様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成２３年　２月２８日現在

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2007～2009
課題番号：19500445
研究課題名（和文）時間特性を考慮した人工網膜のための最適刺激の研究

研究課題名（英文）The study of optimal stimulation for artificial vision with temporal consideration

研究代表者
三好　智満（MIYOSHI TOMOMITSU）
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：70314309

研究成果の概要（和文）：人工視覚の中でも網膜刺激型である脈絡膜上-経網膜刺激の時空間特性を明らかにするために、電気生理学的検討を行った。一次視覚野の誘発反応を二次元的にマッピングしたところ、網膜の刺激部位に対応した誘発電位の分布を記録することができた。刺激波形を cathodic-first と anodic-first の間で比較したところ、anodic-first の方が大きな頂点電位を有していたがその差は小さかった。

研究成果の概要（英文）：To reveal the spatiotemporal property of suprachoroidal-transretinal stimulation as retinal prosthesis, cortical response was analyzed electrophysiologically. Two-dimensional mapping revealed the distribution of electrical evoked responses corresponding to the positions of stimulating electrodes. The amplitude of negative peak of anodic-first STS was larger than cathodic-first one, though the difference was only small.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
2007 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総　計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域
科研費の分科・細目：人間医工学　リハビリテーション科学・福祉工学
キーワード：生理学、神経科学、リハビリテーション、人工感覚器、医工学

１．研究開始当初の背景

人工視覚とは網膜から視覚中枢に至る視覚伝導路を電気的に刺激することによって、視力を失った患者に人工的な視覚感覚を引き起こすものである。これまでに様々な刺激方式がこれまでに提案されているが、研究代表者の所属するグループでは、脈絡膜上一経網膜刺激（STS）と呼ばれる網膜刺激型の人工視覚を開発した。この方式は、刺激電極と不関電極をそれぞれ強膜半層切除部と硝子体内に設置することで、刺激電流が網膜を貫通するように通電する刺激方式であり、神経網膜に電極が直接的に接触しないため、他の網膜刺激方式と比べると、電極の埋植手術などによる網膜傷害の危険が少ない利点があるが、網膜と刺激電極が離れているために刺激効率の面で不利であり、結果として空間分

解能が劣る可能性があった。

２．研究の目的

以上の背景を元に、STS 方式の電気刺激が空間的にどのように分布しているか、そして電気刺激波形がその分布に影響を与えるかを通して、刺激と応答の時空間分布を調べることを目的とした。

３．研究の方法

実験動物として成ネコを用い、全て大阪大学の動物実験規則に準拠し実験動物に与える苦痛を最小限に留めるように留意した。手術および電気生理学的記録の際には、ペントバルビタール（1-2 ml/kg/hr）とパンクロニウム（0.2 ml/kg/hr）で麻酔非動化し、笑気ガスと酸素ガスの混合気で人工呼吸を行った。体温は保温マットで 37 度に維持し、心電図、呼気ガス分析装置によってバイタルを持続的に監視した。

電気生理学的記録には、単一ニューロン記録として、左外側膝状体背側核 A1 層の中継細胞より電気生理学的記録を行った。記録電極には抵抗値１～３MΩのガラス封入タングステン電極を使用した。また、誘発電位を、大脳皮質一次視覚野から Neuronexus 社製急性実験用多点電極を用いて記録した。

記録した信号は増幅器（Model 1800 or 3600 Microelectrode AC Amplifier, A-M Systems, Inc）及びコンディショニングアンプ（LPF-202, Warner Instrument）を用いて 300-1k 又は 10-1k Hz の特性で増幅し、シグナルプロセッサ(Power 1401, Cambridge Electronic Design Inc)、およびソフト(Spike 2, Cambridge Electronic Design Inc)を用いて記録と解析を行った。

網膜刺激電極として直径 0.8 mm のシリコン樹脂基盤中央に直径 100 μm、高さ 50μm の円形の白金電極が設置されている単極電極及び、その電極を一直線上に４個並べた四極電極(どちらもユニークメディカル社製)を用いた。左眼球の耳側強膜を露出し、網膜中心野から耳側 1-2 mm に相当する部位に強膜半層切除を行い開窓部を作成した。この開窓部に網膜刺激の刺激電極を密着させた。電極の網膜上の位置は、電極全体を強膜に押し付けることによって生じる網膜の陥凹を用いて実験中に把握した。一方、毛様体扁平部の眼球壁に 30G 注射針で穴を空け、その穴から硝子体内へ不関電極を挿入した。不関電極には先端２mm を露出した直径 0.2 mm の絶縁コート白金線を用いた。眼球には散瞳剤(ミドリン、点眼用アトロピン）を滴下して瞳孔を散大させ、角膜表面の光学系を保護するためにコンタクトレンズを装着した。

強膜側の刺激電極と不関電極の間で電流パルスを与えることで網膜を刺激した。シグナルプロセッサによって出力コマンドを生成し、リニアアイソレータ（BSI-950, Dagan）より出力した電流を両電極間へ流した。本実験では組織損傷を最小限に抑える目的で、二相性矩形波パルスを用いた。電流値は 150、300、500 μA と変化させた。

