

—博士学位論文—

脈絡膜上経網膜刺激方式人工網膜用多孔性刺激電極の  
生体内長期刺激下における電気化学特性に関する研究

Electrochemical characterization of porous stimulation electrodes  
for a suprachoroidal–transretinal stimulation retinal prosthesis  
under long-term *in vivo* stimulation

野村 修平

2024年3月

奈良先端科学技術大学院大学

先端科学技術研究科

物質創成科学領域

# 目次

第1章 序論 .....	1
1.1 背景 .....	1
1.2 目的 .....	5
1.3 本論文の構成 .....	5
第2章 網膜刺激型人工視覚方式と刺激電極特性 .....	6
2.1 原理 .....	6
2.1.1 視覚機能のしくみ .....	6
2.1.2 網膜の構造と機能 .....	8
2.1.3 人工視覚システムによる視覚機能の再建 .....	10
2.2 人工視覚システムの分類 .....	12
2.2.1 網膜刺激型 .....	12
2.2.2 視神経刺激型 .....	24
2.2.3 脳刺激型 .....	25
2.3 金属製刺激電極の電気化学特性 .....	28
2.3.1 電気二重層の形成 .....	29
2.3.2 電気刺激に伴う電流（容量性電流, ファラデー電流） .....	30
2.3.3 通電時に電極界面で生じる現象 .....	32
2.3.4 白金電極の界面で生じる現象 .....	33
2.3.5 電極界面の等価回路モデル .....	34
2.4 網膜刺激電極に対する要求性能 .....	36
2.4.1 電気刺激の安全性 .....	36
2.4.2 電極性能を向上させる手法 .....	39
第3章 多孔性刺激電極の試作と評価 .....	42
3.1 緒言 .....	42
3.2 刺激電極アレイの作製 .....	43
3.3 刺激電極アレイの埋植 .....	45
3.4 電気刺激 .....	45
3.5 電気化学インピーダンス分光法と等価回路解析 .....	47
3.5.1 電気化学インピーダンス分光法（EIS） .....	47
3.5.2 等価回路解析（ECA） .....	47
第4章 多孔性刺激電極向け等価回路解析手法の確立 .....	51
4.1 緒言 .....	51
4.2 等価回路解析（ECA） .....	52
4.2.1 等価回路モデル .....	52

4.2.2. データ解析.....	53
4.3 解析結果 .....	54
4.4. 考察 .....	58
4.5. まとめ .....	60
第5章 慢性通電下における多孔性刺激電極の界面特性の評価.....	61
5.1 緒言 .....	61
5.2 方法 .....	62
5.2.1. 電極特性の経時変化 [等価回路解析 (ECA)] .....	62
5.2.2. 電荷注入能力 (CIC) 測定.....	63
5.3. 結果 .....	65
5.3.1 等価回路要素の経時変化.....	65
5.3.2 電極表面の SEM 画像 .....	68
5.3.3 電極埋植部の病理組織像.....	69
5.3.4 等価回路要素および電荷注入力 CIC の相関関係 .....	70
5.4 考察 .....	72
5.4.1 溶液抵抗 $R_{sol}$ の経時変化 .....	72
5.4.2 拡散抵抗 $Z_w$ と電荷移動抵抗 $R_{ct}$ の経時変化 .....	73
5.4.3 電気二重層容量 $C_{dl}$ の経時変化 .....	73
5.4.4 電気二重層容量 $C_{dl}$ と電荷注入能力 CIC の相関.....	74
5.4.5 電極インピーダンス $Z$ と電荷注入能力 CIC の相関.....	76
5.5 まとめ .....	77
第6章 結論 .....	78
6.1 本研究の成果 .....	78
6.2 今後の展望 .....	79
参考文献 .....	80
研究発表目録 .....	88
発表論文 .....	88
参考論文 .....	88
国際会議 Proceeding .....	88
国際会議における発表.....	88
国内会議における発表.....	89
謝辞 .....	91

# 第1章 序論

## 1.1 背景

近年、身体に接続した機械を介して直接神経や脳に外界情報を伝える Brain machine interface (BMI) 技術の医療応用に向けた研究が盛んに行われ、生体と外部装置との間で情報のやり取りを行うことが可能となった[1]。これらの技術は医療分野に応用され、失われた感覚機能の再建が試みられている。最も成功している人工感覚器は人工内耳である。日本では1985年に最初の人工内耳手術が行われ、それから約40年が経過している[2]。人工内耳は既に世界中に普及しており、世界では約45万人(2018年時点)、日本で約1万人以上(2015年時点)に適用されている[2, 3]。人工内耳の成功により、喪失した感覚機能をデバイスで代行できることが示された。

失われた視覚機能の再建に関する研究も盛んに取り組まれている。視覚機能は人々の健康や生活だけでなく、社会の経済発展にも広く深く関わる最も重要な感覚機能の一つである[4]。世界の視覚障害者数は、2020年では遠方視力障害者が5億9,600万人(そのうち失明者は4,300万人)と推定されており、2050年には遠方視力障害者が8億9,500万人(そのうち失明者は6,100万人)に増加すると予測されている[4]。視覚障害が社会に与える影響は大きく、世界における年間生産性損失はおよそ4,100億ドルから7,000億米ドルと見積もられている[4]。世界における視力障害の主な原因には、未矯正の屈折異常、白内障、緑内障、加齢黄斑変性(age-related macular degeneration: AMD)、糖尿病性網膜症、角膜混濁、トラコーマ(失明原因となる細菌感染症)がある[4, 5](図1-1および図1-2)。これらの視覚障害原因の90%以上は予防もしくは費用対効果の高い既存の治療法による治療が可能である[4]。一方、日本における視覚障害は緑内障、糖尿病性網膜症、網膜色素変性(retinitis pigmentosa: RP)、黄斑変性(主にAMD)などが多く、加齢に関連した疾患が主となる[6](図1-3)。

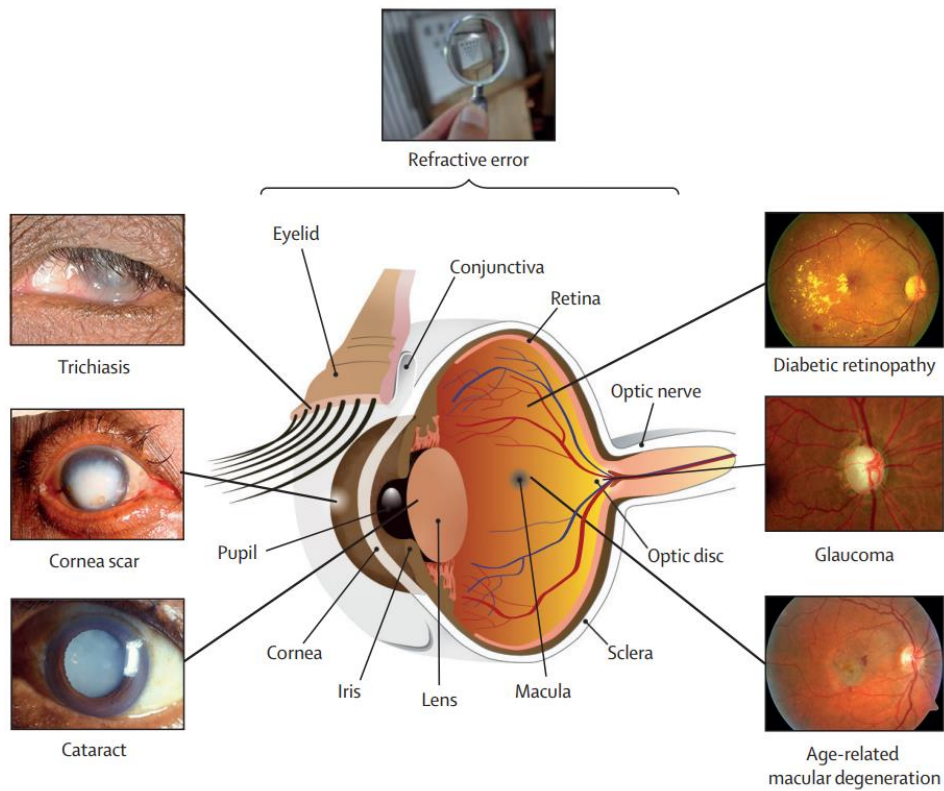


図 1-1 主な視覚障害原因の発生部位と臨床的外観[4].

Global causes of **Visual Impairment**, inclusive of blindness, as percentage

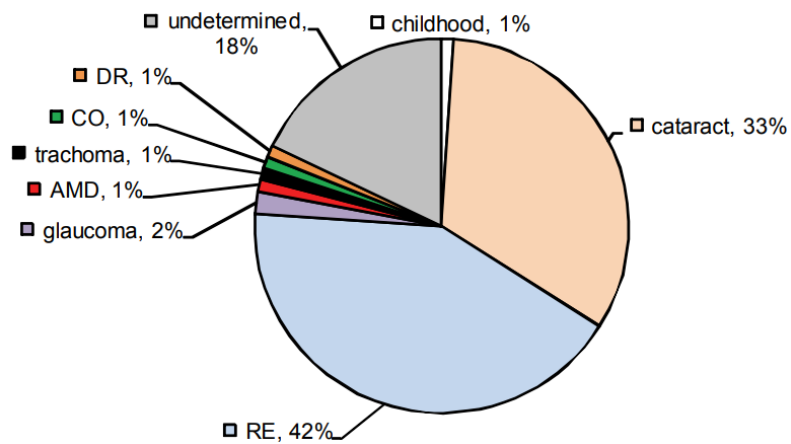


図 1-2 世界の視覚障害の原因内訳[5]. cataract : 白内障, RE (refractive error) : 屈折異常, glaucoma : 緑内障, AMD (age-related macular degeneration) : 加齢黄斑変性, trachoma : トラコーマ, CO (corneal opacification) : 角膜混濁, DR (diabetic retinopathy) : 糖尿病性網膜症.

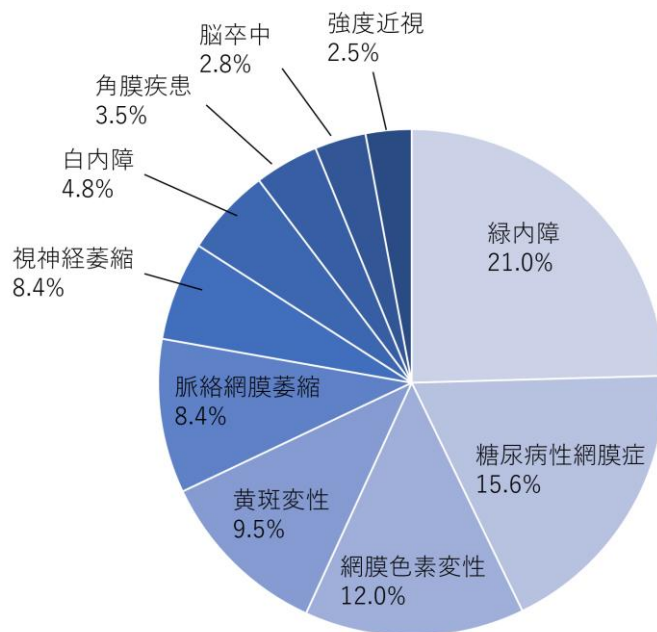


図 1-3 日本の視覚障害の原因（文献[6]より数値を引用）.

AMD と RP は光受容器である網膜視細胞の変性により最終的に失明に至る疾患であり、現状では有効な治療法は確立していない。RP は欧米諸国で 5,000 人に 1 人の割合で発症する。その症状は周辺視野の視力低下からはじまり、数十年かけて病態が進行し、最終的に失明に至る[7]。AMD は先進国での有病率が高い失明疾患であり、世界で約 1 億 7,000 万人が発症している[7]。AMD は病態から湿性 AMD と乾性 AMD の 2 つの病型に分けられる。湿性 AMD は異常な血管新生を特徴し、乾性 AMD は網膜色素上皮の萎縮を特徴とする。AMD の病態進行を遅らせることができるいくつかの治療法（黄斑部の血管新生の進行を遅らせるレーザー治療や抗血管薬治療）はあるが、根本的な治療法は存在しない[7]。そのため、時間の経過とともに不可逆的に視力が低下し、最終的に失明となる。このような失明疾患に対して、視覚神経系を電気刺激することで失われた視覚機能を再建する人工視覚の研究が進められている。これは、残存する視覚伝導路の一部を電気刺激することで Phosphene と呼ばれる疑似的な光覚を誘発する埋植デバイスである。

人工視覚研究の始まりは 1970 年代までさかのぼる。1755 年、失明者の網膜や大脳皮質などの視覚神経系を電気刺激することで疑似光覚を誘発できることを Le Roy らが報告した[8]。その後、1960 年代から 1970 年代にかけて大脳刺激による視覚再建の研究が行われ、電気刺激で誘発した光覚で電光掲示板様の視覚情報を得ることに成功したことを Brindley ら[9]や Dobbelle ら[10]が報告した。Dobbelle らによる視覚再建の実証により、人工視覚研究の門戸が開かれた。1980 年代から 1990 年代にかけて、視覚機能の大部分が失われた RP 患者および AMD 患者にも視細胞以外の網膜神経組織に視覚情報の伝達機能が残されていることを

Santos らが報告した[11]. 加えて, RP 患者および AMD 患者の網膜を電気刺激することで光覚が得られることを Humayun らが報告した[12]. これ以降, 失われた視覚機能の再建法として人工視覚の研究が盛んに行われるようになった.

人工視覚は視覚伝導路の刺激部位により, 網膜刺激型, 視神経刺激型, 大脳刺激型の3つに分類される[13]. このうち, 網膜刺激型は人工網膜とも呼ばれ, AMD や RP の中途失明者を対象とする. 人工網膜は刺激電極の設置位置により, 網膜上刺激方式(硝子体側から網膜表面に設置する方式), 網膜下刺激方式(網膜と脈絡膜の間に設置する方式), 脈絡膜上刺激方式(脈絡膜外側に設置する方式)の3つに分類される. 網膜上刺激方式と網膜下刺激方式は, 刺激対象である網膜に近接して刺激電極を設置するため, 低い刺激電流値で光覚を誘発できる. しかし, 刺激電極アレイの埋植および固定は容易ではなく, 侵襲性の高い複雑な埋植手術を要する. 一方, 脈絡膜上刺激方式は他2つの刺激方式に比べて刺激電極アレイの埋植が低侵襲であることに加え, 比較的大きな刺激電極アレイを設置可能なためより広い視野を確保できる.

脈絡膜上刺激方式の研究開発は, 日本では2001年より国家プロジェクトとして大阪大学, 奈良先端科学技術大学院大学, 株式会社ニデックを中心としたコンソーシアムにより進められている. そこで考案された脈絡膜上経網膜刺激(Suprachoroidal-transretinal stimulation: STS)方式は, 現在も臨床応用に向けた研究開発および評価が進められている[14]. 網膜を脈絡膜越しに電気刺激する STS 方式では, 他の刺激方式に比べて高い刺激電流値が必要となるため, 刺激電極には高い通電性能が要求される. この厳しい要求を満たすため, 日本の研究グループは白金電極を平面形状ではなく立体的な弾丸形状(直径 500  $\mu\text{m}$ , 高さ 300  $\mu\text{m}$ )とし, その電極表面にフェムト秒レーザー加工による多孔化処理を施した高性能刺激電極[Femtosecond laser-induced porosity (FLiP) 電極]を開発し[15], 安全性や通電性能の *in vivo* 評価[16]を進めている. しかし, 生体内埋植下で長期間の通電を行う過程で, 複雑な表面構造を有する FLiP 電極の界面でどのような物理化学現象が生じるのか十分には解明されていない.

人工視覚システムを実用化するためには, 前臨床における非臨床試験として, 実験動物を用いた刺激電極の長期安全性評価が必要となる[17]. しかし, 安全閾値を求めるためには相当数の実験動物を必要とし, かつそれらの長期間にわたる飼育管理に多大な労力と時間を要する. 加えて, 動物実験に対する倫理的な問題も生じる. このような開発コストや倫理問題はデバイスを開発する上で大きな障壁となるため, 実験動物を用いない評価手法の確立が望まれている.

## 1.2 目的

生体内埋植下で長期間の通電を行う際、刺激電極界面で生じる物理化学現象や電極特性の変化を把握できれば、長期埋植デバイスとして備えるべき要求性能を開発の初期段階で検討付けることができる。これにより、開発期間の短縮や動物実験の削減による倫理問題の回避などに貢献することができる[18]。そこで本研究では、STS方式人工網膜用多孔性刺激電極（FLiP電極）の界面特性を明らかにし、人工視覚システムによる電気刺激の長期安定性に及ぼす影響を評価することを目的とした。

上記課題を解決するため、本研究ではFLiP電極界面の電気化学特性に着目した。電極界面の電気化学特性を模擬する等価回路モデル確立し、測定した電気化学インピーダンススペクトルの等価回路解析を行うことで、電極界面で生じる複雑な物理化学的現象を単純化した電気回路要素に置き換えて解釈することが可能となる。そこで本研究では、生体内に埋植したFLiP電極に長期間（6ヶ月間）通電し、その間に電気化学インピーダンスを測定した。その測定値に対する等価回路解析により、FLiP電極界面の電気化学的特性とその挙動を明らかにした。

## 1.3 本論文の構成

本章（第1章）では本研究の背景と目的を示した。第2章では、人工視覚システムの原理と刺激方式の分類について、代表的な人工網膜の研究開発事例および実用化例を示して解説する。加えて、刺激電極の界面で生じる電気化学現象の評価に必要な基本原理を解説する。通電に伴う電極-生体組織間の物質や電荷の移動および化学反応を考慮することで、等価回路モデルで電極界面の特性を模擬できることを説明する。第3章では、STS方式人工視覚システム用の刺激電極として開発された多孔性刺激電極（FLiP電極）の評価実験系を説明する。第4章および第5章では、生体内長期通電に伴うFLiP電極の特性変化を評価した結果を示す。最後の第6章では、本研究の成果と今後の展望について述べる。



## 第2章 網膜刺激型人工視覚方式と刺激電極特性

### 2.1 原理

#### 2.1.1 視覚機能のしくみ

外界の光情報は、光に対する感覚受容器である網膜で神経電気信号に変換された後、各種神経系を介して脳に伝えられ、認知される。外界の光は眼球の角膜、瞳孔、レンズ（水晶体）を介して眼球内に入射し、網膜上に結像する[19, 20]（図 2-1 および図 2-2）。網膜に存在する視細胞（光受容器）は光情報を神経電気信号に変換し、網膜層に存在する双極細胞、水平細胞、アマクリン細胞を介して網膜神経節細胞に伝える[19]（図 2-2）。網膜神経節細胞の軸索はそれらが束状になった視神経を形成して眼球外に伸び、外側膝状体に接続する[19]（図 2-3）。外側膝状体は視床の後半部に位置する左右一対の神経核であり、視覚情報のうち、動きや色などに関する情報を修飾する。そこで修飾を受けた情報は、外側膝状体でシナプスを乗り換え、視覚情報の処理を担う大脳皮質領域の最初の入り口である一次視覚野（Visual cortex : V1）に入った後、二次以降の視覚野に送られる。各皮質領域では、伝播された外界情報から形、色、奥行、運動などの抽象的情報を抽出する。このような網膜から脳までの視覚情報の伝達経路（視覚伝導路）の仕組みにより、我々は外界の光情報を視覚情報として認知することが可能となる。

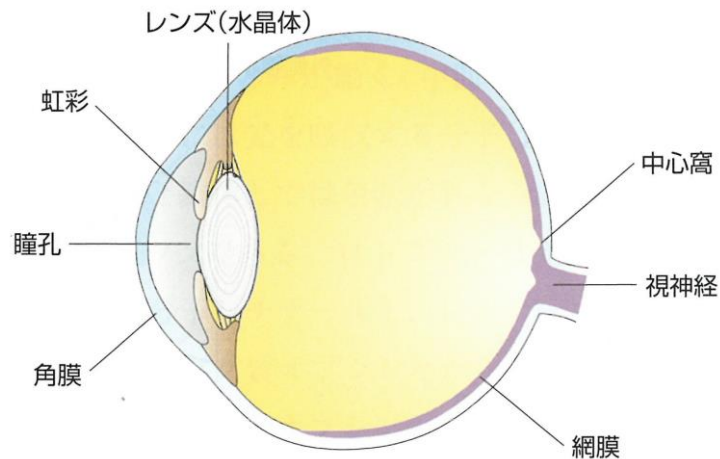


図 2-1 眼球の構造[19].

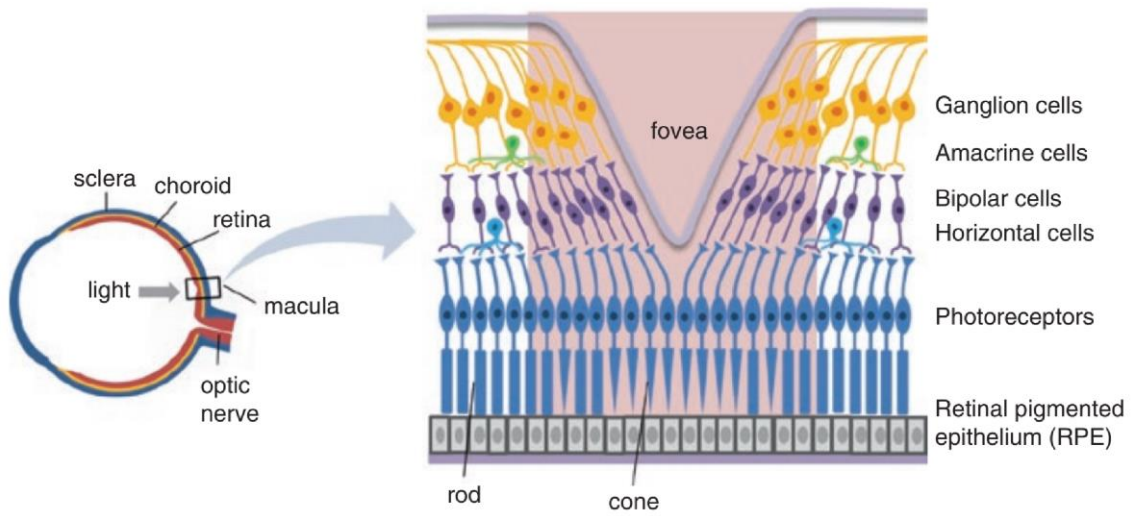


図 2-2 眼球（左）と網膜（右）の構造[20].

