

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人工視覚の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—経網膜刺激方式の人工視覚システムの開発を目的として、試作機を完成させ評価を行い、実用化に向けての課題抽出と要素技術の開発を行なった。試作機の開発では、基本的な機能を問題なく動作させることができ、仕様上の課題、性能上の課題、製作プロセス上の課題を明確にできた。実用化に向けた要素技術開発では、耐久性の点から刺激電極の構造を抜本的に見直す必要があった。臨床応用が可能なように、安全性に対する性能仕様を向上させるとともに、機能仕様を追加する必要があり、それぞれの要素技術開発を進めている。また、刺激パラメータに関するデータ蓄積のため、新規刺激装置を開発した。

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)方式の試作機を完成させ、評価を行い、実用化に向けた課題抽出と要素技術の開発を本研究の目的としている。

(1) 試作機の開発と評価

試作機を完成させるとともに、各種の評価系を確立し、評価を行い、実用化に向けての課題を抽出する。

(2) 実用化のための要素技術

実用化のためには、10年以上の長期間にわたって機能と安全性を維持し続ける必要がある。そこで以下の要素技術の開発を行なう。

a. 刺激電極

従来の薄膜技術を応用した刺激電極の耐久性を明らかにし、その結果に基づき長期信頼性を有する刺激電極の仕様決定お

よび試作を実施する。

b. ハーメチック・ケース

体内装置のケースの気密性は、ケースの内外を電気的に接続する貫通部に依存することがわかったので、生体に安全な材料による気密端子と、ケースの組立て方法を開発する。

c. ハーメチック・パッケージ

眼球上に設置される集積回路(以下 IC)を気密性パッケージに封入し、生体安全性を高める必要がある。基本構造の策定と開発を実施する。

d. 体内ケーブル

体内ケーブルは、眼球運動により繰り返しのストレスが加わるので、耐久性能が重要であり、その評価のためには安定した品質の製作フローを確立する必要がある。そこで内部配線数やケーブル径等の仕様を変更可能で、かつ特性再現性のある安定な製作

系を確立する。

e. 電気回路構成

体内装置に対して、生体の安全を担保するための機能を、専用の IC として設計することで対応し、その仕様策定および要素回路の設計を行なう。

(3) 臨床実験用刺激装置

刺激パラメータの最適化と動画像による擬似光覚の臨床実験データを蓄積するための刺激装置を開発する。具体的には、臨床実験の効率を上げるために閾値測定 of 半自動化と刺激記録の自動保存、パターン動画像とカメラ画像による刺激が可能な刺激装置を製作する。

B. 研究方法と成果

(1) 試作機の開発と評価

STS 方式の試作機を完成させた。図 1~3 に示すように、体内装置 (図 1)、体外装置 (図 2) および制御ソフト (図 3) から構成される。体内装置は、本体と電極選択機能 (マルチプレクサ: 以下 MUX) を含む刺激電極部および硝子体電極がケーブルで接続された構造を有している。一方体外装置は本体、バイザーカメラおよび 1 次コイルから構成されている。

刺激電極部は、直径 0.2mm のプラチナ薄膜表面を有するバンプ状電極が、中心間距離 0.4mm で 10×10 の格子状に配置されている。基本機能を評価していくためには、これらの微細な電極ひとつひとつにプロービングする必要がある。このためのプローバを構築した (図 4)。

プローバを用いて、開発したトータルシステムを評価することに成功した。評価を通じて、100 極全極の歩留まりには課題があることが明らかとなった。

次に体内装置の温度上昇を評価するため、サーモグラフィーを用いて空気中での体内装置の温度分布を非接触測定したところ、図 5 に示す結果が得られ、体内装置本体のチタンケース部は概ね一様な温度であることがわかった。次に擬似体内環境中での温度上昇を計測するため、空気中での温度分布の測定結果から最も温度の高い箇所を推定し、その部位に熱電対を接触させて温度上昇を計測した。擬似体内環境内で体内装置本体のチタンケース上に熱電対を設置して温度上昇を評価したところ、0.5℃程度に収まることがわかった。

温度変化におけるシステムの動作状況を評価するために、図 6 に示すように、体内装置を入れた擬似体内環境自体を恒温槽内に設置した。この状態で、試作機に組み込んだバックテレメトリ機能を用いて体内装置の内部電圧を観測した。評価結果を図 7 に示す。体内装置の内部電圧は内部動作下限電圧に対して十分な余裕を持って動作しており、従って電気回路的には安定な動作が可能であることが示された。

(2) 実用化のための要素技術

a. 刺激電極

従来、厚さ 0.2 μm 程度の白金薄膜を用いた刺激電極が内外で開発されてきた。このような薄膜電極は微細構造が作成しやすいという利点を有するが、その耐久性は必ずしも明らかではなかった。そこでまず評価用電極を作成した。厚さ 25 μm のパリレン膜を成膜し、その上に厚さ 0.2 μm の白金層をスパッタリングで形成した。リフトオフ法を用いて白金層のパターニングを行った後、さらに 25 μm のパリレン層を形成し、最後に刺激電極部および接続パッド部のパリレンを、反応性イオン

エッチングを用いて除去した。刺激電極の直径は $500\ \mu\text{m}$ とした。この電極を 37°C PBS 中に浸漬して 1 週間通電を行い、通電前後の形態観察を行った。通電に用いたパルスは 0.5ms の双極電流パルスであり、電流強度は anodic-first パルスの場合 0.15mA 、cathodic-first パルスの場合 0.6mA とした。

1 週間通電後の電極表面を観察した結果、大半の電極において白金の溶出が生じていた。また電荷注入能力についても、文献値から期待した値の $50\sim 80\%$ 程度の値しか得られなかった。以上の結果から、薄膜技術で作成した刺激電極の実用化は困難であると結論した。

上記実験で得られた知見をもとに、長期信頼性を実現可能かつ現実的に作製可能な電極構造を検討し、図 8 のような電極構造を考案した。電極は図 8 左図のように白金のバルク材からなるリベットとワッシャから構成され、リベット先端部を図 8 右図のように塑性変形させることでリベットとワッシャを固定する。ワッシャの直径は $500\ \mu\text{m}$ である。薄膜電極と比較して電極材料となる白金の体積が極めて大きいことから、溶出によって電極が消失するといった致命的な問題は起こりにくいことが期待される。この電極を作成するためには、まずリベットおよびワッシャを作成する必要がある。白金のリベット(図 9)およびワッシャについて各種形成方法を検討したところ、切削加工を用いて必要な形状を実現可能であることが明らかになった。この部品を用いてリベット部の塑性変形加工可否を検証したところ、限界はあるものの目指す形状を実現できる見通しが得られた(図 10)。

続いて、上記電極に接続する配線の形成

方法を検討した。配線については、従来は金または白金の薄膜をパターニングすることで形成していたが、刺激電極の体積増加に伴い、これの接続に耐える程度の機械的強度を有する配線が必要となり、薄膜配線は採用できない。そこで厚さ $10\sim 30\ \mu\text{m}$ の白金箔を切断して配線パターンを形成する手法を検討した。複数の加工方法を比較検討したところ、フェムト秒レーザーを用いることで必要な配線形状を精度良く加工できる見通しが得られた(図 11)。

絶縁層としてはパリレンが第一候補であり、白金箔が 2 枚のパリレンで挟まれた構造の電極アレイの作成を目指しているが、この 2 枚のパリレン層間に水分が侵入すると所望の電気刺激ができなくなる。そこでパリレン層間の密着力を定量評価可能な評価系を構築した。この評価系を用いた実験から、適切な熱処理を加えることにより、パリレン層間の密着力を向上させることが可能であることが明らかとなった。これらの技術を集約して評価用 1 極電極を作成し、生理食塩水中での 1 週間連続通電評価を実施した。通電前後で電極形状に異常は見られなかった。

b. ハーメチック・ケース

体内装置の電気回路は、これが生体と接触しないように、十分な気密性能を有するケースに入れる必要がある。STS 方式試作機で用いたケースでは、ケース外への配線引き出し部において十分な気密性が確保されないという問題がわかった。そこでケースの基本構造として、ケース本体を生体適合材料として実績のある SUS316L で製作し、ケース外との電気接続用に気密端子を溶接により設置し、内部へ電気回路基板を配置・配線後に、ケースを溶接で密封する構造とした。絶縁気

密封止材として、SUS316L 材に熱膨張率が近く有害重金属を含まない RoHS 対応低融点ガラスを採用し、どちらも SUS316L 材から成るハウジングと貫通電極による単芯気密端子(外径 ϕ 1.6mm) (図 12)を試作した。

性能目標は、 $1 \times 10^{-9} Pa \cdot m^3 / s$ 以下の気密性と、DC100V 1000M Ω 以上の絶縁性能であり、気密端子として達成できた。またケース全体として評価するために、評価用体内装置ケースに気密端子をレーザ溶接により組み付けた(図 13)。

c. ハーメチック・パッケージ

眼球上に設置される MUX は、人工視覚特有のユニットである。他の電気刺激インプラントの刺激点数が 1~30 程度なのに対し、人工視覚では 2 次元的な電気刺激を与えるため、刺激点数が格段に多くなる。電気回路基板から個別に配線を引き出すことは現実的でないので、刺激電極近辺でスイッチングを行い、刺激電極を選択する機能(MUX)が必要となる。特に網膜刺激型人工視覚においては、電極の留置可能部位が限定されるため、MUX の外形寸法も小さくする必要がある。MUX 機能は IC として実現可能であるが、これを生体安全な材料から成る微小ケースに収める必要があり、Ni 等の有害物質を含まないアルミナ・セラミックをベースとする IC パッケージの開発を進めている。

