

数のカウントも行なった。この評価はウサギ網膜の中心部である visual streak だけでなく周辺までの全部位で行ない、垂直断面の 1mm 毎の値をプロットした。

### (3) 網膜機能の変化の研究

Tg ウサギの網膜機能の評価には網膜電図 (ERG) を用いた。ERG の記録のための光刺激には全視野刺激の Ganzfeld ドームを用い、最高で 200 cd-s/m<sup>2</sup> 以上の強いキセノンフラッシュを 7 log 幅で変化させて ERG を記録した。視細胞の機能評価は、視細胞電位 (a-wave) のフィッティング曲線により解析した。この解析方法は、視細胞の single cell 電位解析に用いられた数式を ERG の a-wave の波形の解析に利用した方法であり (Hood et al, IOVS, 1996)、視細胞の外節から内節にかけて発生する電位変化を 2 つのパラメーター、Rm (最大振幅値) と S (増幅率、つまり感度) に分類して解析することができる。双極細胞の機能評価には b 波の intensity-response カーブを sigmoid 曲線にフィットさせて最大振幅と感度を得る方法を用いた。内網状層の機能評価には律動様小波を用いた。錐体機能の評価は、40cd/m<sup>2</sup> の定常白色光の背景光下に錐体 ERG を記録し、また 30Hz フリッカー反応も使用した。

### C. 結果

6 つのラインの変異遺伝子の発現量を RT-PCR で定量した結果、発現量は 6 つのラインで大きく異なり、ライン 7 で 82%、ライン 8 で 47%、ライン 10 で 13%、ライン 11 で 6%、ライン 14 で 6%であることがわかった。またライン 16 は二重挿入によって値は様々であった。この数値は、サザン解析によって調べた変異遺伝子の推定コピー

数によく比例していることがわかった (ライン 7 は 30 コピー、ライン 11 および 14 は 1 コピー)。

眼底検査および蛍光眼底検査では生後 10 か月の段階でも Tg ウサギに異常はみられなかった (図 1)。

Tg ウサギの網膜電図 (ERG) による機能評価は、主に変性の速いライン 7 を用いて調べた。その結果、Tg ウサギの網膜電図では生後 12 か月以内に杆体機能がほぼ消失するものの、錐体機能はこの時点でまだ正常の 40%程度に保存されているという特徴があることがわかった (図 2)。

また、興味深いことに、この Tg ウサギの変性早期 (3 か月) では、視細胞電位 (a 波) や双極細胞の電位 (b 波) は正常より明らかに減弱しているにもかかわらず、網膜内層機能を反映する網膜電図の律動様小波の一部は正常よりも大きい hyper-normal を示していた。

組織学的検査の結果、Tg ウサギの網膜は進行性に網膜変性、特に視細胞変性をおこなっていることが明らかとなった。網膜中心部にあたる visual streak 付近でみると、正常ではこの部分は 6-7 層の視細胞の核が存在するのに対し、Tg ウサギでは生後 12 か月でこの部分の視細胞核はほぼ 1 層にまで減少していた (図 3 上)。さらに、TUNEL 染色により、この進行性の視細胞変性がアポトーシスによるものであることが示された (図 3 下)。

さらに、網膜の部位における変性様式の違いについて調べた。生後 3 か月の Tg ウサギの網膜の垂直断面を正常ウサギのそれと比較した結果、Tg ウサギの網膜変性が最も強い場所は網膜中心部にあたる visual

streal 付近であることがわかった (図 4)。

#### D. 考察

今回の Tg ウサギの作成にあたって、我々はウサギゲノム (rabbit BAC) を用いている。BAC を用いた Tg 動物の表現系の特徴として、挿入部位に比較的左右されず、単純にコピー数 (導入された変異遺伝子数) に依存した表現系を示す傾向があることが知られている。今回の mRNA の結果もそれを裏付ける結果となった。また、実際の網膜変性の速度も、変異遺伝子の発現量によく比例していることが確かめられている (追試中)。

網膜電図の結果については、進行性の ERG 振幅の低下に加え、杆体優位の変性という、実際の RP 患者によく似た変性様式を示した。実際にヒトの P347L 患者では、杆体機能は小児期にほぼ消失するものの、錐体機能は比較的中-後期まで残存する。我々の Tg ウサギの変性様式もこれによく似ており、生後 1 年の段階で杆体反応はほぼ消失しても錐体反応は正常の 40%程度残存していることがわかった。

また、今回 Tg ウサギにおいて、内層機能を表す律動様小波が hyper-normal となることがわかったが、同様の現象を我々は実際の RP 患者の黄斑部局所網膜電図で見いだしている (IOVS, 2007)。この現象は、視細胞変性に引き続く網膜の二次ニューロン以降の remodeling と関係している可能性があると考えている。現在はこの Tg ウサギにみられる網膜中内層の二次的変化を組織学的に検証中の段階である。

#### E. 結論

今回の結果により、Tg ウサギは人工視覚などの実験に用いる動物モデルとして、また

RP の病態生理や remodeling の研究に役立つと考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(1) Ishikawa K, Kondo M, et al. Correlation between focal macular electroretinograms and angiographic findings after photodynamic therapy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2007;48:2254-2259.

(2) Ikenoya K, Kondo M, et al. Preservation of Macular Oscillatory Potentials in Eyes of Patients with Retinitis Pigmentosa and Normal Visual Acuity. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2007;48:3312-3317.

(3) Kondo M, Ueno S, Piao CH, Miyake Y, Terasaki H. Focal Macular Cone ERG in complete type CSNB: A comparison with APB-treated monkeys. *Vision Research*. 2008;48:273-280.

##### 2. 学会発表

(1) Kondo M, Ikenoya K et al. Preservation of Macular Oscillatory Potentials in Eyes of Patients with Retinitis Pigmentosa and Normal Visual Acuity. Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology. Florida, USA. May 9, 2007.

図1：正常ウサギと Tg ウサギの眼底および蛍光眼底造影の結果

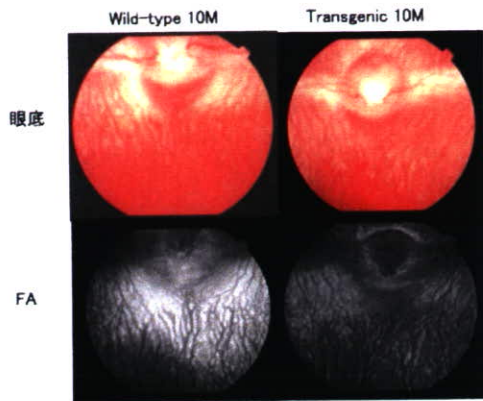


図2：正常ウサギと Tg ウサギの網膜電図 (ERG) による、視細胞応答 (a-wave) の結果

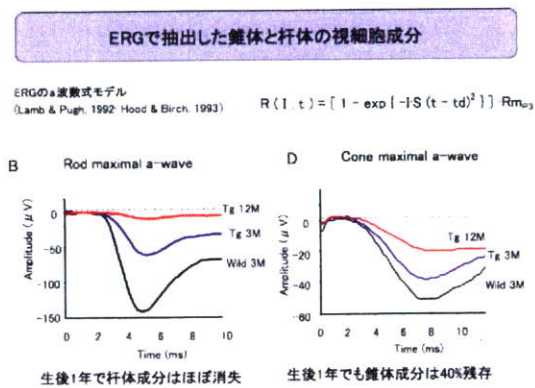


図3：Tg ウサギの網膜組織の経時的変化  
下段は TUNEL 染色の結果

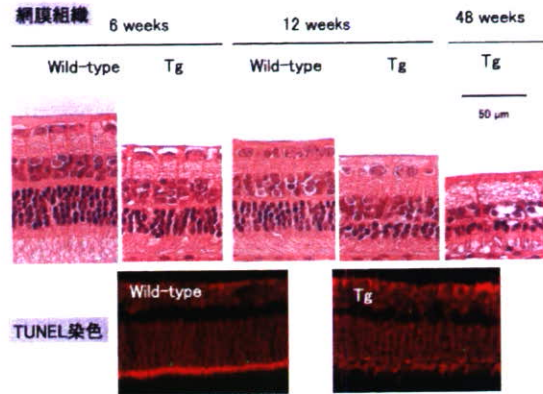
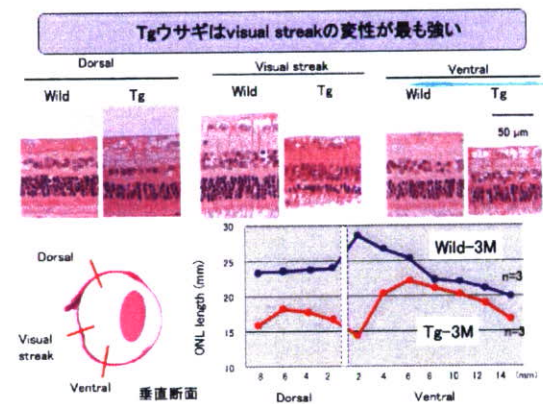