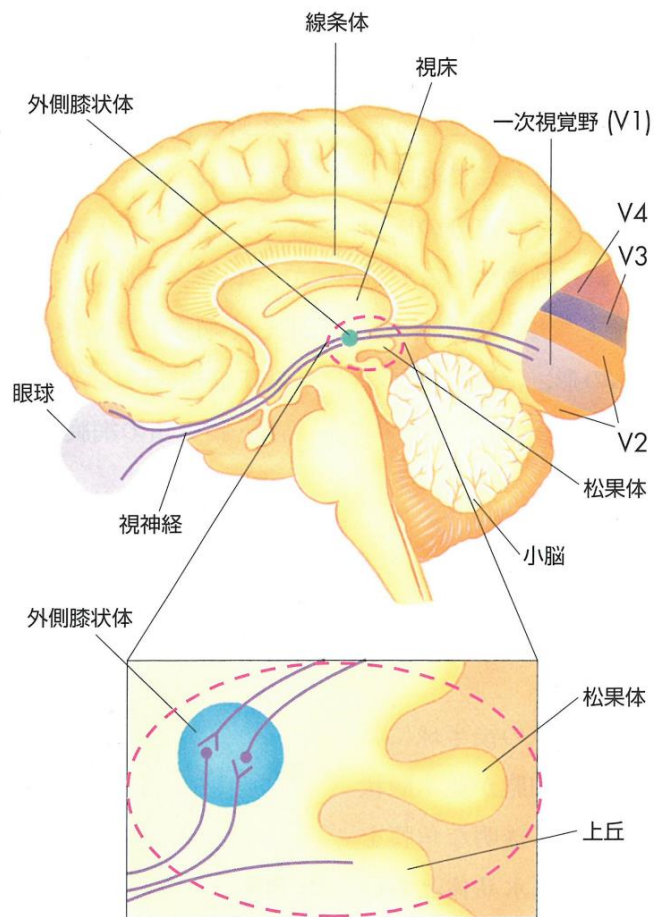


図 2-3 視覚伝導路[19]. 眼球の網膜で検出された外界の光情報は、視神経や外側膝状体を介して大脳皮質（視覚野）に伝えられる。

## 2.1.2 網膜の構造と機能

視覚機能を担う網膜の細胞には、視細胞（桿体細胞および錐体細胞）、水平細胞、双極細胞、アマクリン細胞、網膜神経節細胞の5種類がある[19]（図2-4）。

視細胞は大きく桿体細胞と錐体細胞の2つに分類される。これらは、光吸収波長の特徴が異なる色素分子を有しており、光に応答する感度と波長特性が異なる。桿体細胞がもつ色素分子はロドプシンである。ロドプシンは、光を吸収する低分子「レチナール」と、このレチナールを結合するタンパク質「オプシン」とから構成される。この色素分子「ロドプシン」の光吸収特性により、桿体細胞は広い波長領域の光に対して高感度に応答できる。一方、錐体細胞は桿体細胞とは異なる吸収波長特性のオプシンを有しており、特定の波長域の光にのみ応答するため低感度ではあるが色覚機能（赤、緑、青の認識）を担うことができる。これらの視細胞は、網膜上に異なる分布を示す。色覚機能を担う錐体細胞は視力の中心的役割を担う中心窩近傍に集中的に分布するのに対し、桿体細胞はそれらの周辺部に広く分布する[20]（図2-2）。

視細胞で光から神経電気信号に変換された情報は、双極細胞、水平細胞、アマクリン細胞を介して網膜神経節細胞に伝えられる。双極細胞は、視細胞が発した神経電気信号を網膜神経節細胞に伝える。水平細胞とアマクリン細胞は、視細胞間もしくは網膜神経節細胞間の情報伝達を担う。水平細胞は視細胞同士を連絡し、ある個所の視細胞が受けた信号をその周囲の視細胞に伝える。アマクリン細胞は双極細胞から網膜神経節細胞への伝達信号を調節する。このような視細胞から網膜神経節細胞までの間における垂直方向および水平方向の連絡により、網膜内で情報修飾が行われる。

網膜神経節細胞は網膜から中枢側へ信号出力する唯一の細胞であり、その軸索が束となって視神経を形成する。

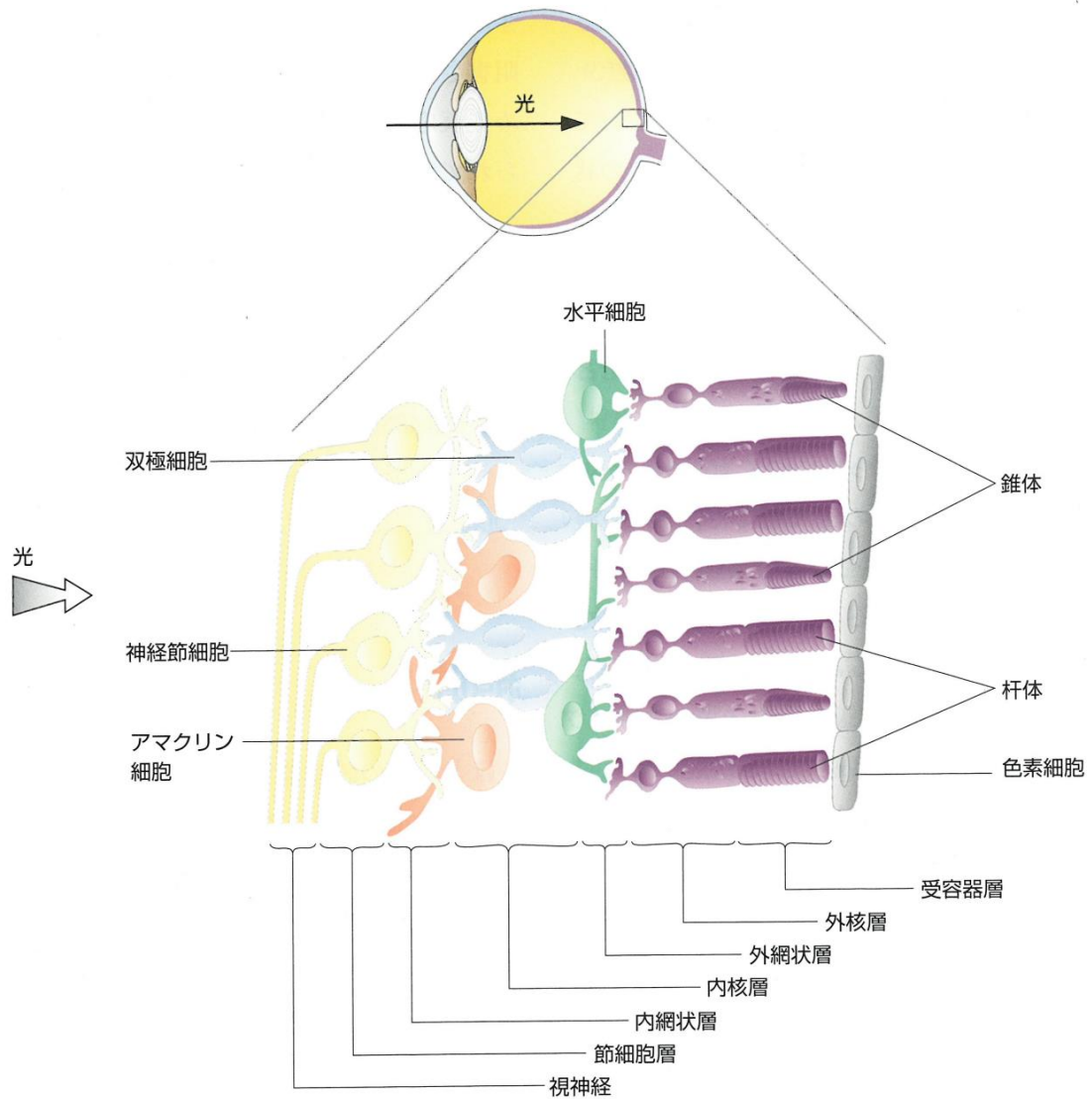


図 2-4 網膜の構造[19]. 視細胞（桿体細胞および錐体細胞），水平細胞，双極細胞，アマクリン細胞，神経節細胞の 5 種類の細胞が網膜を構成する．眼球に入射した光は，光受容器である視細胞（桿体細胞および錐体細胞）に届くまでに多数の細胞層を通過する．

### 2.1.3 人工視覚システムによる視覚機能の再建

視覚伝導路の一部に障害が生じると視覚情報を認知できなくなり、失明の状態となる。このような失明の原因には外傷の他、緑内障、糖尿病性網膜症、網膜色素変性（RP）、加齢黄斑変性（AMD）などの疾患がある。失明患者は社会との交流だけでなく、独力での生活も困難になる。そのため、失明患者の生活の質（Quality of life：QOL）を向上させる有効な治療法の確立が望まれている。

失われた視覚機能を再建させる治療法として、人工視覚の研究が各国で進められている[13]。人工視覚とは、視覚伝導路の一部を電氣的に刺激することで、外界の光情報に相当する神経電気信号を脳に伝える装置である。視覚伝導路の障害部位よりも中枢側を電気刺激することで、視覚情報に対応する疑似的な光覚を誘発できる。これにより、あたかも電光掲示板に映し出される文字や図形のような疑似視覚を得ることが可能となる。

人工視覚システムは刺激部位と電極埋植位置により分類される[13]（図 2-5）。視覚伝導路に対する代表的な刺激部位は、網膜（網膜刺激型）、視神経（視神経刺激型）、脳視覚野（脳刺激型）の3箇所である[21, 22]（図 2-6）。これらの刺激方法は、視覚伝導路の障害部位によって失明疾患への適用範囲が異なる。網膜刺激型は刺激電極の埋植位置により、網膜上刺激方式、網膜下刺激方式、脈絡膜上刺激方式の3つに分類される[21]。網膜刺激型は網膜神経節細胞以降の機能が残っている疾患に対して有効であり、このような疾患に RP と AMD がある。RP と AMD は視細胞の機能の喪失によって失明に至る疾患であり、有効な治療法は未だ確立していない[23]。しかし、視細胞を喪失した RP や AMD においても、双極細胞や網膜神経節細胞の機能は残存していることが知られている[11]。このような視細胞変性疾患に対して、機能する網膜神経節細胞を電気刺激することで光覚を誘発できる[12]。一方、網膜神経節細胞が障害されている疾患では視神経以降の視覚伝導路を電気刺激する必要があるため、視神経刺激型もしくは脳刺激型が適用となる。網膜神経節細胞が障害される代表的な疾患には緑内障と糖尿病性網膜症がある。

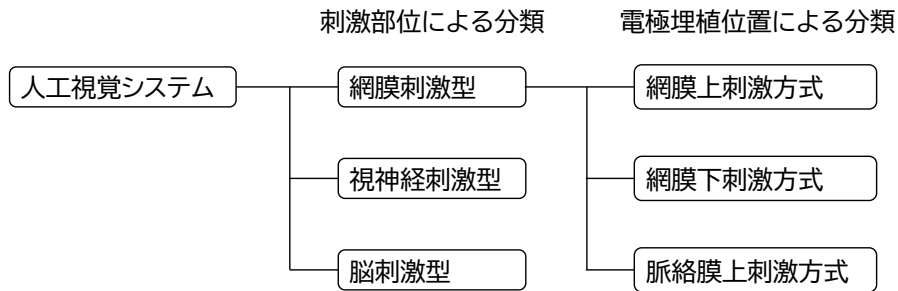


図 2-5 人工視覚システムの分類。視覚伝導路の刺激部位に応じて網膜刺激型，視神経刺激型，脳刺激型の大きく3つに分類される。このうち，網膜刺激型は刺激電極の埋植位置により網膜上刺激方式，網膜下刺激方式，脈絡膜上刺激方式の3つに分類される。

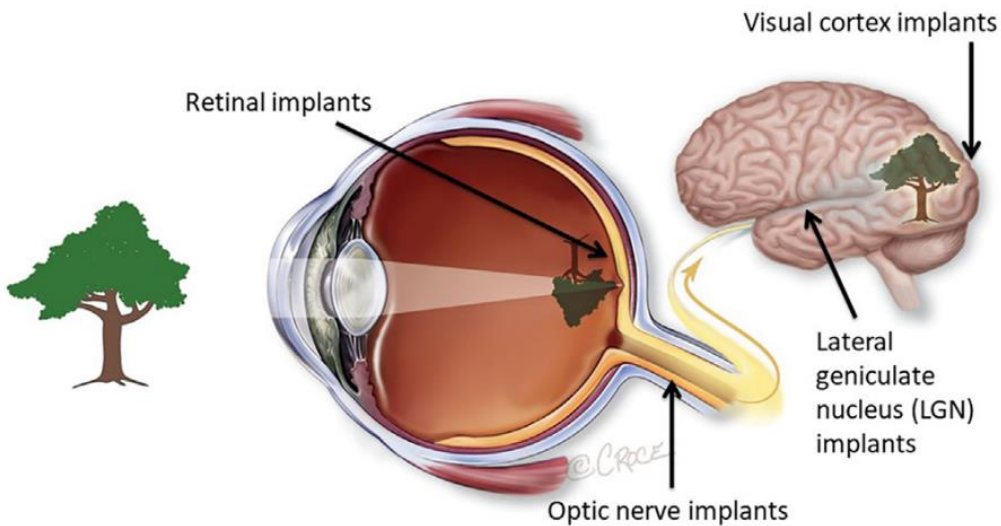


図 2-6 人工視覚システムの刺激対象部位と分類[22]。網膜，視神経，大脳視覚野の3箇所が視覚伝導路における代表的な刺激部位である。人工視覚システムは刺激対象部位に応じて網膜刺激型 (Retinal implants)，視神経刺激型 (Optic nerve implants)，脳刺激型 (Visual cortex implants) に分類される。



## 2.2 人工視覚システムの分類

視覚伝導路における主要な電気刺激部位は、網膜、視神経、大脳皮質（脳視覚野）である。これらを刺激対象とした人工視覚システムの分類を開発事例とともに説明する。

### 2.2.1 網膜刺激型

網膜を刺激対象とした人工視覚システム（人工網膜）は、刺激電極の埋植位置により網膜上刺激方式（Epi-retinal stimulation）、網膜下刺激方式（Subretinal stimulation）、脈絡膜上刺激方式（Suprachoroidal stimulation）に大別される[21]（図 2-7）。

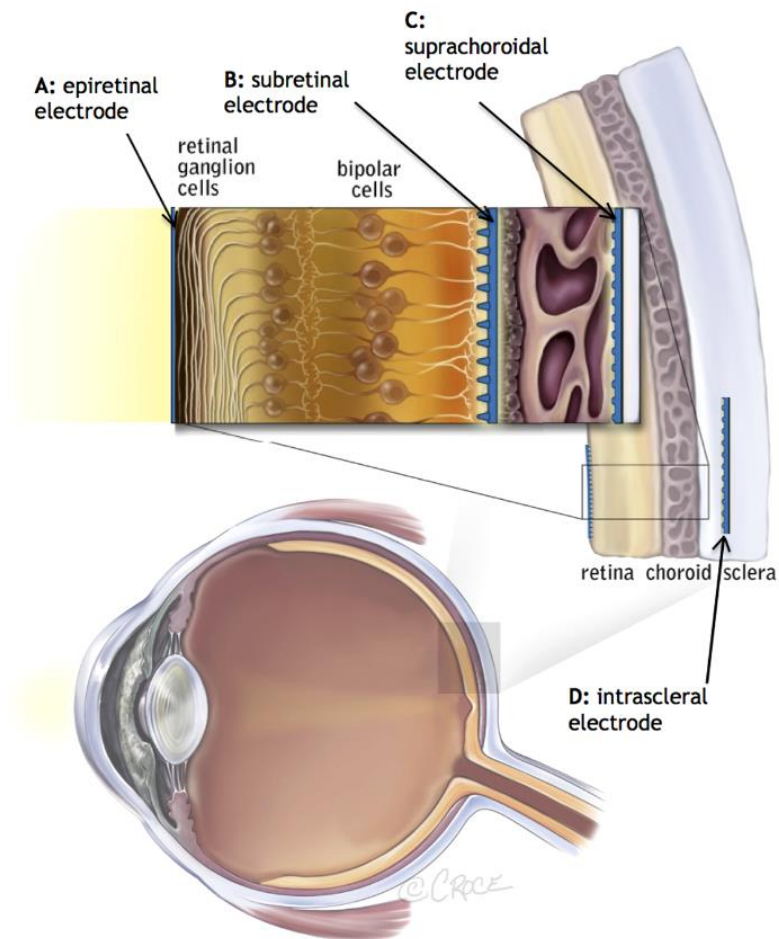


図 2-7 網膜刺激型人工視覚（人工網膜）の代表的な刺激方式[21]. 刺激電極アレイの埋植位置により、網膜上刺激方式（A）、網膜下刺激方式（B）、脈絡膜上刺激方式（C および D）に大別される。

### 2.2.1.1 網膜上刺激方式

網膜上刺激方式は、刺激電極を眼球の内側（硝子体側）から網膜表面に設置する方式である[7]（図 2-8）。刺激電極アレイは網膜タック（釘状の固定具）を用いて網膜表面に密着固定される。これにより、刺激対象の網膜神経節細胞を少ない電荷量で効率よく刺激することができる。本方式の欠点は電極アレイの固定が困難な点にある。網膜タック周辺の網膜組織に炎症が生じると、電極と網膜の密着性が低下して刺激閾値が上昇し、電気刺激による光覚の誘発に支障をきたす。反対に、電極アレイの固定による負荷が強すぎると虚血を生じるとの報告もある[24]。

Second Sight Medical Products 社（米国）の Argus II は、最も成功した人工感覚器「人工内耳」の設計に基づいて開発された視覚再建デバイスであり、米国 FDA 医療機器認証と欧州 CE マークを取得している[22, 25]（図 2-9）。2002 年から 2006 年の臨床試験（NCT00279500）では埋植後 33 ヶ月の追跡調査で重大な有害事象の報告はなく、この装置の長期的な安全性が裏付けられた。埋植した多くの電極において安全限界内の電荷注入密度で光覚を誘発できることを報告している[26]。2006 年に開始した臨床試験（NCT00407602）では、30 名の被験者を対象に安全性と有用性が確認された[26]。直径 200 $\mu$ m の電極 60 極を搭載した電極アレイ（サイズ：9×5.5 mm）は 20°の視野を確保できる[27]。Argus II は世界各国で 350 人以上の患者に移植されてきたが、2019 年に Second Sight Medical Products 社が製造販売の中止を発表して以降、患者への埋植は行われていない[27]。

Pixium Vision 社（フランス）の IRIS II は、2016 年に欧州 CE マークを取得している[22]（図 2-10）。150 極の電極を搭載している点、電極アレイを安全に取り外すことができる分解可能な設計である点、画像取得を効率化したスマートカメラを搭載している点などが特徴である[20]。ゴーグルに搭載されたビデオカメラで取得した画像データは、手元の小型ビデオ処理ユニットで拡大縮小や輝度調整が可能である[28]。2016 年に網膜変性症患者 10 名を対象に、安全性と有効性を評価する臨床試験（NCT02670980）を開始した。長期的な安全性については今後も評価が必要であるが、Argus II と比較して 6 ヶ月時点で妥当な安全性が示された[29]。



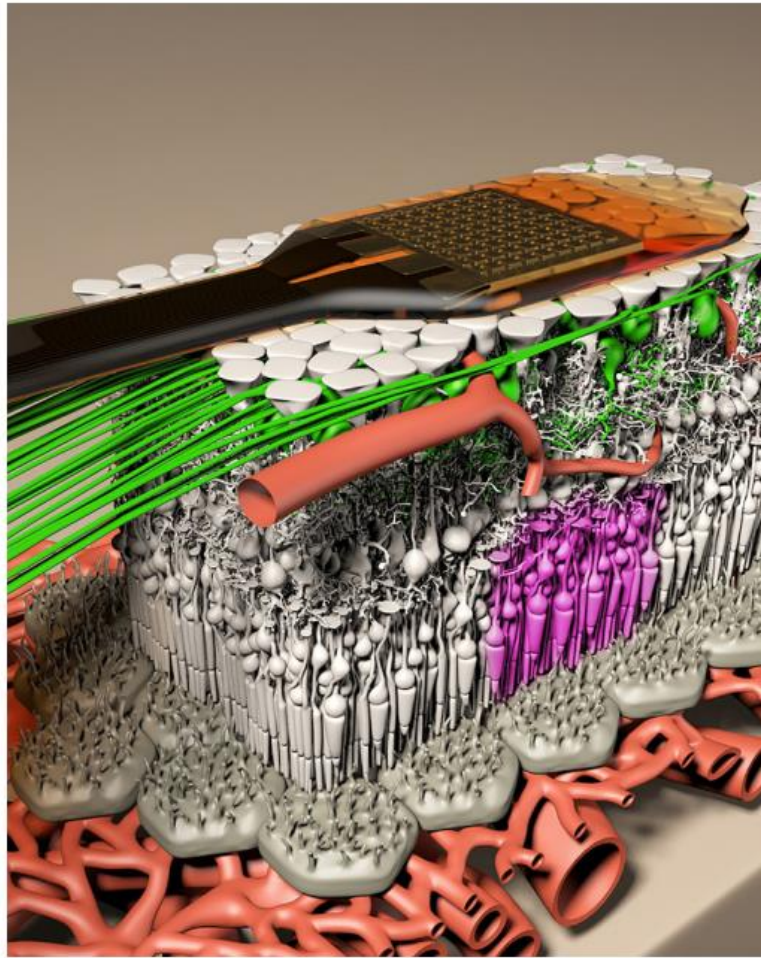


図 2-8 網膜上刺激方式の刺激電極アレイ設置状態[7]. 網膜上に設置された刺激電極アレイ (図上部) は、網膜神経節細胞の軸索ネットワーク (緑色) に近接する. 主な刺激対象は神経節細胞軸索 (より理想的には神経節細胞体) である. これにより、視細胞 (紫色) からの入力とそれ以降の網膜内での情報処理を代替する. 刺激電極アレイは網膜タック (釘状の固定具) を用いて網膜表面に密着固定される.

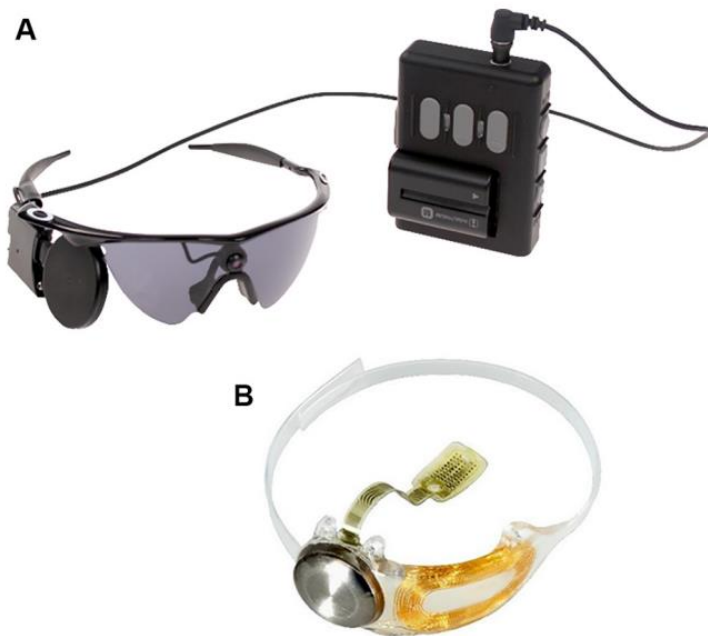


図 2-9 網膜上刺激方式の代表例：Argus II (Second Sight Medical Products 社, 米国) [22]. (A) 体外装置：外界撮影ビデオを搭載したゴーグルとビデオ処理ユニット. (B) 体内装置：刺激電極アレイは網膜タック（釘状の固定具）で網膜上に固定する. 電力および映像データは内部コイルを介して体外装置から受信する.



図 2-10 網膜上刺激方式の代表例：IRIS II (Pixium Vision 社, フランス) [22]. (左) 体外装置：ゴーグルおよびビデオ処理ユニット. (右下) 体内装置：150 極を搭載する刺激電極アレイ.