基本構造を図 14 に示す。白金貫通電極を持つセラミック・ケースに MUX IC をフリップチップ実装し、生体安全な金属リッドを溶接等の方法で接合する事で、ハーメチック・パッケージを構成する。内部にフリップチップ実装が可能な平坦度をもつ薄型セラミック・ケースの開発と、セラミック・ケース上のメタライズと生体安全な金属リッドを接合する方法の検討

を進めている。

d. 体内ケーブル

STS 方式試作機の体内ケーブルは、棒に巻き付けたテフロン被覆 SUS316L 線をシリコンチューブ内に挿入し棒を抜き取ってチューブ内をシリコン樹脂で充填する手順で製作していた。この製法では、外形 ϕ 2.0mm としても十分な伸縮性が確保できなかった。そこでシリコンのコアにパリレンコートされたワイヤーを螺旋状に巻き付けてシリコン・ディッピングする製作工程に変更した。ワイヤー材には白金イリジウム線を用いた。これにより外形 ϕ 1.5mm で十分な伸縮性のあるケーブルへ改良することができた(図 15)。

また、ケーブルを製作するための工具を整備した。これにより十分な数の評価用サンプルが製作可能となり、品質安定性や耐久試験が可能となった。

e. 電気回路構成

生体の安全確保のためには、生体に対して直流電流が流れてはいけな。微弱な電流であっても、体液の電気分解による pH 変化およびガス発生等による組織損傷の可能性が高くなるからである。

金属やセラミックのハード・ケースに収納された部品は、通常の使用状態の下では十分長期にわたり生体と隔離されていると考えられるが、樹脂のみで包埋されている部品は、長期の使用や包埋手術時のストレスなどで、その絶縁性が機能しなくなることを想定する必要がある。

したがって、体内装置の本体部と刺激電極部を接続するケーブルに対して直流電圧が印加されない回路構成を考案した。刺激電流出力部は、もともと交流出力であるため、従来どおりの回路構成であるが、MUX へ電

源を供給するワイヤーには、試作機では直流を印加していた。また、MUX を制御するための信号も、論理信号のため直流成分を含んでいる。この MUX への電源供給と制御信号を、まとめて交流信号化するために、制御信号を周波数変調により重畳した交流電源回路を考案した。体内装置の回路構成を図 16 に示す。

MUX の動作電圧は、刺激出力回路の電源電圧以上が必要であるため、15V に設定した。この電圧に対して、ワイヤーの絶縁性能が劣化して生体に接触したとしても半波あたりの電荷注入量が安全な範囲となるよう、搬送周波数は 1MHz に設定した。これは MUX を制御するために必要なデータを転送するキャリアとしても十分なものである。

次に、体内装置に故障が発生したときの生体安全確保のために、故障により体内装置が生体に危険を及ぼす可能性を洗い出した。その結果、体内装置本体部と刺激電極部間の接続ワイヤーの絶縁不良、もしくは MUX と刺激電極間配線の絶縁不良または断線が発生した場合に、生体損傷の可能性があることが明らかになった。したがって、故障発生時には生体損傷が発生する前に体内装置が動作を停止して安全を確保することが不可欠となる。このためには、体内装置にこれらの故障発生を検出する機能が必要となる。そこで故障状態をそれぞれ詳しく調べると、配線の断線もしくは絶縁不良が発生した場合は、体内装置の配線間インピーダンスが通常動作時とは大きく異なる値を取るため、それぞれの配線間インピーダンスから故障箇所および故障状態の判別ができることが分かった。そこで配線間インピーダンス計測回路を組み入れることにした。故障が発生した場合

でも、インピーダンスの異常により故障を検出してただちに体内装置の動作を停止することで、目的とする安全性確保が実現される。

(3) 臨床実験用刺激装置

臨床実験に使用する装置であるため、医療機器としての基本性能を確保する必要がある。その基本性能の1つである漏れ電流が流れないことを保証するための最も確実な方法が、刺激電極と電氣的に接続されている部分をフローティング状態にする事である。

基本機能仕様は、①刺激チャンネル数は $3 \times 3 = 9$ チャンネル、②パターン動画像の刺激、③カメラ画像での刺激である。さらに、限られた時間の中で実施される急性臨床の現場にて、各刺激電極の閾値測定の効率化を可能とする機能を組み入れる。また刺激条件等のログ機能も持たせる。これらを実現するために、製作したSTS方式試作機を改造して対応した。

患者に接する刺激電極は、体内装置上にあるためフローティング状態である。刺激出力は試作機の100チャンネルの中から9チャンネルのみを使用した。パターン動画像やカメラ画像での刺激は、制御用PCソフトを改造して対応した。閾値測定やログ機能も、PCソフト上に機能を追加した。

医療機器の基本性能として要求されるものにEMC (Electro-Magnetic Compatibility) がある。試作機はこの性能を満足していなかったため、ハードウェア的にシールドなどの対策を施す事で規格をクリアした。完成した装置の全体写真を図17に示す。

C. 考察および結論

(1) 試作機の開発と評価

STS 方式の試作機として、基本的な機能

は問題なく動作した。一方、実用化していく上での課題も明らかにすることができた。①体内装置本体のサイズが大きい、②MUX 部が気密封止されていない、③自己診断機能が十分でない等の人体への埋植に適さない仕様上の課題や、④体内装置本体の気密性が十分でない、⑤刺激電極の耐久性が不足する等の性能上の課題、また⑥100 チャンネル刺激電極の歩留のような製作プロセス上の課題等である。

今後実用化に向けて、抜本的なブレイクスルーを必要とする点、改良によって克服する点と、それぞれの課題に対して最適な方向を検討してゆく。

(2) 実用化のための要素技術

STS 方式実用化に向けて、各要素技術の検討課題を以下に示す。

a. 刺激電極

白金は一般的な工業材料ではなく、切削加工や塑性変形加工に関する知見は少ない。切削加工に関しては切削困難な材料であることが試作を通じて明らかになった。しかしながら適切な加工条件のもとでは仕様通りの形状を実現することができた。

パリレン層間の密着力評価を通じて、熱処理による密着力向上を比較的容易に評価することができた。しかしこれはあくまで簡易評価であり、最終的には生体内環境下でも密着力が保持され、配線間でのショート等の問題が発生しないことを確認する必要がある。

評価用 1 極電極の通電評価を通じて、少なくとも 1 週間程度の耐久性を有することが確認できた。今後電極形状の改善を加えるとともに、より長期間にわたる評価を実施することで長期間の耐久性を実証してゆきたい。

b. ハーメチック・ケース

気密端子の封止材料として低融点硝子を使用しており、ケースに気密端子を溶接する際に熱の影響を受け、性能の劣化が生じないかを気密試験により確認する必要がある。また、絶縁封止材料の生物学的安全性評価として、医療機器 GLP にて細胞毒性試験の評価を実施中である。

c. ハーメチック・パッケージ

薄型セラミック・ケースの開発はセラミック専門メーカーにて製作を進めている。密封方法について、 $t=10\mu\text{m}$ の白金箔を接合材としてチタン製リッドを溶接することで、十分な気密性が保てるかを試行中である。

d. 体内ケーブル

試作したケーブルを評価したところ、螺旋状の芯線ピッチの不揃い、シリコーン皮膜の厚さムラ等の問題がわかった。製作工程を改善してこれらのばらつきが生じない対策を施した上で、繰り返し曲げ耐久試験を実施し、耐久性評価を行なう予定である。

e. 電気的構成

臨床実験に不可欠な生体の安全性を確保するための要素回路技術が凡そ確立された。さらに実用化のための筐体小型化および RF 送信電力低減の要求を満たすために、専用の IC の仕様策定および設計を進めた。

今後は IC の試作、機能評価および基板実装を行い、体内装置の機能検証を行なう。

(3) 臨床実験用刺激装置

目標仕様どおりの刺激装置が完成した。しかし試用してみると、①患者が痛覚を感じた時に自分で刺激停止できない、②患者から出される疑似光覚情報は音声なので、ログと合わせて音声記録が有効等の課題がわかった。今後の改良に向け、さらに検討を加えてゆく。

D. 健康危惧情報

特になし。

E. 研究発表

(1) 論文

- ① Yasuo Terasawa, Hiroyuki Tashiro, Akihiro Uehara, Tohru Saitoh, Motoki Ozawa, Takashi Tokuda and Jun Ohta, "The development of a multichannel electrode array for retinal prostheses" J. of Art. Org., vol.9, No.4, pp.263-266, 2006.

(2) 学会発表

- ① 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パンプ電極の電荷注入能力評価」 Tran. of Jpn. Soc. for Med. and Bio. Eng., vol.44, Suppl.1, pp.496, 2006.