４．研究成果

刺激の時間特性を評価するために、外側膝状体の中継細胞の単一ユニット記録を行い、STS 刺激の頻回刺激による反応の追従性を調べた。強膜側に設置した直径 100um の白金電極から硝子体電極の間に幅 500usec で内向きの単相矩形波電流を用いた。その結果、閾値程度の電流強度（150uA）の場合、5Hz の刺激では、誘発されるスパイク応答は刺激に必ず応答していたが、刺激頻度を上げるとスパイクが出現しないことが増え、20Hz まで頻度を上げると、刺激に応答しなくなった。しかし電流強度を２倍（300uA）に上げたところ、20Hz の電気刺激でも 100%の確率でスパイク応答が出現した。さらに刺激頻度を上げたところ、50Hz では 100Hz で 35%の刺激に対してしかスパイク応答は出現しなかった。この様に、刺激頻度が上昇することによって刺激効率が低下すること、そしてその効率の低下は刺激強度を上げることによってある程度補完しうることがわかった。

次に、大脳皮質一次視覚野の誘発反応の時空間特性について検討した。深さ方向が 200μm 間隔で 4 極の電極が、水平方向に 400μm 間隔で 4 本連なっている急性実験用多点電極を大脳皮質に刺入し、AP 方向に 500μm 毎に順次移動させることでマッピングを行った。強膜の刺激電極には四極電極を用い、硝子体内の電極との間に各相 500μsec の二相性電流を通電した。記録電極の場所は、刺激電極を設置した網膜の視野に相当する大脳皮質一次視覚野の部位をカバーした。cathodic-first, anodic-first と通電極性を時間的に変化させた 2 種類の電流波形で、150, 300, 500μA と電流強度を変化させた。その結果、記録から大脳皮質への最も早期の入力を記録していると考えられる、深さ 700μm の場所においては、刺激によってほぼ 15ms 以内に鋭い頂点を持つ誘発反応と、30ms 程度にピークをもつなだらかな誘発反応が得られた。潜時などから前者が刺激に直接反応したもので、後者は前者の反応が広がったものと考えられた。(図１）電流量を強くするほど、誘発反応のピークは強く、また広い範囲に出現することが観察され、過去の報告とも一致した。

四極の刺激電極の Ch1 から Ch4 のそれぞれを単独で刺激に用いた場合、網膜上で 1mm ずつ空間的に離れた場所を刺激することになるが、その場合に視覚野の誘発電位の分布はどのようになるかを調べた。各々の刺激電極に対して、各記録点での誘発電位のピーク電位を 3D で表示すると、図２に示す様になった。この図から分かるように、Ch1 から Ch4 へと刺激電極が移動するに従って、誘発反応の出現が lateral 側から medial 側へと移動していた。これは視覚皮質

上における網膜部位対応の方向と一致していた。

さらにcathodic-first, anodic-firstと波形を時間的に入れ替えた刺激パターンを用い、150, 300, 500μAと電流強度を変化させて得られた誘発反応の大きさを定量的に解析した。50ms以内の陰性頂点の電位を計測し、cathodic-firstと anodic-first の間で比較すると、anodic firstに対してcathodic-firstの反応の大きさは150μA で88.0%, 300μA で84.9%, 500μA で 91.3%と、いずれの刺激電流値でも anodic first の方が大きいことがわかった。ただ、その差は10-20%程度しかなく、頂点電位の大きさだけからでは、どちらかが絶対的に有効な刺激波形とは判断できなかった。人工視覚の最適パラメータは、刺激効率だけではなく、その刺激を長期に行うことによって組織に損傷が生じないかという安全性、また、生体内に全刺激システムを埋植するための装置の製作や消費エネルギーなど工学的要素など、その他の要因も考慮して検討する必要があると考えられた。