### 2.2.1.2 網膜下刺激方式

網膜下刺激方式では、網膜と脈絡膜の間に刺激電極アレイを留置する[30] (図 2-11)。そのため、刺激電極アレイを刺激対象の網膜に安定的に固定できることが利点である。一方で、刺激電極を埋植する際に意図的に網膜剥離を形成するため、埋植手術の侵襲性が高い[30] (図 2-12)。加えて、網膜下のスペースが限られるため、埋植できる刺激電極アレイのサイズに制約が生じる。

Retina Implant AG 社 (ドイツ) の Alpha IMS は 2013 年に欧州 CE マークを取得しており、その改良版である Alpha AMS も 2016 年に欧州 CE マークを取得している[30]。開発当初はフォトダイオードアレイの光起電力のみで網膜を刺激する方式であったが、環境光のみでは光覚の誘発に必要なエネルギーが得られないことが判明したため、その後は電磁誘導で電力を供給する方式の開発が進められている。Alpha IMS (図 2-13) には 1,500 極、Alpha AMS (図 2-14) には 1,600 極の刺激電極が搭載されており、現時点で実用化研究が進んでいるデバイスの中では最大の電極数を誇る[22, 31]。2009 年に開始した臨床試験 (NCT01024803) では、末期の遺伝性眼疾患患者 29 名 (RP 患者 25 名、錐体細胞ジストロフィー患者 4 名) に Alpha IMS が埋植され、術後 12 ヶ月以内に 25 名が光を知覚し、21 名に視覚誘導による日常生活作業、認識作業、移動能力の有意な改善が確認された[31]。Alpha IMS は刺激部がハーメチック構造ではなかったため、生体内における耐久性に課題が残っていた。この課題は改良版の Alpha AMS で改善され、予想される装置寿命が Alpha IMS の 3.3 年に対して Alpha AMS では 4.7 年に改善した[32]。

スタンフォード大学 (米国) と Pixium Vision 社 (フランス) が開発を進めている PRIMA は、光起電性マイクロチップアレイを搭載した人工視覚システムである[33] (図 2-15)。眼球内環境を模擬した *in vitro* 評価により、PRIMA は少なくとも 10 年間の耐久性があることが確認されている[34]。AMD 患者を対象とした臨床試験 (NCT03333954) では、PRIMA を埋植した患者 5 名全員が白色と黄色の視覚パターンを認識可能になったとの有望な結果が報告された[33]。網膜上刺激方式の Argus II などとは異なり、PRIMA は受光装置がチップに内蔵されているため外付けカメラを必要としない。ゴーグルに搭載されたビデオカメラで画像を取得し、ゴーグルから近赤外光を網膜下に埋植されたチップに照射する。

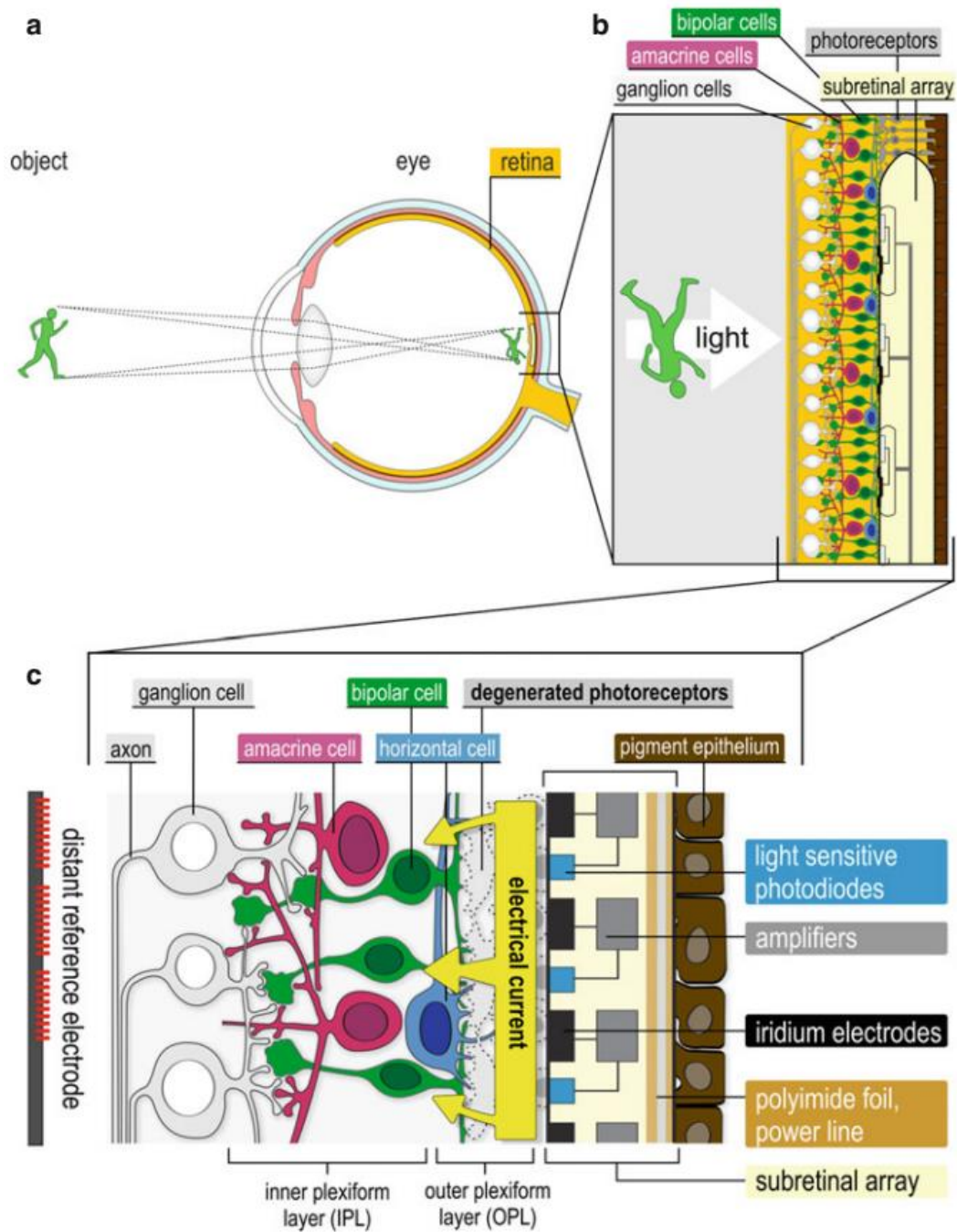


図 2-11 網膜下刺激方式の原理[30]. 外界の光景は眼球の水晶体を通り，網膜下に留置したマイクロフォトダイオードアレイに投影される (a および b). フォトダイオード (青色) から生じる光誘導信号は，増幅器 (灰色) を介して刺激電極 (黒色) に送られる. 刺激電極が網膜内側の双極細胞 (緑色) を電気刺激すると，双極細胞 (緑色)，アマクリン細胞 (赤色)，網膜神経節細胞 (白色) による信号処理が生じる. 処理された情報は網膜神経節細胞の軸索 (白色) を介して脳に伝えられる.

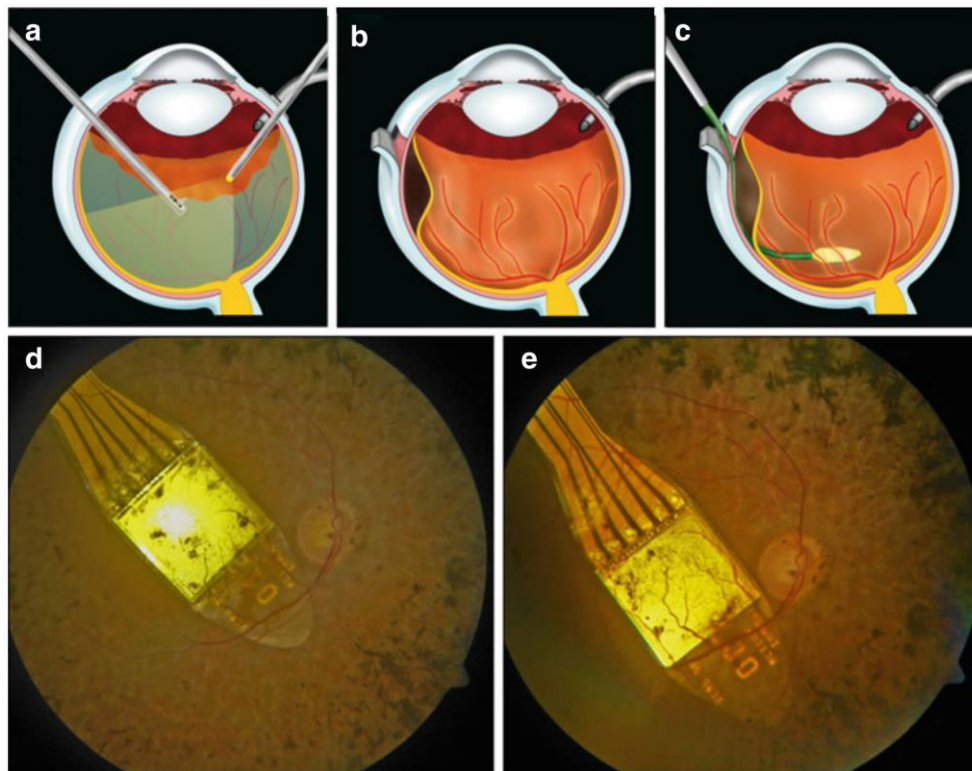


図 2-12 網膜下刺激方式人工網膜 Alpha IMS (Retina Implant 社, ドイツ) の埋植手術[30].  
 (a および b) 刺激電極アレイの設置スペースを形成するために網膜を脈絡膜から剥離する.  
 (c) 作成した網膜下腔に刺激電極アレイを挿入し留置する. (d および e) 刺激電極アレイ  
 留置後の状態.



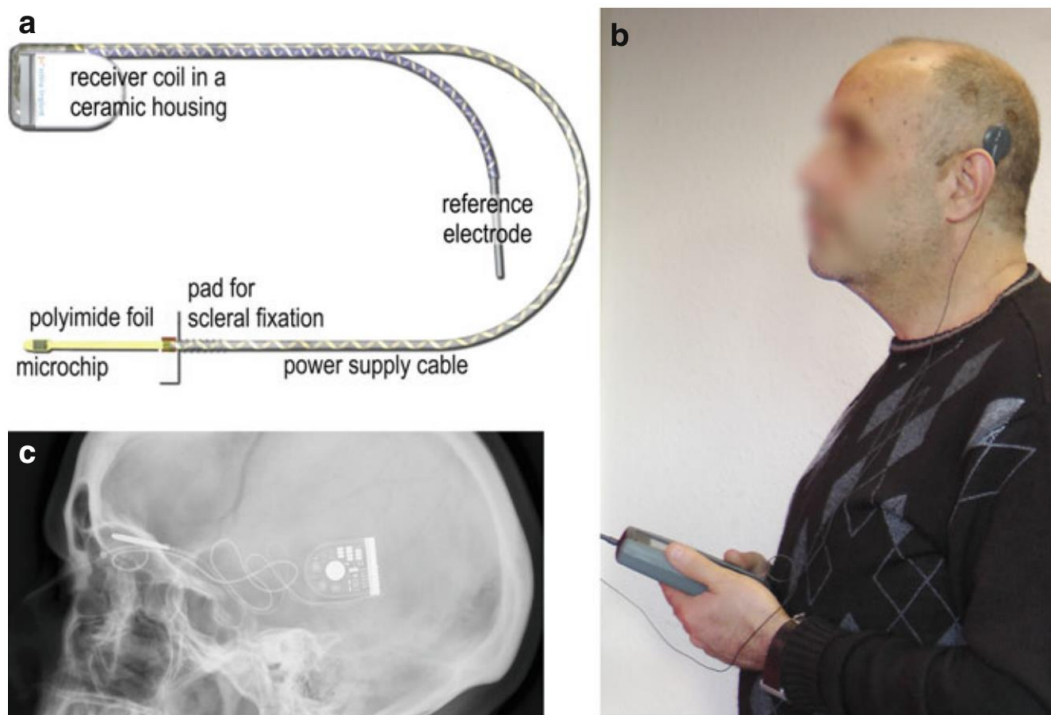


図 2-13 網膜下刺激方式の代表例：Alpha IMS（Retina Implant 社，ドイツ）[31]. (a) 刺激電極アレイ（マイクロフォトダイオードアレイを搭載したマイクロチップ）、受信コイルを格納したセラミックハウジング、電源供給ケーブル、参照電極で構成される埋植装置. (b) 誘導コイルを介して経皮的に電力と信号を無線送信する. 利用者は制御ユニットで装置の ON/OFF, コントラスト, 明るさなどを調節可能. (c) 埋植患者の X 線透視画像. 埋植ケーブルは耳後部皮下の受信コイルから眼窩内腔に配線される.

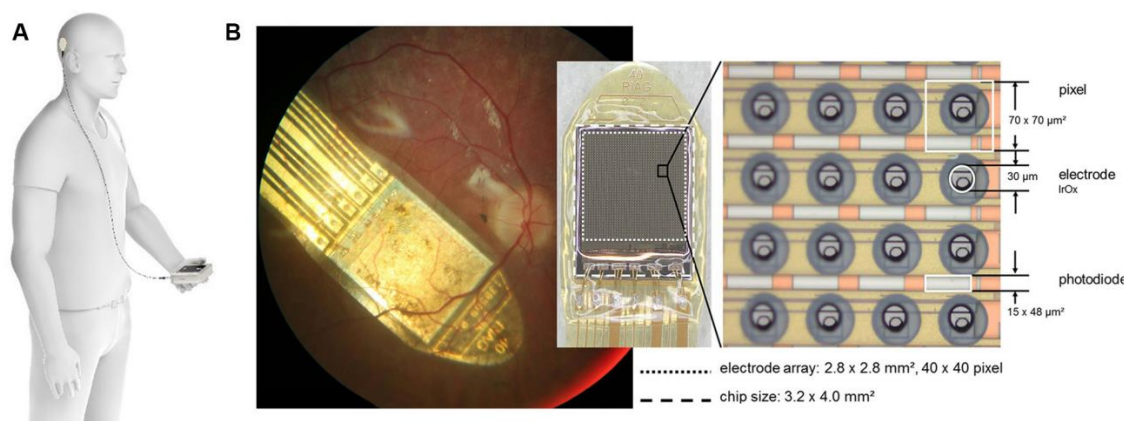


図 2-14 網膜下刺激方式の代表例：Alpha AMS（Retina Implant 社，ドイツ）[22]. (A) 外部コイルと電源ユニット. (B) 網膜下に埋植した電極アレイと光起電力ダイオードアレイの拡大図. 光起電力を利用するため，他の人工網膜のようにゴーグルに搭載された撮影カメラは使用しない.

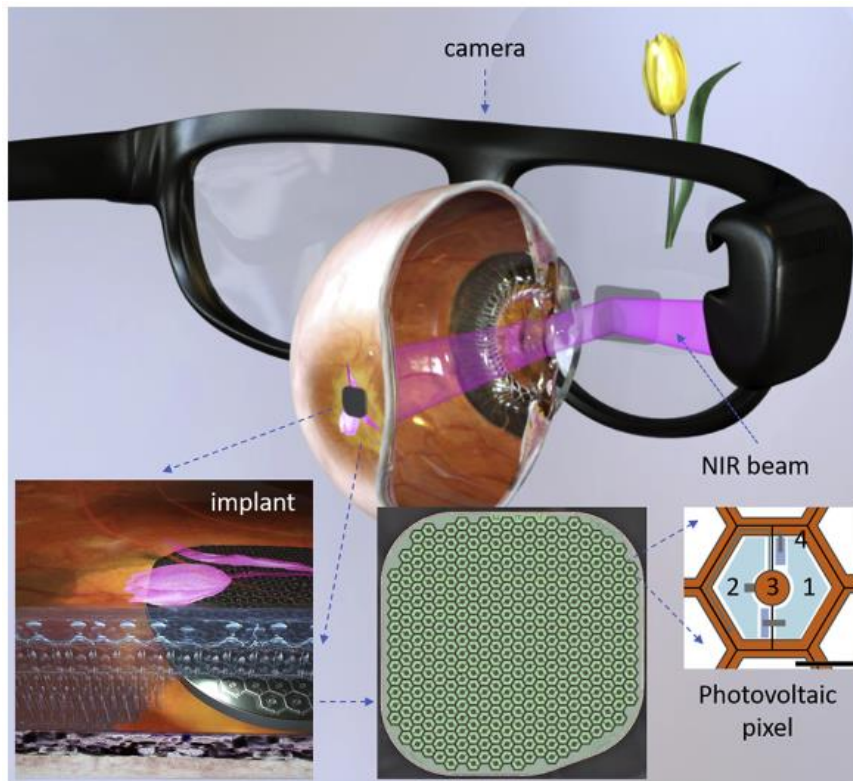


図 2-15 網膜下刺激方式の代表例：PRIMA システム（米国スタンフォード大学およびフランス Pixium Vision 社） [33]。ゴーグルから近赤外パルス光を網膜に照射する。フォトダイオードアレイで近赤外パルス光をパルス電流に変換し、近傍の網膜神経節細胞を刺激する。各ピクセルには2つのフォトダイオード（1 および 2）、アクティブ電極（3）、リターン電極（4）を搭載する。

### 2.2.1.3 脈絡膜上刺激方式

脈絡膜上刺激方式は、脈絡膜と強膜の間に形成した脈絡膜上腔に刺激電極アレイを留置する方式である[35]。埋植手術では硝子体内の処置が不要なため他の2つの方式に比べて侵襲性が低く、網膜損傷リスクを低減できる[36] (図 2-16)。加えて、脈絡膜上腔内に比較的大きな電極アレイを留置可能なため、大型の電極アレイを留置して広い視野を確保できる[35]。しかし、刺激電極と網膜との距離が長くなるため、光覚を惹起するためには他2つの方式よりも大きな刺激電流が必要となる。そのため、電気刺激の安全性の確保とともに、誘発する光覚の空間分解能の確保が大きな課題である[35, 37]。

大阪大学を中心とする日本の研究グループは、強膜を切開して作成したポケット内に刺激電極アレイを留置する脈絡膜上経網膜刺激 (Suprachoroidal-transretinal stimulation : STS) 方式を考案した[38-40]。体内装置の刺激電極には49極の電極を搭載し、マルチプレクサが数本の配線で接続されている (図 2-17)。体内装置の本体 (Decoder および Stimulator) では刺激電流パルスが生成され、マルチプレクサによって刺激する電極が選択される。刺激電極とマルチプレクサは一体化されており、マルチプレクサはハーメチックシールされている。2014年に実施した臨床試験 (RP患者3名を対象とした1年間の埋植試験) では、重大な合併症を起こすことなく光覚を誘発することに成功した[37]。近年では視野拡大に向けたデュアルアレイの開発を進めており、ビーグル犬6頭への4か月間の埋植評価で有害事象が生じないことを確認している[41]。

オーストラリアの Bionic Vision Australia (BVA) コンソーシアムも本方式の開発を進めている[42-45] (図 2-18)。BVA はさまざまな研究機関の研究者からなる共同チームであり、広視野の脈絡膜上刺激方式および高解像度の網膜上刺激方式の実現を目指し、複数のプロトタイプを同時に開発している。2012年から2014年に実施した臨床試験では、初期のプロトタイプをRP患者3名に埋植し、安定的に機能することを確認している[21]。

その他、韓国の研究グループも、脈絡膜上刺激方式の開発を進めている[46, 47]。



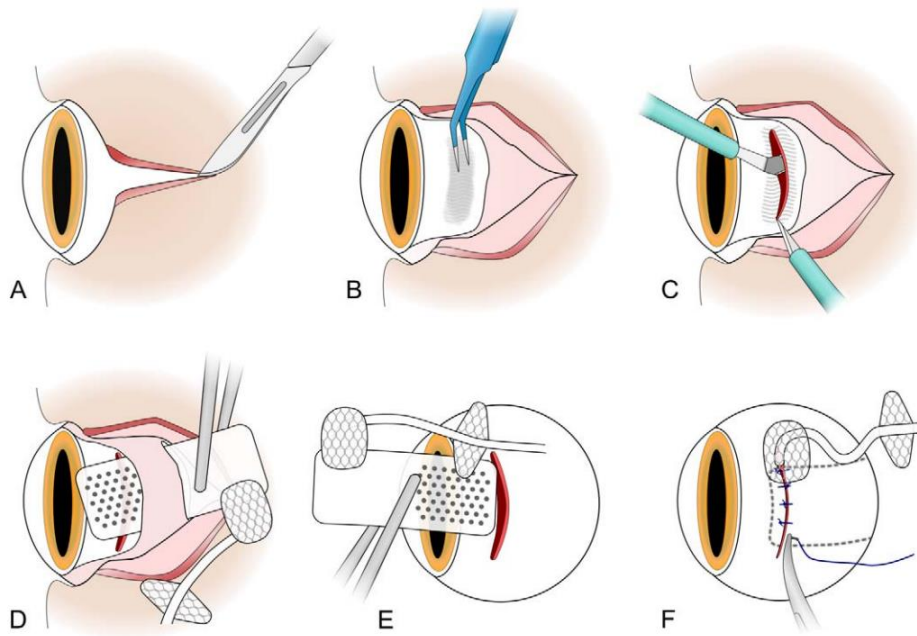


図 2-16 脈絡膜上刺激方式の刺激電極アレイ埋植手順の一例[36]. (A-C) 強膜の一部を切開し，脈絡膜上に強膜ポケットを形成する．(D-F) 刺激電極アレイを強膜ポケットに挿入し留置する．

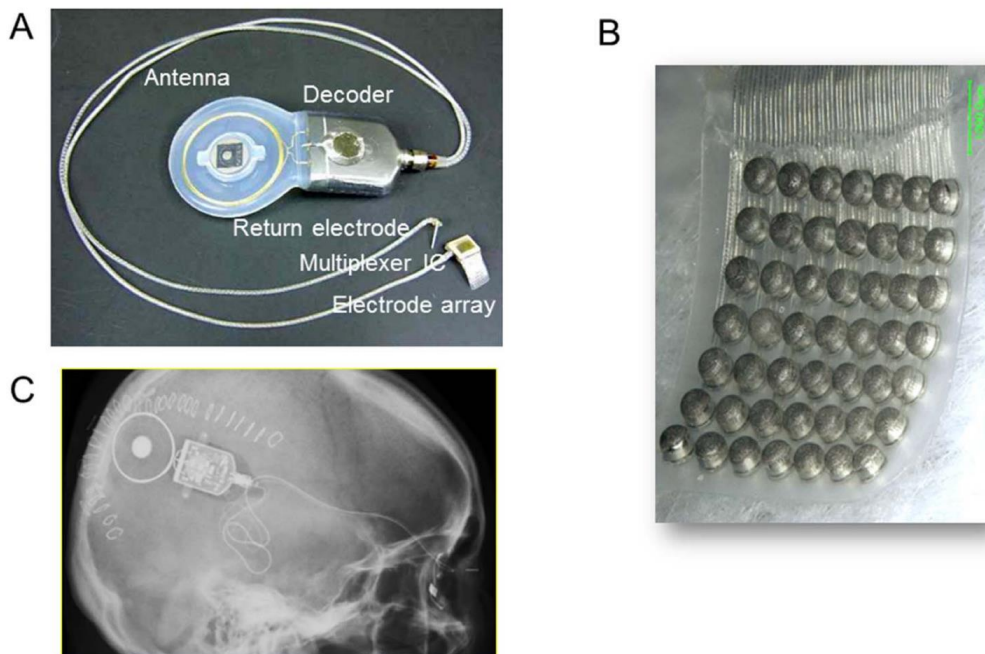


図 2-17 脈絡膜上刺激方式の代表例：脈絡膜上経網膜刺激（STS）方式人工網膜の体内装置（大阪大学，ニデック社，日本）[37]. (A) 体内装置，(B) 刺激電極 49 極を搭載した刺激電極アレイ，(C) 体内への埋植状態．

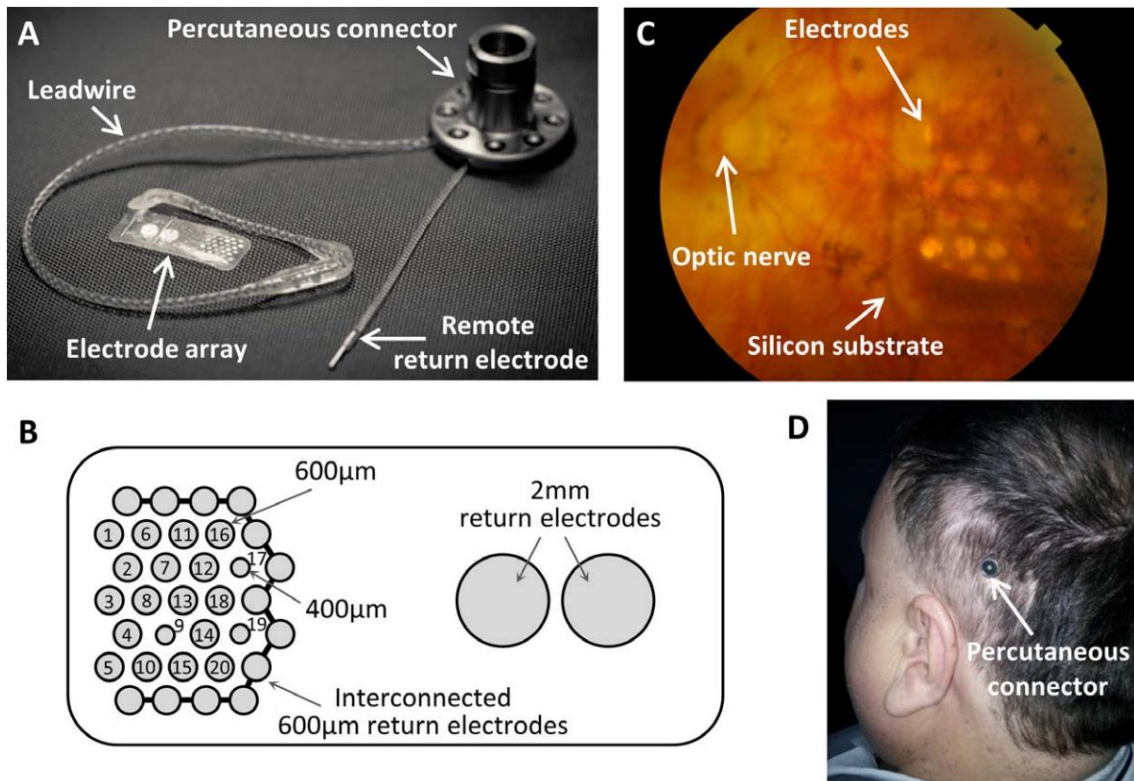


図 2-18 脈絡膜上刺激方式の代表例：Bionic Vision Australia (BVA) コンソーシアム（オーストラリア）が開発したプロトタイプ[44]。(A) 脈絡膜上腔に埋植する刺激電極アレイは、配線と経皮的コネクタを介して体外装置に接続される。(B) 刺激電極アレイ。刺激電極 20 極とリターン電極（相互接続された 13 極および大電極 2 極）を搭載する。(C) 眼底像。脈絡膜上腔に埋植された刺激電極アレイが網膜と脈絡膜を介して確認できる。(D) 経皮コネクタは耳後部に設置され、埋植した刺激電極アレイに直接接続する。

## 2.2.2 視神経刺激型

視神経刺激方式は、網膜神経節細胞から外側膝状体までの情報伝達を担う視神経を電気刺激する方式である。視神経に巻き付けて装着するカフ電極[48]や、眼球の内側から視神経乳頭を刺激するワイヤー電極[49]で刺激を行う。本方式の利点には、刺激部位が外科的にアクセスしやすい点、刺激対象である視神経への電極固定が容易である点、全視野に対する刺激が可能な点などがある。しかし、約100万本の視神経線維の束に対して数極の電極で特定の神経サブセットを選択的に刺激することは困難である[35, 50] (図2-19)。加えて、レチノトピーが網膜や大脳皮質ほど明確にはなっておらず、意図した空間認知の誘発は困難とされている。誘発した光覚の一貫した空間マップの生成が可能であることは示されているが、このマップの形状は不規則であり、かつ患者によって異なる点が課題である[35]。