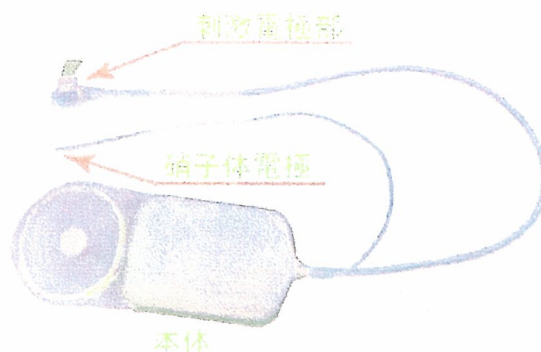


図 1 STS 方式試作機の体内装置



図 2 STS 方式試作機の体外装置

F. 知的財産権の出願・登録状況

- ① 特願2006-58561 (出願日H18.3.3) 「視覚再生補助装置」 発明者: 鐘堂健三 (前年度未報告分)
- ② 特願2006-237007 (出願日H18.8.31) 「視覚再生補助装置」 発明者: 寺澤靖雄, 鐘堂健三, 太田淳
- ③ 特願2006-268675 (出願日H18.9.29) 「視覚再生補助装置」 発明者: 上原昭宏, 鐘堂健三, 米澤栄二

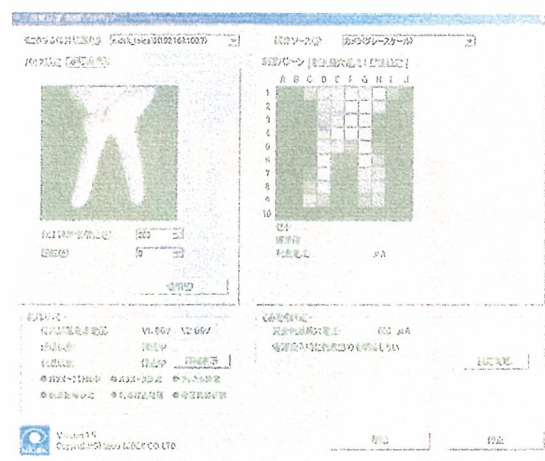


図 3 STS 方式試作機の制御ソフト

【図表】



図4 プロローバ

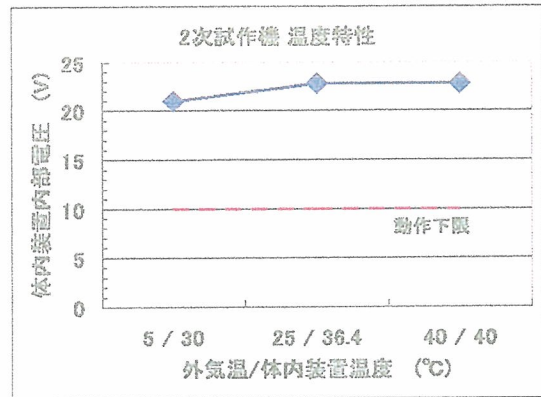


図7 擬似体内環境内での体内装置の内部電圧

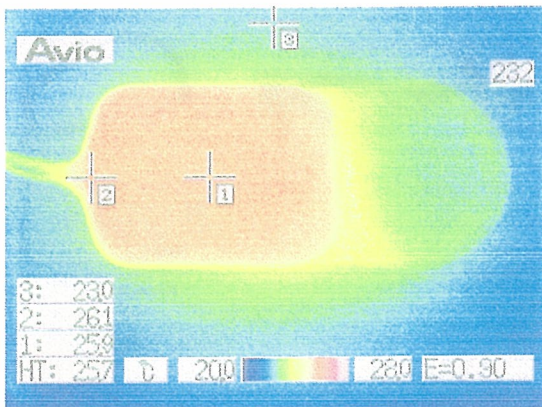


図5 体内装置の温度上昇分布

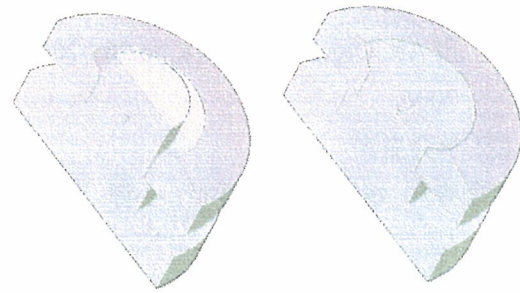


図8 バルク電極の構造

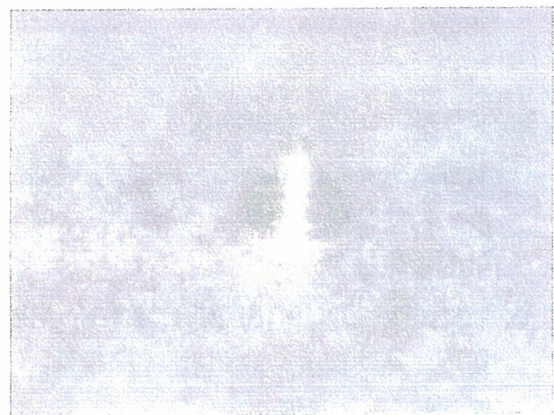


図9 白金のリベット

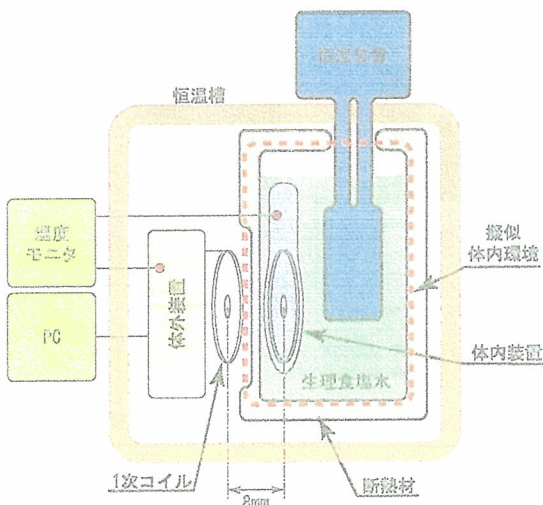


図6 温度変化におけるシステムの動作状況評価系

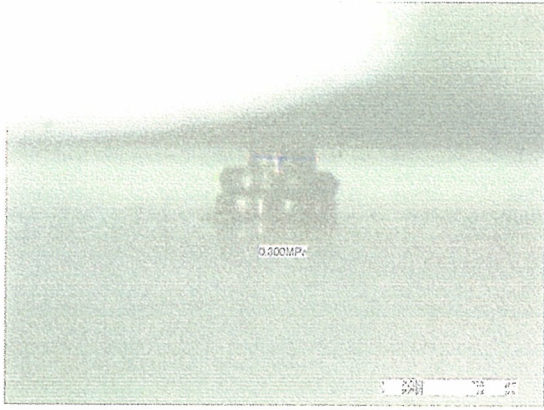


図 10 リベットの塑性変形

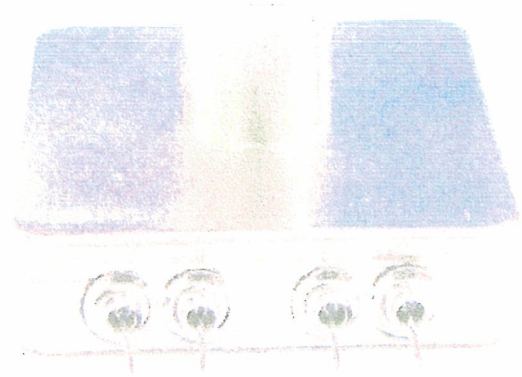


図 13 気密性評価用ケース

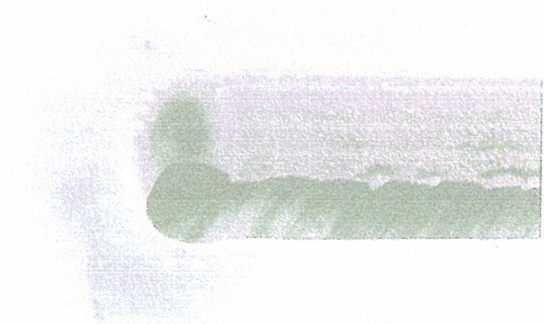


図 11 フェムト秒レーザーによる白金箔切断加工

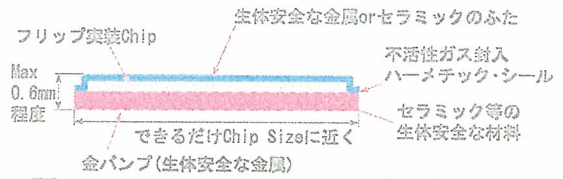


図 14 ハーメチック・パッケージの基本構造

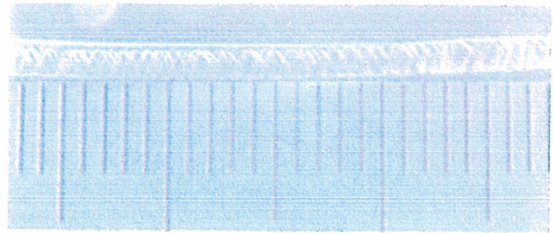


図 15 外形φ1.5mm伸縮性ケーブル

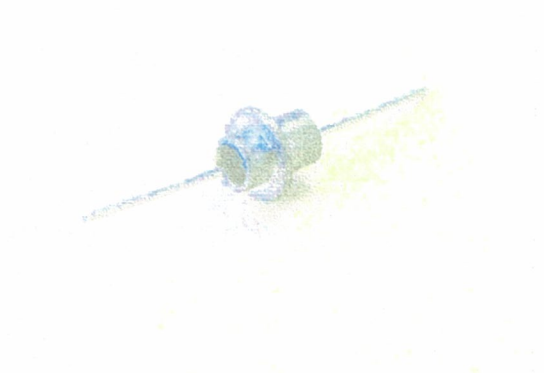


図 12 単芯気密端子

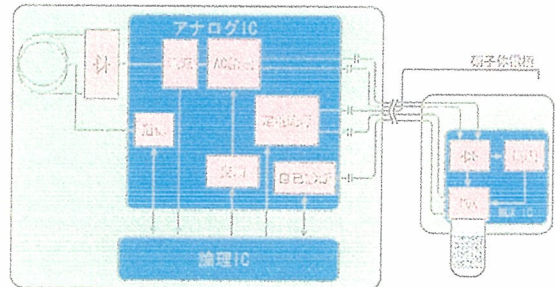


図 16 体内装置の回路構成



図 17 臨床実験用刺激装置

1. Ohji M, Sakaguchi H, Tano Y. Forceps with scale marks for the transconjunctival sutureless vitrectomy system. *Retina*. 2006;26:583-585.
2. Fujikado T, Kanda H, Kusaka S, Nakauchi K, Ozawa M, Matsushita K, Matsushita K, Sakaguchi H, Ikuno Y, Kamei M, Tano Y. Evaluation of phosphene by extraocular stimulation in normals and by suprachoroidal-transretinal stimulation in patients with retinitis pigmentosa. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, E-Pub, 2007
3. Nakauchi K, Fujikado T, Kanda H, Kusaka S, Ozawa M, T, Sakaguchi H, Ikuno Y, Kamei M, Tano Y. Threshold suprachoroidal-transretinal stimulation current resulting in retinal damage in rabbit. *J Neural Eng*. 2007;4:S50-S57
4. Morimoto T, Fukui T, Matsushita K, Okawa Y, Shimojyo H, Kusaka S, 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*, 2006;244:1283-1292
5. Fujikado T, Morimoto T, Matsushita K, Shimojo H, Okawa Y, Tano Y. Effect of Transcorneal Electrical Stimulation in Patients with Nonarteritic Ischemic Optic Neuropathy and Traumatic Optic Neuropathy *Jpn J Ophthalmol*. 2006;50: 266-273
6. Ueno S, Kondo M, Ueno M, Miyata K, Terasaki H, Miyake Y. Contribution of retinal neurons to d-wave of primate photopic electroretinograms. *Vision Res*. 46:658-664, 2006.
7. Miyata K, Nakamura M, Kondo M, Lin J, Ueno S, Miyake Y, Terasaki H. Reduction of oscillatory potentials and photopic negative response in patients with dominant optic atrophy with OPA1 mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 48:820-824, 2007.
8. T. Furumiya, S. Yamamoto, K. Kagawa, T. Tokuda, M. Nunoshita, J. Ohta, "Optimization of electrical stimulus pulse parameter for low-power operation of a retinal prosthetic device," *Jpn. J. Appl. Phys.* 45 (19), L505 - L507, 2006.
9. 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* 53 (6), 487-491, 2006.
10. J. Ohta, T. Tokuda, K. Kagawa, T. Furumiya, A. Uehara, Y. Terasawa, M. Ozawa, T. Fujikado, Y. Tano, "Silicon LSI-Based Smart Stimulators for Retinal Prosthesis," *IEEE Eng. Medicine & Biology Magazine* 25 (5), 47-59, 2006.
11. J. Ohta, T. Tokuda, K. Kagawa, S. Sugitani, M. Taniyama, A. Uehara, Y. Terasawa, K. Nakauchi, T. Fujikado, Y. Tano, "Laboratory Investigation of Microelectronics-Based Stimulators for Large-Scale Suprachoroidal Transretinal Stimulation (STS)," *J. Neural Eng.*, in press.
12. Terasawa Y, Tashiro H, Uehara A, Saitoh T, Ozawa M, Tokuda T, Ohta J. "The

- development of a multichannel electrode array for retinal prostheses" J. of Art. Org., vol.9, No.4, pp.263-266, 2006.
13. Hirakata A, Hida T: Vitrectomy for myopic posterior retinoschisis or foveal detachment. Jpn J Ophthalmol 50: 53-61, 2006
 14. Morimoto T, Fujikado T, Choi JS, Kanda H, Miyoshi T, Fukuda Y, Tano Y, Transcorneal electrical stimulation promotes the survival of photoreceptors and preserves retinal function in Royal College Surgeons rats, submitted.
 15. Fujikado T, Sawai H, Tano Y, Artificial Vision: Vision of a Newcomer. In Artificial Sight, M. S. Humayun, J. D. Weiland, G. Chader and E. Greenbaum (Editors), Springer-New York, in press.
 16. 田野保雄 視覚再生、日本の眼科 2006 ; 77 ; 641-646

