

分担研究課題：49Ch 人工網膜システムの電極の安全性、有効性試験

研究分担者 瓶井 資弘 大阪大学医学系研究科眼科学教室 准教授  
研究協力者 西田 健太郎 大阪大学医学系研究科先端デバイス医学寄付講座 助教

研究要旨：これまでに我々は脈絡膜上-経網膜電気刺激(以下、STS)法を開発し、亜急性の慢性臨床試験で疑似光覚を誘発することに成功し、現在、慢性臨床試験を行っている。STSでは刺激電極が直接網膜に触れないことから、他の人工視覚システムと比較して安全性が高い点で有利である。さらに、安全性を高めるために主に、2つの検討を行った。

1つ目は、STS電極の安全性を高めることである。STS電極は、電気的特性を有利にするために、形状を弾丸型にして表面積を確保していたが、突出した形状を有し高さは0.5mmであった。この状態でも安全性は高かったが、動物実験を行った際に数は少ないものの電極によると思われる機械的な網膜障害がみられることがあった。そのため、高さが0.3mmの刺激電極を作成し、表面積が減少する分を補うために、電極表面に微細な凹凸を施した。この刺激電極の高さの変更と表面加工の有無が、機能性、及び電気特性に影響を与えないか検討した。

2つ目は、STSシステムの安全性を高めるために、帰還電極の位置を変えることの可能性についての検討である。STSでは、帰還電極を硝子体腔内(眼内)に設置する方式を取っているが、もし帰還電極を強膜上に置くことができれば、眼内操作がなくなり、感染リスクをさらに減少させ、STSの安全性がより一層高まることが期待できる。

そこで、帰還電極を硝子体腔内に置いた場合と、強膜上に置いた場合とで、機能性、及び電気特性に影響を与えないか検討を行った。

1つ目の検討の結果、電極の高さを変えること、および、電極表面に微細な加工を行うことは、大脳皮質誘発電位に有意な変化を与えなかった。また、高さを0.5mmから0.3mmに減らし表面加工を行った場合、従来型よりも通電時の刺激電極と硝子体電極間の電位差が低くなっており、優れた電気特性を有していた。今回の電極の高さの変更および、表面加工の追加は、従来型と同等の機能を保ちながら、より高い安全性と高い電気特性を付加する優れた改良であることが示された。

2つ目の検討の結果、帰還電極を硝子体腔内に置いた場合の方が閾値の平均値は低かったが、有意差を認めなかった。また、帰還電極の位置を変えても、通電時の刺激電極と帰還電極間の電位差に有意な変化を認めなかった。したがって、帰還電極の位置を強膜上に変更することで、効率をほとんど変えないか、または若干効率が劣る可能性はあるものの、STSの安全性をより高めることができる可能性が示唆された。

以上の結果から、今回の検討によりSTSの実用化に向けてさらに前進したと考えられる。

#### A. 研究目的

我々は有効な治療法のない網膜変性疾患に対して、本邦独自の人工網膜である、脈絡膜上経網膜電気刺激(STS)方式を開発した。動物実験に引き続き、急性臨床試験、亜急性臨床試験を経て、慢性臨床試験が進行中である。STSでは刺激電極が直接網膜に触れないことから、他の人工視覚システムと比較して安全性が高い点で有利である。さらに、安全性を高めるために主に、2つの検討を行った。

1つ目は、電極の改良が挙げられる。そもそもSTS方式の電極は、電気特性を有利にするために、形状を弾丸型突出させて表面積を確保している

(図1)。当初電極の高さは、0.5mmであり特に問題がなかったが、まれに動物実験でこの突出した形状によるものと思われる機械的な網膜障害がみられることがあった(図2)。これを改善するために、高さが0.3mmのSTS方式の弾丸電極を開発した(図3)。しかし、これでは電極の表面積が小さくなり、電気特性が不利になるため、高さ0.3mmの電極表面にフェムトセカンドレーザーを照射し、微細な凹凸を表面に施すことで、表面積を拡大した電極も合わせて作成した(図4、5)。この電極の高さの変更と表面加工を施すことが及ぼす機能的変化、および電気特性の変化の検討を行った。

2つ目は、STSシステムの安全性の追求である。欧米のグループが、刺激電極を網膜に直接設置するのに対して、STSでは網膜には直接触れずに脈絡膜側から刺激する方式をとっているため、埋植に複雑な手技を必要とせず、網膜に対する長期の安全性は高い。このSTSでは、帰還電極を硝子体腔内（眼内）に設置する方式を取っているが、もし帰還電極を強膜上に置くことができれば、眼内操作が全くなり、感染リスクをさらに減少させ、STSの有利な点である安全性がより一層高まることが期待できる。しかし、帰還電極の位置が変化することによる機能的変化、および電気特性の変化の検討を行った。