ベルギーの研究グループは、4つの刺激電極を搭載したスパイラルカフ電極を開発し、RP患者で光覚を誘発できることを報告した[48]。加えて、視神経刺激による知覚閾値、誘発した光覚の輝度、大きさ、位置の関係を評価し、これらと刺激パラメータの関係を分析している[51]。

スイスとイタリアの研究グループは、Optic SELINE と呼ばれる薄くて柔軟な神経内電極アレイを開発し[52]、視神経の異なる部分を選択的に活性化 (図2-19右) することで、ウサギの一次視覚野に空間的な皮質活性化パターンを誘導した[52, 53]。今後は臨床試験に移る前に装置の長期的な機能性と生体適合性を検証する方針で研究を進めている[50]。

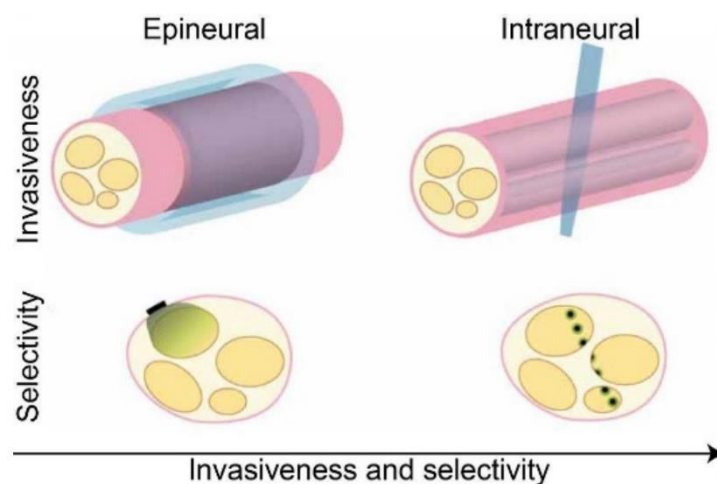


図2-19 視神経刺激型の特徴[35]：(左) 視神経表層からの刺激。(右) 視神経内に刺入した電極による刺激。空間分解能を向上させるには特定のサブセットを刺激する必要があるが、神経束中の特定の神経サブセットを選択的に刺激することは容易でない。

### 2.2.3 脳刺激型

脳刺激型は、大脳皮質後頭葉の一次視覚野（V1）に設置した刺激電極アレイで刺激する方式である。網膜神経節細胞や視神経の機能喪失となる疾患（緑内障、糖尿病性網膜症、末期の RP など）に対して有望な刺激法である。1968 年に Brindley と Lewin は無線で動作する 3 つの電極アレイを開発し、大脳視覚野に埋植して光覚を誘発することに成功した[9]。1970 年代に Dobbie らが大脳一次視覚野に表面電極を設置し、電気刺激を行うことで対象物の認識が可能になることを報告した[54]（図 2-20）。Dobbie らは長期間にわたって電極の埋植実験を行ったが、比較的大きな電極を脳表面に設置しており、刺激に伴う脳や頭皮への痛みやてんかん性の発作がたびたび生じたことが報告されている。この Dobbie らの報告以降、脳刺激型の人工視覚の研究は停滞した。

近年、複数の研究グループで脳刺激型人工視覚の研究開発が進められている[55]。米国 Second Sight Medical Products 社（米国）は 60 個の表面電極を搭載した Orion の開発を進めており、既に 6 名の患者に埋植されている[56]。オーストラリアの Monash Vision Group (MVG) は、43 極の刺激電極を搭載したモジュール 11 個から成る GENNARIS の開発を進めている[35, 57, 58]（図 2-21）。2001 年に Fernandez らが報告した CORTIVIS（Miguel Hernández University of Elche）は、100 極を搭載したユタ電極アレイを用いている[35]。イリノイ工科大学を中心とした Intracortical Visual Prosthesis (ICVP) グループは、2000 年頃より 16 極の電極アレイを搭載したシステムの開発を進めている[35, 59]。

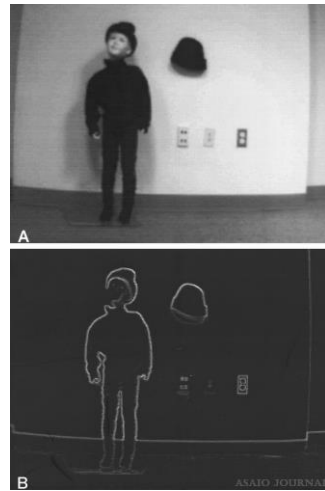
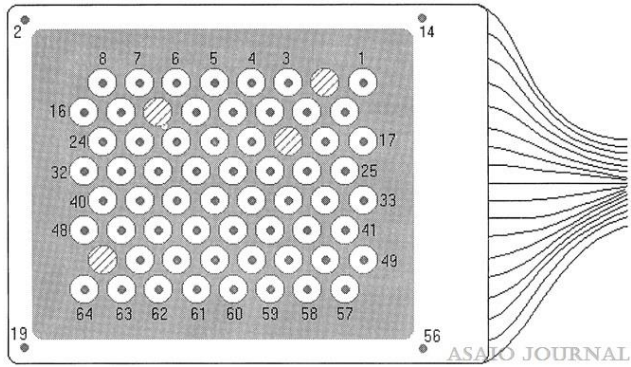
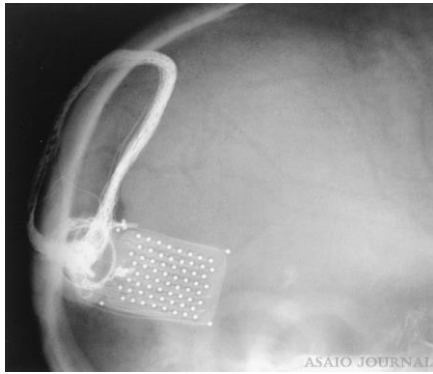


図2-20 脳刺激型の代表例:Dobelleらの研究グループによる脳刺激型人工視覚システム[54].



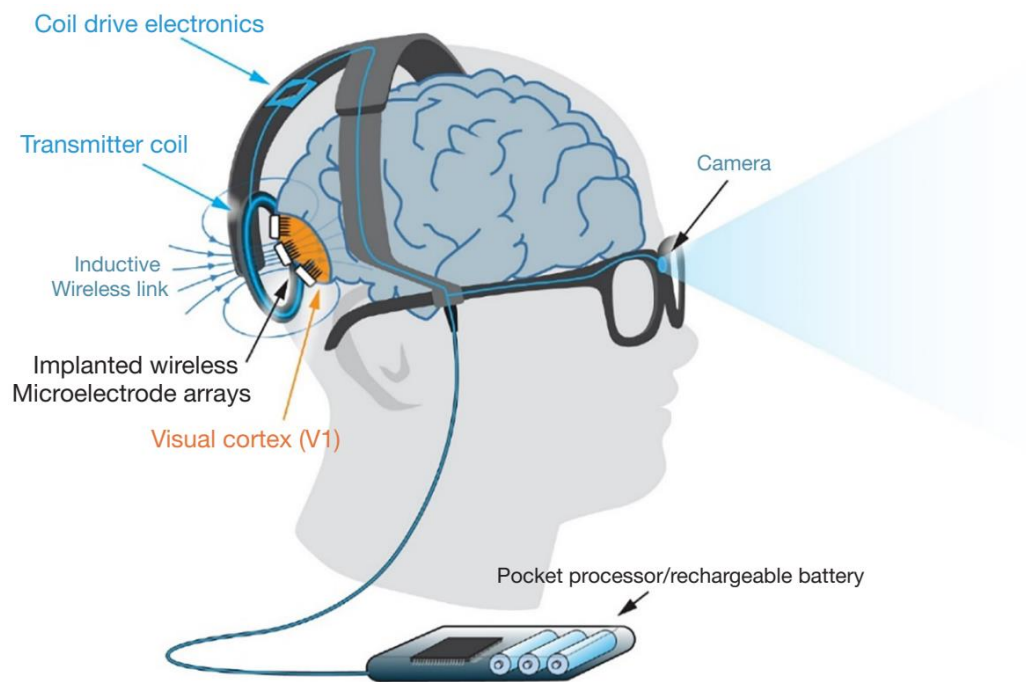


図 2-21 脳刺激型の代表例：GENNARIS システム [Monash Vision Group (MVG), オーストラリア] [58]. ゴーグル型カメラで外界情報を取得後、デジタル化されたデータをポケットプロセッサに送信する。処理された画像データは、大脳視覚野に埋植された刺激電極アレイに誘導コイルを介して無線送信される。刺激電極には各 43 極の電極を搭載した 11 個のモジュールから成る刺激電極 (GENNARIS アレイ) を使用する。

## 2.3 金属製刺激電極の電気化学特性

生体内に埋植した刺激電極で神経系を電気刺激すると、神経細胞膜上の電位依存性チャネルが活性化され、人工的に神経興奮を誘発できる。神経刺激システムに用いる刺激電極は、長期間の通電に伴う生体内の過酷な環境にさらされる。そのため、刺激電極は埋植に伴う生体反応（異物反応およびカプセル化）に加え、通電に伴う酸化還元反応や pH 変化に耐えながら数十年間にわたり安全かつ有効に機能する性能が求められる。

生体内に埋植する刺激電極には容量性電極が用いられる[60]。理想的な容量性電極は、周囲の電解質と反応しない不活性金属材料からなり、電荷移動反応（酸化還元反応）に伴う電極の劣化（腐食および溶出）や生体組織の損傷（生体組織の不可逆的变化、毒性物質の生成、pH 変化、等）を起こさない。代表的な容量性電極には、人工内耳で利用される白金（Pt）電極や、ペースメーカーに利用されるチタン（Ti）電極およびタンタル（Ta）電極などがある[61]。容量性電極の界面では電荷移動反応（酸化還元反応）が生じないため、単位面積あたりに注入可能な電荷量（電荷注入能力）に限界がある。この欠点を補うため、電極サイズが制限されるアプリケーションでは、多孔化による表面積の拡張や高性能材料の利用といった手法が利用される[61]。

安全かつ有効な刺激性能を生体内の過酷な環境下で長期間維持する刺激電極を設計するためには、生体内長期通電に伴う刺激電極の電気化学特性を理解することが不可欠である。本節では、刺激電極の界面で生じる現象を概説し、刺激電極の刺激性能を評価する上で考慮すべき事項を示す。

### 2.3.1 電気二重層の形成

電解質溶液中に金属電極を浸すと、その界面で電極電位に応じた電気二重層が形成される。強い電気双極子モーメントを示す水分子は電極電位の影響を受け、電極表面に配向する。この水分子の配向プロセスは非常に速く、電極表面に水分子の層を形成する。これに続き、電極電位により生じる電場で引き寄せられた荷電イオン（水和状態）が電極に向かって移動する。生理的環境下では、帯電した電極表面に Helmholtz-Debye 二重層が形成される[62] (図 2-22)。第一層は金属表面に形成された層であり、電解質溶液中のイオンや電気化学反応生成物を含むこともある。第二層はイオン濃度がバルク溶液中（溶液全体）よりも高いイオンまたは低いイオンで構成される。これらのイオンは静電気力の作用を受けており、より可動性が高い状態で存在する[62]。

電気二重層は電気的にはキャパシタのように振る舞う。電極電位の変化に伴い、電気二重層は急速に変化する。電極電位が反転すると、水分子の双極子は 180 度回転し、イオンの放出／吸引が生じる。

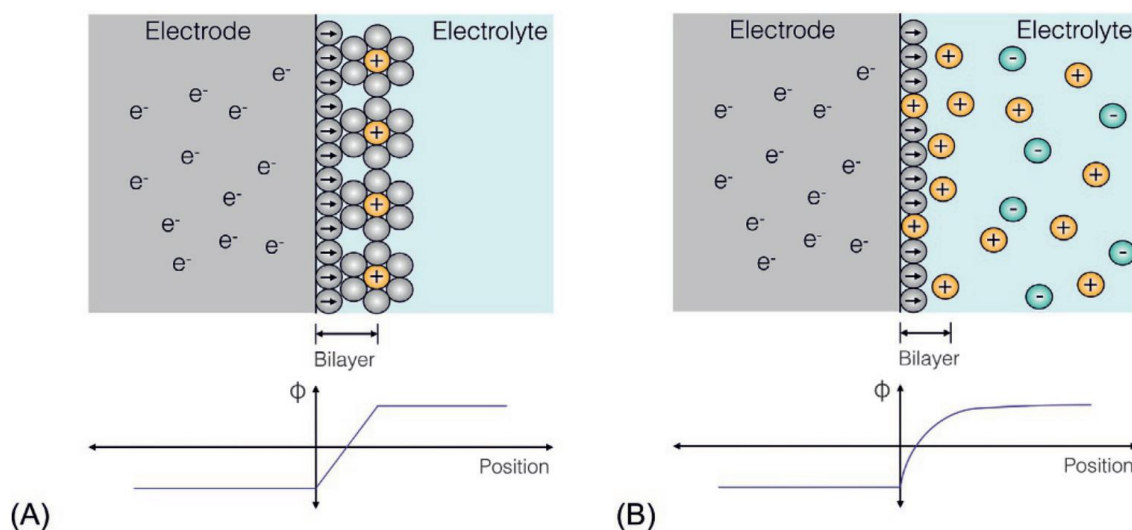


図 2-22 電極界面に形成する電気二重層モデル[62]. 電気二重層の概念図（上段）とその厚さ方向の電位変化（下段）を示す。(A) Helmholtz モデル. 電極表面から直線的に電場が直線的に変化する。(B) Gouy-Chapman モデル. 電気二重層の厚さ（ $\sim 1$  nm: 水分子数個程度）は電解質の濃度に依存する。低濃度の電解質溶液では電気二重層厚は増大し、厚さ方向の電位変化は非線形となる。



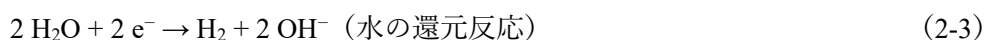
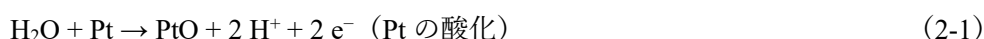
### 2.3.2 電気刺激に伴う電流（容量性電流，ファラデー電流）

外部電源により電極電位が変化すると，電解質溶液（生体組織）中のイオンの再分配（電気二重層の充放電）が生じ，電極-生体組織間に電荷移動を伴わない電流（容量性電流）が生じる．容量性電流は有害な不可逆的反応を伴わない安全な電流であるため，生体刺激として望ましい電流成分である[62]．

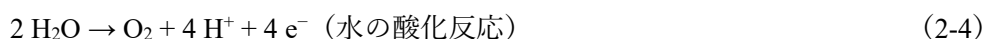
一方，電極電位の変化が大きくなると，電極界面で電荷移動反応を伴う電流（非容量性電流）が生じる．これをファラデー電流といい，可逆的ファラデー電流と不可逆的ファラデー電流に分類される．電荷平衡型の交流を通電する場合，電気化学反応によって生じた生成物が電極近傍に存在したままであれば，生体組織や電極が損傷する前に逆反応を生じさせることができる（可逆的ファラデー反応）．代表的な可逆的ファラデー反応は，Pt 電極における金属酸化物の形成（式 2-1）や Pt-水素錯体の形成（H 原子吸着：式 2-2）である[62]．

電極電位がさらに大きく変化すると電極や電解質の不可逆反応が生じ，通電とともに電極の溶出（劣化）や生体組織の損傷を引き起こす．これは，可逆的ファラデー反応の生成物の一部が電極近傍から除かれる場合（例：気体発生や生成物の拡散など）にも生じる．代表的な不可逆的ファラデー反応には，水の酸化還元反応（酸素ガスおよび水素ガスの発生：式 2-3 および式 2-4）や塩化物イオンの酸化反応（塩素ガスの発生：式 2-5 および式 2-6）がある[62]．

電極界面で生じるファラデー反応の例：



短パルスの通電であれば，溶液中に可溶性少量の  $\text{H}_2$  しか発生せず，可逆的な状態を維持する．しかし，反応が過剰に生じると溶液中に溶解できない量の  $\text{H}_2$  がガスとして放出されるため，不可逆的反応となる．pH 上昇（ $\text{OH}^-$  の生成）により生体組織に損傷が生じる．

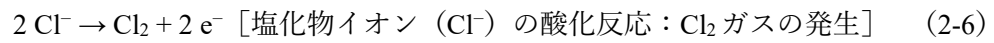


溶液からの  $\text{O}_2$  ガス発生により不可逆的反応となる．溶液中に溶解したまま少量の  $\text{O}_2$  が生成されるだけであれば可逆的反応であるが，反応が過剰に進み，反応性の高い電子

(e<sup>-</sup>) とプロトン (H<sup>+</sup>) が過剰に生体側に放出される場合は有毒な反応となる。また、酸性環境中の O<sub>2</sub> は非常に有毒な H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を生成する。



安定な白金錯体の生成反応により白金電極が腐食する。



有毒な塩素ガスの発生により生体組織に損傷が生じる。

### 2.3.3 通電時に電極界面で生じる現象

電極に刺激電流を通電する際、電極界面では容量性反応とファラデー反応がオーバーラップしながら生じる。電極界面で生じる反応は、電極に通電する刺激電流値の増大に伴い、可逆的で安全な容量性反応から（潜在的には安全でない）可逆的ファラデー反応を経て、有害な不可逆的ファラデー反応へと移行する[63]（図 2-23）。通電する電流パルスのパルス振幅、パルス幅、繰り返し周波数などが増加すると、可逆的反應から不可逆的反應に移行する可能性が高まる[63]。

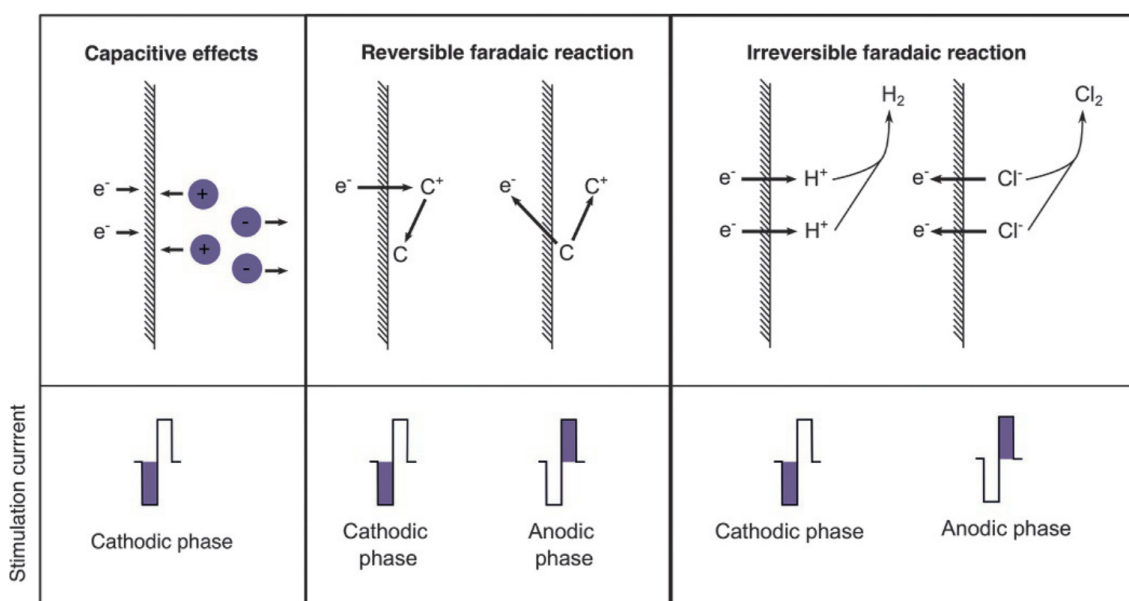


図 2-23 電極界面で生じる電荷移動反応の変化[63]。 (左) 容量性反応：刺激電流パルスの Cathode 相では、電極への注入電荷により陽イオン（正電荷）の吸引と陰イオン（負電荷）の反発が生じる。これにより、電極-電解質溶液間の電荷移動反応が生じることなく、生体組織に刺激電流を通電することができる。(中央) 可逆的ファラデー反応：電極界面の電気二重層を越えて電極-電解質溶液間の電荷移動反応が生じる。電極内の自由電子 ( $e^-$ ) が電解質溶液中の陽イオン ( $C^+$ ) と反応する。生成物 (C) が電極の近傍に留まる場合、後続する Anode 相で逆反応が生じるため、二相性パルス全体では可逆反応となる。(右) 不可逆的ファラデー反応：Cathode 相の生成物が電極近傍から除かれる場合、後続する Anode 相で逆反応に利用できず各相の電荷移動量に不均等が生じるため、不可逆的の反応となる。この場合、Anode 相では別の不可逆的な酸化還元反応（電極溶出やガス発生など）が生じうる[61]。

### 2.3.4 白金電極の界面で生じる現象

電解質水溶液中で Pt 電極の電位掃引を行うと、水の電気分解が生じる電位 [O<sub>2</sub> ガス発生：+1.23 V vs 標準水素電極 (Standard hydrogen electrode: SHE), H<sub>2</sub> ガス発生：-0.83 V vs. SHE] の間で複数の可逆反応 (容量性反応および可逆的ファラデー反応) が生じる [61, 64] (図 2-24). この電位範囲を「水の電位窓」といい、有害な不可逆反応が生じない安全な刺激条件の指針とされる。(但し、これは厳密には正しくない。電極電位が水の電位窓内であっても多少の不可逆的ファラデー反応は生じる [65, 66]. しかし、生体内の緩衝作用により、多少の不可逆反応が生じたとしても、生体組織に直ちに損傷が生じることはない [67].)

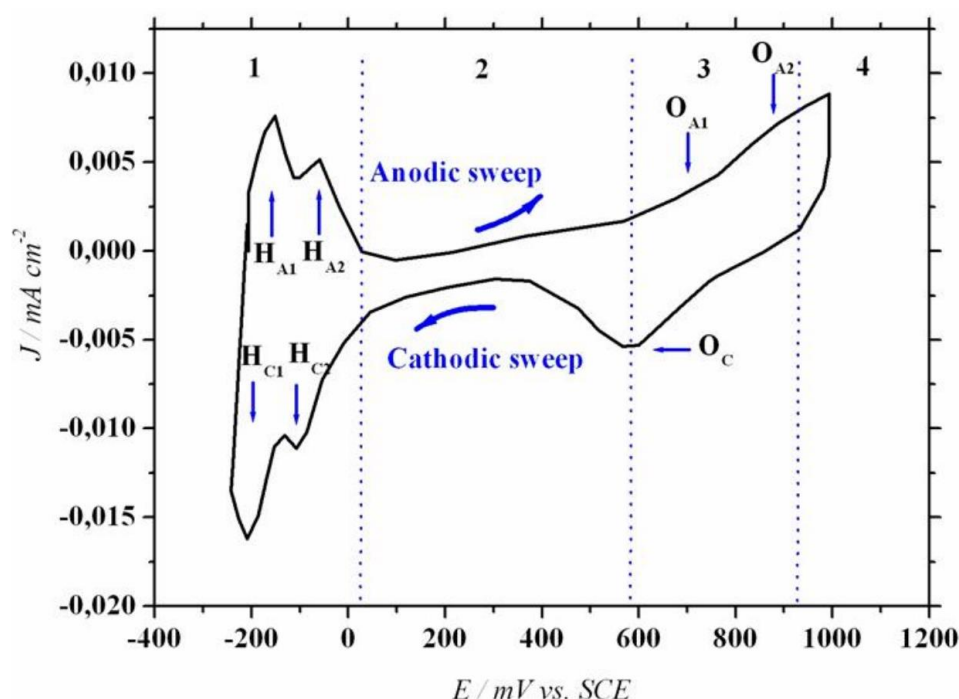


図 2-24 Pt 電極のサイクリックボルタモグラム (CV) [64]. 電極電位の変化に伴い、水素の吸着 (H<sub>C1</sub> および H<sub>C2</sub>: Pt-H ← Pt) と脱離 (H<sub>A1</sub> および H<sub>A2</sub>: Pt-H → Pt) および水素発生 (領域 1), 電気二重層の充放電 (領域 2), 白金の酸化 (O<sub>CA1</sub> および O<sub>CA2</sub>: Pt → PtO → PtO<sub>2</sub>) および酸化白金の還元 (O<sub>C</sub>: Pt ← PtO ← PtO<sub>2</sub>) (領域 3), 酸素発生 (領域 4) が生じる. CV 両端の電位 (水の酸化電位および還元電位) の間では複数の可逆反応が生じる. [作用電極: Pt 線 (表面積 0.04 cm<sup>2</sup>), 対向電極: Pt プレート (表面積 1 cm<sup>2</sup>), 参照電極: 甘汞電極 (Saturated calomel electrode: SCE), 測定条件: 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液, 24°C, 掃引速度 50 mV/s]

### 2.3.5 電極界面の等価回路モデル

電極界面の電気化学的特性は、ファラデー経路と非ファラデー経路を有する Randles 型回路モデルで表される[61] (図 2-25). 定電流パルスを作用電極 (Working electrode : WE) と対向電極 (Counter electrode : CE) の間に通電すると, WE 電位は過渡的に変化する[61] (図 2-26). 通電直後は, 電解質溶液 (生体組織) の溶液抵抗により電圧降下 ( $iR$  drop) が生じ, WE-CE 間の電圧測定値に重畳する (図 2-26a). 刺激電流パルス中は電気二重層 ( $C_d$ ) の充電により電位が上昇し (図 2-26b), WE 電位の増大に伴い酸化還元反応が起こり始める (図 2-26c および d). 電極電位が水の電位窓を逸脱すると水の電気分解が生じ, 電流の大部分がファラデー経路へ分流することになる.

