刺激を抑制するためにプローブ体積が小さいデバイスを開発できたとしても, 熱刺激が抑制できなくなることが明らかとなった. これらの結果より, 今後プローブの厚さや幅を変更した場合や, より大きな光出力を必要とした場合の温度上昇が予測可能となった. プローブの体積に関しては, それぞれを脳に対して刺入した時の機械刺激を評価して最適な形状に設定する必要がある. また, 生体保護膜として成膜するパリレン C の比熱は約 0.7 kJ/(kg \cdot K), 熱伝導率は約 0.08 W/(m \cdot K) のである. 熱伝導率を Si の 168 W/(m \cdot K) や Au の 319 W/(m \cdot K) と比較すると熱が伝わりにくい性質であることがわかる. こういったことから, パリレンの膜厚を厚くすることによっても脳組織に伝わる熱を抑制できる可能性がある. 現状では, 膜厚 1 μm を想定しているが, 今後は膜厚を厚くして発熱特性を調査することで最適な膜厚を設定するなどの工夫が必要であると考えられる. 体積の小さいマイクロ LED プローブでは温度上昇が大きいため, 第 3 章で述べたような LED の発光効率や光の取り出し効率を向上することで発生する熱を抑制するようなデバイス技術が必要となる.

4.4 サーモグラフィを用いたマイクロ LED 神経プローブの 脳内温度上昇

信頼性の高い動物実験を行うためには, 脳へのダメージや意図しない熱刺激を避けることが重要である. マイクロ LED プローブ近傍の空気中および脳組織の温度上昇は, 図 4.9 に示すサーモグラフィ評価システム (FLIR A325sc, FLIR, Oregon, U.S.) を用いて評価した. 脳内温度を測定する際には, 抽出した脳を AI ブロック/温度制御板上に設置した. マイクロ LED プローブはマニピュレータに固定され, マニピュレータを調整することで脳内にスムーズに刺入した. なお, サーモグラフィは表面温度のみを測定するため, 空気中の測定ではマイクロ LED プローブの表面温度を観測したが, 脳内測定では脳表面温度を観測した. 脳組織の温度減衰を避けるため, マイクロ LED プローブは脳組織の端から 50 μm の位置に刺入されている. LED プローブを脳の端から遠くに刺入した場合, 表面温度はわずかに低下したが, 大きな変化は見られなかった. このことから, マイクロ LED 近傍の脳組織の温度を効果的に評価できることがわかった.

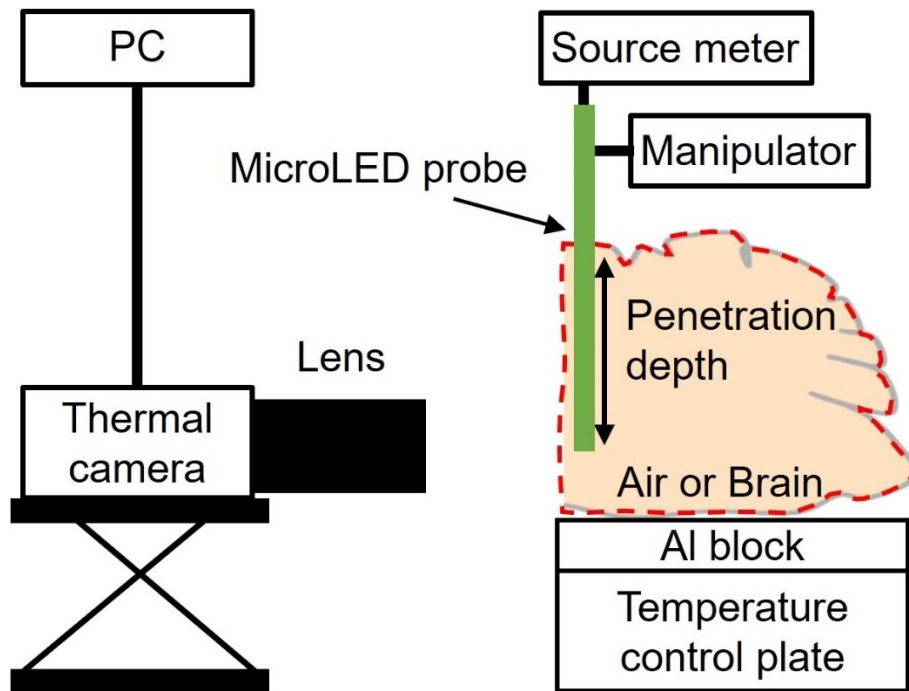


図4.9 サーモグラフィを用いて温度コントローラ上に設置されたマウスから取り出された脳端から $50\text{ }\mu\text{m}$ への刺入時及び大気中におけるマイクロLEDプローブの温度評価システムの測定系 (参考文献[1]より許可を得て転載)

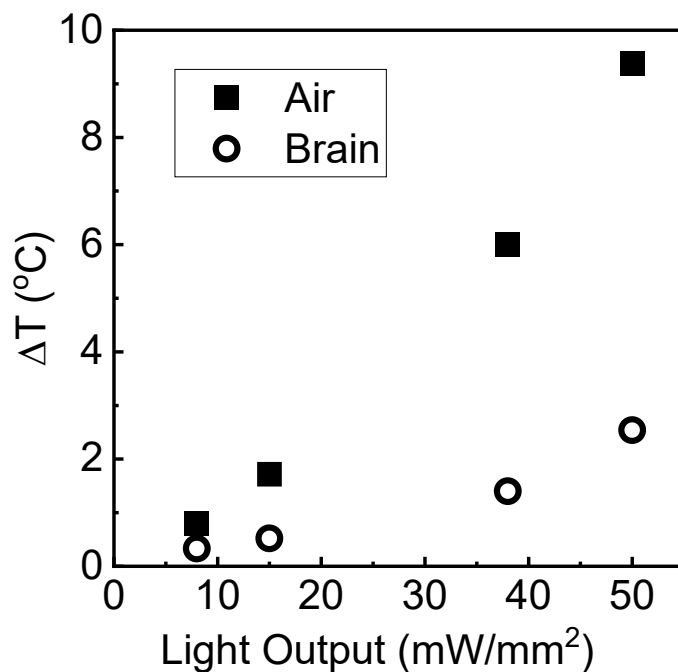


図 4.10 サーモグラフィを用いて温度コントローラ上に設置されたマウスから取り出された脳及び大気中におけるマイクロLEDプローブ先端から $850\text{ }\mu\text{m}$ に集積された直径 $50\text{ }\mu\text{m}$ のマイクロLEDの光出力に対する温度上昇

図 4.10 は, 空気中と脳内の温度上昇を光出力依存性として示したものである. マイクロ LED プローブは, 深さ 1.8 mm まで脳組織に刺入した. この深さは, 光遺伝学実験で海馬の CA3 を光刺激することをターゲットとした. マイクロ LED は先端から 0.2 Hz, デューティ比 0.5 で駆動させた. ピーク光出力は 8mW/mm² から 50 mW/mm² まで変化させた. これは電流が 0.5 mA から 4.4 mA に変化したことに対応している. 電流の増加に伴い, 効率低下により外部量子効率も低下した. 温度上昇 ΔT はいずれも光出力の増加とともに単調に増加したが, 脳内の温度上昇 ΔT は空気中の約 1/3 であり, これは放熱の差に起因すると考えられる. 温度変化の原因が放熱であることを確認するために, 図 4.11 に示すように, マイクロ LED を 1 秒駆動したときの温度の時間変化を評価した. 発熱過程と冷却過程における時間的溫度曲線[9]は, 次のように表すことができる.

$$\Delta T(t) = T_s \left(1 - \exp \left(-\frac{t}{\tau_{th_on}} \right) \right) \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot (4.1)$$

$$\Delta T(t) = T_s \exp \left(-\frac{t}{\tau_{th_off}} \right) \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot (4.2)$$

ここで, T_s , τ_{th_on} , τ_{th_off} はそれぞれ発熱過程と冷却過程での飽和温度, 熱時定数である. 時間的な温度曲線は, これらの式によく適合していた. 推定された τ_{th} は両工程でほぼ同じ値を示し, フィッティング法の妥当性が確認された. 空気中の推定 τ_{th} は 135 msec から 140 msec であったのに対し, 脳組織中の τ_{th_on} は 500 msec であった. このことから, プローブが脳組織に接触した際に放熱パラメータが変化し, 温度が増加したことが示唆された. τ_{th} は熱容量と熱抵抗の積として計算される. 熱抵抗と熱容量の値は, 空気中と脳組織中で大きく異なるため, 熱時定数が変化するのはこのためである[10, 11]. しかし, 放熱パラメータは, 熱を伝える物質だけでなく, 脳組織との接触面積, すなわち測定環境にも依存する.

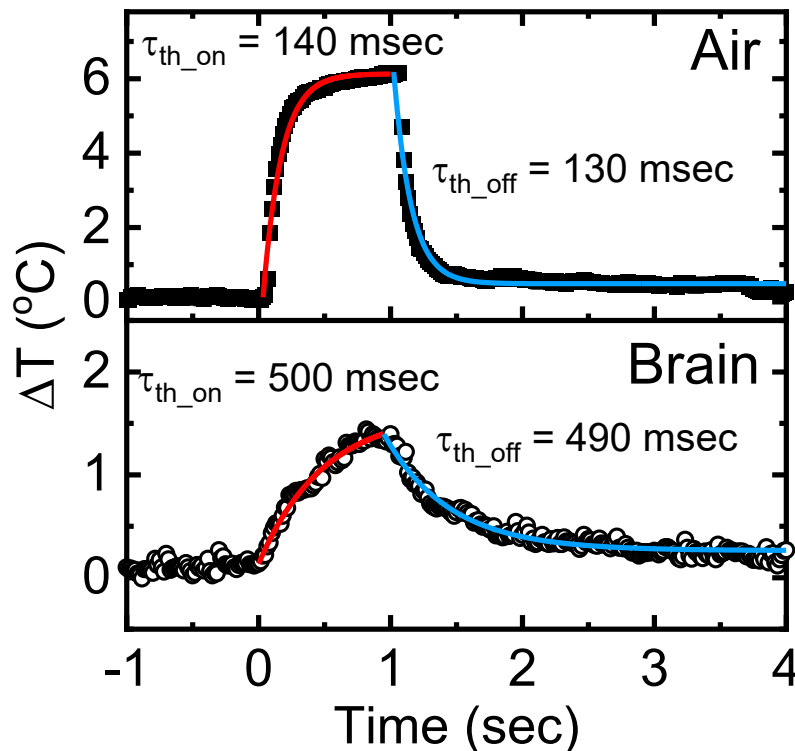


図 4.11 サーモグラフィを用いてマイクロ LED プローブ先端から $850\text{ }\mu\text{m}$ に集積された直径 $50\text{ }\mu\text{m}$ のマイクロ LED を大気 (上図) および脳内 (下図) で 1 秒間駆動させた時の温度上昇 (参考文献[1]より許可を得て転載)

そこで、脳組織との接触面積が LED の温度上昇に及ぼす影響を調べるため、図 4.12 に示すように、マニピュレータの高さを変え、プローブの刺入深さを 1.0 mm から 2.5 mm に変化させたときの脳組織の温度上昇を評価した。図 4.12 は、温度上昇 ΔT と τ_{th} を刺入深さ依存性として示したものである。刺入深さの増加に伴い、温度上昇は $3.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ から $1.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ に減少し、 τ_{th} は 280 msec から 540 msec に増加した。このことは、測定環境に応じて放熱パラメータを容易に変更できることを示唆している。対象となる神経科学の研究ごとに必要なプローブの設計や刺入深さは大きく異なる。同じ特性のマイクロ LED を組み込んだ神経プローブが開発されたとしても、脳の部位によって LED 駆動による温度は変化する。したがって、マイクロ LED プローブを有効に活用するためには、脳組織における脳内モニタリングが重要である。