いずれの実験でも、実際の臨床試験で用いるサイズの電極を埋植することができる中型実験動物で、かつ扱いやすく、実験にも適していると考えられる有色家兎を用いた。実験動物の視覚誘発の評価として大脳皮質誘発電位（EEP）が一般的に用いられ、これまでもEEPを用いてSTS方式の有用性について報告してきた。

機能変化の評価としてEEPを、電気特性の評価としては、刺激電極及び硝子体電極間の通電時の電極間電位差を計測した。

#### B．研究方法

対象1：有色家兎（n=3）

方法1：有色家兎(2.0-2.2kg)を0.5%トロピカミド・5%フェニレフリンにて散瞳し、筋肉注射（1cc/1kg、ケタラール：キシラジン=2：1）を用いて麻酔を行った。ヒトの黄斑にあたる部位であるVisual Streak近傍に、強膜ポケットを臨床試験と同じ手技で作成し、STS方式の刺激電極を埋植し、大脳皮質でEEPを測定した。

刺激電極は、高さ0.5mmで表面加工がないもの、高さ0.3mmで表面加工がないもの、高さ0.3mmで表面加工があるものの3種類（図3，4）を交互に入れてEEPを計測した。

EEPを計測する際は、刺激形状は2相性の矩形波（Duration1000 $\mu$ s, Interpulse 500 $\mu$ s, 800 $\mu$ A）（図6）で固定し、2秒おきに刺激を行い150回加算平均を行った。1つの電極で50回加算平均できれば、強膜ポケットに先の電極を取り出して、次の電極に入れ代えて、EEPを計測した。これを3セット以上行った。

また、各電極の電気特性を評価するために、一定の刺激電流（2相性の矩形波、Duration500 $\mu$ s, Interpulse 500 $\mu$ s, 500 $\mu$ A）を5分以上通電した場合の刺激電極と硝子体電極間の電位差を測定した（図7）。

対象2：有色家兎（n=3）

方法2：有色家兎(2.0-2.2kg)を0.5%トロピカミド・5%フェニレフリンにて散瞳し、筋肉注射

（1cc/1kg、ケタラール：キシラジン=2：1）を用いて麻酔を行った。ヒトの黄斑にあたる部位であるVisual Streak近傍に、強膜ポケットを臨床試験と同じ手技で作成し、臨床試験で用いられているものと同じの高さ0.3mmで表面加工を施したSTS方式の刺激電極（図4、5）を埋植した（図8）。次に同じ表面積の帰還電極を3種類作成し（図9）硝子体腔内、強膜上（刺激電極の対側）、強膜上（刺激電極近傍）に埋植した（図10）。EEPを計測する際は、刺激形状は2相性の矩形波（Duration1000 $\mu$ s, Interpulse 500 $\mu$ s）で電流値を変化させ刺激を行い、閾値を測定した。これまでの刺激方法（図11）では、大脳皮質誘発電位は麻酔の影響を受ける可能性があるため、今回、実験方法を改良し（図12）より麻酔の影響を受けにくい条件下で大脳皮質誘発電位の閾値の測定を行った。

（倫理面への配慮）

ARVO動物実験の規定に準じて動物を取り扱い、最小限の苦痛で実験を行なった。

#### C．研究結果1

3種類の電極を埋植した場合で、それぞれでEEPを得ることができた。

まず、表面加工がなく高さが0.5mmと0.3mmの電極の比較では、潜時、振幅ともに有意差を認めなかった。（図13）

また、高さが0.3mmで表面加工があるものとなないものの比較でも、潜時、振幅ともに有意差を認めなかった。（図14）

次に、それぞれの電極で一定条件で通電した場合の刺激電極と硝子体電極間の電位差は、（高さ0.3mm、表面加工なし）>（高さ0.5mm、表面加工なし）>（高さ0.3mm、表面加工あり）の順に有意に減少した。（図15）

#### 研究結果2

いずれの帰還電極の場合でもEEPを得ることができた。それぞれの閾値は、300 $\pm$ 173 $\mu$ A（硝子体腔内、 $\quad$ ）、367 $\pm$ 231 $\mu$ A（ $\quad$ ）、467 $\pm$ 58 $\mu$ A（ $\quad$ ）となった。帰還電極を硝子体腔内に置いた場合の方が閾値の平均値は低かったが、有意差を認めなかった。また、帰還電極の位置を変えても、通電時の刺激電極と帰還電極間の電位差に有意な変化を認めなかった。（図16）