図4：Tg ウサギの網膜組織の部位による変性スピードの違い。下段では、外顆粒層の厚みの計測値をプロットしてある。



網膜刺激型電極による人工視覚システムの研究開発

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実用化を目的として、要素技術の開発を行なった。耐久性のある刺激電極の構造と製法を確立できた。これと同等構造の急性臨床試験用多極刺激電極を製作した。長期間使用可能な体内装置の包埋技術の開発を進めた。安全性を担保するためのシステム構成を考案し、キーデバイスとなるLSIの開発も進めている。患者QOLを向上させるため、体外装置の小型化にも取り組み、従来の試作機の半分程度の大きさに見える見込みである。

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）方式を実用化するための要素技術開発を本研究の目的としている。

(1) 刺激電極の開発

バルク構造白金電極への配線接続技術形成及びアレイ化を行い、その評価試験を開始する。また、急性臨床試験に用いる多極刺激電極を製作する。

(2) 体内ケーブルの開発

体内埋植に適したケーブル寸法・仕様に準じたケーブルで耐久性試験を実施する。体内ケーブルと電極及び体内ケースの接続技術を確立する。

(3) 気密ケースの開発

体内電気回路基板を封止する気密貫通端子付きケースと、マルチプレクサLSIを気密封止するパッケージを開発する。

(4) 体内装置の電気回路開発

安全性を担保するための要素回路技術をLSI

として開発する。

(5) 体外装置の小型化

体外装置の小型化・低消費電力化を可能とする電気回路を開発する。

B. 研究方法と成果

(1) 刺激電極の開発

平成18年度に、白金のバルク材を切削加工することで電極形成を行う技術を確立した。この技術を用いて作成した多数個の電極を、電極アレイとして埋植可能な形状に作り上げるために、アクリル犠牲層を用いたプロセスを開発した。まず機械加工により、アクリルの犠牲型に刺激電極と同径の穴を形成した。次に刺激電極をアクリルの穴に挿入し、配線を電極アレイの長軸と同じ向きに整列させた。続いて生体適合性を有する樹脂であるパルレンを50 $\mu$ mコーティングし、微細加工装置で外形加工を行った後に有機溶剤を用いてアクリル犠牲層を溶解除去することにより電極アレイを離型した。最終的に完成した電極の断面図をFig.1に、全体写真をFig.2にそれぞれ示す。

この製造プロセスは、一般のフレキシブルプリント配線板とは大きく異なっている。一般にはベースフィルム上に配線パターンを形成後、別の樹脂フィルムを貼り合わせることで基板を形成する。一般の工業用途ではこの構造で問題ないが、生体内での使用においては貼り合わせ界面からの水分侵入による破損が懸念される。これに対して今回は上述のように基板を一体形成しており、張り合わせ界面自体が存在せず、したがって界面からの水分侵入といった故障モードは存在しない。これは他国で開発されている電極アレイと異なる構造であり信頼性の面で有利である。

刺激電極への配線技術については、線材、微細加工装置を用いた箔材からの切り出し配線、白金パウダー材料の焼成を比較検討し、白金イリジウム(Pt90-Ir10)の線材を選定した。さらに線材について単線と撚り線を実際に刺激電極に接続して耐久性試験を実施し、その結果に基づき白金イリジウム 3 本撚り線を選定した(Fig.3)。次に微細抵抗溶接を用いて刺激電極と配線を接続した。なお配線すなわち白金イリジウム 3 本撚り線は、絶縁のためバリレンでコーティングされている。さらに白金の切削加工で形成したワッシャ(Fig.4)を乗せてかしめることにより電氣的・機械的に安定した接続を実現することが可能となった。

このようにして形成した刺激電極に対して、電荷注入能力評価、曲げ試験、生理食塩水中の慢性通電及び生体内での慢性刺激評価を実施した。まず電極評価装置を用いて電荷注入能力評価を測定したところ、目標値  $0.5 \mu C$  以上に対し実測  $0.79 \pm 0.1 \mu C$  であり、期待以上の性能を有していることが確認できた。次に手術時の坐屈を想定して、 $R=1mm$  での  $90^\circ$  曲げ試験を実施し、手術における坐屈が 10 回起こっても断線等の問題が発生しないことを確認した。続いて生理食塩水中で、 $1mA$   $0.5ms$   $50Hz$  の双極電流パルスを 6 か月間にわたり流し続ける試験を行ったが、通電前後の

SEM 像を比較して差異は認められず、少なくとも今回の評価期間において十分な耐久性を有していることを確認した(Fig.5, Fig.6)。実際には 1 日当たりの通電時間は最長でも 8 時間を想定しており、上記の慢性通電で 1 日 24 時間通電していることを考慮すると、少なくとも 18 か月の耐久性は実証されたと言える。さらに実際に刺激電極を家兔の眼に埋植し、有線にて慢性刺激可能な実験系を開発した(Fig.7)。これを用いて 1 日あたり 8 時間の通電を 1 か月間実施したところ、通電前後で電極に顕著な変化は見られず良好な耐久性を確認した。

刺激電極としての性能が工業的評価並びに *in vivo* 評価によって確認されたので、臨床試験に用いる多極刺激電極を製作した(Fig.8)。 $7 \times 7$  極の電極アレイ中、 $3 \times 3$  極に対して、有線で刺激電流を流すことができ、これを用いた急性臨床試験にて正常に機能した。

## (2) 体内ケーブルの開発

平成 18 年度に基本構造及び製造プロセスを構築した体内ケーブルについて改良を施し、硝子体電極用ケーブルとして 2 芯螺旋ケーブル(ケーブル外径  $1.0mm$  Fig.9)、刺激電極用ケーブルとして 8 芯螺旋ケーブル(ケーブル外径  $1.5mm$  Fig.10)を製作した。ケーブルは直径  $25 \mu m$  Pt-Ir 線 5 本で撚り線を製作した後に、厚さ  $10 \mu m$  のバリレンコートを施した芯線を螺旋状にして、生体適合シリコーン樹脂で包埋した構造となっており、撚り線の本数と撚りピッチ、螺旋径と螺旋ピッチ等については用途に合わせて仕様を策定した。ケーブル端と硝子体電極間の接続技術として、強膜に糸で縫い付けられる形状の生体適合エポキシ樹脂に、ケーブル芯線を抵抗溶接で接合した白金製硝子体電極をセットし、エポキシ樹脂で一体化した後に最外周部をシリコーン樹脂包埋して、表層の軟化と体液の浸水を防止する構造とした(Fig.11)。但し、シリコーン被覆材料とエポキシ樹

脂を直接接合すると容易に剥離するため、シリコーン被覆接合部に接着力を改善する前処理を施してからエポキシ樹脂と接合する工程として接合強度を確保した。ケーブルの他端は体内ケースとコネクタで接続されるため、耐久性試験用ケーブルを製作し、その両端に試作体内コネクタを接続した(Fig.12)。試作コネクタのコネクタピンは、SUS316L製で外径0.2mm、コネクタピンの配置直径は1.5mm(Fig.13, Fig.14)である。

ケーブルは眼球運動をとまなう部位に埋植されるため、従来の体内埋め込み型機器より厳しい信頼性試験を行なう必要があり、一箇所 $\pm 90^\circ$ の繰り返し曲げを与えて47,000サイクル以上の耐久性を要求する埋め込み型ペースメーカー等承認基準に代わり、被試験全領域にわたり $\pm 180^\circ$ の繰り返し曲げを与えるIEC60227規格を参考にした耐屈曲性試験装置を製作して、1,000,000サイクルの耐久性試験で問題が無いことを確認した(Fig.15)。またケーブル端と硝子体電極、ケーブル端とコネクタの接続部の耐久性については、埋め込み型ペースメーカー等承認基準と同等の $\pm 45^\circ$ 耐久性曲げ試験を実施し、ペースメーカー等承認基準が82,000サイクル以上の耐久性を要求するのに対し、1,000,000サイクルの耐久性試験を実施して問題の無いことを確認した(Fig.16)。

### (3) 気密ケースの開発

基板上に、LSI実装用のパッドと気密封止用リッドを付ける枠をメタライズした、内部配線を有するマルチプレクサLSIを気密パッケージングするのに用いるセラミック基板を製作した(Fig.17)。基板の構成材料は、生体安全なもののみである。裏面のビア上に、刺激電極配線を接合するための白金バンプを形成する実験を行い、バンプ接合条件を最適化することにより必要な強度が得られることが分かった(Fig.18)。リッドによる封止は、枠の上に高さ $300\mu\text{m}$ の側壁を形成してからLSIをフリップチップ実装し、側壁の上面にチタン製リッドを