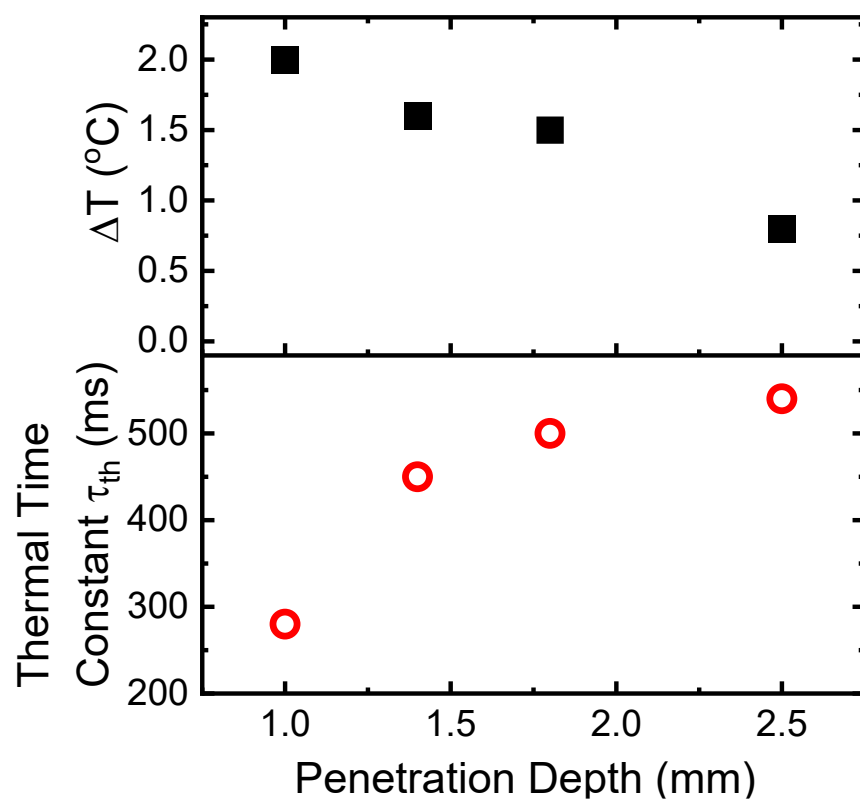


図 4.12 サーモグラフィを用いてマイクロ LED プローブ先端から $850\ \mu\text{m}$ に集積された直径 $50\ \mu\text{m}$ のマイクロ LED を異なる刺入深さへと刺入した時の温度上昇及び熱時定数 (参考文献[1]より許可を得て転載)

4.5 マイクロ LED の温度特性を利用した脳内温度モニタリング

マイクロ LED プローブの T をモニターするために、LED の温度特性に着目した。LED の順方向電圧の理論的な温度依存性[12]は、以下のように表すことができる。

$$\frac{dV}{dT} = \frac{qV - E_g}{qT} + \frac{1}{q} \frac{dE_g}{dT} - \frac{3k}{q} \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot (4.3)$$

ここで、 V は電圧、 E_g はバンドギャップエネルギー、 q は素電荷、 k はボルツマン定数、 T は温度である。この傾きの値は、室温に近い温度では一定である。そこで、開発したプローブと一体化したマイクロ LED の順方向電圧の周囲温度依存性を調べたところ、順方向電圧の周囲温度依存性は、室温付近で一定であった (図 4.13)。この測定では、自己発熱の影響を避けるため、ソースメータを用いて、パルス幅 5 ms、デューティ比 1% のパルス電流により、マイクロ LED を 0.5 mA から 4.4 mA に制御した。図 4.14(a) は、周囲温度の関数としての順方向電圧である。この結果から、温度係数 dV/dT は -3.4 mV/K となり、先行研究[13-15] よりも若干大きくなったが、これは成長技術の進歩によるアクセプタの活性化率向上により p-GaN の抵抗値が低下したためと考えられる。脳内温度評価に先立ち、時間的な電圧変化 ΔV を測定することにより、大気中の温度上昇を推定した。図 4.14(b) に示すように、大気中でマイクロ LED を 4.4 mA (50 mW/mm²) で 1 秒間駆動したときの電圧変化 (ΔV) を用いて、温度上昇を推定した。 V は接合部温度の上昇に伴い指数関数的に減少した。図 4.14(b) の結果から推定した温度曲線は、式(1) によく一致した。温度上昇は約 8 °C であり、図 4.11 の結果と一致した。このことは、本手法が温度モニタリングに有効であることを示している。

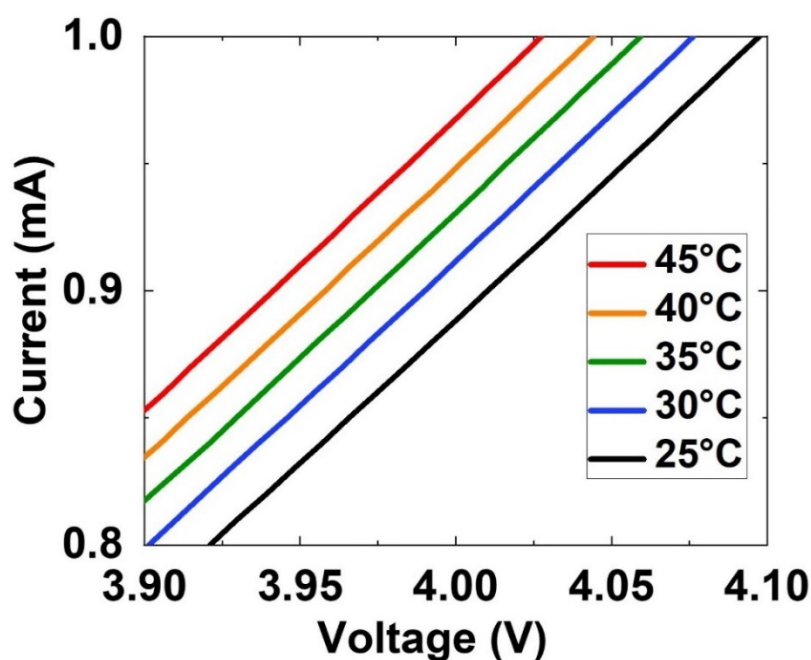


図 4.13 マイクロ LED プロープ先端から $850\ \mu\text{m}$ に集積された直径 $50\ \mu\text{m}$ のマイクロ LED を大気中で温度コントローラとサーモグラフィにより $25\ ^\circ\text{C}$ から $45\ ^\circ\text{C}$ に設定した際の電流－電圧特性

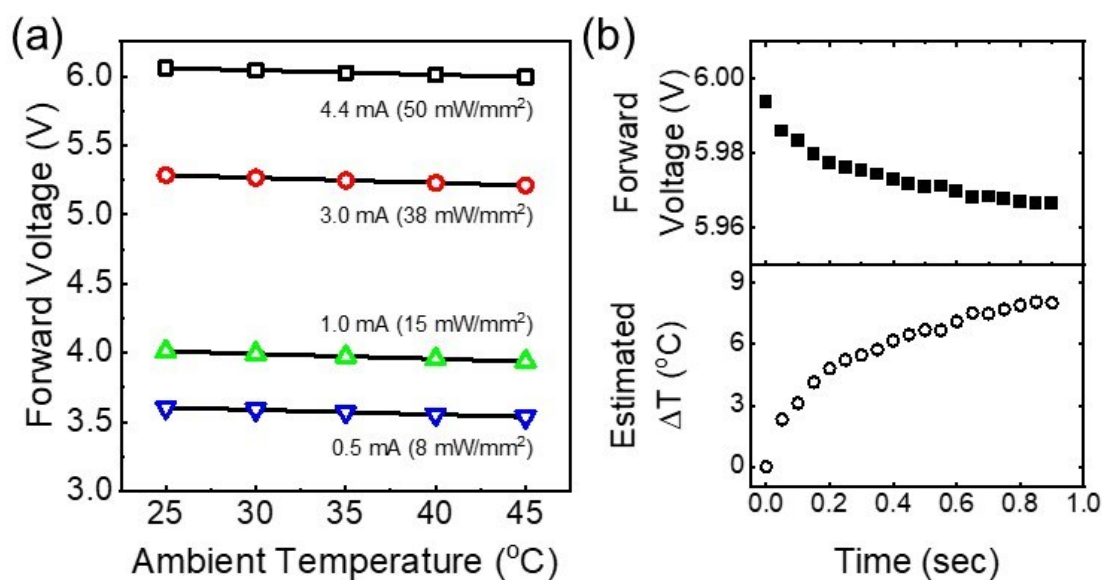


図 4.14 (a) 大気中でマイクロ LED プロープの環境温度を上昇させた時の先端から $850\ \mu\text{m}$ に集積された直径 $50\ \mu\text{m}$ のマイクロ LED を $0.5\ \text{mA}$ から $4.4\ \text{mA}$ で電流駆動させた時の電圧シフト (b) 大気中でマイクロ LED を $4.4\ \text{mA}$ ($50\ \text{mW/mm}^2$) で 1 秒間駆動したときの電圧変化 (上図) と電圧シフトから見積もられた温度上昇の関係 (下図) (参考文献[1]より許可を得て転載)

そこで、この方法を脳内の温度モニタリングに利用することを検討した。しかし、ソースメータで電流が一定になるよう駆動すると、熱時定数が遅いため、電圧が大きく変動した。これは LED プローブに起因する問題ではなく、制御系に起因するものであった。LED の温度特性を利用した温度モニターの実現性を確認するためには、定電流制御で dV/dT として温度上昇を推定する必要があるが、ここでは、電圧固定での電流変化から温度上昇を推定することにした。図 4.15 に示すように、電圧固定での電流は周囲温度に対して線形に増加することがわかった。しかし、定電流で得られる dV/dT とは異なり、 dI/dT は電圧に依存してわずかに変化することがわかった。この実験で測定すべき温度上昇は低く、電流は 1%以上変化しないはずなので、 dI/dT を用いれば温度上昇を推定できるはずである。このような理解のもと、LED を用いた温度モニタリングの可能性を検討するため、プローブを脳内に刺入した。脳への刺入深さは図 4.10 に対応する実験と同様に 1.8 mm であった。図 4.16 は、脳内の飽和温度の光出力依存性を示している。電流によって dI/dT の値を変化させて推定した温度上昇は、光出力が 8 mW/mm^2 から 40 mW/mm^2 まで増加すると 0.5°C から 2.2°C まで単調に増加することが確認された。温度上昇は図 4.10 の結果と比較的一致しており、LED を用いた脳内温度モニタリングの可能性が示された。光出力 8 mW/mm^2 から 15 mW/mm^2 では温度上昇がおよそ 1°C 以下に抑えられたのに対し、光出力 40 mW/mm^2 では 2°C 以上の温度上昇を誘発し、脳への熱刺激とそれによる脳障害が懸念されることがわかった。

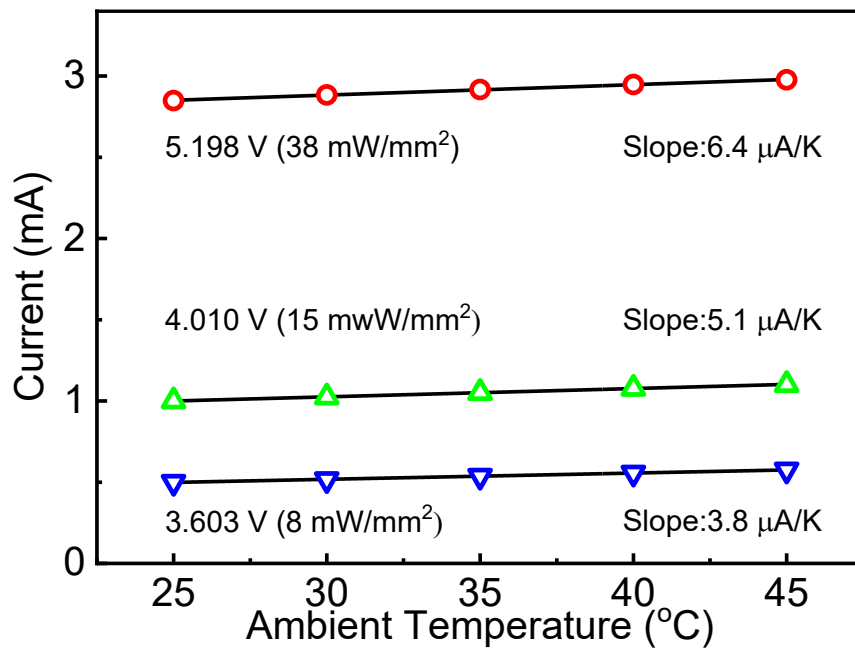


図 4.15 大気中でマイクロ LED プローブの環境温度を上昇させた時の先端から 850 μm に集積された直径 50 μm のマイクロ LED を電圧駆動させた時の電流シフト (参考文献[1]より許可を得て転載)

