

視覚機能を利用したエリアセンサー

小山 行一

Two Dimensional Sensor Utilizing Visual Function

Koichi KOYAMA

We have conducted sensing and processing of optical information with a bioelectric image sensor that immobilizes a photosensitive retinal protein, bacteriorhodopsin (BR). BR was coated on a two dimensional pixel array of electrodes and made into a junction with an electrolyte layer having a counterelectrode to form an artificial photoreceptor. Images detected and processed by the photoreceptor were simultaneously displayed on a light-emitting-diode monitor panel. The experiment revealed that the photoreceptor is, as a retina model, capable of selectively detecting motion of images and of performing vectorial extraction of their edge components, similar to the visual processing function of biological photoreceptors.

Key words: bacteriorhodopsin, visual prosthesis, artificial photoreceptor, differential response, visual information processing, motion detection, edge detection

1. 人工網膜開発の現状

視覚障害者に感光性のチップを移植することで視覚を回復させる研究が、アメリカやヨーロッパを中心に20年ほど前から始まっている。このような技術は視覚補綴 (visual prosthesis) とよばれ、いくつかの方式が提案されている。ジョンズ・ホプキンス大学医学部とノースカロライナ大学工学部は共同で図1に示すような光トランジスターを二次元 (5×5) に配列させたチップを被検者の眼球内に埋め込み、電気刺激によって被検者はこの刺激を光の点として認識できることを確認した¹⁾。この原理は、頭を柱などにぶつけたときにだれもが経験する、いわゆる“目から火がでる”という現象を利用して、専門的には「眼閃」(phosphene) とよばれている。この「眼閃」を利用する似たような方式が、マサチューセッツ工科大学とハーバード大学の共同グループ²⁾、ドイツのチュービンゲン大学を中心としたグループでも検討されている³⁾。この方式は網膜の神経節細胞と視神経とのインターフェースで電気信号を受け渡す関係上、視神経が正常であるような失明疾患に限定される。それでも最近の糖尿病の増加に伴う糖尿病性網膜症による失明患者の増大で、このような疾患で失明状態

にある患者が全米で2万人以上いるといわれている。

もうひとつは、ユタ大学が中心になって研究されている方式で、眼鏡の両端に取り付けられた小型のCCDカメラがとらえた画像情報を後頭部に埋め込んだ電極アレイ (長さ1.5 mmの針電極が400 μmの間隔で10×10に配列) を介して、直接脳内にある視覚野を電気刺激する方式である⁴⁾。この方式は手術が大がかりになる欠点はあるものの、失明原因にかかわらずほとんどすべての患者に適用が可能である。

現在は実用化の第一段階として、シリコンダイオードの光電効果を利用して光信号を電気信号に変換した後、この信号が光として認識できるかという“光覚”機能の実現に力が注がれている。第二段階としては、視覚の基本である物体の動きや形状をとらえるための動画認識や輪郭抽出等の機能を付与させた人工網膜が目標となり、最終的には、色に対して感度を有する人工網膜の実現であろう。われわれは生体物質の模倣という観点から、動物の網膜に存在し、可視光に対するセンサーとして機能する「視物質ロドプシン」の代わりにもうひとつの光受容タンパク質であるバクテリオロドプシン (BR) を用いて、人工網膜開発の