シーム溶接する。このために必要な技術開発を行なった。白金メタライズの枠の上に白金製の側壁を形成するために、白金製放電用電極を製作して(Fig.19)肉盛実験を行ない、従来の技術では困難である白金の厚肉形成の可能性について調査し、厚さ $100\mu\text{m}$ の肉盛実験を実施した(Fig.20)。チタン製のリッドと白金をシーム溶接する技術については、気密封止用パッケージとチタンリッドの間に厚さ $30\mu\text{m}$ の白金箔を挟んだシーム溶接試験を実施し、チタンと白金の溶接で気密性が確保されるか試験し、 $1.0 \times 10^{-7} \text{Pa} \cdot \text{m}^3/\text{sec}$ の気密性が得られた。(Fig.21)

平成18年度に試作した体内ケースは、貫通端子をケースに接合する溶接工程の熱により、気密ガラスが融解する問題が発生した。そこで、1本ずつ別々の部品であった気密端子を、必要な端子数を一つにまとめてケース端面の部品とし、一体化した気密貫通端子アレイとする構造にして(Fig.22)ケースを製作した。N=18のサンプルにおいて $1.0 \times 10^{-9} \text{Pa} \cdot \text{m}^3/\text{sec}$ 以下の気密性能を確保していることを確認した。

体外コイルを体内コイルと正しく向き合う位置に固定するため、コイルの中心にはマグネットを設置する。マグネットは生体安全な材料で構成されているわけではないので、生体安全なチタン材を用いたマグネットケースを試作した(Fig.23)。十分な気密性を得るために、ネオジム磁石を内蔵して溶接封止した。溶接時の温度上昇は磁力を低下させる範囲ではないことを確認した。

### (4) 体内装置の電気回路開発

リスク分析と評価を実施した結果、防水故障が想定されるフレキシブルケーブルなどの樹脂包埋部に直流電圧が与えられていると、生体組織の損傷というリスク要因になるため、気密ケース外の電氣的接続は全て交流結合としたシステムのための回路技術を開発してきた。さらに自己診断機能をシステムに追加し、体内装置の具体的なシステム

構成のキーデバイスとなるマルチプレクサLSIを開発した (Fig.24)。これらのシステム構成を実現するためのコア技術に関して、特許を出願した。

体内装置のシステム構成をFig.25に示す。図中、体内コイル部は体外からの電力の受信と体外装置との通信のために設置され、樹脂包埋されている。体内装置本体部は、電気回路基板が気密封止した金属ケースに収められる。マルチプレクサ部は整流素子とマルチプレクサLSIが気密封止したセラミックパッケージに収められる。体内装置本体部とマルチプレクサ部間の配線は、電源と制御信号の供給線、刺激信号線、故障モニタ用の配線とも、カップリングコンデンサを介して接続されている。このようにマルチプレクサ部と体内装置本体部間は、電気的に直流が遮断されているので、マルチプレクサ部側における刺激信号線の電位を、刺激電流の向きによって制御する必要があり、その制御回路を内蔵した。

故障が起こっても装着者に危険が及ばないようにするための自己診断回路は、FMEA(Failure Mode and Effect Analysis)を実施することで、現段階で考えられるできるだけ多くの故障モードを想定し、それらの検出動作が可能な構成とした。

ハーメチック・ケース内部はハードケースで保護されているため故障の発生確率は低いが、ハーメチック・ケースの外部は包埋材料が樹脂のみなので、長期にわたる完璧な防水性能を実現することは困難である。あるいは、柔軟な材料で包埋された可動部位の配線等は、常に機械的なストレスを受けるため、断線や短絡故障を想定する必要がある。

そこで以下のあらゆる故障モードの検出が可能な構成を考案した。

- ① 硝子体ケーブルの断線
- ② 刺激電極配線の断線
- ③ 刺激電極配線の短絡
- ④ 刺激信号線、故障モニタ用配線の断線

- ⑤ 電源供給線の絶縁不良
- ⑥ 刺激信号線の絶縁不良
- ⑦ 故障モニタ用配線の絶縁不良
- ⑧ 電源供給線と刺激信号線間の短絡
- ⑨ 電源供給線と故障モニタ用配線間の短絡
- ⑩ 刺激信号線と故障モニタ用配線間の短絡
- ⑪ 電源供給線間の短絡

一例として①硝子体ケーブルの断線チェック時のスイッチ状態を構成図Fig.26に示す。体内装置から微小電流を流して、MUX - 刺激電極 - 生体 - 硝子体電極 経由で電流が流れると正常であり、電流が流れずに電流源回路両端電圧が飽和すれば断線であることがわかる。

#### (5) 体外装置の小型化

従来の試作機では、体内装置、体外装置ともに汎用部品を多用しており、ここでの電力消費を支えるための電源回路とバッテリーが装置の小型化を阻害していた。これらは専用部品を用いた構成に設計変更することで、消費電力を1/2程度にできることが見込まれているが、従来比1/2の小型化のためには十分でない。そこで体外から体内への電力伝送効率を向上させることで、より一層の低消費電力化を図り、トータル消費電力1/3を実現する要素技術を開発した。

体外と体内間という近距離の無線電力伝送と双方向通信をコイル・リンクによる電磁結合で実現してきたが、体内から体外への通信に負荷変調方式を用いていたため、電力伝送効率を犠牲にしていた。通信のS/N比を上げることで負荷変調を抑制し、電力伝送効率を向上させることができる。従来は搬送波の基本波成分を用いて通信していたが、高調波成分を抽出して用いることでS/N比の向上が図れ、電力伝送効率を2倍にすることができた(Fig.27)。

そのほかには、一つの改良で大幅な改善は見込めなかったが、個々の部品における消費電力を詳細に分析し、トータルの電力伝送効率4倍

が見通せた。例として、体外コイルの抵抗損失について述べる。

電力伝送の搬送波として16MHz帯を用いているので、コイルを構成する導体の抵抗損失は、表皮効果を考慮する必要がある。磁界解析シミュレータを用いてコイルの実質抵抗を推定し、損失を低減する構造を設計した。Fig.28は2次試作機で用いた導体の厚みが15  $\mu$  mの体外コイルをモデル化したものである。コイルの断面を半径方向の微小要素に分解し、16MHz帯の電流分布を求めるとFig.29ようになる。コイルの断面積を大きくすると抵抗損失を低減できるので、コイルの厚みをパラメータとして計算を繰り返し、プリント配線コイルの厚みとして実現可能な45  $\mu$  mで電力損失を1/2.4にできることがわかった。

電力伝送系の他の部品においても個々の詳細な最適化を図ることで、電力伝送効率として4倍の目途が立った。先に述べたような設計変更と併せてトータル1/3の低消費電力化により、従来比1/2の体外装置が可能になった。

## C. 考察および結論

### (1) 刺激電極の開発

白金バルク構造電極を用いて 7×7 配列の電極アレイを作成し、その機能性及び耐久性評価を行った。また急性臨床試験用の刺激電極を製作した。今後、さらなる多極化技術を模索するとともに次世代電極材料についての検討を進めてゆく。

### (2) 体内ケーブルの開発

刺激電極ケーブル及び硝子体電極ケーブルを開発し、耐久性を検証した。また、ケーブル端の接続技術を開発した。今後は前臨床試験、臨床試験を通して技術の実証を行っていく必要がある。

### (3) 気密ケースの開発

多芯気密貫通端子付き体内ケースとマルチプ

レクサ用気密パッケージに用いるセラミック基板を開発した。体外コイルの位置固定用マグネットを気密封止するマグネットケースを試作・評価した。体内ケースは目標の気密性能を達成したが、マルチプレクサ用パッケージの気密性能が不足している。側壁の形成工程を最適化して性能向上を図る必要がある。

### (4) 体内装置の電気回路開発

安全性を担保するためのシステムを構築するLSIの構成を考案し、キーデバイスとなるマルチプレクサLSIの設計を完了した。今後、このシステムを構成する他のLSIも含め試作・評価へと進めていく。

### (5) 体外装置の小型化

体内と体外の通信に新たな方式を提案し、より安定かつ低消費電力の通信機能回路を試作・実証した。磁界解析シミュレータの導入による体外コイルの改善とその他の最適化設計も併せ、電力送信効率が4倍になる見通しであり、従来比1/2の小型化が可能になった。