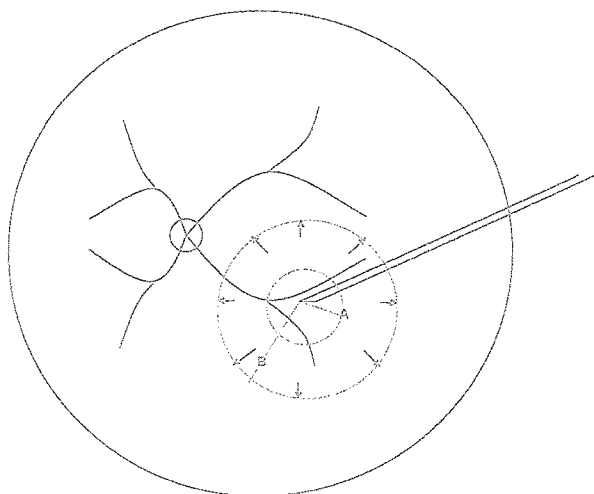


Fig. 5. The subretinal infusion must be injected with enough force to overcome the resistance of the adhesion forces between the retinal pigment epithelium and the neurosensory retina. As the retinal detachment progresses, the strength of these adhesion forces increases due to the greater circumference of the expanding retinal detachment. In the illustration, below the radius of circle B is larger than that of circle A. Because the circumference is greater, there is a greater perimeter of neurosensory retina that still remains attached to the retinal pigment epithelium. With an increasing perimeter, the force needed to disrupt this adhesion increases. As the detachment expands, a critical limit is reached, and the detachment stops progressing. Additional retinotomies are performed at multiple sites that coalesce and complete the posterior detachment. After the posterior pole and peripapillary retina are detached, automated injection of balanced saline solution through a small peripheral retinectomy completes the detachment.

and predictable rapid total retinal detachments during FMT. The result is reduction of surgical time to 60 minutes to 90 minutes, making the time for FMT comparable with that required for other vitreoretinal procedures. Reducing the time required to perform FMT and lessening the unpredictable nature of creating a total retinal detachment may enable wider adaptation of this technique in the management of age-related macular degeneration.

Key words: age-related macular degeneration, macular translocation, subfoveal choroidal neovascularization.

References

1. Klein R, Klein BE, Linton KL. Prevalence of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 1992;99:933-943.
2. Machemer R. Macular translocation. *Am J Ophthalmol* 1998; 125:698-700.
3. Deramo VA, Meyer CH, Toth CA. Successful macular translocation with temporary scleral infolding using absorbable suture. *Retina* 2001;21:304-311.
4. Kamei M, Tano Y, Yasuhara T, et al. Macular translocation with chorioscleral outfolding: 2-year results. *Am J Ophthalmol* 2004;138:574-581.
5. Toth CA, Freedman SF. Macular translocation with 360-degree peripheral retinectomy. Impact of technique and surgical experience on visual outcomes. *Retina* 2001;21:293-303.
6. De Juan E Jr, Vander JF. Effective macular translocation without scleral imbrication. *Am J Ophthalmol* 1999;128:380-382.
7. Lewis H, Kaiser PK, Lewis S, Estafanos M. Macular translocation for subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: a prospective study. *Am J Ophthalmol* 1999;128:135-146.

FORCEPS WITH SCALE MARKS FOR THE TRANSCONJUNCTIVAL SUTURELESS VITRECTOMY SYSTEM

MASAHITO OHJI, MD,*
HIROKAZU SAKAGUCHI, MD,†
YASUO TANO, MD†

From the *Department of Ophthalmology, Shiga University of Medical Science, Otsu, Japan; and the †Department of Ophthalmology, Osaka University Medical School, Suita, Japan.

The new 25-gauge instrument system for transconjunctival sutureless vitrectomy¹ is a major innovation among the improvements in instrumentation since the 20-gauge system² was introduced several years after Machemer et al³ developed pars plana vitrectomy. In the new system, it is important to displace the conjunctiva when trocars are inserted into the sclera through the conjunctiva to prevent straight conduits. It is also important to insert the trocars at the appropriate position (i.e., 3.5-4 mm from the limbus, without creating conjunctival breaks anywhere other than the site of conjunctival penetration). We developed forceps with scale marks that is useful for the transconjunctival sutureless system and 20-gauge vitrectomy as well as intravitreal injection.

Methods

The forceps is 8 cm long and 1 cm wide and bent 6 mm from the tip. The forceps has special features: two scale marks on the top surface and a serrated undersurface of the tip (Fig. 1). The distance between the two scale marks is 4 mm. At the start of sutureless vitrectomy using the 25-gauge vitrec-

Supported in part by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan (Grant 15591855) and a grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

The authors have no proprietary interest in any aspect of this report.