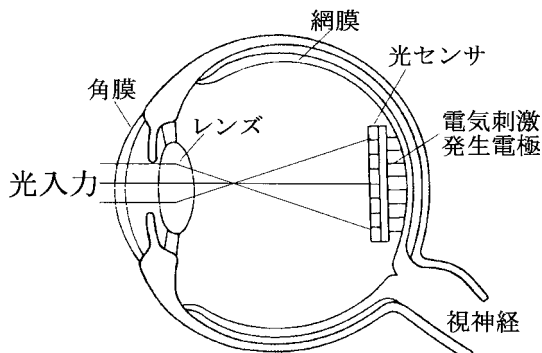


図1 視覚補綴の模式図 (文献16より一部改変)。

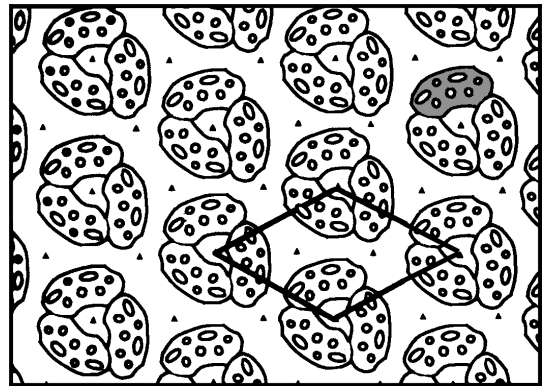


図3 紫膜 (BRの集合体) の模式図。黒く塗りつぶした部分がBR1分子を表す。3量体同士の中心距離は約6Å。

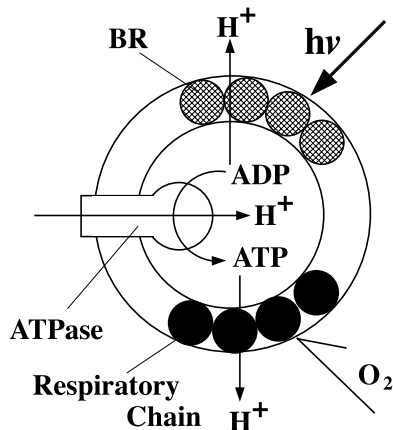


図2 高度好塩菌のエネルギー獲得システム。BRは光エネルギーを使ってプロトン (H^+) を細胞外に能動輸送し、呼吸鎖では代謝(酸化)エネルギーを用いてプロトンを輸送する。結果的に細胞内外でプロトンの濃度勾配が発生し、外側のプロトンが細胞内に入るときにATP合成酵素 (ATPase) を通過し、その際にATPが合成される。

ための第二段階とされる動画認識と輪郭抽出のシミュレーションを行った。

2. バクテリオロドプシン (BR) とは

バクテリオロドプシン (BR) は高度好塩菌の細胞膜から1971年に見いだされた光受容タンパク質である。視物質ロドプシンと同様、発色団としてレチナールを1分子結合していることから、バクテリアが産生するロドプシンという意味でこの名がつけられた。高度好塩菌のユニークな点は、図2に示すように、エネルギー変換システムを2種類もっていることである。通常は酸素呼吸によってATP (アデノシン三リン酸) を産生するのであるが、環境の変化によって酸素濃度が低くなると、細胞膜上に紫膜が生成して光合成を始める。この光合成も通常の植物にみられるような複雑なシステムではなく、BRが単独で行っている。したがって、BRはこの細菌にとって、非常電源のような位

置づけと考えられる。BRでは、①発色団が光を吸収することで反応が開始され、②タンパク質の構造変化を伴いながら、③機能を発現するというプロセスで仕事が行われる。最終段階で、視物質ロドプシンに代表されるような情報変換のトリガーとして機能するものと、BRに代表されるようなエネルギー変換に直接かかわるものとに分かれる。したがって、それぞれの光受容タンパク質は類似の作用機構を有しながらその機能は異なる。

BRは3量体をひとつの単位として六方格子状に規則正しく配列した二次元結晶膜を作っていて、この膜を紫膜 (purple membrane) とよんでいる (図3)。紫膜は厚さ約45Å、径0.5~1 μm程度の膜断片として、破碎された菌から容易な手段によりほぼ純品で手に入れることができる。通常、研究材料として用いられるのはこの紫膜である。

BRはアミノ酸残基248個の1本のペプチド鎖からなり、7本のヘリックスが膜を貫通する構造をとっていて、その216番目のリジン残基に発色団としてレチナール1分子がシッフ塩基結合している。BRは通常568 nmに極大吸収をもち、レチナールは全トランス型の構造をとっている。光照射により、レチナールは全トランスから13-シスへと異性化する。その後、BRは構造変化を伴いながら、いくつかの過渡的に安定な中間体を形成するが、この中間体はレチナールとタンパク質との相互作用によりその色相は大きく変化する。最終段階で13-シスレチナールは全トランスレチナールに再異性化し、全工程10 ms程度の時間で最初の状態に戻る。この行程をBRの光反応サイクルとよぶ (図4)。この一連の反応プロセスにおいてレチナールの構造変化がスイッチとして働く。この間に、細胞内のプロトンが能動的に細胞外に汲み出され、細胞の内外でプロトンの濃度勾配を生じる。高度好塩菌はこの濃度勾配を利用してATPを合成し、エネルギーを獲得している。最近になって、プロトン輸送の機構は、さまざまな変異タンパク

