

研究要旨

刺激電極による電気刺激の有効性及び安全性を精査するために、*in vitro* 及び *in vivo* 実験を行った。カエル剥離網膜を用いた *in vitro* 実験では、どのような電気刺激（強度、刺激パターンなど）で、どの範囲の、どの種類の細胞が、どう応答するか、をカルシウムイメージング法により精査し、本プロジェクトにて採用予定の経脈絡膜刺激（STS方式）の有効性を示した。モルモットを使った *in vivo* 実験では、網膜電気刺激が視覚を惹起するかどうかを明らかにするために、大脳皮質一次視覚野において膜電位感受性色素を用いた光計測システムを構築し、実験を行った。その結果、網膜電気刺激により、視覚野において応答を確認することができた。

A. 研究目的

人工網膜システムを現実のものとするためには、刺激電極を評価し、刺激条件を適切に定める必要がある。しかし、多点電極装置を用いた電氣的応答の測定のみでは、電気刺激に対する細胞レベルの生物学的応答を測定することはできない。そこで、細胞内での重要な情報伝達物質であり、細胞の活動により濃度が変化する、細胞内カルシウムイオン濃度を指標とし、その測定システムを構築するとともに、電気刺激によるカルシウム濃度変化の測定を行った。

B. 研究方法

(1) *in vitro* カルシウムイメージング装置および計測法の確立

[実験動物]

実験動物には、無尾目アカガエル科ウシガエル (*Rana catesbeiana*: 体長 10~15

cm) を用いた。ウシガエルは一年を通して入手が可能で飼育が容易であり、変温動物であるため、試料としての取り扱いが容易で、長時間にわたっての実験が行える。実験動物の取扱いは、大阪大学大学院工学研究科動物実験委員会の方針に基づいて行った。網膜は、脊髄穿刺後眼球を取り出し、

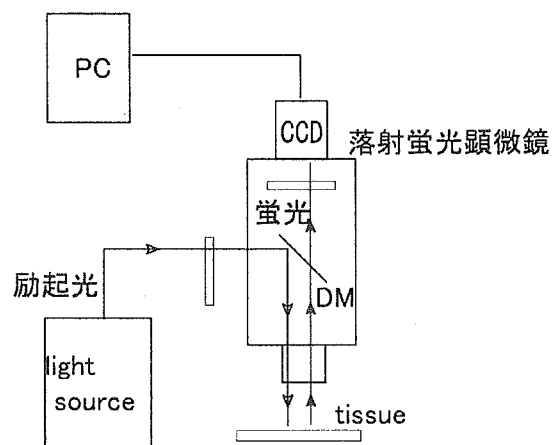


図1. カルシウムイメージングシステムの概略図

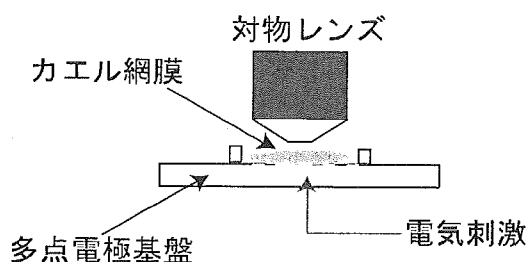


図 2. 電気刺激方法の概略図。多点電極基盤を用い視細胞側から刺激を行った。

剥離した。

[カルシウムイメージング]

本研究では、細胞外からカルシウム蛍光指示薬を導入し、その蛍光を測定することで、カルシウム濃度変化を測定する方法を適用した。測定のためのイメージング装置には、顕微鏡 (BX-51WI, Olympus) に高速冷却 CCD (NeuroCCD256sm, Red Shirts Imaging) を取り付けたものを用いた。得られたデータは専用ソフトウェア (NeuroPlex, Red Shirts Imaging) を用い PC により処理した。イメージングシステムの概略図を図 1 に示す。

また、カルシウム蛍光指示薬には、Oregon Green 488 BAPTA-1 (Molecular Probes) を用い、視神経断端より逆行性に神経節細胞を染色した。

[電気刺激]

神経節細胞のイメージングを行うためには、顕微鏡の対物レンズ側に神経節細胞が向くようにしなければならない。そのため、ガラス基盤多点電極 (Multi Electrode Array, Multichannel Systems) を用い、STS 方式を模擬した刺激を視細胞側から与えた (図 2)。また、刺激には持続時間 300 μsec 、パルス間隔 100 μsec の双極電流刺激を用

いた。この際のカルシウム濃度上昇が起こった細胞の範囲が電極の周囲にどのように分布するのか確かめるために、刺激強度、刺激回数を変化させ応答範囲を精査した。

C. 研究結果

[カルシウムイメージングによる細胞応答範囲の評価]

刺激を与えた際の応答範囲を定量的に評価するために、刺激強度・刺激回数を変化させ、カルシウム蛍光指示薬の刺激開始時からの蛍光変化量を積分し、応答範囲を計測した。図 3 に単一パルス刺激を与えた場合、図 4 に 100 Hz 50 回刺激を与えた場合の各刺激強度に対する蛍光強度変化の様子を示す。単一パルス刺激の場合、100 μA 以上の刺激で神経節細胞が反応し、蛍光強度変化の積分値が 0.5 % を超えた範囲は、視神経に平行な方向、垂直な方向どちらも約 200 μm 以下であった。これは、カエルの眼球の直径が 1 cm 程度であると考えて、視角に換算すると約 1.2° に対応する。また、この応答範囲は刺激電流値を増加させてもほとんど変化しなかった。図 4 に示すように刺激回数を増加させると 50 μA の刺激強度でも神経節細胞の応答が十分観測することができた。しかし、この場合においても、神経節細胞の応答範囲は 1 回刺激の場合とほとんど変わらなかった。

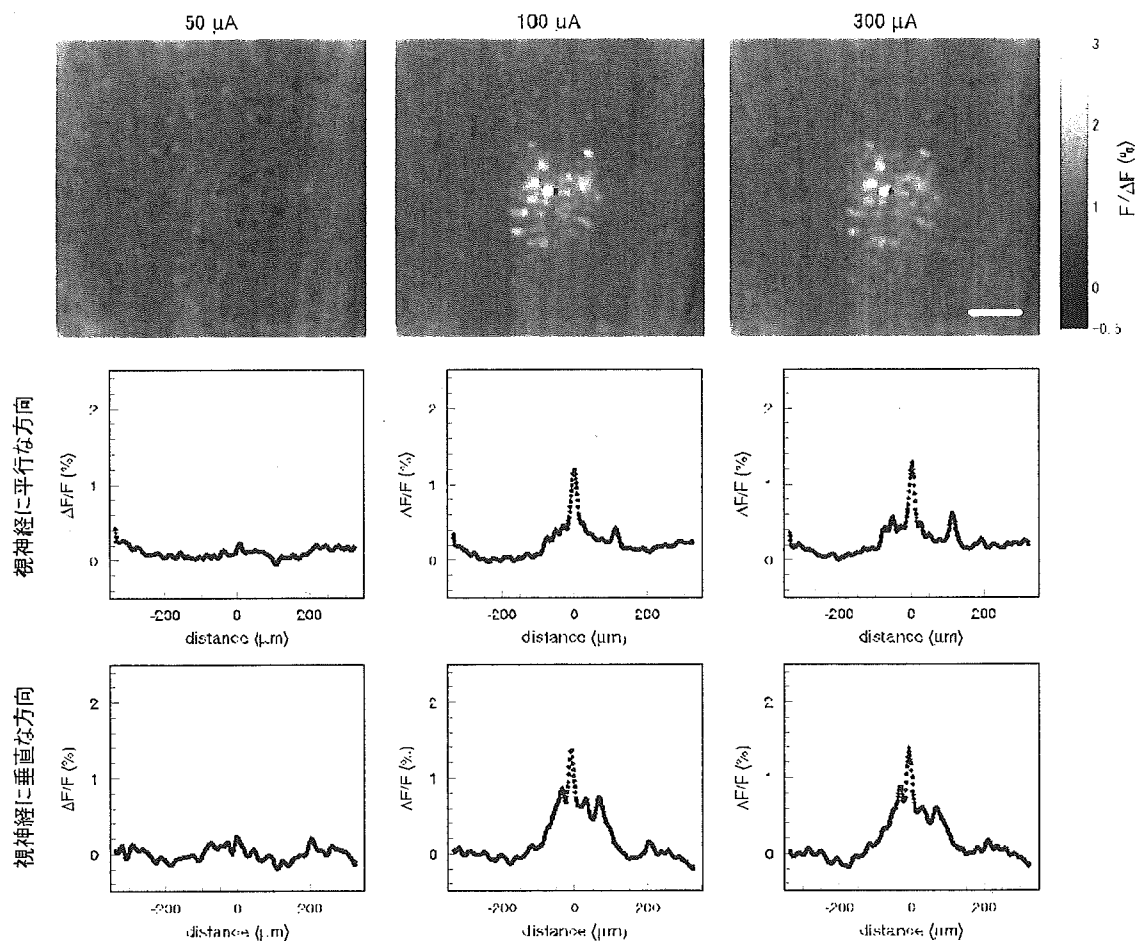


図3. 視細胞側から単一パルス刺激を与えた際の神経節細胞におけるカルシウム濃度上昇。
 (上) カルシウム感受性蛍光色素により測定された細胞内カルシウム濃度上昇の様子。刺激電極の位置を赤点で示し、上に刺激強度を示す。明るいとところほどカルシウム濃度変化が大きい。右に蛍光変化量のカラーバーを示す。スケールバーは 100 μm 。下のグラフは刺激電極上視神経に平行な方向 (中段)、垂直な方向 (下段) の蛍光強度変化のラインプロファイル。

D. 考察

in vitro カルシウムイメージング装置および計測法の確立

本研究では、カエル剥離網膜標本を用い、電気刺激による、神経節細胞のカルシウム濃度変化を測定した。カルシウムイメージングシステム及びカルシウム感受性色素の導入法を確立したことにより、細胞活性の

指標である細胞内カルシウム濃度が、電気刺激によりどのように変化するかを測定することが可能となった。このことは、電気刺激が網膜細胞に与える、生物学的影響を評価するために重要なことである。

