

第 112 回 日本眼科学会総会 特別講演 I

人工視覚システムの臨床応用を目指して

田野 保雄

大阪大学大学院医学系研究科脳神経感覚器外科学(眼科学)講座

共同研究者

瓶井 資弘¹⁾, 生野 恭司¹⁾, 辻川 元一¹⁾, 坂口 裕和¹⁾, 西田健太郎¹⁾, 方 肖雲¹⁾
 杜 兆江¹⁾, 謝 平¹⁾, 不二門 尚²⁾, 日下 俊次²⁾, 森本 壮²⁾, 中内 一揚²⁾
 別所建一郎²⁾, 下條 裕史²⁾, 大川 賀孝²⁾, 北口 善之²⁾, 福田 淳³⁾, 澤井 元³⁾
 三好 智満³⁾, 八木 哲也⁴⁾, 小山内 実⁴⁾, 宋 文杰⁵⁾, 三宅 養三⁶⁾, 近藤 峰生⁷⁾
 子安 俊行⁶⁾, 坂井 隆夫⁶⁾, 栗本 幸英⁶⁾, 平形 明人⁸⁾, 大路 正人⁹⁾, Hugo Quiroz-Mercado¹⁰⁾
 Orlando Ustariz-Gonzalez¹⁰⁾, Carmen Cecilia-Gonzalez¹⁰⁾, 太田 淳¹¹⁾, 徳田 崇¹¹⁾, 小澤 素生¹²⁾
 古野間邦彦¹²⁾, 鐘堂 健三¹²⁾, 大澤 孝治¹²⁾, 中谷 正義¹²⁾, 米澤 栄二¹²⁾, 寺澤 靖雄¹²⁾
 齊藤 徹¹²⁾, 神田 寛行¹²⁾, 上原 昭宏¹²⁾, 篠原 祥二¹²⁾, 吉田 雅和¹²⁾, 田代 洋行¹³⁾
 (¹⁾大阪大学大学院医学系研究科眼科学, ²⁾大阪大学大学院医学系研究科感覚機能形成学
³⁾大阪大学大学院医学系研究科システム生理学, ⁴⁾大阪大学大学院電気電子情報工学集積エレクトロニクス講座
⁵⁾熊本大学大学院医学教育部知覚生理学, ⁶⁾名古屋大学大学院医学系研究科眼科学
⁷⁾名古屋大学大学院医学系研究科感覚器障害制御学, ⁸⁾杏林大学医学部眼科学教室
⁹⁾滋賀医科大学眼科学講座, ¹⁰⁾Asociación Para Evitar la Ceguera en México, I. A. P.
¹¹⁾奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科光機能素子科学講座
¹²⁾株式会社ニデック研究開発本部人工視覚研究所, ¹³⁾九州大学大学院医学研究院検査技術科学分野生体情報学領域)

研究協力者

吉峰 俊樹¹⁴⁾, 平田 雅之¹⁴⁾, 齊藤 洋一¹⁴⁾, 谷 直樹¹⁴⁾, 黒田麻紗子¹⁵⁾, Jean Delbeke¹⁶⁾
 (¹⁴⁾大阪大学大学院医学系研究科脳神経外科学, ¹⁵⁾京都大学医学部医学科
¹⁶⁾Neural Rehabilitation Engineering Laboratory, Université Catholique de Louvain)

要 約

網膜色素変性など現在治療法がない網膜変性疾患で失明した患者の視機能を改善できる, 本法独自の脈絡膜上経網膜電気刺激(STS)方式による人工視覚システムの開発を目的に研究を行っている。

医学側研究者と工学側研究者とが連携するコンソーシアムのもとで, 動物眼による STS 方式の安全性, 有効性, 耐用性の検証, STS 方式による空間分解能の評価, 網膜変性モデルの開発, 経角膜電気刺激による網膜神経保護作用の評価, 次世代電極の開発, STS 方式による急性臨床試験, 視神経乳頭電極の安全性, 有効性の検証, を行った。

大学と企業研究機関に所属する医学側研究者と工学側

研究者とが緊密に連携し, 独創的電極開発を含む STS 方式人工視覚システム試作機を完成した。本方式で少なくとも指数弁相当の空間分解能を得ることをヒト急性臨床試験など種々の方法で検証した。網膜変性モデルを開発し, 本方式の有効性を確認した。経角膜電気刺激の網膜神経保護作用を確認し, 機序の一部を見出した。

STS 方式人工視覚システムの実用機を上市するために, さらに開発を続ける。(日眼会誌 113: 315—343, 2009)

キーワード: 人工視覚, 人工網膜, 網膜色素変性, 脈絡膜上経網膜電気刺激, 網膜神経保護

別刷請求先: 565-0871 吹田市山田丘 2—2 E 7 大阪大学大学院医学系研究科眼科学 田野 保雄

(平成 21 年 1 月 5 日受付, 平成 21 年 1 月 13 日改訂受理) E-mail: ytano@ophth.med.osaka-u.ac.jp

Reprint requests to: Yasuo Tano, M. D. Department of Ophthalmology, Osaka University Medical School, Rm E 7, 2-2 Yamadaoka, Suita-shi, Osaka 565-0871, Japan

(Received January 5, 2009 and accepted in revised form January 13, 2009)

A Review

Towards Clinical Application of a Visual Prosthesis

Yasuo Tano

Department of Ophthalmology, Osaka University Medical School

Abstract

We have conducted studies to develop a visual prosthesis for blind patients with outer retinal disorders such as retinitis pigmentosa, using a suprachoroidal transretinal electrical stimulation (STS) system.

The consortium of the Japan Artificial Vision Project brought together medical researchers and engineers in close cooperation. Various aspects of the STS system have been assessed such as safety, stability in animal eyes, measurements of spatial resolution, development of animal models of retinal degeneration, neuroprotective effects of transcorneal electric stimulation, development of a CMOS LSI-based flexible.

A unique artificial vision system has been devel-

oped using suprachoroidal electrical stimulation. The system provides spatial resolution equivalent to counting fingers. Animal models of external retinal disorders have been developed. Transcorneal electrical stimulation proved successful in providing neuroprotection in these models.

The commercially available visual prosthesis will be further developed using the STS system.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 113 : 315—343, 2009)

Key words : Visual prosthesis, Retinal prosthesis, Retinitis pigmentosa, Suprachoroidal transretinal electrical stimulation, Retinal neuroprotection

I 緒 言

近年の眼科学における診断技術と治療法の進歩は目覚ましく、かつて難治といわれた眼疾患の多くが治療可能となってきた。例えば 30 年前、大多数が失明を余儀なくされていた重症の増殖糖尿病網膜症は、網膜光凝固術¹⁾、硝子体手術²⁾、さらに最近では抗血管新生薬などの新たな薬物療法³⁾を併用することにより、多くの症例で生活視力が維持できるようになってきた。また、かつては有効な治療法がなかった Stevens-Johnson 症候群も、全層角膜移植術と培養角膜上皮移植術を併用することで透明治癒率の飛躍的な向上が得られるようになってきた⁴⁾。しかし、未だにまったく治療の手立てのない疾患もある。視細胞の機能が喪失した網膜色素変性や瘢痕期加齢黄斑変性などをはじめとする網膜変性疾患があり、これらは我が国での失明原因の上位を占めている⁵⁾。網膜神経細胞は増殖能を有さないのといったん障害された細胞機能を回復させることは、現状では不可能である。幹細胞などを用いた再生医療の開発が待たれるが、臨床応用には未だ時間を要するものと推定される。そこで、このような網膜変性疾患に対する視覚回復の一法として、人工視覚システムの開発が行われている。

本稿では、医学側と工学側とが連携してコンソーシアムを構築し、2001 年度から経済産業省と厚生労働省の両省連携国家プロジェクトとして発足した本邦での人工視覚プロジェクトでの成果を中心に述べる。

II 人工視覚とは

1. 人工視覚の定義と原理

人工視覚とは、眼球にはじまり大脳皮質視覚野に至る視覚神経のいずれかの部位を、電気などで外部から刺激することによって、視覚を再建するシステムを総称したものである。網膜や視神経、大脳皮質に何らかの外力や電流などの物理的刺激を与えると、光覚や眼内閃光が誘発される。これはフォスフェン(phosphene)と呼ばれる擬似光覚で、人工視覚の原理はこの現象に基づいている。電気刺激によるフォスフェン誘導の歴史は古く、眼球への電気刺激によるものは 1755 年に既に LeRoy によって記載されており⁶⁾、後頭葉刺激によるフォスフェンは 1929 年にドイツ人医師 Foerster による記述がみられる⁷⁾。人工視覚ではこの現象を利用し、刺激を小さな多数の点で行えば、電光掲示板のような視覚情報を再構築できるという考えに立っている。失明に至っているような重症の網膜色素変性であっても、視細胞よりも中枢に位置する網膜細胞とさらに中枢の細胞が残存し、神経伝達機能が温存されていれば、視路のどこかで神経興奮を生ずるような電気刺激を与えることによりフォスフェンが生じると考えられる⁸⁾。進行した網膜色素変性眼の組織学的検討では、網膜双極細胞の 78%、網膜神経節細胞の 30% は残存していると報告されている⁹⁾ので、これらの残存細胞を刺激すれば、全盲の患者が人工視覚を得る可能性は十分にあると考えられる。実際に、1969

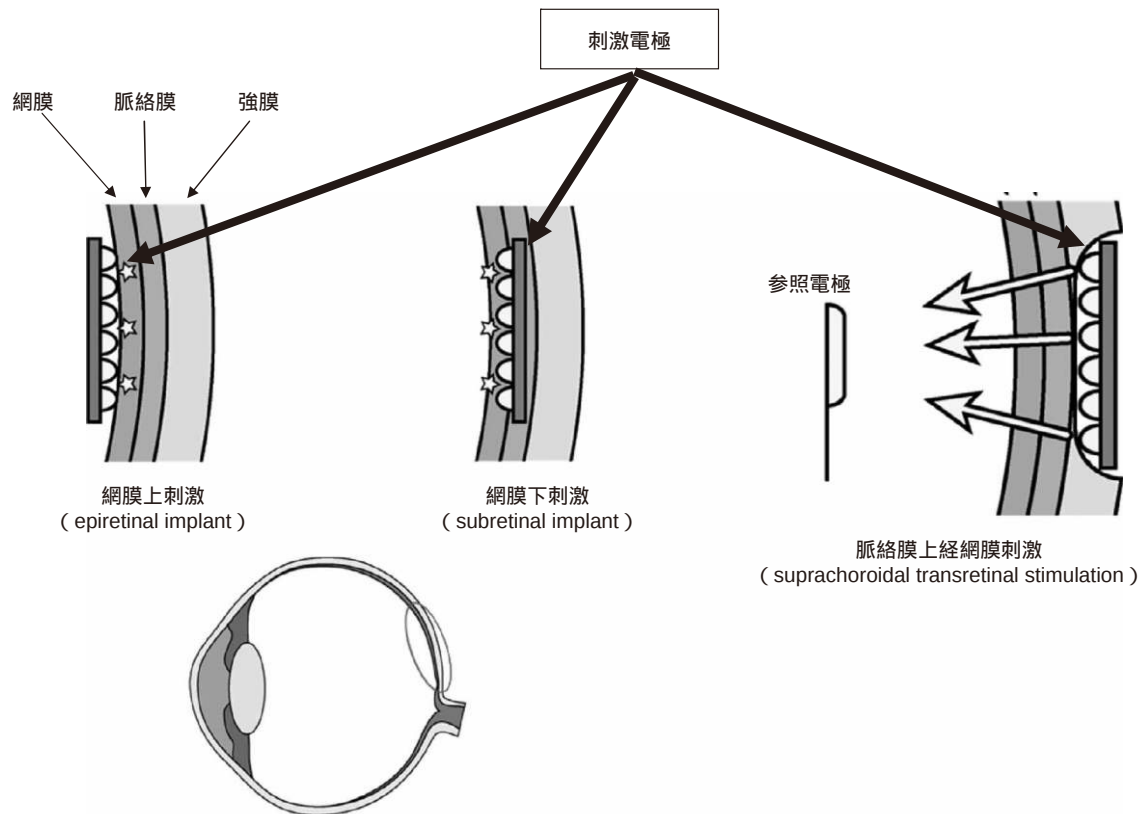


図 1 網膜刺激型人工視覚の分類。

刺激電極の設置位置により、網膜上刺激電極によるもの、網膜下刺激電極によるもの、脈絡膜上刺激電極によるものに分けられる。

年には Potts と Inoue が経角膜電気刺激により、網膜色素変性患者での視覚反応を脳波として客観的に捉えた報告をしている¹⁰⁾。

2. 人工視覚の仕組み

現在開発されている人工視覚の大半は、刺激部位の違いにより、大脳皮質刺激型、視神経刺激型、網膜刺激型に分類できる。網膜刺激型はさらに、網膜上刺激電極によるもの、網膜下刺激電極によるもの、脈絡膜上刺激電極によるものに分けられる(図 1)。刺激電流の発生の仕組みは、体外撮像方式(網膜下刺激電極以外)と体内撮像方式(網膜下刺激電極)で異なる。体外撮像方式では、眼鏡などに取り付けられた超小型 CCD カメラで得られた画像情報を、コンピュータによる画像処理システムを通して電気信号に変換し、送信する。その信号を体内に埋植した体内装置が受信し、信号に応じた電気刺激を、対応する各電極に発生させて、神経を刺激する仕組みである⁸⁾(図 2)。体内撮像方式(網膜下刺激電極)は、光電素子、信号処理回路、刺激電極のすべてを薄膜基板に凝縮し、網膜下に挿入するもので、光電素子によって光エネルギーを電気エネルギーに変換し、網膜を刺激しようとするものである¹¹⁾。また、特殊な網膜刺激装置として、神経伝達物質で刺激する化学刺激方式も研究されている¹²⁾。

3. 各人工視覚の概略

現在研究開発が進められている人工視覚のうちで、長期にわたるヒトでの人工視覚を実現したのは大脳皮質刺激電極による装置である。1968 年に Brindley と Lewin が初めて 80 極白金電極アレイによるフォスフェン誘導を報告し¹³⁾、1974 年に Dobelle と Mladejovsky が人工視覚システムとしての開発を始めた。2000 年には、64 極電極アレイによる人工視覚システムが埋植されて術後 20 年を経過した全盲患者の独歩を実現したことを Dobelle が報告した¹⁴⁾。大脳皮質刺激方式であれば、外傷などにより網膜・視神経の機能が残存していない全盲例においても視力獲得を期待することができる。ただし、この方式は開頭手術を要し、てんかんや感染症といった重篤な合併症の発生率が他の方式に比して高いことが大きな問題点であるとされている。これらの問題点を解決すべく、2001 年に Fernandez ら¹⁵⁾によって CORTIVIS プロジェクトが立ち上げられ、改良が進められているが、実用化にはまだ時間がかかると予想される。

ベルギーのグループが研究している視神経への電気刺激方式¹⁶⁾¹⁷⁾はユニークな試みであるが、刺激パターンの変化と組み合わせによって、種々の空間的位置にフォスフェンが得られることを利用して、像を再構築する方式であるため、認識に時間がかかる点や、大脳皮質刺激型よりは重篤度は低い装置埋植に関連する障害発生率が

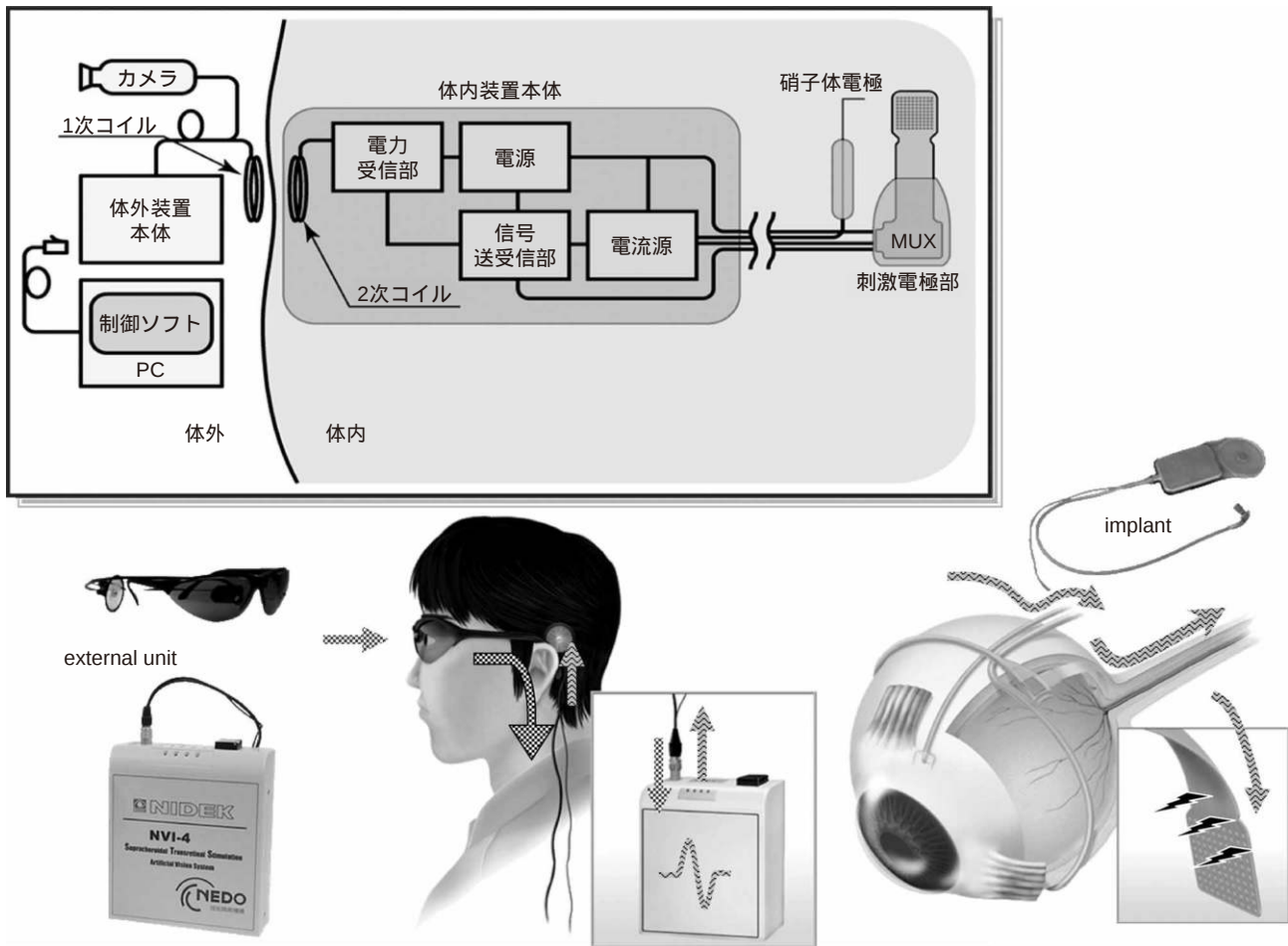


図 2 脈絡膜上経網膜電気刺激(STS)人工視覚システム。

眼鏡に取り付けられた超小型 CCD カメラで得られた画像情報を、コンピュータによる画像処理システムを通して電気信号に変換し、送信する。その信号を体内に埋植した体内装置が受信し、脈絡膜上に埋植した電極で電気刺激を発生させて、網膜を刺激する。神経興奮は中枢に伝えられる。

高いと考えられている。

一方、人工網膜と呼ばれる、眼内で刺激を行う網膜刺激型⁸⁾は、網膜神経節細胞以降、視中枢までの機能がある程度残存していることが絶対条件となるものの、大脳皮質刺激型や視神経刺激型に比べ、刺激電極埋植にかかわる障害は小さいと考えられる。また、分解能を上げやすい可能性があることから、現在開発途上にある人工視覚計画の多くは人工網膜方式である。