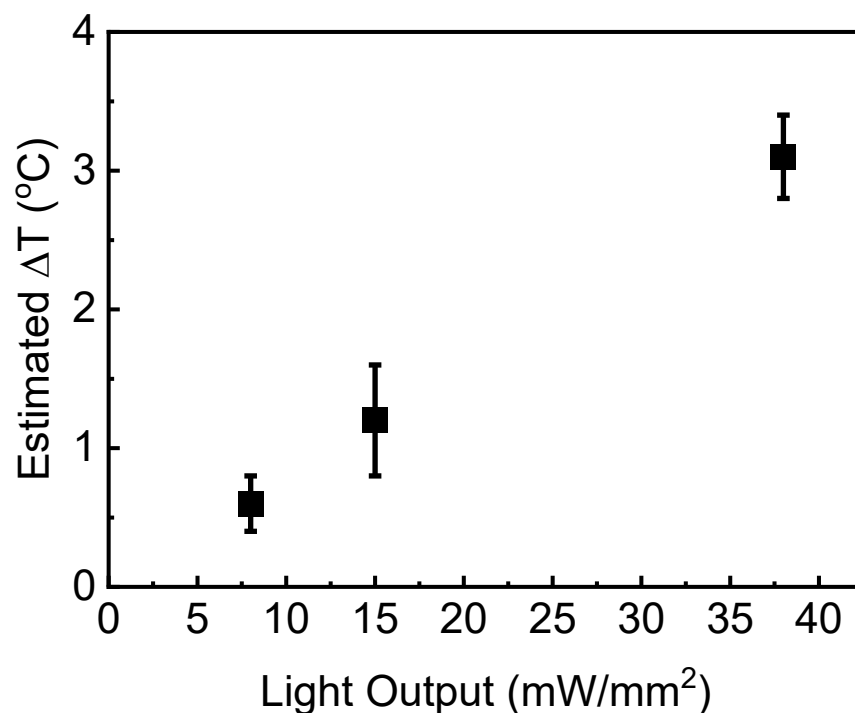


図 4.16 大気中でマイクロ LED プローブの環境温度を上昇させた時の先端から 850 μm に集積された直径 50 μm のマイクロ LED を光出力 8 mW/mm², 15 mW/mm², 38 mW/mm² で電圧駆動させた時に見積もられた温度上昇 (参考文献[1]より許可を得て転載)

4.6 結言

本研究では、神経科学研究においてマイクロ LED プローブを有効に活用するために、脳内における発熱とその影響を解析した。マイクロ LED の温度上昇は、周囲の環境に対応した放熱パラメータを変化させることで決定した。脳内では大気中と比較して温度上昇が減少する一方、脳組織に触れるプローブ面積が減少すると、刺入深度の変化により温度上昇が増加することが確認した。このことから、動物実験中に温度上昇を事前に知ることは困難であることが示唆された。そこで、マイクロ LED の電気特性の温度依存性を用いて、脳内温度モニタリングの可能性を検討した。その結果、順方向電圧は温度に線形に依存することが確認した。得られた dV/dT (定電流) または dI/dT (定電圧) の値を用いて、空気中および脳内の時間的变化に対する温度上昇を推定したところ、サーモグラフィの観測結果と一致した。マイクロ LED を用いた脳内温度モニタリングによりマイクロ LED プローブ駆動時の温度上昇を評価可能となった。

参考文献

- [1] H. Yasunaga, H. Takeuchi, K. Mizuguchi, A. Nishikawa, A. Loesing, M. Ishikawa, C. Kamiyoshihara, S. Setogawa, N. Ohkawa, and H. Sekiguchi, "MicroLED neural probe for effective in vivo optogenetic stimulation", *Opt. Express* **30**, 40292-40305 (2022).
- [2] E. Stark, T. Koos, and G. Buzsaki, "Diode probes for spatiotemporal optical control of multiple neurons in freely moving animals", *J. Neurophysiol.* **108**, 349-363 (2012).
- [3] N. Grossman, V. Poher, M. S. Grubb, G. T. Kennedy, K. Nikolic, B. McGovern, R. B. Palmieri, Z. Gong, E. M. Drakakis, M. A. A. Neil, M. D. Dawson, J. Burrone, and P. Degenaar, "Multi-site optical excitation using ChR2 and micro-LED array", *J. Neural Eng.* **7**, 1-13 (2010).
- [4] H. Yasunaga, T. Takagi, D. Shinko, Y. Nakayama, Y. Takeuchi, A. Nishikawa, A. Loesing, M. Ohsawa, and H. Sekiguchi, "Development of a neural probe integrated with high-efficiency MicroLEDs for in vivo application", *Jpn. J. Appl. Phys.* **60**, 016503-1 - 016503-5 (2020).
- [5] N. McAlinden, D. Massoubre, E. Richardson, E. Gu, S. Sakata, M. D. Dawson, and K. Mathieson, "Thermal and optical characterization of micro-LED probes for in vivo optogenetic neural stimulation", *Opt. Lett.* **38**, 992-994 (2013).
- [6] R. Scharf, T. Tsunematsu, N. McAlinden, M. D. Dawson, S. Sakata, and K. Mathieson, "Depth-specific optogenetic control in vivo with a scalable, high-density μ LED neural probe", *Sci. Rep.* **6**, 1-10 (2016).
- [7] F. Wu, E. Stark, P. C. Ku, K. D. Wise, G. Buzsáki, and E. Yoon, "Monolithically Integrated μ LEDs on Silicon Neural Probes for High-Resolution Optogenetic Studies in Behaving Animals", *Neuron* **88**, 1136-1148 (2015).
- [8] M. F. Bear, 神経科学” (2007).
- [9] Q. Shan, Q. Dai, S. Chhajed, J. Cho, and E. F. Schubert, "Analysis of thermal properties of GaInN light-emitting diodes and laser diodes", *J. Appl. Phys.* **108**, 084504-1 - 084504-8 (2010).
- [10] N. Dong, R. Berlinguer-Palmieri, A. Soltan, N. Ponon, A. O'Neil, A. Travehyan, P. Maaskant, P. Degenaar, and X. Sun, "Opto-electro-thermal optimization of photonic probes for optogenetic neural stimulation", *J. Biophotonics* **11**, 1-17 (2018).
- [11] M. M. Elwassif, Q. Kong, M. Vazquez, and M. Bikson, "Bio-heat transfer model of deep brain stimulation induced temperature changes", *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Proc.* **3**, 3580-3583 (2006).

- [12]F. Dehkhoda, A. Soltan, N. Ponon, A. Jackson, A. O'Neill, and P. Degenaar, "Self-sensing of temperature rises on light emitting diode based optrodes", J. Neural Eng. **15**, 1-11 (2018).
- [13]Y. Xi and E. F. Schubert, "Junction-temperature measurement in GaN ultraviolet light-emitting diodes using diode forward voltage method", Appl. Phys. Lett. **85**, 2163-2165 (2004).
- [14]D. S. Meyaard, J. Cho, E. Fred Schubert, S. H. Han, M. H. Kim, and C. Sone, "Analysis of the temperature dependence of the forward voltage characteristics of GaInN light-emitting diodes", Appl. Phys. Lett. **103**, 121103-1 - 121103-4 (2013).
- [15]Y. Xi, T. Gessmann, J. Xi, J. K. Kim, J. M. Shah, E. Fred Schubert, A. J. Fischer, M. H. Crawford, K. H. A. Bogart, and A. A. Allerman, "Junction temperature in ultraviolet light-emitting diodes", Jpn. J. Appl. Physics **44**, 7260-7266 (2005).

第5章 マイクロ LED プローブによる効果的な *in vivo* 光刺激

5.1 緒言

本章では、第2章で述べたマイクロ作製したマイクロ LED プローブが実際に光遺伝学に応用できるかどうかを実証するために、ChR2 を発現させて黄色蛍光タンパク質を導入したマウス (ChR2-EYFP マウス) と発現させずに EYFP のみを導入したマウス (EYFP マウス) をそれぞれ用いてマイクロ LED プローブと記録電極を刺入して局所フィールド電位(LFP)の記録実験を行ったので、その詳細について述べる。

5.2 脳内光刺激のための遺伝子改変マウス

マイクロ LED を用いた効果的な光刺激を、動物実験によって確認した。すべての動物実験は、獨協医科大学動物愛護委員会の承認を受け、米国国立衛生研究所のガイドラインに準拠して実施した。この実験では、ネイティブの雄マウス C57BL6/J (Japan SLC, Inc., Shizuoka) を使用した。すべてのマウスは、 $24 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、 $55 \pm 5\%$ の湿度で12時間の明暗サイクル (午前7時～午後7時点灯) で維持し、餌と水を自由に摂取できるようにし、手術まで同腹の仲間とケージで飼育した。

マウスをイソフルラン (5%) とペントバルビタール溶液の過量投与で深く麻酔し、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS, pH7.4) で灌流し、その後 PBS 中の4%パラホルムアルデヒドで灌流した。脳を取り出し、さらに PBS 中の4%パラホルムアルデヒドに 4°C で24時間浸漬して後固定した。各脳を PBS 中30%スクロースで平衡化し、ドライアイスパウダーで凍結した。厚さ $30\ \mu\text{m}$ の冠状切片をクリオスタット上で切断し、PBS を含む12ウェル細胞培養プレート (Corning, Corning, U.S.) に移した。PBS で洗浄後、浮遊切片を 4',6-Diamidine-2'-phenylindole dihydrochloride, (DAPI) ($1\ \mu\text{g}/\text{ml}$, Roche Diagnostics, 10236276001) で処理し、PBSO で3回 (10 min/wash) 洗浄をした。切片は ProLong antifade reagents (Invitrogen) を用いてスライドガラスにマウントした。画像は、Plan-Apochromat 20 \times , 0.8 numerical aperture, 対物レンズを搭載した Zeiss LSM 780 共焦点顕微鏡を使用して取得した。

5.3 脳内に埋め込んだマイクロ LED プローブによる光刺激

第3章で作製したマイクロ LED プローブを用いて LFP の記録実験を行った。温度上昇を 2 °C 以下に抑えたいため、電流注入量は第4章で明らかになった脳内の温度上昇が 2 °C 以下になる条件下である電流 1.0 mA 以下の電流範囲とした。マイクロ LED の光出力と光遺伝学的効果の相関を *in vivo* で評価するために、マウス海馬の CA3-CA1 回路における光遺伝学的刺激を実施した。この実験では、AAV9-CaMKII::ChR2 (T159C)-EYFP または AAV9-CaMKII::EYFP を注入した2種類のマウスを準備した。CA3 領域の主ニューロンは対側 CA1 錐体ニューロンへ交連軸索線維を送るため、図 5.1 に示すように、ChR2 発現 CA3 および対側 CA1 にそれぞれ光刺激用マイクロ LED プローブおよび LFP 記録用タングステン電極を設置した。この系では、光刺激により CA3 ニューロンが活性化され、その後、光パルス依存的に対側 CA1 の LFP の周波数成分が変化することが予想される。

