

分担研究課題： STS 型人工網膜システムの開発に関する研究
（体外装置の有効性・体内装置の耐久性について）

研究分担者 小澤 素生 株式会社ニデック 代表取締役社長

研究要旨：49ch 脈絡膜上経網膜刺激（STS: Suprachoroidal Transretinal Stimulation）方式の人工視覚システムの臨床研究を実施するにあたり、以下の研究を行った。

人工視覚で S/N の高い光覚を得るには刺激電極数を抑制しつつ識別のし易い変換処理が有効である。カメラの撮影画像から網膜を刺激する 7 × 7 ch の電極アレイへ刺激信号を出力する二値化処理と輪郭抽出の変換処理の違いを人工視覚シミュレーターで比較した。カメラに写る対象物のサイズが大きくなると、輪郭抽出の方が二値化処理より刺激電極数が少なくなる傾向が確認された。但し、シミュレーターを装着した健常者の見え方と、人工視覚システムを埋植した患者の見え方は同じでなく、疾患の状態もシミュレーターに反映するアルゴリズムを追加する必要がある。

1 年間の臨床研究で使用する体内埋植装置の耐用期間を生理食塩水中での加速試験を行いアレニウスプロットにより 484 日と推定した。装置の主な故障原因はエポキシ樹脂封止部への浸水であり、アンカー効果から化学結合が期待されるシリコン樹脂包埋及び金粒子の拡散接合技術に改善して、耐用期間の大幅な改善効果が得られた。

単極電極での慢性通電試験から、長期慢性刺激の生体に対する安全性を示したのに続き、家兎眼に 49 極電極アレイを留置し、一日 8 時間の通電を 1 ヶ月間行い網膜に損傷が生じるか否かを調べた。試験を行った 5 眼すべてについて、蛍光眼底観察、組織標本観察等で電気刺激に伴う明らかな損傷は認められなかった。一方で残存強膜厚は通電に伴い増加する傾向のあることが示唆された。

カメラ画像の刺激信号への変換処理

A．研究目的

STS方式の人工視覚システムで網膜への電気刺激を続けると、視野に霞がかたがり自己発火が生じて、S/Nの低下が起きることが2010年に実施した亜急性臨床研究で確認されている。これを低減する為に、単位時間あたりに刺激出力する電極数を減らすとともに、対象物の認識をし易くする効果的な刺激方法を探索する。

B．研究方法

カメラ画像の処理工程を検討するために変換の中間工程の画像をリアルタイムで確認できるジグ（画像処理ソフトウェア）を開発して撮影画像から目的に叶う刺激電極出力をするアルゴリズムを探索して、実際に撮影画像で評価した。

図 1-1の操作画面で以下の各種設定を変更しながらその効果を確認できるジグを開発した。

カメラで取得した画像（図 1-1の ）に対し、画像処理（輪郭抽出(Sobel)・輪郭強調）の処理を加える。（処理無しも可能）（図 1-1の ）

7 × 7 の電極エリアに画像を分割した各電極

用画像の二値変換出力または多値出力（グレースケール化）する。（図 1-1の ）

7 × 7 の画像に対して画像処理（輪郭抽出(Sobel)・輪郭抽出(Canny)）の処理を加える。（画像処理無しも可能）（図 1-1の ）

画像処理の結果を表示してカメラ入力画像と比較し評価する。（図 1-1の 、 ）

これらの条件を組み合わせると刺激電極数を減らしても対象物の認識がし易い画像処理工程について定性的に検討し、視認性と通電電極数を抑える効果について調査した。具体的にはヘッドマウントディスプレイ(HMD)にビデオカメラを接続した人工視覚シミュレーター（図 1-2）で液晶モニターに表示した視標を撮影して社内ボランティアの健常者の5名（24～42歳、中央値37歳）使って調査した。（図 1-2）初めに被験者5人が平均正答率50%で識別できる図形(三角)視標と文字(E)視標の二値化及び輪郭抽出処理の最小視角を測定し、（図 1-2）このサイズを1倍、1.5倍、2.5倍にして二値化処理と輪郭抽出処理の画素数を比較した。

（倫理面への配慮）輝度、使用時間に配慮し人工視覚シミュレーターの使用による眼精疲労を

回避する。

C．研究結果

図1-3、図1-5に示す輪郭抽出後に二値化する処理が有効であると考えられた。

(A) 数字の0を入力画像にして、輪郭抽出のオフ(図1-2)/オン(図1-3)を比較した。輪郭抽出オンにすると白い背景は黒くなり文字の輪郭部分が白くなる。この結果、刺激する電極数を32%減らして(31ch 21ch)0と識別することができた。