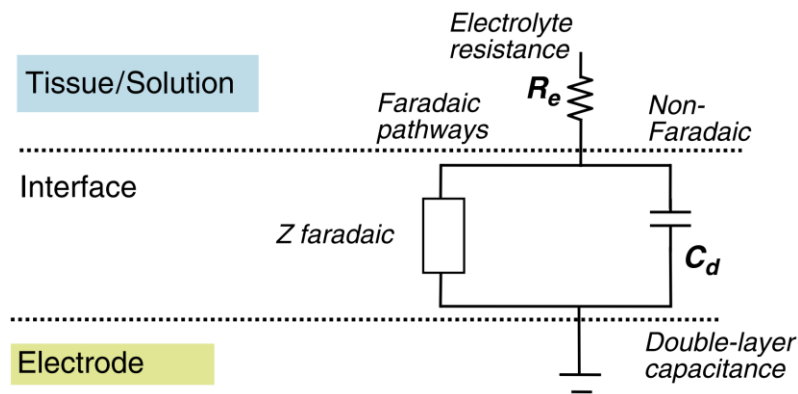


図 2-25 Randles 型回路モデル[61]. ファラデー電流経路 (左経路) および非ファラデー電流経路 (右経路) を反映する. 生体組織/電解質溶液 (上段) と電極 (下段) の間の電極界面は  $Z_{\text{faradaic}}$  と  $C_d$  の並列回路で表せる. [ $R_e$ : 溶液抵抗,  $Z_{\text{faradaic}}$ : 電荷移動 (ファラデー) インピーダンス,  $C_d$ : 電気二重層容量]

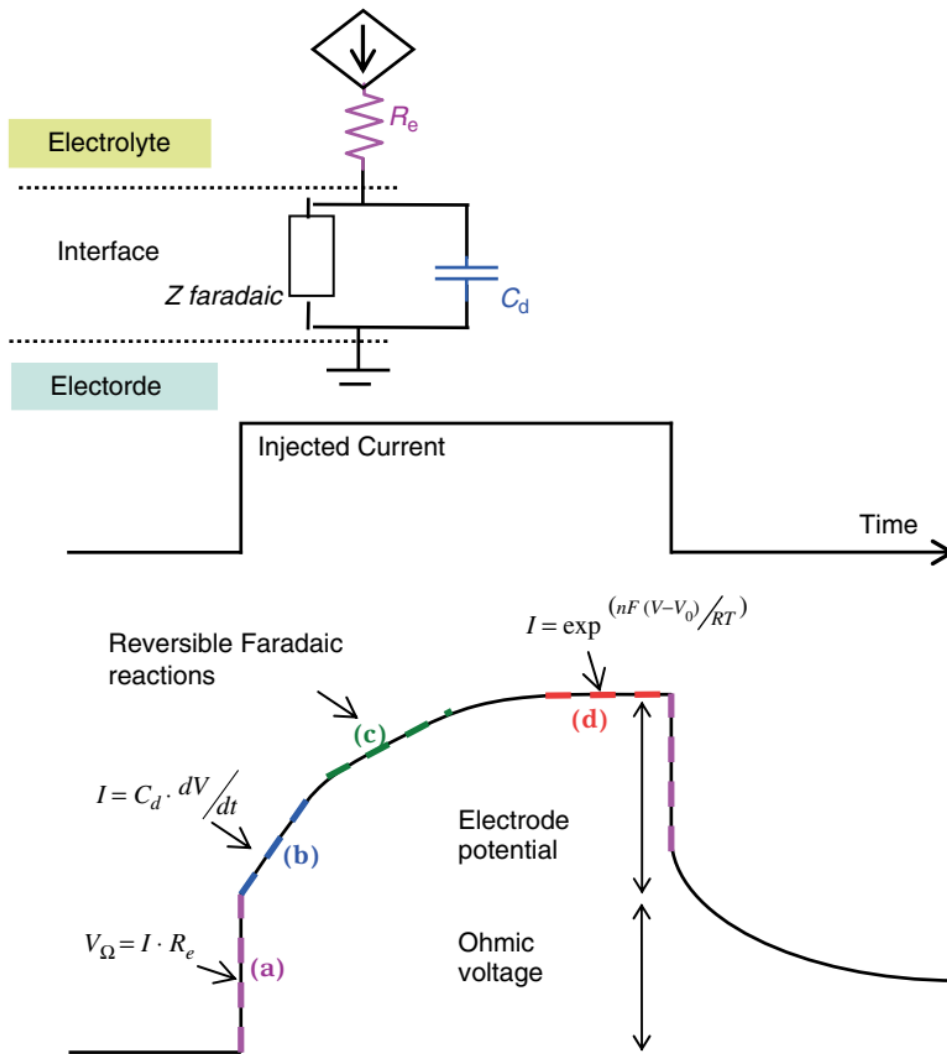


図 2-26 定電流刺激パルスに対する電極電位の過渡的変化[61]. [ $R_e$ : 溶液抵抗,  $Z_{\text{faradaic}}$ : 電荷移動 (ファラデー) インピーダンス,  $C_d$ : 電気二重層容量]

## 2.4 網膜刺激電極に対する要求性能

### 2.4.1 電気刺激の安全性

通電時の安全性を保証するためには、容量性電流もしくは可逆的ファラデー電流のみが生じ、有害な不可逆的ファラデー電流の発生を回避することが理想である。安全性を示す代表的な指標に電荷注入能力（Charge injection capacity：CIC）がある。CICは、電極電位が水の電位窓（白金電極では $-0.6\text{--}+0.8\text{ V vs Ag/AgCl}$ ）を逸脱することなく注入可能な最大電荷密度と定義される[68, 69]。

CICの計測では、まずWEとCEの間に通電し、参照電極（Reference electrode：RE）基準のWE電位が水の電位窓を越えない最大電流値を求める。次に、その最大電流値を電極の幾何学的面積と電流パルス幅を考慮して最大電荷注入密度に換算し、これをCICとして求める。しかし、WE電位測定値には*iR drop*が重畳しているため、その影響を除く必要がある。この補正方法には大きく2つの手法がある。1つはWE電位測定値から*iR drop*を差し引いて求める方法である[61, 69]（図 2-27）。二相性パルス電流を通電する際、最初の直線的な電位の立ち上がり部分が*iR drop*（溶液抵抗に起因する電圧降下）に相当する。この*iR drop*値をWE電位測定値から差し引くことで補正し、真の電極電位を求める。もう1つは第1相と第2相のパルス間に非通電期間（Interpulse gap）を挿入する方法である[16, 69]（図 2-28）。非通電時は*iR drop*が生じないため、その時点のWE電位測定値は真の電極電位を反映する。この値が水の電位窓を逸脱しない範囲の電流パルス振幅最大値からCICを求める。

CICは安全性評価のしきい値として広く用いられている。しかし、CICは不可逆反応が発生しないことを保証するものではない点には留意する必要がある。電極電位が水の電位窓の範囲内であっても、生体模擬液[65, 66, 68]および生体組織[70]において、白金電極の溶出（不可逆反応）は生じる。しかしながら、生体の緩衝作用により、多少の不可逆反応が生じたとしても、生体組織に直ちに損傷が生じることはない[67]。水の電位窓の範囲内でCICを決定することは、安全性を考慮した保守的な見積もりである。

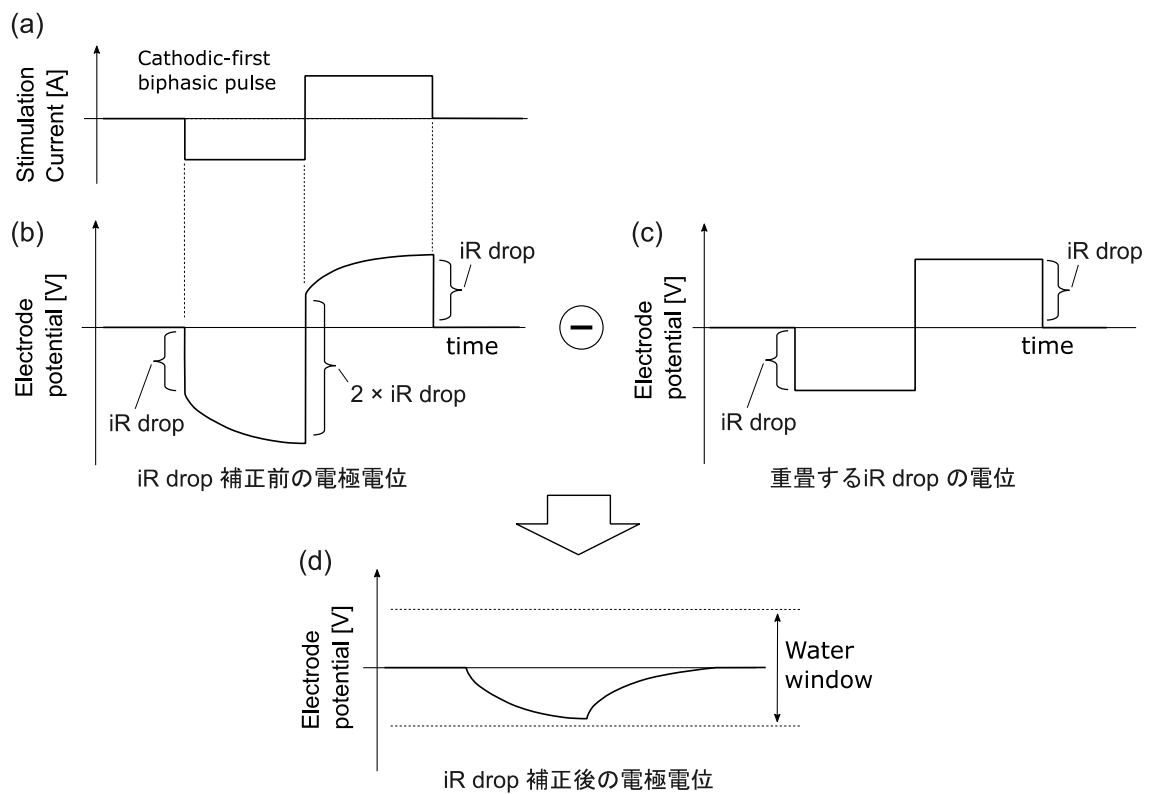


図 2-27 電荷注入能力 CIC の測定：重畳する  $iR$  drop を差し引く方法. (a) 刺激電極に通電する Cathodic-first 二相性定電流パルス電流. (b)  $iR$  drop が重畳した電極電位測定値. (c) 電極測定値 (b) から差し引く  $iR$  drop の電位. (d) 電極電位測定値 (b) から  $iR$  drop (c) を差し引くことで補正した真の電極電位. 真の電極電位 (d) が水の電位窓を逸脱しない範囲で通電可能な最大電荷密度を CIC として求める.



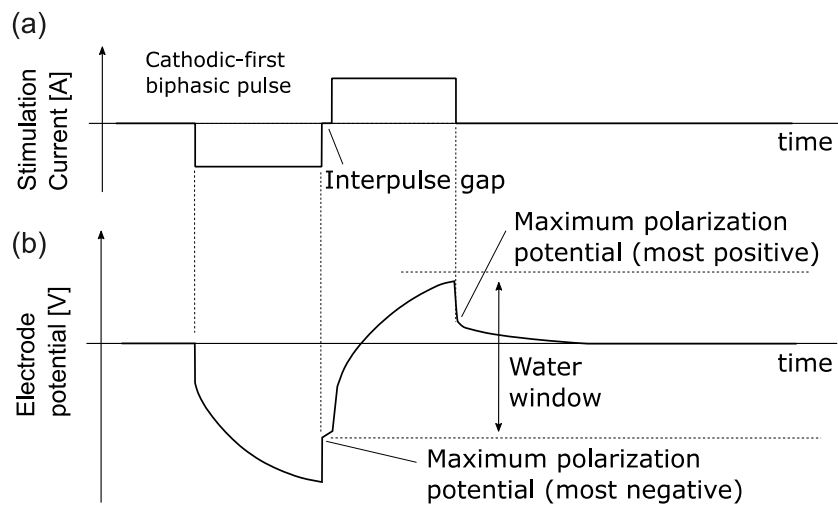


図 2-28 電荷注入能力 CIC の測定：Interpulse gap を利用する方法[16, 71]. (a) 刺激電極に通電する Cathodic-first 二相性定電流パルス電流. 第 1 相と第 2 相のパルス間に非通電期間 (Interpulse gap) を挿入する. (b) 非通電時は  $iR$  drop が生じないため, その時点の電極電位測定値は真の電極電位を反映する. 真の電極電位が水の電位窓を逸脱しない範囲で通電可能な最大電荷密度を CIC として求める. (文献[16]の転載許諾をとり改変して文献[71]に掲載)

## 2.4.2 電極性能を向上させる手法

埋植電極-電解質溶液（生体組織）間のインピーダンスの影響を受けず安定的に電気刺激を行うためには、定電流刺激方式が一般的である[63]。刺激電流を通電する際、正味の電荷が一方向に偏ると刺激電極の電位が水の電位窓を逸脱して水の電気分解（ガス発生、pH変化）が生じ、生体組織が損傷を受ける。生体内で通電に伴う有害な不可逆的ファラデー反応の発生を防ぐため、電荷平衡がとれた正負の二相性パルスが用いられる[63]。

刺激電極のCICを向上させるには、刺激電極の表面積を拡張する方法と、より高性能な電極材料を利用する方法がある。人工網膜の刺激電極アレイは高密度化する必要があり、電極サイズが厳しく制限される。そのため、刺激電極の幾何学的面積に対する実質表面積を拡張することで刺激電流密度を小さくでき、水の電気分解を起こすことなく通電できる刺激電流値を増大させることができる。代表的なものに、窒化チタン（TiN）による電極表面処理法がある[69]（図2-29）。TiNは化学的に安定で生体適合性のある金属材料であり、その多孔性表面は大きな実質表面積を実現する。古典的な手法には白金黒めっきがある[63]。しかし、白金黒は内部に残留する鉛の毒性が懸念されていることに加え、機械的な脆さの欠点もあるため、長期間埋植する刺激電極の材料には適さない[72]。

高性能金属材料として、酸化イリジウム（IrO<sub>x</sub>）も臨床用刺激電極に利用されている[69]（図2-30）。IrO<sub>x</sub>に電荷注入を行うと、電極表面で酸化還元反応によるプロトンの放出や取り込みが生じる[69]（図2-31）。この特性によってIrO<sub>x</sub>電極ではPt電極の100倍以上のCICを実現できるが、そのCIC値や機械的強度は製造条件や使用条件に大きく依存する[69]。IrO<sub>x</sub>電極で高CICを得るには電極電位を正バイアスで維持する必要があるため、生体に対して安定的な基準電極が必要となる。また、-0.6Vを越える陰電圧の印加で電極が損傷するなど、IrO<sub>x</sub>電極の実用化には課題が残されている[69]。

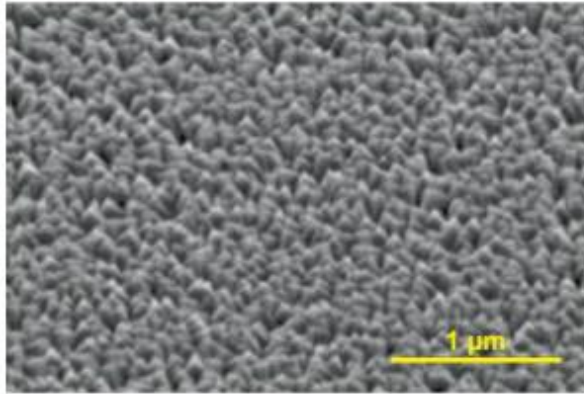


図 2-29 窒化チタン (TiN) でスパッタ処理した電極表面の SEM 画像[69]. 多孔性の TiN 層により, 電極の実質表面積を拡張する.

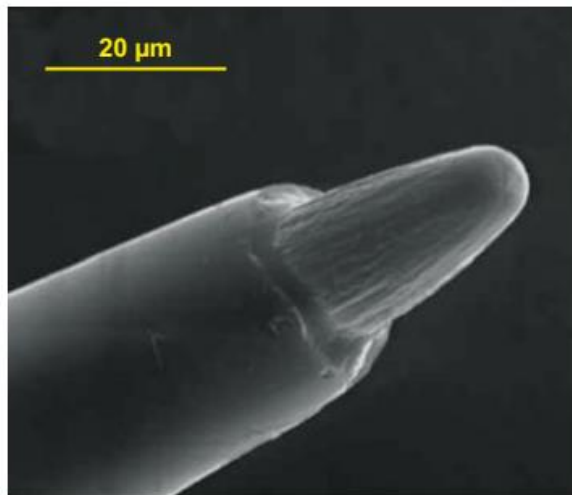
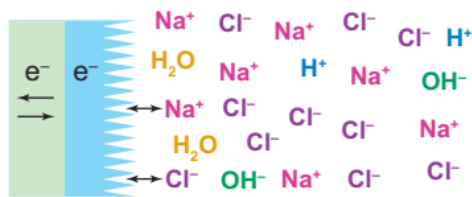
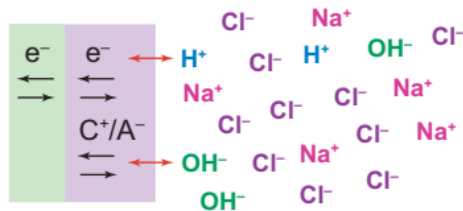


図 2-30 酸化イリジウム (IrO<sub>x</sub>) 電極[69]



**Titanium nitride**

Double-layer charging  
with a porous coating



**Iridium oxide**

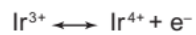


図 2-31 高機能材料の表面で生じる電気化学現象[69]. (上) 窒化チタン (TiN) 電極. 多孔性の表面構造により電極の実質表面積が拡大し, 電気二重層を介した容量性電流成分が増大する. (下) 酸化イリジウム (IrO<sub>x</sub>) 電極. イリジウム (Ir) (緑) の表面に形成した IrO<sub>x</sub> 層 (紫) が反応し, 可逆的なファラデー電流を生じる.

## 第3章 多孔性刺激電極の試作と評価

### 3.1 緒言

人工視覚システムの実用化には、前臨床における非臨床試験として実験動物を用いた刺激電極の長期安全性評価が必要である。しかし、安全閾値を求めるためには相当数の実験動物を必要とし、かつそれらの長期間にわたる飼育管理に多大な労力と時間を要する。加えて、動物実験に対する倫理的な問題も伴う。このような開発コストや倫理問題による開発障壁を軽減し、デバイス開発の迅速化に寄与する評価手法の確立が望まれている。

多孔性刺激電極（FLiP 電極）では、三次元的な多孔化加工により幾何学的表面積に対する実表面積を拡張することで、電荷注入能力 CIC（電極電位が水の電位窓を逸脱することなく注入可能な最大電荷密度）の向上に成功した。先行研究により、埋植した FLiP 電極は通電直後に電極インピーダンスが低下することが確認されている[16]。しかし、これは複数の要因が関与する複雑な現象であり、その機序は明らかになっていない。このような電極界面の複雑な現象を理解するための評価手法として、等価回路解析が有望視されている。生体内における FLiP 電極の電気化学特性の挙動を明らかにできれば、それを動物実験による安全性評価の結果と対比させることで、刺激電極として備えるべき特性を把握することができる。これにより、設計開発の迅速化および動物実験の削減だけでなく、視覚デバイス以外の開発へも応用が期待できる。本章では、生体内埋植下における FLiP 電極の電気化学特性を評価するための電極インピーダンス測定とその等価回路解析手法をまとめた。

動物実験は株式会社ニデックの動物実験倫理委員会の承認を得て、The Association for Research in Vision and Ophthalmology が定める Statement for the use of animals in ophthalmic and vision research, および株式会社ニデックの動物実験ガイドラインを遵守して実施した[73]。

## 3.2 刺激電極アレイの作製

旋盤加工機 (B007, Tugami) を用いて直径 1mm の Pt 棒材から弾丸形状の Pt 電極 (直径 500  $\mu\text{m}$ , 高さ 300  $\mu\text{m}$ , 幾何学的表面積 0.0043  $\text{cm}^2$ ) を作製した[74] (図 3-1a). Pt 電極の表面にフェムト秒レーザー加工による多孔化処理を施し, 直径 10  $\mu\text{m}$ , 深さ 100  $\mu\text{m}$  程度のレーザー孔を形成した [Femtosecond laser-induced porosity (FLiP) 電極]. この加工に伴い, レーザー孔内外の壁面は粗面 (微細孔) 構造が形成される[71] (図 3-2). FLiP 電極に Pt-Ir 導線を溶接し (図 3-1b), マシニングセンタ (MultiPro, Takashima) を用いてアクリル板上に作製した 7 $\times$ 7 穴の孔 (直径 500  $\mu\text{m}$ , 高さ 500  $\mu\text{m}$ , 間隔 0.2mm) に挿入した (図 3-1c). これに 30  $\mu\text{m}$  厚のパリレン C (poly(monochloro-*para*-xylylene)) を蒸着後, アクリル板を有機溶媒で溶解することでパリレンを基板とする電極アレイを得た[15] (図 3-1d および図 3-3).

電極アレイに搭載した 2 つの FLiP 電極は Pt-Ir 導線を介して刺激装置に接続した. 一方の FLiP 電極は刺激電流を通電する電極 (Active 電極) とし, もう一方を非通電電極 (Inactive 電極) とした. FLiP 電極の周囲はパリレン C 製ダミー電極を配置した. ダミー電極は, 電極型の機械的圧力を脈絡膜と網膜に分散させる目的で配置した.

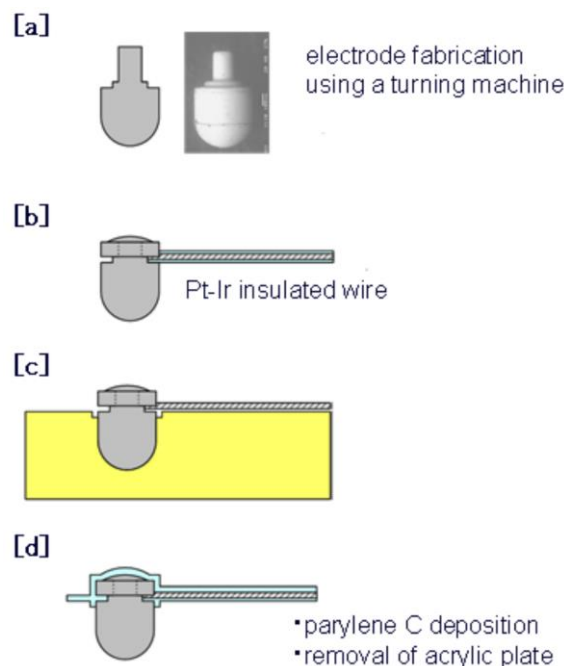


図 3-1 刺激電極アレイの作製プロセス[74]. (a) Pt 棒材の旋盤加工により弾丸形状の Pt 電極を作製する. (b) Pt 電極に Pt-Ir 製絶縁ワイヤーの溶接する. (c) アクリル板の孔に電極を挿入する. (d) パリレン C の蒸着後に有機溶媒でアクリル板を溶解除去する.