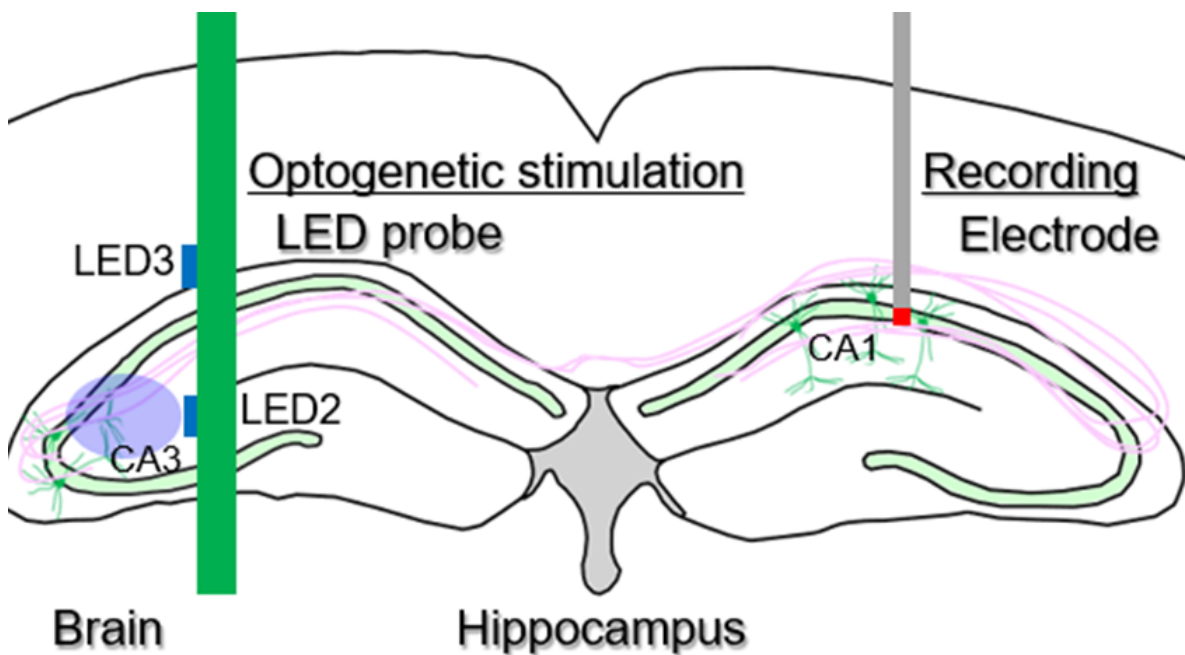


図 5.1 CA3 に刺入した光刺激用マイクロ LED プローブと CA1 に刺入した LFP 記録用タングステン電極のマウスの脳内における位置関係 (参考文献[2]より許可を得て転載)

5.3.1 蛍光顕微鏡を用いた遺伝子発現の確認

実験に用いたマウスの CA3 領域と対側 CA1 領域における ChR2 の発現を組織

学的に検証した．光応答タンパク質 ChR2 の発現は，ウイルスベクターを採用しているため，導入に対して想定通りに ChR2 が発現しているかは動物実験後に確認する必要がある．そのため，LFP 記録実験後，マウスに対して染色を行った．ChR2 発現領域を染色によって可視化したものを図 5.2 に示す．緑色に染色したものが ChR2 によって反応した神経細胞で，青色は細胞核を染色している．この結果から，CA3 領域で ChR2 が発現し，CA3 ニューロンの軸索が対側 CA1 領域まで伸びていることが確認された．従って，マイクロ LED プローブの光刺激によって神経細胞が反応していることが確認できた．

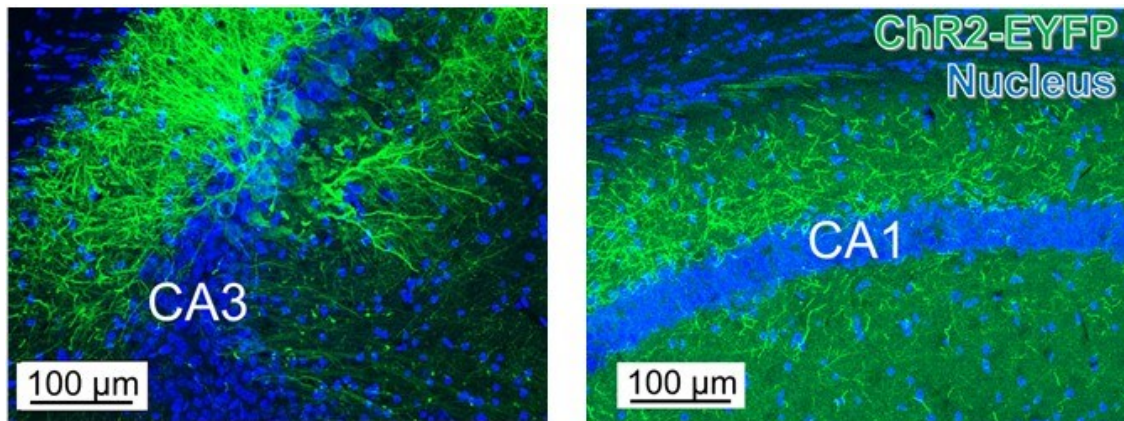


図 5.2 マウスの CA3 領域 (同図左) と対側 CA1 領域 (同図右) における ChR2 発現の蛍光顕微鏡像 (参考文献[2]より許可を得て転載)

5.3.2 マウスの CA3 領域の光遺伝学的刺激と CA1 からの局所電界電位 (LFP) の記録

マイクロ LED は，図 4.16 で示したように温度上昇 ΔT が 1°C 以下に相当する 8 mW/mm^2 (0.5 mA) の光出力で，周波数 4, 8, 20 Hz，デューティ比 0.5 で駆動させた．光刺激は，図 5.3 の上段に示すように，10 秒間行い，1 分間のインターバルをおいて 5 回繰り返した．図 5.3 に 8 mW/mm^2 ，20 Hz のパルス入力に対する LFP (Local Field Potential) の取得実験結果を示す．図 5.3 中段は入力波形に対する ChR2-EYFP マウスと EYFP マウスの脳波を測定したものである．また，記録した LFP が熱刺激や電気刺激による反応でないことを明らかにするため，ChR2 を発現させずに黄色蛍光タンパク質を導入したマウス (EYFP マウス) に対しても同様の記録実験を行った．図 5.4 はその脳波をスペクトル解析することで，入力した周波数帯域でマウスが応答しているかを観測したものである． 0.5 mA ，20 Hz のパルス入力に対する ChR2 マウスと EYFP マウスそれぞれに

における ChR2-EYFP マウスと EYFP マウスの 20 Hz 帯のパワースペクトル密度を図 5.5 に示す. 図 5.5 上段の ChR2 マウスではパワースペクトル密度が顕著に現れているのに対して図 5.5 下段の EYFP マウスではパワースペクトル密度が見られないことが確認できた. これらの結果から, 脳内の発熱が 1°C 以下になる条件下において光刺激による LFP を観測することが確認できた.

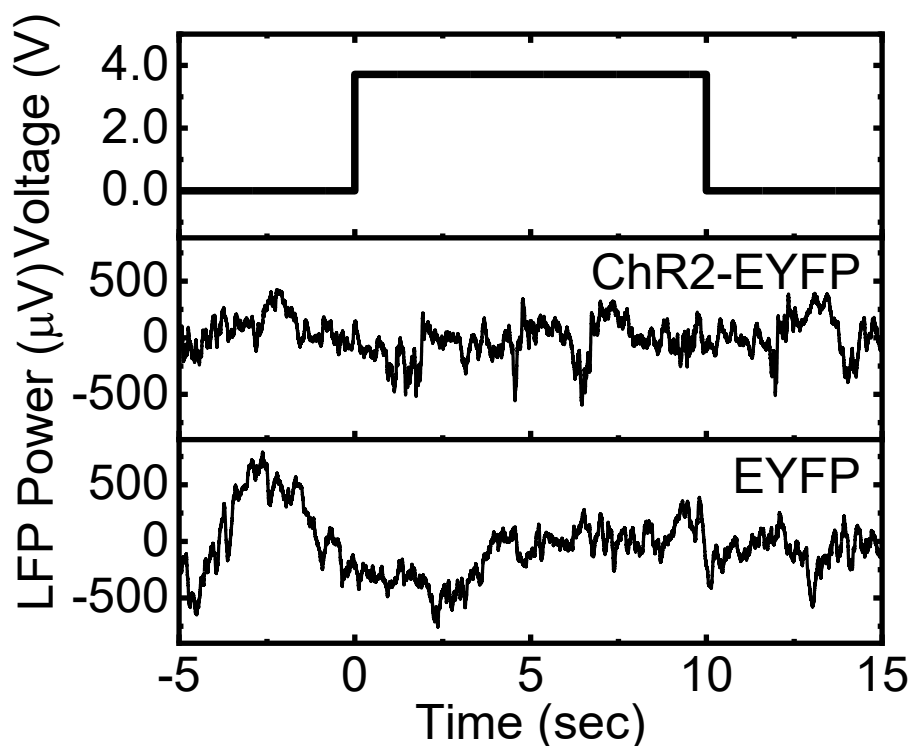


図 5.3 マイクロ LED プローブを印加電圧 3.6 V, 駆動周波数 20 Hz で光刺激させた時のパルス電圧 (上図) と ChR2-EYFP マウス (中図) と EYFP マウス (下図) に対する LFP (Local Field Potential)

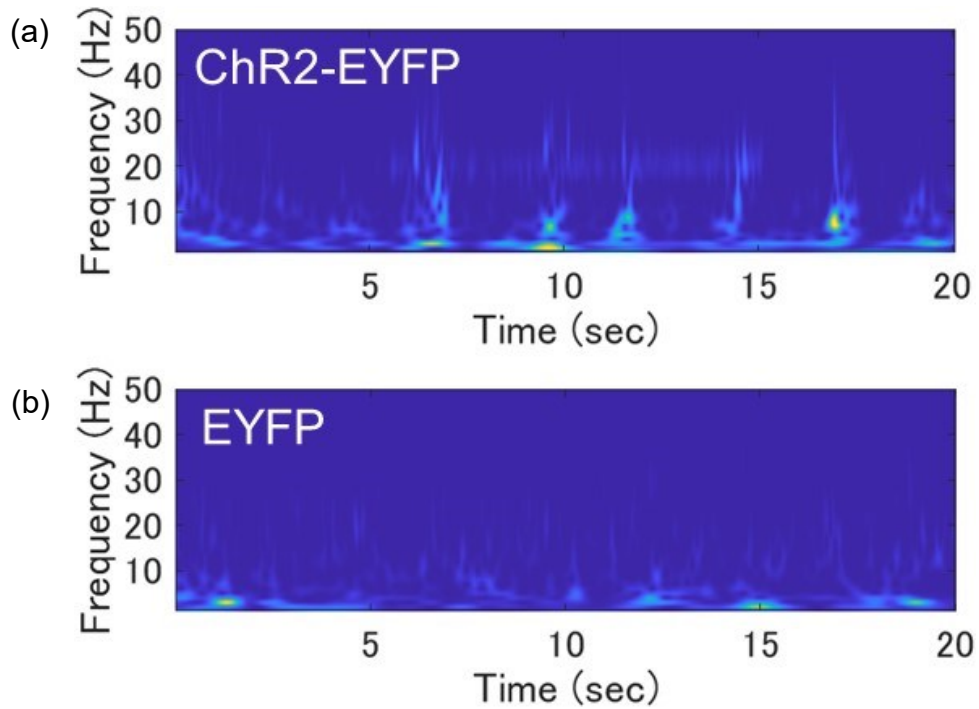


図 5.4 マイクロ LED プローブを脳内で 20 Hz のパルス電圧で駆動させた時の LFP の FFT 解析 (a) ChR2-EYFP の高速フーリエ変換 (b) EYFP マウスの高速フーリエ変換

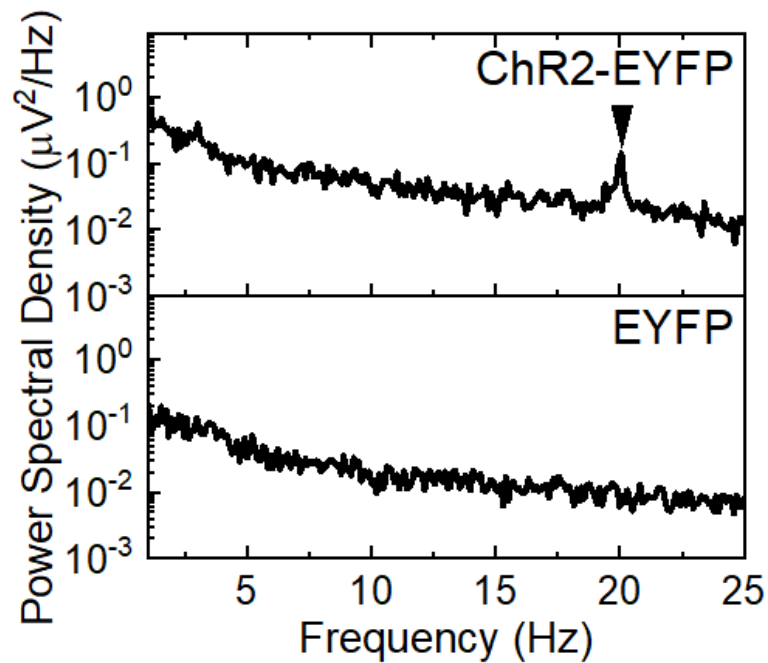


図 5.5 マイクロ LED プローブを脳内で 20 Hz のパルス電圧で駆動させた時の ChR2-EYFP マウスと EYFP マウスの LFP プロファイルの高速フーリエ変換