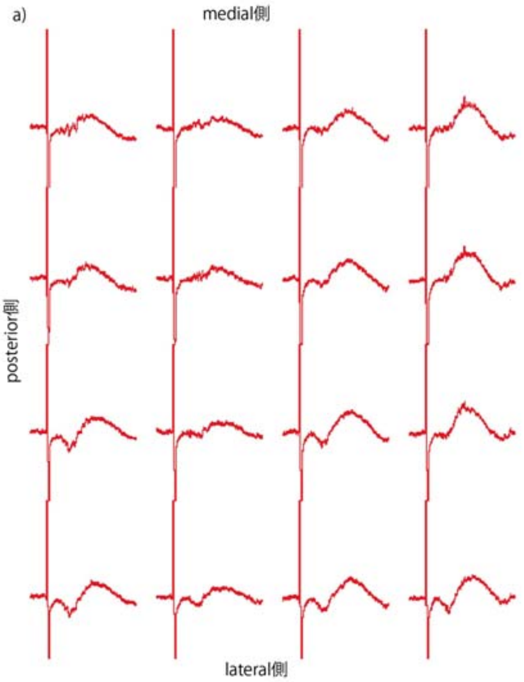
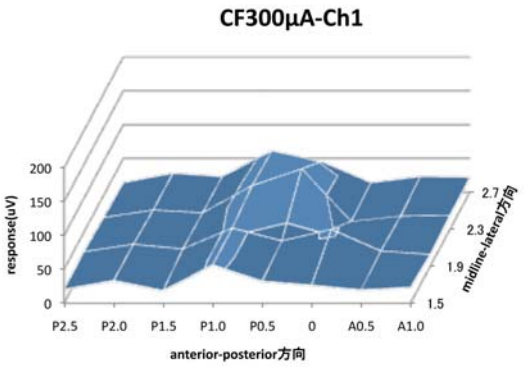
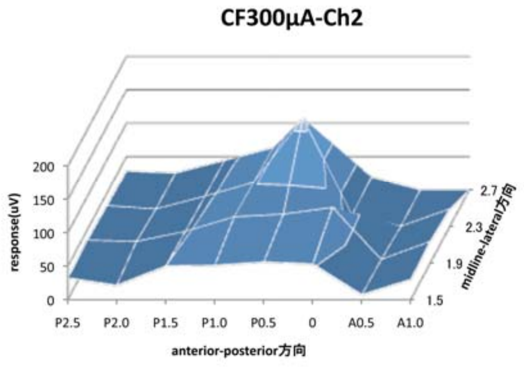
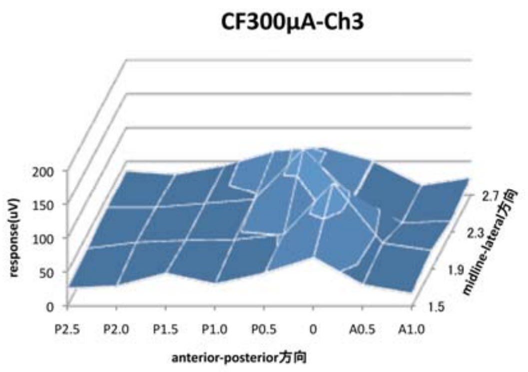


図1．300μAの cathodic-first STS による大脳皮質誘発電位. b）は a）の anterior 側（右側）の記録を示す。







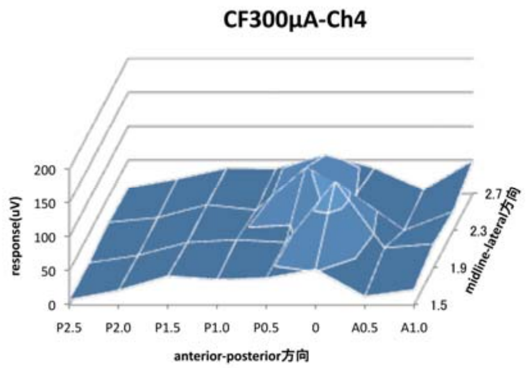


図２．刺激電極の Ch1-4 のそれぞれから 300μA の cathodic-first STS で電気刺激した時の最大誘発電位のマップ。

５．主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計４件）

(1)Morimoto T, Miyoshi T, Sawai H, Fujikado T. Optimal parameters of transcorneal electrical stimulation (TES) to be Neuroprotective of axotomized RGCs in adult rats. Exp Eye Res, 90:285-291, 2010. 査読有.

(2)澤井元, 三好智満, 不二門尚, 田野保雄. 人工視覚. 人工臓器 37:163-167, 2008. 査読無.

(3)Morimoto T., Fujikado T., Choi J-S., Kanda H., Miyoshi T., Fukuda Y., Tano Y. Transcorneal electrical stimulation promotes the survival of photoreceptors and preserves retinal function in royal college surgeons rats. Invest Ophthalmol Vis Sci, 48:4725-4732, 2007. 査読有

(4)Okawa Y., Fujikado T., Miyoshi T., Sawai H., Kusaka T., Mihashi T., Hirohara Y., Tano Y. Optical imaging to evaluate retinal activation by electrical current using suptachoroidal- transretinal stimulation. Invest Ophthalmol Vis Sci, 48:4777-4784, 2007. 査読有

〔学会発表〕（計２件）

(1)Miyoshi T et al. Optimal parameters of transcorneal electrical stimulation for neuroprotection of axotomized retinal ganglion cells in adult rats. 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS2009), 2009 年 7 月 30 日, Kyoto, Japan.

(2)Miyoshi, T. Cortical evaluation of Suprachoroidal Transretinal Stimulation for retinal prosthesis in cat. 4th Asia-Pacific Conference on Vision, 2008 年 7 月 18 日, Brisbane, Australia.

６．研究組織

(1)研究代表者
三好　智満（MIYOSHI TOMOMITSU）
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：70314309

(2)研究分担者
澤井　元（SAWAI HAJIME）
大阪大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：20202103