#### D．考察1

電極の高さを0.3mmと0.5mmで変化させた場合、電流が流れていく出口が増えることになり、電流の流れ方に何らかの変化があって、刺激され

る網膜の範囲が変化する可能性があった。しかし、結果としては、EEP に有意な影響を与えなかった。このことから、仮に電流の流れ方が変わったとしても、硝子体腔内に帰還電極を置いていること、また、刺激電極がもともとある程度の範囲を刺激していると予想されることから、電極の高さの変化による影響は無視できるのではないかと考えられた。

次に、高さが 0.3mm で、表面積を増やす加工の有無が与える影響では、そもそも、電極の形状が変わらないため、電流の流れ方にも変化がなく、影響も少ないと予想されたが、結果もその通りであった。

このことから、電極の高さを低くし、表面に加工を施すことは、EEP に影響を与えないと考えられた。

次に、電気特性を評価する指標として、通電中の刺激電極と硝子体電極間の電位差を用いた。当然のことながら、表面加工がない刺激電極で、高さが 0.3mm と 0.5mm を比較した場合は、表面積の大きい 0.5mm の方が低い電極間電位差となった。また、高さが 0.3mm で、表面加工の有無で比較した場合は、表面積の加工を施した電極の方が低い電極間電位差となった。

つぎに、高さが 0.5mm で表面加工をしていない刺激電極と、高さが 0.3mm で表面加工を行った刺激電極の比較では、後者の方が電極間電位差が低くなった。このことは、0.5mm から 0.3mm に高さを減らすことで減少した表面積を増やすために行った表面加工を施すことにより、もともとの 0.5mm の電極の表面積を超え、電氣的に有利に働いているということが示唆された。

#### 考察 2

今回、麻酔深度の影響を受けにくい刺激パターン（図 1 1）で刺激を行い、各帰還電極で EEP を測定することができた。効率を評価する指標としては、閾値がもっとも好ましいため、今回、各帰還電極を用いた EEP を測定する際の閾値測定した。その結果、帰還電極間で閾値の有意差を認めなかったものの、閾値の平均値では、（硝子体腔内）

＜（強膜上電極・刺激電極の対側）＞＜（強膜上電極・刺激電極近傍）＞の順序になった。これは、帰還電極が刺激電極に最も近い の場合は、電流が広がって帰還電極に伝わりやすく、標的となる網膜を通過する電流が相対的に少なくなるためと考えられた。 の場合は、帰還電極が刺激電極に対して対側でかつ、刺激電極に近い箇所が点となるため、電流は広がりやすく、標的となる網膜に対しても、効率よく電流が伝わるためと考えられた。 はその中間で、刺激電極からは対側であるものの、刺激電極に近い箇所が、点状では

なく線状になっていると考えられるため、 よりも電流が相対的に若干広がって伝わるため、やや効率が下がると考えられた。

EEP の閾値は、刺激電極の埋植位置によって大きく左右されるため、今回も個体間で差があり、標準偏差が大きくなった。そのため、今回は有意差が出なかったものの、より刺激電極の埋植条件が似通ったものが揃えば、有意差が出る可能性は否定できない。しかし、仮にそうであったとしても、極端な閾値の差が出る可能性は低いと考えられた。

#### E . 結論

今回、STS 刺激電極の高さを 0.5mm から 0.3mm に変更し、表面積を増やすために表面加工を施すことで、従来型と同等の機能を保ちながら、より高い安全性と高い電気特性をもった STS 刺激電極の改良がおこなうことができた。

また帰還電極の位置を強膜上に変更した場合、効率をほとんど変えないか、または若干効率が劣る可能性はあるものの、STS の安全性をより高めることができる可能性が示唆された。

#### F . 健康危険情報

該当する危険あり（詳細）/なし

#### G . 研究発表

##### 1. 論文発表

Nishida K, Sakaguchi H, Kamei M, et al. Visual Sensation by Electrical Stimulation Using a New Direct Optic Nerve Electrode Device. *Brain Stimulation* in press

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

##### 2. 学会発表

Nishida K

The statue of retinal prosthesis

Oral Presentation at APAO Grand Rounds Around the World, December, 2014, Suita, Osaka, Japan

Nishida K, Sakaguchi H, Kamei M, Fujikado T, Nishida K

The effect of electrical stimulation of optic nerve on rat brain

Poster presentation at Neuroscience 2014 Annual Meeting, November, 2014, Washington, DC, USA