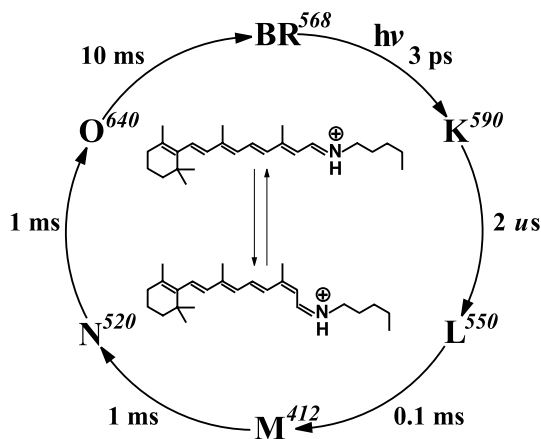


図4 BRの光反応サイクル. K→Oはレチナールの光異性化後に生成する各中間体で、肩付き数字はその中間体の極大吸収波長を表す。

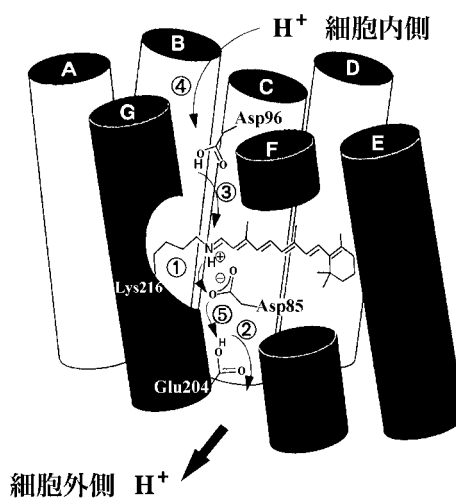


図5 BR内部でのプロトン輸送経路(文献7より一部改変)。

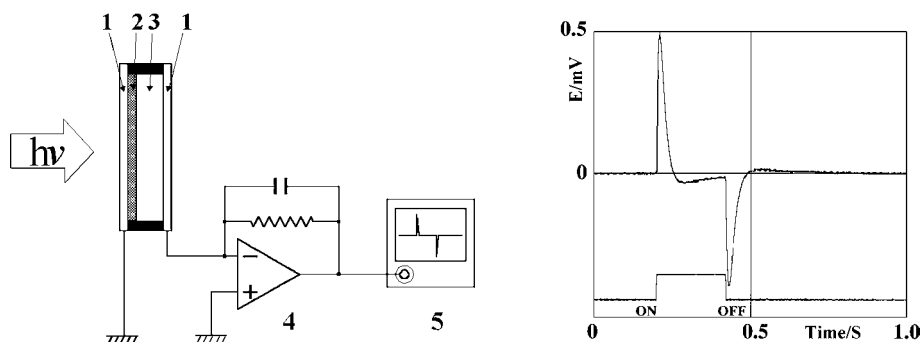


図6 (左) BRを固定化した電気化学セル. 1: SnO₂透明電極, 2: BR薄膜(紫膜), 3: 電解質水溶液, 4: 電流電圧変換回路, 5: オシロスコープ. (右) 電気化学セルからの光電応答パターン(下は入射光強度, 上は発生電流の電圧変換パターン)。

質と分光学的⁵⁾ および電気化学的手法⁶⁾ の組み合わせで分子レベルでの解明がほぼなされている。

一方、視物質ロドプシンはアミノ酸残基数が348個と100配列長く、BR同様7本のヘリックスが膜を貫通している構造をとっているが、基底状態で結合しているレチナールが13-シス型で、光を受けると全トランス型に異性化する点がBRと異なっている。反応プロセスは動物の視物質ロドプシンとよく似ているが、視物質の場合は1回の光吸収で最終的にレチナールとタンパク質部分が分離して退色してしまう。ところがBRの場合、すでに述べたように反応が循環するため、何度でも光反応を行うことができる。すなわち明室での取り扱いが可能で、この安定性がBRを工学的な材料として魅力あるものにしていく大きな理由である。