4. 人工網膜

人工網膜をさらに分類すると、刺激電極の埋植位置により網膜下刺激電極方式、網膜上刺激電極方式、脈絡膜上刺激電極方式の3つに大別できる(図1)。

A) 網膜下刺激電極

人工網膜のうち、網膜下刺激電極を用いる方式¹¹⁾は、当初、薄く小さな光電素子基板上で光エネルギーの変換から電気刺激まですべて完了する方式とされた。すなわち、デバイス間の受送信やケーブル接続が不要であり、電極埋植が比較的単純で設置が容易であり、網膜下に固定するので安定性が良く、眼球運動に自然に対応できる

ことなどが利点とされた。ところが、光電素子の変換効率は神経興奮を惹起するのにははるかに不十分であることから、現在では外部エネルギーの供給が不可欠とされ、本方式本来の優位性の主たる一つは失われている。

B) 網膜上刺激電極

網膜上刺激電極による方式¹⁸⁾は、眼外装置と眼内装置に分割することにより、眼内装置を小型化でき、かつ、十分な電力を供給できるだけでなく、各電極に対応した信号の調整や設定が埋植後に可能であるなどの利点がある。しかし、受信装置、ケーブル、刺激電極から成る眼内装置が複雑な形状をしており、パッケージングや結線などの工学的技術課題や網膜上での安定した固定など埋植手技の改良が課題である。

C) 脈絡膜上経網膜刺激電極

網膜下および網膜上刺激電極を用いる方式はそれぞれに長所短所を有し、解決しなければならない問題点も多い。これらに対し、我々は本邦独自の人工網膜として、強膜内あるいは脈絡膜上腔に電極を設置する脈絡膜上経網膜電気刺激(suprachoroidal transretinal electrical

脈絡膜上経網膜刺激（閾値電流値：10 nc）

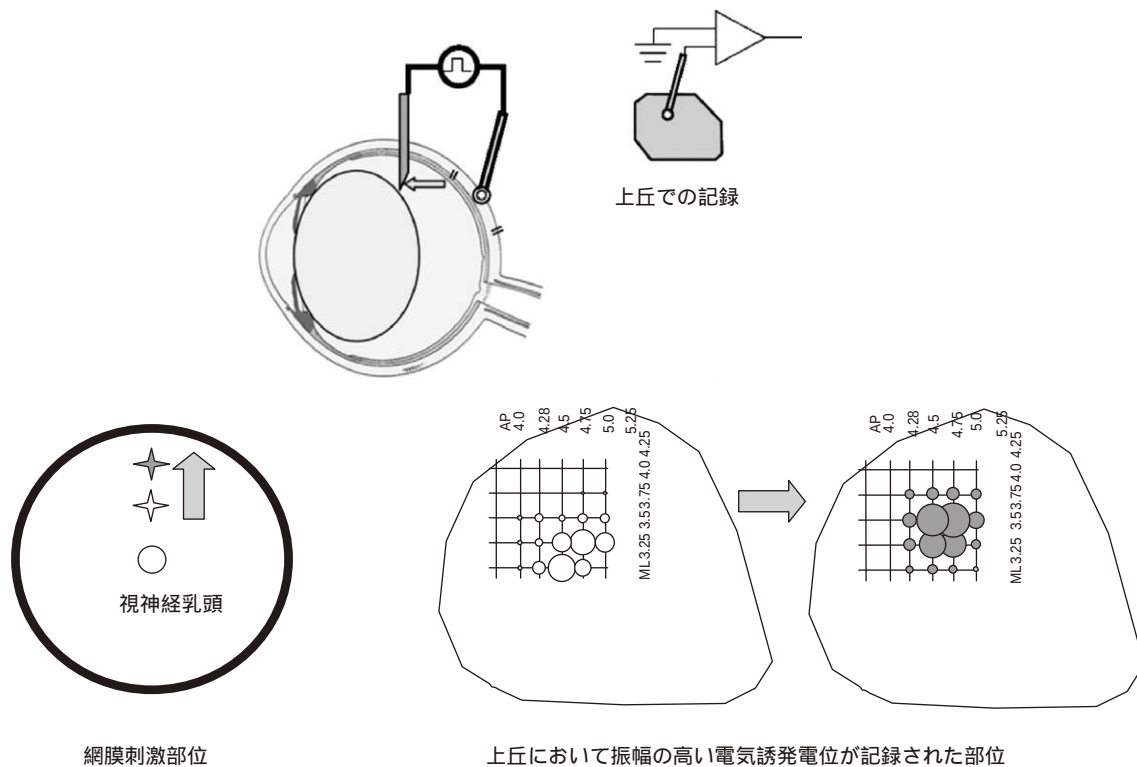


図 3 正常ラット眼における STS 方式網膜刺激による大脳誘発電位。

STS 方式の刺激により上丘で電位変化が記録され、強膜上で 1 mm 離れた 2 箇所を刺激すると、上丘でも対応した異なる場所での誘発電位が記録された。

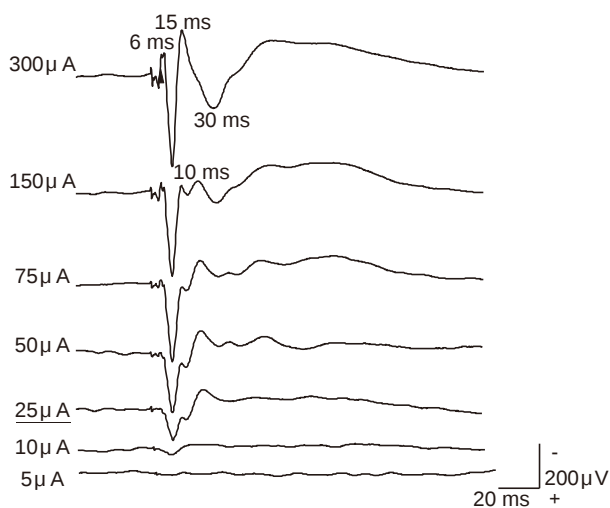


図 4 家兎眼への STS 刺激による大脳皮質誘発電位。

STS 刺激により閾値電流 25 μ A で電気誘発電位 (EEP) が記録された。

電極が網膜に直接接触していないので、設置後も網膜への侵襲が少ない点、広い視野を確保できる可能性がある点、万一の際に交換が可能な点などが、網膜下および網膜上電極方式よりも優れている点として挙げられる。本方式は、基本的には体外撮像型であり、CCD カメラで捉えた画像を画像処理し、体外から電力および信号を皮下の受信装置に送電し、強膜内あるいは脈絡膜上に設置された電極に刺激信号を送る方式である(図 1)。参照電極を硝子体中に設置することにより、刺激電流が網膜を貫通し、効率よく刺激ができるのが特徴といえる。考えられる問題点としては、網膜下もしくは網膜上刺激電極と比較し、電極が網膜から離れているため、網膜細胞を興奮させる電流閾値が高くなる可能性や空間分解能が低くなる可能性が挙げられ、我々はそれらの検証を含め、本方式の妥当性を検討した。

Ⅲ 脈絡膜上経網膜電気刺激(STS)方式の有効性・安全性

1. 正常網膜における有効性

人工視覚システムをヒトに適用する前に、動物眼での有効性、安全性、電極の耐用性の確認は必須である。我々はまず、ラットを用い、脈絡膜上経網膜電気刺激により網膜での電氣的興奮が生じ、それが中枢へ伝達され

stimulation : STS)法を開発した¹⁹⁾(図 2)。眼球壁内に刺激電極を設置するので電極設置手術時の侵襲が少なく安全であるうえ、電極の安定性に優れ、十分な電力供給と信号調整が可能であるといった、網膜下電極方式と網膜上電極方式両方の利点を活かした方式である。さらに、

るかどうかを調べた。眼に電流による刺激を行うと大脳で電位の変化が起こるが、この電位変化は電気誘発電位 (electrical evoked potential : EEP) と呼ばれる。我々は STS 方式の有効性を検討するため、網膜電気刺激による EEP の誘導についてラット上丘での電位測定を行っ

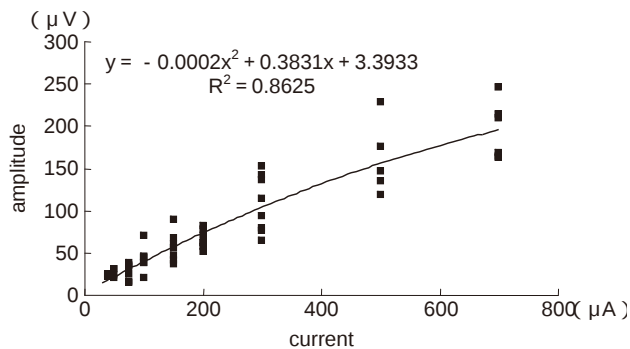


図 5 刺激電流値と EEP との関係。
誘発電位を得るための閾値電流の平均は $50 \mu\text{A}$ で、電荷密度にすると $40 \text{ mC}/\text{cm}^2$ に相当した。n=6.

た。ラット眼球は強膜厚が薄いため強膜内への電極埋植手術は行わずに、強膜上に電極を接触させ、硝子体内の参照電極との間で通電した。この脈絡膜上経網膜電気刺激により上丘での誘発電位変化が記録された。さらに強膜上で離れた 2 箇所を刺激すると、上丘でも対応した異なる場所での誘発電位が記録され、刺激と反応の位置対応が示唆された²⁰⁾(図 3)。

次に刺激電極を脈絡膜上(強膜ポケット内)に埋植して網膜刺激を行うために、眼球の大きさや性状がよりヒトに近い有色家兎を用いて、大脳皮質視覚野での電位測定を行った。家兎では頭頂骨と後頭骨の境目であるラムダ縫合から前方 8 mm、側方に 7 mm の部分の直下に視覚野が存在するので、その部分の頭蓋骨にネジ電極を埋植し測定電極とした²¹⁾。強膜ポケット内に埋植した刺激電極と、硝子体内に設置した参照電極との間で通電したところ、大脳皮質視覚野での誘発電位が記録された(図 4)。誘発電位を得るための閾値電流は、最も反応が良好な部位で $25 \sim 50 \mu\text{A}$ であった(duration : $50 \mu\text{s}$, cathodic first の矩形波電流使用)(図 5)。電荷密度にすると

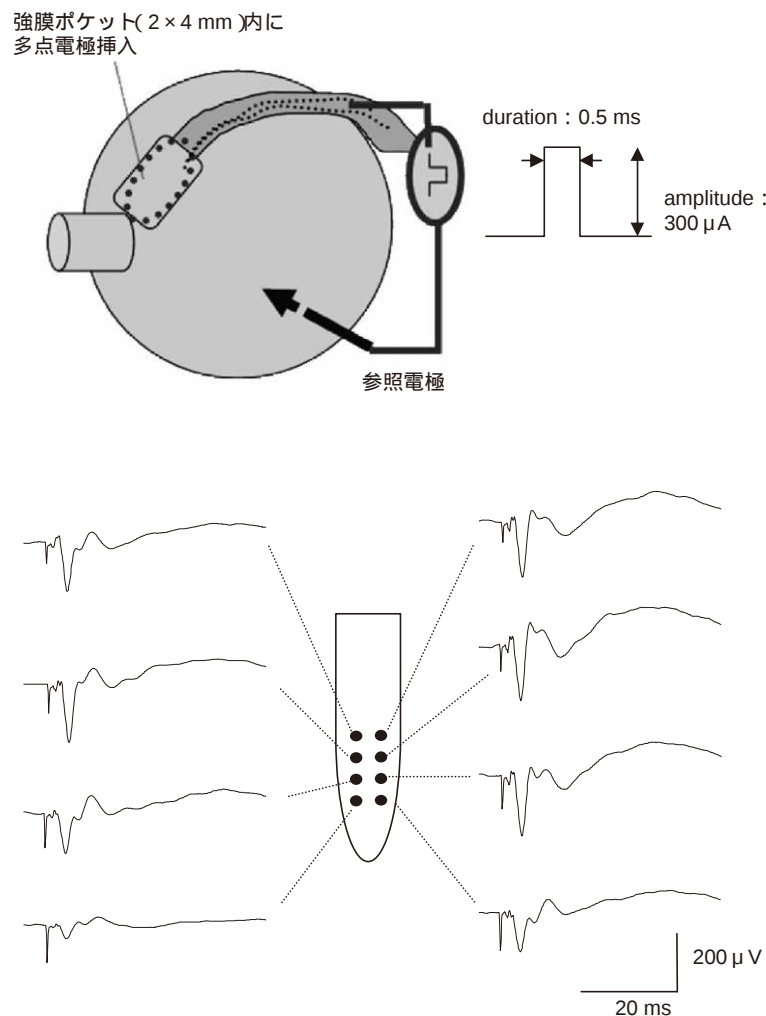


図 6 家兎における多点電極 STS 刺激。
視覚野における EEP 振幅は、刺激部位により差がみられた。

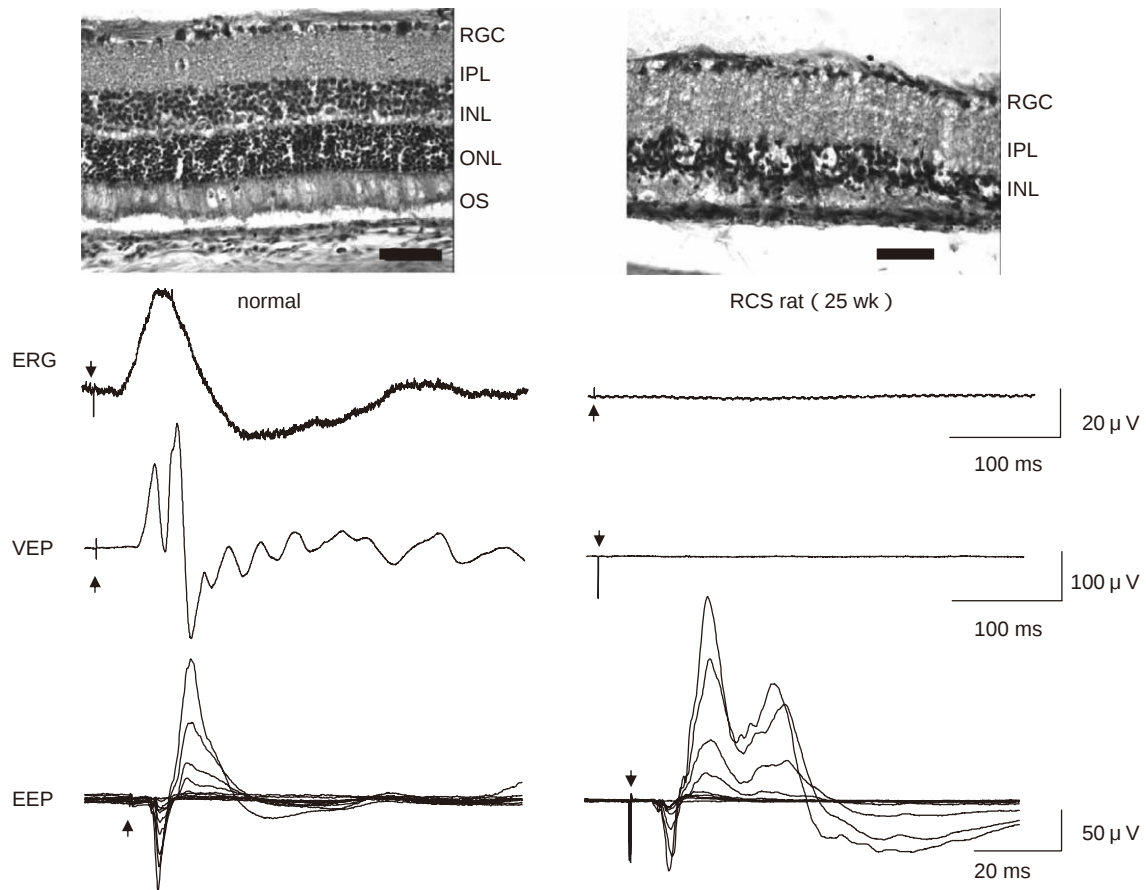


図 7 Royal College of Surgeons(RCS)ラットにおける STS 方式による人工視覚.

RCS ラットでは、光刺激に対しては網膜電図(ERG)も視覚誘発電位(VEP)も消失していたが、STS 刺激では、正常ラットと同等の EEP が記録された。Scale bar = 100 μ m

RGC：網膜神経節細胞，IPL：内網状層，INL：内顆粒層，ONL：外顆粒層，OS：視細胞外節。

40 mC/cm²に相当し、網膜上刺激方式での過去の報告(8.9~11.9 mC/cm²)²²⁾と比較しても遜色ないものと考えられた。したがって、STS 方式では他方式に比べ電極が網膜から離れているため、網膜細胞を興奮させる電流閾値が高くなるのではないかと当初の懸念は否定され、刺激効率はほぼ同等程度のものが期待できると判断した。さらに、多点電極を用いて視野における EEP の振幅を検討すると、ラットと同様に刺激位置により振幅の差を認め、家兎においても網膜刺激と反応の位置対応が示された²³⁾(図 6)。

2. 変性網膜における有効性

STS 方式は正常網膜において EEP を誘発できたが、人工網膜システムは視細胞機能の喪失例に適応とする。そこで、変性網膜における STS 方式の有効性を検討した。網膜変性の動物モデルである Royal College of Surgeons(RCS)ラットの 25 週齢個体では網膜外層が消失しているため、光刺激に対しては網膜電図(electroretinogram：ERG)も視覚誘発電位(visual evoked potential：VEP)も消失している。この RCS ラットに脈絡膜上経網膜電気刺激を行ったところ、対照である正常ラットと同等の十分な EEP を記録した²⁰⁾(図 7)。このことより、

網膜内層(網膜神経節細胞)が残存していれば STS 方式の網膜電気刺激により十分な反応が得られることが示唆された。

3. 網膜に対する安全性

人工網膜システムを安全に作動させるためには、有効な刺激電流を与え続けた際に網膜や電極自体の損傷が起こらないことを確認する必要がある。我々は家兎の強膜内に STS 電極を挿入し、1 時間の連続通電を行った。パルス幅 0.5 ms、周波数 20 Hz の二相矩形波の電流値を変化させ、網膜損傷の有無を検眼鏡的、および組織学的に評価した。その結果、損傷を生じ始める閾値は電荷密度にして 678~2,119 mC/cm²であり、EEP 誘発に必要な電荷閾値の約 20 倍であった。したがって、STS 方式は刺激に使用できる電流の安全域が広く、網膜を安全に刺激できる方法といえる²⁴⁾。これは神経を直接刺激した場合の損傷閾値の報告²⁵⁾と比べ約 20 倍の値である。

電極の耐用性については、同様の刺激(パルス幅 0.5 ms, anodic first, 電流 0.5 mA, 周波数 20 Hz)を 1 週間に 1 時間、10 週間にわたって行い評価した(n=10)。その結果、電極間の抵抗は全例で安定しており、走査電子顕微鏡(scanning electron microscope：SEM)でも電