今回確立したシステムを用いることにより、個々の神経節細胞の応答に対する、刺激強度依存性、刺激回数依存性を明らかにすることが可能となった。このシステム

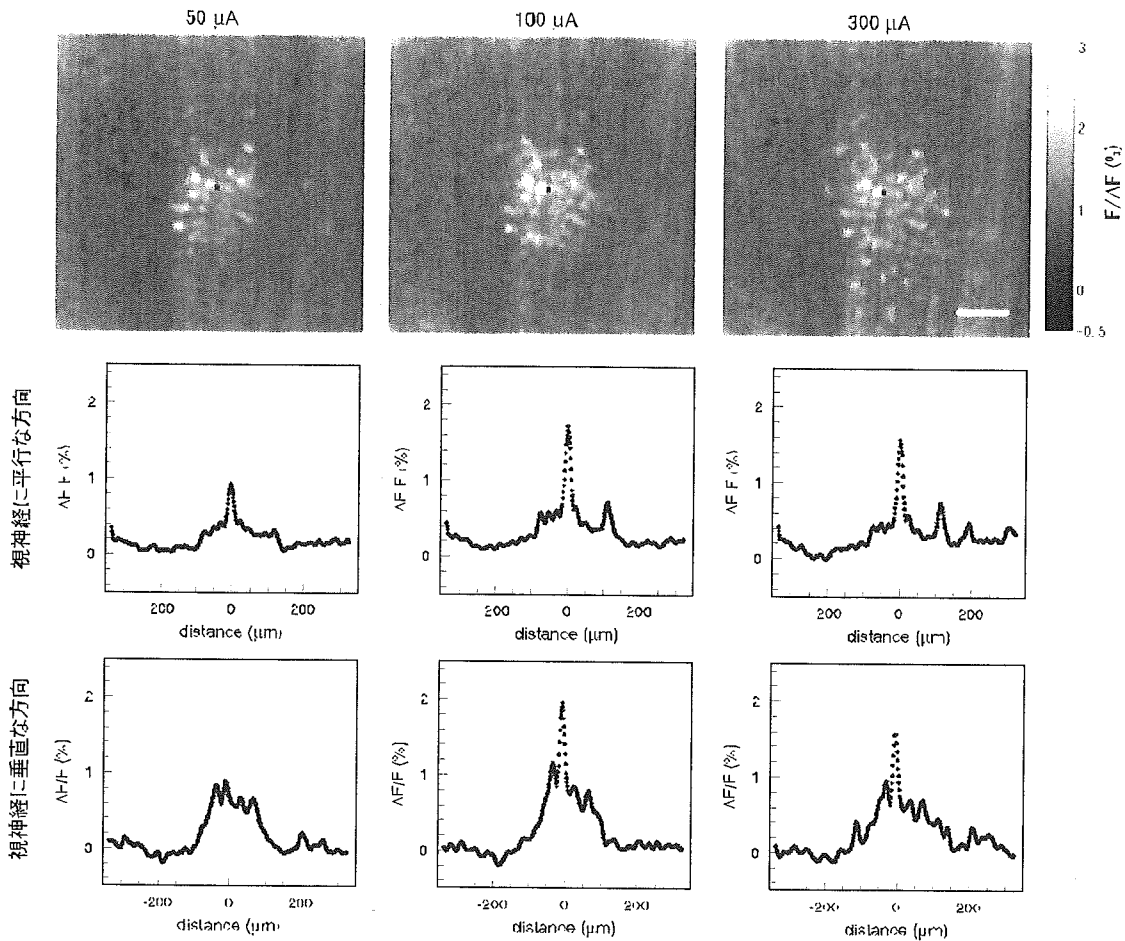


図4. 視細胞側から 100 Hz 50 回刺激を与えた際の神経節細胞におけるカルシウム濃度上昇。

(上) カルシウム感受性蛍光色素により測定された細胞内カルシウム濃度上昇の様子。刺激電極の位置を赤点で示し、上に刺激強度を示す。明るいとところほどカルシウム濃度変化が大きい。右に蛍光変化量のカラーバーを示す。スケールバーは 100 μm 。下のグラフは刺激電極上視神経に平行な方向 (中段)、垂直な方向 (下段) の蛍光強度変化のラインプロファイル。

を用いて視細胞側を刺激した場合、視神経束に対応する応答はほとんど観測されず、神経節細胞の応答のみが観測された。また、刺激回数を増加することにより、応答する神経節細胞の範囲を大きく変化させることなく、刺激閾値が低下することが分かった。

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

[1] Kameda S and Yagi T An analog silicon retina with multichip configuration. IEEE transactions on Neural Networks. 17: 197-210, 2006

E. 健康危惧情報

- [2] Park J-H., Kim J-H., Suh S-H., Shin J-k., Lee M., Choi P., Yagi T. A complementary metal-oxide-semiconductor vision chip for redge and motion detection with a function for output offset cancellation. Optical Review, 12: 15-19, 2005.

2. 学会発表

- [1] 下ノ村和弘, 串間宇幸, 井上恵介, 八木哲也, 日本神経回路学会第15回全国大会, 鹿児島, 2005/9/20-22, 一次視覚野のニューラルイメージをエミュレートする人工視覚システム.

厚生科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）
分担研究報告書

網膜刺激型電極のデバイスの開発

分担研究者 太田 淳 奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科 教授

研究要旨

網膜刺激型電極システムへの適用を目的として、電極とチップ実装方式及びパルス周波数変調 (Pulse Frequency Modulation; PFM)方式に基づく刺激チップの研究を行った。電極材料として IrO_x を反応性スパッタにより成膜し、CV等により最適成膜条件を求めた。またこの IrO_x 膜をスタッドバンプ上に形成して分散型刺激電極アレイを作製する方式を考案し、デバイスを試作した。また考案した分散型電極の実装方式を Si-LSI に適用できる実装プロセスをより信頼性を高めかつ曲げやすい構造を実現可能なフリップチップ実装方式を提案し試作を行った。PFM方式では、低消費電力を実現できるキャパシティブフィードバック方式を実装した 4 近傍演算を可能とする 32×32 画素 PFM 方式イメージセンサの設計およびその動作実証を行った。

A. 研究目的

本研究の目的は、脈絡膜上経網膜刺激 (STS: Suprachoroidal Transretinal Stimulation) に適した実装方式の開発とともに、網膜刺激型人工視覚デバイスにパルス周波数変調方式 (PFM: Pulse Frequency Modulation) ビジョンチップの適用を目指して、PFM の機能改良を行うことである。PFM は光強度に応じた頻度のデジタルパルス列を出力する方式の受光方式である。高い光感度や、広ダイナミックレンジ、高耐ノイズ性、高デジタル親和性などの特徴を持つことから、体内埋植デバイスに非常に適している。

昨年度はこの PFM 方式に基づく刺激電極アレイを作製し、蛙遊離網膜を用いた刺激実験によりその有効性の実証を行った。また分散型刺激電極についての実現方式に関する検討を実施した。具体的には、Si-LSI 上への Pt/Au スタッドバンプ電極形成プロセスの確立とその動作実証及び LSI マイクロチップベース分散型刺激電極アレイを行った。

今年度は、昨年度提案しその基本実証を行った分散型電極について、これまで用いてきた Pt 電極より電荷注入効率の高い IrO_x 電極材料の Si-LSI 上形成プロセスの提案と実証を行う。また Si-LSI に適用できる実装プロセスをより信頼性を高めかつ曲げやすい構造を実現可能なフリップチップ実装方式を提案し試作を行う。また搭載する LSI マイクロチップの改良設計を実施する。PFM 方式では、低消費電力を実現できるキャパシティブフィードバック方式を実装した 4 近傍演算を可能とする 32×32 画素 PFM 方式イメージセンサの設計およびその動作実証を行う。

B. 研究方法と結果

(1) Si-LSI 上への IrO_x スタッドバンプ電極形成プロセスの確立とその動作実証

電極数を増やすためには、電極サイズ小型化が必須である。現在の Pt 電極は安全な電圧範囲を考慮すると

200 μm ϕ 以上のサイズが必要となるため、それ以上の小型化のためには、より高い電荷注入効率を持つ電極材料を選定する必要がある。ここでは Pt に比べて 5 倍程度電荷注入効率の高い IrO_x を選定し、その LSI への形成方法を開発した。反応性スパッタ法により IrO_x 薄膜を成膜した。作製した IrO_x 試料での C-V 及び電荷注入能力評価実験より、電荷注入量は 1000-2500 $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ となった。これは文献値の 3000 $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ と同程度の電荷注入能力である。 IrO_x 電極の作製条件として、成膜厚や C-V の結果から成膜圧力 1 Pa、酸素分圧 100% の条件が最適であった。

次にこの IrO_x をバンプ電極上に形成する方法を考案し、その電荷注入能力を評価した。図1はその形成方法である。形成手順は以下の通りである。

- ① エキシマレーザー加工装置によりポリイミド基板を加工し配線が露出するまで削る。
- ② レーザーマイクロカッタを用いて露出した配線を少し削る。
- ③ ボールボンディング装置で Au バンプを形成し、その上に Pt バンプを形成する。バンプは大きさ $\phi 100\mu\text{m}$ とする。
- ④ Au/Pt 二段バンプを先端が露出するようにエポキシ樹脂で包埋する。
- ⑤ モールドした上からシリコン樹脂をスピコートする。
- ⑥ 被膜したシリコン樹脂をエキシマレーザーにより開口後、スパッタリングによって 100nm 厚の IrO_x コート膜を形成する。
- ⑦ シリコン樹脂を剥離することにより、電極上のみ IrO_x が形成。

本プロセスを用いて Si-LSI 上に IrO_x 電極を形成した結果を図 2 に示す。また形成した電極を Pt 電極と CV 法により比較した結果を図 3 に示す。また図 4 は生理食塩水中で 200 μA のバイフェージックパルス電流を注入した結果である。電圧振幅も IrO_x の方が Pt より小さくなった

ている。これらの結果から、電極サイズの大きさは必ずしも完全に同一ではないが、同一プロセスにより形成した Pt バンプ電極より明らかに大きな電荷注入効率を実現できている。

課題として IrO_x 電極の注入効率の注入電流値依存性がある。これは IrO_x 中の $\text{Ir}^{3+}/\text{Ir}^{4+}$ の可逆反応に関係していると推定されるが、今後の詳細な検討が必要である。