図5にBR分子の立面図を表す。これまで明らかにされた知見では、レチナールの光異性化後、タンパク質内部で微妙な構造変化が誘起され、順次プロトンが細胞外側から

内側へ輸送される。最終的にレチナールの再異性化が起こって出発段階に戻る。このようにBRは10msの間に、約45Å離れたタンパク質の中を5回のプロトン移動を経て細胞内側のプロトンを外側に輸送し、この動きは図4に示した光反応サイクルと対応する。このようなダイナミックなプロトン輸送の原動力は、タンパク質の構造変化がタンパク質内部の疎水環境に影響を与え、これがシッフ塩基や側鎖カルボキシル基のpKa変化の引き金となるためである。BRの構造と機能についての詳細は文献を参照されたい^{7,8)}。

3. 生物素子としてのBR

BRを何らかの光学素子の材料として利用しようとする試みは1980年ごろから始まり、光コンピューターなどの情報記録手段となり得る動的ホログラフィックメモリー⁹⁾ や画像情報処理のための空間変調素子¹⁰⁾ などへの応用が期待され、すでにプロトタイプが作られている。

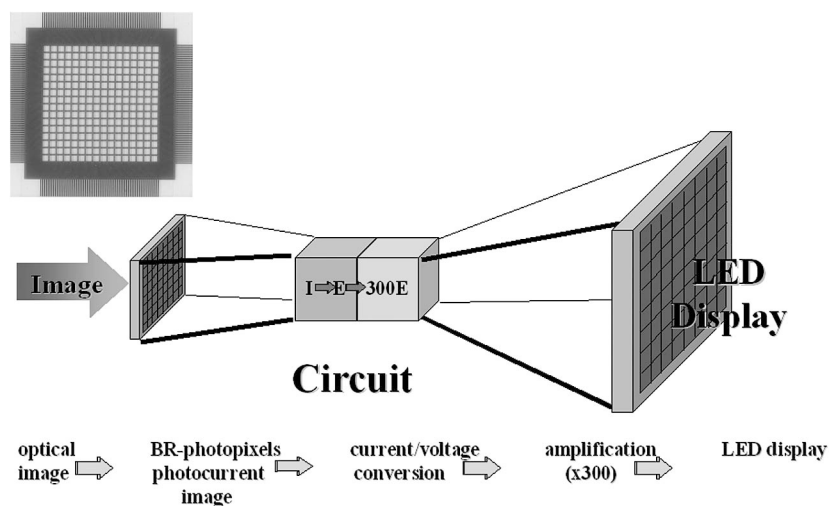


図7 256画素からなるITOパターンニング電極（左上）と、ITO電極からの信号を発光ダイオード（LED）ディスプレイに表示させるための増幅系。

われわれは透明の電極基板 (SnO_2) 上に BR の薄膜を製作し、この薄膜と金属の対極との間に電解質溶液を挿入した、いわゆる湿式の電気化学セルを構築した (図6左)。このセルに光を照射すると、その電流応答は図6右に示したような入射光量に対してそのまま追従せず、ON/OFFの光信号に対して一過性の応答が得られた¹¹⁾。従来型のいわゆる光センサーは銀塩写真にしろ CCD にしろ、入射光のパターンが忠実に応答に反映するのに対し、本センサーは一定光量に対しては反応せず、光量に変化があったときのみ応答する、つまり時間微分型のパターンを示す。波長応答特性は BR の吸収スペクトルとほぼ一致しており、それゆえこの応答は BR に由来すると結論づけられる。また光量に対する応答強度は3桁以上にわたって良好な直線性を保っており、光センサーとしても優れた特性をもっている。

このユニークな光応答は以下のような機構によるものと考えられる。BR はレチナールの異性化を経て、光照射後約 0.1 ms でプロトン放出を始める (L から M への遷移、図4参照)。その結果、電極近傍の pH が低下する。金属酸化物電極は pH に応答するので、電極間の電位に変化を生じ、その際電極表面のキャパシター (電気二重層) を充電もしくは放電するための一過性の電流が流れる (カソード応答)。しかし電極表面での電子のやり取りは起こらないので定常的な電流は流れない。時間経過とともにプロトンの放出と取り込みが見かけ上同時に起こり、BR は光定常状態になる。この状態では電極近傍の pH は変化しないので応答は得られない。光を切るとプロトン放出は止まるが、プロトンの取り込みは起こり (M から N への遷移)、電極近傍の pH は一時的に上がり、これを補償するための