## D. 健康危惧情報

特になし。

## E. 研究発表

### (1) 論文

①

### (2) 学会発表

①

## F. 知的財産権の出願・登録状況

①

②

③

## 【図表】



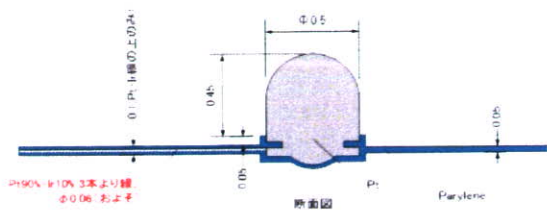


Fig.1 電極断面図

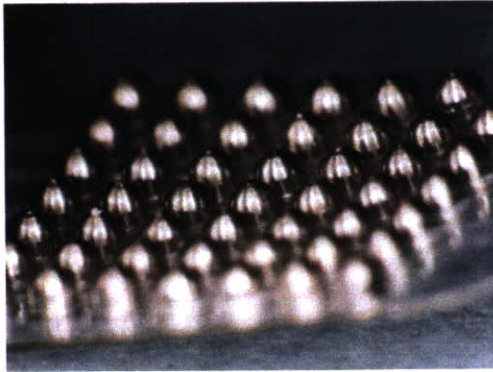


Fig.2 49極電極アレイ

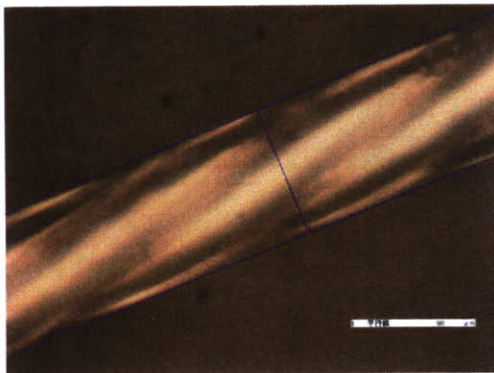


Fig.3 Pt-Ir 3本撚り線

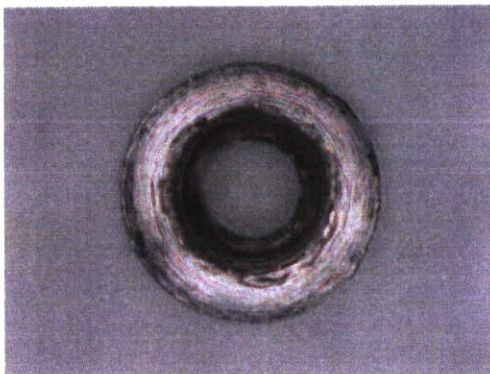


Fig.4 ワッシャ



Fig.5 6か月PBS中通電 通電前

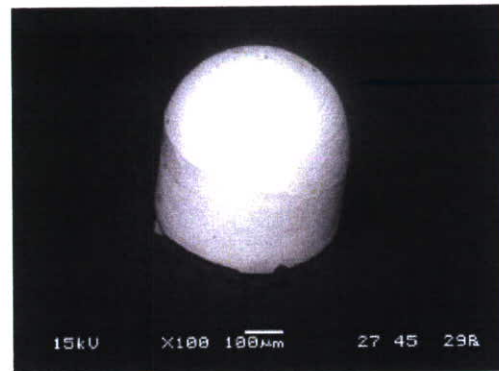


Fig.6 6か月PBS中通電 通電後



Fig.7 慢性刺激実験系



Fig.8 急性臨床試験用刺激電極

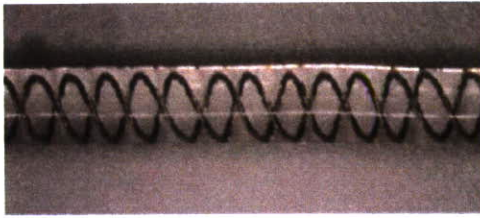


Fig.9 硝子体電極用ケーブル

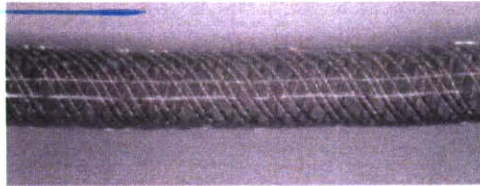


Fig.10 刺激電極用ケーブル

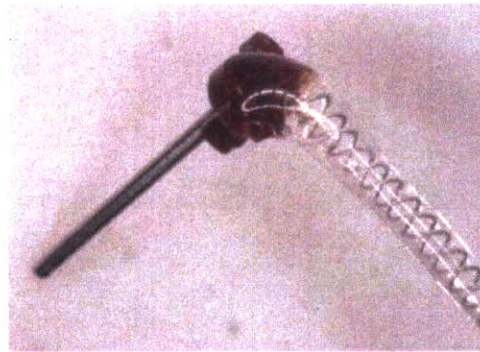


Fig.11 硝子体電極-ケーブル接合部

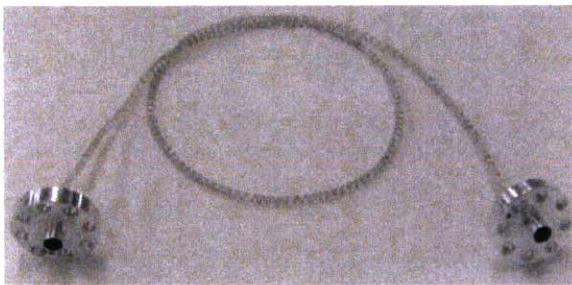


Fig.12 耐久性試験用ケーブル

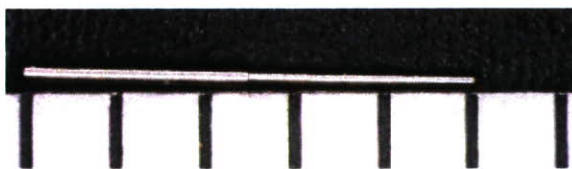


Fig.13 コネクタピン

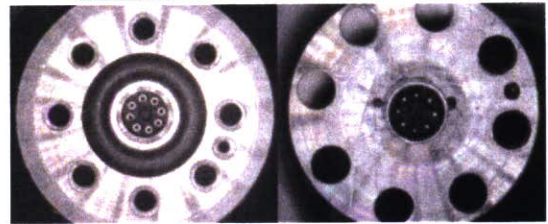
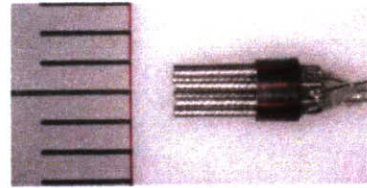


Fig.14 試作メスコネクタとオスコネクタ

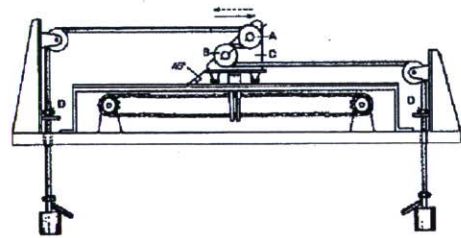
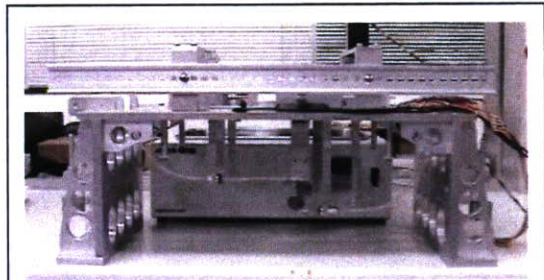