(2) LSI マイクロチップベース分散型刺激電極アレイの改良—フリップチップ実装—

昨年度開発した分散型刺激電極アレイは、LSI チップ上にバンプ電極を形成後、包埋し電極部分のみを穴あけするため、包埋材料と電極材料との界面からの液体のしみこみ等が懸念される。またチップ間にはワイヤで接続されるため、断線等信頼性の点で懸念がある。これらを解決するため、図 5 に示すようなフリップ実装方式を考案した。あらかじめ基板に形成した配線パターン上にフリップチップ実装することにより、ワイヤ接続が不要になり、また刺激電極は基板の上に直接形成することとなり、電極材料のシールがより確実になる。

提案方式に基づき Si ダミーチップを用いたフリップチップ実装刺激電極アレイを試作した。図 6 はその概観写真である。今後実際の Si-LSI マイクロチップを搭載して生理食塩水中での電流注入実験を行い、完成度を高める。

(3) PFM 方式フォトセンサアレイの低消費電力化と画像処理機能の実証

PFM フォトセンサは広いダイナミックレンジを持ち、低電圧動作も可能である。しかし、電源電圧を低電圧化した場合、遅延を大きくしないと安定にパルスを発振することができず、ダイナミックレンジが狭くなるという問題がある。また、画素面積を縮小するためにインバータチェーンを短くすると、更に低電圧化が困難になる。これらの課題を解決する PFM 方式として容量帰還リセット型 PFM(C-PFM)を提案し、試作回路によりその有効性を実証した。図 7 は C-PFM の回路図である。また図 8 は入射光照射度に対する出力パルス周波数の関係である。電源電圧 1.2V という低電圧で通常のイメージセンサと同等の 70dB のダイナミックレンジが獲得できおり、低消費電力化が達成できている。

さらにこの C-PFM 方式を用いて 4 近傍画像処理機能を有する 32×32 画素アレイを $0.35 \mu\text{m}$ CMOS プロセスを用いて試作した。表 1 にその仕様を示す。図 9 は試作したチップの写真で、図 10 は画像処理例である。良好な画像処理が実現できており、埋込下での限られた電力供給状態での画像処理機能実現が実証できた。

C. 考察

IrO_x 電極の電荷注入効率の電流依存性に関しては、成膜条件によるものかどうかも含めて今後詳細に検討する必要がある。更に電極材料として TiN な安定な材料の検討も必要である。

フリップチップ実装方式の分散型刺激電極アレイは、高い信頼性を確保できるが、まだマイクロビアホール形成方法などその作製プロセスは完全に確立されていない。今後は DRIE(Deep Reactive Etching)等の装

置の導入により、3 次元微細構造を再現性よく作製可能な技術の確立を目指す。また現在 Si-マイクロチップの改訂版を試作中である。これはプロセスルールを $0.6\text{-}\mu\text{m}$ CMOS から $0.35\text{-}\mu\text{m}$ CMOS に変更し、より高密度に回路を集積化したことと、起動時の動作特性を改良し、より信頼性がある動作を目指したものである。これらのチップをフリップチップ実装方式刺激アレイ電極に用いて試作を行い、生理食塩水中での動作実証を目指し、その後動物実験での動作検証を行う必要がある。

D. 結論

電極材料として IrO_x を反応性スパッタにより成膜し、CV 等により最適成膜条件を求めた。またこの IrO_x 膜をスタッドバンプ上に形成して分散型刺激電極アレイを作製する方式を考案し、デバイスを試作した。また考案した分散型電極の実装方式を Si-LSI に適用できる実装プロセスをより信頼性を高めかつ曲げやすい構造を実現可能なフリップチップ実装方式を提案し試作を行った。PFM 方式では、低消費電力を実現できるキャパシティブフィードバック方式を実装した 4 近傍演算を可能とする 32×32 画素 PFM 方式イメージセンサの設計およびその動作実証を行った。

E. 健康危険情報
なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- [1] Yi-Li Pan, T. Tokuda, A. Uehara, K. Kagawa, J. Ohta, M. Nunoshita, "A Flexible and Extendible Neural Stimulation Device with Distributed Multi-chip Architecture for Retinal Prosthesis," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **44** (4B), 2099-2103, 2005.
- [2] A. Uehara, Yi-Li Pan, K. Kagawa, T. Tokuda, J. Ohta, M. Nunoshita, "Micro-sized photo detecting stimulator array for retinal prosthesis by distributed sensor network approach," *Sensors & Actuators: A*, **120** (1), 78-87, 2005.
- [3] T. Tokuda, Yi-Li Pan, A. Uehara, K. Kagawa, M. Nunoshita, J. Ohta, "Flexible and extendible neural interface device based on cooperative multi-chip CMOS LSI architecture," *Sensors & Actuators: A*, **122** (1), 88-98, 2005.
- [4] T. Furumiya, D. C. Ng, K. Yasuoka, K. Kagawa, T. Tokuda, M. Nunoshita, J. Ohta, "Functional verification of pulse frequency modulation-based image sensor for retinal prosthesis by in vitro electrophysiological experiments using frog retina," *Biosensors & Bioelectronics*, **21** (7), 1059-1068, 2006.
- [5] D. C. Ng, T. Furumiya, K. Yasuoka, A. Uehara, K. Kagawa, T. Tokuda, M. Nunoshita, J. Ohta, "Pulse Frequency Modulation-based CMOS Image Sensor for Subretinal Stimulation," *IEEE Trans. Circuits and Systems II*, in press.

2. 総説

太田 淳, 「網膜下人工視覚」, 臨床眼科, 59 (11), 112-117, 2005.

3. 学会発表

- [1] K. Yasuoka, K. Kagawa, J. Ohta, M. Nunoshita, "A 0.9-V pulse frequency modulation photosensor based on capacitive feedback reset," Proc. SPIE, 5667, 1-8, 2005.
- [2] J. Ohta, T. Tokuda, K. Kagawa, Y. Terasawa, M. Ozawa, T. Fujikado, Y. Tano, "LSI-Based Stimulus Electrodes for Retinal Prosthesis," The 2nd U.S. Department of Energy (DOE) International Symposium on Artificial Sight, 2005
- [3] J. Ohta, T. Tokuda, K. Kagawa, M. Nunoshita, "Retinal prosthesis device based on pulse-frequency-modulation vision chip," IEEE Int'l Symposium on Circuits and Systems (ISCAS), pp. 2923-2926, 2005.

4. 受賞

IP アワード開発奨励賞「分散型アーキテクチャによるフレキシブル生体刺激・計測デバイス」

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

視覚再生補助装置

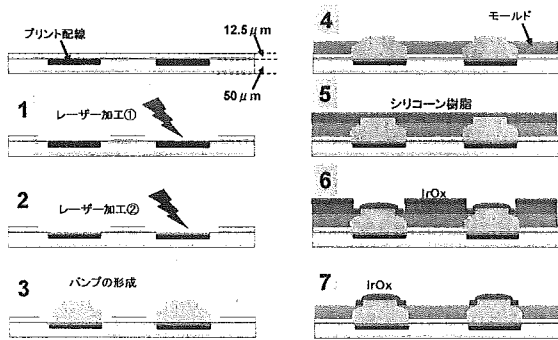


図1: IrO_x バンプ電極形成方法

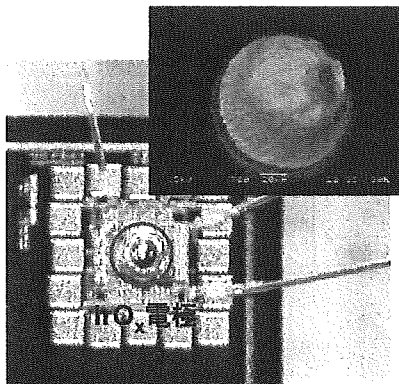


図2: Si-LSI上に形成した IrO_x スタッドバンプ電極. 右上は電極部 SEM 写真.

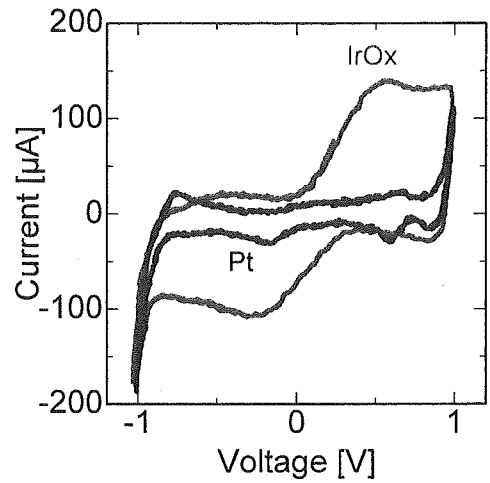


図3: Si-LSI上に形成した IrO_x 電極と Pt 電極の CV.

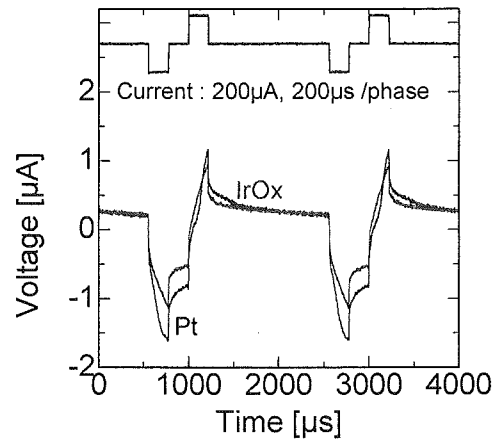


図4: 生理食塩水中への電流注入. 上は電流パルス波形, 下は電圧波形を示す.

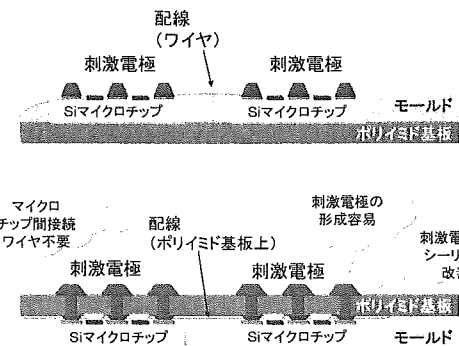


図5: 分散型刺激電極アレイ断面図. 上: 従来方式. 下: フリップチップ実装方式.

