

# 石墨烯神經探針晶片於深腦電刺激與多維度神經活動電訊號感測之應用

## Application of Graphene Neural Probe for Deep Brain Stimulation and Multidimensional Neural Activity Electrical Signal Sensing

陳右穎、陳三元、李思儒、張瀨文、梁耀文

You-Yin Chen, San-Yuan Chen, Ssu-Ju Li, Ching-Wen Chang, Yao-Wen Liang

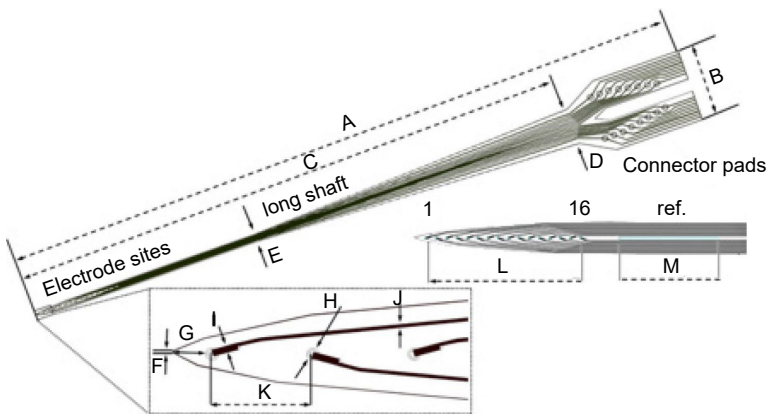
基於腦科學研究的蓬勃發展，為了縮短診斷與治療的時間差，團隊利用奈米材料「石墨烯」開發神經探針晶片，讓我們能以創新的精確度和深度來深入瞭解大腦的運作方式並找出新的治療方法。本文將介紹石墨烯神經探針晶片之獨特優勢、在動物試驗中獲得的成果及未來的展望。

In light of the burgeoning developments in neuroscience research, and with the aim of reducing the lag time between diagnosis and treatment, our team has leveraged nanomaterials, specifically “graphene,” to engineer neural probes. These probes empower us to delve into the intricacies of brain functioning with innovative precision and depth, all while identifying novel therapeutic approaches. This article will elucidate the unique advantages of graphene neural probes, present the outcomes achieved in animal experiments, and outline future prospects.

### 一、前言

在神經科學研究和醫療領域中，神經探針晶片的應用具有極大的潛力。神經探針晶片是一種廣泛使用的生物材料，能夠記錄腦內的單一或多重神經元訊號，並對特定腦區進行電刺激以抑制或促進神經元活動<sup>(1)</sup>。然而，由於其與腦神經細胞在結構和機械性質上的差異，長期使用可能會干擾組織的正常生理活動。為了解決這個問題，哈佛大學的 Charles M. Lieber 教授和他的研究團隊運用了生物靈感和仿生學的原理，開發出一種與神經細胞在次細胞層級相似的探針單元組件。他們將這些組件組合成一種開放式 3D 電子網路，稱之為擬神經元電

子設備<sup>(2)</sup>。然而，過去的神經探針晶片在長時間植入腦部後，常常受到手術引起的沾黏和發炎的困擾，進而影響了訊號感測品質<sup>(3)</sup>，並且在進行深腦電刺激治療時難以同步整合功能性醫學影像的資訊以評估和追蹤治療效果。為了克服這些問題，我們團隊以高分子作為製程基材，並以雷射切割技術製作單桿十七通道的電極探針（圖 1），並將石墨烯應用於神經探針晶片的感測介面，利用其卓越的高導電性和添加抗發炎因子的外圍包覆層，提高了晶片的生物相容性和訊號品質（圖 2）。這種新一代的可撓性多通道高分子植入式晶片，具備界面奈米結構化及磁振造影相容性，以改進元件的電性和生物相容性（圖 3）。這項技術的應用可用於植入式深腦電刺激，並已在動物試驗中進行相關驗證。



Dimension	Value	Dimension	Value
Number of probe shaft	1	Distance (G)	48.4 $\mu\text{m}$
Number of electrodes	16+1ref.	Diameter of electrode (H)	12 $\mu\text{m}$
Probe length (A)	18.8 mm	Wire width (I)	10 $\mu\text{m}$
Probe width (B)	2 mm	Wire width (J)	5 $\mu\text{m}$
Probe length (C)	14.90 mm	Electrode distance (K)	74/150 $\mu\text{m}$
Max shaft width (D)	996 $\mu\text{m}$	Recording length (L)	2.25 mm
Shaft width (E)	220 $\mu\text{m}$	Reference length (M)	7.02 $\mu\text{m}$
Tip width (F)	3 mm		