Reprint requests: Masahito Ohji, MD, Department of Ophthalmology, Shiga University of Medical Science, Seta Tsukinowacho, Otsu, 520-2192, Japan; e-mail: ohji@belle.shiga-med.ac.jp

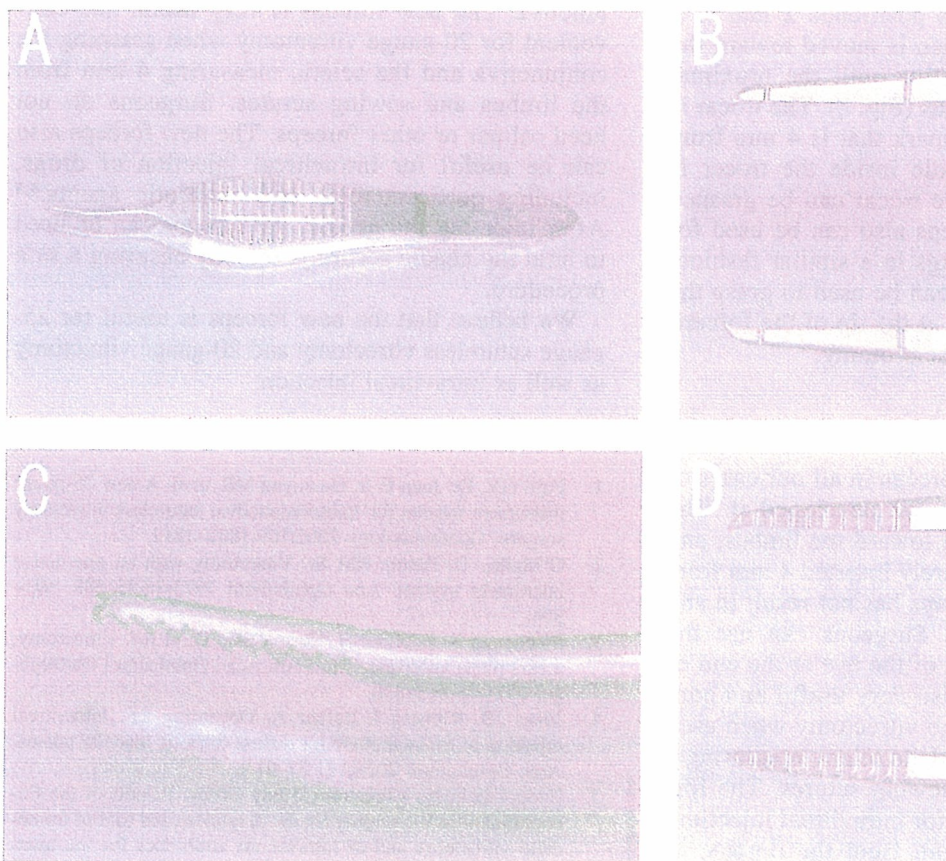


Fig. 1. A, The new forceps. B, The scale marks on the top surface of the forceps. The distance between the two scale marks is 4 mm. C, The side view of the forceps. D, The serrated undersurface of the forceps that is used to move the conjunctiva.

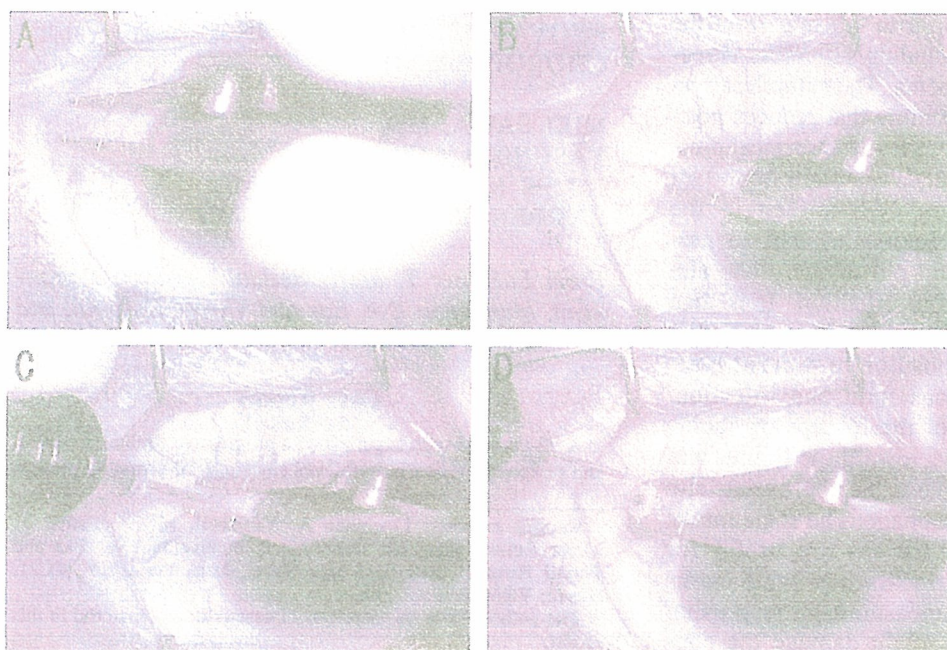


Fig. 2. Photographs of the forceps being used during surgery. A, The forceps are positioned on the conjunctiva 2 mm to 3 mm from the limbus. B, The conjunctiva is pulled toward the limbus, and the proximal scale mark is aligned with the limbus. C, The trocar is inserted at the other scale mark that is 4 mm from the limbus. D, The collar of the trocar is grasped with the forceps as the needle is withdrawn.

tomy system, the forceps is positioned 2 mm to 3 mm from the limbus and then is moved toward the limbus to pull the conjunctiva until the proximal scale mark reaches the limbus (Fig. 2). The trocar is inserted at the other scale mark that is 4 mm from the limbus. When the needle inside the trocar is withdrawn, the collar of the trocar can be grasped with the forceps. The forceps also can be used for intravitreal injection of drugs in a similar fashion. In 20-gauge vitrectomy, it can be used to grasp the conjunctiva using the teeth at the tip of the forceps as well as during creating sclerotomy.

Discussion

We have used the new forceps in all our cases of sutureless vitrectomy since we developed it. The conjunctiva is easily pulled toward the limbus, and the trocar is easily and securely inserted 4 mm from the limbus. Use of the forceps has not result in any breaks in the conjunctiva. Surgeons can use the forceps to draw trocars out of the eye at the end of surgery. The forceps are also very useful and convenient for regular 20-gauge vitrectomy when used for grasping conjunctiva and the sclera, measuring 4 mm from the limbus and sewing sutures. The forceps also have been useful for intravitreal injection; the needle is injected 4 mm from the limbus, as measured by the marks, and is securely grasped using the forceps. Stabilization of the needle is important to prevent intraocular injury during intravitreal injection.

It is important to create a sclerotomy at the appropriate position, usually 3.5 mm to 4.0 mm from the limbus, during vitrectomy including sutureless vitrectomy using 25-gauge instruments. The sutureless system is an innovation in vitrectomy that reduces postoperative inflammation and shortens the surgical time. Maintaining an intact conjunctiva is more important in the sutureless vitrectomy system than in the conventional 20-gauge vitrectomy system to prevent leakage of vitreous fluid out of the globe and development of postoperative infection. It is also important to insert the trocars while the conjunctiva is pulled from its original position to prevent postoperative leakage of vitreous fluid and infection. The serrated undersurface of the forceps tip facilitates drawing the conjunctiva toward the limbus and holding the conjunctiva stable at the appropriate site with minimal conjunctival damage. The scale marks on the top surface of the forceps are useful for accurate positioning of the trocars. The scale marks allow surgeons to skip the measurement step using a caliper, the tip of which might damage the con-

conjunctiva. The new forceps is very useful and convenient for 20-gauge vitrectomy when grasping the conjunctiva and the sclera, measuring 4 mm from the limbus and sewing sutures. Surgeons do not need caliper or other forceps. The new forceps also can be useful for intravitreal injection of drugs, including corticosteroids and antibiotic agents.^{4,5} After injecting the needle, the forceps can be used to hold the needle securely, thereby ensuring a safe procedure.

We believe that the new forceps is useful for 25-gauge sutureless vitrectomy and 20-gauge vitrectomy as well as intravitreal injection.

References

1. Fujii GY, De Juan E Jr, Humayun MS, et al. A new 25-gauge instrument system for transconjunctival sutureless vitrectomy surgery. *Ophthalmology* 2002;109:1807-1812.
2. O'Malley C, Heintz RM Sr. Vitrectomy with an alternative instrument system. *Ann Ophthalmol* 1975;7:585-588, 591-594.
3. Machemer R, Buehner H, Norton EW, Parel JM. Vitrectomy: a pars plana approach. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1971;75:813-820.
4. Jonas JB, Kreissig I, Sofker A, Degenring RF. Intravitreal injection of triamcinolone for diffuse diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol* 2003;121:57-61.
5. Endophthalmitis Vitrectomy Study Group. Results of the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A randomized trial of immediate vitrectomy and of intravenous antibiotics for the treatment of postoperative bacterial endophthalmitis. *Arch Ophthalmol* 1995;113:1479-1496.

INTRARETINAL FOVEAL NEOVASCULARIZATION IN CHOROIDEREMIA

MIKI SAWA, MD,
YASUHIRO TAMAKI, MD,
JAMES M. KLANCNIK JR, MD,
LAWRENCE A. YANNUZZI, MD

From LuEsther T. Mertz Retinal Research Department, Manhattan Eye, Ear and Throat Hospital, and the Macula Foundation, Inc., New York, New York.

Case Report

A 72-year-old man experienced a progressive decline in central and peripheral vision in both eyes since age 20 years. At present-

Reprint requests: Lawrence A. Yannuzzi, MD, LuEsther T. Mertz Retinal Research Department, Manhattan Eye, Ear and Throat Hospital, 210 East 64th Street, New York, NY 10021; e-mail: VRMNY@aol.com

The authors have no proprietary interests in any material in this report.

CLINICAL INVESTIGATION

Evaluation of phosphenes elicited by extraocular stimulation in normals and by suprachoroidal-transretinal stimulation in patients with retinitis pigmentosa

Takashi Fujikado · Takeshi Morimoto ·
Hiroyuki Kanda · Shunji Kusaka · Kazuaki Nakauchi ·
Motoki Ozawa · Kenji Matsushita ·
Hirokazu Sakaguchi · Yasushi Ikuno ·
Motohiro Kamei · Yasuo Tano

Received: 4 July 2006 / Revised: 1 February 2007 / Accepted: 17 February 2007
© Springer-Verlag 2007

Abstract

Background To determine the efficient parameters to evoke electrical phosphenes is essential for the development of a retinal prosthesis. We studied the efficient parameters in normal subjects and investigated if suprachoroidal-transretinal stimulation (STS) is effective in patients with advanced retinitis pigmentosa (RP) using these efficient parameters.