一過性電流が流れる (アノード応答)¹²⁾。電極上での紫膜の配向が気になるが、電極付近の pH 変化を検出しているので紫膜の配向はランダムでかまわない¹³⁾。

このような微分型の応答特性は以下に述べるように、視覚情報処理と重要な関係をもっている。

4. BR 二次元センサーの視覚特性

4.1 視細胞の視覚特性

網膜では、ロドプシンという視物質が光の受容器として、外界から来る光の明暗もしくは色の情報の識別を担っている。その情報は網膜の神経回路網の終点にある神経節細胞において一次処理され、視覚認識の基本である物の“動き”や“輪郭”等の一次情報が電気信号として視神経を經由して脳に伝達される。したがって、網膜には一種の画像圧縮の機能があるらしい。この神経節細胞では、光刺激の開始時および終了時に、いにかえると光刺激の明滅あるいは運動のような過度状態でのみ、応答することが確かめられている¹⁴⁾。このような細胞は、昆虫などの下等動物の視覚で特に発達している。というのはこのような動物にとって、動いている対象 (えさもしくは敵) に対して素早く、的確に対処できるかどうかを生死を分けるからである。

この神経節細胞でみられる現象は、BR を用いた素子の応答パターンと酷似している。このように材料レベルで視覚機能を有したデバイスが開発されれば、雑多な画像情報の中から必要な要素を取り出して特徴化したり、さらにはその発展として将来、人工網膜への応用も可能となろう。そこでこの素子が神経節細胞を模倣できるかどうかを検証することを試みた。

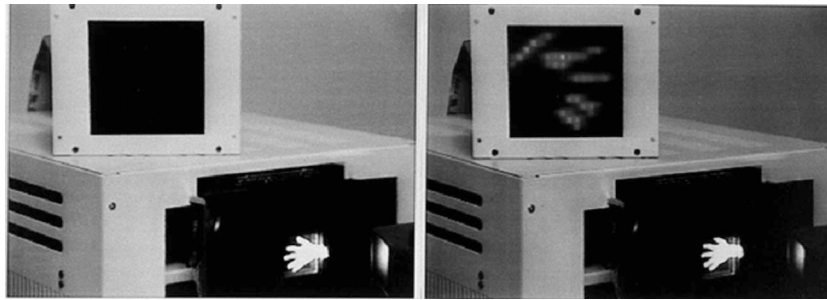


図8 動画検出の実験例. (左) 掌が止まっている状態, (右) 掌が動き出すとその輪郭がディスプレイに表示.

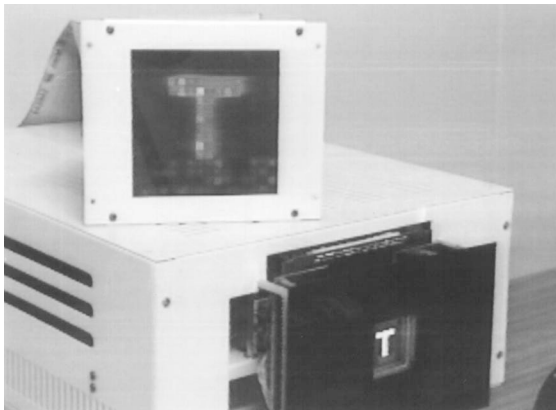


図9 輪郭抽出の実験例. 入射光のチョッピングによる全体像の検出.

4.2 BR エリアセンサーによる視覚機能の模倣

まずガラス基板に 256 画素 (1.3 mm 正方ピクセル) の ITO (酸化インジウム・スズ) 電極をパターンニングし, この基板に紫膜薄膜を被覆し, 対極との間に電解質層を挿入してエリアセンサーを作製した. 個々のピクセルは電氣的に独立に配線された並列回路となっていて, 各ピクセルで生じた微小な光電流は電圧に変換された後, 増幅され, 表示用の発光ダイオード (LED) に出力されるように設計した (図 7).

このエリアセンサーを使って行った動画検出のシミュレーションを図 8 に示す. CCD カメラで撮った掌の画像を液晶プロジェクターを通してセンサーに入射させたところ, 手を動かしている状態でのみ動画像の輪郭が検出された (右). 手の動きを止めると, 当然ながらディスプレイ上には何も表示されない (左).

ついで輪郭の抽出の実験を, アルファベット文字を光センサーに入射させて行った. まず, スライドプロジェクターからの「T」の文字像を約 50 Hz で連続的にチョッパーで変調して, 静止文字像の全体をモニターした (図 9).