圖 1. 石墨烯神經探針晶片之技術規格。

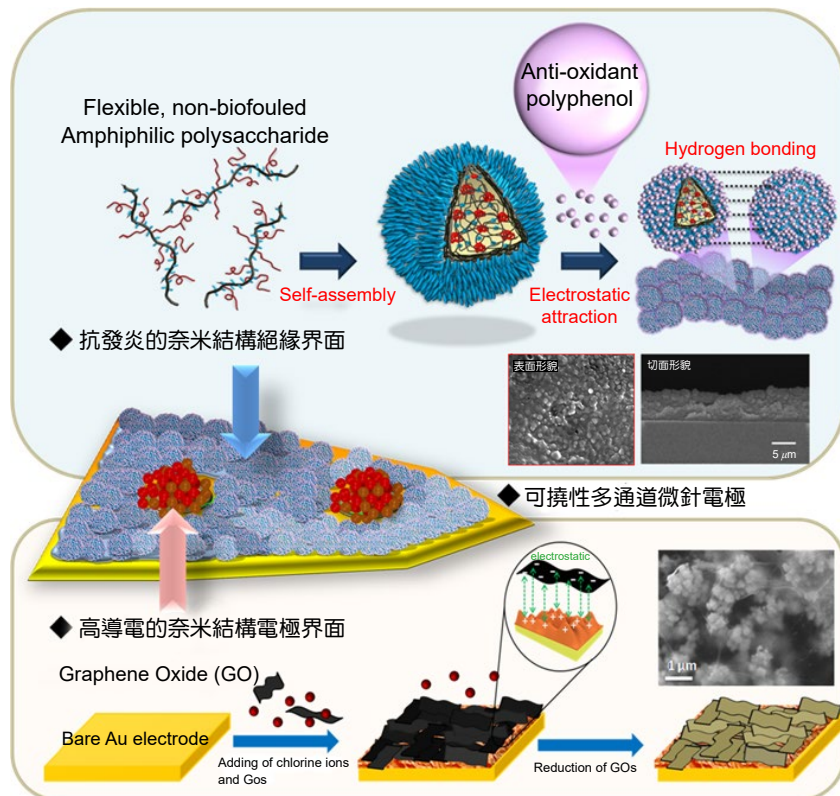


圖 2. 石墨烯材料應用於神經探針晶片感測介面。

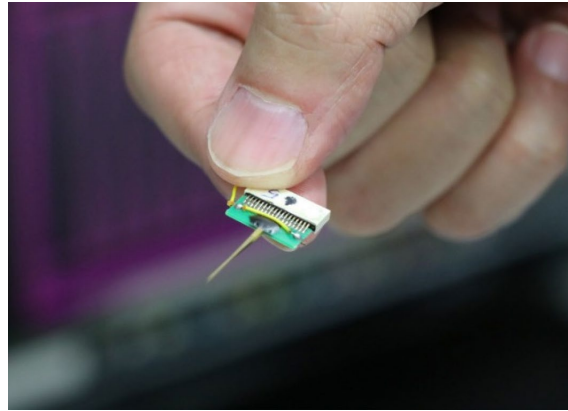


圖 3. 石墨烯神經探針晶片。

## 二、石墨烯神經探針晶片應用於神經調節與疾病動物模型治療

### 1. 學習及記憶能力增強

深腦電刺激 (deep brain stimulation, DBS) 是一種治療神經和精神疾病的技術，通過改變大腦迴路並促進突觸可塑性。對於增強認知功能方面，中央視丘 (central thalamus, CT) 已被證實是一個潛在的 DBS 腦區<sup>(4)</sup>。有關 DBS 對 CT (CT-DBS) 產生的迴路機制尚待釐清。結合 CT-DBS 和功能性磁共振造影 (functional magnetic resonance imaging, fMRI)，本研究探討了在大鼠中進行 CT-DBS 時產生活化的腦區，我們使用與 MRI 相容的石墨烯神經探針晶片 (圖 4)，能夠降低影像失真並減少安全問題。結果顯示，前扣帶皮質 (anterior cingulate cortex)、運動皮質 (motor cortex)、主要和次要體感皮質 (primary and secondary somatosensory cortices)、尾狀核 (caudate putamen)、下視丘 (hypothalamus)、視丘 (thalamus) 和海馬迴 (hippocampus) 等區域產生活化 (圖 5)，這表示了皮質－腹部核 (corticostriatal)、皮質－邊緣迴路 (corticolimbic) 和視丘－皮質 (thalamocortical) 腦迴路受到影響。在行為試驗方面，CT-DBS 組別在技能學習上所需的時間降低，並在 T 型迷宮試驗中得到更高的正確率。腦區間的功能性連結也有提升。西方墨點法結果顯示，多巴胺 D1 和  $\alpha$ -尼古丁乙酰膽鹼受體的表現增加，而多巴胺 D2 受體的表現減少。透過以上數據，CT-DBS 可以調節突觸可塑性來增強認知功能和腦部連結，因此 CT 是一個具有高潛力的標靶用於治療學習和記憶障礙<sup>(5)</sup>。