(B) 黒い背景に比較的大きい面積で単純な形状の対象物(白いコーヒーマグ)を入力画像にして、輪郭抽出のオフ(図1-4)/オン(図1-5)を比較した。輪郭抽出をオンにすることで輪郭のみの刺激となり、刺激出力する電極数を10%低減して(20ch 18ch)形を認識することができた。

(C) 人工視覚シミュレーターによる調査で基準となる視標サイズ(認識出来る最小のサイズ)は、図形(三角)視標では、二値化、輪郭抽出ともに視角5.3度、文字(E)視標では、二値化が8.3度、輪郭抽出では16.7度になった。そしてこの最小サイズを基準に、1倍、1.5倍、2.5倍のサイズで認識した図形(三角)視標及び文字(E)視標視標の平均通電電極数をカウントした結果を(図1-9)(図1-10)に示す。両方の視標で視標サイズが1倍では、二値化の方が通電電極数は少なくなり、2.5倍では、輪郭抽出の方が少なくなった。

D．考察

(A)文字については輪郭抽出を行う事で線の輪郭を検出するため、白地に黒い文字が書かれていても黒字に白い文字が書かれていても同じ画素で刺激する事が出来る。

(B)一方、視角に対して白い部分の面積比が大きくなる食器等では輪郭抽出を行う事で刺激画素数を減少させる効果が見られる。

(C) 二値化処理では黒地に白で表示される視標が大きくなると画面に占める高輝度の箇所が増え、通電電極数が増加するのに対し、輪郭抽出では、視標が大きくなると視標の一部が視角からはみ出すことで、輪郭線の本数が減り、通電電極数が減少する。(図1-11)但し、白黒が反転した視標では逆の状況となり二値化処理は見るものの明るさとサイズにより刺激電極数が大きく変化するのに対して、輪郭抽出では通電電極数の変化が少なくなる傾向がある事が推察される。

但し、手術を受けた患者が光覚を認識できる電極数は疾患の状態に依存(1例目:28/49、2

例目:47/49)し、視野内のPhospheneの位置と電極の配置も必ずしも一致しないため、実際に患者の見え方を反映したシミュレーターの表示アルゴリズムを検討をする必要が有る。

E．結論

カメラ画像から刺激電極の刺激信号への変換処理について、二値化と輪郭抽出処理の比較をして、輪郭抽出処理が刺激電極数を減らして形が認識できる処理技術としてより適している事を、健常者が人工視覚シミュレーターを装着した調査で確認したが、Phospheneを誘発しない電極があったり、電極配置とPhospheneを感じる位置が異なる電極があり、このような事も含めてカメラ画像の刺激信号への変換処理方法について引き続き検討する。

F．健康危険情報

なし

G．研究発表

1. 論文発表
無し
2. 学会発表
第50回日本眼科学学会総会、通電電極数の抑制を目指した人工視覚システム向け画像処理法の検討、伊藤邦彦(ニデック)

H．知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
特願2012-260735(出願日H24.11.29)
視機能評価プログラム及び視機能評価装置
発明者:不二門尚、神田寛行、杉浦基弘、伊藤邦彦
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

体内埋植装置の耐用期間(加速試験)

A．研究目的

(A)1年間の慢性臨床研究を実施するにあたり研究期間中装置が故障せずに動作することを加速試験によって予測する。

(B)また、治験装置として10年間以上の耐用期間を目指すして改良を加える。

B．研究方法

(A)体内へ埋植されるデバイスの耐用期間をア

レニウスプロット（工業評価）で予測するために、体内環境を模擬した加速試験系として 50 と 80 の PBS（リン酸緩衝生理食塩水）に工業試験用の体内装置（図 2-1）を浸し、49ch、Cathodic first・Biphasic Pulses、First pulse duration:500 μ sec、Inter pulse duration:50 μ sec、1st/2nd pulse ratio 1:1、Current Amplitude:1.2mA、Energization:24h/day の連続通試験を行い、故障するまでの時間を調べる。これらの異なる温度での装置寿命から 37（体温）での装置寿命を予測して 1 年間の臨床研究が遂行できる事を確認する。

(B)上記試験での故障原因を調べて、対策を施し耐用期間の改善効果を確認する。

（倫理面への配慮）

使用材料の生体安全性を確保する。

C．研究結果

(A)50 と 80 の耐久試験を 2 例ずつ実施した。80 の試験では通電開始から 7 日目と 13 日目、50 の試験では 121 日目と 156 日目にマルチプレクサ IC の動作異常が発生して装置が停止した。これらの故障データから、37 での予測寿命は 484 日（約 1 年 4 ヶ月間）であった。（図 2-2）