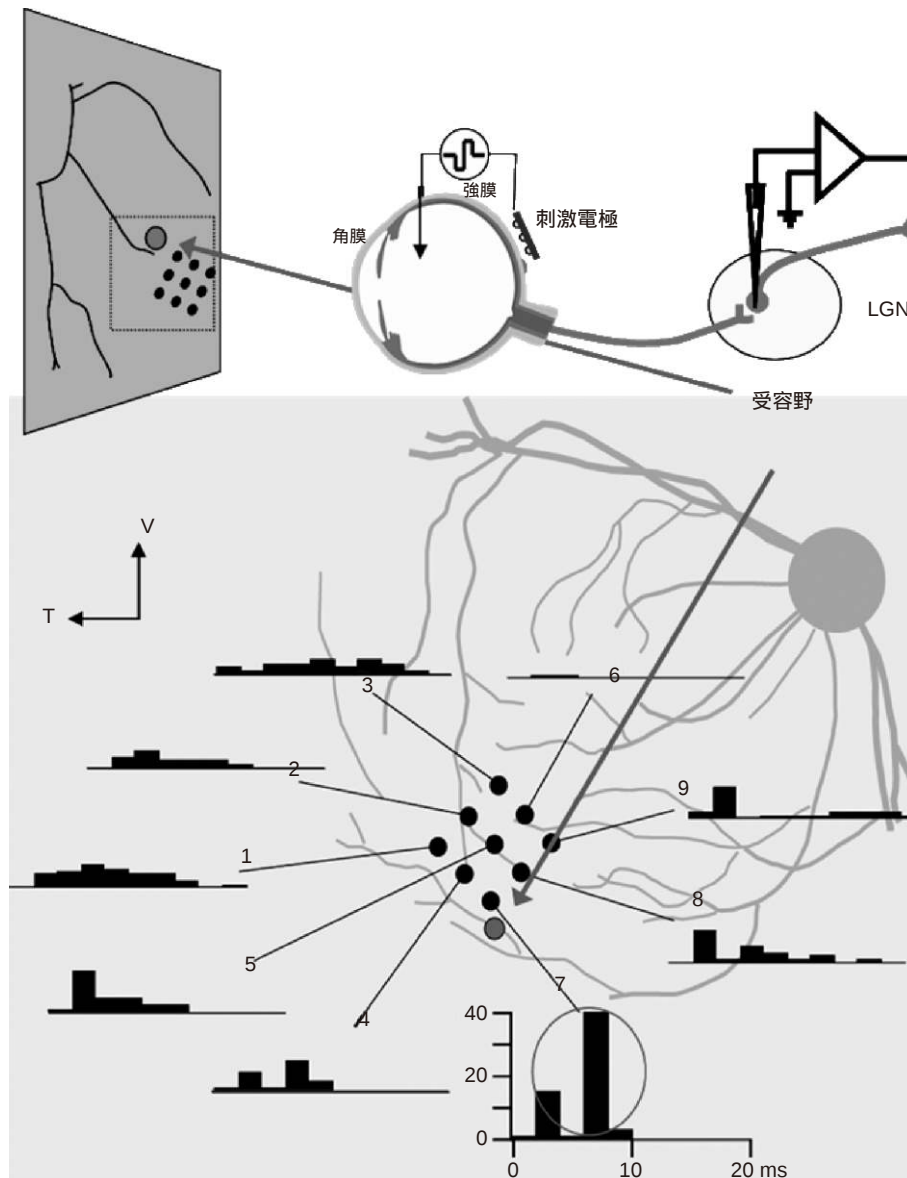


図 8 STS 方式多点電極による空間分解能の評価。
ネコの外側膝状体(LGN)で、STS に対する反応電流閾値を測定した。

極の損傷を認めなかったことから、臨床的に使用が予想される電流域においては電極の耐用性に問題がないことが示された。

4. STS 方式の空間分解能

正常網膜および変性網膜を STS 方式で刺激することにより、大脳皮質視覚野で誘発電位が得られるが、人工視覚システムとしての有効性の検証には、この方式により一定の空間分解能を得られることを検討する必要がある。そこで、動物眼における空間分解能を評価するために、STS 方式による網膜電気刺激に対する反応をネコの外側膝状体背側核(dLGN)中継細胞における単一ユニット活動記録によって計測した。網膜刺激電極として直径 $100\ \mu\text{m}$ の単極電極を用いた。電極の埋植方法は左側眼球後部表面を露出し、網膜中心野から耳側 $1\sim 2\ \text{mm}$ に相当する部位に強膜半層切除を施し、約 $9\ \text{mm}^2$

($3\times 3\ \text{mm}$)の開窓部を作製した。この開窓部に刺激電極を密着させた。一方、毛様体扁平部に当たる強膜を 30 ゲージ(G)注射針で穿刺し、その創を通して硝子体内へ参照電極を挿入した。強膜側の刺激電極と参照電極の間で電流パルスを与えることで網膜を刺激した。測定は、まずネコの眼前 $114\ \text{cm}$ に設置したスクリーン上で LGN から得られた網膜神経節細胞の受容野を測定し、次に STS 方式電気刺激を行いその受容野で反応が得られた電流閾値を測定した。分解能を評価するためには刺激電極と受容野の距離をスクリーン上で測定した。実験終了後、網膜全伸展標本を作製し光学顕微鏡下で組織像を撮影し、先に述べたスクリーン上の投影像と組織像を重ね合わせ、受容野から刺激部位までの距離を測定し視野角(度)を求めた(図 8)。その結果、電極からの距離が近い受容野ほど閾値電流が低く、電極から離れていくと電流

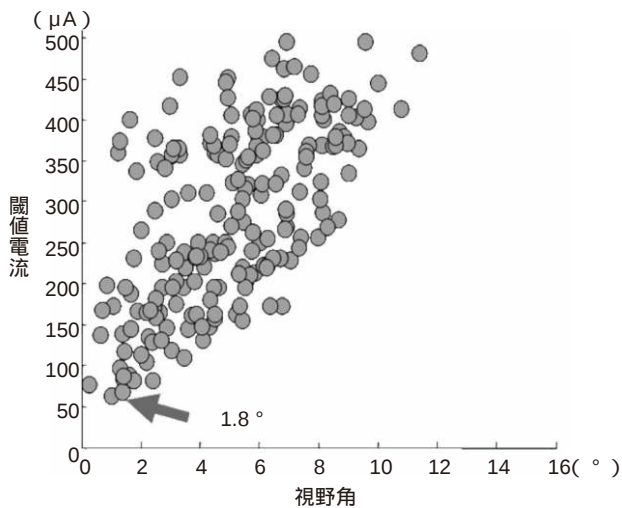


図 9 電流閾値と電極からの受容野の距離の関係。
電極からの距離が近い受容野ほど閾値電流が低くなる傾向がみられ、最小 $75 \mu\text{A}$ の閾値電流で、分解能は視野角 1.8° 程度にまで限局した。

閾値は上がっていく傾向がみられた。最小 $75 \mu\text{A}$ の閾値電流で、視野角 1.8° 程度まで限局した(図 9)。ネコの視野角 1.8° はネコ網膜上で 0.40 mm に相当し、ヒトの網膜においても 0.40 mm の範囲で STS に対する興奮が生じると考えればヒトの視角で約 1.4° 、視力にして 0.01 強に相当すると考えられた。

5. 大脳皮質誘発電位の光学的計測

STS 方式における空間分解能の別の評価法として、本方式の網膜電気刺激によって惹起される大脳皮質誘発電位の光学的計測を行った。外科的に露出させた大脳皮質一次視覚野(以下 V1)表面を、膜電位感受性蛍光色素(RH 795)で染色すると、その染色部位の蛍光強度が神経活動に応じて変化する。この蛍光強度変化を光学計測することで、網膜へのさまざまな刺激に対する V1 の神経応答を画像化できる。この手法を用いて、STS 刺激に対する V1 の応答の空間分解能の計測を試みた。麻酔にて不動化したモルモット(メス、5~7 週齢)の右眼球背側表面に多点刺激電極アレイ(2×3 極、刺激電極間距離: 0.5 mm)を設置し、その隣接する 3 点の刺激電極を通じて単発の STS 刺激(単相矩形波パルス: 電流

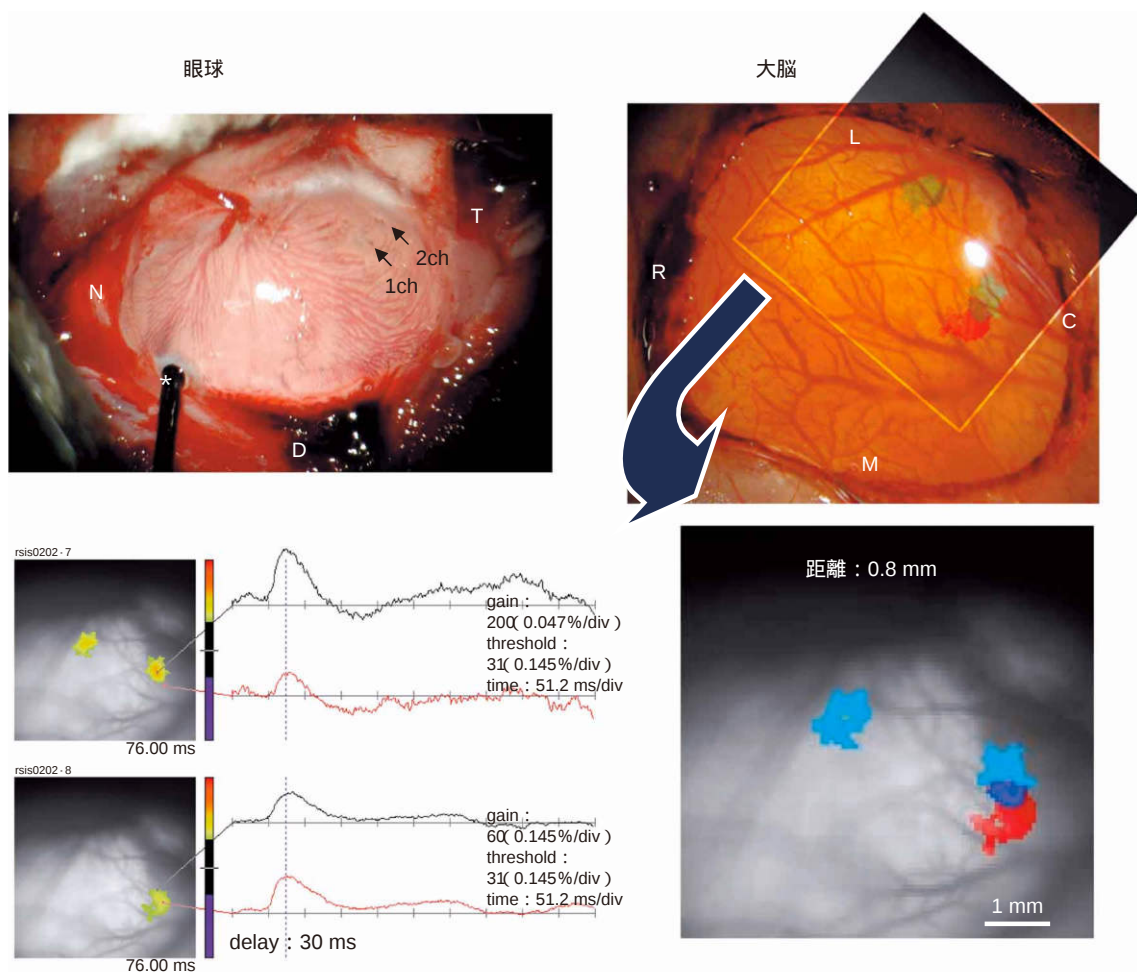


図 10 大脳皮質誘発電位の光学的計測。

モルモット網膜に単発の STS 刺激を与えると、対側の大脳皮質一次視覚野(V1)で刺激後約 $25 \sim 80 \text{ ms}$ で局所的な神経興奮が記録された。

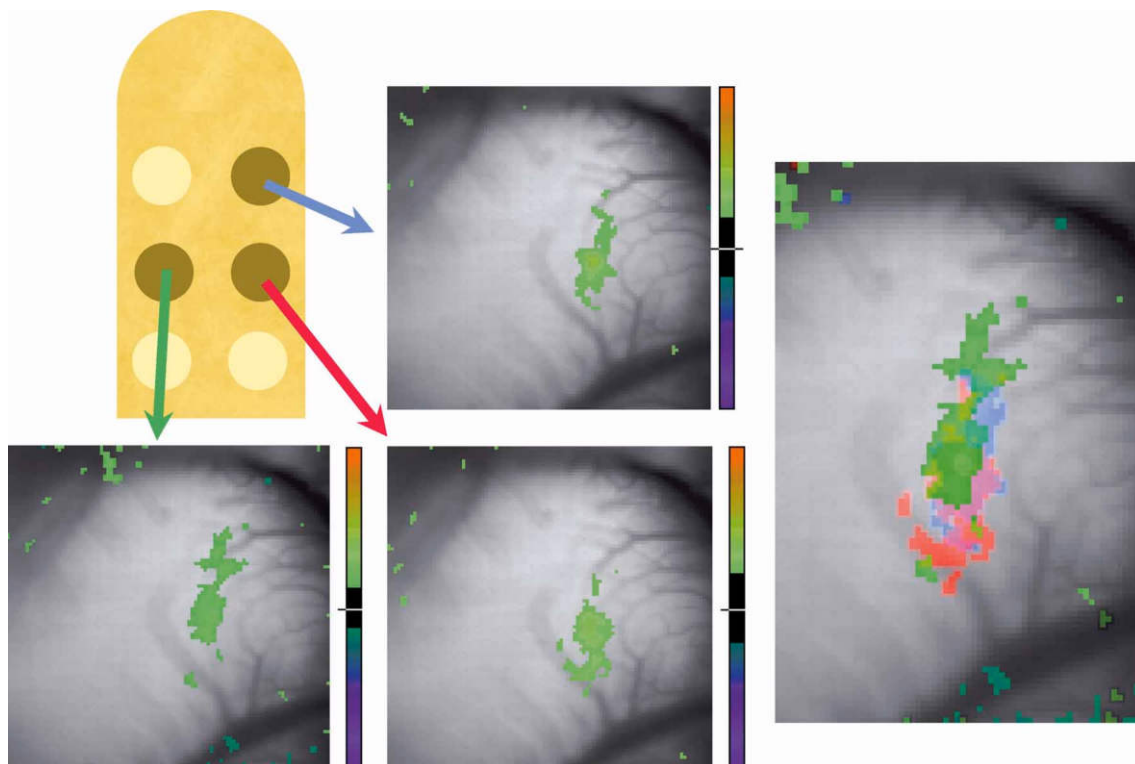


図 11 大脳皮質誘発電位の光学的計測.

刺激電極の位置に応じて V1 の応答領域はシフトしたが、その方向は刺激電極の網膜上での位置にトポロジカルに対応していた。電極間距離である 0.5 mm の空間分解能が期待されることになる。この距離は、ヒト網膜に当てはめると、視力にして 0.01 強に相当する。

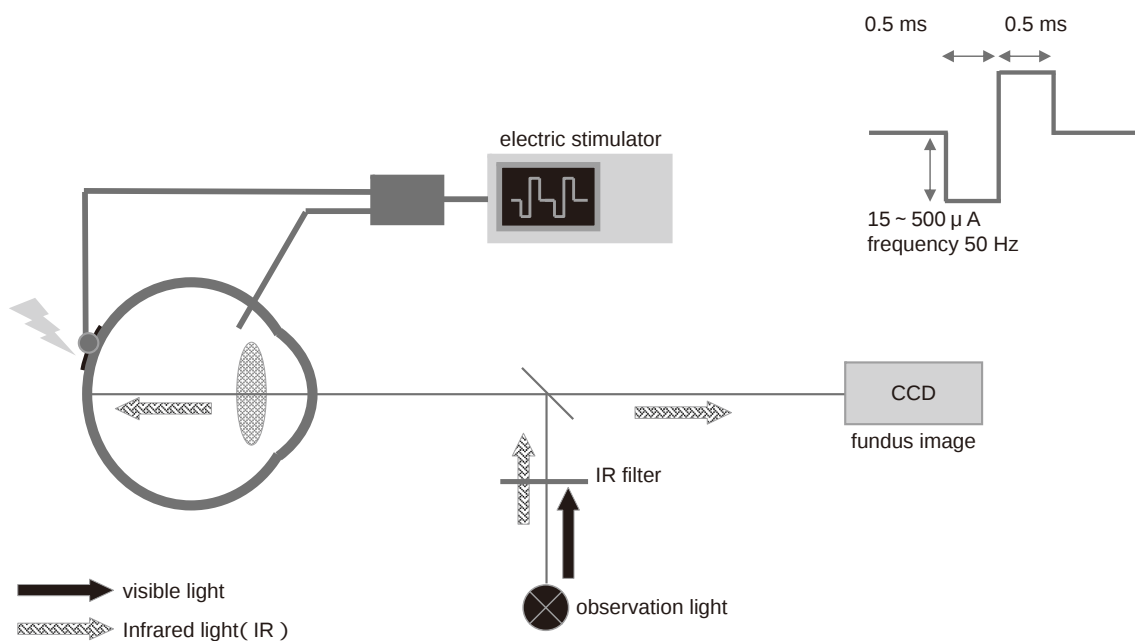


図 12 STS 刺激による賦活網膜部位の optical imaging.

電気刺激で賦活される網膜部位を反射光量の変化で検出する。

0.1 mA, パルス幅 0.5 ms) を与えると、対側の V1 で刺激後約 25~80 ms で局所的な神経興奮が記録された (図 10)。刺激電極の位置に応じて V1 の応答領域はシフトしたが、その方向は刺激電極の網膜上での位置にト

ポロジカルに対応していた (図 11)。この神経応答部位のシフトは、アレイ上の隣接する刺激電極によって位置の異なるフォスフェンが発生する可能性を示唆しており、この電極を用いた STS 方式人工網膜では少なくと

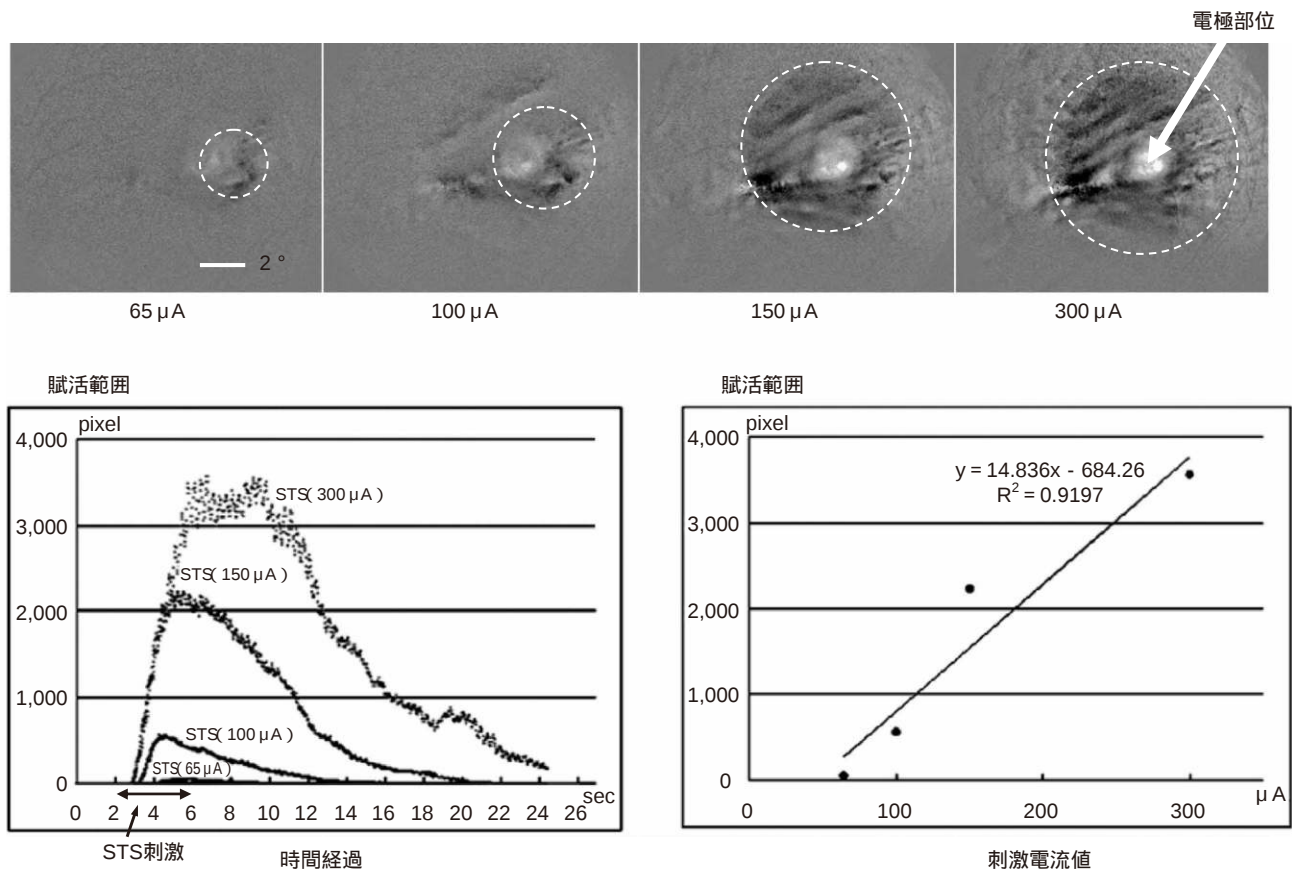


図 13 STS 刺激による optical imaging.