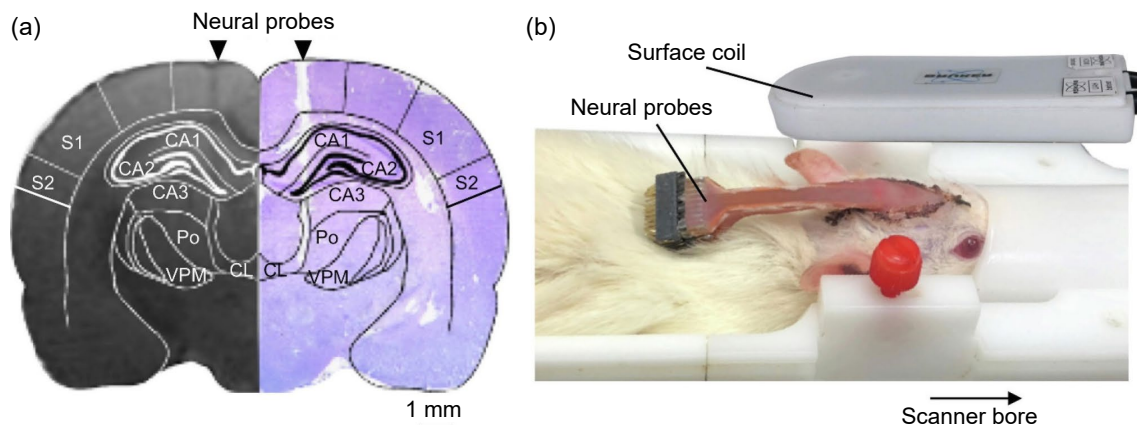


圖 4. (a) 石墨烯神經探針晶片植入 CT 腦區。(b) 大鼠進行磁共振造影時的架設圖。

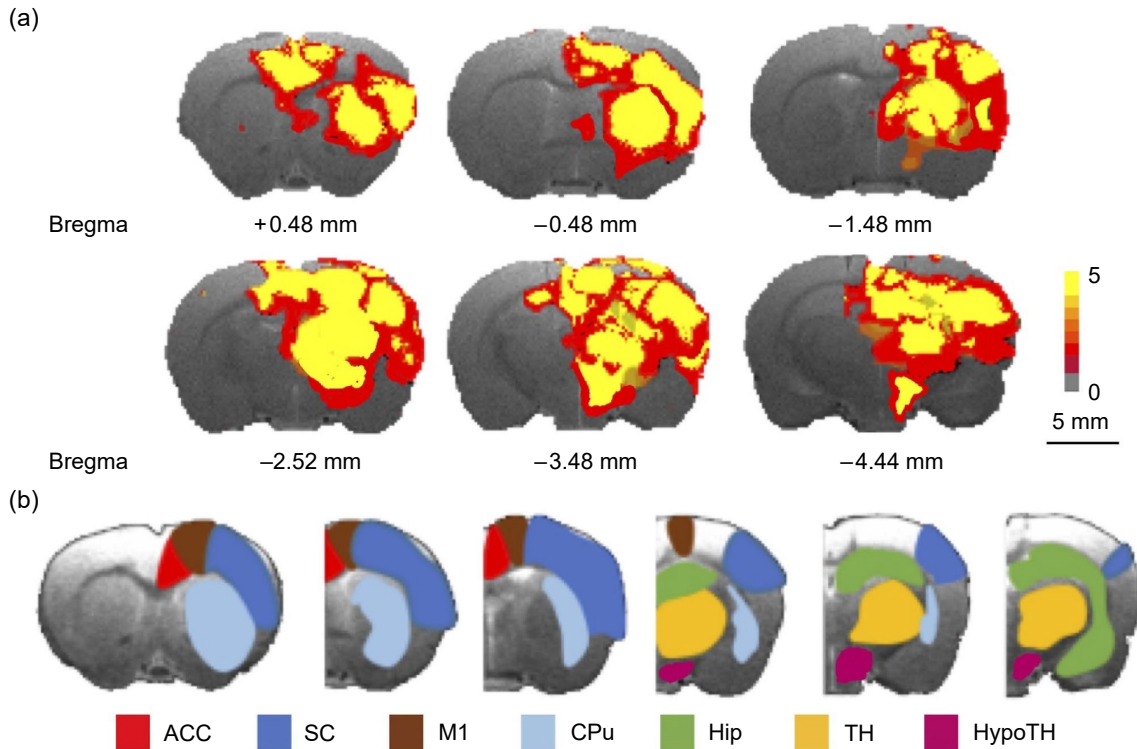


圖 5. (a) 進行 CT-DBS 時所活化的腦區。(b) 腦區相對應之圖譜示意圖。

## 2. 自閉症類群障礙

自閉症類群障礙 (autism spectrum disorder, ASD) 是一種神經發育障礙，其特徵是社交障礙、重複行為等是其主要症狀。已知在中央視丘 (central thalamus, CT) 進行的深腦電刺激會改變皮質－腹部核 (corticostriatal)、皮質－邊緣迴路 (corticolimbic)，隨後增加探索性運動行為、認知表現和技能學習。我們將石墨烯神經探針晶片植入掌管動物行為與認知功能的 CT 進行深腦電刺激治療，並利用功能性磁共振造影觀察腦區活化情形。我們發現 CT-DBS 活化了 ASD 大鼠腦部迴路的功能性連結，並降低了多巴胺 D2 受體，證實 CT-DBS 改變 ASD 動物模型的神經突觸可塑性，進而改善 ASD 的社交障礙等症狀 (圖 6)。

## 3. 阿茲海默症

阿茲海默症是一種神經退化性疾病，患病率會隨著年齡越長而越高，主要特徵為記憶力衰退和認知功能降低。儘管從過往研究發現在阿茲海默症患者和啮齒類模型上，利用不同腦區的深腦電刺激能改善認知功能與增強記憶，例如：穹窿、海馬迴、邁樂氏基底核。由於邁樂氏基底核 (nucleus basalis of meynert, NBM) 是膽鹼性神經系統 (cholinergic system) 的關鍵腦區，主要作用為釋放乙醯膽鹼 (acetylcholine) 到皮質區，我們將石墨烯神經探針晶片分別植入阿茲海默症小鼠模型的雙側 NBM，並且利用靜息態功能性磁共振造影、行為試驗與乙醯膽鹼 (acetylcholinesterase, AChE) 檢測來探討 NBM-DBS 治療效果。我們發現 NBM-DBS 改善了與認知功能 (NOR)、空間工作記憶 (T-maze) 相關的行為表現、增加功能性連接 (functional connectivity, FC) 和乙酰膽鹼酯酶活性的降低可作為 AD 治療的生物標誌物<sup>(7)</sup>(圖 7)。