次に連続光の入射下で光軸を垂直方向に振動すると, 水平方向のエッジ成分が抽出され (図 10 右), 同様に水平方

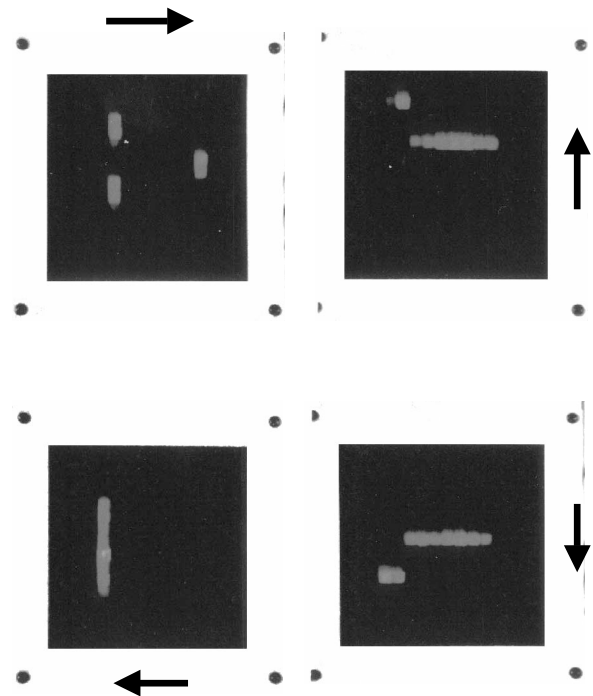


図 10 光軸変調による垂直方向のエッジ成分検出 (左) と, 水平方向のエッジ成分検出 (右).

向に振動させると, 垂直成分のエッジが抽出される (図 10 左). このような光軸の振動は, われわれが実際にエッジ成分を抽出するために無意識に行っている眼球運動の模倣ともいえる. 脳内で行われているパターン認識では, この輪郭像を一次情報として処理している. このように本センサーは, 網膜内の神経節細胞の動画抽出機能および輪郭強調機能をほぼ模倣したと理解できる^{15,16)}.

今日では, CCD のような固体素子で二次元画像を扱うイメージセンサーが広く普及している. しかしながら, このような映像から上記のような画像処理を実時間で実施しようとするとは必ずしも容易ではない. ところが, 高等動物の視覚系は連続画像の実時間処理を確実にやっている. この違いは, 固体素子が二次元の画像を一次元の時系列信号として処理するのに対し, 生物の視覚系は二次元画像の並

列同時処理を行っているためである。これまで述べてきたような微分信号は、CCDからの画像を微分演算回路を通すことによっても、基本的には取り出すことが可能である。しかしながら、このような素子を人工網膜として眼の中に移植することを考えると、大がかりな回路を必要とせずに材料自体で実時間応答がとれることは、素子のコンパクト化という観点からも重要である。今回のシミュレーションでは $16 \times 16 = 256$ 画素で行ったが、それでは、読書をするにはどの程度の画素数(ピクセル数)を必要とするのだろうか。ユタ大学のNormannらはテキストの文字像をCCDカメラを通してピクセル像に変換できるゴーグル(head scan simulator)を開発し、数人の健常者を被験者として読みとり可能なピクセル数の算定を行った。その結果、驚くべきことに $25 \times 25 = 625$ 画素程度で、170 words/秒の読み取りが可能なが実証された¹⁷⁾。この程度の画素数で失明者が読書をしたり、他の助けを必要とせずに外出できるだけの視覚を回復できるのは大きな福音である。

以上のように、BR光センサーは特別な回路を必要とせずに微分信号を取り出せ、人工網膜開発のための第二段階とされる動画認識と輪郭抽出が可能であることを実証したが、大きな欠点として感度が低いという問題点があり、このままの形で人工網膜に応用することは難しい。このようなチップを患者の眼に移植できるようになるまでには、まだ相当期間の研究を必要とするが、当面の研究課題としては、眼に損傷を与えずに移植する技術の開発とチップを作動させるための電力の供給の問題を解決することが挙げられる。いずれにしても、本格的な人工視覚の開発には、眼科学、情報処理学、エレクトロニクス、生物学などの学際領域での独自研究と多数の研究者との共同研究が必要である。