賦活網膜部位と電流値。網膜賦活化の範囲は電流の強さに比例して拡大する傾向がみられ、閾値付近の電流での賦活化範囲から空間分解能を計算すると、ヒトの指数弁に相当すると推定された。

も 0.5 mm の空間分解能が期待されることになる。この距離は、ヒト網膜に当てはめると、視角にして約 1.7°、視力にして 0.01 強に相当する。

6. 眼底 optical imaging

網膜電気刺激による網膜の賦活部位の広がり进行评估することにより空間分解能を推測できる。そこで、眼底 optical imaging で得られた賦活部位の広がりを実測することにより、空間分解能を推測した。網膜が光や電流により賦活されると、網膜の反射光量の微弱な変化が起こる。網膜の微小な構造変化や、血流変化などに起因するものとされている網膜反射光量の変化²⁶⁾を赤外光で計測する(図 12)。閾値から徐々に電流を上げて測定したところ、網膜賦活化の範囲は電流の強さに比例して拡大する傾向にあった(図 13)。閾値付近の電流での賦活化範囲から空間分解能を計算すると、本方式での刺激の広がりヒトの指数弁に相当すると推定された²⁷⁾。

Ⅳ 網膜変性モデル動物

STS 方式の有効性と安全性が確認されたので、実際の人工網膜として稼働するためには、どのようなパターンの電流を流すのが最適なのかを検討する必要がある。具体的には、刺激パルス幅、周波数、陽性波と陰性波の

順序(電極周囲における電気分解を回避する目的で両相波を用いる必要がある)、対称波形にするか非対称波形にするか、刺激パルス間にインターパルスを挿入するかどうか、などといった刺激パルスパラメータの至適な組み合わせが必要となってくる。失った視機能の再獲得という実際の臨床に近い実験を行いたい場合には、患者に近い動物モデル、すなわち視細胞が重度に障害されているが網膜内層機能が残存しているという動物モデルが必要になる。マウス・ラットでは眼球が小さすぎて実用電極の埋植が不可能であるため、眼球の大きさがヒトに近い中型～大型動物での実験が必要となってくる。しかし、中型動物での網膜変性モデルはないため、家兎を用いて網膜変性モデルを新たに作製した。

1. 変異ロドプシン発現家兎

実験動物で視細胞のみを障害させる簡易な方法として、光障害や薬物投与による方法がある。我々はこれまでにウサギにおいて LED(light emitting diode)による強い光障害や薬物投与(N-methyl-N-nitrosourea あるいは tunicamycin)による視細胞障害を試みてきたが、どの方法も人工視覚移植実験に適した視細胞選択的障害モデルをウサギで作製することはできなかった。

そこで我々は、網膜色素変性の新しい中型モデル動物

A

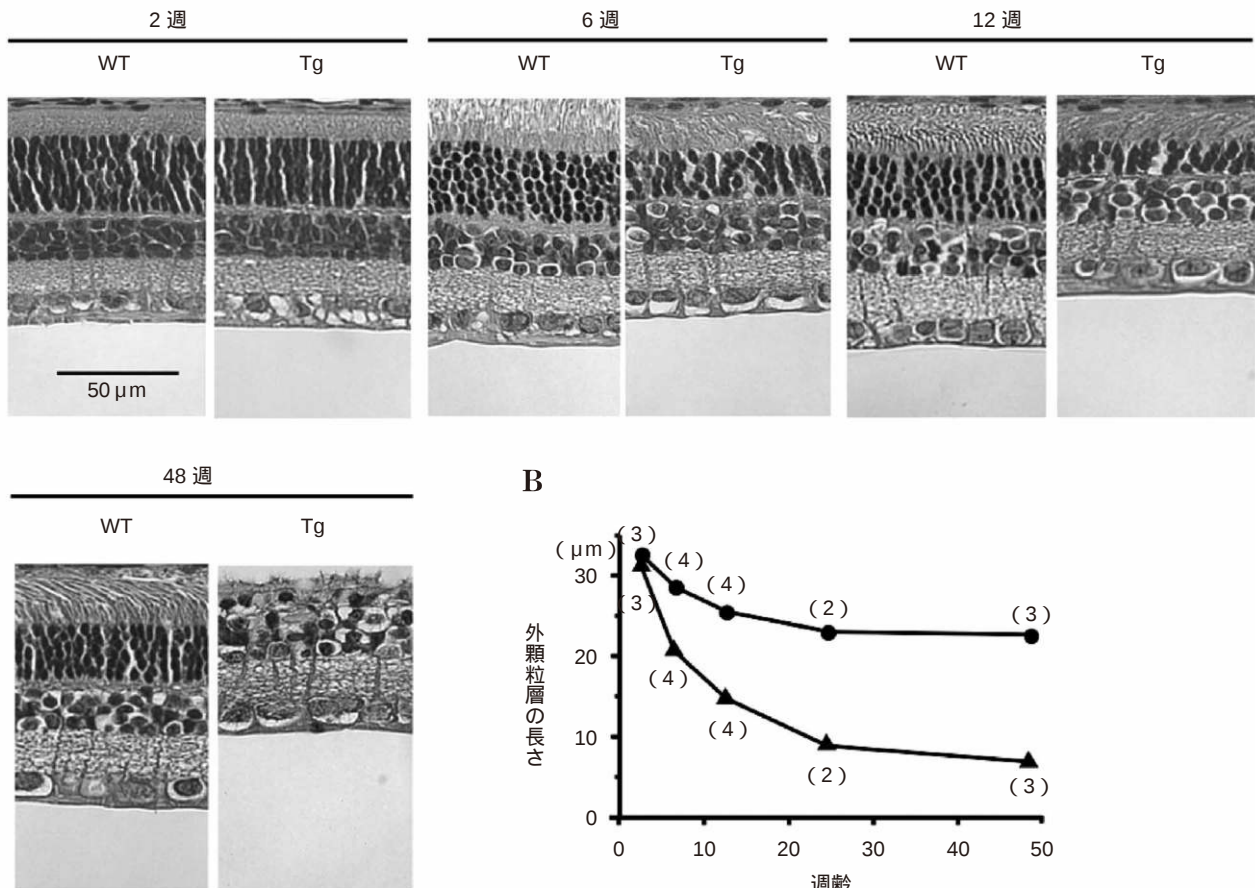


図 14 トランスジェニック(Tg)ウサギ(系統7)網膜の組織学的検査の結果.

A: 野生型(WT)ウサギと Tg ウサギの網膜組織の比較. 生後2週では差はないが, Tg ウサギでは外顆粒層の厚みが徐々に減少し, 12 か月ではほぼ1層にまで減少していた. B: Tg ウサギと WT ウサギの外顆粒層の長さ(μm)の週齢による変化. ●: WT ウサギ, ▲: Tg ウサギ(line #7).

(文献 28 の図を転載, 改変)

として, ウサギにロドプシン遺伝子変異を導入したトランスジェニック(Tg)ウサギ²⁸⁾を作製する試みを行ってきた. 白色ウサギのBAC(bacterial artificial chromosome)遺伝子ライブラリーからロドプシン遺伝子を含むBACを抽出し, BAC相同組換え²⁹⁾によってロドプシン遺伝子の347番目のプロリンをロイシンに置換したP347L transgeneを作製してこれをウサギの受精卵に注入した. このようなBACを用いたTg動物作製技術は, 従来のTg作製技術より成功率が高く, また導入されたコピー数に依存した表現型を示す³⁰⁾ことが知られている. 我々のウサギによる試みでは, 17匹の親ウサギから得られた産仔80匹中12匹がtransgene陽性で, このうち6匹は次世代(F1)もtransgene陽性であった. この6つの系統のうち, 系統7と8での発現量が特に高く(native rhodopsin: transgeneが系統7で1:4, 系統8が1:1), また進行性の網膜変性がみられた. そこで, 発現量の最も高い系統7のTgウサギを主に調査することにした.

眼底検査および蛍光眼底造影検査では, 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. 網膜血管径は野生型ウサギとTgウサギで差はなく, また視神経乳頭の所見や眼底の色調も両者で違いはみられなかった. しかし, 網膜の組織学的検査を行うと, Tgウサギの網膜は進行性の視細胞変性を起こしていることが分かった. ウサギの網膜中心部に相当するvisual streak付近でみると, 生後2週では野生型ウサギとTgウサギで差はないが, 視細胞の核が存在する外顆粒層の厚さはTgウサギで徐々に減少し, 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ることが分かった(図14). さらに, 免疫組織染色による杆体と錐体の比較では, 視細胞の変性は杆体視細胞優位であり, 12か月の段階では杆体はほぼ消失していることが分かった²⁸⁾. さらに, 網膜の部位による変性様式の違いについて調べると, Tgウサギの網膜変性が最も強い部位は, 錐体と杆体の密度が最も高いvisual streak付近であることが分かった.

ERGによる機能評価の結果は組織学的検査の結果とよく一致しており, 進行性に杆体および錐体成分の減弱

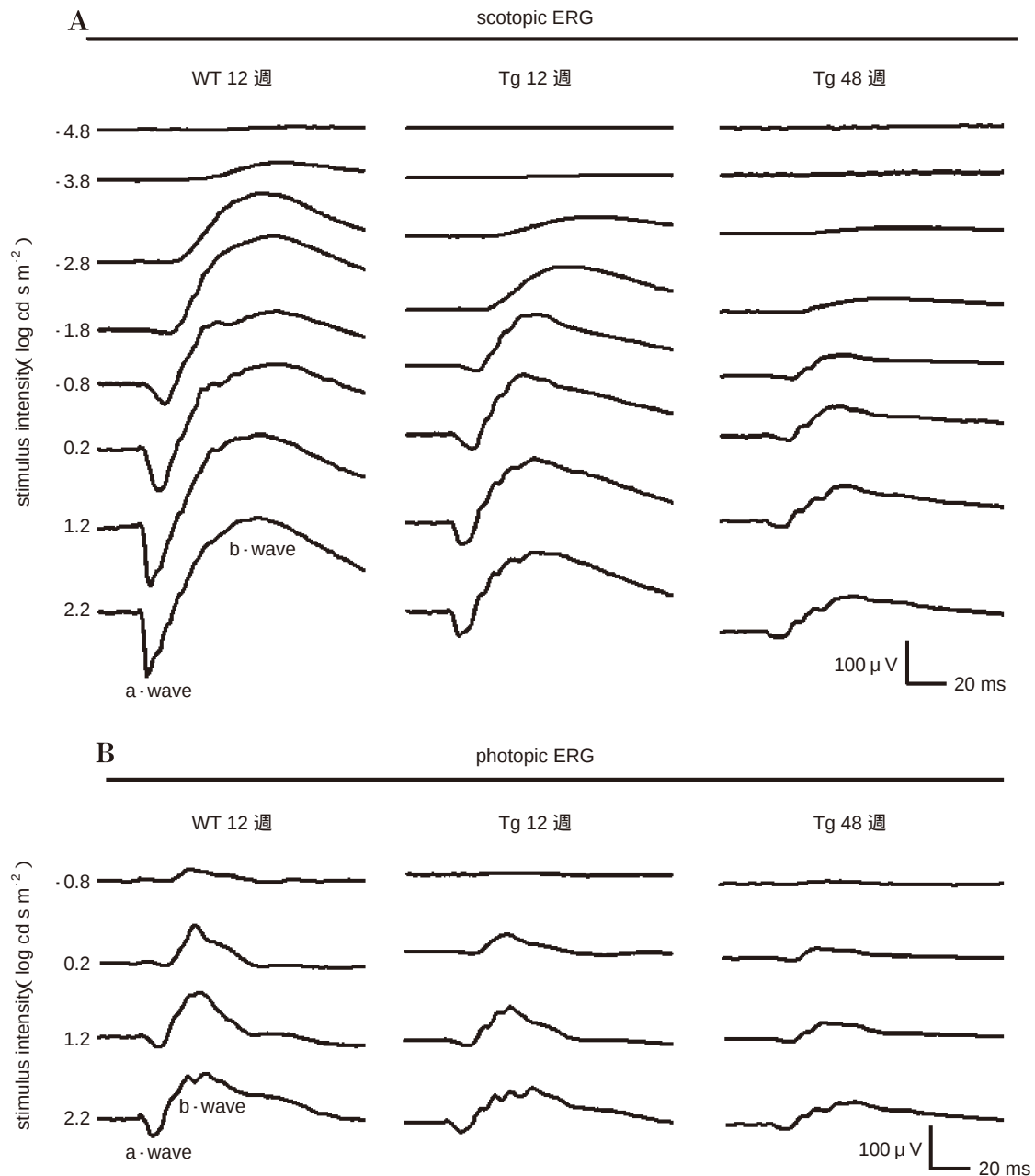


図 15 ERG の結果.

野生型(WT)ウサギと Tg ウサギの 12 週と 48 週の結果. 上段が scotopic ERG, 下段が photopic ERG. 進行性に杆体および錐体成分の減弱がみられた. Tg ウサギでは生後 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野生型の 40% 程度保存されていた.

(文献 28 の図を転載, 改変).

がみられた. ERG の結果でも変性は杆体でより重度であり, Tg ウサギの ERG 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野生型の 40% 程度保存されていた. (図 15).

今回我々が作製した Tg ウサギは, 世界で初めてのウサギにおける網膜変性 Tg 動物の成功例である. これまで網膜変性 Tg 動物は, 哺乳類ではマウス, ラット, ブタのみで成功例があり, 中型～大型動物に限っては, ブタ³¹⁾に次いで世界で 2 例目である. 組織学的検査と ERG の結果では, 我々の Tg ウサギ(系統 7)の網膜変性

は進行性かつ杆体優位であり, 生後 48 週の時点で杆体機能はほぼ消失するものの, この時点で錐体機能はまだ 40% 程度残存していた. このような所見は, 実際のヒトにおけるロドプシン P347L 変異の網膜色素変性患者の視機能³²⁾ともよく類似していた. ウサギの網膜はヒトと異なるいくつかの特徴があるものの, 眼球の大きさがヒトに近く, また扱いやすくおとなしい動物である. そのため, 人工視覚を移植する実験動物として今後広く用いられる可能性があると考えられた. 今後はこの網膜変性動物と比較検討しながら, 疾患に対応したデータを蓄

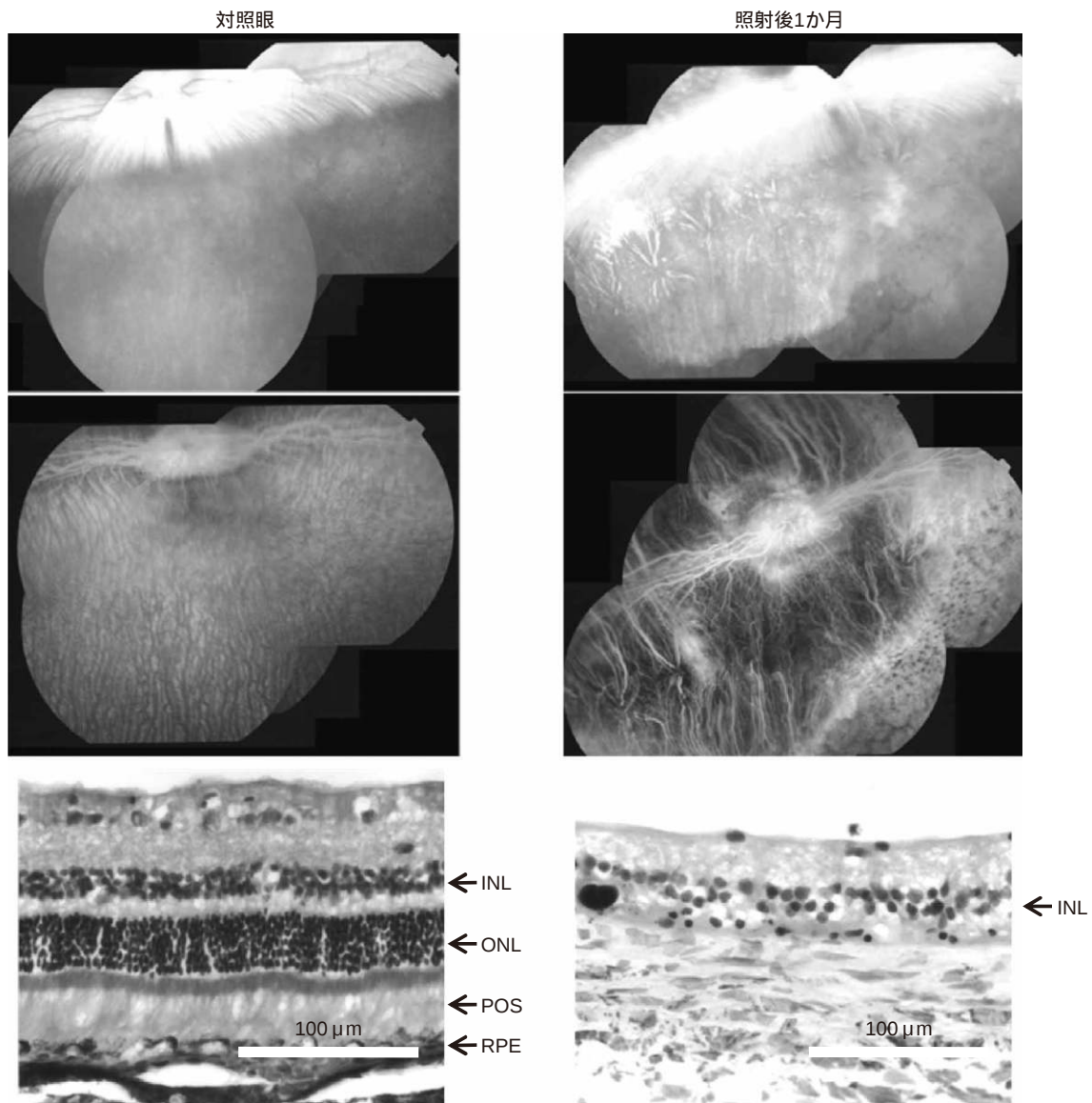


図 16 光線力学による視細胞障害モデル.