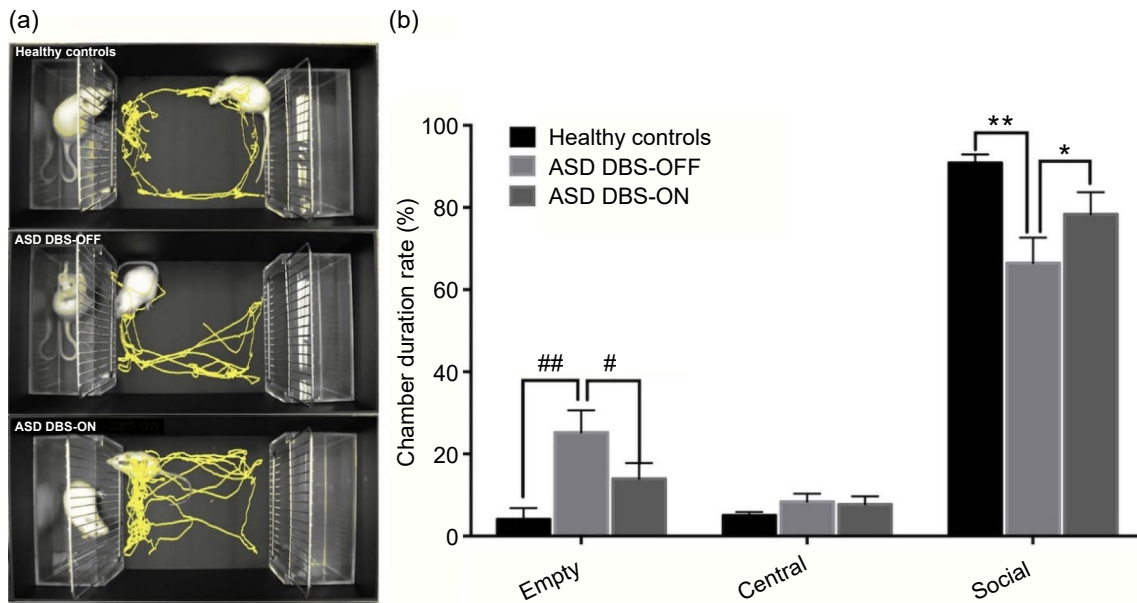


圖 6. (a) 社交行為試驗示意圖。(b) 經過 CT-DBS 的 ASD 動物模型在社交障礙行為上有明顯的改善。

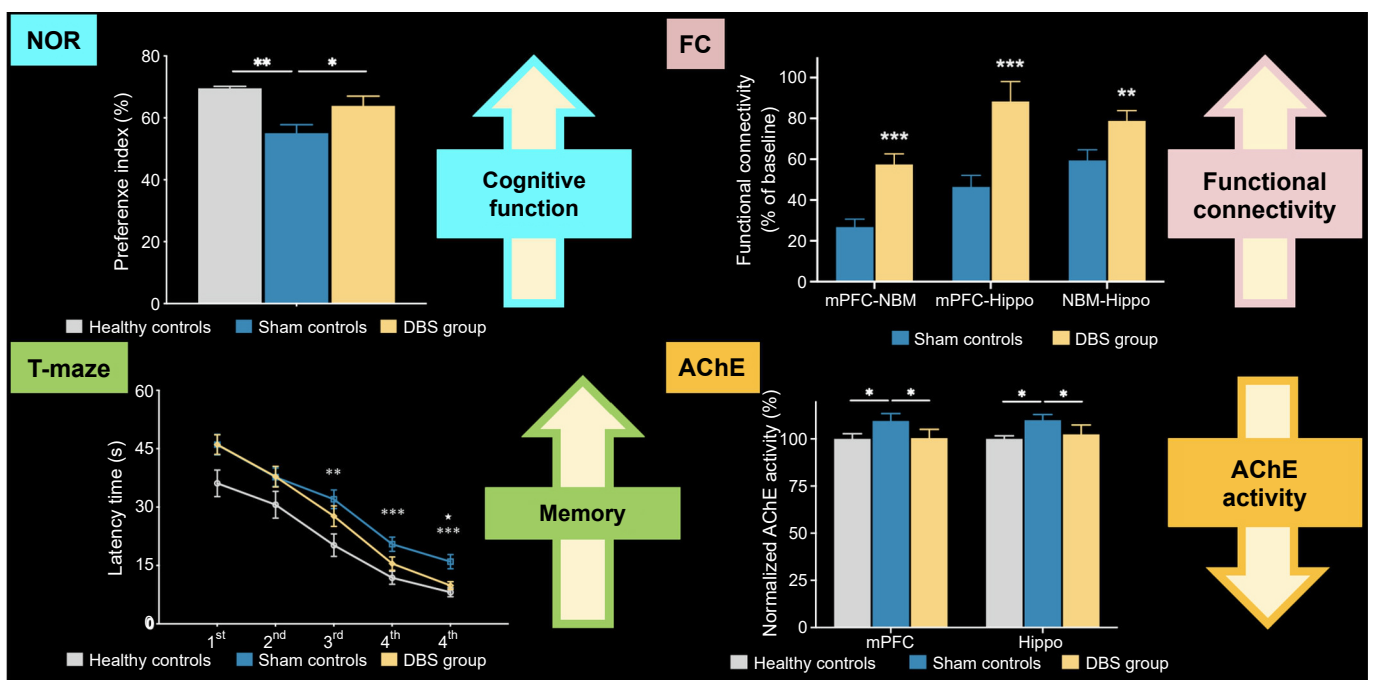


圖 7. NBM-DBS 治療阿茲海默症小鼠的結果。

#### 4. 憂鬱症

憂鬱症是一種常見的精神疾病，對患者的情緒和生活質量造成不良影響，儘管已經開發了各種治療方法，但許多患者仍然受影響且難以得到治療效果。由於快感缺乏是憂鬱症的典型特徵，並且有證據表明此症狀可能導致代謝紊亂，因此對於伏隔核 (nucleus accumbens,