(B)故障原因はポキシ樹脂包埋部への浸水とマルチプレクサ IC 封止ガラス材料の腐食であった。

エポキシ樹脂とセラミックの接着は主にアンカー効果によると考えられ、これを酸素プラズマと生体適合性のあるカップリング剤を併用したシリコーン樹脂との化学的な接合へ改善した。この効果を確認するために片面に楕形金属配線を施したセラミック基板の配線面のみをエポキシ樹脂で覆った試料（界面有り）及び表裏面をエポキシ樹脂で覆った試料（界面無し）そしてシリコーン樹脂で配線面のみを覆った試料を 70 の PBS（リン酸緩衝生理食塩水）に浸して（図 2-3）端子間のインピーダンスの経時変化を FRA インピーダンスアナライザー（AutoLab）で測定した結果が（図 2-4）である。エポキシ（界面有り）試料が 3 日目、エポキシ（界面無し）試料が 100～165 日目に線間インピーダンスが 100k Ω 以下まで低下したが、シリコーン樹脂で絶縁した試料は 340 日経過しても高いインピーダンスを保持している。

マルチプレクサ IC 封止ガラス材料は熱処理工程に配慮してアルミナセラミック（熱膨張係数 6.9×10^{-6} ）と熱膨張係が極力近い光学ガラス材料（OHARA 製 S-BAL35、熱膨張係数 6.7×10^{-6} ）を使用していたが、耐食性を改善するために材

質を見直した。（SCHOTT 製 D263T、熱膨張係数 7.2×10^{-6} ）また、ガラスリッドとアルミナセラミックの気密封止に金粒子の拡散接合（図 2-5）を導入して製作した評価用試料は 70 の PBS（リン酸緩衝生理食塩水）中に連続 19 ヶ月浸漬しても浸水やヘリウムリーク試験で異常が認められない性能を得ており、改良した封止技術の効果が確認されている。

D．考察

図 2-2 の準用予測のプロットは 50、80 各温度で N=2 の試験であったが各温度で大きいばらつきは無く品質が比較的安定している事が推測された。また、PBS 中は体内環境と比較して粘性の低い大量の水分が装置を取り囲んでおり、浸水に関しては過酷試験であると考えられる。なお、1 例目の臨床研究の装置埋植期間は 2014/1/30～2015/2/12 であり、1 年間の臨床研究が終了して装置は既に摘出されている。臨床研究期間中、安全機能が働いて一時的に運転の制約を受ける事はあったが概ね計画された期間装置は動作し、大きな問題は無かった。摘出した体内装置の状態を調査してその結果を治験装置に反映させていく。

E．結論

新しい医療技術を基礎研究から臨床研究、更に治験へと適切な段階で効率良く移行するためには新しいフェーズに向けての課題解決や研究成果のタイムリーなフィードバックが大切である。一年間の慢性臨床研究に必要な耐用期間は概ね確保しており、治験で使用する医療機器に求められる更に長期の耐用期間についても封止技術を根本的に改善した事で良好なデータが得られており、引き続き 10 年以上の信頼性確保のために検証をして行く。

F．健康危険情報

なし。

G．研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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

網膜への電気刺激の安全性検証（動物実験）

A．研究目的

これまでに行ってきた単極電極での慢性通電試験から、長期慢性刺激の生体に対する安全性が示されてきた。また臨床研究に用いる49極電極アレイを長期間生体に通電することなく埋植しても、損傷は発生しないことを報告してきた。一方でこの49極電極アレイを用いて実際に通電を行う試験はこれまで行われていなかった。49極の電極すべてを用いた電気刺激は、単位時間当たり投入される電荷量は、全体としては単極電極刺激で投入される電荷量より著しく大きい。このような電気刺激が生体に及ぼす影響は明らかではない。本研究では、49極電極アレイを用いた電気刺激が生体に与える影響を明らかにすることを目的とする。

B．研究方法

本研究では、家兔（日本白色種）5羽を使用した。

[埋植手術]

まず2.5%～3.0%のイソフルランによる吸引麻酔で全身麻酔を施し、頭蓋骨上の頭皮を切開し頭蓋骨を露出させ、頭蓋骨上にアンカーネジおよび骨セメントを用いて電子回路基板を内蔵した中継ボックスを固定した。その数日後に眼球手術を実施した。2.5%～3.0%のイソフルランによる吸引麻酔で全身麻酔を施し、片眼を対象に手術を施した。刺激電極は、下方の結膜を円蓋部切開し、後極部強膜を露出して、角膜輪部より10mm付近から強膜ポケットを作成した。強膜ポケットに刺激電極（図3-1）を挿入し、電極基盤を強膜に縫着した。硝子体電極は、上鼻側の結膜を輪部切開し、網様体扁平部付近の強膜を露出して、25G針で強膜に穴をあけた。その穴に硝子体電極を挿入し、電極基盤を強膜に縫着した。それぞれの電極から延びるケーブルを強膜に縫着し、固定した。眼窩から頭蓋に至る皮下トンネルを形成し、これを用いてケーブルを眼窩より頭蓋へと導いた。最後にケーブルの末端を頭蓋骨上に設置された電子回路基板上の端子に接合した。術後感染症および術後炎症の予防の目的で、手術翌日より一週間クラビットおよびフルメトロンの点眼（1回/日）を行った。