照射後 1 か月には広範な網脈絡膜萎縮を認め、蛍光眼底造影では低蛍光を認めた。網膜外層を中心に組織障害がみられるが、網膜内層は比較的温存されていた。
POS：視細胞外節，RPE：網膜色素上皮。

積していくことで、網膜色素変性患者での最適パラメータが決定され则认为している。

2. 光感受性物質による視細胞障害モデル

遺伝子操作を用いたモデルの他に、光感受性物質を用いて視細胞障害モデルを作製した。これは、光感受性物質としてベルテポルフィンを用いた光線力学療法における網膜障害の研究結果に基づいている。高濃度のベルテポルフィンを用い、反復照射を行うと、網膜外層の選択的な障害が生じることが、動物実験で報告されている³³⁾。我々は有色家兎を用い、ベルテポルフィン投与後に赤色光照射を行ったところ、照射後 1 か月には検眼鏡的にも広範な網脈絡膜萎縮を認め、蛍光眼底造影検査では同部位に低蛍光を認めた。障害部位を組織学的に検討した結果、網膜外層を中心に組織障害が起こり、網膜内

層は比較的温存されていることが確認された(図 16)。

このモデルにおいて、照射後 1 か月の全視野 ERG を計測したところ、a, b 波とも照射前と比べて半分程度の減弱にとどまったが、障害部位の局所 ERG は消失していた(図 17)。このことは、障害部位では視細胞機能が失われているので局所 ERG が平坦であったが、障害部位の周囲に正常網膜が残存しているので、全視野 ERG は減弱しながらも記録可能であったと解釈できる。そして、網膜障害部位に相当する強膜部位にポケットを作製し、直径 0.5 mm の弾丸形状の Pt 刺激電極を埋植して、STS 方式の網膜電気刺激を行うと、大脳皮質視覚野で EEP を記録することができた(図 18)。このことから、網膜変性部位に STS 方式の電極を埋植することで、刺激パルスパラメータ検討に有用である可能性が示

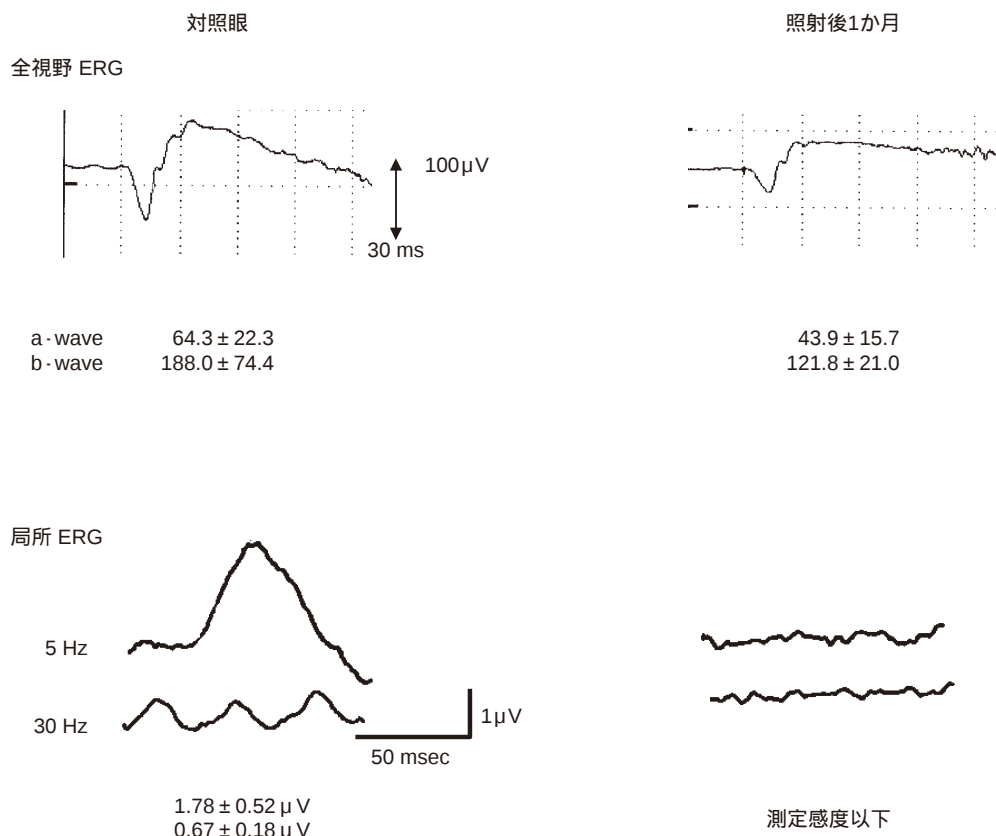


図 17 光線力学視細胞障害モデルにおける ERG.

全視野 ERG では a, b 波とも照射前と比べて半分程度の減弱にとどまったが、障害部位の局所 ERG は消失していた。

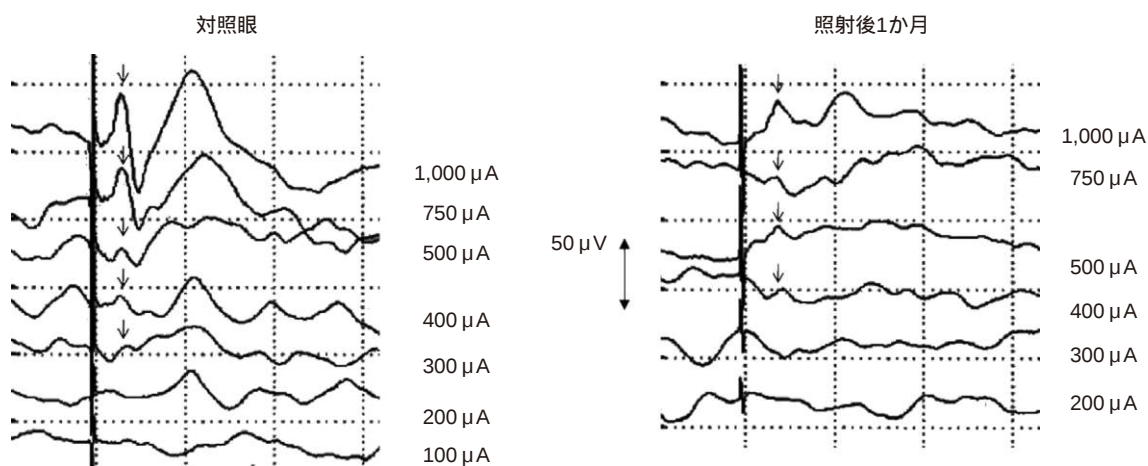


図 18 光線力学視細胞障害モデルにおける EEP.

網膜障害部位に STS 方式の網膜電気刺激を行うと、EEP を記録することができた。

唆された。

V STS 方式人工網膜臨床試験

1. 網膜変性症患者における残存網膜機能評価

人工視覚システムの適応は、当面、光覚弁か手動弁になってから長期間の経過している症例となるが、そのような進行例では、部位によっては刺激の標的となる網膜

神経節細胞や双極細胞の数が大幅に減少している可能性がある。すなわち、部位によるばらつきがあると予想され、刺激電極の埋植部位は少しでも残存細胞数の多い部位を選択するのが効率的と考えられる。そこで、経角膜的に網膜電気刺激することにより誘発されるフォスフェンと縮瞳反応を用いて網膜色素変性患者の網膜内層機能を評価した。網膜色素変性症例 20 例 20 眼と健常者 8 例

8 眼を対象とし、被験者の片眼に点眼麻酔をした後、ビュリアンアレン型コンタクトレンズ電極を装着し電気刺激を行った。刺激条件は、二相矩形波でパルス幅 10 ms/phase, 20 Hz, 刺激時間 1 秒とし電流強度を 50 μ A から最大 2 mA まで変化させた。最初にフォスフェンを生じる電流閾値を T1, 中心視野にフォスフェンを生じる閾値を T2, 元の瞳孔径より瞳孔径が 3% 以上縮瞳する電流閾値を P とし、この 3 つの電流閾値を健常者群と患者群で比較検討した。また、フォスフェンの電流閾値と視力との関連を検討した。結果は、3 つのパラメータとも健常者と比べて患者群で有意に閾値が上昇していた(図 19)。T1 と T2 は視力と関連を示さなかった(図 20)。この結果から患者の網膜内層機能がどの程度残存

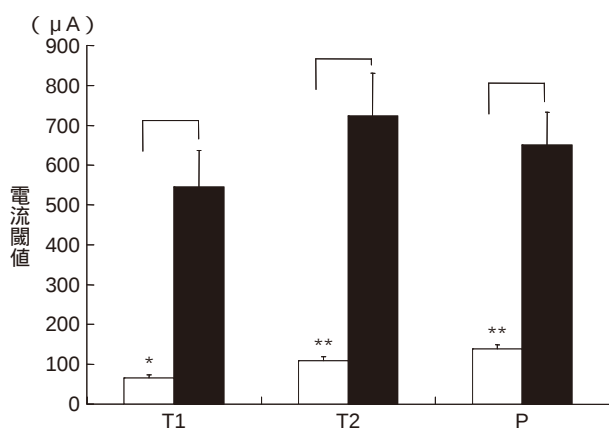


図 19 フォスフェン誘発と瞳孔反応誘発の電流閾値。周辺部および中心視野にフォスフェンを生じる電流閾値 (T1, T2), 縮瞳する電流閾値(P)は、すべて患者群で有意に上昇していた。□: 健常者, ■: 患者。*: $p < 0.005$, **: $p < 0.001$; t-test.

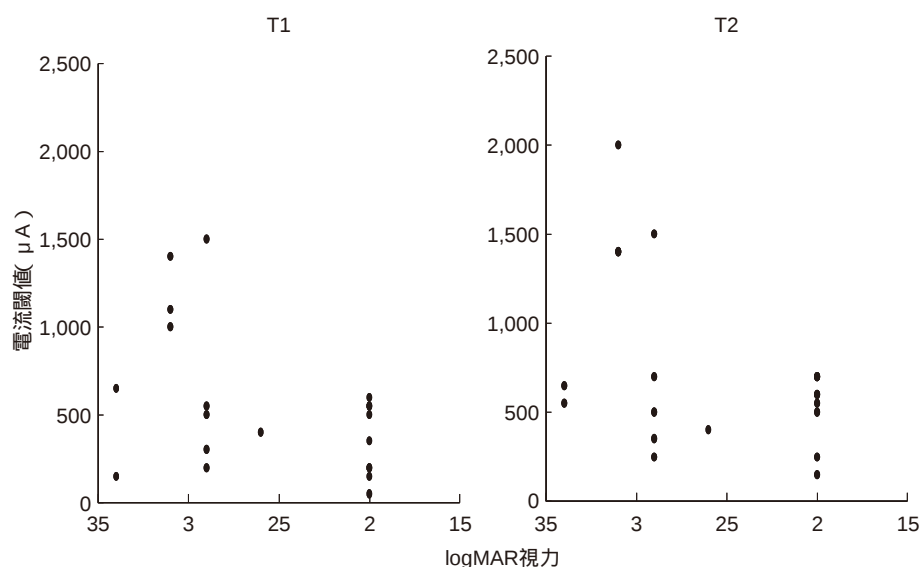


図 20 フォスフェンの閾値と視力の関係。フォスフェンの閾値と視力は関連を示さなかった。logMAR: logarithmic Minimum Angle of Resolution

しているかは視力検査だけでは正確に評価するのは困難であり、経角膜電気刺激検査は視力視野検査とは異なる観点から残存網膜機能を評価する方法として有用であると考えられた³⁴⁾。

2. 晴眼者での STS 方式人工視覚シミュレーション

網膜色素変性患者への STS 方式人工視覚の臨床試験に向けて、どの程度の電流強度、パルス幅、刺激周波数が適切であるか調べる必要があった。そこで、STS 方式人工視覚に近い経強膜電気刺激を晴眼者(6 例 6 眼)に行い、誘発されるフォスフェンが電気刺激の刺激条件によってどのように変化するか検討した。方法は、強膜電極を角膜輪部から耳側 18 mm 付近に結膜上から強膜を刺激電極で圧迫し、手首に参照電極を設置しその間で電気刺激を行った。刺激条件として、二相矩形波で、電流強度を 1 mA に固定し、パルス幅(0.5~4 ms)、周波数(5~100 Hz)、刺激パルス数(1~50 発)、インターパルス(0~4 ms)をそれぞれ変化させ、フォスフェンの明るさを点数化して比較検討した。結果、パルス幅が短いほど明るく感じ(図 21 A)、刺激頻度は、20~50 Hz で明るく(図 21 B)、インターパルスは、ある方が明るく(図 21 C)、パルス数は 20 パルス以上あると明るく感じる(図 21 D)ことが分かった³⁵⁾。この結果から、STS 人工視覚臨床試験での刺激条件をパルス幅 0.5~1 ms、インターパルス 0.5 ms 以上、刺激頻度 20~50 Hz、刺激パルス数 10 パルス以上で施行するのがよいと考えられた。今回は健常者ボランティアで検討を行ってきたが、今後は前述のような動物モデルで変性網膜における最適パラメータを検討していく必要がある。

3. STS 方式急性臨床試験

実験動物に対する STS 電極の慢性埋め込み実験で中

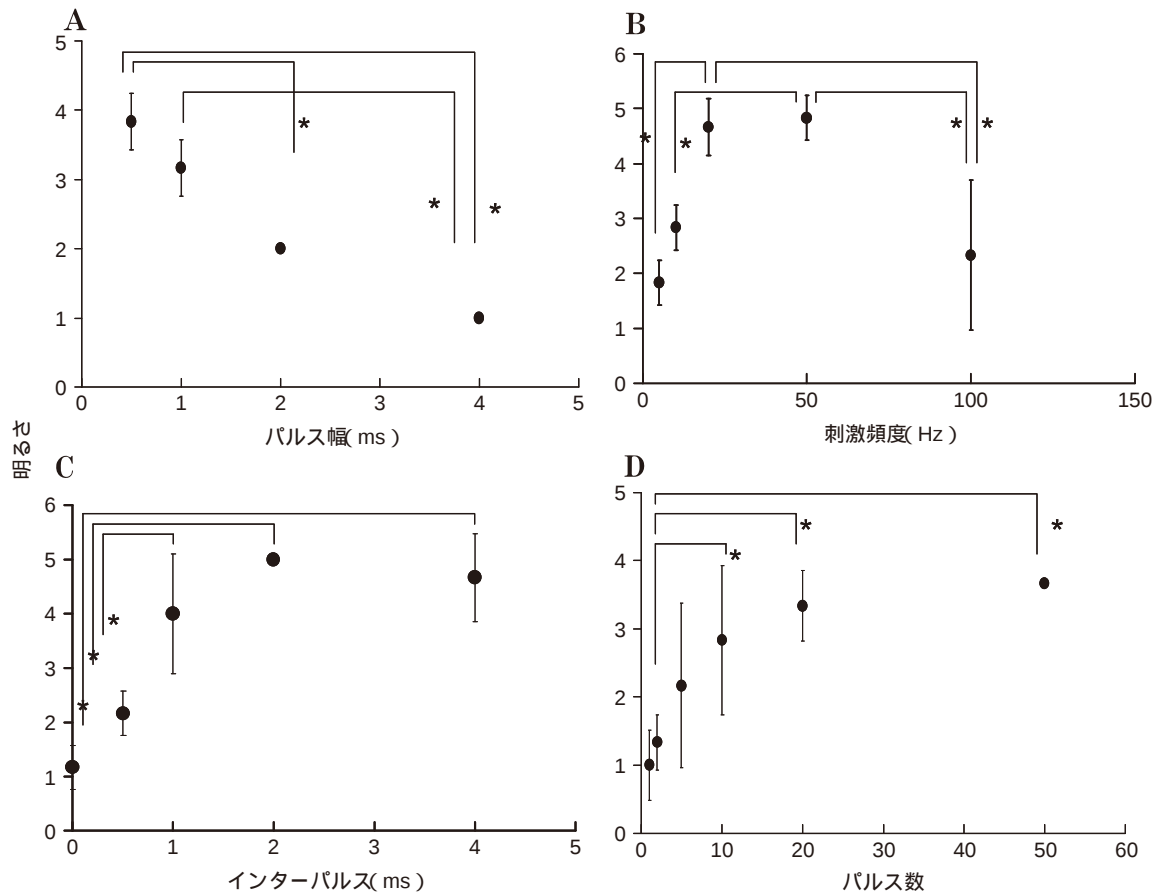


図 21 晴眼者での STS 刺激条件による明るさの変化。

A：パルス幅と明るさの変化，B：刺激頻度と明るさの変化，C：インターバルと明るさの変化，D：パルス数と明るさの変化。*： $p < 0.05$ 。

期的安全性を確認し，空間分解能評価で指数弁 ~ 0.01 程度に相当する分解能を得られることが推定されたことから，ヒトの急性臨床試験を行った。大阪大学医学部学内倫理委員会の承認を経て，網膜色素変性進行例のボランティア 2 名に対して 9 極電極を有する脈絡膜上経網膜刺激電極を用いた STS 方式急性臨床試験を行った。電極径 0.2 mm，電極間距離 0.8 mm のユニークメディカル製 9 ch 白金電極を刺激電極として用いた。参照電極は直径 0.1 mm の白金線をを用い，毛様体扁平部から刺入して先端を硝子体腔内に留置した。電極埋植手術と刺激試験は，2% リドカインによる顔面神経ブロックと 2% リドカイン点眼麻酔を基本に行い，1 例目の終了間際に軽微な疼痛の訴えがあったため 0.005% クエン酸フェンタニル注射液を併用した。

埋植手術は，結膜を約 200° 切開し，外直筋を切腱した後，下斜筋を露出した。プローブ型モノポーラー電極を下斜筋の後極側に挿入し，経強膜的に刺激してフォスフェンの得られる電流閾値の小さい部位を探索した。その際，参照電極は掌に設置した。低閾値領域を確認した後，その部位に強膜半層切開を加え，STS 電極を挿入するための 5×5 mm 強膜ポケットを作製した。強膜ポケット前方縁に電極固定用の 5-0 ダクロン糸を仮結紮し

た。角膜輪部の後方 4 mm の位置に，白金線硝子体電極（直径 0.1 mm）を設置した。9 極電極 (4×5 mm) を強膜ポケット内に挿入し，ケーブルを縫合固定した。

刺激パルスパラメータは，cathodic first の二相矩形波，パルス幅 0.5 ms もしくは 1.0 ms，インターバル 0.5 ms，周波数 20 Hz，パルス数 20 発，電流値は 0.3 から 1.0 mA の間で変化させた。症例 1 は 65 歳男性で，視力は両眼とも辛うじて光覚弁であった。試験前に，上記 V. 1 で述べた経角膜電気刺激による残存網膜機能評価を行ったところ，右眼の最初のフォスフェンの電流閾値は 0.4 mA で，中心フォスフェンの電流閾値も 0.9 mA であった。この症例の右眼に対し STS 方式の網膜電気刺激を行った結果，閾値電流 0.3 ないし 0.5 mA で，大きさの異なるフォスフェンを自覚だけでなく，隣接する 2 極の同時刺激で明確に位置の異なる 2 つのフォスフェンの自覚が得られ，しかも直交する 2 点刺激で刺激方向の違いを指摘できた。症例 2 は 65 歳女性で，左眼視力は 0，右眼視力は辛うじて光覚弁であった。試験前の経角膜電気刺激による残存網膜機能評価では，右眼の最初のフォスフェンの電流閾値は 1.1 mA で，中心フォスフェンの電流閾値も 1.1 mA であった。右眼に対し STS 方式の網膜電気刺激を行った

ところ、閾値電流値は1例目よりも高く、中心窩近傍のチャンネル1で0.5mA、他の電極では0.7mAでフォスフェンが自覚された。また、刺激閾値が高いにもかかわらず、異なる電極の同時刺激により、時にひょうたん型のフォスフェン、すなわち2点弁別を示唆する結果を得た。2例とも光覚弁になってから10年以上を経過した重症例であったが、限局性のフォスフェンを得ることができ、STS方式で2点弁別が得られる可能性を証明した³⁵⁾。

VI 新しい電極の開発

1. 刺激電極の開発

電極には、生体適合性、耐久性、実用性などを兼ね備

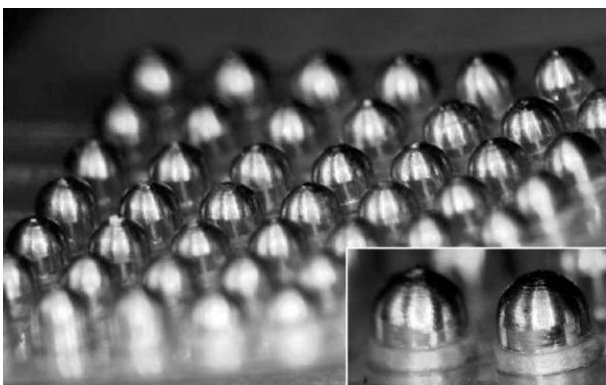


図 22 バルク構造 Pt 電極アレイ。
三次元形状により電極アレイの高信頼性と高密度化(中心間距離 0.7 mm)を両立。

えた特性が必要であり、人工視覚によって得られる像の解像度を上げるために多点電極の製造技術が必要となる。これまでの海外の研究グループは、半導体技術の応用で薄膜電極の作製に成功しているものの、埋植時の電極表面の部分的腐食や剥離などの損傷がみられ信頼性に問題があることが分かった。一方、南カルフォルニア大学での臨床試験で使用された16極刺激電極は薄膜でなくPtバルクを用いており³⁶⁾、良好な耐久性が報告されているが、電極数が少ないという問題があった。そこで我々はPtバルクを用い、かつ多極を有する刺激電極の開発を行った。

まず、切削加工により直径0.5mm、高さ0.5mmの弾丸形状を有するPt電極を形成することに成功した。さらに、この電極を用いて中心間距離0.7mmの高密度に配列させ、パリレン樹脂基板に固定することにより高信頼性を有する49極電極の形成に成功した(図22)。この電極の電荷注入能力を測定したところ、目標値の $0.5 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ を上回る $0.79 \pm 0.1 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ の値が得られた。リン酸緩衝生理食塩水(PBS)中での6か月慢性通電試験、手術を想定した繰り返し曲げ試験、生体内での1か月慢性通電試験のいずれにおいても、良好な耐久性を確認できた。また、生理食塩水中での溶出速度の評価を現在継続中である。