NAc) 的 DBS 可能在調節多巴胺迴路上具有潛力。我們將石墨烯神經探針晶片植入了慢性社交挫敗憂鬱症小鼠模型的雙側 NAc 並進行 DBS，發現 NAc-DBS 可以減少憂鬱症小鼠的快感缺乏及降低憂鬱行為，透過功能性磁共振造影的結果，經過 NAc-DBS 的憂鬱症小鼠在多巴胺通迴路中表現出增強的功能性連結，伴隨著腦源性神經滋養因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 和神經細胞 (neuronal nuclei, NeuN) 的增加，而多巴胺 D1 受體、多巴胺 D2 受體和酪氨酸羥化酶的表現量也在前額皮質 (medial prefrontal cortex)、NAc、腹側海馬迴 (ventral hippocampus)、中腦腹側蓋區 (ventral tegmental area) 和杏仁核 (amygdala) 中有顯著性地增加。我們的研究結果表明 NAc-DBS 可以促進 BDNF 的增生，進而改變多巴胺迴路中的功能性連結和代謝能力，為憂鬱症患者提供了新的治療策略<sup>(8)</sup> (圖 8)。

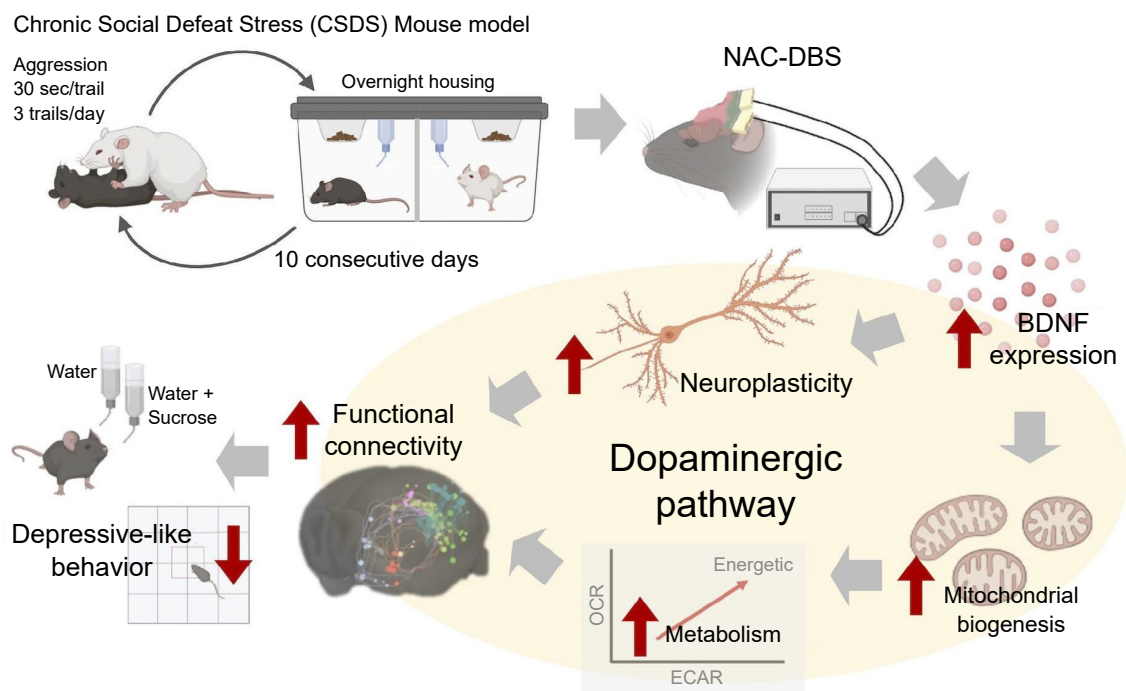


圖 8. NAc-DBS 在慢性社交挫敗憂鬱症小鼠中的治療效應。

## 5. 帕金森氏症

帕金森氏症 (Parkinson's disease, PD) 的病理及生理過程涉及到核心粒線體的異常和多巴胺神經元的退化。為了減少 PD 的運動障礙，DBS 是一種透過調節神經迴路，包括運動、認知和情感功能的常見外科治療方法。本研究針對 MitoPark PD 小鼠模型進行了 NAc-DBS 治療、行為測試、腦部磁共振成像分析以及粒線體代謝試驗。在 NAc-DBS 後，PD 小鼠模型觀察到較高的移動距離、偏好指數和 T 型迷宮正確率，表示運動和認知功能上均有改善，並且顯示出前額皮質 (medial prefrontal cortex)、NAc、腹側海馬迴 (ventral hippocampus)、中腦腹側蓋區 (ventral tegmental area) 中改善的功能性連結 (圖 9)。對於三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 的產生，相較於 Mito-Sham 組，Mito-DBS 組觀察到更高的細胞外酸素消耗率和較少的細胞內酸素酸消耗率，代表 NAc-DBS 促進了有氧代謝的功能。由上述結果表明，NAc-DBS 在 PD 治療中具有減輕代謝異常和減緩疾病進程的潛力<sup>(9)</sup>。