汎網膜光凝固術での照射間隔と照射時間が照射面積へ及ぼす影響の検討

西田健太郎、瓶井資弘、坂口裕和、生野恭司、福田全克、西田幸二 第 20 回糖尿病眼学会総会 2015 年 3 月 6 日～8 日 東京

シミュレーションを用いた汎網膜光凝固術の照射面積の検討

西田健太郎、坂口裕和、生野恭司、瓶井資弘、西

田幸二 第53回日本網膜硝子体学会総会 2014  
年11月28日～11月30日 大阪

Nishida K, Sakaguchi H, Fujikado T, Kamei M,  
Nishida K  
The effect of the locations of return electrodes on the  
electrical evoked potentials elicited by  
suprachoroidal-transretinal stimulation in rabbit eye.  
Poster presentation at The 8th Biennial World  
Congress, September, 2014, Detroit, MI, USA

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



図1. STS方式の弾丸電極。弾丸のように突出した形状を持っている。

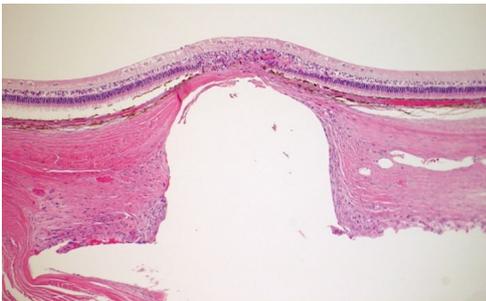


図2. 家兎でみられた、電極の形状に起因すると考えられる網膜障害。

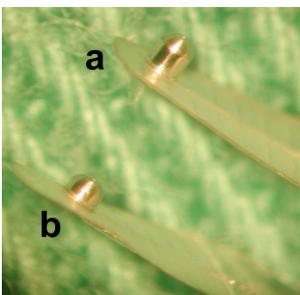


図3. 表面加工のないSTS方式の刺激電極(直径は500 $\mu$ m)(a,高さ0.5mm、b,高さ0.3mm)

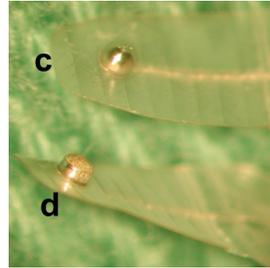


図4. 高さが0.3mmのSTS方式の刺激電極(直径は500 $\mu$ m)(c,表面加工なし、d,表面加工あり)