Methods The amplitude of pupillary reflex (PR) evoked by transcorneal electrical stimulation (TcES) was determined at different frequencies in eight normal subjects. The relationship between localized phosphenes elicited by transscleral electrical stimulation (TsES) and the pulse parameters was also examined in six normal subjects. The phosphenes evoked by STS were examined in two patients with RP

with bare light perception. Biphasic pulses (cathodic first, duration: 0.5 or 1.0 ms, frequency: 20 Hz) were applied through selected channel(s). The size and shape of the phosphenes perceived by the patients were recorded.

Results The maximum PR was evoked by TcES with a frequency of 20 Hz. The brightest phosphene was elicited by TsES with a pulse train of more than 10 pulses, duration of 0.5–1.0 ms and a frequency of 20 to 50 Hz. In RP patients, localized phosphenes were elicited with a current of 0.3–0.5 mA (0.5 ms) in patient 1 and 0.4 mA (1.0 ms) in patient 2. Two isolated or dumbbell-shaped phosphenes were perceived when the stimulus was delivered through two adjacent channels.

Conclusion Biphasic pulse trains (≥ 10 pulses) with a duration of 0.5–1.0 ms and a frequency of 20–50 Hz were efficient for evoking phosphenes by localized extraocular stimulation in normal subjects. With these parameters, STS is a feasible method to use with a retinal prosthesis even in advanced stages of RPs.

T. Fujikado · T. Morimoto · H. Kanda · S. Kusaka · K. Nakauchi
Department of Applied Visual Science,
Osaka University Graduate School of Medicine,
Osaka, Japan

H. Kanda · M. Ozawa
Nidek Co.,
Gamagori, Aichi, Japan

K. Matsushita · H. Sakaguchi · Y. Ikuno · M. Kamei · Y. Tano
Department of Ophthalmology,
Osaka University Graduate School of Medicine,
Osaka, Japan

T. Fujikado (✉)
Department of Applied Visual Science,
Osaka University Graduate School of Medicine,
2-2 Yamadaoka, Suita,
Osaka 565-0871, Japan
e-mail: fujikado@ophthal.med.osaka-u.ac.jp

Keywords Artificial retina · Retinitis pigmentosa ·
Phosphene · Pupillary reflex · Suprachoroidal-transretinal
stimulation

Introduction

Retinitis pigmentosa (RP) is one of the leading causes of blindness in developed countries and is characterized by a progressive degeneration of photoreceptors [15, 20]. In the advanced stage, RP patients have little or no functional vision. To restore some vision of these patients, the strategy

of stimulating the residual retinal neurons by a retinal prosthesis is being extensively studied [14, 31]. Various types of retinal or optic nerve prostheses have been developed, and these have been tested in animals [1, 4, 8, 10, 13, 25, 29, 30] and patients [2, 3, 7, 23]. A typical retinal prosthesis consists of an array of electrodes that is implanted above or beneath the retina and is used to deliver electrical stimulation to the retina to evoke a light sensation called phosphenes.

We have developed a new approach for stimulating the retina called suprachoroidal-transretinal stimulation (STS) [10, 19]. In this method, the retinal prosthesis is placed in a scleral pocket and the reference electrode is inserted into the vitreous. Although the distance between electrodes and the retina is not close compared with other types of artificial retinas, the transretinal currents can stimulate the retina effectively, and the threshold current to evoke electrically evoked potentials by STS is comparable to that by other electrodes [19].

The success of retinal prosthesis to restore vision depends on the presence of physiologically intact retinal ganglion cells (RGCs) that can transmit visual signals to the brain. Morphometric studies of the retinas in RP patients have shown that some of the RGCs are surviving [5, 24, 27]. Postmortem studies of RP eyes have shown that the number of RGC was approximately 30% of that in normal age-matched eyes in the macular area, but only 20% in extramacular regions [5, 24].

Several groups, [16, 21] including our laboratory, have used transcorneal electrical stimulation (TcES) to estimate the residual function of RGCs by the threshold current to evoke phosphenes in RP patients, and our studies have shown that the threshold current to elicit phosphenes was significantly higher in a group of RP patients than in normal subjects [17].

Before investigating the effectiveness of using the STS method to stimulate the retina of RP patients, the efficient parameters to evoke phosphenes by electrical pulses should be determined in normal subjects. This was necessary because it might be difficult to determine the most efficient parameters and retinal loci that would respond to the STS stimulation in RP patients under the acute circumstances of acute experiment. Although the population of retinal neurons that are activated by electrical stimulation could be different between normal subjects and RP patients, the evaluation of efficient parameters in normal subjects should be valuable as a preclinical experiment.

For this, we first studied the effect of the frequency of the TcES stimuli on the pupillary constriction in normal subjects. From this, the efficient frequency to stimulate the retina was determined objectively.

Next, we investigated the effect of localized transscleral electrical stimulation (TsES) on eliciting phosphenes in

normal subjects to determine the efficient parameters for localized transretinal stimulation. Finally, using these efficient parameters, we investigated the effectiveness of the STS method to elicit phosphenes in two legally blind patients with RP.

Subjects and methods

Normal subjects and retinitis pigmentosa patients

Eight volunteers (34±6 years; mean age ± SD) with no ocular disorders were enrolled in the TcES study, and six other volunteers (42±9 years) with no ocular disorders were enrolled in the TsES study.

Two patients (both 65 years old) with RP were studied. The diagnosis was confirmed by independent ophthalmological and ERG examinations.

All subjects and patients gave an informed consent after a full explanation of the purpose of this study and the procedures to be used. They were free to withdraw at any time. This study adhered to the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of Osaka University Hospital.

Transcorneal electrical stimulation

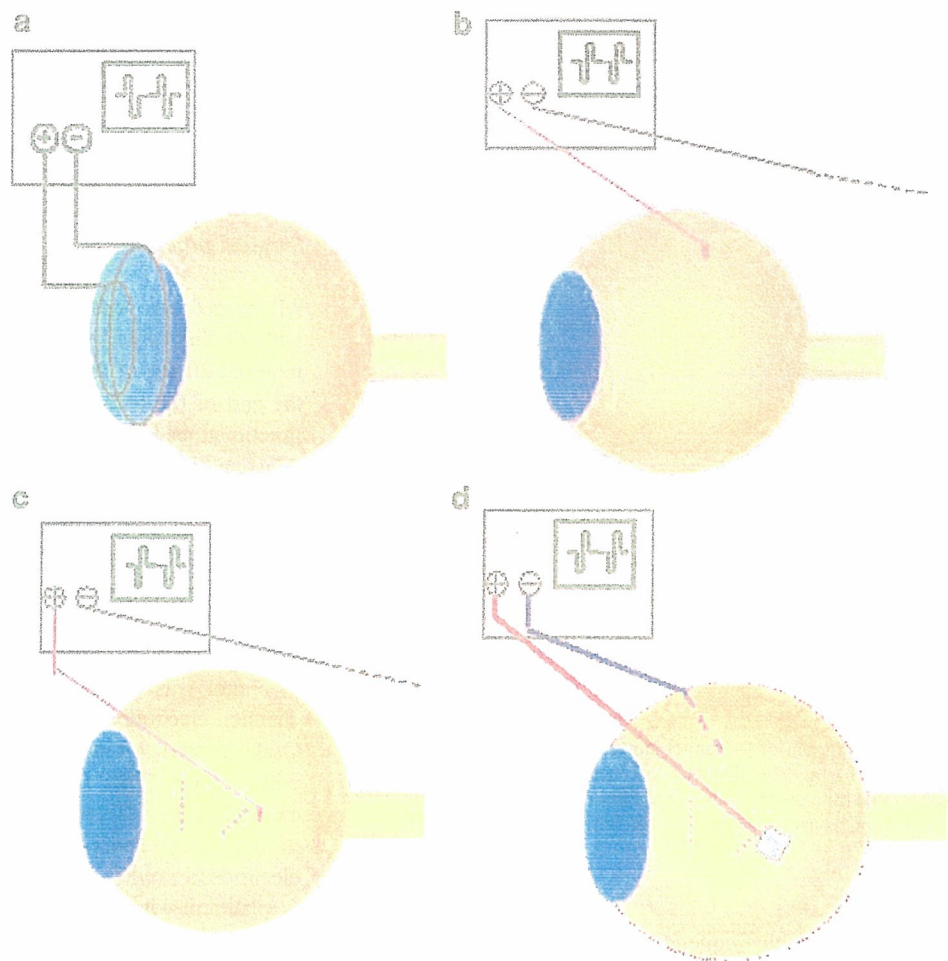
Before the TcES, the cornea was anesthetized with 0.4% oxybuprocaine hydrochloride, and the cornea was covered with 3% hyaluronic acid and 4% chondroitin sulfate (Viscoat, Alcon Japan Ltd., Tokyo, Japan) to protect it from mechanical injury by the contact lens electrode. After a dark-adaptation period of 15 min, a concentric, bipolar contact lens electrode (Burian-Allen; Hansen Ophthalmic Laboratories, Iowa City, IA) was placed on the cornea, and electric current pulses (20 pulses) were delivered from a stimulator SEN-7203 (Nihonkoden, Tokyo, Japan) and stimulus isolator unit A395 (WPI, Sarasota, FL) through the two electrodes embedded in the contact lens (Fig. 1a).