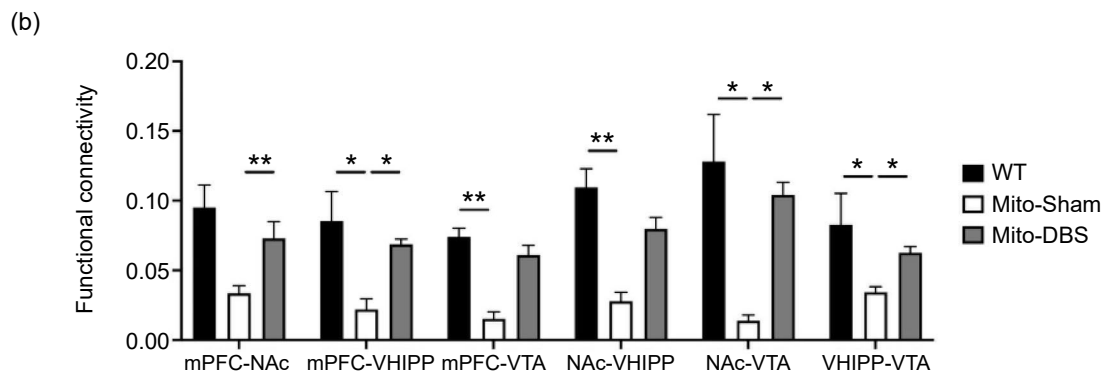
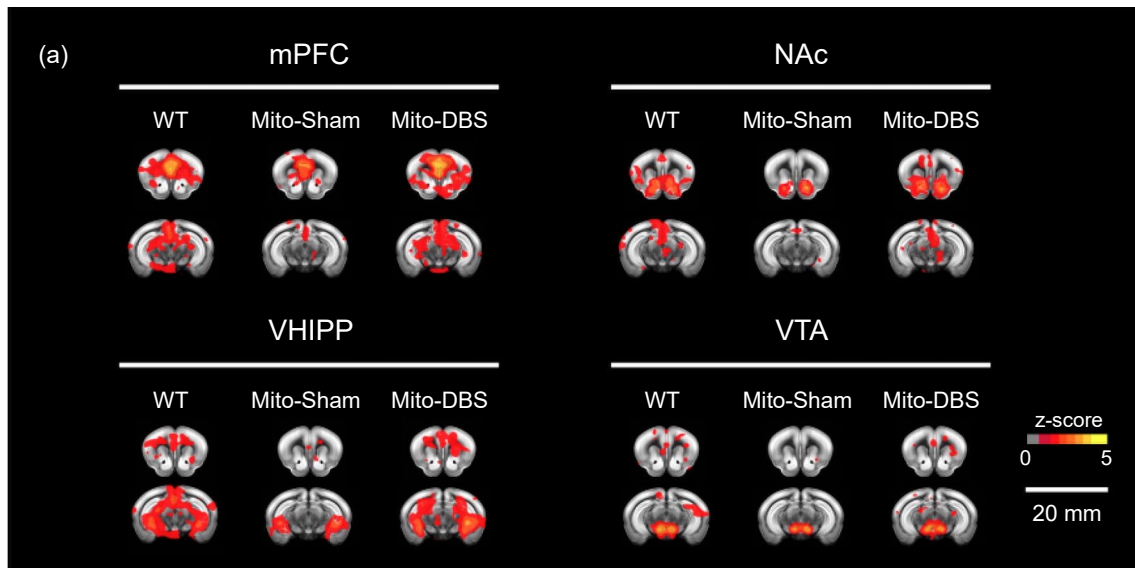


圖 9. NAc-DBS 在 PD 小鼠模型中的功能性磁共振造影結果。(a) 每個腦區的功能性連結圖。(b) 經過 NAc-DBS 的 PD 小鼠在量化後的功能性連結數值有顯著的提升。

### 三、神經探針結合光基因工程技術記錄神經活動

光基因遺傳技術目前已被廣泛應用於神經科學的研究中，藉由基因轉殖技術，使特定種類的神經細胞表現出光通道蛋白，諸如 ChR2 (channelrhodopsin-2) 和 GCaMP (green fluorescent protein calcium indicator)<sup>(10)</sup>。利用石墨烯神經探針晶片結合奈米化生物微電極陣列與光電刺激效應作用下，來傳送及釋放光基因至神經元中，同時引入的神經元標靶使其對神經元具有專一性，並可幫助細胞吞入來增加基因轉染效率。實驗結果證實了此奈米材料不僅為光基因提供保護，亦可在不同微電極通道的低電壓電穿孔來達到小區域性的光基因的轉染，在細胞實驗中可增加至 8 倍以上，更進一步在動物體內實驗發現基因的轉染的效率可達 10 倍以上，最後配合具有光波導之神經探針晶片進行腦內非病毒載體之光基因轉染，呈現非常好的效果，有利於後續的深腦光調節進行神經迴路興奮或抑制如圖 10 所示<sup>(11)</sup>。

然而，為了能夠量測到光基因蛋白生成的訊號，藉由改良石墨烯神經探針晶片的製程，將合適的光纖與石墨烯神經探針結合，以開發出能夠同時量測神經電生理與神經光學訊號的石墨烯神經光纖探針 (圖 11)。而如圖 12 所示，不同電流刺激強度所引發的神經活動，可以經由改良的石墨烯神經光纖探針晶片同時記錄到神經電生理與神經光學訊號，足以顯示石墨烯神經探針晶片在未來擁有廣泛應用在多種神經科學研究中的潛力<sup>(12)</sup>。