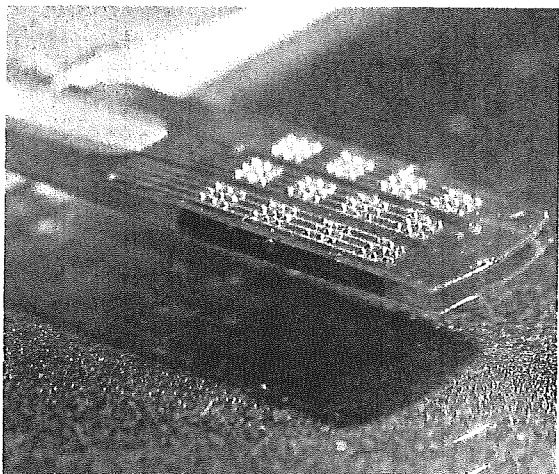


図 6: 試作フリップチップ実装刺激電極アレイ

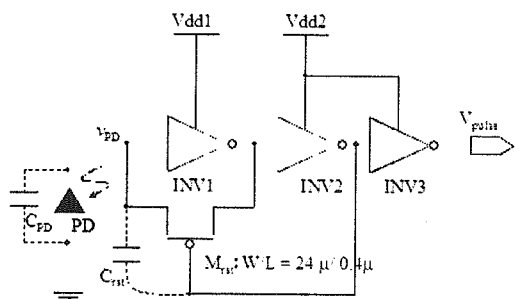


図 7: 容量帰還リセット方式PFM (C-PFM) 回路.

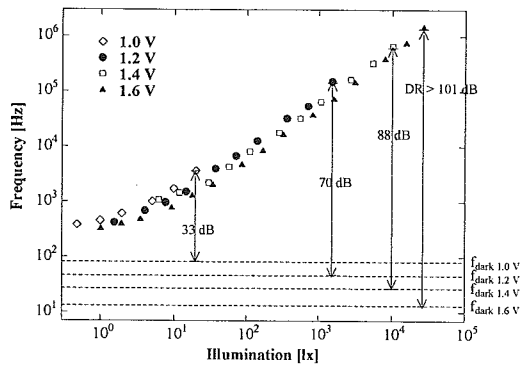
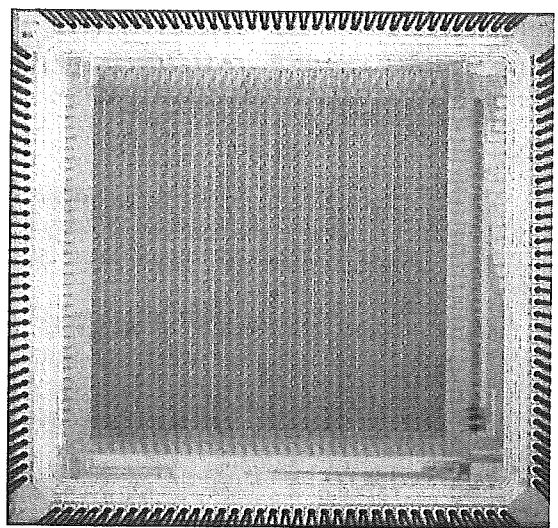


図 8: C-PFM 方式ビジョンチップの照度-周波数特性. パラメータは電源電圧.



4.9 mm

図 9: 32×32 画素 C-PFM 方式ビジョンチップの概観写真.

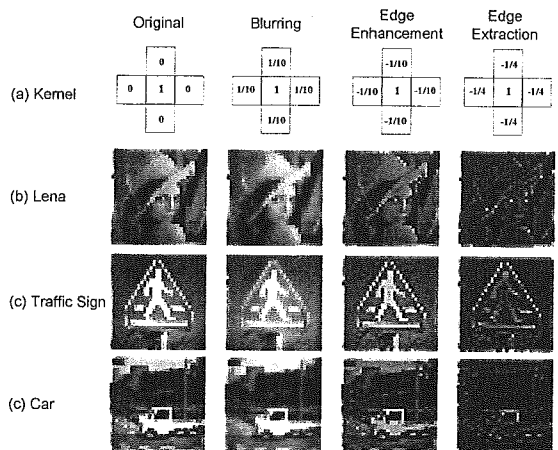


図 10: 試作 C-PFM ビジョンチップによる画像処理結果.

表 1: 試作 C-PFM ビジョンチップの仕様

テクノロジー	0.35- μm CMOS (2-poly, 3-metal)
チップサイズ	4.9 mm sq.
画素数	32 x 32
画素サイズ	100 μm sq.
フォトダイオード	7.75 μm x 15.60 μm (P substrate / Nwell junction)
電源電圧	1.25 V (core) 3.3 V (level shifters and output buffers)
光感度	178 Hz/lx@ 1.0 V, 103 Hz/lx@ 1.2 V, 65.6 Hz/lx@ 1.4 V, 56.8 Hz/lx@ 1.6 V
消費電力	0.16 μW /pixel (dark)@ 26 kfps, 1.25 V

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

分担研究報告書

網膜刺激型電極によるトータルシステムの開発

分担研究者 小澤素生 株式会社ニデック 副社長

研究要旨

脈絡膜上-経網膜刺激 (STS: Suprachoroidal-Transretinal Stimulation)方式の人工視覚システムの開発を目的として、各要素技術の開発と試作機の製作を行った。通信の安定度を上げるため受信回路の改善を行い、安定した通信が可能になった。また、体内装置側の負荷変調回路の改善を行い、損失は激減し従来とまったく同じ変調が可能であることが確認できた。急性臨床実験に使用する9ch 刺激装置を製作した。100ch 刺激電極を試作し、確立してきた要素技術で製造可能なことを確認した。また、個々の電極が刺激に必要な電荷注入を安全に行なう能力を有することも確認した。眼球上に設置するマルチプレクサ回路をIC化し、機能・性能を評価し使用可能であることを確認した。今までに開発してきた要素技術を組み合わせて、STS方式に対応した人工視覚システムの試作機を開発し評価試験を実施している。

A. 研究目的

人工視覚システムとして脈絡膜上-経網膜刺激（以下 STS: Suprachoroidal-Transretinal Stimulation）方式に必要な各要素技術の開発とその要素技術を組み合わせてSTS方式に対応した人工視覚システムの試作機を開発し、評価試験の実施を研究目的とした。

STSに対応した試作機のシステム構成を、図1に示す。

（1）RF 電力伝送ならびに通信

昨年の研究成果により、RFでの電力伝送と通信の用途は立ったが実用化に向けては大きな課題が2つ残った。通信の安定度、コイル間距離が変動すると通信ができなくなる問題と通信を行なうために変調回路を追加することにより伝送電力が低下し十分な電力が得られなくなることであった。

今回は、通信回路を改善することにより安定度向上と伝送電力の損失低減を目指した。

（2）9ch 刺激装置

急性臨床実験を行なうために必要な刺激装置の開発を行なった。刺激閾値の評価およびパターン認識の評価がスムーズかつ安全に行なえることを目指した。

（3）100ch 刺激電極の開発

人工視覚システムの開発目標である100ch電極アレイを試作する。平成16年度までに個別の要素技術を確認したが、これらを統合し製品レベルに近いものを試作し、問題点の洗い出しおよび性能評価を行なう。

（4）マルチプレクサICの開発と検証

STSに対応した人工視覚システムを実現するため、眼球上に設置するマルチプレクサ回路をIC化し、機能と性能を評価し、試作機に使用可能であることを確認する。

（5）試作機の開発と評価試験

今までに開発してきた要素技術を組み合わせて、STS方式に対応した人工視覚システムの2次試作機を開発する。この試作機を用いて、評価を行い、電氣的・機械的構造の妥当性を調べる。

これまで使用していた電極基板材料（ポリイミド）は動物実験用途に限定されていたため、別のポリイミドを用いて電極基板の製作し、その電極基板材料の生物学的安全性を調べる。

電気刺激発生回路部と電極アレイ部をつなぐために使用するワイヤーのリード部分の繰返し曲げおよび引張りに対する耐久性を確認するため繰返し曲げ試験並びに引張試験を実施し、曲げ応力または引張

負荷による断線または電氣的絶縁部の破損のない材料、線径などの検討を行なう。

B. 研究方法と成果

(1) RF 電力伝送ならびに通信

まず、通信の安定度を上げるため受信回路の改善を行なった。電力伝送用搬送波を振幅変調することにより通信を行なっているが、伝送電力に大きな影響を与えないようにするため変調度は10%程度に低く抑えられている。従来の回路では、この変調信号をそのまま増幅した後に2値化していたためコイル間距離の変動によって搬送波の振幅が10%変化しただけでも全く通信できなくなっていた。今回は半波整流によって復調した信号の変化分のみを増幅して2値化するように改善を行なった。これにより、搬送波のレベルが大きく変動しても2値化回路にはほとんど影響がなくなり、コイル間距離4~8mmにおいて安定した通信が可能になった。

次に、体内装置側の負荷変調回路の改善を行なった。調査の結果、電力損失の原因は変調用のFETの出力容量であることが判明した。負荷変調を行なうため、2次コイルの両端にFETを接続していたが、FETがOFFであっても出力容量が存在するため、高周波の電流はFETを通過して負荷電流が流れてしまい大きな損失となっていた。対策としてFETを2次コイルの中間タップに接続することを検討した。中間タップは電位の中立点であるため、高周波成分はほとんどなく、損失は激減した。このような回路例は他にないため果たして従来と同様の変調を行なうことが可能であるかどうか検証が必要であった。回路分析および実験の結果、回路定数を変更することにより従来とまったく同じ変調が可能であることが確認できた。

(2) 9ch 刺激装置

急性臨床実験においては患者の疲労を考慮し、手早く条件設定できることが要求される。刺激閾値は数字で直接設定する方が自由度は高いが、これでは設定に手間取り患者への負担が大きくなってしまう。閾値の調整はある程度段階的に変更していく方が試行回数を少なくできるため、予め電流設定を11段階に限定し、ロータリースイッチで切替えられるように設計した。設定の変更が1動作で可能となった。

次にパターン認識の評価をしやすいように検討を行なった。刺激電極は3×3のマトリックスになっているためこれと全く同じようにLED付き押しボタンスイッチを配置することとした。このスイッチは押すたびにON/OFFが切替りLEDによって刺激パターンが直感的に把握できる。試行したいパターンを瞬時に設定できる。