次に、LFP 観測がパルス入力周波数 20 Hz 帯のみで起きる特異的なものでないことを明らかにするため、周波数を 8 Hz にして同様に LFP を記録した。その結果としてスペクトル解析したものを図 5.6 に示す。8 Hz 帯においても LFP が観測された。これらの結果から、光刺激のみで ChR2-EYFP マウスが活性化する周波数帯において LFP を記録することが確認できた。

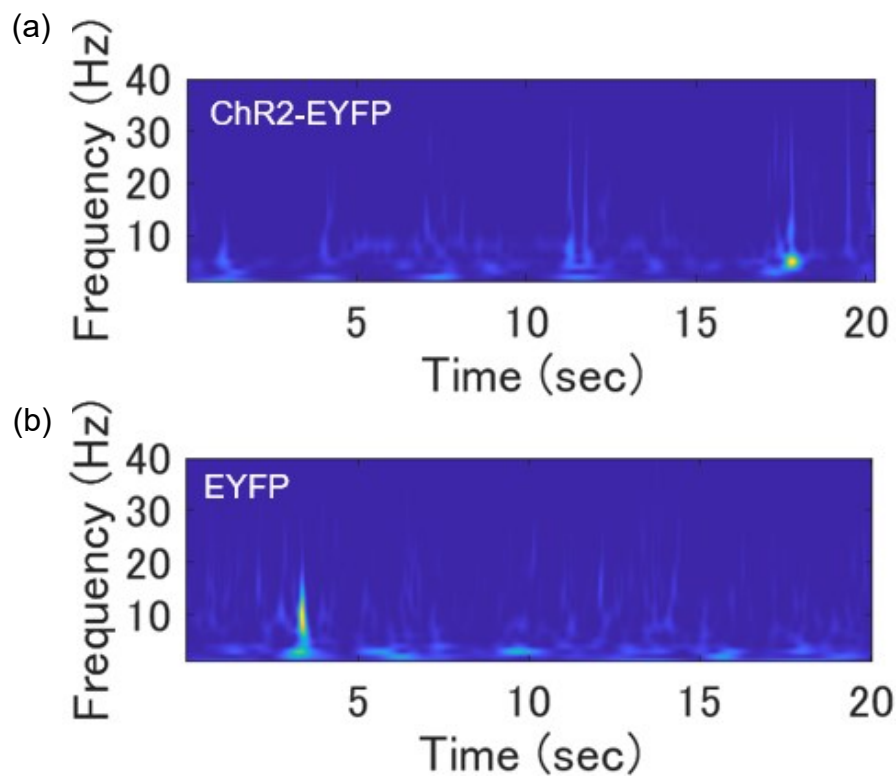


図 5.6 マイクロ LED プローブを脳内で 8 Hz のパルス電圧で駆動させた時の LFP の高速フーリエ変換 (a) ChR2-EYFP の高速フーリエ変換 (b) EYFP マウスの高速フーリエ変換

ChR2-EYFP マウスにおいて ChR2-EYFP 発現領域外からの影響がないかどうか確認を行った。前述した CA3 領域から 500 μm 脳表方向に離れた部位でマイクロ LED を駆動させた場合の FFT の結果を図 5.7 に示す。このことから、作製した LED による光刺激が局所刺激性を持つことが確認できた。

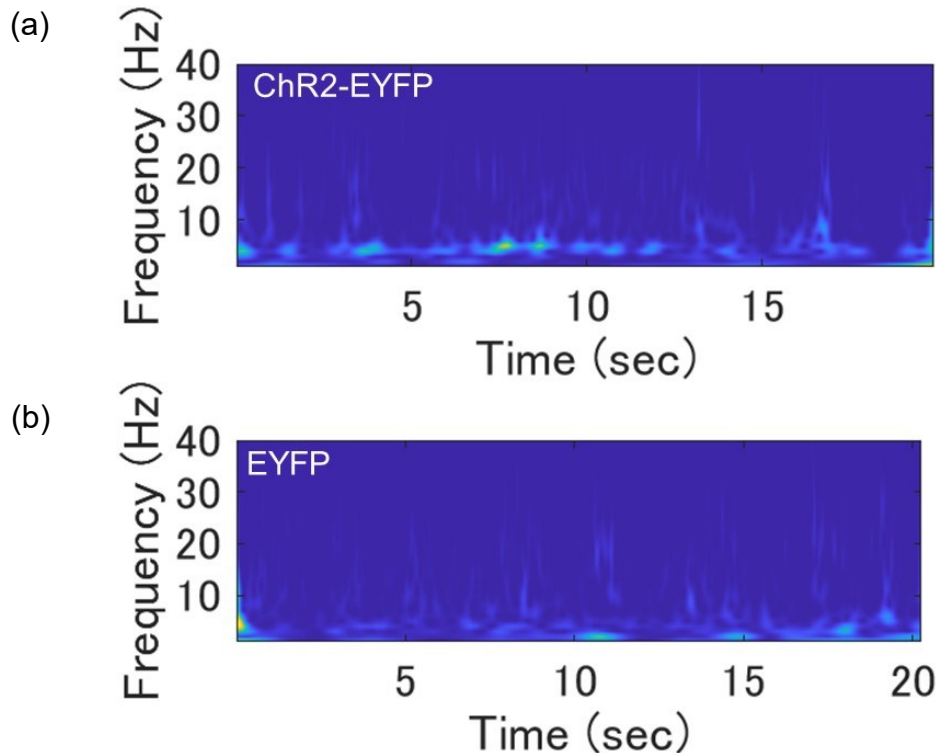


図 5.7 マイクロ LED プローブを脳内で 20 Hz のパルス電圧で駆動させた時の ChR2-EYFP 発現領域とは異なる位置における高速フーリエ変換 (a) ChR2-EYFP の高速フーリエ変換 (b) EYFP マウスの高速フーリエ変換

5.4 マイクロ LED による効果的な光刺激

最後に、ChR2-EYFP マウスと EYFP マウスにおいて、光出力が LFP パワースペクトルに与える影響を調べた。光出力 8, 15, 40 mW/mm^2 で光刺激を行い、光刺激有りの時のパワースペクトル密度を光刺激無しの時の値で除算して、強度比を評価した。EYFP マウスでは、光刺激を行っても反応が得られず、強度比がほぼ 1 であった。一方、ChR2-EYFP マウスでは、図 5.8 に示すように、光刺激により高い増強比が得られた。光出力強度が 15 mW/mm^2 では 8 mW/mm^2 の光刺激に比べて LFP パワー密度が向上したが、光出力が 40 mW/mm^2 ではパワースペクトルの強度比が不安定になり、図 5.8 ではプロットが困難であった。図 4.16 に示すように、光出力 40 mW/mm^2 では温度が 3 $^{\circ}\text{C}$ 上昇することが予想され、光誘

発神経活動に対して明確な効果がある可能性が示唆された。したがって、この結果は、強い光強度が神経活動の光誘起の上昇に有効であることを示すものである。また、LED プローブで発生した熱の影響を受けていない効果的な光刺激であることを示している。これは、マイクロ LED プローブ技術により得られた結果であり、脳内埋込み可能なマイクロ LED プローブとしての有用性が実証されたことを示す。今後、より強い光出力で脳内埋込み実験を行う時は第3章で述べたように、より効率の良いマイクロ LED の開発をすることが、今後の新たな神経科学研究につながると考えられる。

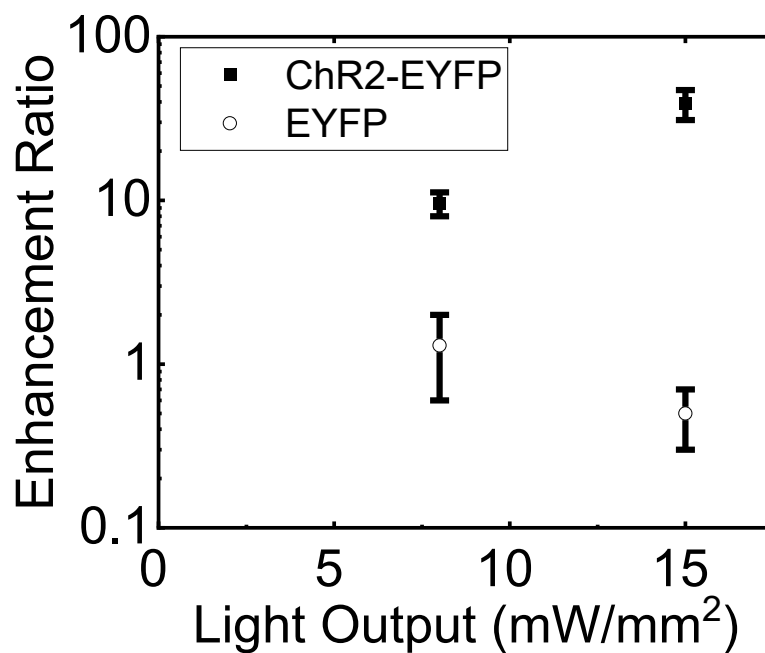


図 5.8 マイクロ LED プローブによる ChR2-EYFP マウスと EYFP マウスを光刺激した時の光出力 8 mW/mm² 及び 15 mW/mm² に対するパワースペクトルの強度比 (参考文献[2]より許可を得て転載)

5.5 結言

本章では、第4章で得られたマイクロ LED プローブの温度上昇が 2℃以下に相当する光出力の結果をもとに、マウスモデルを用いて光刺激の有効性を検討した。ChR2 が発現されたマウスを用いてマイクロ LED プローブと記録電極を刺入して局所フィールド電位 (LFP) の記録実験を行った。その結果、マイクロ LED プローブ駆動時の脳内の温度上昇が 2℃以下になる条件下において LFP を観測することが確認できた。また、ChR2 が発現されていないマウスに対して同様の記録実験を行うことで、熱刺激や電気刺激による反応でないことが明らかとなった。その結果、光出力が高いほど、光刺激による神経細胞が活性化されることを確認した。マイクロ LED プローブによる光刺激は神経活動の制御に有効であり、脳内埋め込み可能なマイクロ LED プローブ技術の確立をした。

参考文献

- [1] N. Oishi, M. Nomoto, N. Ohkawa, Y. Saitoh, Y. Sano, S. Tsujimura, H. Nishizono, M. Matsuo, S. I. Muramatsu, and K. Inokuchi, "Artificial association of memory events by optogenetic stimulation of hippocampal CA3 cell ensembles", *Mol. Brain* **12**, 1-10 (2019).
- [2] H. Yasunaga, H. Takeuchi, K. Mizuguchi, A. Nishikawa, A. Loesing, M. Ishikawa, C. Kamiyoshihara, S. Setogawa, N. Ohkawa, and H. Sekiguchi, "MicroLED neural probe for effective *in vivo* optogenetic stimulation", *Opt. Express* **30**, 40292-40305 (2022).