Fig.15 ケーブル耐屈曲性試験

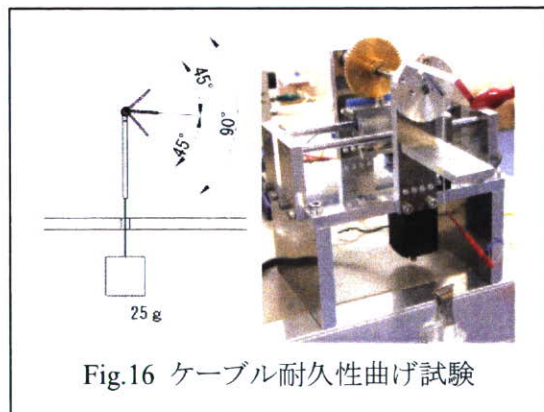


Fig.16 ケーブル耐久性曲げ試験



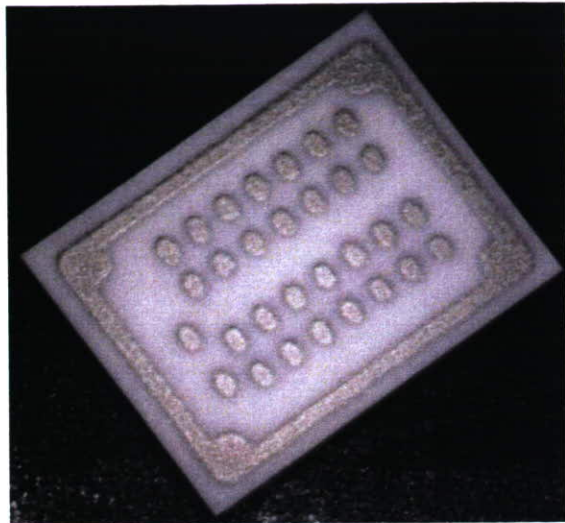


Fig.17 LSIパッケージ用セラミック基板



Fig.18 セラミック基板白金ビア上に  
形成したバンプ

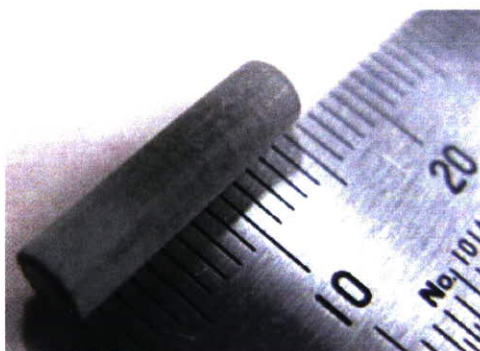


Fig.19 白金製放電電極



100 μm

Fig.20 白金肉盛実験



Fig.21 チタンリード-白金箔  
シーム溶接試料



Fig.22 基板用気密封止ケース



Fig.23 気密封止マグネット

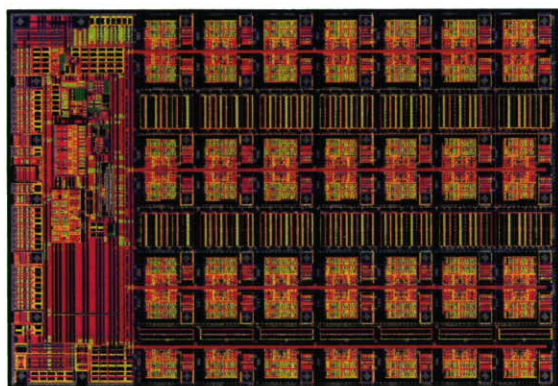


Fig.24 マルチプレクサLSI

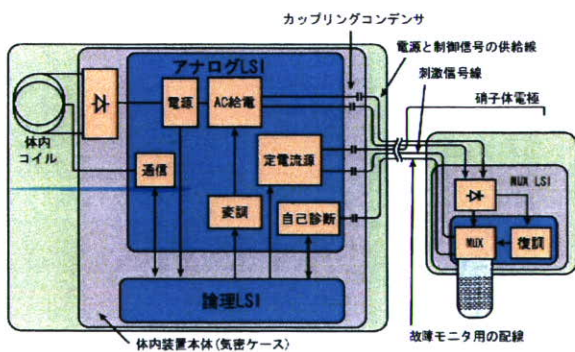


Fig.25 体内装置のシステム構成

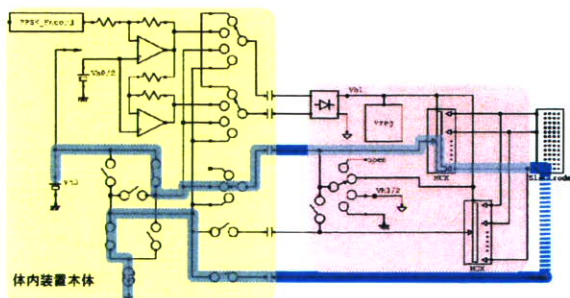


Fig.26 硝子体ケーブルの断線チェック時のスイッチ状態

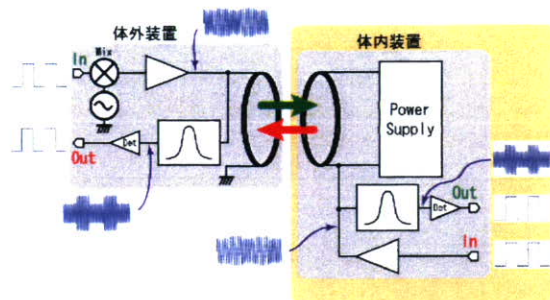


Fig.27 高調波成分による双方向通信

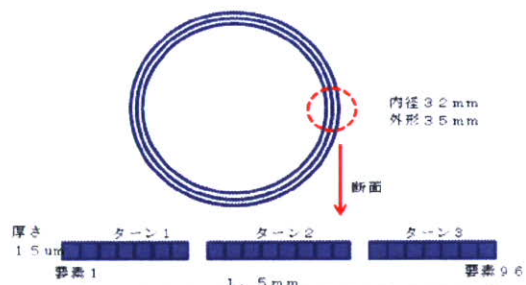


Fig.28 体外コイルのモデル化



Fig.29 コイルの電流分布

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

#### 書籍

1. 太田 淳, 「バイオ医療応用 CMOS イメージセンサの最新動向—高性能化, 高機能化から応用展開まで—」, シーエムシー, 東京, 2007.
2. J. Ohta, T. Tokuda, K. Kagawa, Y. Terasawa, M. Ozawa, T. Fujikado, Y. Tano, "Chapter 8. Large-scale Integration-Based Stimulus Electrodes for Retinal Prosthesis," *Artificial Sight*, by M.S. Humayun, J.D. Weiland, G. Chader, E. Greenbaum (Eds.), pp.151-168, 2007, New York, NY, Springer.
4. Fujikado T, Morimoto T, Kanda H, Kusaka S, Nakauchi K, Ozawa M, Matsushita K, Sakaguchi H, Ikuno Y, Kamei M, Tano Y, Evaluation of Phosphenes Elicited by Extraocular Stimulation in Normals and by Suprachoroidal-Transretinal Stimulation in Patients with Retinitis Pigmentosa. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:1411-1419.

#### 雑誌

1. Kitaguchi Y, Bessho K, Yamaguchi T, Nakazawa N, Mihashi T, Fujikado T. In vivo measurements of cone photoreceptor spacing in myopic eyes from images obtained by an adaptive optics fundus camera. *Jpn J Ophthalmol*. 2007 Nov-Dec;51(6):456-61
2. 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 of Surgeons Rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:4725-4732
3. Nakauchi K, Fujikado T, Kanda H, Kusaka S, Ozawa M, Sakaguchi H, Ikuno Y, Kamei M, Tano Y, Threshold suprachoroidal-transretinal stimulation current resulting in retinal damage in rabbits. *J. Neural Eng.* 2007;4:S50-S57
5. Y. Okawa, T. Fujikado, T. Miyoshi, H. Sawai, S. Kusaka, T. Mihashi, Y. Hirohara, Y. Tano [Optical Imaging to Evaluate Retinal Activation by Electrical Currents using Suprachoroidal- Transretinal Stimulation] *IOVS*, 2007
6. Ishikawa K, Kondo M, et al. Correlation between focal macular electroretinograms and angiographic findings after photodynamic therapy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2007;48:2254-2259.
7. Ikenoya K, Kondo M, et al. Preservation of Macular Oscillatory Potentials in Eyes of Patients with Retinitis Pigmentosa and Normal Visual Acuity. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2007;48:3312-3317.
8. Kondo M, Ueno S, Piao CH, Miyake Y, Terasaki H. Focal Macular Cone ERG in complete type CSNB: A comparison with APB-treated monkeys. *Vision Research*.

2008;48:273-280.

9. T. Tokuda, S. Sugitani, M. Taniyama, A. Uehara, Y. Terasawa, K. Kagawa, M. Nunoshita, Y. Tano, J. Ohta, "Fabrication and validation of a multi-chip neural stimulator for in vivo experiments toward retinal prosthesis," *Jpn. J. Appl. Phys.* 46 (4B), 2792-2798, 2007.
10. 徳田 崇, 杉谷 幸愛, 浅野 良介, 谷山 真理, 寺澤 靖雄, 上原 昭宏, 香川 景一郎, 布下 正宏, 田野 保雄, 太田 淳, 「人工視覚を目指した CMOS LSI 搭載フレキシブル網膜刺激デバイス」, *電気学会論文誌 C*, 127 (10), 1588-1594.
11. Osanai M, Sakaehara H, Sawai H, Song W-J, Yagi T. Optical recording of retinal and visual cortical responses evoked by electrical stimulation. *IEEJ Trans. EIS.* 127: 1595-1602, 2007.
12. 澤井元 新しい刺激法を用いた人工網膜の開発 *メディカルバイオ* 4:36-41, 2007.

---

CLINICAL INVESTIGATION

---

## In Vivo Measurements of Cone Photoreceptor Spacing in Myopic Eyes from Images Obtained by an Adaptive Optics Fundus Camera

Yoshiyuki Kitaguchi<sup>1</sup>, Kenichiro Bessho<sup>2</sup>, Tatsuo Yamaguchi<sup>3</sup>,  
Naoki Nakazawa<sup>3</sup>, Toshifumi Mihashi<sup>3</sup>, and Takashi Fujikado<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Applied Visual Science, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan; <sup>2</sup>Yodogawa Christian Hospital, Osaka, Japan; <sup>3</sup>Topcon Research Institute, Tokyo, Japan

---

### Abstract

**Purpose:** To determine the cone spacing in normal and myopic eyes from the images obtained by an adaptive optics (AO) fundus camera.

**Methods:** Nineteen eyes of 19 healthy volunteers with a mean  $\pm$  SD spherical equivalent refractive error of  $-3.7 \pm 3.3$  diopters (D) (range,  $-0.3$  to  $-11.1$  D) and a mean axial length of  $25.4 \pm 1.61$  mm (range,  $23.4$ – $28.0$  mm) were investigated in a prospective cross-sectional study. An AO fundus camera equipped with a liquid crystal phase modulator was used to obtain the images of the photoreceptor mosaic. The spacing between the cones was calculated manually at a retinal locus  $2^\circ$  temporal from the center of the fovea. The magnification of the image was calculated by the axial length measured with an IOL Master.