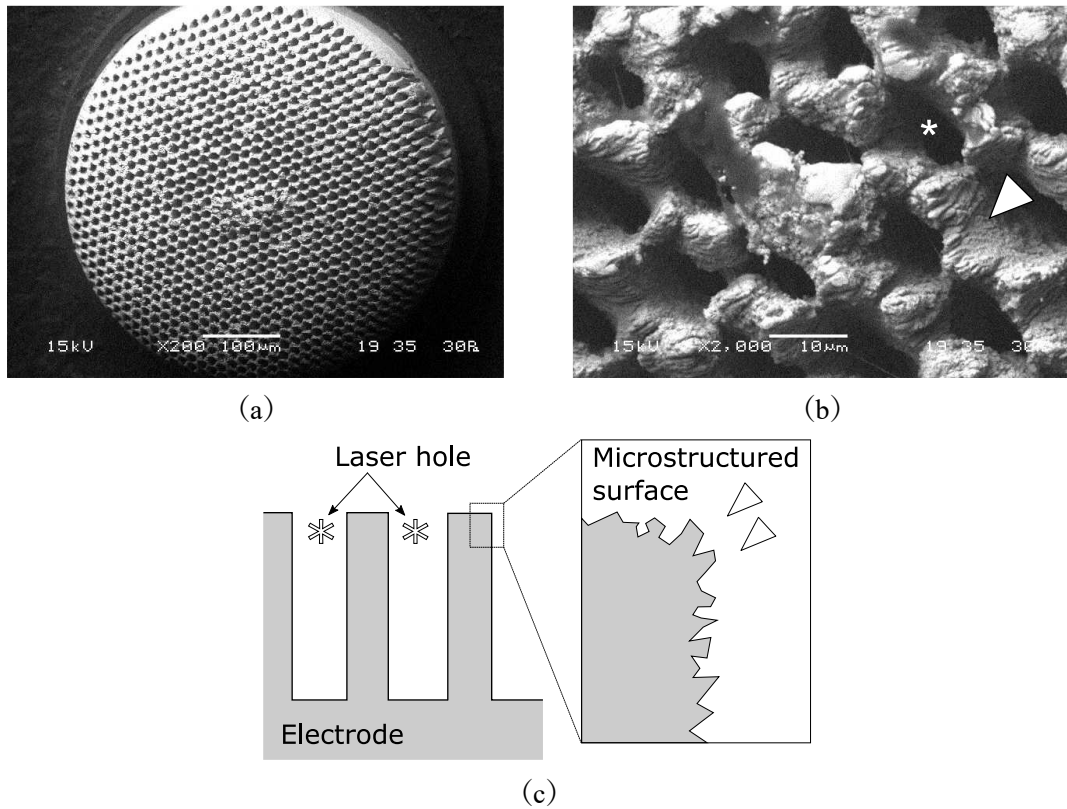


図 3-2 多孔性 Pt 電極 (FLiP 電極) の表面構造[71, 75]. (a および b) 通電電極 (Active 電極) 表面の SEM 画像. (c) レーザー孔内外の微細孔構造の模式図. (\* : レーザー孔,  $\Delta$  : 微細孔構造) (文献[75]の転載許諾をとり改変して文献[71]に掲載)

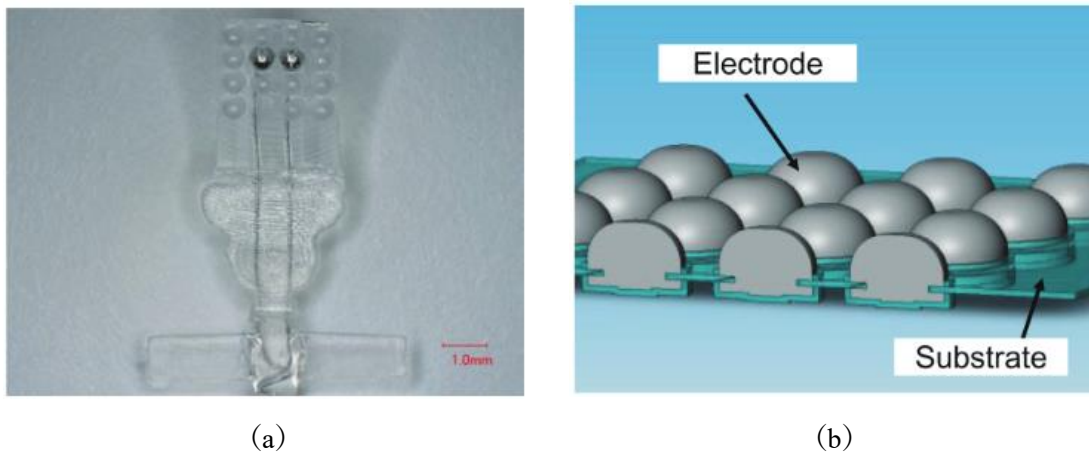


図 3-3 刺激電極アレイ[15]. (a) 2つの FLiP 電極を搭載した電極アレイ. (b) 刺激電極アレイの断面構造.



### 3.3 刺激電極アレイの埋植

日本白色種家兔 ( $N = 5$ ) を吸入イソフルランで麻酔した。結膜と下直筋を剥離して強膜を露出させ、角膜辺縁から 9 mm の下側頭部にクレセントナイフで約  $5 \times 5 \text{ mm}^2$  の強膜ポケットを形成した。この強膜ポケットに刺激電極アレイを埋植し、強膜にケーブルを縫合して固定した[16, 17] (図 3-4)。刺激電流の帰還電極 (Pt 電極：直径 500  $\mu\text{m}$ 、長さ 3 mm) は、毛様体扁平部より硝子体腔内に貫通させて留置した。

電極を埋植して 2 週間の回復期間をおいた後、刺激電極アレイを外部刺激装置に接続し、6 か月間の電気刺激 (通電) を行った[16]。刺激電極アレイ上の 2 つの FLiP 電極のうち、一方の電極 (Active 電極) には帰還電極との間に刺激電流を通電し、もう一方の電極 (Inactive 電極) は非通電とした。動物ケージの屋根に取り付けたスリッピングを介して家兔の頭蓋骨に固定した中間ボックスと外部刺激装置を接続した[17] (図 3-5)。これにより、家兔は回転運動で導電ラインを壊すことなく、ケージ内で自由に動ける状態を長期間維持した。

### 3.4 電気刺激

Active 電極に刺激電流 (繰り返し周波数 50 Hz, 振幅 1.5 mA, パルス幅 500  $\mu\text{s}$ , 通電時間 8 h/day, 電荷平衡 Cathodic-first 矩形二相性パルス電流) を 6 ヶ月間通電した (表 3-1)。パルスあたりの電荷は 750  $\mu\text{C}/\text{phase}$  である。繰り返し周波数は、使用装置で設定可能な最大値とした。刺激電流値 (振幅 1.5 mA) は安全率を考慮し、刺激装置の最大出力電流値 (1.2 mA) の 1.25 倍とした。

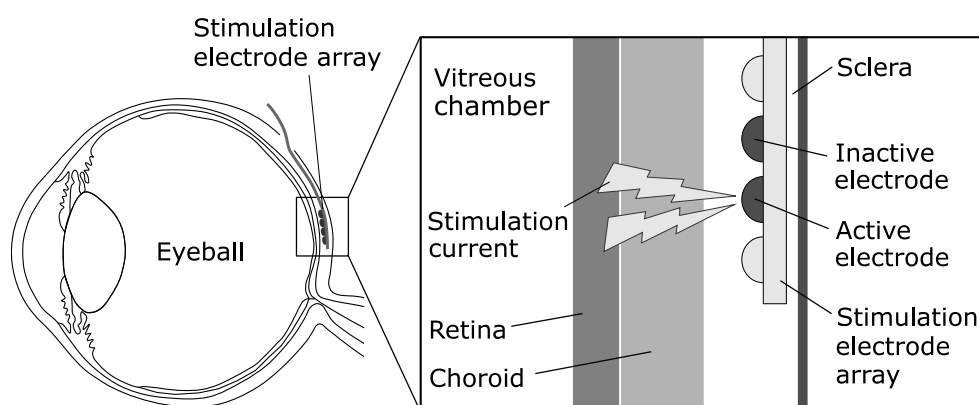


図 3-4 電極アレイ埋植状態の模式図[71, 75]。電極アレイは眼球に作成した強膜ポケット内に挿入される。脈絡膜を介した刺激電流の通電により網膜を電気刺激する。(文献[75]の転載許諾をとり改変して文献[71]に掲載)

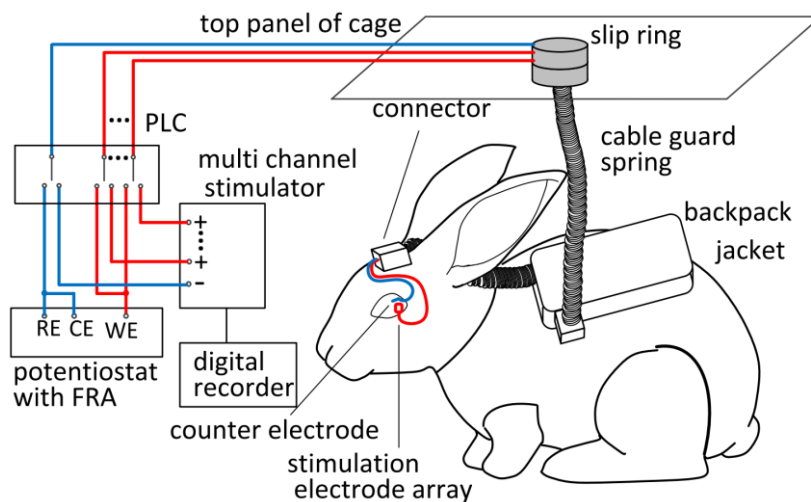


図 3-5 慢性通電の *in vivo* 評価システム[17]. 電極アレイ上の刺激電極（作用電極：WE）と対向電極（CE）を，周波数解析装置（FRA）を搭載したポテンショスタットに接続する．CE は参照電極（RE）の機能を兼ねる．飼育ケージの天板に取り付けたスリップリングと家兎背部に装着したバックパックジャケットのケーブルガードスプリングを介した配線により，家兎は自由に動ける．FRA を搭載したポテンショスタットによる電気刺激と電極インピーダンス測定は，プログラマブル ロジックコントローラー（PLC）により自動的に実施可能である．

表 3-1 電気刺激条件

Pulse polarity	Cathodic-first biphasic
Pulse amplitude	1.5 mA
Pulse duration	500 $\mu$ s
Interpulse duration	50 $\mu$ s
Repetition frequency	50 Hz
Stimulation time	8 h per day

## 3.5 電気化学インピーダンス分光法と等価回路解析

### 3.5.1 電気化学インピーダンス分光法 (EIS)

周波数応答解析装置 (Frequency Response Analyzer : FRA) を搭載したポテンシオスタット (Autolab PGSTAT 12, Metrohm, Utrecht, Netherlands) を用いて  $20 \text{ mV}_{\text{rms}}$  の正弦波 (周波数範囲  $10 \text{ Hz} - 100 \text{ kHz}$ ) を印加し, 作用電極 (Working electrode : WE) (FLiP 電極) と対向電極 (Counter electrode : CE) (直径  $0.5 \text{ mm}$ , 表面積  $1 \text{ cm}^2$  以上の白金線) の間のインピーダンスを 2 電極法で測定した (図 3-5) [16]. CE は WE を埋植した眼とは反対側の側頭部に皮下に埋植した. この CE は WE に対して十分大きな表面積を有し, かつ WE から十分に遠い距離に位置する. このような系では, 評価対象 (FLiP 電極) の EIS 測定値に対する CE の電極インピーダンスの影響は無視できる [16].

### 3.5.2 等価回路解析 (ECA)

電極界面の電気化学特性の評価には, 電気化学インピーダンス分光法 (Electrochemical impedance spectroscopy : EIS) とその等価回路解析 (Equivalent circuit analysis : ECA) が有効である. 評価対象の WE (FLiP 電極) と CE の間に周波数掃引した正弦波交流電位信号を印加し EIS 測定を行った [76]. その EIS 測定結果を解析することで, 電極界面で生じる現象の素過程を解釈することができる.

EIS 測定結果の解釈には, 電極界面の特性を反映する最小限の回路要素を用いた ECA が有用である. 電極界面の特性を模擬する等価回路には Randles 型回路モデルを適用することが一般的である [77, 78]. これは, 溶液抵抗 (Solution resistance)  $R_{\text{sol}}$ , 電荷移動抵抗 (Charge transfer resistance)  $R_{\text{ct}}$ , 電気二重層容量 (Electrical double layer capacitance)  $C_{\text{dl}}$  を基本要素とする回路モデルである (図 3-6)

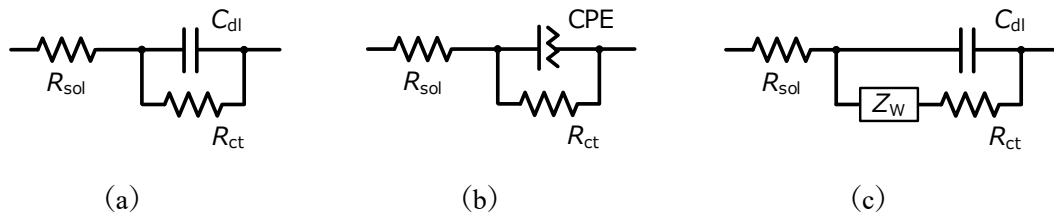


図 3-6 電極界面の電気化学的特性を反映する等価回路モデル。(a) Randles 型回路モデル。(b) 一定位相要素 CPE を導入した Randles 型回路モデル。電極界面特性の周波数に対する非線形特性を反映する際に、電気二重層容量  $C_{dl}$  に相当する要素として一定位相要素 CPE が用いられる。(c) 拡散抵抗  $Z_W$  を導入した Randles 型回路モデル。(  $R_{sol}$ : 溶液抵抗,  $R_{ct}$ : 電荷移動抵抗)

回路モデル (a) は、生体内埋植電極の電極/電解質の界面特性を反映する Randles 型回路モデルである。これは電解質溶液のバルク抵抗を反映する溶液抵抗  $R_{sol}$ 、電極界面における電荷移動反応の起こりにくさを反映する電荷移動抵抗  $R_{ct}$ 、電極界面に生じる電気二重層の特性を反映する電気二重層容量  $C_{dl}$  を回路要素として含む。

回路モデル (b) は、電極界面に生じる電気二重層容量  $C_{dl}$  の代わりに一定位相要素 (Constant phase element) CPE を導入したものである。EIS は電極表面の表面粗さや荷電体の吸着などによる不均一性のため、周波数に対する非線形特性を示す場合がある [76]。線形要素のみでは表せない非線形特性を表現して EIS 実測値にフィッティングさせる場合には、電気二重層容量  $C_{dl}$  の代わりに一定位相要素 CPE が用いられる [78–80]。一定位相要素 CPE のインピーダンス  $Z_{CPE}$  は (式 3-1) で表される。CPE 定数  $Y$  は角周波数  $\omega = 1 \text{ rad/s}$  のときのアドミタンスに相当する。CPE 指数  $n$  ( $0 \leq n \leq 1$ ) は周波数応答に対する非線形性の尺度となる。

$$Z_{CPE} = \frac{1}{Y(j\omega)^n} \quad (3-1)$$

$\omega$ : 角周波数,  $Y$ : CPE 定数 ( $\omega = 1 \text{ rad/s}$  の場合のアドミタンスに相当),  $n$ : CPE 指数 (周波数応答に対する非線形性の尺度,  $0 \leq n \leq 1$ )

回路モデル (c) は、電極表面の多孔構造に起因する物質拡散への影響を模擬するため、拡散抵抗 (Warburg impedance)  $Z_W$  を導入した Randles 型等価回路モデルである。拡散抵抗  $Z_W$  は電解質溶液中の物質移動に起因する抵抗であり、低周波数領域におけるイオン拡散を反映する (式 3-2, 式 3-3, 図 3-7) [71]。そのため、回路モデル (c) では周波数全域における非線形性を反映する CPE を用いず、電気二重層容量  $C_{dl}$  (純キャパシタ) が用いられる。

$$Z_W = \frac{\sigma}{\sqrt{\omega}}(1 - j) \quad (3-2)$$

$$\sigma = \frac{RT}{\sqrt{2} n^2 F^2 A_r} \left( \frac{1}{\sqrt{D_O} C_O} + \frac{1}{\sqrt{D_R} C_R} \right) \quad (3-3)$$

$\omega$  : 角周波数,  $\sigma$  : Warburg 係数,  $R$  : 気体定数,  $T$  : 温度,  $n$  : 価数,  $F$  : ファラデー一定数,  $A_r$  : 電極面積,  $D_O$  : 酸化体の拡散係数,  $D_R$  : 還元体の拡散係数,  $C_O$  : 酸化体の濃度,  $C_R$  : 還元体の濃度

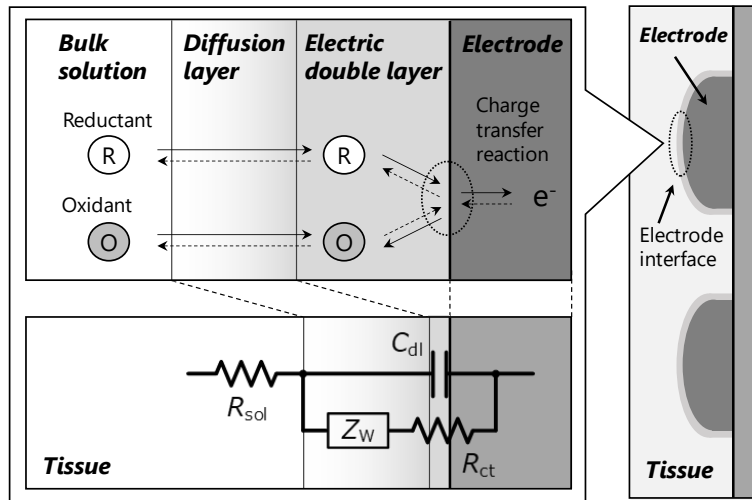


図 3-7 拡散抵抗  $Z_w$  を導入した Randles 型回路モデル（図 3-6c）と電極界面の電気化学反応プロセスの対応[71, 75]. 電極と組織液の界面には電気二重層（電気二重層容量： $C_{dl}$ ）と拡散層（拡散抵抗： $Z_w$ ）が形成される．それらの外側にはバルク溶液層（溶液抵抗： $R_{sol}$ ）が広がる．電解質溶液（生体組織液）中の活性種（Oxidant/Reductant）は，電極界面における電荷移動反応（電荷移動抵抗： $R_{ct}$ ）により酸化/還元される．反応物および生成物は拡散層を介して電極表面とバルク溶液層との間で輸送される．（文献[75]の転載許諾をとり改変して文献[71]に掲載）

## 第4章 多孔性刺激電極向け等価回路解析手法の確立

### 4.1. 緒言

開発した高性能刺激電極（FLiP 電極）はその複雑な多孔界面構造のため、円滑電極とは異なる電気化学特性を示す[75, 81]. 刺激電極の電気化学特性を正確に把握できれば、それを動物実験による安全性試験の結果と対比させることで、埋植刺激電極として備えるべき性能を開発の初期段階から見当づけることができる[18]. 人工視覚システム用多孔性刺激電極の電気化学特性を把握するため、生体内慢性通電下における FLiP 電極を電気化学インピーダンス分光法（EIS）と等価回路解析（ECA）により評価した[75, 81–84]. 埋植後、短期間通電下における電極特性を反映する等価回路として溶液抵抗  $R_{sol}$ 、電気二重層容量  $C_{dl}$ 、電荷移動抵抗  $R_{ct}$  のみからなる比較的単純な回路モデルを検討したが、そのような単純な等価回路モデルでは生体内埋植後の長期にわたる電極特性を模擬することができなかった.

長期埋植デバイスとしての評価には、長期通電後の電極特性を模擬する等価回路が必要となる. そこで本章では、生体内長期通電下における FLiP 電極界面の電気化学特性を反映する等価回路を見いだすことを目的とした.



## 4.2. 等価回路解析 (ECA)

### 4.2.1. 等価回路モデル

FLiP 電極界面の電気化学特性を反映する等価回路として、図 4-1 の回路モデルを立てた。これらの回路モデルについて、生体内に埋植した FLiP 電極の EIS 測定値へのフィッティングを評価した。

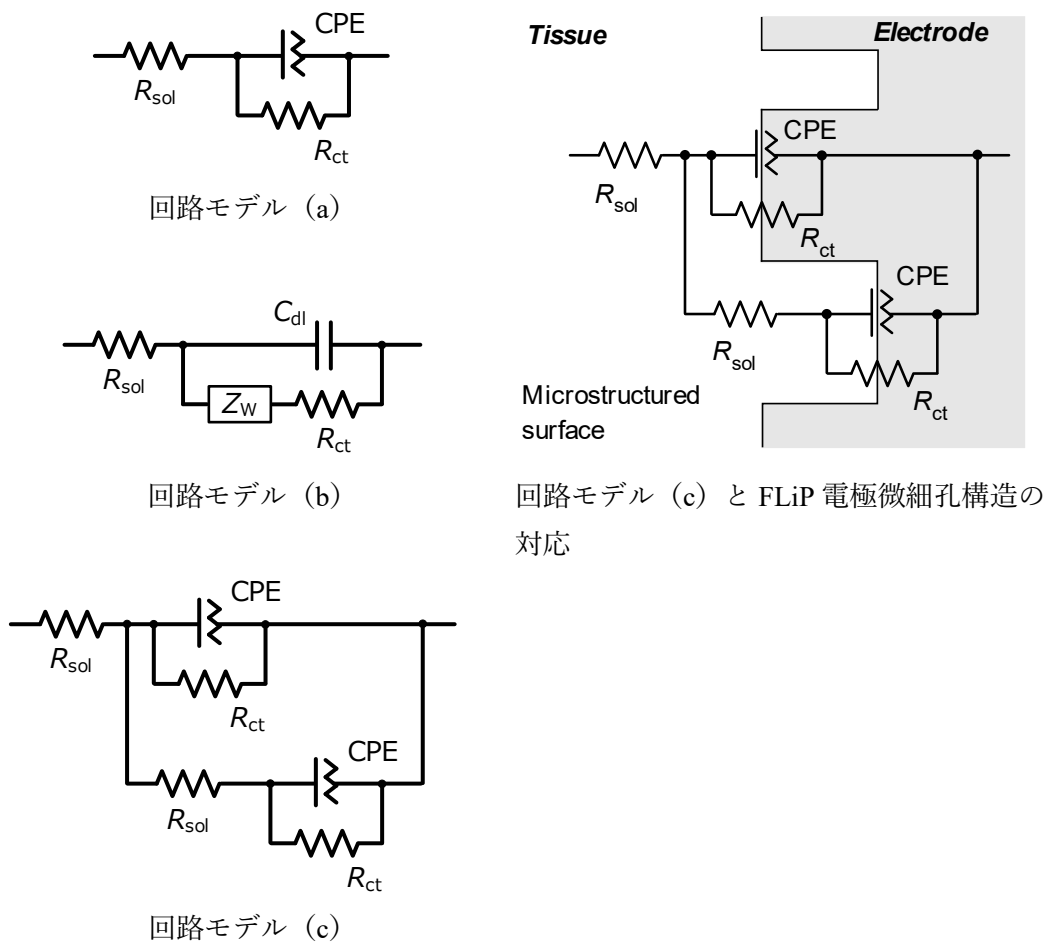


図 4-1 等価回路モデル[75, 81, 82, 85]. (左上) 一定位相要素 CPE を用いた Randles 型等価回路モデル. 生体電極の界面特性を模擬する際に一般的に用いられる. (左中央) 電極界面のイオン拡散の影響を反映する要素として拡散抵抗  $Z_w$  を導入した Randles 型等価回路モデル. (左下) 回路モデル (a) において電極表面の微細孔構造の内外環境を区別した回路モデル. (右) FLiP 電極微細孔構造と回路モデル (c) との対応を示す模式図. ( $R_{sol}$ : 溶液抵抗,  $R_{ct}$ : 電荷移動抵抗,  $C_{dl}$ : 電気二重層容量)

回路モデル (a) は、生体内埋植電極の電極／電解質の界面特性を反映する Randles 型回路モデルである。電解質溶液（生体組織）のバルク抵抗を反映する溶液抵抗  $R_{sol}$ 、電極界面における電荷移動反応の起こりにくさを反映する電荷移動抵抗  $R_{ct}$  を回路要素として含む。周波数に対する非線形性を考慮し、電極界面に生じる電気二重層容量  $C_{dl}$  の代わりに一定位相要素 CPE を用いた。

回路モデル (b) は、電極表面の多孔構造に起因する物質拡散への影響を模擬するため、拡散抵抗  $Z_w$  を導入した Randles 型等価回路モデルである。低周波数領域における物質拡散を反映する拡散抵抗  $Z_w$  を含むため、回路モデル (b) では周波数全域における非線形性を反映する一定位相要素 CPE ではなく、電気二重層容量  $C_{dl}$ （純キャパシタ）を用いた。

回路モデル (c) は、FLiP 電極の微細孔構造の内外環境を区別した回路モデルである。一般に、多孔性電極では孔内の大きな溶液抵抗の影響を受けた電流線分布が生じ、電極界面の電気化学反応が不均一となる[76]。FLiP 電極では、レーザー孔内外の壁面にレーザー加工に伴う微細孔構造が形成される。その微細孔構造の内外を別々の特性を示す界面として Randles 型回路モデルを対応させることができる[86]。すなわち、回路モデル (c) は回路モデル (a) が表す幾何学的電極表面に対し、微小サイズの微細孔構造内の界面に対応する Randles 型回路モデルを並列に加えた回路モデルである（図 4-1）。

#### 4.2.2. データ解析

生体内埋植下の通電 23 週目の EIS 測定値に対して ECA を行った。解析には、3 つの等価回路モデル（図 4-1）を用い、EIS 実測値に対するフィッティングを評価した。