第6章 総括と今後の展望

第 1 章では神経細胞の操作技術の中でも選択的な多点刺激が可能な光刺激を中心に述べた。光刺激デバイスとして GaN 系材料からなる LED を針型構造に集積させた脳内埋込み型 LED プローブが有望である。脳内に埋込むためマイクロ LED から発生する熱が懸念されているが、マイクロ LED プローブ駆動時の脳内温度上昇を把握することはシミュレーションで行われていた。しかしながら、少なくとも大気中や熱シミュレーションに関する報告によると課題となりうる。これに関して、光出力を律速するのは LED の効率であることは事実であるが、それらの関連性は明らかになっていない。また、脳内埋込み可能とするためには脳内温度上昇を正確に把握する LED プローブ技術の確立が課題である。そこで、マイクロ LED を集積化させた高効率なマイクロ LED 神経プローブの作製技術を開発し、脳内埋め込み可能なマイクロ LED プローブ技術を確立、そこから効果的な光操作を実証することで脳内埋込み可能なマイクロ LED プローブ技術の確立を目的とした。

第 2 章では本研究において使用した GaN 系マイクロ LED プローブ作製に関する作製技術及び評価技術について述べた。第 3 章では光遺伝学的応用のために、6 個のマイクロ LED と 15 個の神経記録電極を集積した LED 神経プローブを作製した。マウスの皮質組織から LFP と神経スパイク信号の記録に成功した。次に、神経プローブに作製したマイクロ LED の特性を評価した。マイクロ LED は整合性の高い I-V 特性を示し、それぞれ約 20 mW/mm^2 の光出力、1 mA での外部量子効率は 1.4% と他 LED プローブと遜色ない特性であった。さらに、皮質組織内におけるマイクロ LED の光分布をシミュレーションし、光刺激面積と光刺激された神経細胞数を推定した。また、マイクロ LED の連続動作時の温度上昇を評価したところ、電流を 0.5 mA から 5 mA に増加させると、温度が 0.35°C から 5.2°C に上昇することが分かった。この結果をもとに、温度上昇とウォールプラグ効率の関係を定量化した。最後に、マイクロ LED 裏面に Ag ミラーを作製することで、ウォールプラグ効率を 1.8 倍に向上させることに成功した。第 4 章では神経科学研究においてマイクロ LED プローブを有効に活用するために、脳内における発熱を解析した。マイクロ LED の温度上昇は、周囲の環境に対応した放熱パラメータで変化することが明らかとなった。脳内では大気中と比較して温度が減少する一方、脳組織に触れるプローブ面積が減少すると、刺入深さの変化により温度が増加することを確認した。このことから、動物実験中の温度上昇を事前に知ることは困難であった。そこで、マイクロ LED の電気特性の温

度依存性を用いて、脳内温度モニタリングの可能性を検討した。その結果、順方向電圧は温度に線形に依存することが確認した。得られた dV/dT (定電流) または dI/dT (定電圧) の値を用いて、マイクロ LED の脳内温度モニタリングを実現した。第 5 章では上記の実験で得られた温度上昇の結果をもとに LED の温度上昇が 2°C 以内に抑制された範囲内の光出力を選択し、マウスモデルを用いて光遺伝学的刺激の有効性を検討した。その結果、光出力が高いほど光刺激による神経細胞活性化が抑制される駆動条件下で、光刺激による神経細胞の活性化が確認された。マイクロ LED による光刺激は神経活動の制御に有効であり、埋め込み可能なマイクロ LED プローブ技術の確立をした。

本研究で纏めた技術が脳神経ネットワーク解明に向けた光操作の基盤技術となり、より深い脳機能の理解・医療に発展していくことを期待する。一方で、マイクロ LED プローブにおける課題技術をいくつか見出すことが出来た。3.5 節で述べたように脳内でマイクロ LED を駆動させたときの光の指向性を制御することが、大多数の神経細胞を選択的に光刺激するための重要課題となる。そのため、フォトニック結晶形成技術やレンズ形成技術等をマイクロ LED へと適用することで指向性改善を行っていく必要がある。また、指向性改善を行うとともにマイクロ LED の微細化技術の開発が、高い選択的光刺激のためには求められると考えられる。マイクロ LED サイズとしては神経細胞の大きさが $10\text{ }\mu\text{m}$ 程度であることを考慮すると数 μm のサイズで高効率なマイクロ LED の検討が必要である。さらには、マイクロ LED プローブへのマイクロ LED の高密度集積に伴って配線技術の開拓が必要となる。脳内温度評価に関しては、マイクロ LED の微細化に伴って電氣的・光学的に安定な作製技術の開発かつ温度モニタリングの測定系の最適化が必要となる。

窒化物分野におけるマイクロ LED のさらなる集積技術の発展とともに、神経科学分野の進展へと向けた助けとなることを期待して、本論文の総括とする。

付録 A

表 A 神経電極一体型マイクロ LED プローブの作製プロセス

	工程	項目	条件	時間
1	ダイシング		20 mm 角	
2	洗浄	有機洗浄	アセトン	5 min
			メタノール	1 min
			DIW overflow	1 min
		SPM	H ₂ SO ₄ : H ₂ O ₂ =3 : 1 boiled (80 °C)	5 min
			DIW overflow	5 min
3	フォトリソ① メサエッチング	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		界面活性剤塗布 (OAP)	1st 500 rpm	5 sec
		レジスト塗布 (ip3100)	2nd 4000 rpm	20 sec
		プリベーク	90 °C	90 sec
		露光 (30 mW)	Soft, 40 μm, TSA	7 sec
		ベーク	110 °C	90 sec
		現像	NMD-3	10 sec
			DIW overflow	1 min
		ポストベーク	150 °C	5 min
4	メサエッチング	背圧 Ar gas flow Cl ₂ gas flow SiCl ₄ アンテナ RF バイアス RF プロセス時間	0.6 Pa 10 sccm 30 sccm 10 sccm 120 W 30 W 3 min	2 min 40 sec
5	レジスト除去	SPM	H ₂ SO ₄ : H ₂ O ₂ =3 : 1 boiled (80 °C)	10 min
			DIW overflow	5 min

6	フォトリソ② ITO 蒸着	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 500 rpm	5 sec
		AZ5214E 塗布	2nd 4000 rpm	30 sec
		プリベーク	120 °C	50 sec
		パターン露光	i-線フィルタ Soft, TSA	2.0 sec
		プリベーク	120°C	2 min
		全面露光	i-線フィルタ	40 sec
		現像	NMD-3	60 sec
			DIW overflow	1 min
7	EB 蒸着①	ITO 蒸着	200nm	
8	リフトオフ ITO	リフトオフ	アセトン	60 min
		洗浄	メタノール	1 min
		水洗い	DIW overflow	1 min
		超音波	超音波	50% , 2 min
9	アニール ITO	シンタ炉	400 °C	5 min
10	フォトリソ③ Ti/Au 配線蒸着	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 500 rpm	5 sec
		AZ5214E 塗布	2nd 4000 rpm	30 sec
		プリベーク	120 °C	50 sec
		パターン露光	i-線フィルタ Soft, TSA	2.0 sec
		プリベーク	120 °C	2 min
		全面露光	i-線フィルタ	40 sec
		現像	NMD-3	60 sec
			DIW overflow	1 min
11	EB 蒸着②	Ti / Au 蒸着	50/250 nm	

12	リフトオフ Ti / Au	リフトオフ 洗浄 水洗い 超音波	アセトン メタノール DIW overflow 超音波	60 min 1 min 1 min 50% , 2 min
13	SiO ₂ 堆積	PE-CVD		20 min
14	フォトリソ④ SiO ₂ エッチング	塗布前ベーク	150°C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 500 rpm	5 sec
		AZ5214E 塗布	2nd 4000 rpm	30 sec
		プリベーク	130 °C	90 sec
		プリベーク	120 °C	50 sec
		パターン露光	i-線フィルタ Soft, TSA	2 sec
		プリベーク	120 °C	2 min
		全面露光	i-線フィルタ	40 sec
		現像	NMD-3	60 sec
15	SiO ₂ エッチング	BHF	1 μm	180 sec
16	リフトオフ	リフトオフ 洗浄 水洗い 超音波	アセトン メタノール DIW overflow 超音波	30 min 5 min 1 min 50% , 2 min
17	フォトリソ⑤ LED 配線蒸着	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 1000 rpm	5 sec
		TCIR-ZR8800 塗布	2nd 4000 rpm	20 sec
		プリベーク	130 °C	90 sec
		露光 (30 mW)	フィルタ無, Hard	3 sec
		ベーク	110 °C	90 sec
		現像	NMD-3	1 min

			DIW overflow	1 min
		ポストバーク	110 °C	90 sec
18	EB 蒸着 ③ LED 配線蒸着	Ti/Au 蒸着	100 / 200 nm	
19	リフトオフ	リフトオフ 洗浄 水洗い 超音波	アセトン メタノール DIW overflow 超音波	60 min 1 min 1 min 50% , 2 min
20	フォトリソ⑥ n-GaN エッチング	塗布前バーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 1000 rpm	5 sec
		TCIR-ZR8800 塗布	2nd 4000 rpm	20 sec
		プリバーク	130 °C	90 sec
		露光 (30 mW)	フィルタ無, Hard	3 sec
		バーク	110 °C	90 sec
		現像	NMD-3	1 min
			DIW overflow	1 min
		ポストバーク	110 °C	90 sec
		クーリング		3 min
		OAP 塗布	1st 1000 rpm	5 sec
		TCIR-ZR8800 塗布	2nd 4000 rpm	20 sec
		プリバーク	130 °C	90 sec
		露光 (30 mW)	フィルタ無, Hard	3 sec
		バーク	110 °C	90 sec
		現像	NMD-3	1 min
			DIW overflow	1 min
		ポストバーク	110 °C	90 sec
21	n-GaN エッチング	背圧 Ar gas flow	0.6 Pa 10 sccm	35 min

	ICP-RIE	Cl ₂ gas flow SiCl ₄ アンテナ RF バイアス RF プロセス時間	30 sccm 10 sccm 120 W 30 W 3 min	
22	レジスト除去	リフトオフ 洗浄 水洗い 超音波	アセトン メタノール DIW overflow 超音波	30 min 5 min 1 min 50% , 2 min
23	フォトリソ ⑦ SU-8 成膜	塗布前ベーク	110 °C	5 min
		クーリング		5 min
		SU-8 塗布	1st 500 rpm 2nd 3000 rpm	5 sec 30 sec
		プリベーク	95 °C	2 min
		露光 (30 mW)	i-線フィルタ Soft, TSA	15 sec
		ベーク	65 °C	1 min
			95 °C	1 min
		現像	SU-8 Developer	2 min
			2-プロパノール(IPA)	1 min
		ポストベーク	250 °C	3 min
24	フォトリソ⑧ Si エッチング	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 1000 rpm	5 sec
		TCIR-ZR8800 塗布	2nd 4000 rpm	20 sec
		プリベーク	130 °C	90 sec
		露光 (30 mW)	フィルタ無, Hard	3 sec
		ベーク	110 °C	90 sec
		現像	NMD-3	1 min
			DIW overflow	1 min
		ポストベーク	110 °C	90 sec
25	レジスト除去		125 回	

26	レジスト除去 フォトリソ ⑨ 裏面 Si エッチング	リフトオフ 洗浄 水洗い 超音波	アセトン メタノール DIW overflow 超音波	30 min 5 min 1 min 50% , 2 min
27	フォトリソ ⑨ 裏面 Si エッチング 裏面 Si エッチン グ Deep-RIE	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 1000 rpm	5 sec
		TCIR-ZR8800 塗布	2nd 4000 rpm	20 sec
		プリベーク	130 °C	90 sec
		露光 (30 mW)	フィルタ無, Hard	3 sec
		ベーク	110 °C	90 sec
		現像	NMD-3	1 min
			DIW overflow	1 min
		ポストベーク	110 °C	90 sec
28	レジスト除去		60 min	
29	レジスト除去 ボンディング	リフトオフ 洗浄 水洗い 超音波	アセトン メタノール DIW overflow 超音波	30 min 5 min 1 min 50% , 2 min
30	PDMS			
31	パリレンコート			