急性臨床実験に使用するため、医療機器としての耐圧試験、漏れ電流試験等の安全性試験も行った。

(3) 100ch 刺激電極の開発

我々は平成16年度までに、バンプ電極形成、微細配線およびチップ実装の要素技術を確認した。これらを用いて、2次試作機の電極アレイを設計製作した。刺激電極は高さ30 μm の円柱形状を有し、下層29 μm の金、および上層1 μm の白金から構成されている。電極全体は厚さ10 μm のパリレンで被覆されるが、円柱上面において直径200 μm の領域のみパリレンが除去されて白金が露出している。電極は10×10の格子状配列にてポリイミド基板上に形成され、電極間距離は400 μm である。この電極の作成手順は以下の通りである。まずメッキ用の厚膜レジストでバンプ電極アレイのネガパターンを形成し、メッキを用いて金/白金の円柱を形成した。次にフォトレジストを除去した後にパリレンを蒸着し、最後にエキシマレーザーを用いて白金を露出させた。メッキによる電極の高さ制御が困難で当初は高さ10 μm 前後のバンプしか形成できなかったが、メッキ条件および検査方法を最適化することで目標であった30 μm のバンプを再現性よく形成することができた。刺激電極の顕像およびSEM像を図2~4に示す。

刺激電極とマルチプレクサICを接続する導体として、耐食性および導電率に優れる金を選択した。スパッタリングにて厚さ1 μm の金を成膜、この上にフォトレジストで配線パターンを形成後に金を溶解除去することで配線パターンを形成した。線幅および線間距離は最小でそれぞれ9 μm /10 μm である。金の微細配線パターンを図5に示す。サイドエッチングのため線幅は設計値より小さくなる傾向があったが、導線として十分機能することが確認できた。マルチプレクサICの実装については、非導電フィルムを用いたフリップチップ接合によりポリイミド基板上に電氣的機械的に接続可能であることが確認できた。

チップ実装までの一連のプロセスにおいて、電極基板を保持し、最後に剥離可能な支持体が必要であった。いくつかの候補材料を比較検討した後、ステンレスの薄板を選定した。ステンレス板上に上記の電極/配線形成およびチップ実装を行い、最後にステンレスを溶解除去することで電極アレイを支持体から確実に分離させることができた。

また並行して、上記バンプ電極を2個有する評価用電極も作成し、その電荷注入能力を評価した。評価の結果、適切に不良を除去することで、開発目標であったパルス幅500 μs 、パルス高さ200 μA のカソードイックファースト(CF)パルス電荷注入が可能であることが明らかになった。評価用2極電極の写

真を図 6 に電荷注入能力の評価結果を表 1 に示す。

(4) マルチプレクサ IC の開発と検証

① 回路構成と評価方法

試作した IC の内部ブロック図を図 7 に、チップ写真を図 8 に示す。また、主な仕様を表 2 に示す。

体内装置本体と刺激電極部を電線で接続する必要があるため、MPX チップの入力端子数は極力少ない事が望ましい。そこでデータ入力はシリアル・データとクロックのみとし、他は刺激電流の入力である lin と 2 系統の電源と Gnd という端子構成である。なお刺激出力回路同等の 20V の耐圧を確保するために、LDD(Light Doped Drain)構造をもつ高耐圧 0.8 μ m CMOS プロセスを使用した。

内部ブロック図からわかるように、15 ビット・シリアルデータから 7 ビットを取り出しパラレル 120 ビットに変換、該当するアナログ・スイッチを制御するという回路構成である。レベルシフト以降は 120 チャンネル全て同じ回路なので、評価方法は、入力データに対して該当するアナログスイッチのみが ON し、非該当のものが OFF であることを確認する事がポイントとなる。

そこで、データとして 00h から 7Fh までを順に入力し、抵抗を介してプルダウンされた lin 端子波形をモニターした。評価対象チャンネルのパッドを電源 Vs と同電位にすると、アナログスイッチが ON した期間のみモニター波形が Vs と同電位となり、動作が確認できる。

② 基本動作

図 9 に Iout 1 端子評価時の動作確認波形を示す。図中上側の波形は、データ入力全期間のモニター波形である。一瞬だけ H レベルになっており、この瞬間のみアナログスイッチが ON していることがわかる。[] で囲まれた時間範囲を拡大し、クロック、シリアルデータとともに表示したものが図中下側の波形である。01h のデータ入力後から次の 02h 入力完了までの間、モニター波形が H レベルになっている。

全てのチャンネルのパッドを同様に確認し、入力データに対応する期間のみ H レベルが観測され、設計どおりの動作をしていることが確認できた。

③ 高速動作

どこまで高速にデータ入力が可能かを評価した。これはクロックとデータの入力回路であるシフトレジスタの特性である。7 ビット全てのデータが入れ替わる 0Fh と 10h を交互に入力し、該当するアナログスイッチが ON/OFF する事で動作確認を行った。クロックの周波数を 12.5MHz に設定した時の動作波形を図 10 に示す。これは本用途に対して十分高速な動作である。

(5) 試作機の開発と評価試験

STS に対応した試作機の全体システム構成を、図 11 に示す。体内装置の構造図を図 12 に示す。体外装置のシステム構成を図 13 に示す。

これらを今までに蓄積した要素技術を用いて試作した。

① 体内装置

図 12 に試作した体内装置の写真を示す。ヒトに埋植するためにはサイズを可能な限り小さくする必要がある。このため、刺激用 IC をチップのままフリップ実装した。また、厚みを薄くするため 0.6mm 厚の基板を使用したことで、基板サイズを 35mm \times 25mm \times 4mm にすることができた。制御 IC については試作であるため仕様変更に対応できるように 1 チップ CPU を使用しボード上でプログラムの変更ができるようにした。

埋植した場合、体内装置の動作状態を直接確認することはできないので、内部状態を通信によりモニターできるようにした。

製作フローの概略を以下に示す。

1. ウェハ上にポリイミド基板を成膜、Au 配線を製作
2. ポリイミド基板上にメッキにより刺激電極を製作
3. ポリイミド基板上ワイヤー接続部にコネクタ材を製作
4. ポリイミド基板へのパリレン保護膜の成膜と外形切り出し
5. ポリイミド基板へのワイヤー接続とワイヤー整形・包埋
6. マルチプレクサ部のパリレン保護膜製膜とシリコーン包埋
7. ワイヤー、硝子体電極を体内装置本体基板と接続
8. 体内装置本体のケース溶接とシーリング
9. 体内装置本体部のシリコーン包埋
10. 体内装置全体へのパリレン保護膜製膜
11. 電極部のパリレン保護膜除去

② 体外装置

図 13 に体外装置を示す。体外装置本体とカメラを内蔵したバイザー、1 次コイル、動作確認および訓練用 PC で構成される。体外装置本体には制御用ボードコンピュータと電力伝送通信用ドライバーボード、電源制御ボード、リチウム電池からなる。外出を考慮して電池の持続時間は 8 時間とし、また、長時間の使用を考慮して AC アダプタによる使用と充電も可能なように設計した。カメラは非常に小型の物を選択することでバイザーも通常のサングラス程度に小型化できた。

体外装置本体のサイズは腰に装着することを考

慮して可能な限り小型化した。このため、装置の設定、調整、詳細な動作確認等の機能は別 PC を利用するようにしている。

③制御ソフト

システム全体を制御・監視するソフトウェアを製作した。代表的画面を図 14 に示す。カメラで撮影した画像を画像処理し体内装置に送るモードと、特定の刺激パターンを特定の刺激パラメータで体内装置に送るモードがある。PC からは各種設定が可能であり、任意の刺激パターンを利用することでリハビリにも使用できるように考慮した。LAN で接続された PC で制御するモードと、一旦設定した後スタンドアロンで動作するモードがある。

④評価試験

ポリイミドの細胞毒性試験を外部試験機関に依頼して実施した。試験方法はポリイミドフィルム培地抽出液 25~100%の濃度範囲で V79 細胞を用いるコロニー形成法における細胞毒性作用を検討した。培地抽出法における陰性材料として、高密度ポリエチレンフィルムを、また被験物質（ポリイミド）の毒性の程度を知るため、強い細胞毒性作用を示す標準材料 A、0.1% zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) 含有ポリウレタンフィルムを、弱い細胞毒性作用を示す標準材料 B、0.25% zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC) 含有ポリウレタンフィルムを使用し、被験物質（ポリイミド）との比較対象とした。

ポリイミドフィルムの培地抽出液は、陰性材料である高密度ポリエチレンフィルムの培地抽出液と同様、いずれの濃度においても V79 細胞のコロニー形成を阻害しなかった。一方、0.1%ZDEC 含有ポリウレタンフィルム抽出液および 0.25%ZDBC 含有ポリウレタンフィルム抽出液の IC₅₀ 値（コロニー形成を 50%阻害する濃度）はそれぞれ 0.70%および 73%であった。

リード（ワイヤー）繰返し曲げ試験は、厚生省医薬安全極通知第 1439 号「植込み型心臓ペースメーカ基準」に準じて行ない、リード試験部分を、固定されたリード保持具で重力のもとで垂直にぶら下がるように据え付けた。引張り負荷を加え、保持具は最低 47,000 サイクル、約 2Hz で垂直両方向に 90° +0° /-5° で振れさせた。また断線の有無については計測回路を組み、リード両端に DC5V を加えてレコーダにて断線までの往復回数と断線までの時間を記録した。

刺激電極用リードについてはすべて基準に合格し、問題ないことが確認できた。硝子体電極用リードでは、φ80μm SUS 7 本撚り線は 8 本共に合格したが、φ140μm SUS 7 本撚り線は 8 本中 4 本が断線した。4 本は平均 35,000 サイクル程度で断線が見られ、断線

箇所はすべて繰返し曲げ R 部下端であった。φ120μm Pt-Ir 9 本撚り線については、10 本中 2 本の断線が 40,000 サイクル程度であった。

リードワイヤー引張り試験は、同様に「植込み型心臓ペースメーカ基準」に準じて行なった。リードが 20%の伸びを生ずる値または最低 5N までの引張り負荷とし、引張り負荷は最低 1 分間かけた。引張り試験後の確認のための漏れ電流測定は各 2 電極間に 100±5V の直流試験電圧をかけ、少なくとも 15 秒間は 100±5V の値を維持した。合格基準は、5%を越える恒久的伸びもしくは恒久的かつ機能的な破損がないことと、各導線および参照電極間で測定した漏れ電流並びに電極を持つ導線間で測定した漏れ電流は、電圧をかけているとき 2mA を越えないことである。

長期インピーダンス試験用、刺激用リードは全て合格した。硝子体電極用では φ140μm SUS 7 本撚り線と φ120μm Pt-Ir 9 本撚り線の 2 種類は合格したが、φ0.1mm 白金線を φ140μm SUS 撚り線に溶接したものと φ100μm 白金線の 2 種類で断線が発生した。φ80μm SUS 撚り線 1 本を外径 1.0mm モールドチューブにしたものは被覆の恒久伸びが発生し不合格であった。漏れ電流は断線しなかった全てのリードで 0.5 mA 以下であり問題なかった。被覆の恒久伸び率も規定範囲内であった。