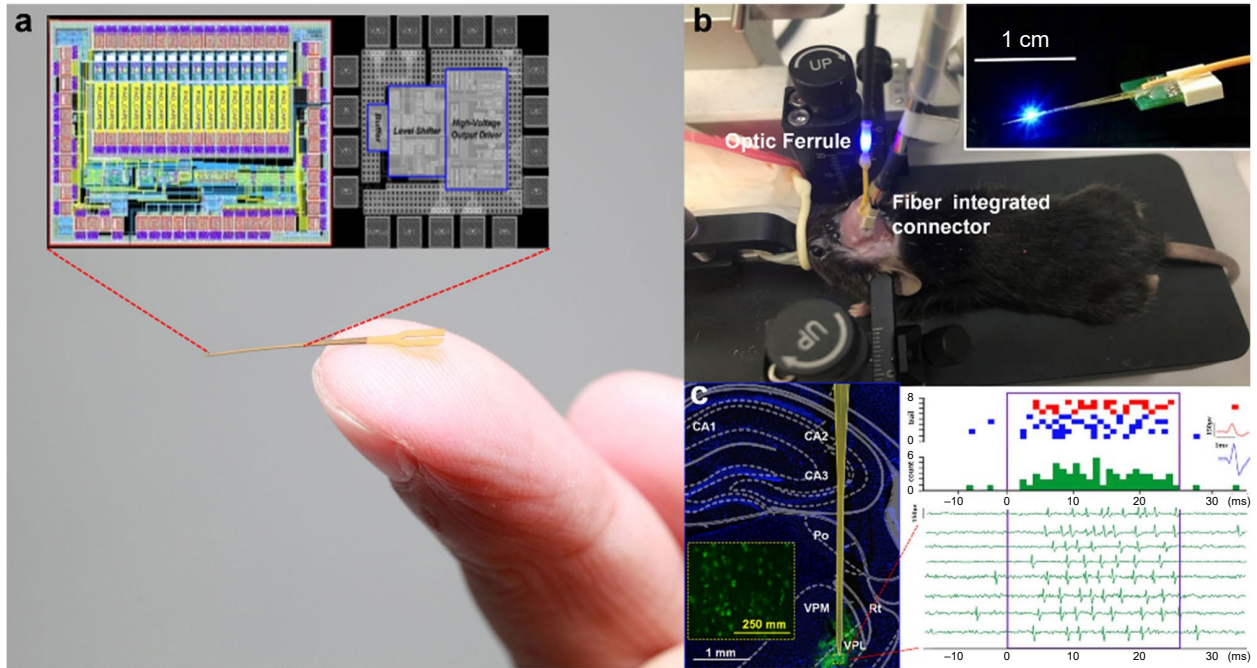


圖 10. 神經晶片整合主動電路可進行電刺激與訊號記錄，同時光波導結構進行光遺傳學之神經调控。

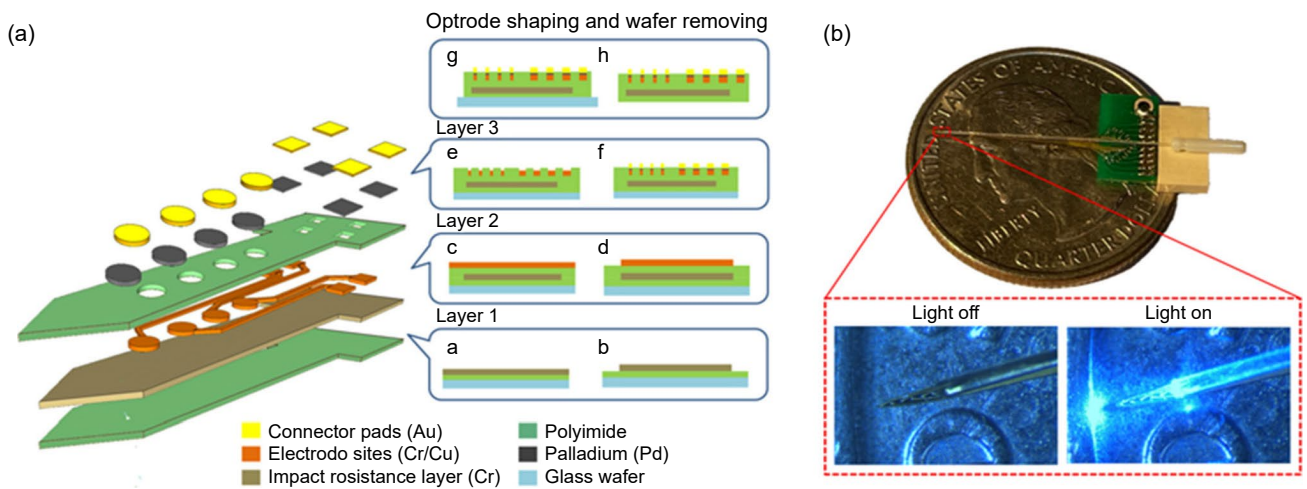


圖 11. (a) 石墨烯神經光纖探針的微製程流程圖，包括橫截面與俯視圖。(b) 石墨烯神經光纖探針的照片。

#### 四、結論

本團隊開發了石墨烯神經探針晶片，在神經科學研究領域取得了創新的進展，這新一代的研究工具具備多功能感測和磁振造影相容的特點。這項技術不僅有助於改進腦科學研究，還可以應用於多面向檢測腦部疾病的病程發展或治療，透過不同病症的影像學分析結果以及神經訊號的差異，我們能將這些資訊作為特徵值導入機器學習進行人工智慧 (AI) 模型的訓練，未來能有效地垂直整合診斷與治療兩大功能，有助於神經退化性疾病與神經精神疾病的精準治療。