**Results:** The axial length was correlated with the refractive error (Pearson,  $r = -0.869$ ;  $P < 0.001$ ). The average cone spacing in the moderate- to high-myopia group ( $-6.5 \pm 2.3$  D,  $n = 9$ ) was  $4.71 \pm 0.44$   $\mu$ m, which was significantly greater ( $P = 0.002$ ) than the  $3.90 \pm 0.47$   $\mu$ m in the normal and low-myopia groups ( $-1.1 \pm 0.9$  D,  $n = 10$ ). The cone spacing was significantly correlated with the axial length ( $r = 0.77$ ,  $P < 0.001$ ).

**Conclusions:** The AO fundus camera is capable of acquiring images of the photoreceptors in normal and myopic eyes. The greater spacing between cones in the myopia group is consistent with histological findings. These results suggest that retinal expansion should be considered in addition to Knapp's law when aniseikonia is evaluated in axial myopia. **Jpn J Ophthalmol** 2007;51:456-461 © Japanese Ophthalmological Society 2007

**Key Words:** adaptive optics, myopia, photoreceptor

---

### Introduction

The incorporation of adaptive optics (AO) technology into a fundus camera has made it possible to obtain higher resolution images of photoreceptor cells (PR) in vivo. This is accomplished by significantly reducing the ocular wavefront

aberrations of the eye.<sup>1</sup> Several studies have reported on high-resolution images of the photoreceptors of human eyes;<sup>2-9</sup> however, a study of a large number of eyes has not been published, probably because the AO apparatus is not user friendly and a considerable amount of time and effort is necessary to obtain high-quality images.

The AO system has two components: a Hartmann-Shack (H-S) wavefront sensor to measure the aberrations in the eye, and a compensating device for the measured aberrations. Although use of an H-S wavefront sensor for measuring aberrations is common, several types of compensating devices are used. A deformable mirror, which is a mechani-

---

Received: May 8, 2007 / Accepted: July 20, 2007

Correspondence and reprint requests to: Takashi 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



cal device to compensate for the aberrations, has been used in several laboratories.<sup>2</sup> It has a high speed, and the amount of compensation is great, but the device is large and expensive. A liquid-crystal phase modulator is an optical device to compensate for aberrations. It has been used by only a small number of groups.<sup>10</sup> The speed of this modulator and the amount of compensation are less than those of the deformable mirror, but the modulator is small and it is less expensive. We have developed a compact and efficient AO fundus camera using this liquid-crystal phase modulator that enables a single operator to examine subjects efficiently.

According to a histological study, the density of photoreceptor (PR) cells is lower in eyes with pathological myopia than in eyes with emmetropia.<sup>11</sup> Psychophysical measurements have also shown that the spacing between retinal neurons is larger in myopic eyes.<sup>12,13</sup> However, it is not well established whether the cone spacing in myopic eyes with normal vision, that is, nonpathological myopia, is different from that in normal eyes. We examined the intercone distances in emmetropic and myopic eyes by using the AO fundus camera, and compared the cone spacing in myopic eyes to that in emmetropic eyes.

## Subjects and Methods

### Subjects

The research protocol was approved by the institutional review board of the Osaka University Medical School and conformed to the tenets of the Declaration of Helsinki. After the nature and possible consequences of the study were explained, written informed consent was obtained from all subjects.

The left eyes of 19 subjects without ocular pathology (age, mean  $\pm$  SD,  $30.9 \pm 10.4$  years; range, 20–52 years) were investigated. The refractive error, determined by subjective refraction, ranged from  $-0.1$  to  $-11.1$  diopters (D) with a mean spherical equivalent of  $-3.7 \pm 3.3$ D. The power of astigmatism ranged from 0 to 1.5D with a mean of 0.6D. The axial length measured by an IOL Master (Carl Zeiss Meditec, Jena, Germany) ranged from 23.4 to 28.0 mm with a mean of  $25.4 \pm 1.61$  mm.

### Adaptive Optic Fundus Camera

In principle, our AO fundus camera is similar to that described by Roorda and Williams.<sup>2</sup> Briefly, the main components of the camera are a nematic liquid-crystal phase modulator (LCPM: X8267-12, Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan), a Hartmann-Shack wavefront sensor (HSWS:  $28 \times 28$  lenslets, especially made by Topcon, Tokyo, Japan), and a scientific CCD digital camera (C9100-02, Hamamatsu Photonics). The light source for the wavefront sensing path is a 690-nm laser diode (FiberMax, Blue Sky Research, Milpitas, CA, USA), and the retinal illumination

path is provided by a 635-nm laser diode (LLS-635-50; Moritex, Tokyo, Japan). To avoid generating speckles because of the coherence of the light source, a rotary wedged prism is placed in the optical path of the wavefront sensor, and a light-shaping diffuser sheet (Physical Optics, Torrance, CA, USA), which rotates at 20000rpm, is placed in the retinal illumination path.

The wavefront sensor measures the ocular wavefront up to the eighth Zernike order, and the phase modulator compensates for the measured wavefront aberrations. These two components form a closed loop of continuous wavefront compensations, which is limited to approximately 3Hz by the working speed of the phase modulator. The system is also equipped with coaxial,  $8^\circ$  view width optics to identify the location and orientation of the highly magnified retinal images being observed.

The subject is instructed to fixate on fixation points that are placed every  $0.5^\circ$  up to  $4^\circ$  on the radial lines of the fixation chart.

The area occupied by the AO system is  $0.8\text{ m} \times 0.8\text{ m}$  with a height of 25 cm, so it is compact enough to be placed in a clinical examination room. The time required to capture a series of AO images from a selected retinal locus is about 2 min.

### Acquiring Fundus Images

After the pupils are dilated by topical 0.5% tropicamide and 0.5% phenylephrine, the examinee is seated in front of the AO system with a conventional chin rest. The examinee is asked to fixate on the target. A retinal photograph is taken by the CCD camera as a 20-frame movie sequence with a 10-bit grayscale image ( $1000 \times 1000$  pixels) when the total root mean square error is reduced below the preset trigger value (usually  $0.10\mu\text{m}$  for a 5-mm pupil). Four or more frames of high-quality images are selected from each movie sequence, and frame-averaging is performed using custom software (Topcon) to improve the quality of the images.

### Calculation of Cone Density

We used five steps to calculate the cone density. Step 1 was image processing of each image before image summation. We used the MATLAB deconvolution function, “deconvlucy” (Mathworks, Natick, MA, USA) to get a clear separation of the cones. Step 2 was summation of the individual images to improve the signal-to-noise ratio, using a program we wrote in C++ language. The number of images to be superimposed depends on the quality of the images. We superimposed from 4 to 64 images without blur caused by blink or microsaccade from the 89 consecutive images in a single measurement.

Step 3 was the identification of the cones. We evaluated three  $100\mu\text{m} \times 80\mu\text{m}$  rectangular retinal areas around a retinal locus about  $2^\circ$  temporal from the center of the fovea.



We assumed that each bright spot with a size between 2 and 3  $\mu\text{m}$  was a cone. One of the authors (KB) manually marked the centers of the cones in the target area. The observer used the edge enhancement function of a commercial image processing program, Photoshop (Adobe Systems, San Jose, CA, USA), when using this function made the task easier. Even though this function was sometimes used to select a cone, in all cases, the final judgment of whether a spot was a cone was made by observing the original averaged image.

Step 4 was calculating cone spacing, which was done by randomly selecting one of the cones marked in the previous step and counting the number of pixels between this cone and the nearest cone along the  $x$  and  $y$  axes ( $\Delta x$  and  $\Delta y$ , respectively). The distance in pixel number was thus  $(\Delta x^2 + \Delta y^2)^{1/2}$ . We repeated this procedure for 20 randomly selected cones and averaged the distances. Because of the procedures used, the cone spacing we obtained was that to the nearest neighboring cone.

Step 5 was averaging the cone spacing in Step 4 over the three rectangular areas we chose in Step 3. The value was converted to the size on the retina by using the axial length of each subject.<sup>14</sup> This axial length calibration has been used in other AO fundus camera studies.<sup>8,9</sup>

To calculate the cone density, in Step 4, the number of cones was counted and the total number was then divided by the rectangular retinal area calibrated by the axial length to obtain the cone density/ $\mu\text{m}$ .<sup>14</sup>

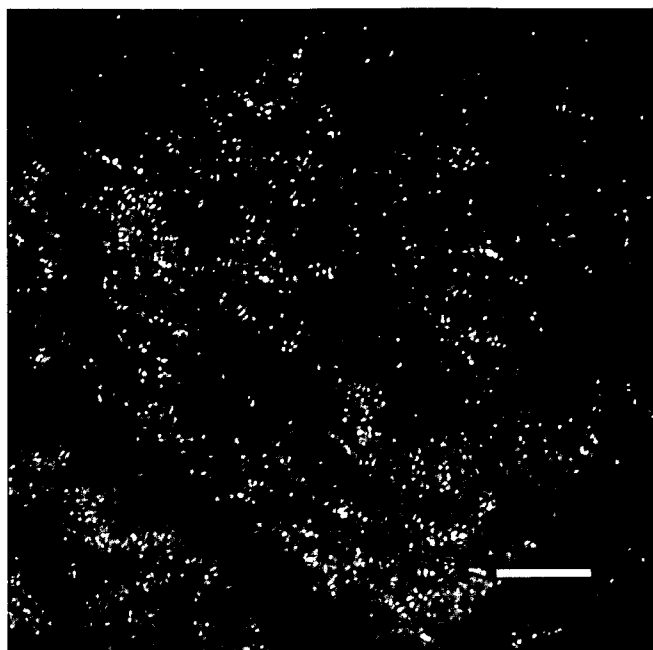
During all these procedures, the observer was masked to the refractive data of the subject.