C. 考察および結論

(1) RF 電力伝送ならびに通信

送信回路、受信回路を改善することによりコイル間距離の変動に対する安定度を十分に確保することができた。また、電力伝送と通信を実用レベルで両立することにも成功した。

今回の試作においては十分な伝送電力が得られたが、今後刺激電極の多極化が進むと電力不足になる可能性が考えられ、さらなる改善が必要である。

(2) 9ch 刺激装置

操作パネルを工夫することで、急性臨床実験に最も適した刺激装置を開発することができた。実際の実験においても非常に操作しやすく患者への負担を十分に軽減できた。

今回の刺激装置ではファーストパルスとセカンドパルスが対称なバイフェーシックパルスしか出力できないが、今後非対称パルスの必要性が出てくる可能性がある。操作性を損なわずに機能を追加していくことを検討する必要がある。

(3) 100ch 刺激電極の開発

従来開発してきた要素技術を組み合わせて完成品を製作可能であることが確認できた。また個々の電極が刺激に必要な電荷注入を安全に行なう能力を有

することも確認した。今後は電極の生体内環境における長期安定性の評価を実施していく予定である。なお刺激電極製作において、パリレンをエキシマレーザーで除去するプロセスに関しては奈良先端科学技術大学院大学の太田教授および徳田助手に技術指導いただいた。

(4) マルチプレクサ IC の開発と検証

STS に対応した体内装置のためのマルチプレクサを IC 化できた。基本動作、高速動作とも設計どおりの動きをしており問題ない。IC 単体としては、当面の動物実験等に用いるのに十分な性能を有している。

(5) 試作機の開発と評価試験

ヒトに埋め込み可能なサイズの体内装置と、それを駆動する体外装置および制御ソフトを完成させ、RF 電力伝送、通信、刺激の機能が正常に動作することを確認できた。今後は、この試作機を評価する実験系を立ち上げ、電氣的・機械的構造の妥当性を評価していく。

評価に耐え得る安定した品質の体内装置を製作するには、各工程における生産技術の確立が必要である。具体的には、ハンドリング性を良くするための治工具や、構造再現性のある製作手順を整備する必要がある。

試作機の体内装置は、実際にヒトに埋め込むには若干大きめとなってしまったが、本作においてはディスクリート部品を内製 IC の中に取り込むことで大幅なサイズダウンが期待できる。

様々な仕様変更に対応できるようにするため、制御部に汎用のボードコンピュータを使用したため、消費電力が大きくなり電池が大きくなった。実際に使用するには少々大きすぎるが、今後専用の制御ボードを製作することにより十分な小型化で軽量化が可能になると考えられる。

電極基板材料としてのポリイミドフィルムの培地抽出液には細胞毒性作用がないことが示された。現在試作中の人工視覚システムとしてはこの電極基板に生体安全性の高いポリパラキシレン(パリレン)コーティングを施すことで実験動物あるいは人体への直接接触はほとんどないが、今後皮膚感作性試験、埋植試験などさらなる検証を重ね、製品化へ向けて安全性を十分検討していく必要がある。

リードの耐久性について、繰返し曲げ試験および引張試験結果から、刺激用リードは共に合格となったが、参照電極(硝子体電極)についてはすべての試験に合格したものはなかった。現段階では繰返し曲げ試験で 10 本中 2 本が断線した $\phi 120\mu\text{m}$ Pt-Ir 9 本撚り線をスパイラル状にする等の断線対策を施すことなどの製作方法の検討により解決可能であると考える。

D. 健康危惧情報 特になし

E. 研究発表

1. 論文

なし

2. 総説

鐘堂健三「人工視覚(4)脈絡膜上-経網膜刺激方式人工視覚システム」臨床眼科 2005 Vol.59 No. 11 (増刊号) pp124-129.

3. 学会発表

①齊藤徹、寺澤靖雄、小澤素生「人工視覚システムにおけるイオンマイグレーションの防止」第 44 回日本生体医工学会、2005 年 4 月 27 日、ポスター、つくば市

②寺澤靖雄、田代洋行、小澤素生「人工視覚システムにおける白金薄膜電極の電荷注入能力評価」第 44 回日本生体医工学会、2005 年 4 月 27 日、ポスター、つくば市

③田代洋行、寺澤靖雄、中谷正義、小澤素生「人工視覚システムの生体内電極インピーダンス計測系の確立」第 44 回日本生体医工学会、2005 年 4 月 27 日、ポスター、つくば市

④田代洋行、寺澤靖雄、中谷正義、長原美樹、小澤素生、中内一揚、不二門尚、田野保雄「人工視覚システムの安全性評価のための中期的慢性通電下における電極インピーダンス計測」第 43 回日本人工臓器学会、2005 年 12 月 1 日、ポスター、東京都

④寺澤靖雄、田代洋行、上原昭宏、斎藤徹、小澤素生、徳田崇、太田淳「人工視覚システムにおける多極電極の開発」第 43 回日本人工臓器学会、2005 年 12 月 1 日、ポスター、東京都

F. 知的財産権の出願・登録状況

① 特願 2005-232878 (出願日 H17.8.11) 「視覚再生補助装置」発明者：鐘堂健三、上原昭宏、太田淳、徳田崇

② 特願 2005-287948 (出願日 H17.9.30) 「視覚再生補助装置」発明者：寺澤靖雄

③ 特願 2006-3090 (出願日 H18.1.10) 「視覚再生補助装置」発明者：齊藤徹

④ 特願 2006-28963 (出願日 H18.2.6) 「負荷変調通信回路およびこれを備えた視覚再生補助装置」発明者：米澤栄二

【図表】

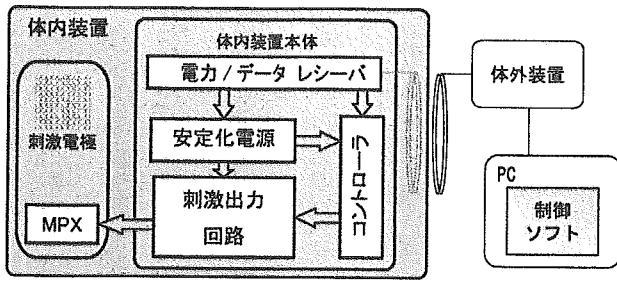


図 1. 人工視覚システム 構成図

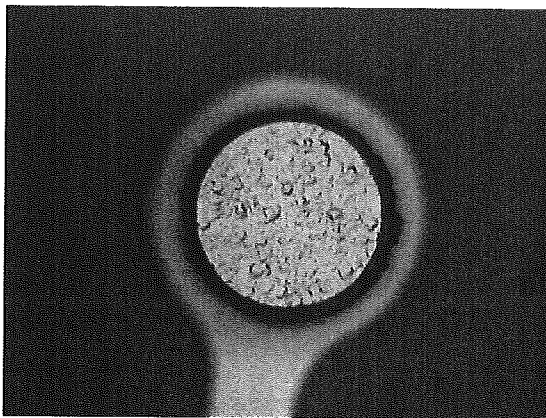


図 2. 刺激電極の光頭像

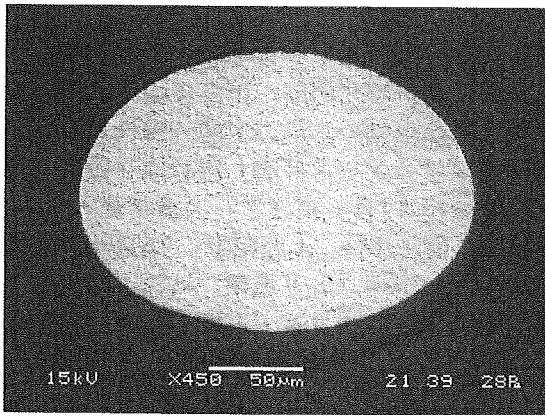


図 3. 刺激電極の SEM 像

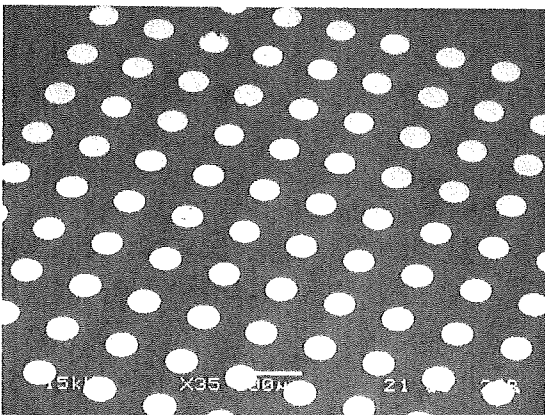


図 4. 刺激電極アレイの SEM 像

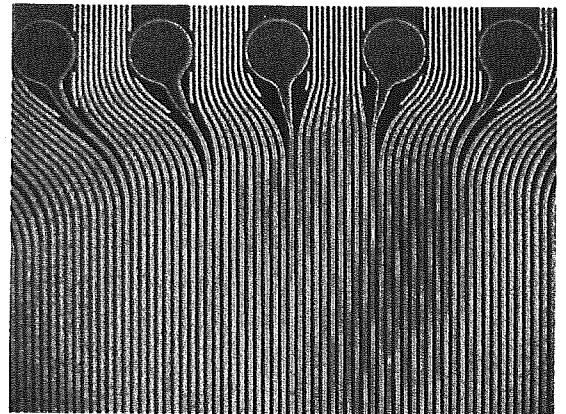


図 5. 金の微細配線パターン



図 6. 評価用 2 極電極

電極番号	ch	AF/CF	Qinj[$\mu\text{C}/\text{cm}^2$]
1	1	AF	76
1	1	CF	324
1	2	AF	32
1	2	CF	243
2	1	AF	46
2	1	CF	324
3	1	AF	73
3	1	CF	320
3	2	AF	83
3	2	CF	326