付録 B

表 B 神経電極一体型マイクロ LED プローブの作製プロセス

	工程	項目	条件	時間
1	ダイシング		20 mm 角	
2	洗浄	有機洗浄	アセトン	5 min
			メタノール	1 min
			DIW overflow	1 min
		SPM	H ₂ SO ₄ : H ₂ O ₂ =3 : 1 boiled (80°C)	5 min
			DIW overflow	5 min
3	フォトリソ ① メサエッチング	塗布前バーク	150 °C	5 min
		クリーニング		5 min
		界面活性剤塗布 (OAP)	1st 500 rpm	5 sec
			2nd 4000 rpm	20 sec
		レジスト塗布 (ip3100)	1st 500 rpm	5 sec
			2nd 4000 rpm	20 sec
		プリバーク	90°C	90 sec
		露光 (30 mW)	Soft, 40 μm, TSA	7 sec
		バーク	110 °C	90 sec
		現像	NMD-3	10 sec
			DIW overflow	1 min
		ポストバーク	150 °C	5 min
4	メサエッチング ICP-RIE	背圧	0.6 Pa	2 min 40 sec
		Ar gas flow	10 sccm	
		Cl ₂ gas flow	30 sccm	
		SiCl ₄	10 sccm	
		アンテナ RF	120 W	
		バイアス RF	30 W	
		プロセス時間	3 min	
5	レジスト除去	SPM	H ₂ SO ₄ : H ₂ O ₂ =3 : 1 boiled (80°C)	10 min
			DIW overflow	5 min

6	フォトリソ ② SiO ₂ リフトオフ	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 500 rpm	5 sec
		AZ5214E 塗布	2nd 4000 rpm	30 sec
		プリベーク	120°C	50 sec
		パターン露光	i-線フィルタ Soft, TSA	2.5 sec
		プリベーク	120 °C	2 min
		全面露光	i-線フィルタ	40 sec
		現像	NMD-3	60 sec
			DIW overflow	1 min
7	SiO ₂ 堆積	スパッタ	1 μm	200 min
8	リフトオフ	リフトオフ	アセトン	30 min
		洗浄	メタノール	5 min
		水洗い	DIW overflow	1 min
		超音波	超音波	50% , 2 min
9	フォトリソ ③ ITO 蒸着	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 500 rpm	5 sec
		AZ5214E 塗布	2nd 4000 rpm	30 sec
		プリベーク	120°C	50 sec
		パターン露光	i-線フィルタ Soft, TSA	2.5 sec
		プリベーク	120 °C	2 min
		全面露光	i-線フィルタ	40 sec
		現像	NMD-3	60 sec
			DIW overflow	1 min
10	EB 蒸着 ①	ITO	200 nm	20 min
11	リフトオフ ITO	リフトオフ	アセトン	30 min
		洗浄	メタノール	5 min
		水洗い	DIW overflow	1 min

		超音波	超音波	50%, 2 min
12	アニール ITO	EIRIS	400 °C	300 °Cから 6 min
13	フォトリソ ④ n 電極&配線パッド蒸着	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 500 rpm	5 sec
		AZ5214E 塗布	2nd 4000 rpm	30 sec
		プリベーク	120 °C	50 sec
		パターン露光	i-線フィルタ Soft,TSA	2.5 sec
		プリベーク	120 °C	2 min
		全面露光	i-線フィルタ	40 sec
		現像	NMD-3	60 sec
			DIW overflow	1 min
14	EB 蒸着 ② n 電極配線パッド蒸着	Ti/Au	100/200 nm or 200/300 nm 0.2/0.4 kÅ	1 hour
15	リフトオフ n 電極&配線パッド蒸着	リフトオフ	アセトン	30 min
		洗浄	メタノール	5 min
		水洗い	DIW overflow	1 min
		超音波	超音波	50% , 2 min
16	フォトリソ ⑤ SiO2 エッチング	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		界面活性剤塗布 (OAP)	1st 500 rpm	5 sec
			2nd 4000 rpm	20 sec
		レジスト塗布 (ip3100)	1st 500 rpm	5 sec
			2nd 4000 rpm	20 sec
		プリベーク	90 °C	90 sec
		露光 (30 mW)	Soft, 40 um, TSA	7 sec
		ベーク	110 °C	90 sec
		現像	NMD-3	10 sec
			DIW overflow	1 min
		ポストベーク	150 °C	2 min

17	SiO ₂ 除去 針型	BHF	レート : 7 nm/sec	3 min
18	レジスト除去	アセトン メタノール DIW		
19	フォトリソ ⑥ n-GaN エッチン グ	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 1000 rpm	5 sec
		TCIR-ZR8800 塗布	2nd 4000 rpm	20 sec
		プリベーク	130 °C	90 sec
		露光 (30 mW)	フィルタ無, Hard	3 sec
		ベーク	110 °C	90 sec
		現像	NMD-3	1 min
			DIW overflow	1 min
		ポストベーク	110 °C	90 sec
		クーリング		3 min
		OAP 塗布	1st 1000 rpm	5 sec
		TCIR-ZR8800 塗布	2nd 4000 rpm	20 sec
		プリベーク	130 °C	90 sec
		露光 (30 mW)	フィルタ無, Hard	3 sec
		ベーク	110 °C	90 sec
			DIW overflow	1 min
		ポストベーク	110 °C	90 sec
20	n-GaN エッチン グ ICP-RIE	背圧 Ar gas flow Cl ₂ gas flow SiCl ₄ アンテナ RF バイアス RF プロセス時間	0.6 Pa 10 sccm 30 sccm 10 sccm 120 W 30 W 3 min	35 min(目安)
21	レジスト除去	アセトン		

		メタ DIW		
22	フォトリソ ⑦ SU-8 成膜	塗布前ベーク	110 °C	5 min
		クーリング		5 min
		SU-8 塗布	1st 500 rpm 2nd 3000 rpm	5 sec 30 sec
		プリベーク	95 °C	2 min
		露光 (30 mW)	i-線フィルタ Soft,TSA	15 sec
		ベーク	65 °C	1 min
			95 °C	1 min
		現像	SU-8 Developer	2 min
			2-プロパノール (IPA)	1 min
		ポストベーク	250 °C	3 min
23	フォトリソ ⑨ Si エッチング	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 1000 rpm	5 sec
		TCIR-ZR8800 塗布	2nd 4000 rpm	20 sec
		プリベーク	130 °C	90 sec
		露光 (30 mW)	フィルタ無,Hard	3 sec
		ベーク	110 °C	90 sec
		現像	NMD-3	1 min
			DIW overflow	1 min
24	貼り付け① Si エッチング	TCIR-ZR8800 塗布	500 rpm	30 sec
		貼り付け		
		ポストベーク	110 °C	90 sec
25	Si エッチング Deep-RIE		125 回	
26	レジスト除去	アセトン メタ DIW		超音波

27	フォトリソ ⑨ 裏面 Si エッチング	塗布前ベーク	150 °C	5 min
		クーリング		5 min
		OAP 塗布	1st 1000 rpm	5 sec
		TCIR-ZR8800 塗布	2nd 4000 rpm	20 sec
		プリベーク	130 °C	90 sec
		露光 (30 mW)	フィルタ無,Hard	3 sec
		ベーク	110 °C	90 sec
		現像	NMD-3	1 min
			DIW overflow	1 min
		ポストベーク	110 °C	90 sec
28	貼り付け② Si エッチング	OAP 塗布	1st 1000 rpm	5 sec
		TCIR-ZR8800 塗布	2nd 2000 rpm	20 sec
		貼り付け		
		ポストベーク	130 °C	2 min
29	裏面 Si エッチング Deep-RIE		60 min	
30	レジスト除去	アセトン メタノール DIW		超音波
31	ボンディング			
32	PDMS			
33	パリレンコート			
34	裏面 Si エッチング	TCIR-ZR8800 筆塗り		
35	裏面 Ag 蒸着	Ag	200 nm	

謝辞

本研究は、豊橋技術科学大学 関口寛人 准教授の御指導を賜ることにより、ここに博士論文としてまとめるに至りました。関口先生には、この上ない研究環境を与えて頂き、研究活動・研究姿勢のすべてにおいて終始御助言を賜りました。直接の御指導を頂き、日々の研究活動に関する相談に惜しみなく時間を割いて頂きました。先生の懇篤な御指導と配慮に満ちた御支援が、本論文を纏めるまでに至った筆者の成長要因であったと考えております。心より深く感謝申し上げます。また、本研究を円滑に行う上での準備や成果を報告するにあたり、数々のご支援をいただきました豊橋技術科学大学 関口研究室秘書 渡會彩様に深く感謝いたします。ここに深甚なる感謝と御礼を申し上げます。

豊橋技術科学大学 澤田和明 教授，同大学 石川靖彦 教授ならびに同大学 柴田 隆行 教授には、学位審査にあたり格別の御指導を賜り、本論文を深く吟味して頂きました。ここに謹んで深く感謝致します。

豊橋技術科学大学 現 理事・副学長 若原昭浩 教授，豊橋技術科学大学 総合教育院 岡田浩 教授，豊橋技術科学大学 山根啓輔 准教授には、日々の有益な御議論に加えて実験室の環境整備・メンテナンス，運営に関わる御指導等，細やかな御配慮を賜りました。心より深く感謝致します。

本研究を進めるにあたり，共同利用装置に関して種々の御便宜ならびに有益な御教示を頂きました集積電子システムコースの河野剛士 教授，高橋一浩 教授，野田 俊彦 准教授，崔容俊 助教，Piedra Lorenzana Jose Alberto 助教の多くの先生方に深く感謝いたします。また，実験および半導体製造工程等の遂行にあたり，多大なるご助言・ご協力を頂いた同大学 赤井大輔 技術専門職員，飛沢 健 技術専門職員，EIIRIS 研究員 野田佳子様に心より感謝いたします。

獨協医科大学 大川宜昭 准教授，現 大阪公立大学 瀬戸川将 特任助教は急な動物実験をご依頼した時は受け入れを快諾していただき感謝いたします。動物実験の準備から論文投稿時の手厚い助言・議論をしていただき深く感謝いたします。

本研究の遂行に当たり、中山雄晟 氏、新古大輔 氏、高木俊裕 氏、東本行司 氏、増田海斗 氏、藤原慎二郎 氏、新田遼 氏、水口公陽 氏、博士後期課程 1 年 大屋翔 氏の協力によって行われました。彼らの惜しみない協力があったからこそ本論文を纏めるに至ったものであり、また窒化物分野の国際会議で名誉ある学術表彰を頂くことが出来たのだと考えております。ここに厚く御礼申し上げます。

在学中、現 釧路工業高等専門学校 井戸川慎之介 助教とは日々より学年と研究室の垣根を超えた交流と意見交換を行って頂きました。同氏の気さくな人柄に加え共に歩んだ有意義な日々が、筆者に持続的な内的動機を与え、辛い時に耐え忍ぶための志気を与えてくださりました。ここに厚く御礼申し上げます。

電気・電子情報工学専攻博士前期課程時代の同期である、夏目裕貴 氏、助川睦 氏、玉井良和 氏、彦坂宗 氏、高橋昇志 氏、北祐人 氏の存在と彼らの先行的な活躍が、研究を進めていく上での大きな励みとなりました。ここに深く感謝するとともに、今後の益々の御活躍をお祈り申し上げます。

実験を進める上で博士 (工学) 土山和晃 氏には、卒業後も多くの学びの助言を与えて頂きましたことを心より御礼申し上げます。

OEG (Optoelectronic Group: 光・電子融合デバイスグループ) ならびに集積電子システムコースの学生諸氏の賑やかで温かな雰囲気は筆者の日常生活に彩りを与えていただきました。今後の益々の発展を切に願うと共に、ここに深く感謝いたします。

研究外では、柳曾啓一郎 氏、沼尾学 氏と興じた時間が健康的な精神のための一助となりました。また、未だ見ぬ労働社会の有様や集団の中での自らの在り方等、何気ない会話を通して様々な価値観に触れることが出来たことは、人格を錬磨していく、そして身の振り方を考えていく上で重要であったと感じております。ここに、心より御礼申し上げます。

最後に、博士後期課程卒業までの長い学生生活を精神的・経済的に支えてくれた両親をはじめとする家族に深く感謝致します。

2022 年 9 月
安永 弘樹

研究業績

1. 学術論文 (査読付国際学術誌)

1. **H. Yasunaga**, T.Takagi, D. Shinko, Y. Nakayama, Y. Takeuchi, A. Nishikawa, A. Loesing, M. Ohsawa and H. Sekiguchi, “Development of a neural probe integrated with high-efficiency MicroLEDs for in vivo application”, Jpn. J. Appl. Phys. **60**, 016503-1- 016503-5 (2021). (5 pages)
2. **H. Yasunaga**, H. Takeuchi, K. Mizuguchi, A. Nishikawa, A. Loesing, M. Ishikawa, C. Kamiyoshihara, S. Setogawa, N. Ohkawa, and H. Sekiguchi, “MicroLED neural probe for effective in vivo optogenetic stimulation”, Opt. Express **30**, 40292-40305 (2022). (14 pages)