1996年に発行されたIEEE Spectrum 3月号に“Toward an Artificial Eye”という特集記事が掲載され、その中で視覚補綴の開発スケジュールが示されている。それによると2000年には刺激電極による光覚機能が確認され、生体適合性を含む長期間の安定性の問題を解決、2005年までには電極のアドレッシング、眼閃認識の閾値の決定などがクリアされ、2010年に本格的な移植が始まると想定されている。しかし、現状での大幅な遅れを考えると、2020年でもどうか、という気が率直にする。網膜移植の成功には解決すべき未知の要因も含まれている。それでも、高齢化社会の到来で糖尿病性網膜症による失明者の増加が予想され、早期のプロトタイプ開発が期待されている。

BRは同じレチナールを発色団にもち、構造的にも視物質ロドプシンと類似性を有しているが、その機能は全く異なる。そのBRが特定の条件とはいえ、視物質ロドプシンの機能を部分的に模倣したというのは興味深い。

文 献

- 1) M. S. Humayun, E. de Juan, G. Dagnelie, R. J. Greenberg, R. H. Propst and D. H. Philips: “Visual perception elicited by electrical stimulation of retina in blind humans,” *Arch. Ophthalmol.*, **114** (1996) 40-46.
- 2) J. Wyatt and J. Rizzo: “Ocular implants for the blind,” *IEEE Spectrum*, **33** (1996) 47-53.
- 3) E. Zrenner, K.-D. Miliczek, V. P. Gabel, H. G. Graf, E. Guenther, H. Haemmerle, B. Hoefflinger, K. Kohler, W. Nisch, M. Schubert, A. Stett and S. Weiss: “The development of subretinal microelectrodes for replacement of degenerated photoreceptor,” *Ophthalmic Res.*, **29** (1997) 269-280.
- 4) R. A. Normann, E. M. Maynard, K. S. Guillory and D. J. Warren: “Cortical implants for the blind,” *IEEE Spectrum*, **33** (1996) 54-59.
- 5) J. K. Lanyi: “Proton translocation mechanism and energetics in the light-driven pump bacteriorhodopsin,” *Biochim. Biophys. Acta*, **1183** (1993) 241-261.
- 6) K. Koyama, T. Miyasaka, R. Needleman and J. K. Lanyi: “Photoelectrochemical verification of proton releasing groups in bacteriorhodopsin,” *Photochem. Photobiol.*, **68** (1998) 400-406.
- 7) 神取秀樹, 前田章夫: “バクテリオロドプシンはどのようにして光をエネルギーに変換するのか?”, *タンパク質・核酸・酵素*, **42** (1997) 101-109.
- 8) J.-K. Lanyi: “Mechanism of ion transport across membranes: Bacteriorhodopsin as a prototype for proton pumps,” *J. Biol. Chem.*, **272** (1997) 31209-31212.
- 9) C. Bräuchle, N. Hampp and D. Oesterhelt: “Optical applications of bacteriorhodopsin and its mutated variants,” *Adv. Mater.*, **3** (1991) 420-428.
- 10) K. Koyama, N. Yamaguchi and T. Miyasaka: “Molecular organization of bacteriorhodopsin films in optoelectronic devices,” *Adv. Mater.*, **7** (1995) 590-594.
- 11) T. Miyasaka, K. Koyama and I. Itoh: “Quantum conversion and image detection by a bacteriorhodopsin-based artificial photoreceptor,” *Science*, **255** (1992) 342-344.
- 12) Y. Saga, T. Watanabe, K. Koyama and T. Miyasaka: “Mechanism of photocurrent generation from bacteriorhodopsin on gold electrode,” *J. Phys. Chem. B*, **103** (1999) 234-238.
- 13) K. Koyama, N. Yamaguchi and T. Miyasaka: “Antibody-mediated bacteriorhodopsin orientation for molecular device architectures,” *Science*, **265** (1994) 762-765.
- 14) 樋渡涓二: *視覚情報概論*(昭晃社, 1987).
- 15) T. Miyasaka and K. Koyama: “Image sensing and processing by bacteriorhodopsin-based artificial photoreceptor,” *Appl. Opt.*, **32** (1993) 6371-6379.
- 16) 小山行一: “人工光受容体システム—人工網膜をめざして—”, *現代化学*, 7月号(1995) 24-31.
- 17) K. Cha, K. W. Horch, R. A. Normann and D. K. Boman: “Reading speed with a pixelized vision system,” *J. Opt. Soc. Am. A*, **9** (1992) 673-675.

(2010年3月4日受理)