表 1. 評価用電極の電荷注入能力評価結果

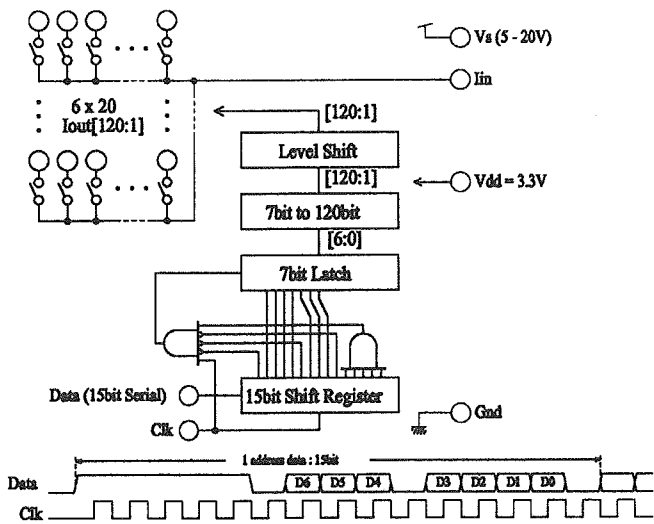


図 7. ブロック図

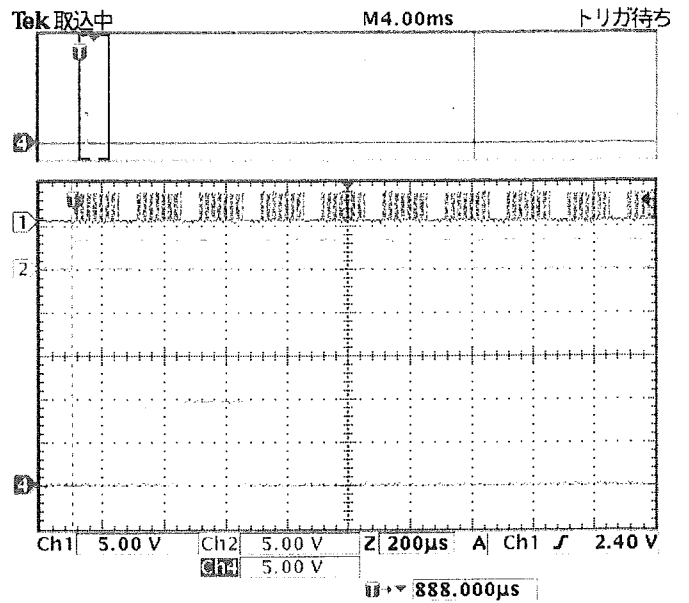


図 9. Iout 1 端子の動作波形

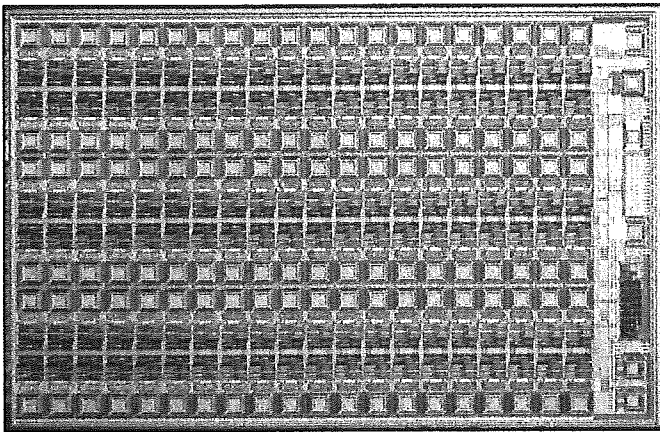


図 8. チップ写真

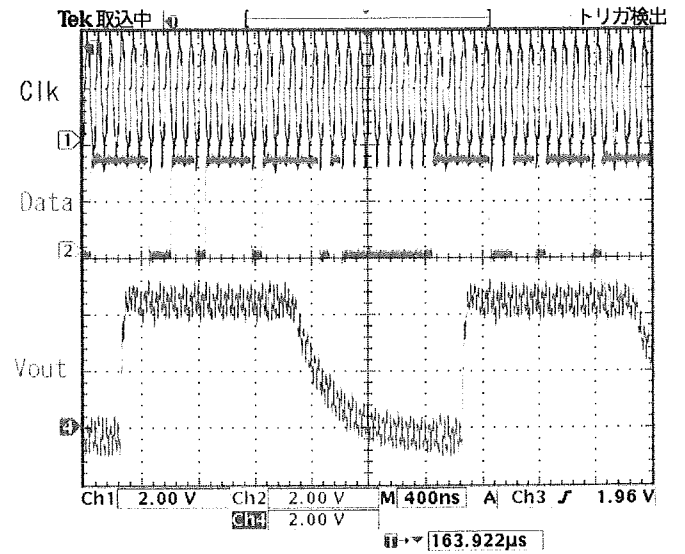


図 10. 高速動作波形

プロセス	0.8µm 2Poly 2Metal HV-CMOS
アナログスイッチ 電源電圧(Vs)	5~20V
ロジック回路 電源電圧(Vdd)	3.3V
アナログスイッチ on抵抗	800 Ω @Vs=5V 300 Ω @Vs=20V
最大入力 クロック周波数	5MHz

表 2. 主な仕様

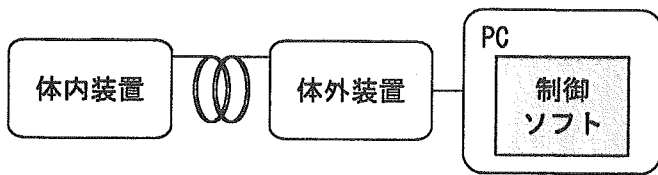


図 11. 体外装置 システム構成図

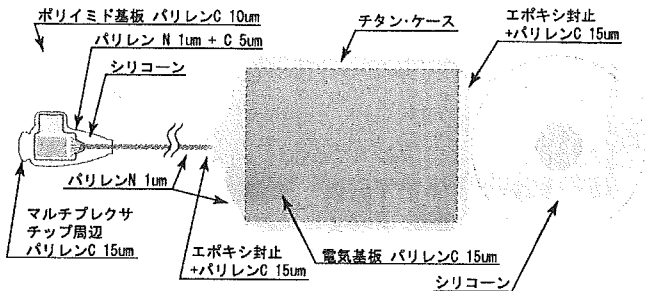


図 12. 体内装置構造図

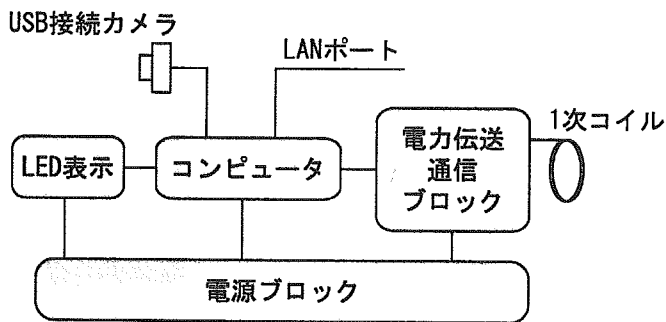


図 13. 対外装置システム構成

図 14. 体内装置

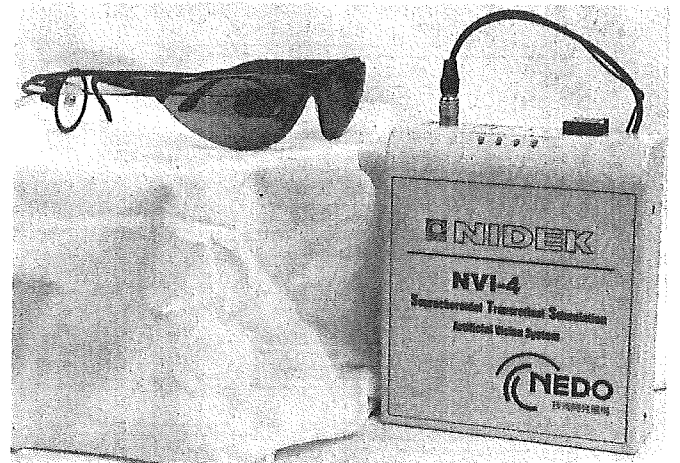


図 15. 体外装置

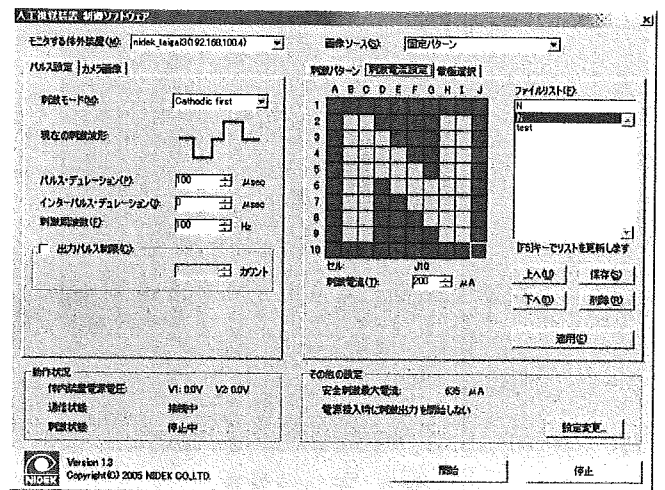
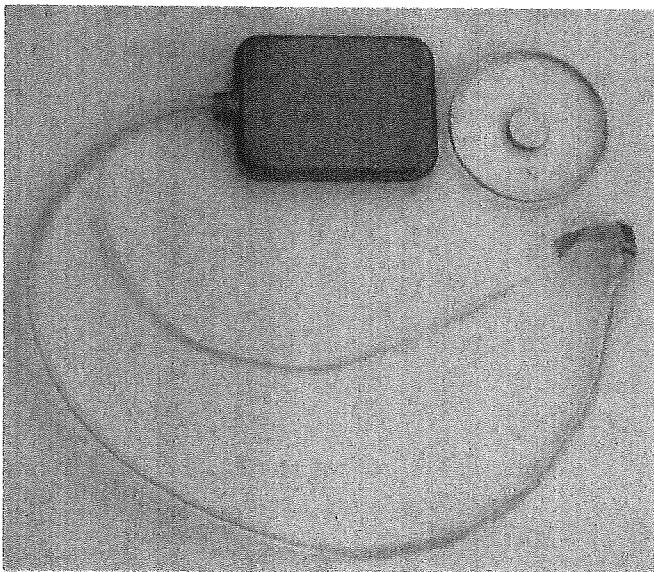