The electrical stimuli were rectangular, with a train of 20 biphasic (anodic first) pulses of 10 ms duration without an interpulse delay (Fig. 1a). These parameters that elicited phosphenes effectively were chosen based on the results of psychophysical experiments on normal volunteers (Matsushita K et al., ARVO abstract 2003). The current intensity ranged from 25 μ A to 250 μ A, and the frequency ranged from 5 Hz to 50 Hz.

Recording pupillary constriction

An infrared pupillometer, the IRISCORDER C7364 (HAMAMATSU, Hamamatsu, Japan), was used to record the pupillary responses evoked by light stimuli and by TcES. The subjects wore a goggle equipped with an

Fig. 1 Schema of different methods to stimulate the retina. a Trans-corneal electrical stimulation (TcES); b trans-scleral electrical stimulation (TsES); c trans-scleral monopolar stimulation in patients; d suprachoroidal-transretinal stimulation (STS) in patients



infrared charge-coupled device (CCD) camera and a red light-emitting diode (LED; 660 nm; maximum light power of $10 \pm 3 \mu\text{W}$; stimulus duration of 0.1 s).

Before inserting the contact lens electrode, the indirect pupillary light reflex was recorded. After inserting the contact lens electrode, the electrically evoked pupillary responses (EEPRs) were recorded from the contralateral eye. The relative amplitude of the EEPR was determined as follows:

$$\text{Relative pupillary constriction (RPC\%)} = 100(a - b)/a$$

where a = pre-stimulus baseline pupil diameter (mm), and b = maximally constricted pupil diameter (mm).

Transscleral electrical stimulation

A stimulating electrode (platinum wire, diameter: 1.0 mm, exposed 1.0 mm at the tip, Unique Medical, Osaka, Japan) was placed on the conjunctiva in the upper temporal quadrant 16 mm to 18 mm from the corneal limbus (Fig. 1b). The conjunctiva was anesthetized with 0.4% oxybuprocaine hydrochloride. A return electrode (Ag-AgCl)

was placed on the ipsilateral wrist. Pulse trains with charge-balanced biphasic pulses (cathodic first) were applied through the stimulating electrodes.

We examined the relationship between the brightness of phosphenes and the pulse parameters, viz., pulse duration, interpulse delay, frequency and the number of pulse trains, using suprathreshold currents (1.0 to 1.5 mA) (Fig. 2b). Initially, the threshold current to evoke phosphenes was determined with the other parameters fixed at a pulse duration 1 ms, interpulse delay 1 ms, frequency 20 Hz and number of pulses 20. These fixed parameters were chosen based on the results of a preliminary experiment to explore the effective parameters to elicit phosphenes. The relationship between the brightness of the phosphenes and the pulse duration was examined with the injected charge per pulse constant. The pulse duration varied from 0.5 to 4.0 ms while the frequency at 50 Hz and the number of pulses at 20.

The relationship between brightness of the phosphenes and the interpulse delay was examined with the interpulse delay varying from 0 to 4 ms while the pulse duration was

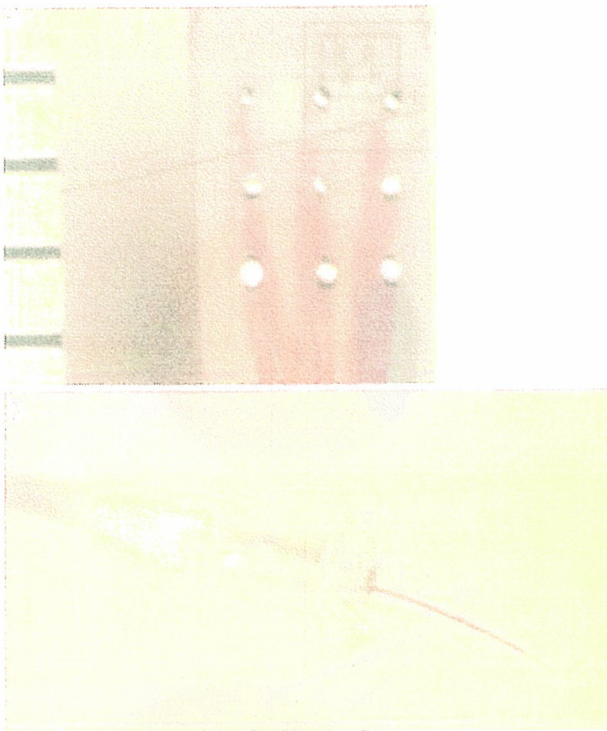


Fig. 2 Photograph of 9-channel stimulating electrode (a) and return electrode (b). **a.** The diameter of each stimulating electrode was 200 μm and the center-to-center electrode distance was 1 mm. **b** The diameter of return electrode was 100 μm

fixed at 1 ms, the frequency at 50 Hz and the number of pulses at 20. The relationship between the brightness of the phosphene and the pulse frequency was examined with the frequency varying from 5 to 100 Hz while the pulse duration was fixed at 1 ms, interpulse delay at 1 ms and the number of pulses at 20. The relationship between brightness of the phosphenes and the number of pulses was also examined with the number of pulses varied from 1 to 50 while the pulse duration was fixed at 1 ms, the interpulse delay at 1 ms and the frequency at 20 Hz.

Subjects were questioned about the brightness and the size of the phosphene for each set of stimulus parameters. The brightness was classified into five grades; the brightest phosphenes during one set of experiments was assigned a value of 5 and the next brightest was 4, and so on. The experiments were conducted systematically with an increase of stimulus parameters (pulse duration, interpulse delay, frequency and the number of pulse trains) with an interval of 5 to 10 s. The number of trials in a unique set of stimulus parameters was generally once, but was two or more when subjects asked for a repetition. Subjects were masked to the test conditions, and the examiner, who was aware of the stimulus conditions, asked questions about the

phosphenes. False positive trials (i.e., no stimulus presented) were included to determine the reliability of the responses.

Suprachoroidal-transretinal stimulation in patients with retinitis pigmentosa

Surgical procedure

All procedures were performed under topical anesthesia with 2% lidocaine hydrochloride drops; however, patient 1 required 20 mg of fentanyl intravenously at approximately the end of the trial. The total hours including surgery and functional testing was 3 h in patient 1 and 2.5 h in patient 2.

After dissecting the lateral rectus muscle insertion, trial transscleral stimuli were given to determine the scleral area around the insertion of the inferior oblique muscle that consistently evoked low threshold phosphenes (Fig. 1c). The diameter of monopolar platinum electrode was 0.5 mm (Unique Medical, Osaka, Japan). After identifying the low threshold area by monopolar electrode, a scleralpocket of 5×5 mm was created with a crescent knife, and a nine-channel electrode array (size, 4×5 mm, Unique Medical, Osaka, Japan) was inserted into the scleral pocket and secured with sutures (Fig. 1d). The diameter of each platinum electrode was 0.2 mm, and the center-to-center separation of a pair of electrodes was 1 mm. The surface of the electrode protruded from the silicon base by 50 μm (Fig. 2a). A platinum-wire reference electrode (0.1 mm in diameter, 8 mm in length and 3 mm of tip exposed) was inserted into the vitreous cavity through the pars plana (Fig. 2b).

Functional testing

A stimulator was designed to deliver charge-balanced biphasic pulses to individual electrodes simultaneously (Fig. 3a). Biphasic pulses (pulse duration, 0.5 or 1.0 ms; frequency, 20 Hz; interpulse delay, 0.5 ms; number of pulses 20, Fig. 3b) were delivered through the selected channel(s) or combination of multiple channels.

The psychophysical testing was performed under dim room lights. The current stimulation was applied 0.5 s after a conditioning phonic stimulus by a buzzer. The threshold current to perceive a phosphene was determined by increasing the current intensity from 0.1 mA until patients recognized the localized phosphene. The maximum current was limited to 1.0 mA for safety based on the rabbit experiments (Nakauchi et al., ARVO, 2006,47, E-Abstract 3197).

The size and shape of the phosphene that the patients described were recorded. False positive trials (i.e., no stimulus presented) were included to determine the reliability of the responses. The procedure was repeated to

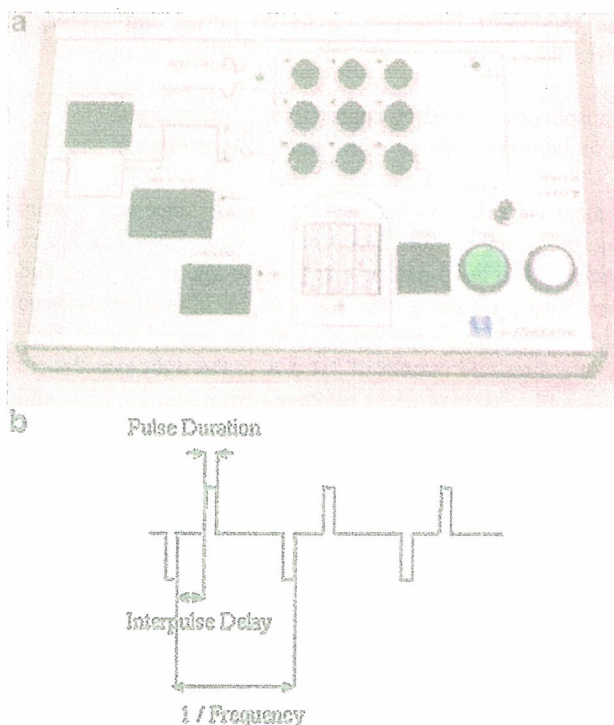


Fig. 3 Photograph of the stimulator for a 9-channel electrode (a) and the diagram of stimulating current pulse (b). a Charge-balanced biphasic pulses were delivered to individual electrodes simultaneously. b The first pulse delivers a cathodic current while the second pulse delivers anodic current to balance the charge

identify the threshold current. Care was taken not to influence the description by the patients.