### Statistical Analyses

Data, presented as means  $\pm$  SD, were statistically analyzed with the SPSS 10.0J program (SPSS, Chicago, IL, USA). Comparisons between two groups were made by the Student  $t$  test when the data were normally distributed or by the Mann-Whitney  $U$  test when the data were not normally distributed. The degree of correlation was evaluated by the Pearson correlation coefficient ( $r$ ). The probability level was represented as the  $P$  value, and statistical significance was set at  $P < 0.05$ .

### Results

We show example photographs of the cone mosaic acquired by our AO fundus camera using a liquid-crystal phase modulator in eyes with emmetropia (Fig. 1) and moderate myopia (Fig. 2). In our series, eyes with a refractive error of  $\geq -3.0\text{D}$  were placed in the moderate- to high-myopia group (mean  $\pm$  SD =  $-6.5 \pm 2.3\text{D}$ ;  $n = 9$ ), and those with a refractive error of  $< -3.0\text{D}$  were placed in the emmetropia or low-myopia group ( $-1.1 \pm 0.9\text{D}$ ;  $n = 10$ ). The average spacing of cones in the moderate- to high-myopia group was  $4.71 \pm 0.44\mu\text{m}$  and that in the normal and low-myopia group was  $3.90 \pm 0.47\mu\text{m}$ . This difference in the spacing of the cones



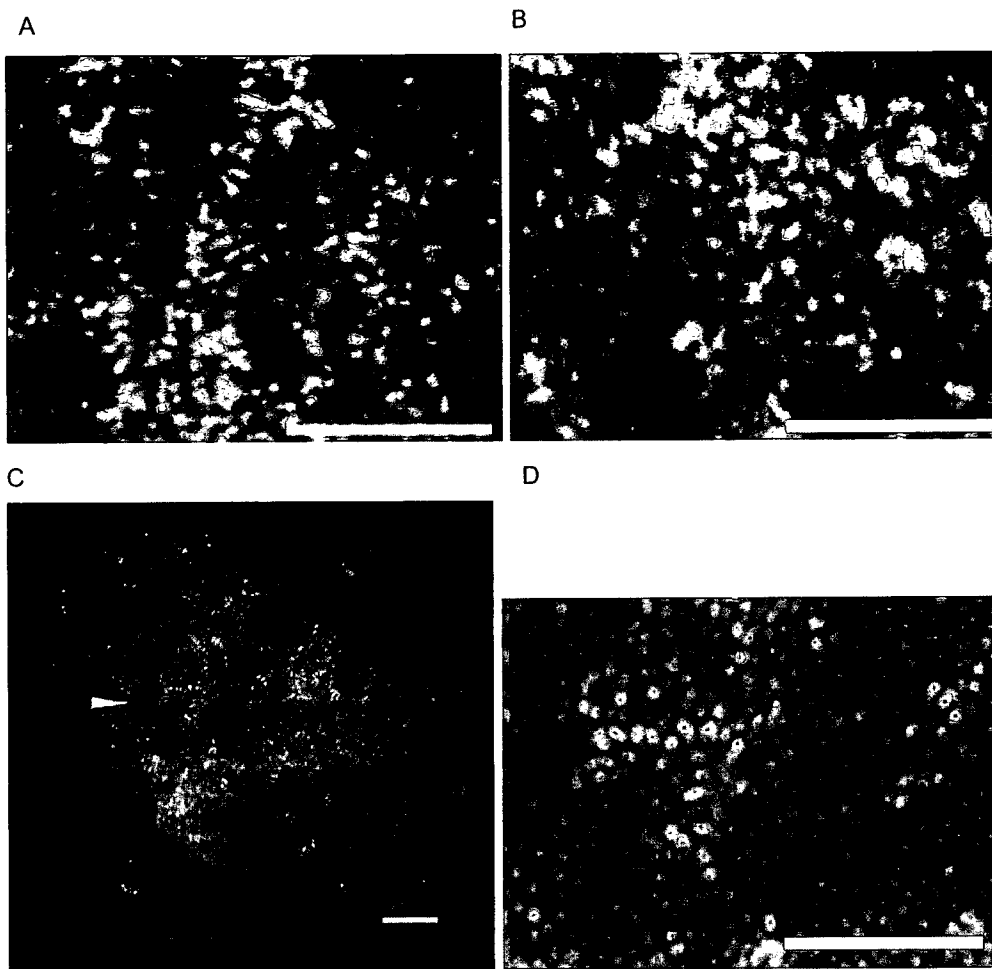
**Figure 1.** Fundus image obtained by an adaptive optics (AO) camera. The AO image (average of eight images) is from  $2^\circ$  temporal from the fovea in the emmetropic eye of a 31-year-old subject. Bar =  $50\mu\text{m}$ .

was significant ( $P = 0.002$ ). The spacing of the cones was significantly correlated with both the axial length (Pearson,  $r = 0.77$ ,  $P = 0.001$ ) and the refractive error ( $r = -0.869$ ;  $P < 0.001$ ; Fig. 3). In addition, the refractive errors were significantly correlated with the axial length ( $r = -0.76$ ;  $P < 0.002$ ; Fig. 4). The measured cone density was correlated with the axial length (Pearson,  $r = -0.63$ ;  $P = 0.035$ ; Fig. 5).

### Discussion

The AO fundus camera with a liquid-crystal phase modulator enabled us to acquire images of the cones in vivo in human eyes with refractions ranging from emmetropia to high myopia. For calculating the cone spacing and density, the contrast of each image was enhanced by deconvolution, although the results were often minor. The summation of the images in the five steps was very effective for improving the separation of the cones. Because the theoretical resolution using 635-nm light ( $2\text{--}3\mu\text{m}$ ) is comparable to the foveal cone spacing, we analyzed the cone density or spacing at retinal loci  $2^\circ$  temporal from the fovea, where the cone spacing is larger than that in the fovea.<sup>15</sup>

The refractive error was significantly correlated with the axial length, suggesting that the refractive error in our population was primarily due to changes in the axial length. The extrapolation of the regression line in Fig. 4 indicated that in an eye with  $-15.00\text{D}$  of myopia, the axial length would have to increase from 23.8 mm (emmetropic value) to 30.0 mm.



**Figure 2A–D.** Calculation of cone spacing and density. **A** Magnified AO image (average of 32 images), 2° temporal from the fovea in an emmetropic eye of a 30-year-old subject. *Bar* = 50  $\mu$ m. **B** Magnified AO image (average of 64 images), 2° temporal from the fovea in a myopic eye (–7.0 D) of a 39-year-old subject. *Bar* = 50  $\mu$ m. **C** An example of the calculation of cone spacing. For this purpose, small dots were used to identify the individual cones. *Bar* = 50  $\mu$ m. **D** Magnified image of the retinal area indicated by the arrowhead in **C**. *Bar* = 50  $\mu$ m.

The extrapolated cone density at 2° temporal to the fovea was about 40 000/mm<sup>2</sup> in emmetropic eyes (Fig. 5; axial length, 23.8 mm). The histological data of Curcio et al.<sup>15</sup> show that the density of cones is 40 000 to 50 000/mm<sup>2</sup> at 0.5 mm (2°) temporal to the fovea, which is consistent with our data.