図 16. 制御ソフト



III 研究成果の刊行に関する一覧表

- (1) Nakauchi K, et al.: Transretinal electrical stimulation by an intrascleral multichannel electrode array in rabbit eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2005;243:169-174
- (2) Morimoto T, et al.: Transcorneal electrical stimulation rescues axotomized retinal ganglion cells by activating endogenous retinal IGF-1 system. *Invest. Ophthalmol. Vis Sci.*2005;46:2147-2155.
- (3) Morimoto, T, Fukui T, Matsushita K, Okawa Y, Shimojyo H, Syunji K; Tano Y, Fujikado, T. Evaluation of Residual Retinal Function by Pupillary Constrictions and Phosphenes using Transcorneal Electrical Stimulation in Patients with Retinal Degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, E-Pub
- (4) Fang X, Sakaguchi H, Fujikado T, Osanai M, H, Ikuno Y, Kamei M, Ohji M, Yagi T, Tano Y: Electrophysiological and histological studies of chronically implanted intrapapillary microelectrodes in rabbit eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2006;244:364-375.
- (5) Kim A, Bessho K, Okawa Y, Maeda N, Tano Y, Hirohara Y Mihashi T, Fujikado T. Wavefront analysis of eyes with cataracts in patients with monocular triplopia. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2006 :26:65-70.
- (6) Fukui T, Fujikado T, Tsujikawa M, Okada M, Yamamoto S, Tano Y. Null *ABCA4* Gene Mutations Found in Japanese Patients with Panretinal Degeneration, *Jpn J Ophthalmol.* 2006;50:179-181.
- (7) Hirakata A, Okada AA, Hida T: Longterm results of vitrectomy without laser treatment for macular detachment associated optic disc pit. *Ophthalmology* 2005;112:1430-1435.
- (8). Ueno S, Kondo M, et al. Physiological function of S-cone system is not enhanced in rd7 mice. *Exp Eye Res* , 2005;81:751-758
- (9) Kameda S and Yagi T An analog silicon retina with multichip configuration. *IEEE transactions on Neural Networks.* , 2006;17: 197-210
- (10) T. Tokuda, Yi-Li Pan, A. Uehara, K. Kagawa, M. Nunoshita, J.Ohta, "Flexible and extendible neural interface device based on cooperative multi-chip CMOS LSI architecture," *Sensors & Actuators: A*, 2005;122:88-98.
- (11) T. Furumiya, D. C. Ng, K. Yasuoka, K. Kagawa, T. Tokuda, M. Nunoshita, J. Ohta, "Functional verification of pulse frequency modulation-based image sensor for retinal prosthesis by in vitro electrophysiological experiments using frog retina," *Biosensors & Bioelectronics*, 2006;21:1059-1068.

Kazuaki Nakauchi
Takashi Fujikado
Hiroyuki Kanda
Takeshi Morimoto
Jun S. Choi
Yasushi Ikuno
Hirokazu Sakaguchi
Motohiro Kamei
Masahito Ohji
Tohru Yagi
Shigeru Nishimura
Hajime Sawai
Yutaka Fukuda
Yasuo Tano

Transretinal electrical stimulation by an intrascleral multichannel electrode array in rabbit eyes

Received: 5 January 2004
Revised: 11 June 2004
Accepted: 19 September 2004
Published online: 7 December 2004
© Springer-Verlag 2004

H.K., T.Y., and S.N. are employees of
NIDEK Co.

K. Nakauchi · T. Fujikado (✉) ·
H. Kanda · T. Morimoto
Department of Visual Science, Osaka
University Graduate School of
Medicine,
Room G4, 2-2 Yamadaoka, Suita-shi,
Osaka, 565-0871, Japan
e-mail: fujikado@ophthal.med.osaka-u.
ac.jp
Tel.: +81-6-68793941
Fax: +81-6-68793948

J. S. Choi · Y. Ikuno · H. Sakaguchi ·
M. Kamei · M. Ohji · Y. Tano
Department of Ophthalmology, Osaka
University Graduate School of
Medicine,
Suita,
Osaka, Japan

H. Sawai · Y. Fukuda
Department of Physiology, Osaka
University Graduate School of
Medicine,
Suita,
Osaka, Japan

H. Kanda · T. Yagi · S. Nishimura
NIDEK Co.,
Gamagori, Japan

Abstract Background: A new method of stimulating the retina electrically, called suprachoroidal transretinal stimulation (STS), was shown to be effective in eliciting electrically evoked cortical potentials (EEPs) in Royal College of Surgeons (RCS) rats. Before extending this technique to patients, it is important to determine its safety and feasibility in eliciting EEPs from medium-size animal (rabbits). The purpose of this study was to determine the safety and efficacy of the surgical procedures used to implant a multichannel electrode array into a scleral pocket, and to determine whether the implanted electrodes can stimulate the retina effectively. **Methods:** These acute experiments were conducted on six rabbits. An array of eight gold microelectrodes, embedded in polyimide, was implanted into a scleral pocket over the visual streak area. The size of the microarray was $2 \times 4 \times 0.180$ mm. The reference electrode was implanted into the vitreous. The electrode array and reference electrodes were connected to a stimulator to deliver monophasic current pulses. Cortical responses were recorded with a stainless steel electrode implanted into each rabbit's skull over

the visual cortex. After the experiment, the eyes and electrodes were examined histologically. **Results:** The surgical procedures for electrode implantation were accomplished without serious complications. EEPs were recorded after monophasic electrical pulse stimulation from each electrode. The mean threshold for EEPs was 55.0 ± 10.0 μ A with a 0.5-ms duration inward current pulse. The charge delivered at threshold was about 27.5 nC, and the charge density was about 56.0 μ C/cm². Histopathological examination of the retinal tissue around the area of stimulation did not show damage at the light microscope level with the electrical parameters used. **Conclusions:** Our technique for STS with an intrascleral microelectrode array is safe in rabbit eyes, and EEPs were elicited by current densities that did not induce tissue damage. These results suggest that STS via intrascleral multichannel electrodes is a feasible method for stimulating the retina.

Introduction

Several research groups are currently developing electrode arrays that can be attached directly to the retina and used to stimulate the retina in an attempt to restore vision to patients with retinal degeneration [7, 11, 18]. In general, there are two types of retinal stimulating prosthesis: an epiretinal [5, 6, 10, 13, 16] and a subretinal [2, 3, 14, 17] prosthesis. Epiretinal stimulating prostheses are inserted into the vitreous cavity and attached to or placed against the inner retinal surface. The potential risk of this approach is the possible of a permanent attachment of the device to the retina. Epiretinal implantation can cause damage around the area of the retinal plug [10, 15] or may be unstable without the use of special methods to fix the electrodes [18]. Subretinal prostheses are placed between the pigment epithelial layer and the outer layer of the retina. The stability of this electrode is better but chronic implantation in this space might lead to a proliferation of glial tissue around the electrode array [17]. Although improvements in the surgical and electronic technologies may solve some of the problems of implanting retinal stimulating prostheses, the potential risk of significant damage to the eye after inserting an electrode intraocularly is significant.

To avoid the risks of damaging the retina by implanting a stimulating electrode array into the epi- or subretinal space, we have developed a new method of stimulating the retina called suprachoroidal transretinal stimulation (STS), with implantation of a stimulating electrode array in the suprachoroidal space. This method avoids direct contact of the electrodes with the retina. We have demonstrated that STS can elicit field responses at a defined areas of the superior colliculus which correspond retinotopically to the retinal region stimulated in both normal and blind Royal College of Surgeons (RCS) rats [9].

In the present study, we fabricated a multichannel electrode array and developed a surgical technique to insert the electrodes in a scleral pocket (intrascleral implanting method) in medium-sized animal (rabbits). The aims of this study were threefold: to determine the safety of this surgical technique, to establish the threshold current to elicit electrically evoked cortical potentials (EEPs), and to determine the retinal damage induced by the electrodes and by the electrical currents.

Materials and methods

Six pigmented rabbits (weighing 1.9–2.2 kg) were initially anesthetized with an intramuscular injection of ketamine hydrochloride (50 mg/kg) and xylazine hydrochloride (5 mg/kg). This amount of anesthetic kept the rabbits under a surgical level of anesthesia for 3 h. One eye was dilated with 0.5% tropicamide and 0.5% phenylephrine hydrochloride.

The procedures used on all animals conformed to the Institutional Guidelines of Osaka University and the ARVO Resolution on the Use of Animals in Research.

Stimulating electrodes

A photograph of the surface of the electrode array displaying the configuration of the electrodes is shown in Fig. 1. Eight dome-shaped microelectrodes (fabricated by NIDEK Co., Gamagori, Japan) were mounted in a polyimide strip, and the array was 2 mm wide, 4 mm long, and 180 μm thick. The dimensions of each electrode were as follows: height above the surface, 120–130 μm ; diameter, 250 μm . The distance between electrodes was 500 μm . The impedance of the electrodes in saline is 10 k Ω at 1 kHz. The electrode array was connected to an external stimulator unit with insulated copper wires. Each electrode was coated with gold and was able to be activated separately.

Surgical method

The rabbit's eye was proptosed from the eye socket and draped with sterile rubberized cloth. After cutting the inferior half of the conjunctiva around the limbus, and cutting the inferior rectus and the inferior oblique muscles, the bare sclera was exposed. A scleral pocket (3 \times 5 mm) was created just over the area of the visual streak, which was about 12 mm posterior to the limbus.

The multichannel electrode array was then implanted into the scleral pocket and sutured with 5-0 Dacron onto the sclera just above the pocket. The bundle of insulated leads from the microarray was also sutured at the limbus with 5-0 Dacron (Fig. 2). The surgical procedures took about 30 min.

An electronic stimulator (SEN-7203, Nihon Kohden, Shinjyuku, Japan) was then connected through an isolator (A-395R, World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA) to the microelectrode array. The reference electrode was a platinum (Pt) wire coated with polyurethane resin and exposed at the tip. It was inserted 4 mm into the vitreous cavity and was fixed 2 mm from the limbus with 5-0 Dacron sutures.

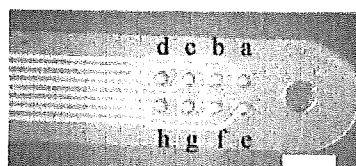


Fig. 1 Photograph of the electrode array. (Scale bar 1 mm). Eight gold electrodes (a–h) are mounted in a polyimide strip. Each electrode had the following dimension: height, 120–130 μm ; diameter, 250 μm ; impedance, 10 k Ω at 1 kHz. The distance between electrodes was 500 μm .