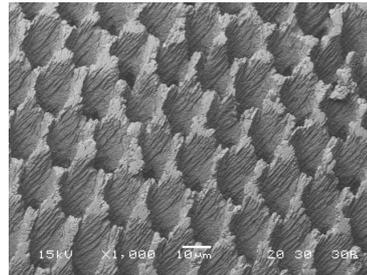


図5. フェムト秒レーザーを用いた表面加工の拡大

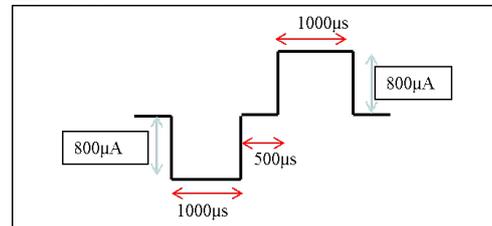


図6. 今回、EEPを測定する際に用いた刺激電流の波形

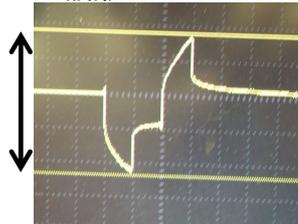


図7. 刺激電極および硝子体電極間の電位差

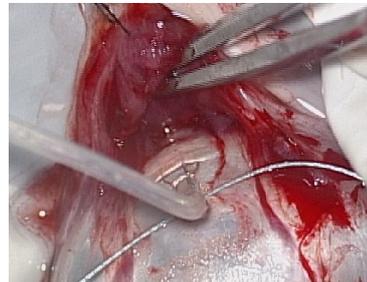


図8. STS刺激電極の強膜ポケットへの埋植



図 9 . 表面積が同じ 3 種類の帰還電極

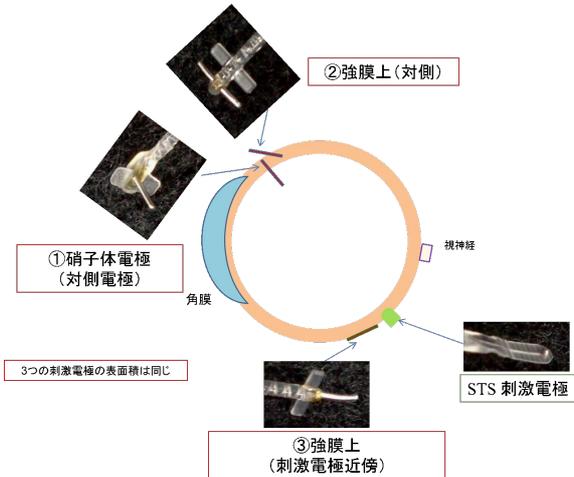


図 10 . 刺激電極と 3 種類の帰還電極の位置関係

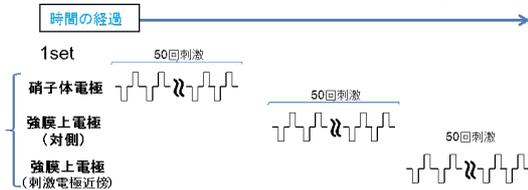


図 11 . 従来の刺激方法。EEP が帰還電極の位置の変化のほか、時間経過の影響を受ける可能性がある。

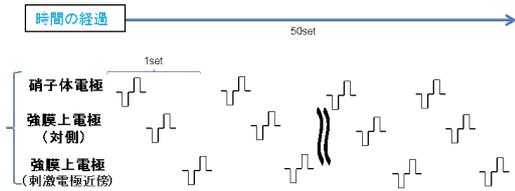
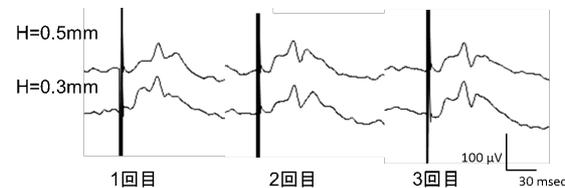


図 12 今回の刺激方法。麻酔の時間経過の影響はゼロにはできないが、各帰還電極間での麻酔深度による EEP への影響は少なくなると考えられる

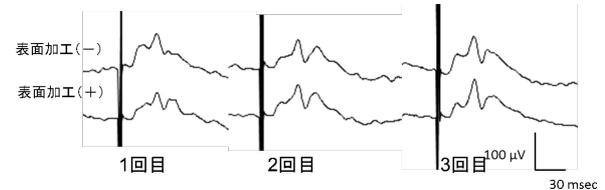


潜時	家兎1	家兎2	家兎3
H=0.5mm	31.9±0.75	32.5±0.15	33.4±0.37
H=0.3mm	31.6±0.45	32.8±0.52	33.7±0.28
P	P=0.59	P=0.69	P=0.41

振幅	家兎1	家兎2	家兎3
H=0.5mm	70.0±5.1	46.7±16.5	79.2±20.4
H=0.3mm	78.1±9.5	41.7±10.2	71.4±13.7
P	P=0.26	P=0.58	P=0.61

図 13 . 表面加工のない刺激電極で、高さが 0.5 mm と 0.3mm のものを使用して、測定した EEP。潜時、および、振幅に有意差を認めなかった。



振幅	家兎1	家兎2	家兎3
表面加工(-)	78.1±9.5	41.7±10.2	71.4±13.7
表面加工(+)	76.4±13.0	40.6±11.9	75.2±15.1
P	P=0.86	P=0.88	P=0.75

潜時	家兎1	家兎2	家兎3
表面加工(-)	31.6±0.45	32.8±0.52	33.7±0.28
表面加工(+)	31.9±0.46	32.7±0.27	32.6±2.2
P	P=0.47	P=0.84	P=0.52

図 14 . 高さが 0.3mm の刺激電極で、表面加工がないものとあるものを使用して、測定した EEP。潜時、および、振幅に有意差を認めなかった

電位差 (V)	家兎1	家兎2	家兎3	Ave.±SD
h=0.5mm, 表面加工なし	3.28	3.48	3.40	3.39±0.10
h=0.3mm, 表面加工なし	3.76	3.8	3.88	3.81±0.06
h=0.3mm, 表面加工あり	2.50	2.36	3.00	2.62±0.34

Wilcoxon/Kruskal-Wallis test \* ; P<0.05

図 15 . 一定条件で通電した際の刺激電極と硝子体電極間の電位差は、(高さ 0.3mm、表面加工なし) > (高さ 0.5mm、表面加工なし) > (高さ 0.3mm、表面加工あり) の順に有意に減少

電位差 (V)	家兎1	家兎2	家兎3	Ave.±SD (V)	P
硝子体電極①	3.96	3.4	4.04	3.80±0.35	P=0.70
強膜上電極② (対側)	4.72	3.6	3.76	4.03±0.61	
強膜上電極③ (刺激電極近傍)	4.76	3.56	4.2	4.17±0.60	

図 16 . 帰還電極の位置を代えても、一定条件で通電した際の刺激電極と帰還電極の電位差に有意差を認めなかった。