各等価回路要素に対する通電の影響を確認するため、通電（Active）電極群と非通電（Inactive）電極群の解析値に対して統計解析 [ $F$  検定,  $t$  検定 (Welch's  $t$ -test)] を行った。統計処理には統計解析ソフト JMP 14 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用い、有意水準は 0.05 とした。

### 4.3 解析結果

通電 23 週目の EIS 測定値に対する ECA の結果を図 4-2 に示す。各等価回路モデルは RC 並列回路を基本とした構成である。そのため、回路特性への影響は高周波数領域では容量性要素が支配的であり、低周波数領域では拡散要素が支配的となる。拡散抵抗  $Z_w$  を含む Randles 型回路モデル [回路モデル (b)] による ECA の結果は EIS 実測値とよく一致し、各回路要素を推定誤差 25%以内（多くは数%以内）で解析可能であった。一方、その他の回路モデル [回路モデル (a) および回路モデル (c)] では ECA の結果と EIS 実測値との乖離が大きく、多くの EIS 実測値に対して解析値が収束しなかった。加えて、解析の結果算出された多くの回路要素パラメータ値の推定誤差が非常に大きいものであった（ $10^7$ – $10^{16}$ %オーダー）。

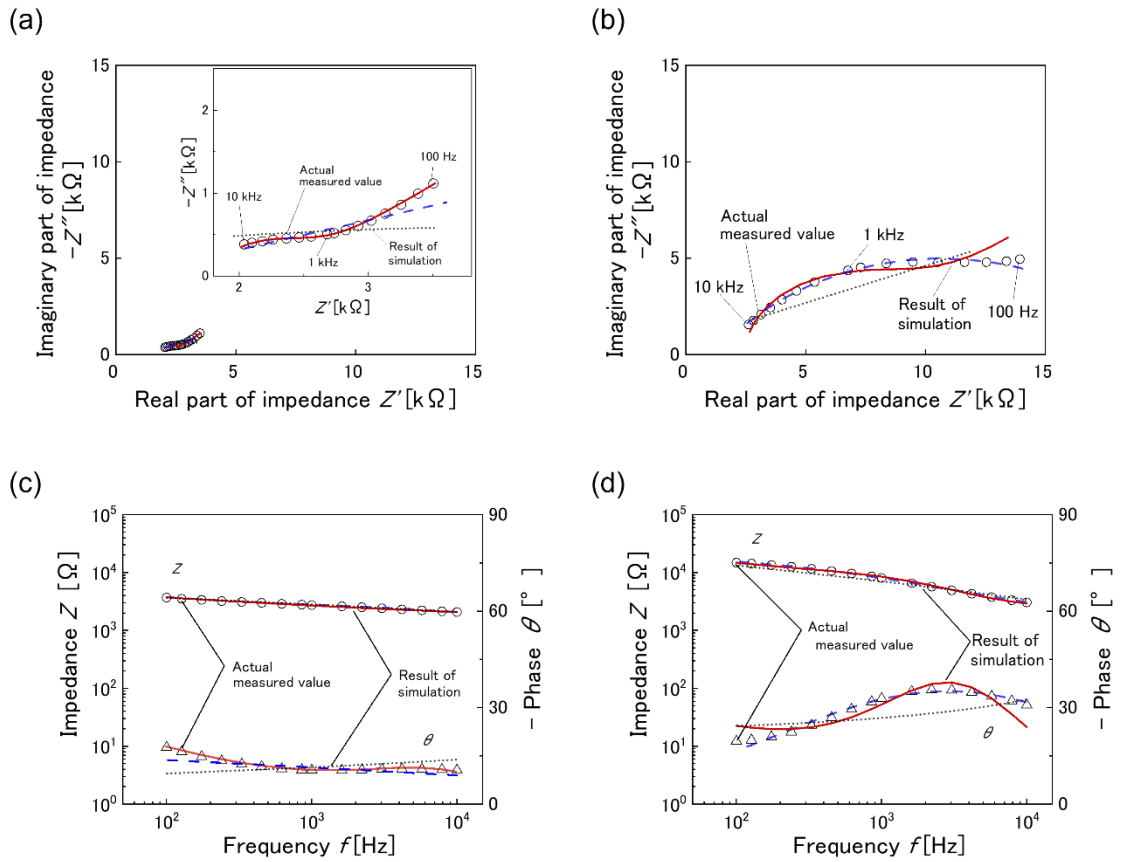


図 4-2 電気化学インピーダンス分光法 (EIS) と等価回路解析 (ECA) の結果 (代表例) [75, 85]. 電気刺激 23 週目の EIS 実測値に対する各等価回路モデル (図 4-1) の ECA 結果とフィッティングの対応を示す. (a) Active 電極および (b) Inactive 電極における Cole-Cole plot. (c) Active 電極および (d) Inactive 電極における Bode plot. 各 plot は EIS 実測値を, 各 Line は ECA 結果を示す. 青色: Randles 型回路モデル [回路モデル (a)], 赤色: 拡散抵抗  $Z_w$  を含む Randles 型回路モデル [回路モデル (b)], 黒色: 微細孔構造内外の界面を区別した Randles 型等価回路モデル [回路モデル (c)].

EIS実測値に対するECA結果のフィッティングが良好であった回路モデル(b)について、各回路要素をActive電極/Inactive電極間で比較した(図4-3および表4-1)。溶液抵抗 $R_{sol}$ は、Active電極で有意に小さく推算された。一方、その他の回路要素(電荷移動抵抗 $R_{ct}$ 、電気二重層容量 $C_{dl}$ 、拡散抵抗 $Z_w$ )では平均値に有意差は検出されなかったが、分散に有意差を認めた。これらについて、電荷移動抵抗 $R_{ct}$ と拡散抵抗 $Z_w$ の分散はActive電極で小さく、電気二重層容量 $C_{dl}$ の分散はActive電極で大きく推算された。

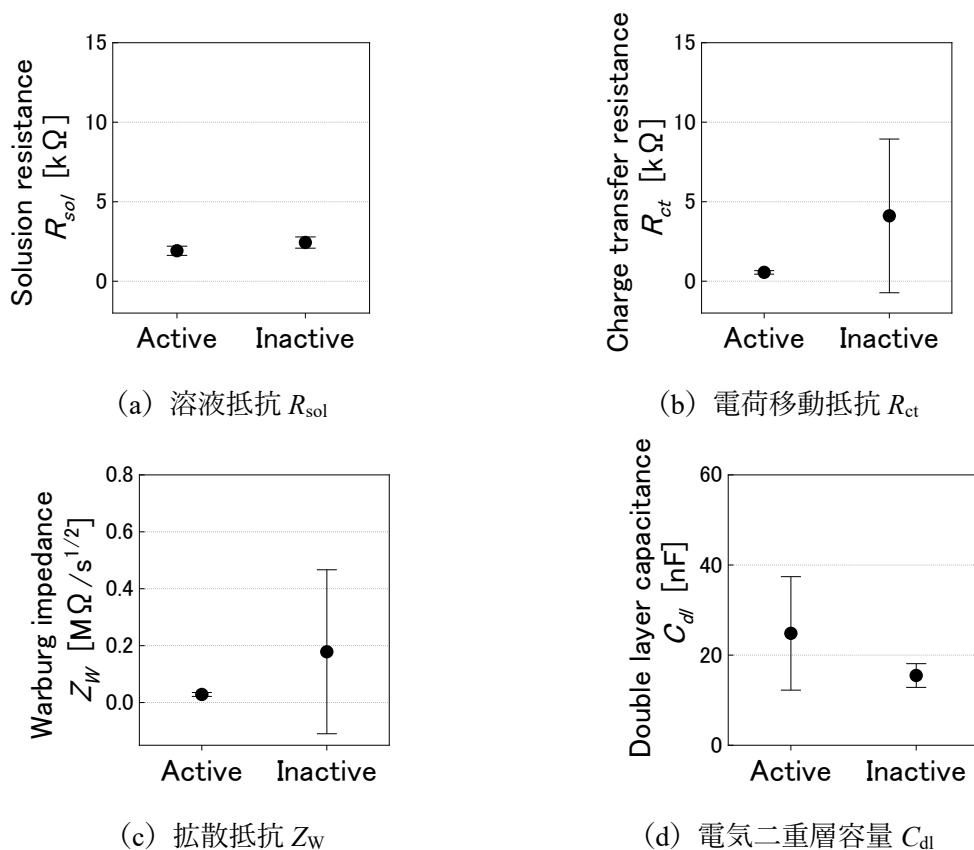


図4-3 拡散抵抗 $Z_w$ を含むRandles型等価回路モデル[回路モデル(b)]の回路要素解析値[75, 85]。平均値( $N=5$ )±標準偏差。

表 4-1 等価回路要素の統計解析結果 [ $F$  検定および  $t$  検定 (Welch's  $t$ -test)] ( $R_{sol}$ : 溶液抵抗,  $R_{ct}$ : 電荷移動抵抗,  $C_{dl}$ : 電気二重層容量,  $Z_w$ : 拡散抵抗) [75, 85].

Equivalent circuit element	$F$ -test		Welch's $t$ -test	
	$F$ value	$p$ value	$t$ value	$p$ value
$R_{sol}$	1.49	0.710 <sup>NS</sup>	2.53	0.04*
$R_{ct}$	1921.74	< 0.001***	1.64	0.18 <sup>NS</sup>
$C_{dl}$	22.91	0.010*	-1.63	0.17 <sup>NS</sup>
$Z_w$	1721.11	< 0.001***	1.16	0.31 <sup>NS</sup>

\*: significant ( $p < 0.05$ ), \*\*\*: significant ( $p < 0.001$ ), NS: not significant ( $p \geq 0.05$ )

#### 4.4. 考察

複雑な等価回路を適用すれば、EIS 実測値に対して ECA 結果を数学的に合致させることは可能である。しかし、電気化学的な挙動に対する各等価回路要素の物理化学的意味合いの解釈は困難になる。そのため本研究では比較的単純化した等価回路を検討した。

電極界面の電気化学反応は、電極/電解質溶液界面での電荷移動過程と電解質溶液内での物質移動過程（物質拡散）から成る。一般に、物質拡散は電荷移動速度と比較して遅いため、EIS では高周波数領域で電荷移動抵抗  $R_{ct}$  と電気二重層容量  $C_{dl}$  に起因する特性が、低周波数領域では拡散に起因する特性が現れる[80]。

回路モデル (b) による ECA 結果は EIS 実測値を良く再現し、全ての実測データに対して推定誤差 25%以内（多くは数%以内）で解析可能であった（図 4-2）。一方、回路モデル (a) および回路モデル (c) による ECA 結果は EIS 実測値から大きく乖離し、多くの回路要素パラメータにおいて解析値の推定誤差が非常に大きいものとなった（ $10^7$ – $10^{16}$ %オーダー）。解析対象とした周波数範囲（ $10^2$ – $10^4$  Hz）では回路モデル (a) および回路モデル (c) の解析値は収束せず、EIS 実測値には適合しなかった。

回路モデル (c) による ECA 結果が EIS 実測値から大きく乖離したのは、レーザー孔および微細孔構造のサイズが十分大きく、電流線分布に影響しないためである。なお、多孔化処理を施していない非多孔性 Pt 電極の特性は、拡散抵抗  $Z_w$  を含まない Randles 型回路モデル [回路モデル (a)] で模擬できることを先行研究で確認している[79]。回路モデル (a) による ECA 結果が EIS 実測値と大きく乖離したのは、レーザー孔および微細孔へのタンパク質や細胞の充填により、電極界面の物質拡散が抑制されたためと考える。生体内に埋植した電極には Fibronectin や Collagen 等のタンパク質が付着する[87]。電極表面へのタンパク質の付着によって溶液抵抗  $R_{sol}$  の増大や電気二重層容量  $C_{dl}$  の減少といった電極特性の変化が生じることが報告されており[77]、本研究結果と一致する。

本実験で用いた刺激電流（1.5 mA、電流密度  $175 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ ）は、電極電位が水の電位窓を超え、若干の電気分解が生じる条件である[16]。水の電位窓を超えない範囲の通電が安全ではあるが、STS 方式で網膜を刺激して光覚を誘発するにはこの程度の大きさの電流刺激が必要となる。なお、本研究の刺激電流値は、安全率を考慮した通電条件である。CIC（電極電位が水の電位窓を逸脱することなく通電可能な最大電荷密度）について、FLiP 電極（CIC：mean  $\pm$  SD  $82$ – $155 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ 、幾何学的表面積： $0.0043 \text{ cm}^2$ ）は非多孔性 Pt 電極（CIC：mean  $\pm$  SD  $16$ – $18 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ ）に対して約 10 倍に向上している[15]。安全な通電の指標には、 $30 \mu\text{C}/\text{cm}^2$  [18]や  $77 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ （組織損傷を伴うことなく 3 ヶ月間の通電を実施）[42]などがある。しかし、CIC は電極材料や埋植環境などによって異なるため、個別に評価する必要がある。FLiP 電極の安全性試験では、通電による組織損傷は認められていない[16]。これは、生体の緩衝作用やタンパク質吸着による電極材料の溶出抑制効果により、若干の不可逆反応が生じたとしても直ちには生体に障害が生じないこと示している[16]。



フェムト秒レーザー加工を施した FLiP 電極の表面には微細な粗面（微細孔構造）が形成されており、水素がトラップされる[88]. そのため、水素分子の吸脱着といった疑似容量性反応は、水の電気分解により水素分子が多く発生している Active 電極で生じやすい環境にあると考えられる。また、電極電位が水の電位窓を超える通電により、Active 電極近傍は Inactive 電極に比べて総イオン濃度が高い環境となる。加えて、金属電極表面のキャリア移動を阻害する吸着タンパク質が通電により脱離し、電極表面は電気化学的に清浄化される。

電荷移動抵抗  $R_{ct}$  と拡散抵抗  $Z_w$  の分散値が Inactive 電極で大きいのは、Inactive 電極表面のタンパク質吸着量のばらつきが大きいいためと考える。分散値が大きいため統計的有意差は認められなかったが、電荷移動抵抗  $R_{ct}$  と拡散抵抗  $Z_w$  の推算値は Active 電極の方が小さい傾向にあり、これらは通電による吸着タンパク質の脱離によるものである。

電気二重層容量  $C_{dl}$  も統計的有意差は無いものの Active 電極の方が大きい傾向にあり、これも同様に Active 電極表面の吸着タンパク質が通電により脱離した影響である。電気二重層容量  $C_{dl}$  は CIC に寄与するため、白金電極のような容量性電極ではその値が大きいほど、安全により大きな刺激電流を流せる。Active 電極の電気二重層容量  $C_{dl}$  は Inactive 電極に比べて平均値で約 1.6 倍大きいため、通電は安全面で有利に働く。一方、電気二重層容量  $C_{dl}$  の分散値も Active 電極の方が大きいものであった。Active 電極の電荷移動抵抗  $R_{ct}$  が Inactive 電極に比べ小さいのは、電極界面付近にトラップされている水素や周辺イオンなどのキャリア密度の影響であり、その周辺環境の違いが電気二重層容量  $C_{dl}$  の大きさのばらつきに反映されたものと考えられる。しかしながら、生体内における電極付近のキャリア密度と電気二重層容量  $C_{dl}$  の関係は更なる検討を要する。

溶液抵抗  $R_{sol}$  における Active 電極と Inactive 電極の差も同様の要因と考える。異物反応によって形成されるカプセル化組織の影響が溶液抵抗  $R_{sol}$  として反映されるため、統計的有意差は認められたものの、その差は顕著な大きさではなかった。

拡散抵抗  $Z_w$  は電極近傍のイオン拡散に起因する低周波数領域のインピーダンスを反映する。それに対して、電荷移動抵抗  $R_{ct}$  は電極界面の電荷移動反応の起こりにくさく反映する。どちらの回路要素も、通電に伴う電極表面の清浄化により Active 電極で低下する。人工視覚システムにおいては、刺激電流のパルス幅は 500  $\mu\text{s}$  であり、刺激電流パルスに含まれる周波数成分は物質拡散領域に対して十分高いため、回路モデル (b) では刺激電流が電気二重層容量  $C_{dl}$  に流れる経路が支配的となる。そのため、拡散抵抗  $Z_w$  および電荷移動抵抗  $R_{ct}$  は、FLiP 電極の性能評価指標として直接的には関与しないが、電極界面の物理化学的な状態を表現し、他の回路要素の値を正しく推算するためには考慮すべき回路要素である。一方、溶液抵抗  $R_{sol}$  は、電気二重層容量  $C_{dl}$  のインピーダンスとともに定電流刺激回路の駆動電圧に影響するが、電気二重層インピーダンスの方が負荷としては主となる。

## 4.5. まとめ

人工視覚システム用多孔性刺激電極 (FLiP 電極) の電気化学特性は, 溶液抵抗  $R_{sol}$ , 電荷移動抵抗  $R_{ct}$ , 電気二重層容量  $C_{dl}$  に加え, 物質拡散の影響を反映する拡散抵抗  $Z_w$  を導入した比較的単純な Randles 型回路モデルで模擬できることが明らかとなった. 本章の検討により, 通電 23 週目における EIS の周波数特性を反映する等価回路を見いだすことができた. 刺激電流を通電している電極 (Active 電極) は通電により電極表面が電気化学的に清浄化されるため, 埋植電極の個体間で電極特性が均一になる. 一方で, 非通電電極 (Inactive 電極) は電極特性のばらつきが大きく, その要因は吸着タンパク質量のばらつきによるものと推察された. 以上より, 本章で見出した等価回路モデルを用いた等価回路解析によって, 生体内に埋植した FLiP 電極の特性を評価することが可能となった.

本章では, 生体内に埋植した多孔性電極の界面で生じる複雑な現象を把握するための電気化学的評価手法を確立した. 電極界面の現象を反映する等価回路モデルを用いて電極インピーダンススペクトルを解析することで, 生体内で生じる複雑な現象を回路要素に分離して解釈することが可能となる. 多孔性電極の特性を反映する 4 つの等価回路要素について, 「溶液抵抗  $R_{sol}$ 」は電極近傍の生体組織の状態を, 「拡散抵抗  $Z_w$ 」は多孔性電極界面近傍の物質拡散現象に起因する低周波数領域のインピーダンス成分を, 「電荷移動抵抗  $R_{ct}$ 」は電極界面における電荷移動反応に伴うファラデー電流の抵抗成分を, 「電気二重層容量  $C_{dl}$ 」は安全な通電性能指標となる容量性の程度をそれぞれ反映する. 長期電気刺激の安全性および電極の耐久性に影響するこれらの現象を, 比較的容易に測定可能なインピーダンススペクトルの解析によって評価できることは, 神経刺激デバイスの開発にとって有用な知見となる.

## 第5章 慢性通電下における多孔性刺激電極の界面特性の評価

### 5.1 緒言

複雑な多孔性表面構造を有する FLiP 電極は、幾何学的な表面積に対して実表面積を大きく拡張することで、その電荷注入能力 CIC（電極電位が水の電位窓の範囲内で注入できる最大電荷密度）を向上させた。しかし、生体内における FLiP 電極の電気化学的挙動は複雑であり、解明されていない[16]。このような複雑な現象は、等価回路解析（ECA）を利用することで詳細に評価できる[75, 81]。ECA の結果から刺激電極の電気化学特性を正確に把握できれば、それを動物実験による安全性試験の結果と対比させることで、埋植刺激電極として備えるべき性能を開発の初期段階から見当づけることができる[18]。これにより、電極設計の迅速化、開発コストの軽減、動物実験の削減に貢献し、人工網膜の開発を加速することが可能となる。

第4章の評価検討により、通電23週目の FLiP 電極の界面特性は拡散抵抗  $Z_w$  を含む Randles 型回路モデルで模擬可能であることが確認された[75, 81, 85]。長期埋植デバイス用刺激電極としての評価には、等価回路要素間の関係を明らかにすることが重要である。そこで、拡散抵抗  $Z_w$  を含む Randles 型回路モデルを用い、生体内における長期間（6か月間）の通電に伴う FLiP 電極の電気化学特性の挙動を評価した。

## 5.2 方法

### 5.2.1. 電極特性の経時変化 [等価回路解析 (ECA)]

拡散抵抗  $Z_w$  を含む Randles 型回路モデル (図 5-1) を用い, 6 か月間の長期埋植下における FLiP 電極の EIS 測定値に対する ECA を行った. 各回路要素の ECA 解析値について, 通電期間 (6 か月間) の経時変化を評価した. FLiP 電極の界面特性を反映する Randles 型回路モデルは溶液抵抗  $R_{sol}$ , 拡散抵抗  $Z_w$ , 電荷移動抵抗  $R_{ct}$ , 電気二重層容量  $C_{dl}$  の 4 つの等価回路要素を含む[75, 81]. 溶液抵抗  $R_{sol}$  はバルク溶液の抵抗を, 電荷移動抵抗  $R_{ct}$  は電極界面で生じる電荷移動反応 (酸化還元反応) の起こりにくさを, 電気二重層容量  $C_{dl}$  は電極/電解質溶液界面に形成される電気二重層の静電容量を, 拡散抵抗  $Z_w$  は低周波数領域におけるイオン拡散に起因する抵抗を反映する.

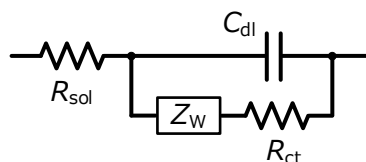


図 5-1 拡散抵抗  $Z_w$  を導入した Randles 型回路モデル[71].  
( $R_{sol}$ : 溶液抵抗,  $R_{ct}$ : 電荷移動抵抗,  $C_{dl}$ : 電気二重層容量)

各等価回路要素に対する 2 因子 (通電および期間) とそれらの交互作用の影響を評価するため, 反復測定二元配置分散分析 (repeated-measures two-way ANOVA: rANOVA) を実施した. 多重比較 (Tukey HSD) は Active 群および Inactive 群に分けて行った (優位水準:  $p < 0.05$ ). 加えて, 等価回路要素 (溶液抵抗  $R_{sol}$ , 拡散抵抗  $Z_w$ , 電荷移動抵抗  $R_{ct}$ , 電気二重層容量  $C_{dl}$ ) と特定周波数 (0.01 kHz, 0.1 kHz, 1 kHz, 10 kHz) における電極インピーダンス  $Z$  ( $Z_{0.01\text{ kHz}}$ ,  $Z_{0.1\text{ kHz}}$ ,  $Z_{1\text{ kHz}}$ ,  $Z_{10\text{ kHz}}$ ) および CIC の間の影響を評価するため, 無相関検定を行った (優位水準:  $p < 0.05$ ). 統計解析のため, 日ごとの測定値を平均し, 月ごとの測定値として算出した. 分析には JMP Pro 16 ソフトウェア (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用い, データは平均値  $\pm$  標準偏差 (SD) で示した.