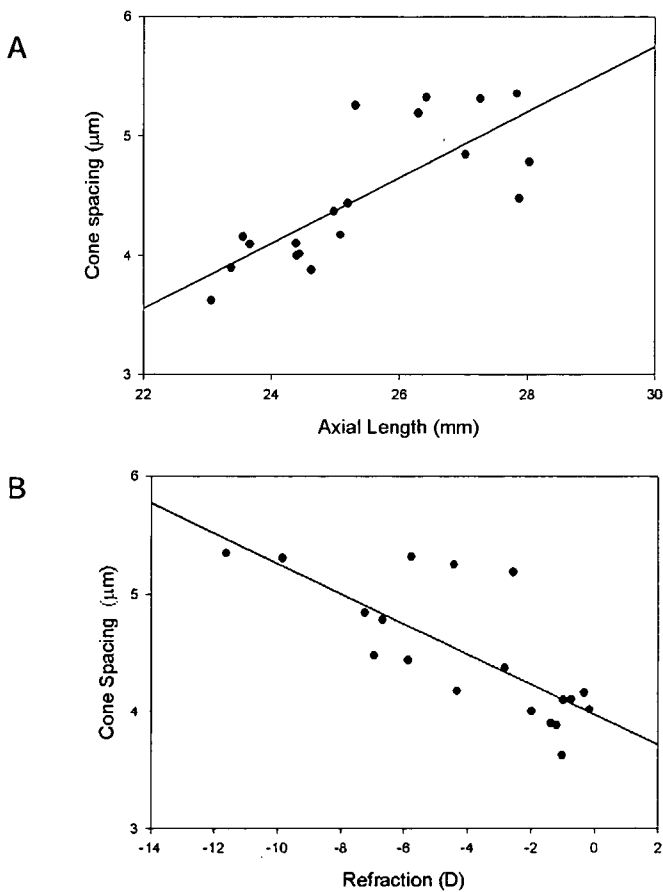
The extrapolated intercone spacing 2° (0.5 mm) from the fovea was about 4.0  $\mu$ m in emmetropic eyes (Fig. 3B). If a hexagonal arrangement is assumed, then the cone spacing with a density of 40 000/mm<sup>2</sup> would be 5.4  $\mu$ m, which is larger than our directly measured cone spacing. Because we measured the smallest distances between the cones in our cone-spacing measurements, the spacing of cones should have been smaller than the values calculated from the cone density. This means that our two different results can be considered as a lower and an upper boundary of the cone spacing.

The cone spacing in the moderate- to high-myopic group was larger than that in the emmetropic and low-myopic group, which is consistent with the results of a histological study.<sup>11</sup> The extrapolated value of cone spacing in a –15 D myopic eye was 5.92  $\mu$ m (Fig. 3B), which is 1.48 times the cone spacing in emmetropic eyes (4.00  $\mu$ m). If a spherical eye expands uniformly, the cone spacing should increase

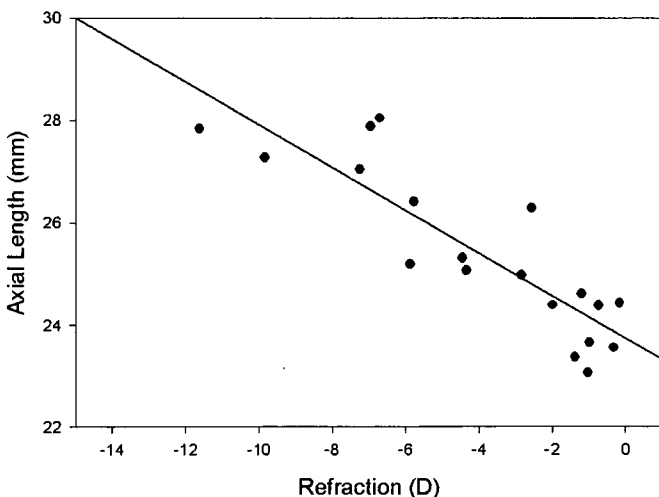
1.26-fold. However, the retina does not expand uniformly but expands more in the posterior segment than in the anterior segment in a myopic eye.<sup>16</sup> Therefore, the increase in cone spacing evaluated by our AO funduscopy is greater than the simple theoretical value (1.26-fold increase).

The larger cone spacing in the moderate- to high-myopic eyes is also consistent with the results of psychophysical studies. Thus, on the basis of psychophysical experiments, Chui et al.<sup>12</sup> reported that in a myopic eye of 15 D the cone spacing is doubled. Atchison et al.<sup>17</sup> also reported from psychophysical experiments that the cone density in myopia is too low to fit a global expansion model, and that posterior pole expansion or the loss of postreceptoral neurons would be more consistent with the psychophysical results.

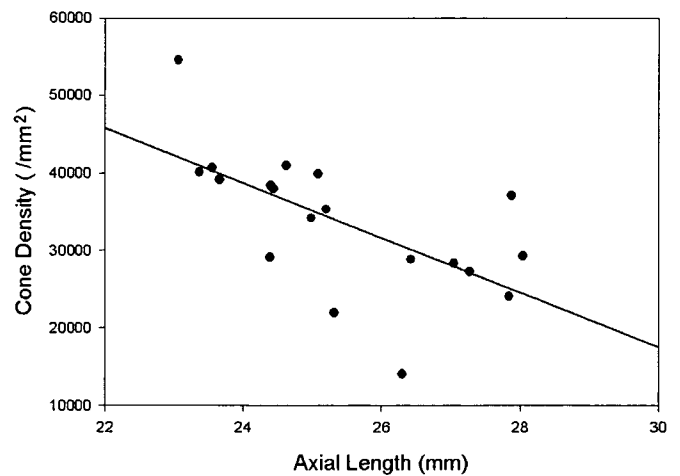
Regarding anisometric eyes, Knapp's law states that in axial ametropic eyes the retinal magnification factor is one when the correction spectacle is placed at the far point or focal point of the eye. From the results of our experiments together with the psychophysical experimental results,<sup>12,13</sup> retinal expansion in axial myopia causes an increase of cone spacing, which may result in a reduction in the size of the perceived retinal image. Therefore, we suggest that retinal expansion should be considered in addition to Knapp's law



**Figure 3.** **A** Relationship between cone spacing and axial length:  $y = 0.27x - 2.47$ . **B** Relationship between cone spacing and refractive error:  $y = -0.13x + 3.98$ .



**Figure 4.** Relationship between axial length and refractive error:  $y = -0.42x + 23.75$ .



**Figure 5.** Relationship between cone density and axial length:  $y = -3520x + 123300$ .

for the evaluation of aniseikonia in axial myopia. Also, it may be worth considering that the increase of cone spacing in excessive myopia may limit the best-corrected visual acuity.<sup>10</sup>

In conclusion, the AO fundus camera with a liquid-crystal light modulator enabled us to obtain images of the photoreceptors in living eyes with low to high myopia. The cone spacing in the moderate- to high-myopic group was larger than that in the emmetropic and low-myopic group, which is consistent with the results of histological and psychophysical studies. These results suggest that retinal expansion should be considered in addition to Knapp's law when evaluating aniseikonia in axial myopia.

**Acknowledgments.** We thank Dr. Yasuo Tano and Dr. Naoyuki Maeda, Osaka University, for their constructive comments on the experimental design, and Dr. Howard Howland, Cornell University, for his helpful comments on the manuscript. This research was supported by Health Sciences Research Grants (H16-sensory-001) from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.

## References

1. Liang J, Williams DR, Miller DT. Supernormal vision and high-resolution retinal imaging through adaptive optics. *J Opt Soc Am A* 1997;14:2884-2892.
2. Roorda A, Williams DR. The arrangement of the three cone classes in the living human eye. *Nature* 1999;397:520-522.
3. Pallikaris A, Williams DR, Hofer H. The reflectance of single cones in the living human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4580-4592.
4. Carroll J, Neitz M, Hofer H, et al. Functional photoreceptor loss revealed with adaptive optics: an alternate cause of color blindness. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:8461-8466.
5. Hofer H, Carroll J, Neitz J, et al. Organization of the human trichromatic cone mosaic. *J Neurosci* 2005;25:9669-9679.
6. Wolfing JI, Chung M, Carroll J, et al. High-resolution retinal imaging of cone-rod dystrophy. *Ophthalmology* 2006;113:1014-1019.

## CONE SPACING IN MYOPIA WITH ADAPTIVE OPTICS

7. Pircher M, Baumann B, Gotzinger E, et al. Retinal cone mosaic imaged with transverse scanning optical coherence tomography. *Opt Lett* 2006;31:1821–1823.
8. Rha J, Jonnal RS, Thorn KE, et al. Adaptive optics flood-illumination camera for high speed retinal imaging. *Opt Express* 2006;14:4552–4569.
9. Martin JA, Roorda A. Direct and noninvasive assessment of parafoveal capillary leukocyte velocity. *Ophthalmology* 2005;112:2219–2224.
10. Prieto P, Fernandez E, Manzanera S, et al. Adaptive optics with a programmable phase modulator: applications in the human eye. *Opt Express* 2004;12:4059–4071.
11. Grossniklaus HE, Green WR. Pathologic findings in pathologic myopia *Retina* 1992;12:127–133.
12. Chui TY, Yap MK, Chan HH, et al. Retinal stretching limits peripheral visual acuity in myopia. *Vision Res* 2005;45:593–605.
13. Coletta NJ, Watson T. Effect of myopia on visual acuity measured with laser interference fringes. *Vision Res* 2006;46:636–651.
14. Bennett AG, Rudnicka AR, Edgar DF. Improvements on Littmann's method of determining the size of retinal features by fundus photography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994; 232:361–367.
15. Curcio CA, Sloan KR, Kalinà RE, et al. Human photoreceptor topography. *J Comp Neurol* 1990;292:497–523.
16. Atchison DA, Jones CE, Schmid KL, et al. Eye shape in emmetropia and myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:3380–3386.
17. Atchison DA, Schmid KL, Pritchard N. Neural and optical limits to visual performance in myopia. *Vision Res* 2006;46:3707–3722.