[通電]

家兔にジャケットを装着させ、背部のポケットに設置された刺激装置を用いて通電を行っ

た。49極中40極の電極に対して、Cathodic-First、パルス高さ1.2mA、パルス長さ0.5ms（1st phase）+0.5ms（2nd phase）、繰り返し周波数20Hzの通電を行った。49極全てに通電しなかった理由は、刺激装置が複数の電極に同時に通電できない仕様上、20Hzの繰り返し周波数を実現するために通電電極数を減らす必要があったためである。

[観察]

慢性通電開始前および通電後に、眼底写真撮影、蛍光眼底造影、前眼部観察、OCTによる断層撮影、およびデバイスの動作確認のための通電波形記録を行った。慢性通電終了後に動物を屠殺し眼球の組織標本を作成し、HE染色後に観察を行った。

（倫理面への配慮）

ARVO（The Association for Research in Vision and Ophthalmology）の動物実験指針に従い、すべての処置において動物の苦痛が最小限になるよう心掛けた。本実験は（株）ニデック動物実験委員会承認の下実施された。

C．研究結果

[前眼部観察]

1/5例においてMUX部分と硝子体電極埋植部周辺結膜における結膜裂傷の兆候が見られた（図3-2）。その他の4/5例については結膜裂傷に至るほどの兆候は認められなかったがMUXの角部分結膜にテンションがかかっていた。以上の結果からデバイスの形状の改良を行なった方が良いことが示唆された。

[眼底および蛍光眼底検査]

眼底観察にて、5例全てにおいて通電期間を通し眼内の出血や混濁眼等の異常所見は認められなかった。蛍光眼底検査では、一部MUX側の電極上に若干低蛍光箇所が見られたが（2/5例）通電期間を通し、顕著な血管閉塞や損傷等の異常所見が認められたものはなかった。

[OCT検査]

4ch、25ch、46chを観察箇所として埋植期間を通して網膜断層像の観察を行った。残存強膜厚の変動は見られたものの5例全てにおいて、網膜の層構造に異常所見は認められなかった。

[残存強膜厚の経時変化]

5例全てにおいて4ch、25ch、46chの3カ所の残存強膜厚は通電前と比較し通電1週目に増加した。これは統計学的にも有意傾向にあると言える（4ch：p = 0.06、25ch：p = 0.04、46ch：p = 0.09、paired t-test）。同様に、通電期間中1ヵ月間の残存強膜厚の変動につ

いては個体差が見られるが、通電前と比較し1ヵ月間の通電後では、残存強膜厚は増加傾向にあると言える(4ch : p = 0.06, 25ch : p = 0.02, 46ch : p = 0.01, paired t-test)。また、1ヵ月間通電を行った本試験と、過去に行った非通電試験(本試験と同じ49ch多極電極を埋植)との残存強膜厚変化量平均値の比較を行った(図3-3)。本試験(通電有)では術後1週目から刺激1ヵ月後の変化量平均値(4ch, 25ch : n=4, 46ch : n=5)、非通電試験では術後1週目から術後1ヶ月目の変化量平均値(4ch, 25ch, 46ch : n=3)で評価を行った。図3-3より、4ch, 25ch, 46chの3カ所全てにおいて通電無では残存強膜厚が減少、通電有では肥厚していた。統計学的にも、4chについては通電の有無による残存強膜厚変化量に有意な差が認められた(4ch : p = 0.004, 25ch : p = 0.06, 46ch : p = 0.86, Unpaired t-test)。変化量を見るポイントが通電1ヵ月目、術後1ヵ月目と通電、非通電とで違いがあるため断定はできないが、これらの結果より、残存強膜厚の変化量に通電の有無の影響があると推測された。本試験にて、通電による残存強膜厚の肥厚傾向が示唆されたが、網膜機能に異常は認められていない。その他、電極周辺組織において炎症や損傷等の明らかな異常所見は認められていないため、慢性刺激による網膜への安全性は確認できたと示唆される。

[組織学的検査]

1ヶ月通電後の網膜の組織学的評価より、5例全てにおいて電極周辺強膜に線維芽細胞の発生が認められたが、特に目立った異常所見は見られなかった。

[刺激電流波形]

5例すべてについて電流波形および振幅は試験期間全体を通して正常であり、問題なく機能することが確認された。

[摘出後のデバイス動作確認]

摘出後のデバイスの動作を確認した。5例中4例に1ヶ月間埋植されたデバイスは摘出後も正常動作することが確認された。1例については、摘出後の検査で異常動作を示したが、一晚の乾燥処理後の再検査では正常動作した。