2. 高信頼性ケーブルの開発

人工視覚システムの中で唯一可動部位であるケーブルは特に耐久性が要求される部分である。芯線が単線では強度が低いいためPt-Irの撚り線を製作するプロセスを確

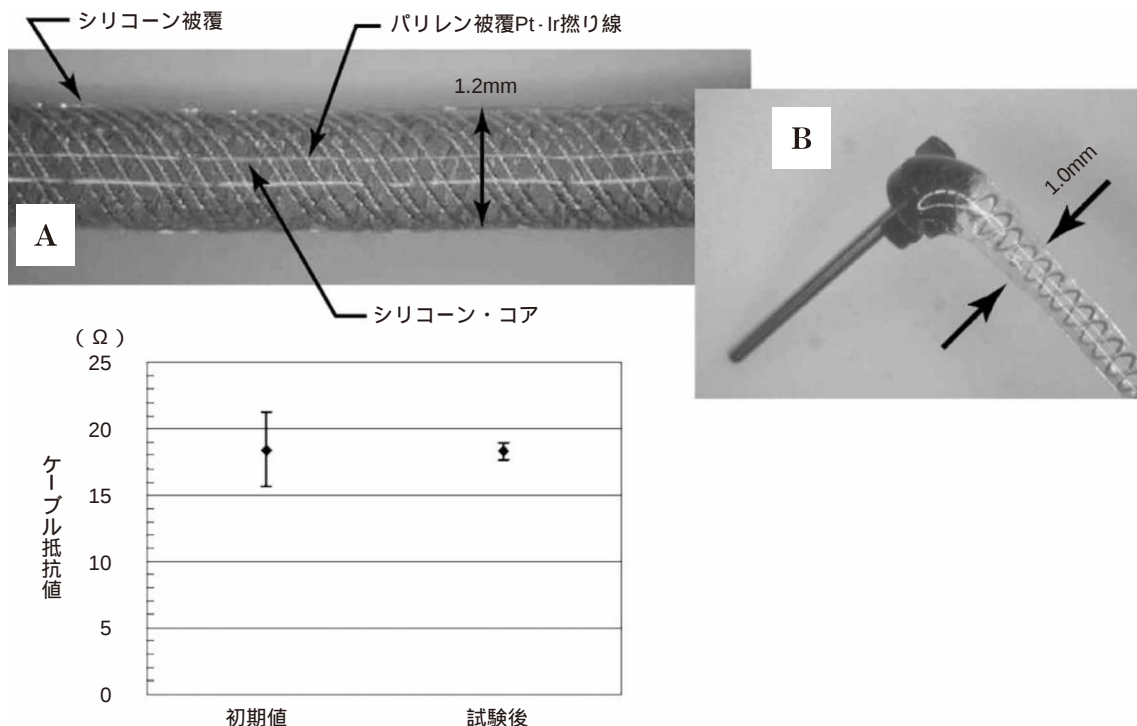


図 23 100万回の繰り返し曲げ試験に合格した高信頼性ケーブル。

A: 刺激電極用ケーブル, B: 硝子体電極と同電極用ケーブル。

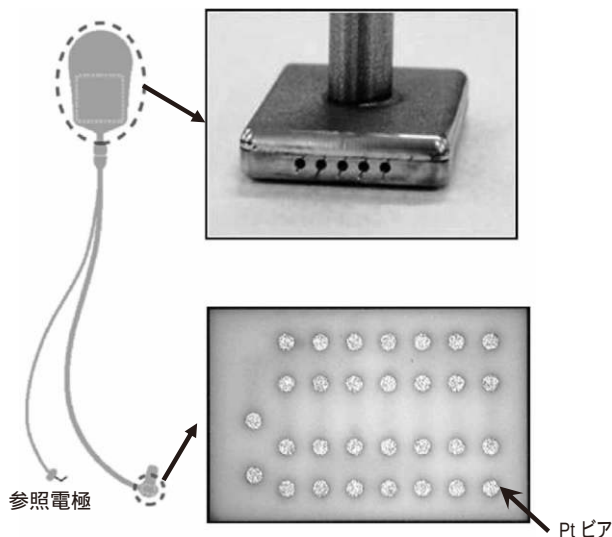


図 24 高信頼性気密ケース.

上：電子回路と外部を遮断する気密ケース．下：マルチプレクサを格納する超小型 IC 用気密パッケージ．

立し芯線強度を確保した．この芯線にパリレン被覆加工を行ったうえでシリコン・コアに螺旋状に均一に巻きつける構造を採用することにより，さらに耐久性を向上させることに成功した．同様に高耐久性を要求されるケーブルとしてペースメーカーの本体と電極を接続するリードが知られているが，その承認基準は 8.2 万回である．今回開発したケーブルは，これを大幅に超える 100 万回の繰り返し曲げ試験に合格した(図 23)．

3. 高信頼性気密ケースの開発

我々の人工視覚システムは，体内装置本体を側頭部の皮下に埋植することを想定しており，電子回路と外部を遮断する気密ケースが必要である．今回開発した気密ケースをヘリウムリーク試験により評価した結果，目標値の $10^{-9} \text{ Pa} \cdot \text{m}^3/\text{sec}$ を上回る $10^{-10} \text{ Pa} \cdot \text{m}^3/\text{sec}$ を達成していることが確認できた(図 24)．また，マルチプレクサを格納する超小型 IC 用気密パッケージについても開発を進めており，これまでに Pt 内部配線および Pt ビア(貫通配線)を有するセラミック基板の試作に成功している．

4. 包埋信頼性の実証

臨床試験を前提に包埋技術の信頼性を系統的に実証している．工業的な評価としては，体内ケース気密性検査技術を確認し評価を行い，非破壊，全数検査や擬似生体環境下での工学的信頼性評価を行っている．また，動物実験については，家兎皮下への長期埋植を行い，体内装置の耐久性を実証した後に大型動物での試験を進めることを予定している．大型動物への長期埋植を通じて，臨床試験を模擬した実験系による信頼性・機能性評価を行う．

5. 分散型 LSI 刺激電極の開発

先の刺激電極の開発と並行して，1,000 点を超えるよ

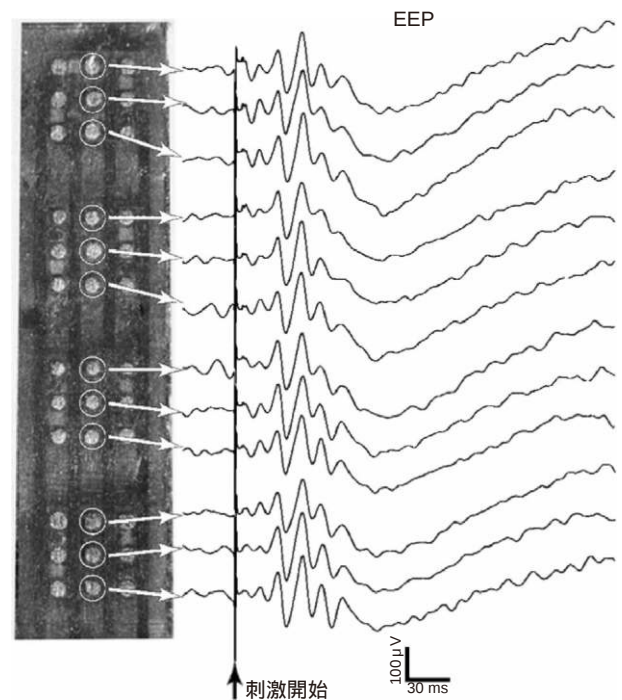


図 25 分散型 LSI 刺激電極.

複数の LSI チップからの電気刺激による明確な EEP の検出に成功．

うな超多点電極を可能とする分散型 LSI 刺激電極の開発を行っている．マイクロノードと呼ぶ大きさ $500 \mu\text{m}$ 角程度の LSI チップを多数配置し，分散的に刺激を行うことができ，以下のような特徴を有する．LSI チップが小型で分散的に配置されているために，電極基板全体が曲がりやすいという機械的柔軟性がある．LSI チップ上に信号処理回路を集積できるためチップ間通信が可能となり，チップ間配線を少なくできる．また，将来的にはルーティング機能を搭載可能であり，仮に故障箇所があれば，自立的にそのノードを回避させることも可能となる．実際に，分散型 LSI 刺激電極を用いて，複数の LSI チップからの電気刺激による明確な EEP の検出に成功した³⁷⁾(図 25)．

6. 柔軟な多点電極の開発

高密度実装化の基盤技術開発を継続し，LSI チップ故障時の生体安全性の確保を目指した．アドレス時のみのパルス給電で動作する回路を開発し，直流リークのリスクを低減させることができた．LSI の水密性向上のための包埋材料や方式の検討も行い，基板材料をポリイミドからパリレンに，裏面保護剤をテフロンからパリレン膜に変更し，配線層を Au または Pt で試作するなどの検討を行い，多角的な材料・方式の検討で，水密性・生体適合性の向上をはかった(図 26)．歩行可能な視野や読書可能な視力は，160 pixel 程度と考えられている．電荷注入能力の高い IrOx の直径 $100 \mu\text{m}$ の電極を $300 \mu\text{m}$ 間隔で 9 個ずつ 12 列並べた電極を 2 個並べて，縦 3

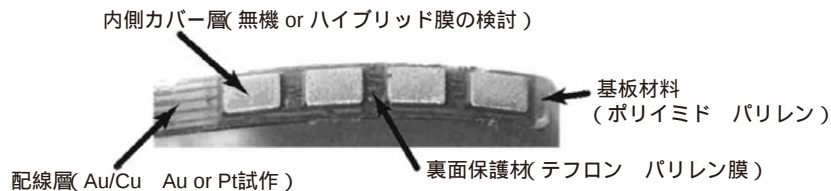
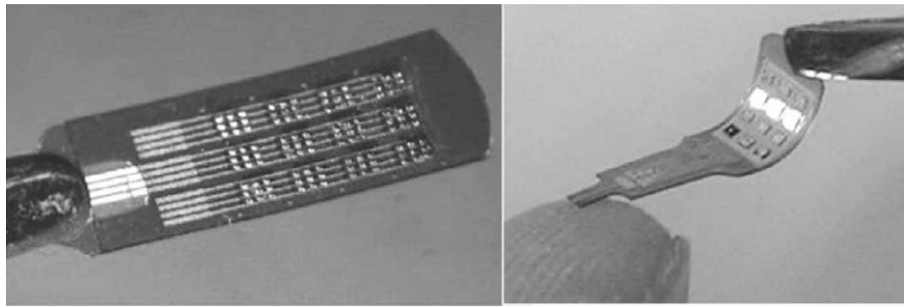


図 26 柔軟な多点電極。

基板材料・裏面保護剤にパリレンを用い、配線層を Au または Pt で試作することで、水密性・生体適合性を向上させた。

mm 横 7 mm の幅で設置したとすると、視角 24° で 160 pixel 以上を実現できる³⁸⁾。

Ⅶ 電気刺激による網膜保護

1. 電気刺激による網膜神経節細胞生存促進効果

電気刺激が網膜組織に対して神経保護的に作用するかどうか検討するため、ラットの視神経切断モデルを用いて、電気刺激の網膜神経節細胞(RGC)に対する生存促進効果について検討した。ラットの視神経切断による RGC の細胞死のモデルは、中枢神経系の神経細胞のアポトーシスによる細胞死の *in vivo* の実験モデルとしてよく用いられており、また、視神経疾患の動物モデルとしてもよく用いられている。ラットの視神経を眼窩内で切断した場合、切断 3 日後から、急速に RGC の細胞死が始まり、1 週間で、RGC の数が元の約半分に、2 週間で約 15% に減少する³⁹⁾。電気刺激の方法はコンタクトレンズ型電極による経角膜電気刺激法(transcorneal electrical stimulation: TES)を用いた。8 週齢のオスの Wistar ラットを用い、ラットの両側上丘にフルオロゴールド(Fluorogold®, Fluorochrome, INC.)を注入して、RGC を逆行性に標識しその 7 日後に視神経を切断した。その直後に、コンタクトレンズ電極を取り付けて電気刺激を行った。電気刺激の条件は二相矩形波で、電流強度 $100 \mu\text{A}$ 、周波数 20 Hz とし、1 時間電気刺激を行った。電気刺激による生存促進効果を検討するため、パルス幅を 0.5, 1, 3 ms/phase に分けて電気刺激を行った。その 1 週後に網膜伸展標本を作製し、蛍光顕微鏡下で網膜神経節細胞の生存率を検討した。結果、視神経切断のみの場合、健常網膜の RGC 像(図 27 A)に比べ RGC の細胞数が減少し、異形な細胞が数多く出現している(図 27

B)。一方、電気刺激を行った網膜では、視神経切断のみの網膜に比べてより多くの RGC が生存していた(図 27 C)。また、生存している RGC の細胞密度を求めて検討した結果、パルス幅すなわち電流量に依存して生存している RGC の細胞密度が変化していた(図 27 D)。このように、電気刺激は軸索を切断された RGC に対する生存促進因子であることが証明された⁴⁰⁾。

2. 経角膜電気刺激網膜神経節細胞保護のメカニズム

TES による RGC の生存促進効果のメカニズムについて検討した。これまでに、神経組織に電気刺激を行うと、神経栄養因子の一つである brain-derived neurotrophic factor (BDNF) の mRNA やその受容体である TrkB の mRNA の発現が上昇することが報告されている⁴¹⁾。このような事実から網膜を電気刺激しても、同様に、網膜に神経栄養因子やその受容体の発現が上昇するのではないかと考えられた。そこで RGC に対して神経保護効果のある 4 つの主要な神経栄養因子とその受容体の mRNA (BDNF, TrkB, bFGF, FGFR-1, CNTF, CNTF-R, IGF-1, IGF-1 R)のうち、TES によって生じる mRNA 発現の変化について reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)を用いて検討した。方法は、視神経を切断せずにラットの眼に対して TES を行い、TES 1 日後から 7 日後までの網膜を摘出し、RT-PCR を行い検討した。その結果、insulin like growth factor-1 (IGF-1) の mRNA の発現のみが電気刺激後に網膜内で徐々に上昇した(図 28)。

IGF-1 の網膜内での発現部位について抗 IGF-1 抗体を用いて免疫組織染色を行った。その結果、通常の網膜では IGF-1 蛋白質は内境界膜付近に強く発現しているが、電気刺激後に RGC 層、内網状層へと IGF-1 の発現の分

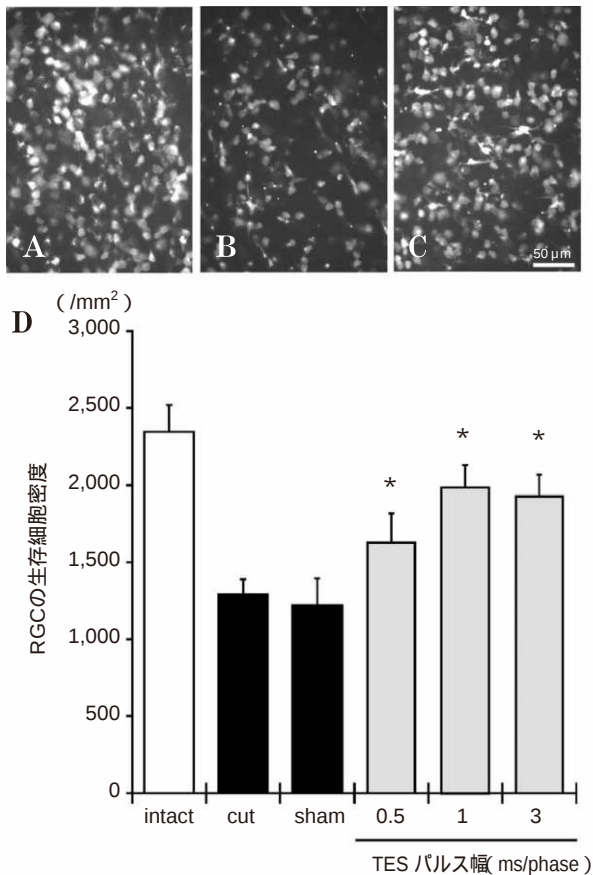


図 27 電気刺激による網膜神経節細胞 (RGC) に対する神経保護効果.

A: 健常網膜の RGC 像. B, C: 視神経切断 7 日後の RGC 像 [B: Sham 刺激, C: 経角膜電気刺激 (TES)]. D: TES のパルス幅による RGC の神経保護効果の変化.

布が拡大し、発現量も増え、14 日後まで発現が持続した (図 29 A~E). さらに、抗 IGF-1 抗体および網膜 Müller 細胞を標識する抗 glutamine synthetase (GS) 抗体を用いて二重染色を行ったところ、通常の網膜では IGF-1 は、Müller 細胞のエンドフットに存在し (図 29 F~H)、電気刺激 7 日後では、Müller 細胞周囲と Müller 細胞のエンドフットから細胞体まで強く発現していた (図 29 I~K). この結果から、Müller 細胞が IGF-1 の合成分泌に関与し、TES によって Müller 細胞からの IGF-1 の産生が増強していることが強く示唆された.

電気刺激による神経保護効果に IGF-1 がどの程度関与しているのか IGF-1 受容体のアンタゴニストである JB-3⁴²⁾ を用いて IGF-1 の抑制試験を行った. 視神経を切断し電気刺激を行った後、PBS, JB-3 (10 μ g/kg), JB-3 (100 μ g/kg) をそれぞれ腹腔内に毎日投与し、7 日後に生存 RGC の細胞密度を比較した. 結果、JB-3 (10 μ g/kg) を投与した群では、PBS 投与群とほぼ同じ RGC の生存率であったが、JB-3 (100 μ g/kg) 投与群では、生存率が 60% にまで減少した. 一方、視神経切断のみの群では、JB-3 (100 μ g/kg) を投与しても、視神経切断のみの群と生存率は変わらなかった (図 30). このように、JB-3 (100 μ g/kg) によって、TES による RGC の生存促進効果が抑制されたことから、電気刺激によって網膜内で発現が上昇した IGF-1 が TES の神経保護効果に重要な役割をもつことが分かった. このように、TES は、Müller 細胞を賦活し IGF-1 の産生を通して RGC に対して神経保護的に働いていると考えられた⁴⁰⁾.

3. 経角膜電気刺激の視細胞保護効果

TES は RGC に対する神経保護効果だけでなく、他の

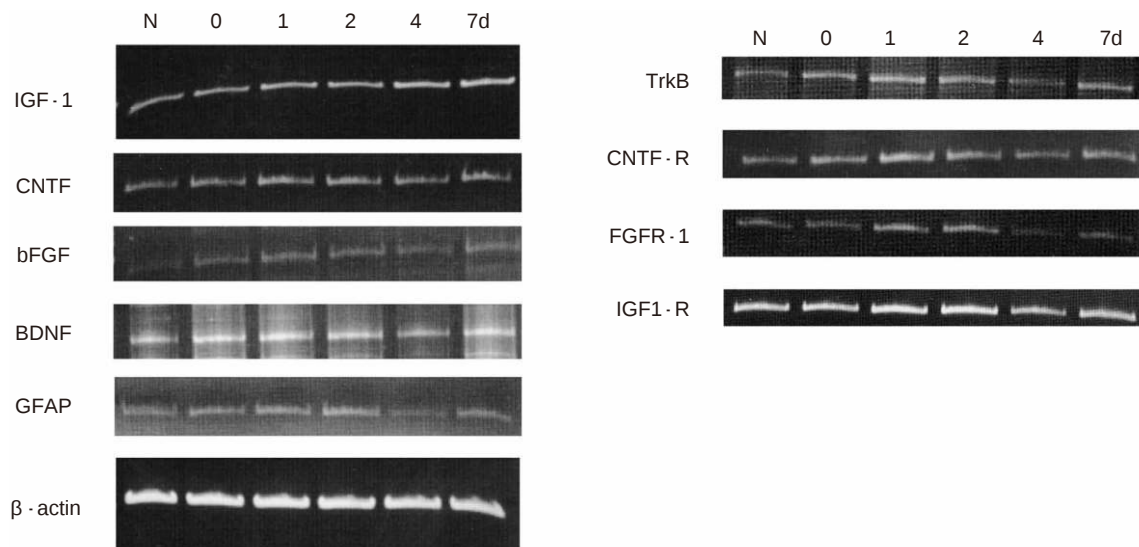


図 28 経角膜電気刺激 (TES) 後の神経栄養因子とその受容体の mRNA の網膜内の発現の変化.