After determining the threshold current of each electrode, simultaneous multi-channel stimulation was performed to examine if patients could achieve two-point discrimination or pattern recognition.

Statistical analyses

Data are presented as the means \pm standard error of the means (SEM) and were statistically analyzed with the SPSS 10.0J program (SPSS Inc, Chicago, IL). Comparisons between two groups were made by the Student's *t* test when data were normally distributed or by the Mann-Whitney U test when data were not normally distributed. The degree of correlation was evaluated by the coefficient of correlation (*r*) calculated using Pearson's correlation coefficient. Comparisons between three groups or more were made by one-way ANOVA followed by the Tukey test when data were normally distributed or by the Dunn's test when data were not normally distributed. The probability level is represented as the value *P*; statistical significance was set at $P < 0.05$.

Results

Electrically evoked and light-evoked pupillary responses in normal subjects

Typical pupillary responses from a normal subject are shown in Fig. 4. The waveform of the EEPR was similar to that of the light response, but the amplitude of the EEPR was smaller than that of the light response. The mean latency of the EEPR (at 150 μ A; 10 ms duration; 20 Hz; 20 pulses) was 0.29 ± 0.01 s and that of the light response (660 nm; maximum light power of 10 ± 3 μ W; stimulus duration of 0.1 s) was 0.33 ± 0.01 s. This difference was significant ($P < 0.01$, Student's *t* test).

The relationship between the current intensity and EEPR was examined with stimuli of 20 Hz, 10 ms duration, and 20 pulses while the current intensity was varied from 25 μ A to 250 μ A. A RPC greater than 3% was obtained at currents ≥ 150 μ A and the mean RPC was $6.3 \pm 1.1\%$. A highly significant positive correlation was found between the current intensity and the RPC amplitude ($r = 0.98$ and $P < 0.01$; Pearson's correlation coefficient, Fig. 5a).

We then examined the relationship between the frequency of the pulses and the EEPR at 150 μ A, 10 ms duration and 20 pulses while the frequency of pulses varied from 5 Hz to 50 Hz. Although the mean RPC amplitude of the EEPR was very small at frequencies lower than 10 Hz, the mean RPC reached a peak of $7.9 \pm 1.9\%$ at 20 Hz. Increasing the frequency up to 50 Hz resulted in a decrease in the RPC to $3.9 \pm 1.5\%$ at 50 Hz (Fig. 5b).

The subjective phosphenes were brighter at frequencies between 15 and 33 Hz compared with those elicited by frequencies lower than 15 Hz or higher than 33 Hz.

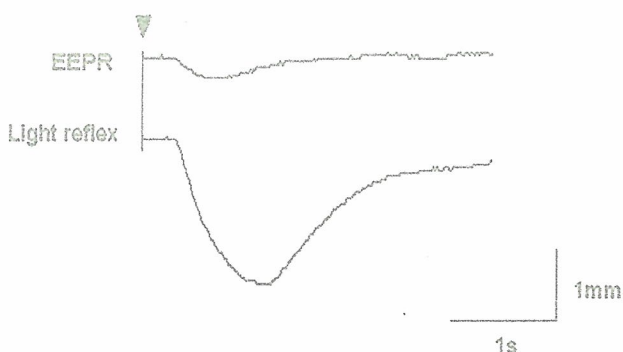


Fig. 4 Electrically evoked (upper) and light-evoked (lower) indirect pupillary responses elicited by electrical stimulation or light stimulation. The amplitude of the EEPR was smaller than that of light reflex, but the shape of the waveform is similar to that of light response

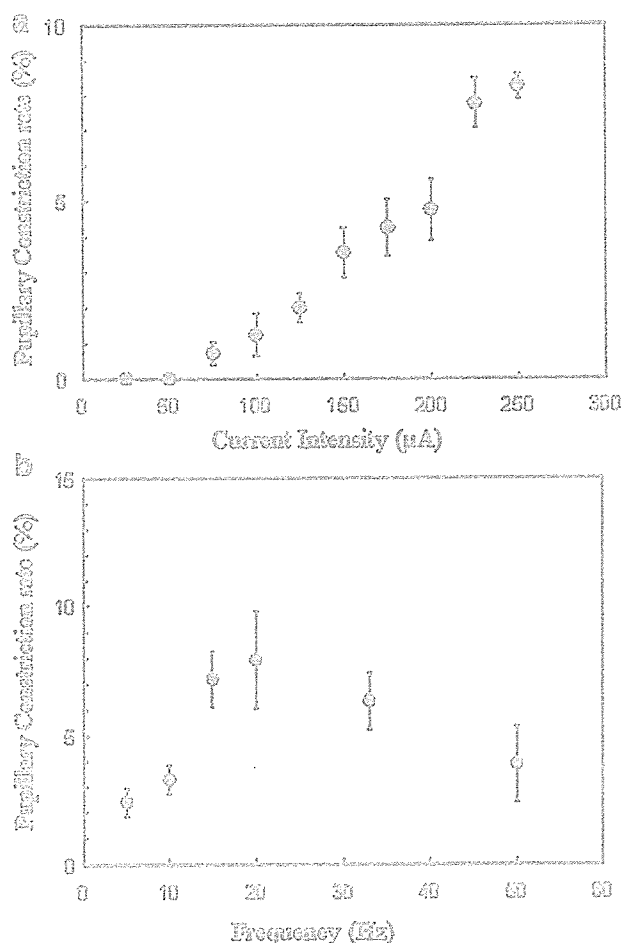


Fig. 5 Characteristics of pupillary constrictions elicited by trans-corneal electrical stimulation. **a** Relative pupillary constriction amplitudes are plotted against the current intensity in normal subjects. The average pupillary constriction amplitude increases as the current intensity increases. **b** Relative pupillary constriction amplitudes are plotted against the frequency of electrical stimulation in normal subjects. A bandpass-shaped increase of pupillary constriction amplitude is observed. Bar represents standard error

Phosphenes evoked by trans-scleral electrical stimulation

All subjects reported a localized, round-shaped phosphenes in response to TsES. The position of the phosphenes corresponded to the retinal loci where phosphenes were evoked by indenting the scleral electrode. Generally, shorter pulse durations elicited more localized phosphenes. The brightness of the phosphenes decreased with an increase of pulse duration in which the injected charge per pulse was kept constant (Fig. 6a). An increase in the interpulse delay also increased the perceived brightness of the phosphenes and was almost saturated at 1 ms (Fig. 6b). The brightness of the phosphenes increased with an increase in the pulse frequency up to 20 Hz and peaked at 50 Hz, but decreased at 100 Hz (Fig. 7a). With an increase in the pulse number,

the brightness increased up to 20 pulses and saturated (Fig. 7b).

Phosphenes evoked by suprachoroidal-transretinal stimulation in patients with retinitis pigmentosa

Patient 1 (male) has had night blindness since age 7 years and progressive visual loss from 35 years. His visual acuity decreased to hand motion (OU) at the age of 50 years and was bare light perception (OU) at the time of phosphenes test. TsES elicited phosphenes in the central visual field with a threshold current of 1.4 mA in the right eye. Patient 2 (female) has had night blindness from age 15 years and progressive visual loss from 27 years. Her visual acuity decreased to hand motion (OU) at the age of 55 years and was bare light perception (OD), and was 0 (OS) at the time of phosphenes test. TsES elicited phosphenes that were perceived in the central visual field with a threshold current of 1.1 mA in the right eye.

Examination of the ocular fundus of the two patients with RP revealed extensive retinal degeneration including

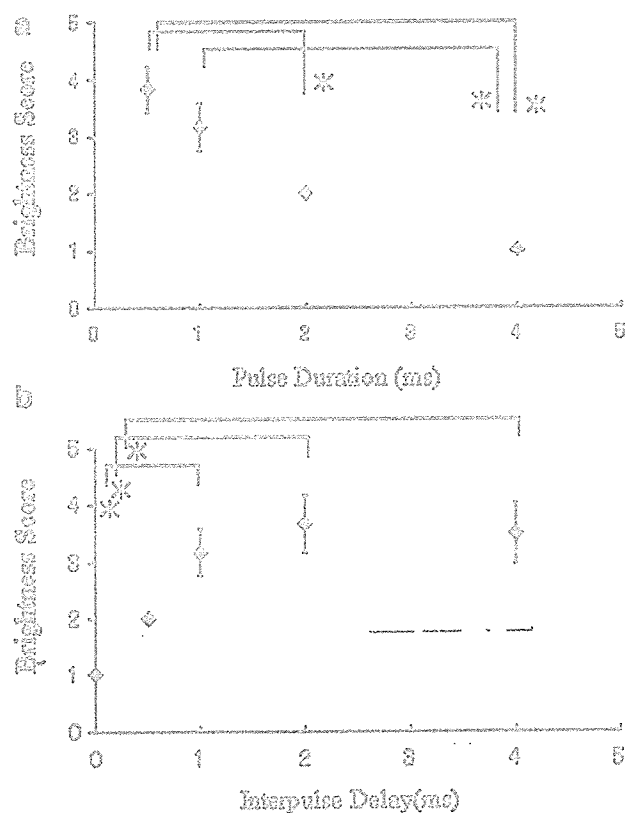


Fig. 6 The relationship between the brightness of phosphenes and pulse duration (**a**) and interpulse delay (**b**). **a** The brightness of phosphenes decreases with an increase of pulse duration (the total injected charge was constant). **b** The application of interpulse delay increased the perceived brightness of phosphenes and almost saturated at 1 ms