D. 考察

本試験で採用した刺激条件は40極から装置が出力可能な最大出力で刺激し続けるという過酷条件である。しかしながら電気刺激に起因する明らかな組織損傷は発生しなかった。従って49極電極を用いた1ヶ月間の電気刺激の安全性は確認されたと考えられる。一方で通電に伴い強膜は肥厚する傾向を示した。この現象は安全性に影響を及ぼすものではないが、機能性には影響する可能性があるため、より長期の試験を通じて傾向を把握する必要があるものと考

えられる。

E. 結論

過去に実施した単極電極を用いた慢性刺激試験、多極電極を非通電で長期埋植した試験、および多極電極を通電しながら1ヶ月埋植した本試験の結果を総合して、STS方式の49ch電極を用いた電気刺激は安全であると考えられる。

F. 健康危険情報

該当する危険なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

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

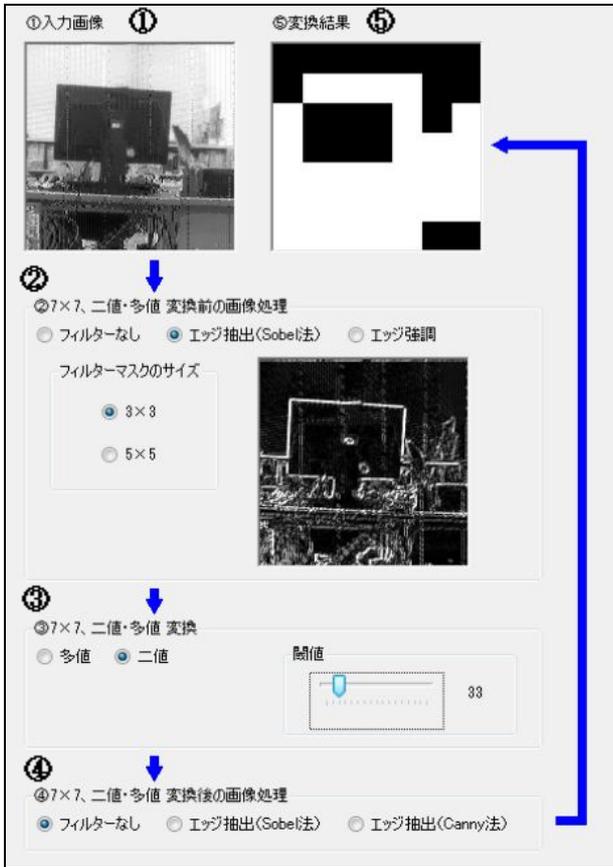


図 1-1. 評価用ソフトウェアの操作画面

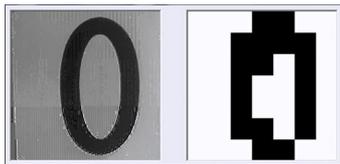


図 1-2. 数字の0を2値の7×7に変換

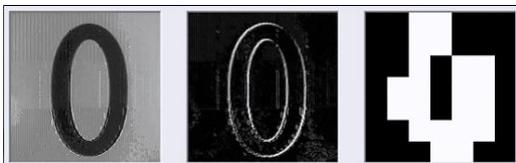