TES により、網膜内の IGF-1 発現上昇がみられた.

IGF-1: insulin like growth factor-1, CNTF: ciliary neurotrophic factor, bFGF: basic fibroblast growth factor, BDNF: brain-derived neurotrophic factor, GFAP: glial fibrillary acidic protein, CNTF-R: CNTF 受容体, FGFR-1: FGF 受容体 1, IGF 1-R: IGF-1 受容体.

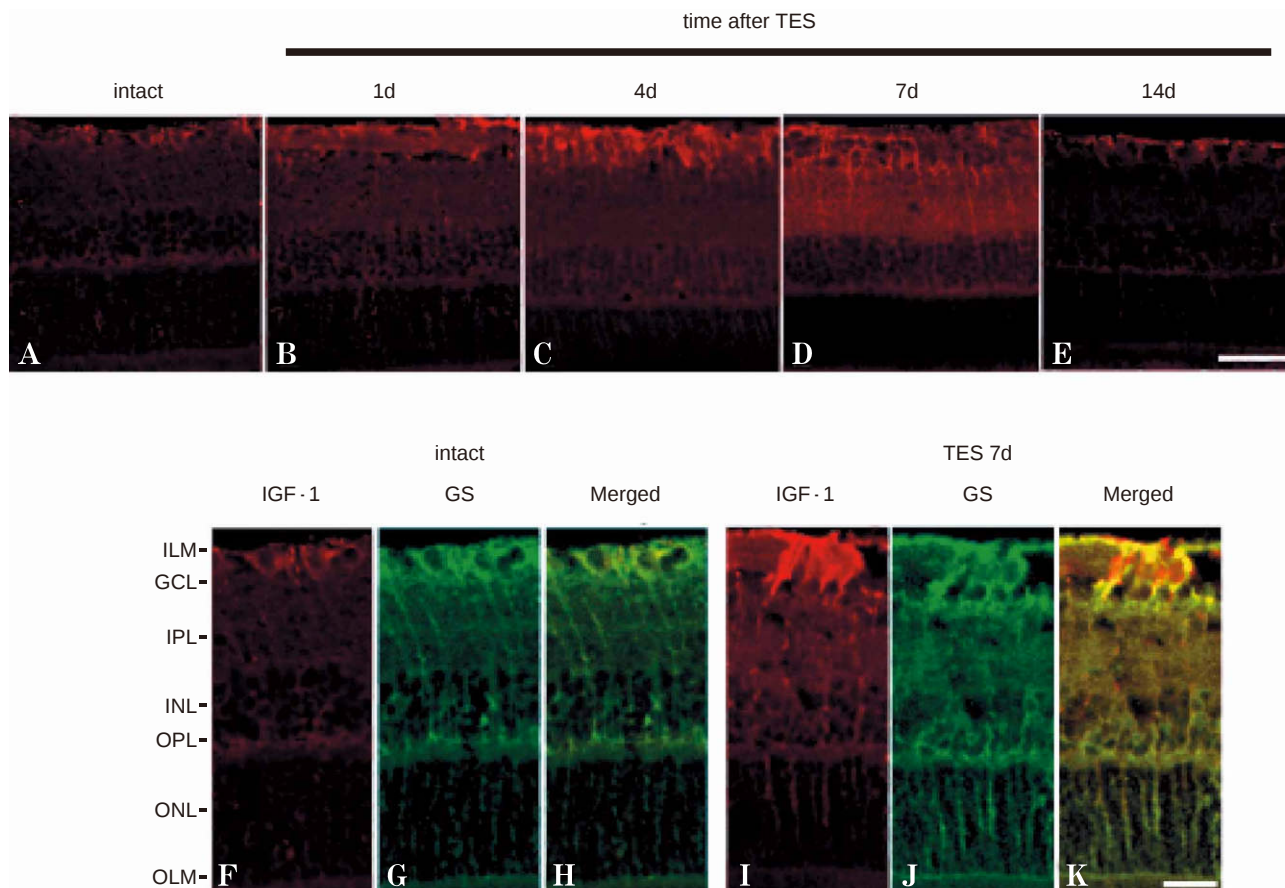


図 29 網膜電気刺激による IGF-1 の局在の変化.

通常内境界膜付近に強く発現している IGF-1 は、電気刺激後に RGC 層、内網状層へと分布が拡大し、14 日後まで発現が持続した(A~E)。通常は Müller 細胞のエンドフットに存在している (F~H) が、電気刺激により Müller 細胞周囲と Müller 細胞のエンドフットから細胞体まで強く発現していた (I~K)。GS : glutamine synthetase (Müller 細胞の標識), Merged : IGF-1 像と GS 像の重ね合わせ。ILM : 内境界膜, GCL : 網膜神経節細胞層, OPL : 外網状層, OLM : 外境界膜。Scale bar : A~E 100 μm , F~K 50 μm 。

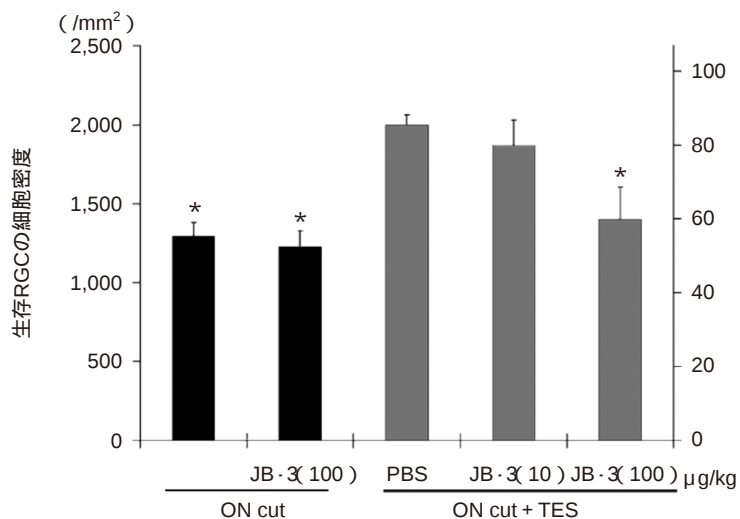


図 30 IGF-1 のアンタゴニストを用いた TES の神経保護効果の抑制効果.

視神経切断(on cut), 電気刺激(TES)後に, IGF-1 受容体拮抗剤 JB-3 により IGF-1 作用を抑制すると, 生存率が減少した。PBS : リン酸緩衝生理食塩水。

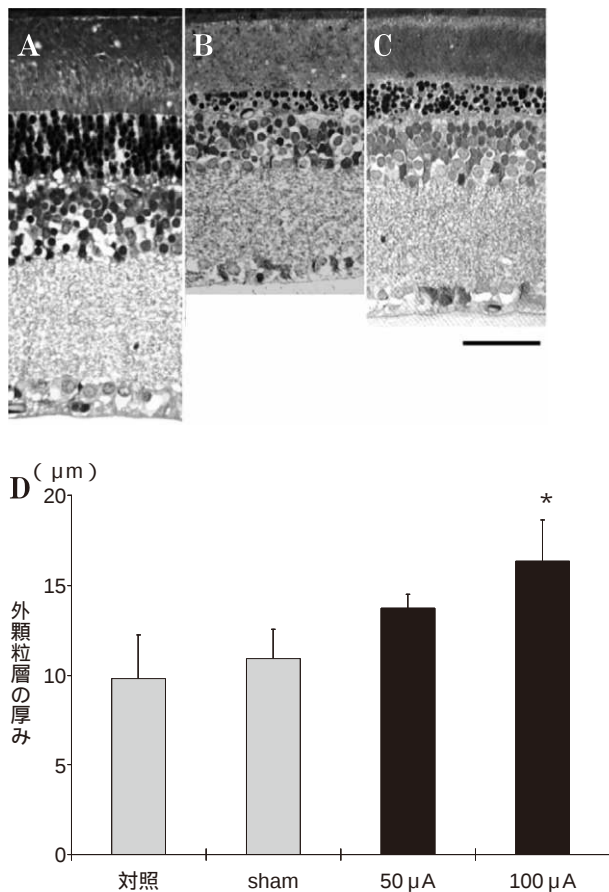


図 31 電気刺激による視細胞保護効果.

A : 3 週齢の RCS ラットの網膜組織像, B : Sham 刺激を行った 7 週齢の RCS ラットの網膜組織像, C : TES を行った 7 週齢の RCS ラットの網膜組織像. Scale bar = 50 μm . D : TES による視細胞保護効果. $p < 0.05$.

網膜細胞についても神経保護効果を有する可能性がある. そこで視細胞に対する神経保護効果を調べるため網膜色素変性の動物モデルである RCS ラットを用いて検討した. 3 週齢の RCS ラットの左眼に TES を行った (二相矩形波, 100 μA , 周波数 40 Hz, パルス幅 1 ms/phase, 1 時間). TES は 7 日ごとに行い 7 週齢で RCS ラットの ERG を測定しその後眼球を取り出しエポキシ樹脂で包埋し網膜切片を作製し, トルイジンブルー染色を行った. 作製した網膜切片を組織学的に検討し, 視細胞の核が集まる外顆粒層の厚みを測定した. 結果, 3 週齢の RCS ラットの網膜の外顆粒層の核が 8, 9 列あるのに比べ 7 週齢の網膜の外顆粒層の核は 2, 3 列に減少していた (図 31 A, B). 一方, TES を行った網膜の視細胞層は, 5, 6 列残っていた (図 31 C). また, 外顆粒層の厚みを比較したところ, sham 刺激群と比べ有意に網膜厚は厚く保たれていた ($p < 0.05$) (図 31 D). ERG の結果は, sham 刺激を行った 7 週齢の RCS ラットの ERG は 3 週齢の RCS ラットの ERG と比較してかなり低下していた (図 32 A, C), 一方, TES を行った 7 週齢の RCS ラットの ERG は 3 週齢の RCS ラットの ERG

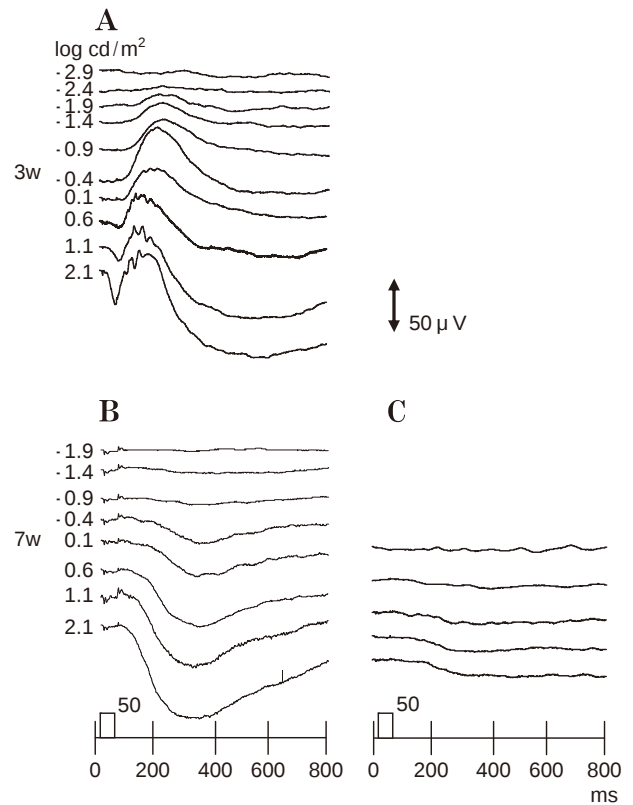


図 32 RCS ラットの ERG.

A : 3 週齢の RCS ラットの ERG, B : TES を行った RCS ラットの ERG, C : Sham 刺激を行った RCS ラットの ERG.

と比べると低下しているが sham 刺激群に比べ光に対する反応ははるかに良かった (図 32 B). これらの結果から TES は RCS ラットの視細胞の変性の進行や網膜機能の低下を遅延させることから TES は視細胞に対しても神経保護効果があることが証明された⁴³⁾.

VIII 視神経刺激方式

我々は, 視神経を直接電気刺激することにより, 人工的に視覚を得ようとする試みも実施している (artificial vision by direct optic nerve electrode : AVDONE). ベルギーの研究グループにおいては, 実際に網膜色素変性で光覚のなくなった患者の眼球後方の視神経に対してカフ型電極を埋植し人工視覚を得ることに成功している¹⁶⁾¹⁷⁾. 視神経周囲に設置された電極は 4 極ではあるが, 訓練により 3 極になった後も, システムを作動させることにより, 患者は U 字, L 字などの文字の識別が可能である. 同じ電極からの電気刺激といっても, 電気刺激の, 電流値, 周波数などのパラメータを変化させることにより患者の感じるフォスフェンの位置が移動することが分かっており, まずそれぞれの電極をそれぞれのパラメータの電流で刺激した場合, 視野のどこにフォスフェンを感じるかというフォスフェンの地図を作成する (図 33). 実際に“見る”ときには, CCD カメラからの



図 33 フォスフェン地図による再構成.

個々の電極を異なるパラメータの電流で刺激した場合、視野のどこにフォスフェンを感じるかというフォスフェンの地図.

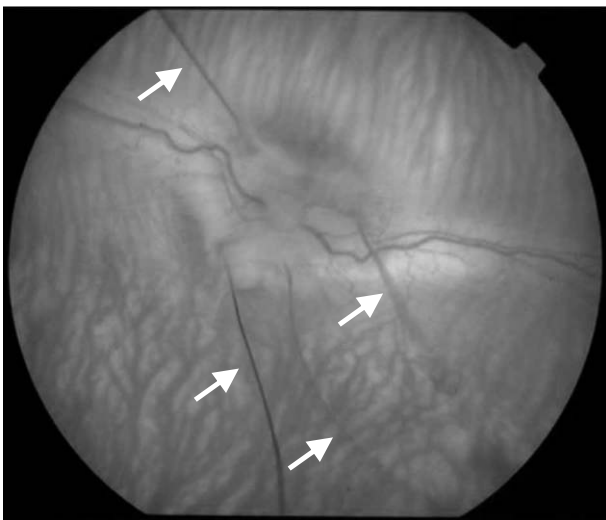


図 34 視神経刺激電極(矢印).
白金線電極を視神経乳頭に直接刺入する.

画像情報をコンピュータで解析し、画像に相当する一連のフォスフェンが得られるような電気刺激を連続的に発生させることにより、患者は画像を把握できる、というものである。彼らのシステムでは電極埋植に脳外科的な手術が必要であり、致命的な合併症が憂慮された。我々は脳外科的な手術を用いず、経硝子体的に視神経乳頭に電極を埋植し、人工視覚を得る方法を開発中である。

まず、家兎を用いた急性、慢性実験を通じて、このシステムの有効性、安全性を確認した^{44)~46)}。実験では、経硝子体的に最小直径 $50\mu\text{m}$ の白金線電極を視神経乳頭に直接刺入する術式を開発し(図 34)、経過観察中の電気生理的变化および経過観察終了時、組織学的な検討を施行した。急性実験および 6 か月の慢性実験経過観察中、埋植された電極を介した電気刺激により、大脳皮質において EEP を得、ERG にも著明な問題がないことを示し(図 35)、組織学的にも電極周囲の線維化以外は著

明な異常を認めなかった。

動物実験の結果を踏まえた次の段階として、我々は、実際に視覚を失った網膜色素変性患者に対する亜急性臨床試験を施行した。倫理委員会の承認、およびインフォームドコンセントを取得したのち、全身麻酔下にて電極埋植手術を施行した。硝子体手術を施行した後、眼球周囲に白金線を固定し、角膜輪部から 3.5 mm の位置に設けた強膜切開創より、経硝子体的に直径 $50\mu\text{m}$ の白金線電極を 3 本、および参照電極を挿入した。視神経乳頭には、硝子体鑷子で電極を 1 本ずつ埋植した。電極埋植翌日、6 か月後に、それらの電極を通じて電気刺激試験を施行し、フォスフェンが得られるか否かを確認した。刺激電流には、パルス幅 0.25 ms 、周波数 320 Hz の二相波刺激を用いた。また、得られたフォスフェンについては、その位置、大きさ、形、色について質問し、返答を記録し、分析した。埋植翌日は、自発フォスフェンと電気刺激によるフォスフェンの違いが分かりにくかったようで、正確な応答を得られなかったが、6 か月後には自発フォスフェンとの違いも分かり、正確な応答を得た(図 36)。それぞれのフォスフェンを生じる電流閾値は $30, 50, 70\mu\text{A}$ であり、その大きさはそれぞれ、豆粒大からりんご大、マッチ棒先からりんご大、豆粒大から野球ボール大であり、電流を大きくすると有意にフォスフェンの大きさも大きくなっていった。また、フォスフェンの色調はほとんどが黄色であり、その他に白色の応答が得られた。形状は円形、楕円形、線状などがみられた。フォスフェン中心の位置を解析したところ、それぞれの電極を介したフォスフェンは局在していることが示された。6 か月の経過観察中、網膜剝離、眼内炎などの合併症は認めなかった。以上の結果より、当システムは人工視覚として有用であると考えられ、今後、より多数例の患者に対して臨床試験を施行し、また、長期慢性臨床試験を施行することにより実際のトータルシステ

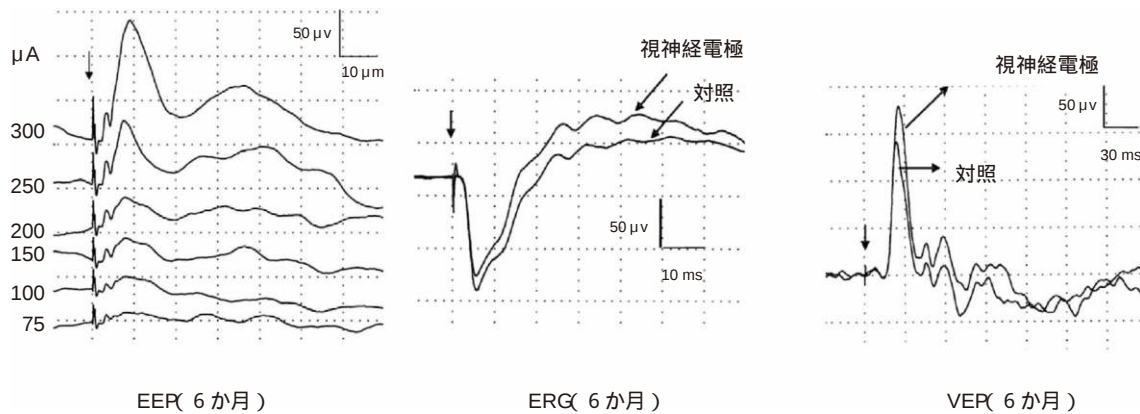


図 35 視神経刺激電極による慢性実験.

埋植された電極を介した電気刺激により、EEP を得、ERG、VEP にも変化を来さなかった。

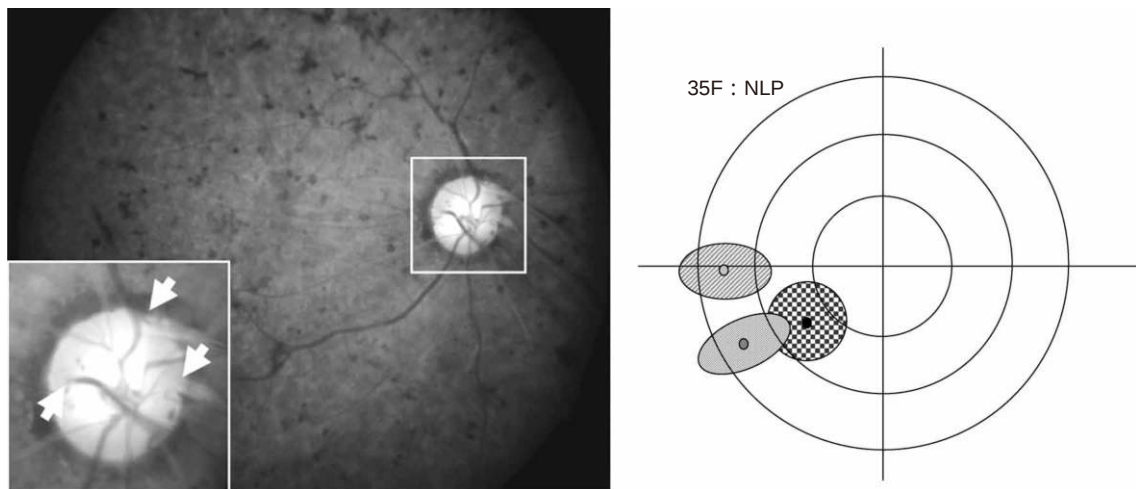


図 36 視力喪失例のフォスフェン地図.