2. 国際会議

1. **H. Yasunaga**, H. Sekiguchi, “Development of integrated blue μ LED neural probes for optogenetic stimulation in the depth direction”, International Workshop on Nitride Semiconductors 2018, OD2-7, Kanazawa, Japan, November 11th-16th, 2018. (Oral)
2. H. Sekiguchi, **H. Yasunaga**, K. Yamane, A. Wakahara, “Fabrication of neural optical probe using GaN-based blue μ LED”, The 7th International Conference on Light-Emitting Devices and Their Industrial Applications, Pacifico Yokohama, Kanagawa, Japan, April 24th, 2019. Invited (Oral)
3. **H. Yasunaga**, M. Ohsawa, and H. Sekiguchi, “Fabrication of Needle-Shaped GaN- μ LED Neural Probe for Optogenetics”, The 9th Asia-Pacific Workshop on Widegap Semiconductors, OD4-3, Okinawa, Japan, November 10th-15th, 2019. (Oral)
4. H. Sekiguchi, **H. Yasunaga**, K. Tsuchiyama, K. Yamane, H. Okada, A. Wakahara, “Monolithic Integration of GaN-micro-LED and Si-MOSFET for Bio-application”, The 26th International Display Workshops, FMC4/LCT4-3, Sapporo, Japan, November 27th-29th, 2019. Invited (Oral)
5. H. Sekiguchi, **H. Yasunaga**, A. Nishikawa, M. Ohsawa, Development of MicroLED Neural Probe for Optogenetics, Materials Science and Advanced Electronics Created by SIngularity, February 1st-3rd, 2021. (Oral)
6. **H. Yasunaga**, D. Shinko, K. Mizuguchi, A. Nishikawa, A. Loesing, S. Setogawa, N. Ohkawa, H. Sekiguchi, “Development of high efficiency MicroLED neural probe for in vivo optogenetic stimulation”, The 9th International Conference on Light-Emitting Devices and Their Industrial Applications, LEDIA3-01, Kanagawa, Japan, April 18th-22th, 2022. (Oral)
7. K. Oya, N. Ohkawa, **H. Yasunaga**, S. Setogawa, A. Nishikawa, A. Loesing, H. Sekiguchi, “Needle-shape multifunctional neural probe integrated with light-emitting diodes and fluidic channel”, MRS Spring 2022, SB10, 2022, May 23-25, Oral, Virtual.

3. 国内学会

1. 土山和晃, 関口寛人, 新田遼, 安永弘樹, 山根啓輔, 岡田浩, 若原昭浩, 光電子集積回路の実現に向けた GaN- μ LED/PD とシクロオレフィン系ポリマー導波路のモノリシック集積に関する検討, 第 64 回応用物理学会春季学術講演会, 16a-503-8, パシフィコ横浜, 神奈川, 2017 年 3 月 (口頭発表)
2. 安永弘樹, 関口寛人, 若原昭浩, In vivo 光刺激用 GaN- μ LED プローブの作製, 第 65 回応用物理学会春季学術講演会, 17p-P11-7, 早稲田大学, 東京, 2018 年 3 月 (ポスター発表)
3. 安永弘樹, 関口寛人, 脳組織への光刺激のための刺入型 GaN- μ LED デバイスの作製, 第 79 回応用物理学会秋季学術講演会, 21a-146-5, 名古屋国際会議場, 愛知, 2018 年 9 月 (口頭発表)
4. 安永弘樹, 大澤匡弘, 関口寛人, 多点光刺激を可能にする針型 Si 基板上青色 μ LED プローブの作製, 第 66 回応用物理学会春季学術講演会, 10p-W541-13, 東京工業大学, 東京, 2019 年 3 月 (口頭発表)
5. 増田海斗, 安永弘樹, 福永泉美, 関口寛人, 空間的パターン光刺激のための GaN- μ LED アレイの作製, 第 66 回応用物理学会春季学術講演会, 10p-PA3-9, 東京工業大学, 東京, 2019 年 3 月 (口頭発表)
6. 安永弘樹, 関口寛人, 生体低侵襲型 Si 基板上青色マイクロ LED プローブの作製, 第 11 回ナノ構造・エピタキシャル成長講演会, Fr-P22+J116D115:L116, 広島大学, 広島, 2019 年 6 月 (ポスター発表)
7. 高木俊裕, 安永弘樹, 新古大輔, 中山雄晟, 大澤匡弘, 関口寛人, 青色マイクロ LED と針型神経電気記録プローブの一体集積化, 第 38 回電子材料シンポジウム, Fr2-2, THE KASHIHARA, 奈良, 2019 年 10 月 (ポスター発表)
8. 中山雄晟, 安永弘樹, 稲波千尋, 大澤匡弘, 関口寛人, 脳深部光刺激用 LED プローブの実現に向けた針型構造の作製, 2019 年度レーザ・量子エレクトロニクス研究会, 11.21-11.22, 2019, 静岡大学浜松キャンパス, 静岡県浜松市 (口頭発表)

9. 羅瀾, 安永弘樹, 関口寛人, B+注入による絶縁化技術を用いたマイクロ LED のサイズ依存性, 第 67 回応用物理学会春季学術講演会, 13p-PB1-13, 上智大学, 東京, 2020 年 3 月 (ポスター発表)
10. 新古大輔, 高木俊裕, 安永弘樹, 稲波千尋, 大澤匡弘, 関口寛人, 脳神経活動の光操作と電気信号計測を可能にする刺入型一体プローブの開発, 第 67 回応用物理学会春季学術講演会, 13p-A408-12, 上智大学, 東京, 2020 年 3 月 (口頭発表)
11. 安永弘樹, 中山雄晟, 稲波千尋, 大澤匡弘, 関口寛人, マイクロ LED と神経電極のハイブリッド集積プローブの作製, 第 67 回応用物理学会春季学術講演会, 13a-A302-9, 上智大学, 東京, 2020 年 3 月 (口頭発表)
12. 関口寛人, 安永弘樹, 増田海斗, 中山雄晟, 前田吏輝, 西川敦, Loesing Alexander, 稲波千尋, 大澤匡弘, 福永泉美, 高次脳機能解明に向けたアンサンブル光刺激を可能にするマイクロ LED デバイスの開発, 第 67 回応用物理学会春季学術講演会, 14p-A409-6, 上智大学, 東京, 2020 年 3 月 (招待講演)
13. 関口寛人, 安永弘樹, 中山雄晟, 前田吏輝, 新古大輔, 西川敦, Loesing Alexander, 稲波千尋, 大澤匡弘, 福永泉美, アンサンブルな脳神経活動の解明に向けたマイクロ LED ツールの開発, 第 81 回応用物理学会秋季学術講演会, 9p-Z03-7, オンライン開催, 2020 年 9 月 (招待講演)
14. 安永弘樹, 新古大輔, 中山雄晟, 大澤匡弘, 関口寛人, 脳領域への光刺激に向けたマイクロ LED プローブの作製と温度評価, 第 81 回応用物理学会秋季学術講演会, 10a-Z02-7, オンライン開催, 2020 年 9 月 (口頭発表)
15. 新古大輔, 安永弘樹, 高木俊裕, 中山雄晟, 水口公陽, 西川敦, Alexander Loesing, 大澤匡弘, 関口寛人, 脳組織の光遺伝学操作に向けたマイクロ LED プローブの開発, 第 39 回電子材料シンポジウム, VR-3, オンライン開催, 2020 年 10 月 (ポスター発表) (VR オンライン)
16. 関口寛人, 安永弘樹, 西川敦, 竹内雄一, 大澤匡弘, オプトジェネティクス技術へ活用するマイクロ LED デバイスの開発, Sophia Open Research Week 半導体ナノフォトンクス研究会, オンライン開催, 2020 年 11 月 (招待講演)

17. 大屋翔, 中山雄晟, 安永弘樹, 山崎久朗, 西川敦, Loesing Alexander, 大澤匡弘, 関口寛人, 光・化学遺伝学的同時操作のための LED/流路神経プローブの開発, 第 68 回応用物理学会春季学術講演会, 16a-Z27-8, オンライン開催, 2021 年 3 月 (口頭発表)
18. 水口公陽, 新古大輔, 安永弘樹, 山崎久朗, 西川敦, Loesing Alexander, 大澤匡弘, 関口寛人, 光遺伝学に応用するマイクロ LED 神経プローブの温度特性評価, 第 68 回応用物理学会春季学術講演会, 16a-Z27-7, オンライン開催, 2021 年 3 月 (口頭発表)
19. 大屋翔, 中山雄晟, 安永弘樹, 西川敦, Loesing Alexander, 瀬戸川将, 大川 宜昭, 関口寛人, 光照射・薬剤投与のためのマイクロ LED/流路神経プローブの作製, 第 82 回応用物理学会秋季学術講演会, 11a-N201-7, オンライン開催, 2021 年 9 月 (口頭発表)
20. 関口寛人, 安永弘樹, 多田修斗, 松平颯, 大屋翔, 水口公陽, 西川敦, Loesing Alexander, 大澤匡弘, 瀬戸川将, 大川宜昭, 生体光刺激のためのマイクロ LED デバイスの革新, 第 82 回応用物理学会秋季学術講演会, 11a-N201-3, オンライン開催, 2021 年 9 月 (招待講演)
21. 関口寛人, 安永弘樹, 若原昭浩, 西川敦, A. Loesing, 瀬戸川将, 大川宜昭, 光遺伝学応用に向けた GaN 系マイクロ LED プローブの開発, Sophia Open Research Weeks 2021 第 2 回半導体ナノフォトニクス研究会, オンライン開催, 2021 年 11 月 (招待講演)
22. 関口寛人, 安永弘樹, 若原昭浩, 西川敦, A. Loesing, 瀬戸川将, 大川宜昭, オプトジェネティクス応用に向けた窒化物半導体マイクロ LED プローブ技術の開発, 第 13 回ナノ構造エピタキシャル成長講演会, リジェール松山, 愛媛, 2021 年 12 月 (招待講演)
23. 壁屋誠人, 東峰佳伸, 安永弘樹, 水口公陽, 西川敦, Alexander Loesing, 関口寛人, InGaN ナノコラム蛍光発光を用いた黄色発光 LED の検討, 第 69 回応用物理学会春季学術講演会, 23a-E202-2, 青山学院大学・オンライン, 神奈川, 2022 年 3 月 (口頭発表)

24. 竹内響, 安永弘樹, 水口公陽, 西川敦, Alexander Loesing, 瀬戸川将, 大川宜昭, 関口寛人, マイクロ LED 神経プローブ駆動時の脳内温度モニタリング, 第 69 回応用物理学会春季学術講演会, 23a-E202-4, 青山学院大学・オンライン, 神奈川, 2022 年 3 月 (口頭発表)
25. 安永弘樹, 水口公陽, 大屋翔, 竹内響, 西川敦, Loesing Alexander, 瀬戸川将, 大川宜昭, 関口寛人, マイクロ LED による脳内光減衰特性と生体光刺激の実証, 第 69 回応用物理学会春季学術講演会, 23a-E202-5, 青山学院大学・オンライン, 神奈川, 2022 年 3 月 (口頭発表)
26. 安永弘樹, 竹内響, 水口公陽, 西川敦, Alexander Loesing, 瀬戸川将, 大川宜昭, 関口寛人, 効果的な生体光刺激に向けたマイクロ LED プローブの脳内温度評価, 第 83 回応用物理学会秋季学術講演会, 23p-C200-11, 9.20-9.23, 2022, 東北大学 川内北キャンパス+オンライン, 宮城県仙台市 (口頭発表)

4. 研究会

1. 安永弘樹, 中山雄晟, 新古大輔, 大屋翔, 水口公陽, 関口寛人, 生体内応用に向けたマイクロ LED プローブの開発, 第 43 回光通信研究会, C-1, 8.10-8.12, 2021, オンライン (口頭発表)

5. 学術表彰

1. Student Award, International Workshop on Nitride Semiconductors 2018
2018/11/12-11/16