図 1-3. 数字の0を輪郭抽出(Sobel)し、2値の7×7に変換

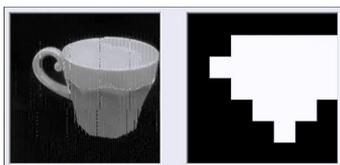


図 1-4. コーヒーカップを2値の7×7変換に変換



図 1-5. コーヒーカップを輪郭抽出(Sobel)し、2値の7×7に変換



図 1-6. 人工視覚シミュレーター



図 1-7. 検査の様子とHMD内の映像

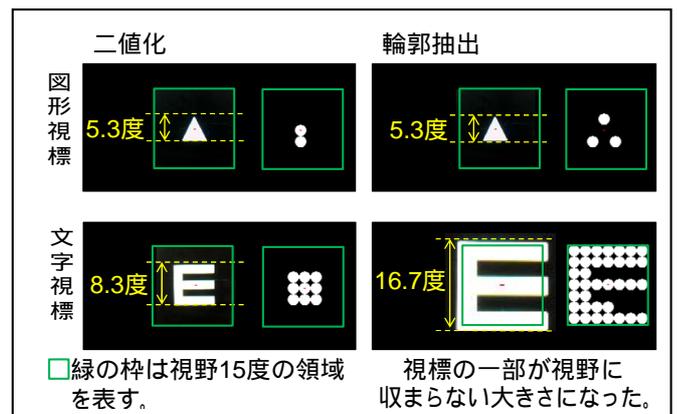


図 1-8. 識別可能な指標と処理の最小視角

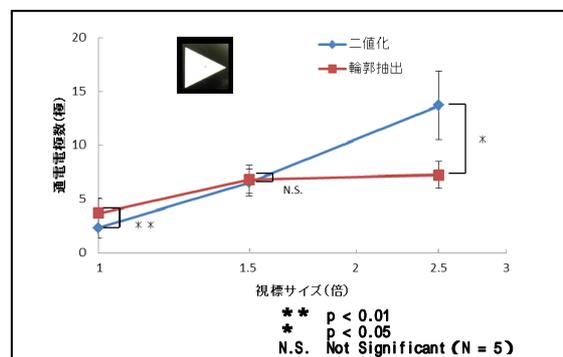


図 1-9. 図形視標

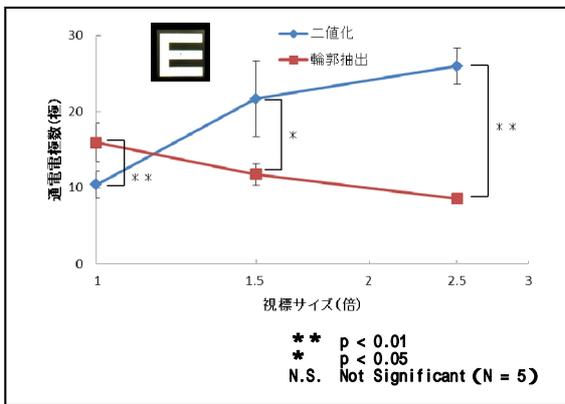


図 1-10. 文字視標のサイズと通電電極数

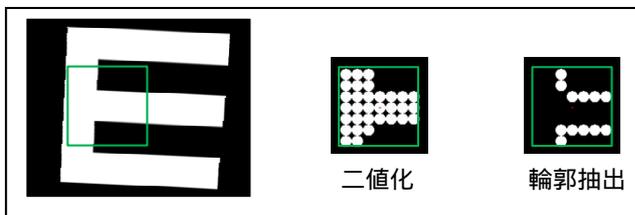


図 1-11. 視標が視角より大きい時の二値化と輪郭抽出の刺激電極数

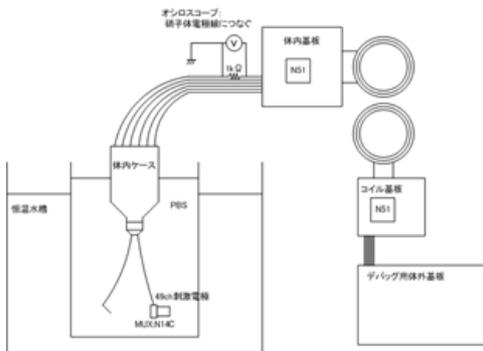


図 2-1. 耐久試験の装置環境

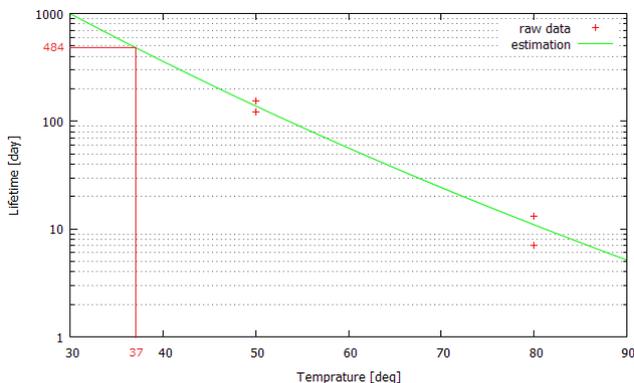


図 2-2. 50 と80 の試験結果より予測される 37 での装置寿命(484日)