マッチ棒先からりんご大のフォスフェンが自覚され、色調はほとんどが黄色であり、形状は円形、楕円形、線状などがみられた。

ムとしての完成を目指す予定である。

IX 経頭蓋磁気刺激(transcranial magnetic stimulation : TMS)

大脳皮質刺激型電極は開頭手術を要し、てんかんや感染症といった重篤な合併症の発生率が他の方式に比して高いことが大きな問題点であるとされている。そこで、外科的侵襲を加えず大脳皮質を刺激する方法が、将来の新しい人工視覚の一つとして模索されている。

脳磁図(magnetoencephalograph : MEG)は脳の神経活動に伴い発生する磁場を測定する装置であるが、これらの機器で分かった情報をもとにして脳内に電流を流し、狙った場所に視覚を誘発する試みがなされている。刺激には経頭蓋磁気刺激を使用する。コイルに電流を流すことで発生する磁場を利用し脳内に電流を発生させる方法であり、少ない侵襲でフォスフェンを発生させることが可能である⁴⁷⁾。

大阪大学脳神経外科では、あらかじめ撮影した核磁気

共鳴画像法(magnetic resonance imaging : MRI)画像と刺激コイルの位置とをリアルタイムで対応付けることができるナビゲーションシステムを開発し、脳内の刺激部位と発生したフォスフェンの位置の関連性について検討した⁴⁸⁾。対象は健常者 11 名、刺激方法は双極パルス刺激(単発、および 1 Hz、5 Hz、20 Hz の 5 発刺激)で、個々の被験者の MRI 上で標的とした鳥距溝周囲 7 箇所を刺激した。結果、右側刺激では左側、左側刺激では右側、下側刺激では上側に有意にフォスフェンが発生する傾向を認めた。刺激部位と対応しない部位にフォスフェンが発生する試行も認められたが位置の再現性は良好であり、刺激位置をさらに精密に指定することで再現性のあるフォスフェン地図を作ることが可能と思われ近未来に人工視覚システムへと発展する可能性がある。

X 人工網膜の適応疾患

現在、人工視覚システム開発の主流である人工網膜は、残存する網膜神経節細胞を刺激することで視覚情報

を大脳視覚野に伝達しようとするものである。したがって、網膜神経節細胞が生存していること、さらに、視神経が正常に機能することが必須である。それらが障害、喪失している病態、例えば進行した緑内障や視神経損傷を来した外傷などの症例には適応がない。逆に、視細胞が完全に消失しているような進行した網膜色素変性や癍痕期加齢黄斑変性などにおいても網膜神経節細胞が残存していることが報告されており、人工網膜の良好な適応と考えられる。したがって、臨床応用にあたっては、残存する網膜神経節細胞の機能評価を行う必要がある。我々は、改良したコンタクトレンズ型電気刺激装置を用いて、失明した網膜色素変性患者の網膜神経節細胞の残存部位、および、密度を測定する技術を開発した³⁴⁾³⁵⁾。この検査が安定して行えるようになれば、人工網膜埋植の適応や埋植部位の決定に必須の検査となると考えられる。

XI おわりに

我々は2001年度から経済産業省と厚生労働省の両省連携国家プロジェクトとして、人工視覚システムの研究開発に取り組んできた。STS方式は今までにない、本邦独自のもので、他の人工網膜と比較し多くの利点を有することから、海外の先行研究グループからも注目され高い評価を受けている。当面の目標は、眼前指数弁 $\sim$ 0.01程度の視力獲得を目指しており、いよいよ実用化のための人工視覚システム開発の段階に入ったと考えている。

本稿を終えるにあたり、恩師の眞鍋禮三大阪大学名誉教授、市橋賢治県立西宮病院名誉院長、本人工視覚プロジェクト開始時から強力な支援を賜りました株式会社ニデック会長小澤秀雄氏に深甚の謝意を表します。第112回日本眼科学会総会における特別講演の機会を賜りました日本眼科学会評議員と日本眼科学会特別講演選考委員の先生方に厚く御礼申し上げます。また、共同研究者ではありますが、本プロジェクトの核となり終始多数の貴重なご助言とご指導を賜りました名古屋大学名誉教授三宅養三氏に、今日まで頂戴しました格別のご芳情に対して心から御礼申し上げます。最後に、本研究の目標と我々の真意をご理解いただき、快く急性臨床試験への参加を志願してくださった被験者の方々に衷心より深謝しながら、本システムの実用化に向けてさらに邁進する所存であります。

文 献

- 1) Photocoagulation in treatment of diabetic maculopathy. Interim report of a multicentre controlled study. *Lancet* 2 : 1110—1113, 1975.
- 2) Two-year course of visual acuity in severe proliferative diabetic retinopathy with conventional manage-

- ment. *Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study (DRVS) report #1. Ophthalmology* 92 : 492—502, 1985.
- 3) Avery RL, Pearlman J, Pieramici DJ, Rabena MD, Castellarin AA, Nasir MA, et al : Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 113 : 1695. e1—15, 2006.
- 4) Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, Watanabe K, Yamamoto K, Adachi E, et al : Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N Engl J Med* 351 : 1187—1196, 2004.
- 5) 中江公民 : 厚生労働科学研究研究費補助金難治性疾患克服研究事業、網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する研究。平成19年度総括・分担研究報告書、99—103, 2008.
- 6) LeRoy C : Où l'on rend compte de quelques tentatives que l'on a faites pour guérir plusieurs maladies par l'électricité. *Hist Acad Roy Sciences (Paris), Mémoire Math Phys* 60 : 87—95, 1755.
- 7) Foerster O : Beitrage zur pathophysiologie der sehbahn und der spehsphäre. *J Psychol Neurol* 39 : 435—463, 1929.
- 8) Margalit E, Maia M, Weiland JD, Greenberg RJ, Fujii GY, Torres G, et al : Retinal prosthesis for the blind. *Surv Ophthalmol* 47 : 335—356, 2002.
- 9) Santos A, Humayun MS, de Juan E Jr, Greenburg RJ, Marsh MJ, Klock IB, et al : Preservation of the inner retina in retinitis pigmentosa. A morphometric analysis. *Arch Ophthalmol* 115 : 511—515, 1997.
- 10) Potts AM, Inoue J : The electrically evoked response (EER) of the visual system. II. Effect of adaptation and retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol* 8 : 605—612, 1969.
- 11) Chow AY, Chow VY, Packo KH, Pollack JS, Peyman GA, Schuchard R : The artificial silicon retina microchip for the treatment of vision loss from retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol* 122 : 460—469, 2004.
- 12) Peterman MC, Mehenti NZ, Bilbao KV, Lee CJ, Leng T, Noolandi J, et al : The Artificial Synapse Chip : a flexible retinal interface based on directed retinal cell growth and neurotransmitter stimulation. *Artif Organs* 27 : 975—985, 2003.
- 13) Brindley GS, Lewin WS : The sensations produced by electrical stimulation of the visual cortex. *J Physiol* 196 : 479—493, 1968.
- 14) Dobelle WH : Artificial vision for the blind by connecting a television camera to the visual cortex. *ASAIO J* 46 : 3—9, 2000.
- 15) Fernandez E, Ahnelt P, Rabischong P, Botella C, Garcia-de Quiros F, Bonomini P, et al : Towards a Cortical Visual Neuroprosthesis for the Blind. *IFMBE Proceedings, Vienna* 3 : 1690—1691, 2002.
- 16) Veraart C, Raftopoulos C, Mortimer JT, Delbeke J, Pins D, Michaux G, et al : Visual sensations

- produced by optic nerve stimulation using an implanted self-sizing spiral cuff electrode. *Brain Res* 813 : 181—186, 1998.
- 17) **Veraart C, Wanet-Defalque MC, Gerard B, Valierde A, Delbeke J** : Pattern recognition with the optic nerve visual prosthesis. *Artif Organs* 27 : 996—1004, 2003.
 - 18) **Humayun MS, de Juan E Jr, Dagnelie G, Greenberg RJ, Propst RH, Phillips DH** : Visual perception elicited by electrical stimulation of retina in blind humans. *Arch Ophthalmol* 114 : 40—46, 1996.
 - 19) **Sakaguchi H, Fujikado T, Fang X, Kanda H, Osanai M, Nakauchi K, et al** : Transretinal electrical stimulation with a suprachoroidal multichannel electrode in rabbit eyes. *Jpn J Ophthalmol* 48 : 256—261, 2004.
 - 20) **Kanda H, Morimoto T, Fujikado T, Tano Y, Fukuda Y, Sawai H** : Electrophysiological studies of the feasibility of suprachoroidal-transretinal stimulation for artificial vision in normal and RCS rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 560—566, 2004.
 - 21) 柳田和夫, 三宅養三 : 家兎を用いた Electrically Evoked Response (EER) の基礎的研究. *日眼会誌* 88 : 997—1006, 1984.
 - 22) **Humayun M, Propst R, de Juan E Jr, McCormick K, Hickingbotham D** : Bipolar surface electrical stimulation of the vertebrate retina. *Arch Ophthalmol* 112 : 110—116, 1994.
 - 23) **Nakauchi K, Fujikado T, Kanda H, Morimoto T, Choi JS, Ikuno Y, et al** : Transretinal electrical stimulation by an intrascleral multichannel electrode array in rabbit eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 243 : 169—174, 2005.
 - 24) **Nakauchi K, Fujikado T, Kanda H, Kusaka S, Ozawa M, Sakaguchi H, et al** : Threshold suprachoroidal-transretinal stimulation current resulting in retinal damage in rabbits. *J Neural Eng* 4 : S 50—57, 2007.
 - 25) **McCreery DB, Agnew WF, Yuen TG, Bullara L** : Charge density and charge per phase as cofactors in neural injury induced by electrical stimulation. *IEEE Trans Biomed Eng* 37 : 996—1001, 1990.
 - 26) **Ts'o DY, Frostig RD, Lieke EE, Grinvald A** : Functional organization of primate visual cortex revealed by high resolution optical imaging. *Science* 249 : 417—420, 1990.
 - 27) **Okawa Y, Fujikado T, Miyoshi T, Sawai H, Kusaka S, Mihashi T, et al** : Optical imaging to evaluate retinal activation by electrical currents using suprachoroidal-transretinal stimulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48 : 4777—4784, 2007.
 - 28) **Kondo M, Sakai T, Komeima K, Kurimoto Y, Ueno S, Nishizawa Y, et al** : Generation of a transgenic rabbit model of retinal degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008(in press).
 - 29) **Muyrers JP, Zhang Y, Benes V, Testa G, Ansorge W, Stewart AF** : Point mutation of bacterial artificial chromosomes by ET recombination. *EMBO Rep* 1 : 239—243, 2000.
 - 30) **Giraldo P, Montoliu L** : Size matters : use of YACs, BACs and PACs in transgenic animals. *Transgenic Res* 10 : 83—103, 2001.
 - 31) **Petters RM, Alexander CA, Wells KD, Collins EB, Sommer JR, Blanton MR, et al** : Genetically engineered large animal model for studying cone photoreceptor survival and degeneration in retinitis pigmentosa. *Nat Biotechnol* 15 : 965—970, 1997.
 - 32) **Oh KT, Longmuir R, Oh DM, Stone EM, Kopp K, Brown J, et al** : Comparison of the clinical expression of retinitis pigmentosa associated with rhodopsin mutations at codon 347 and codon 23. *Am J Ophthalmol* 136 : 306—313, 2003.
 - 33) **Reinke MH, Canakis C, Husain D, Michaud N, Flotte TJ, Gragoudas ES, et al** : Verteporfin photodynamic therapy retreatment of normal retina and choroid in the cynomolgus monkey. *Ophthalmology* 106 : 1915—1923, 1999.
 - 34) **Morimoto T, Fukui T, Matsushita K, Okawa Y, Shimojyo H, Kusaka S, et al** : Evaluation of residual retinal function by pupillary constrictions and phosphenes using transcorneal electrical stimulation in patients with retinal degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 244 : 1283—1292, 2006.
 - 35) **Fujikado T, Morimoto T, Kanda H, Kusaka S, Nakauchi K, Ozawa M, et al** : Evaluation of phosphenes elicited by extraocular stimulation in normals and by suprachoroidal-transretinal stimulation in patients with retinitis pigmentosa. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 245 : 1411—1419, 2007.
 - 36) **Humayun MS, Weiland JD, Fujii GY, Greenberg R, Williamson R, Little J, et al** : Visual perception in a blind subject with a chronic microelectronic retinal prosthesis. *Vision Res* 43 : 2573—2581, 2003.
 - 37) **Tokuda T, Asano R, Sugitani S, Terasawa Y, Nunoshita M, Nakauchi K, et al** : *In vivo* stimulation on rabbit retina using CMOS LSI-based multi-chip flexible stimulator for retinal prosthesis. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2007 : 5791—5794, 2007.
 - 38) **Ohta J, Tokuda T, Kagawa K, Sugitani S, Taniyama M, Uehara A, et al** : Laboratory investigation of microelectronics-based stimulators for large-scale suprachoroidal transretinal stimulation (STS). *J Neural Eng* 4 : S 85—91, 2007.
 - 39) **Berkelaar M, Clarke DB, Wang YC, Bray GM, Aguayo AJ** : Axotomy results in delayed death and apoptosis of retinal ganglion cells in adult rats. *J Neurosci* 14 : 4368—4374, 1994.
 - 40) **Morimoto T, Miyoshi T, Matsuda S, Tano Y, Fujikado T, Fukuda Y** : Transcorneal electrical stimulation rescues axotomized retinal ganglion cells by activating endogenous retinal IGF-I system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 : 2147—2155, 2005.
 - 41) **Al-Majed AA, Brushart TM, Gordon T** : Electric-

- cal stimulation accelerates and increases expression of BDNF and trkB mRNA in regenerating rat femoral motoneurons. *Eur J Neurosci* 12 : 4381—4390, 2000.
- 42) **Smith LE, Shen W, Perruzzi C, Soker S, Kinose F, Xu X**, et al : Regulation of vascular endothelial growth factor-dependent retinal neovascularization by insulin-like growth factor-1 receptor. *Nat Med* 5 : 1390—1395, 1999.
- 43) **Morimoto T, Fujikado T, Choi JS, Kanda H, Miyoshi T, Fukuda Y**, et al : Transcorneal electrical stimulation promotes the survival of photoreceptors and preserves retinal function in royal college of surgeons rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48 : 4725—4732, 2007.
- 44) **Sakaguchi H, Fujikado T, Kanda H, Osanai M, Fang X, Nakauchi K**, et al : Electrical stimulation with a needle-type electrode inserted into the optic nerve in rabbit eyes. *Jpn J Ophthalmol* 48 : 552—557, 2004.
- 45) **Fang X, Sakaguchi H, Fujikado T, Osanai M, Kanda H, Ikuno Y**, et al : Direct stimulation of optic nerve by electrodes implanted in optic disc of rabbit eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 243 : 49—56, 2005.
- 46) **Fang X, Sakaguchi H, Fujikado T, Osanai M, Ikuno Y, Kamei M**, et al : Electrophysiological and histological studies of chronically implanted intrapapillary microelectrodes in rabbit eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 244 : 364—375, 2006.
- 47) **Fernandez E, Alfaro A, Tormos JM, Climent R, Martínez M, Vilanova H**, et al : Mapping of the human visual cortex using image-guided transcranial magnetic stimulation. *Brain Res Brain Res Protoc* 10 : 115—124, 2002.
- 48) 平田雅之, 柳澤琢史, 後藤 哲, 澁谷大輔, 加藤天美, 齋藤洋一, 他 : 局所脳律動変化にもとづいた脳機能マッピングと脳機能再建への応用. *機能的脳神経外科*. 46 : 129—134, 2007.
-

Comment : 小口 芳久

平成 16 年度の身体障害者の失明の原因疾患の第 1 位は緑内障で、次いで糖尿病網膜症、網膜色素変性、加齢黄斑変性と続く。緑内障と糖尿病網膜症は予防・治療が可能な疾患であるが、網膜色素変性は現時点では予防・治療方法もない。最近この疾患の治療戦略として注目されてきたものに網膜再生、網膜移植、遺伝子治療、人工視覚システムなどがある。前の 3 つは臨床応用されるまで未だかなりの時間を要すると考えられる。人工視覚システムは近年の IT 技術、ナノテクノロジー、生体工学の進歩により最も現実味を帯びてきた。ものを見る機構で最終的に最も重要なのは脳の視覚野である。この視覚野にどのようにして外界から得られた視覚情報を入力するかが、人工視覚の課題である。網膜色素変性は視細胞の変性で視野の狭窄が始まり、最終的には視力障害が高度となるが、光覚弁となっても神経節細胞は 30% くらい残存しているという。今回の報告では、脈絡膜上経網膜電気刺激(STS)の方法を考案し、この残存する神経節細胞を電氣的に刺激する方法をとった。文献的には Potts と Inoue(1969)が経角膜電気刺激により、網膜色素変性の患者から電氣的反応(electrically evoked response : EER)を記録している。視細胞が変性し機能しなくても、神経節細胞が生存していれば、至的な条件で神経節細胞に電氣的刺激を行うとフォスフェンという光を被検者は感じる。この現象を臨床応用し、人工視覚を得るのが今回の研究の目的であった。今回採用した STS 方式につき、その有用性・安全性につき動物実験で検討し、さらに変性網膜を有する Royal College of Surgeons(RCS)ラットを用い、正常ラットと同様な電気誘発電位(electrical evoked potential : EEP)を確認した。用いた電極の安全性・耐用性・有用性についても、電極のパラメーターを変えて検討を加えた。さらに、電氣的刺激による脳の反応の評価システムについても報告した。動物実験による安全性・有用性を確認後に、経角膜電気刺激により網膜色素変性患者 20 名と正常者 8 名の EEP につき検討を加え、さらに正常者につき経強膜電気刺激を行い、電気刺激のパラメーターを検討した。このように種々なる基礎データから、2 名の網膜色素変性患者の STS 方式急性臨床試験を行った。この 2 名のほぼ失明状態にある患者は限局性の疑似視覚を得ることができたことから、今後の人工視覚の研究の発展が期待される。今回の報告では視神経を直接電気刺激する方法についても報告があった。また、非侵襲的な経頭蓋磁気刺激の人工視覚の可能性につき興味ある紹介がなされた。

このような人工視覚の研究は、多くの基礎的実験により成立するわけであり、膨大な人力と経費が必要である。また、眼科医のみでは到底なしえない研究である。これには医学、理工学、生物学などの深い知識と、大学、研究所、産業界を巻き込んだ一大プロジェクトを組まなければ不可能である。今回このプロジェクトのリーダーとして本研究を統括した著者に敬意を表したい。

日常眼科臨床で網膜色素変性の患者に接し、視力、視野、眼底、ERG、EOG、蛍光眼底検査など終了後、患者に診断名を告げるとき、常に適切な治療法がないことを説明するのはつらいことである。ロービジョンへの対応は重要ではあるが、一刻も早く少しでも元に近い視野と視力が取り戻せれば患者としてはこの上ない喜びとなるであろう。今回、ボランティアとして実験に参加された 2 名の患者にとって、この度の実験結果が将来の人工視覚開発の第一歩となるならばとても素晴らしいことであると考え。自分を犠牲にして実験に参加された患者に敬意を表するとともに今後の人工視覚の研究・開発が成功し、網膜色素変性患者が不自由なく過ごせる日が来ることを願う。