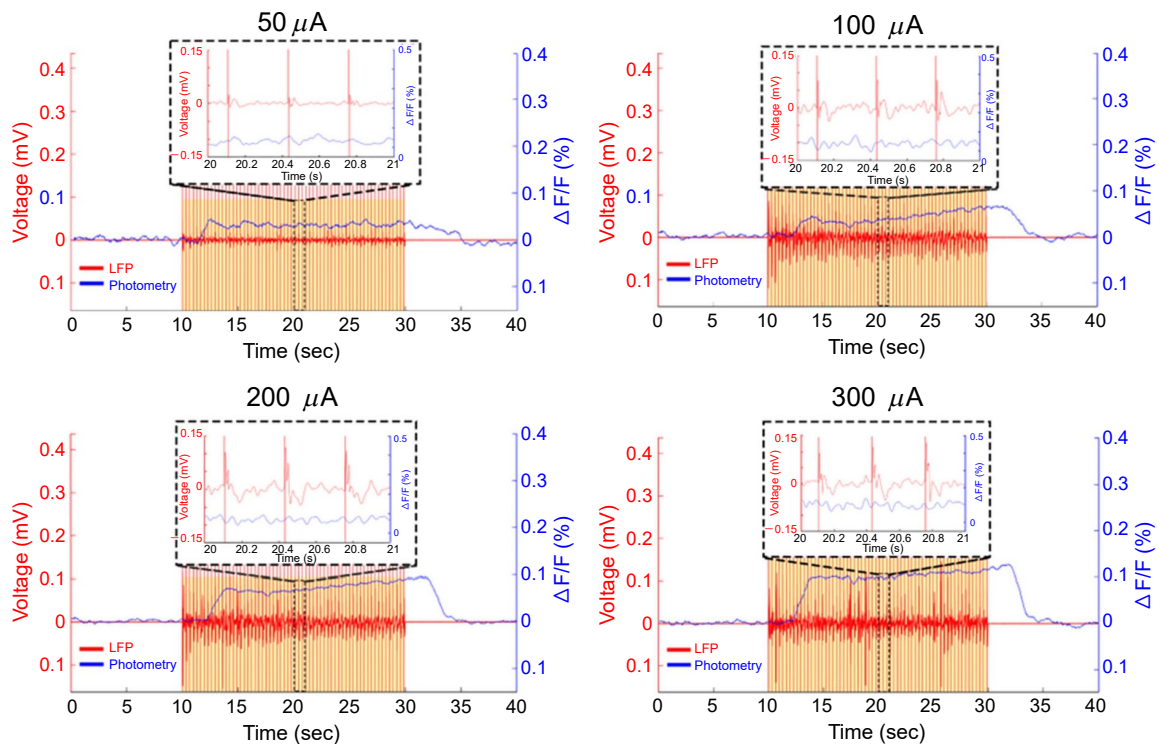


圖 12. 在不同電流刺激大小下，可以藉由石墨烯神經光纖探針同時記錄到神經電生理與神經光學訊號。

此外，我們團隊積極響應永續發展的趨勢，通過自主研發永續綠色科技，實現了神經探針晶片的永續生產。這一技術不僅降低了碳排放量，還有助於減少對環境的不良影響，同時為我們提供了競爭優勢，使我們能夠在未來的產業競爭中保持領先地位。

總而言之，我們開發的「石墨烯神經探針晶片」不僅推動了神經科學領域的進步，還響應了全球永續發展的呼聲，為未來的科學研究和產業應用開辟新的道路。

## 參考文獻

1. Ritchie Chen, Andres Canales, Polina Anikeeva, *Nature Reviews Materials*, **2** (2), 16093 (2017).
2. Xiao Yang et al., *Nature materials*, **18** (5), 510 (2019).
3. Maurizio Gulino, Donghoon Kim, Salvador Pané, Sofia Duque Santos and Ana Paula Pêgo, *Frontiers in neuroscience*, **13**, 689 (2019).
4. Nanthia Suthana, Itzhak Fried, *Neuroimage*, **85**, 996 (2014).
5. Ssu-Ju Li et al., *Neuroscience*, **440**, 65 (2020).
6. Ting-Chun Lin et al., *Brain stimulation*, **12** (6), 1410 (2019).
7. Chang, C.W. et al., “MR imaging deep brain stimulation of the nucleus basalis meynert restored cognitive function in Alzheimer's disease Model”, International Society for Magnetic Resonance in Medicine, June 3-8 (2023)
8. Ssu-Ju Li et al., *Neurobiology of Stress*, **26**, 100566 (2023).
9. Chen, T.C et al., “Therapy of Parkinson's disease related motor and cognitive decline with deep brain stimulation of nucleus accumbens”, International Society for Magnetic Resonance in Medicine, June 3-8 (2023)
10. Attila Kaszas et al., *Scientific Report*, **11**, 9775 (2021).
11. Wei-Chen Huang et al., *ACS applied materials & interfaces*, **11** (12), 11270 (2019).
12. Yao-Wen Liang et al., *Biosensors*, **13**, 265 (2023).

## 作者簡介

陳右穎先生為國立臺灣大學電機工程學系博士，現為國立陽明交通大學生物醫學工程學系教授。

You-Yin Chen received his Ph.D. in Electrical Engineering from National Taiwan University. He is currently a Professor in the Department of Biomedical Engineering at National Yang Ming Chiao Tung University.

陳三元先生為美國密西根大學材料科學與工程學系博士，現為國立陽明交通大學材料科學與工程學系教授。

San-Yuan Chen received his Ph.D. in Ann Arbor USA Materials Science and Engineering from University of Michigan. He is currently a Professor in the Department of Materials Science and Engineering at National Yang Ming Chiao Tung University.

李思儒先生現為國立陽明交通大學生物醫學工程學系博士生。

Ssu-Ju Li is currently a Ph.D. student in the Department of Biomedical Engineering at National Yang Ming Chiao Tung University.

張瀟文小姐為國立陽明交通大學生物醫學暨工程科技產業博士學位學程博士，現為中央研究院生醫轉譯中心博士後研究員。

Ching-Wen Chang received her Ph.D. in Industrial Ph.D. Program of Biomedical Science and Engineering from National Yang Ming Chiao Tung University. She is currently a Postdoctoral research fellow at the Biomedical Translation Research Center, Academia Sinica.

梁耀文先生現為國立陽明交通大學生物醫學工程學系博士生。

Yao-Wen Liang is currently a Ph.D. student in the Department of Biomedical Engineering at National Yang Ming Chiao Tung University.