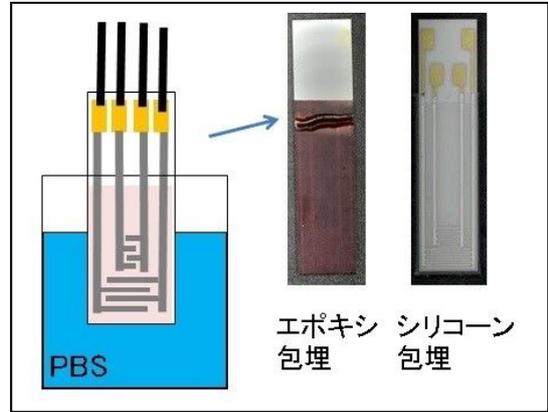


図 2-3. 楕形金属配線を施した試料

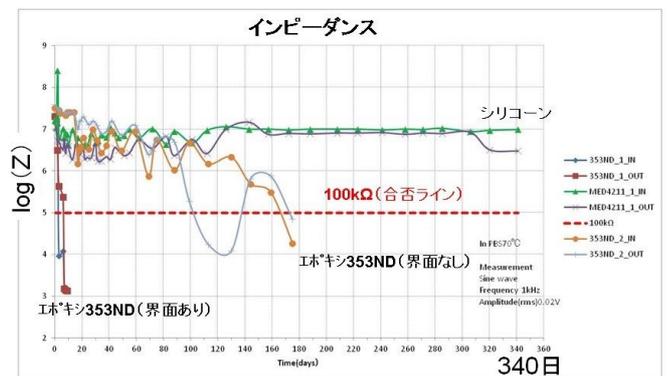


図 2-4. 樹脂被覆した楕型配線基板の 70 PBS 中でのインピーダンス変化

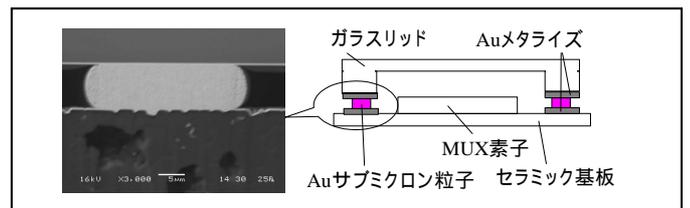


図 2-5. Au粒子の拡散接合

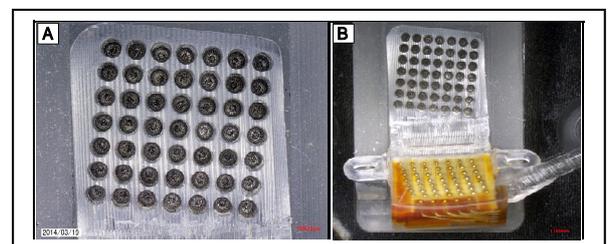


図 3-1. パルク電極 49 極アレイ写真 (A) 刺激電極ユニット全体写真 (B)

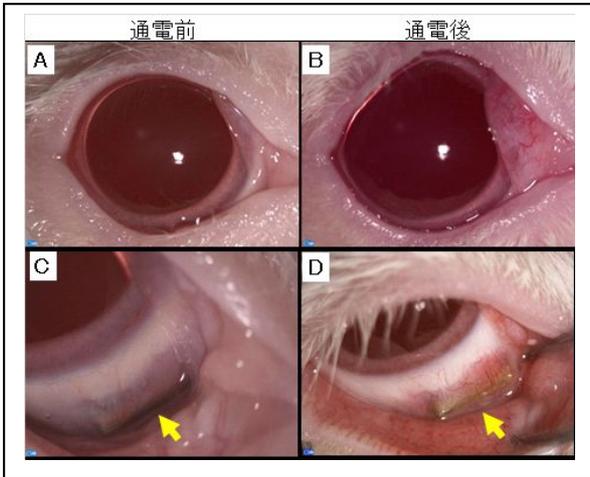


図3-2 .MUX 部分の結膜において、結膜裂創の兆候が認められた V503 の通電前後の前眼部写真(通電前 : A,C、通電後 : B,C) である。通電前後の前眼部写真 C,D は MUX 埋植箇所 (黄矢印部分) を観察したものである。通電前と比較し、通電後は MUX 箇所の結膜が薄くなっており、結膜裂傷の兆候が認められた。

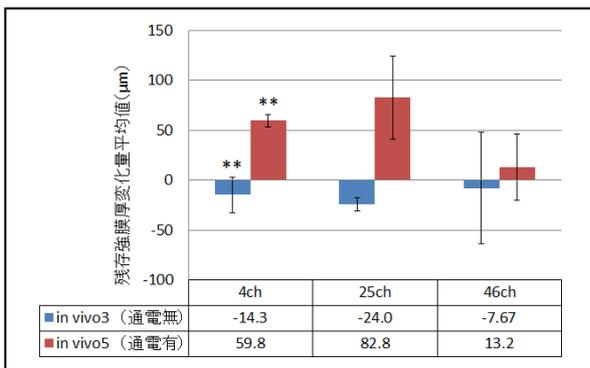


図3-3 . 本試験と、本試験と同じ型の 49ch 多極電極を埋植し通電を実施していない試験 (in vivo3) との残存強膜厚変化量平均値の比較。縦軸が残存強膜厚変化量、エラーバーは標準偏差である。有意差がある場合に*としている。in vivo5(通電有)は術後1週目から刺激1ヵ月後の変化量平均値(4ch,25ch : n=4、46ch : n=5)、in vivo3(通電無)は術後1週目から術後1ヶ月目の変化量平均値(4ch,25ch,46ch : n=3)である。4ch,25chについては、グラフより通電無では、残存強膜厚が減少、通電有では肥厚している。統計学的にも、4chについては通電の有無による残存強膜厚変化量に有意な差が見られた(4ch : $p = 0.004$, 25ch : $p = 0.06$, 46ch : $p = 0.86$, Unpaired t-test)。

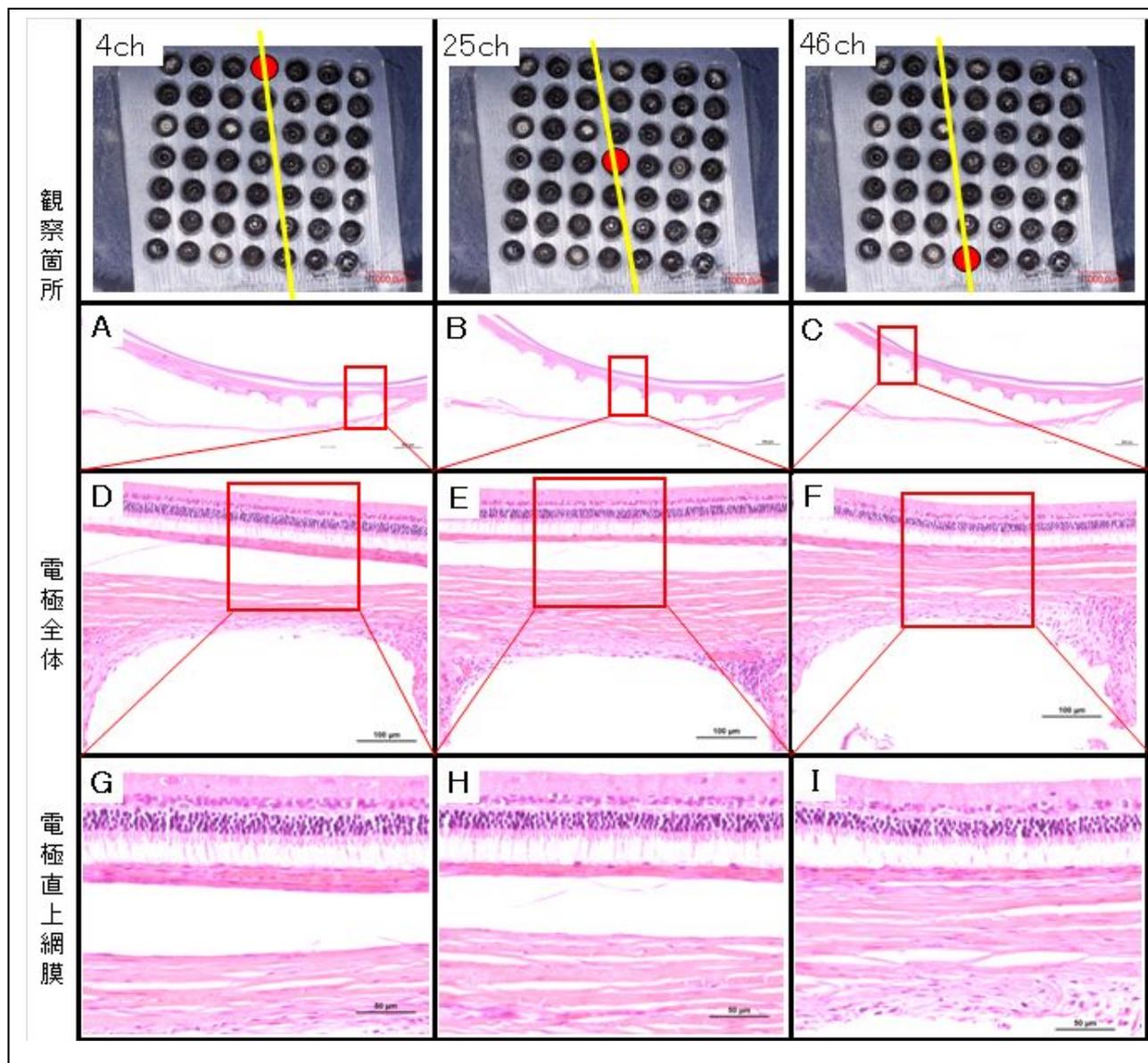


図3-4 . 代表例としてV503の1ヶ月通電後の電極埋植部付近網膜切片のHE染色を示す。観察箇所は、4ch : 通電 (A, D, G) 25ch : 非通電 (B, E, H) 46ch : 通電 (C, F, I) であり、全ての組織において脈絡膜または色素上皮細胞層より網膜が剥離しているが、OCT観察では網膜剥離がみられないことから、組織標本作製時に剥離したものと推察される。電極直上および電極周辺部の組織に一部錐芽細胞の発生が認められるが (青矢印部分) 特に目立った異常所見は見られなかった。