## 5.2.2. 電荷注入能力 (CIC) 測定

### 5.2.2.1 概要

CIC は、電位が水の電位窓 [Pt 電極では $-0.6\text{V}$ – $+0.8\text{V}$  (vs Ag/AgCl) の範囲] を逸脱することなく注入可能な最大電荷密度と理論的には定義される (図 5-2) [68, 69]. しかし、電極電位が水の電位窓の範囲内であっても、生体模擬液[65, 66, 68]および生体組織[70]において、白金電極の溶出 (不可逆反応) は生じる。一方で、生体の緩衝作用により、多少の不可逆反応が生じたとしても、生体組織に直ちに損傷が生じることはない[67]. 水の電位窓の範囲内で CIC を決定することは、安全性を考慮した保守的な見積もりである。したがって、CIC は安全性評価のしきい値として広く用いられてはいるが、この範囲内で不可逆反応が発生しないことを保証するものではない。

微小な測定電位 ( $20\text{ mV}_{\text{rms}}$ ) の印加に対する EIS 測定とその ECA 評価によって得られた電荷移動抵抗  $R_{\text{ct}}$  値は、水の電位窓内での酸化還元反応の起こりにくさを反映する。電極界面における電気二重層の形成が理想的であれば、電極界面の電気化学反応は生じない。その場合、本研究の ECA では電荷移動抵抗  $R_{\text{ct}}$  を拡散抵抗  $Z_{\text{w}}$  と分離しているため、電荷移動抵抗  $R_{\text{ct}}$  値は無限大となるはずである。

### 5.2.2.2 測定方法

生体内 CIC 測定では、WE (FLiP 電極) と CE (眼内に留置した Pt 電極) の間に、パルス電流 (持続時間  $500\text{ }\mu\text{s}$ , 繰り返し周波数  $30\text{ Hz}$ , Cathodic-first 二相性パルス) を通電した (図 5-2)。先行カソードパルスとそれに続く Anode パルスの開回路期間 (Interpulse duration  $50\text{ }\mu\text{s}$ ) を挿入した。電極電位は、特製の増幅器およびオシロスコープ (DL750, Yokogawa Meters & Instruments, Tokyo, Japan) を用いて記録した[16]. 参照電極 [Ag/AgCl 電極 (Ag/AgCl, International Chemistry Co., Ltd., Chiba, Japan)] は、塩橋 (生理的食塩水で満たしたチューブ) を介して電氣的に家兎に接続した[16] (図 5-3)。

各パルス停止時の電極電位を  $iR$  drop を含まない分極電位とみなし、Cathode パルス停止直後の分極電位を計測した。この値が水の電位窓を逸脱することなく流すことができる電流パルス振幅の最大値を求めた。この電流振幅値にパルス時間を乗じて注入電荷量を求め、FLiP 電極の幾何学的表面積  $0.0043\text{ cm}^2$  で除すことで CIC を算出した。CIC 測定は刺激期間中に 1 か月ごとに実施した。

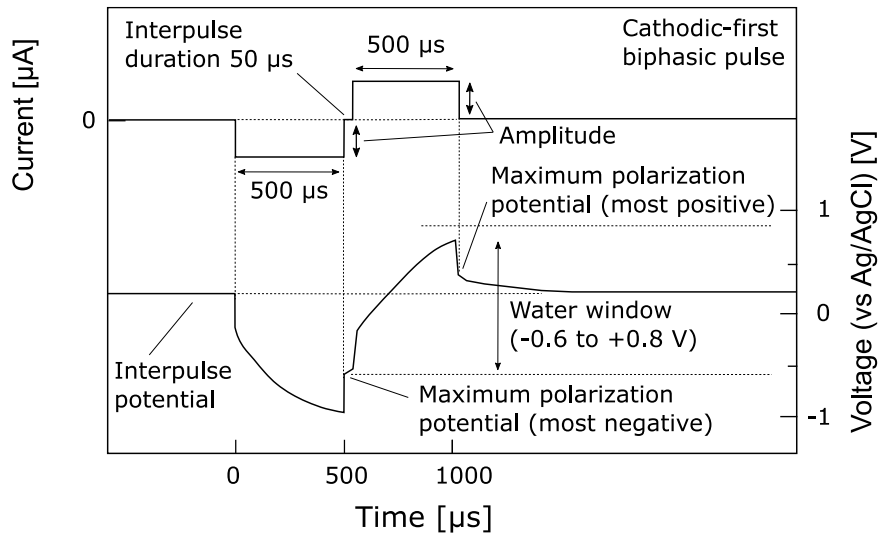


図 5-2 電荷注入能力 (CIC) の測定法[16, 71]. 刺激電流 (上段) に対する電極電位応答 (下段). 電極電位が水の電位窓 [Pt 電極では  $-0.6\text{V}$ – $+0.8\text{V}$  (vs Ag/AgCl) の範囲] を逸脱することなく通電可能な最大電荷密度として CIC を求める. (文献[16]の転載許諾をとり文献[71]に掲載)

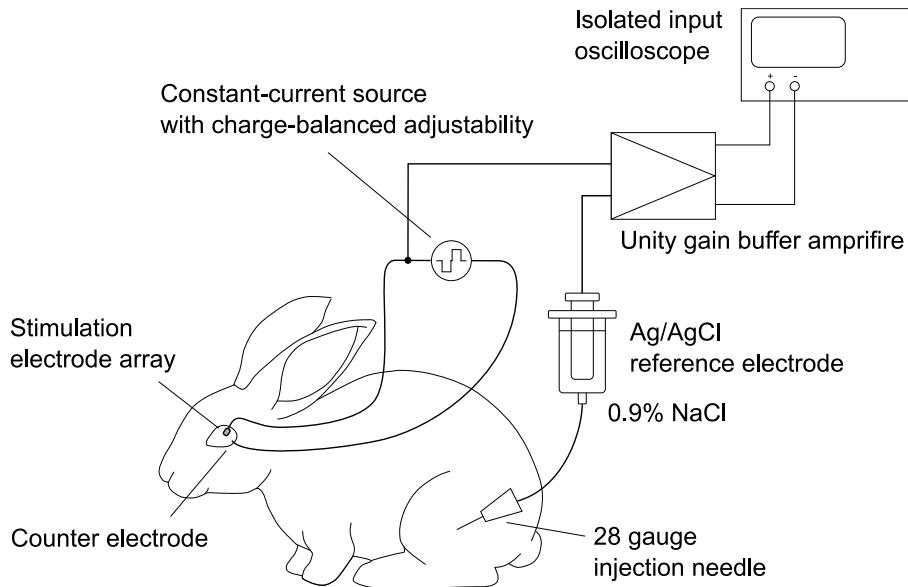


図 5-3 電荷注入能力 (CIC) の *in vivo* 評価系[16, 71]. (文献[16]の転載許諾をとり文献[71]に掲載)

## 5.3. 結果

### 5.3.1 等価回路要素の経時変化

6 か月間の刺激期間中、計測系のトラブル（動物の体動および配線の断線）により、Inactive 電極の 1 つを除外した。そのため、Active 電極は  $N=5$ 、Inactive 電極は  $N=4$  でデータ解析を行った。

#### 溶液抵抗 $R_{sol}$

rANOVA 解析で 2 つの因子「通電、期間」に有意差を認めた（表 5-1）。

Active 電極では、刺激前（mean 2.11 k $\Omega$ ）から通電 1 か月後（mean 1.60 k $\Omega$ ）に 24%（0.51 k $\Omega$ ）減少し、その後も同程度の値で推移した（図 5-4a および表 5-2）。一方、Inactive 電極では経時変化はなく、刺激前と同程度の値で推移した（図 5-4b）。

#### 電荷移動抵抗 $R_{ct}$

rANOVA 解析で 2 因子「通電、期間」とそれらの交互作用に有意差を認めた（表 5-1）。

Active 電極では、刺激前（mean 6.94 k $\Omega$ ）から通電 1 か月後（mean 0.57 k $\Omega$ ）に 92%（6.37 k $\Omega$ ）減少し、その後も同程度の値で推移した。ばらつき幅は、刺激前（SD 3.09 k $\Omega$ ）から刺激 1 か月後（SD 0.22 k $\Omega$ ）に 93%（2.87 k $\Omega$ ）減少した（図 5-4c および表 5-2）。一方、Inactive 電極では経時変化はなく、刺激前と同程度の値で推移した（図 5-4d）。

#### 拡散抵抗 $Z_w$

rANOVA 解析で 1 因子「期間」に有意差を認めた（表 5-1）。

Active では、刺激前（mean 256.17 k $\Omega/s^{-1/2}$ ）から通電 1 か月後（mean 28.44 k $\Omega/s^{-1/2}$ ）に 89%（227.73 k $\Omega/s^{-1/2}$ ）減少し、その後も同程度の値で推移した。ばらつき幅は、刺激前（SD 218.64 k $\Omega/s^{-1/2}$ ）から刺激 1 か月後（SD 3.87 k $\Omega/s^{-1/2}$ ）に 98%（214.77 k $\Omega/s^{-1/2}$ ）減少した（図 5-4e および表 5-2）。一方、Inactive 電極では、刺激前から若干の低下傾向を認めた（図 5-4f）。

#### 電気二重層容量 $C_{dl}$

rANOVA 解析で有意差は認められなかった（表 5-1）。

Active 電極では、刺激前（mean 14.16 nF, SD 2.87 nF）から通電 1 か月後（mean 25.82 nF, SD 13.49 nF）に平均値（1.8 倍）とばらつき幅（4.7 倍）が増大し、それ以降も同程度の値で推移した。（図 5-4g および表 5-2）。一方、Inactive 電極では経時変化はなく、刺激前と同程度の値で推移した（図 5-4h）。



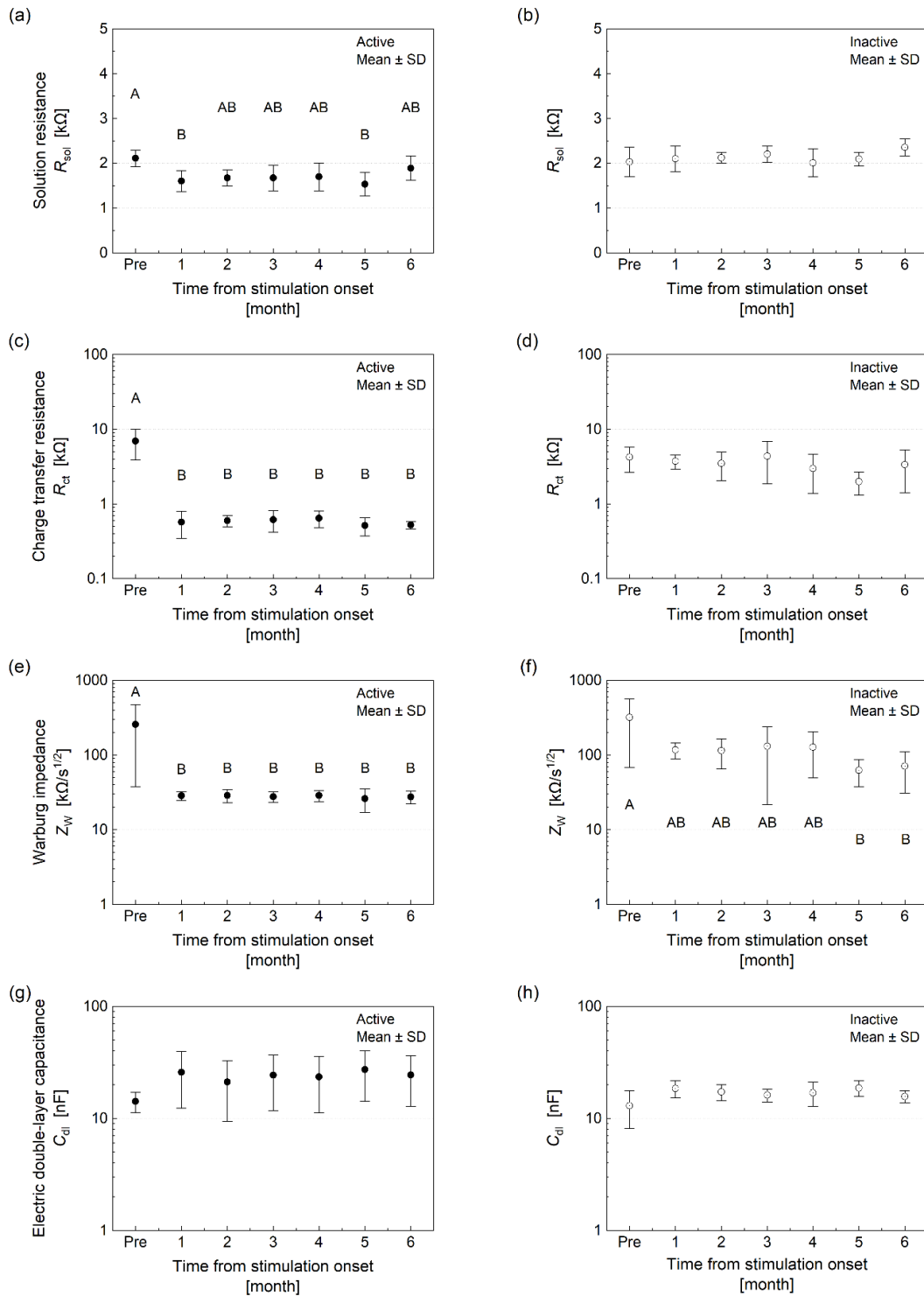


図 5-4 等価回路要素（溶液抵抗  $R_{sol}$ , 電荷移動抵抗  $R_{ct}$ , 拡散抵抗  $Z_w$ , 電気二重層容量  $C_{dl}$ ）の経時変化[71]. 異なる文字表記（A および B）は Tukey's HSD 検定で有意差が検出された項目を示す（優位水準  $p \leq 0.05$ ）.

表 5-1 対応のある二元配置分散分析 (rANOVA) の結果[71]. 等価回路要素に対する 2 因子 (電気刺激および刺激期間) とそれらの交互作用の影響 (Active 電極 vs Inactive 電極) ( $R_{sol}$ : 溶液抵抗,  $R_{ct}$ : 電荷移動抵抗,  $C_{dl}$ : 電気二重層容量,  $Z_w$ : 拡散抵抗).

Equivalent circuit element	Factors					
	<i>Stimulation</i>		<i>Period</i>		<i>Interaction of stimulation and period</i>	
	<i>F</i> -value	<i>p</i> -value	<i>F</i> -value	<i>p</i> -value	<i>F</i> -value	<i>p</i> -value
$R_{sol}$	24.44	$\leq 0.01^{**}$	2.41	0.04*	2.21	0.06 <sup>NS</sup>
$R_{ct}$	17.60	$\leq 0.01^{**}$	13.12	$\leq 0.01^{**}$	4.06	$\leq 0.01^{**}$
$Z_w$	4.24	0.08 <sup>NS</sup>	8.56	$\leq 0.01^{**}$	0.53	0.78 <sup>NS</sup>
$C_{dl}$	1.56	0.25 <sup>NS</sup>	1.68	0.15 <sup>NS</sup>	0.84	0.55 <sup>NS</sup>

NS: not significant ( $p > 0.05$ ), \*: significant ( $p \leq 0.05$ ), \*\*: significant ( $p \leq 0.01$ ).

表 5-2 等価回路要素の経時変化. 刺激前 (Pre), 刺激 1 か月後 (1 month), 刺激 2 か月目以降 (2–6 month) の比較 ( $R_{sol}$ : 溶液抵抗,  $R_{ct}$ : 電荷移動抵抗,  $C_{dl}$ : 電気二重層容量,  $Z_w$ : 拡散抵抗).

Electrode	Equivalent circuit element			Pre	1 month	2–6 month	
Active	$R_{sol}$	[k $\Omega$ ]	mean	2.11	1.60	1.69	
			SD	0.18	0.23	0.27	
	$R_{ct}$	[k $\Omega$ ]	mean	6.94	0.57	0.58	
			SD	3.09	0.22	0.14	
	$Z_w$	[k $\Omega$ s <sup>1/2</sup> ]	mean	256.17	28.44	27.69	
			SD	218.64	3.87	5.68	
	$C_{dl}$	[nF]	mean	14.16	25.82	24.10	
			SD	2.87	13.49	11.35	
	Inactive	$R_{sol}$	[k $\Omega$ ]	mean	2.03	2.10	2.15
				SD	0.33	0.29	0.22
$R_{ct}$		[k $\Omega$ ]	mean	4.22	3.72	3.24	
			SD	1.59	0.79	1.74	
$Z_w$		[k $\Omega$ s <sup>1/2</sup> ]	mean	317.75	116.75	101.23	
			SD	249.68	28.93	66.74	
$C_{dl}$		[nF]	mean	12.93	18.44	16.91	
			SD	4.79	3.26	2.80	

SD: standard deviation

### 5.3.2 電極表面の SEM 画像

埋植前および摘出後の電極表面 SEM 画像を示す (図 5-5). 摘出後の電極表面にはタンパク質が付着していた (図 5-5b). 溶出等による明らかな電極の劣化は認めなかった (図 5-5c).

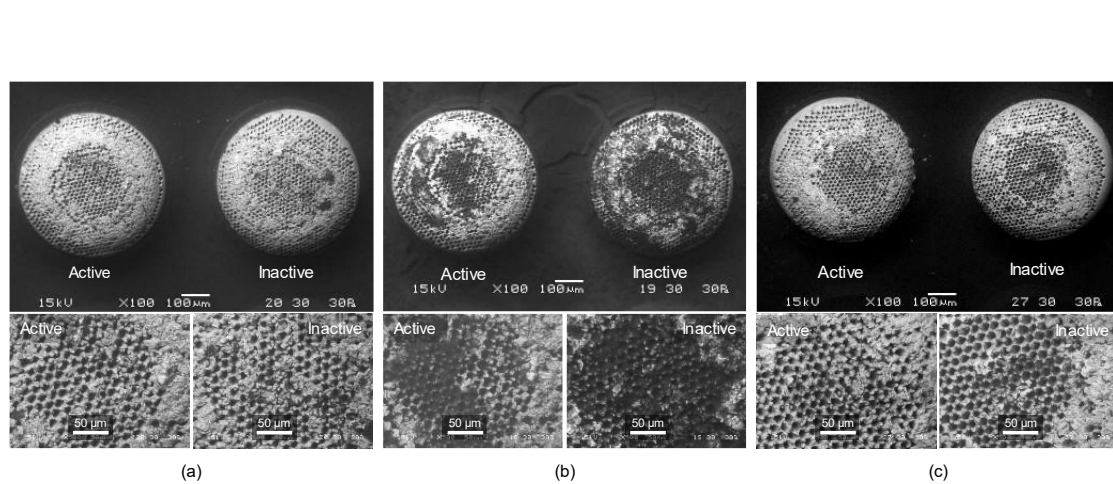
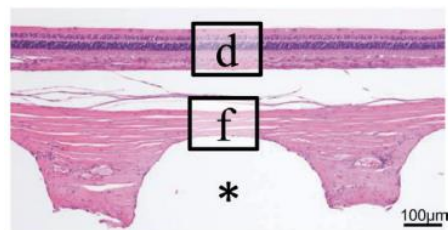


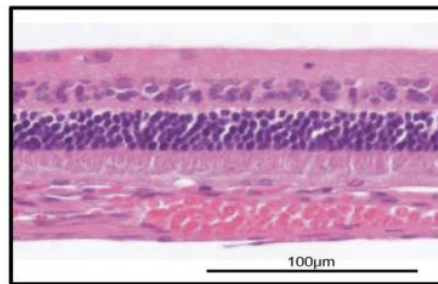
図 5-5 FLiP 電極表面の SEM 画像[71]. (a) 埋植前, (b および c) 摘出直後の電極, (b : 洗浄前, c : 洗浄後), (下段左) Active 電極と (下段右) Inactive 電極の拡大像. 洗浄前の摘出電極の表面にはタンパク質などの生体分子が付着していた (b). 溶出などの顕著な電極劣化は観察されなかった (c).

### 5.3.3 電極埋植部の病理組織像

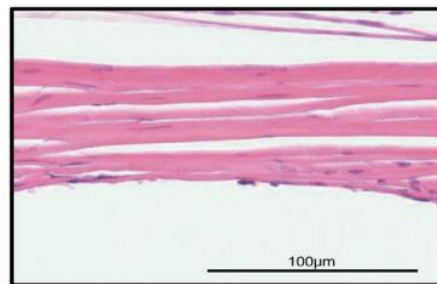
Active 電極周辺の網膜では、細胞数の減少や層構造の破壊などの異常は観察されなかった (図 5-6) [15]. 電極側壁の領域は結合組織で満たされていた. 一方, 電極上部の領域には結合組織はほとんど観察されず, 電極の上部先端は強膜組織に接触していた.



(b)



(d)



(f)

図 5-6 通電 1 か月後の電極埋植部の病理組織像[15]. (b) FLiP 電極埋植部 (\* : FLiP 電極埋植位置). (d) FLiP 電極に隣接する網膜の拡大図. (f) FLiP 電極に隣接する強膜の拡大図. 網膜層構造の崩壊や細胞数の減少といった異常は認められない. (d) FLiP 電極に隣接する網膜組織では視細胞の形態に異常は認められなかった. 電極側面の領域は結合組織で満たされていた (b). 一方, 電極上部には結合組織はほとんど観察されなかった (f).

### 5.3.4 等価回路要素および電荷注入力 CIC の相関関係

等価回路要素（溶液抵抗  $R_{sol}$ ，電荷移動抵抗  $R_{ct}$ ，拡散抵抗  $Z_w$ ，電気二重層容量  $C_{dl}$ ）の解析値および Active 電極における実測値（電極インピーダンス  $Z$ ，CIC）の間の相関の有無を確認した（図 5-7）。

溶液抵抗  $R_{sol}$  は，高周波数領域（0.1–10 kHz）において電極インピーダンス  $Z$  と正の相関を示した。拡散抵抗  $Z_w$  および電荷移動抵抗  $R_{ct}$  は，それぞれ 0.01–0.1 kHz および 0.1–1 kHz の低周波数領域で電極インピーダンス  $Z$  と正の相関を示した。電気二重層容量  $C_{dl}$  は溶液抵抗  $R_{sol}$  と正の相関があり，拡散抵抗  $Z_w$  および CIC と負の相関があった。CIC は 0.1 kHz における電極インピーダンス（ $Z_{0.1\text{ kHz}}$ ）と負の相関を示した。

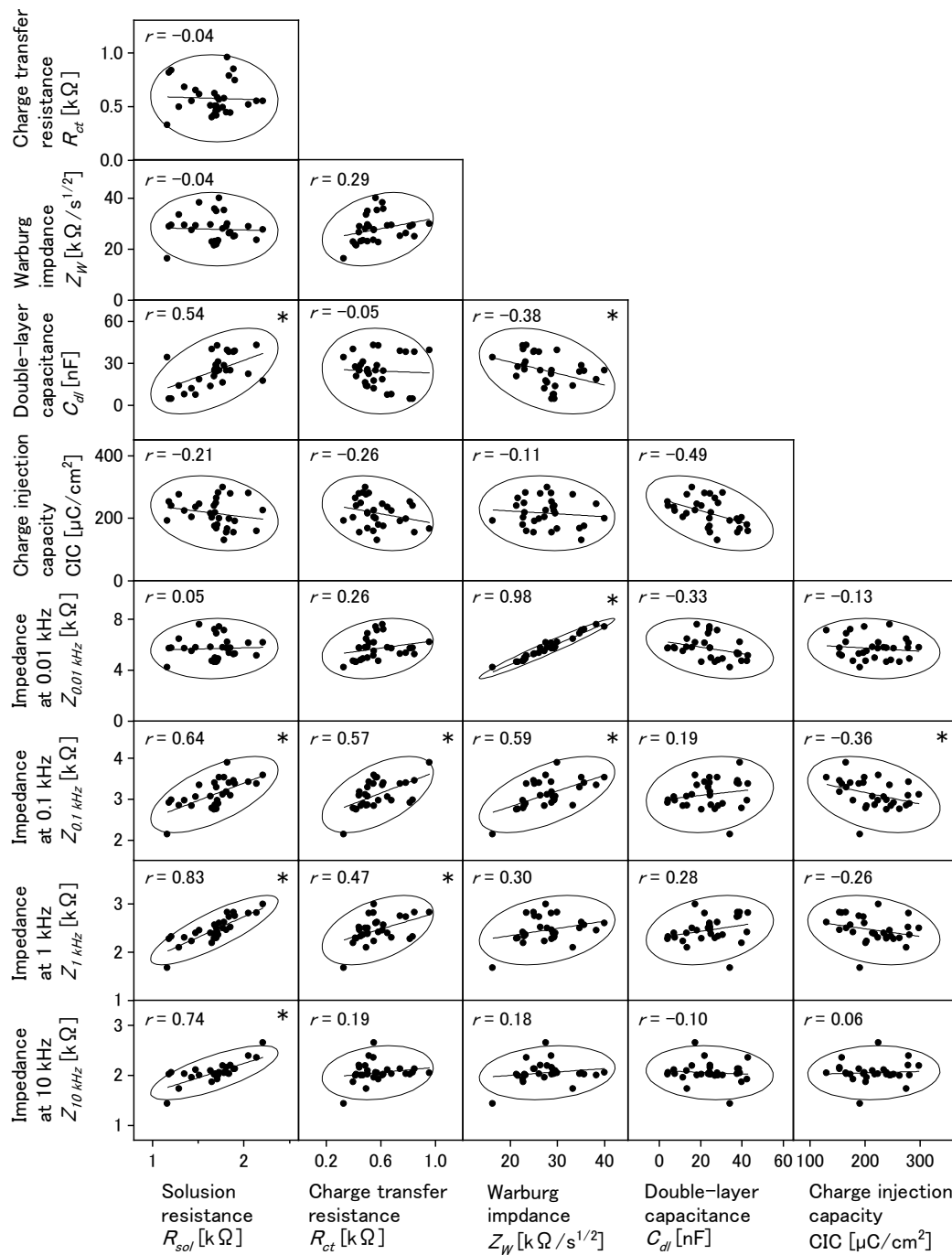


図 5-7 等価回路要素（溶液抵抗  $R_{sol}$ ，電荷移動抵抗  $R_{ct}$ ，拡散抵抗  $Z_W$ ，電気二重層容量  $C_{dl}$ ）と Active 電極における特定周波数（0.01 kHz，0.1 kHz，1 kHz，10 kHz）の電極インピーダンス（ $Z_{0.01 kHz}$ ， $Z_{0.1 kHz}$ ， $Z_{1 kHz}$ ， $Z_{10 kHz}$ ）および電荷注入能力（CIC）の間の無相関検定の結果 [71]。楕円：95%信頼水準。r：ピアソンの相関係数。p：無相関検定の p 値，\*：有意（ $p \leq 0.05$ ）

## 5.4 考察

### 5.4.1 溶液抵抗 $R_{sol}$ の経時変化

刺激期間中、溶液抵抗  $R_{sol}$  が比較的安定していたのは、電極のカプセル化（異物反応）と吸着したタンパク質の脱離によるものと考えられる。生体内に埋植した電極にはタンパク質が吸着し線維組織に包まれる[87]。電極表面にタンパク質が吸着すると溶液抵抗  $R_{sol}$  が増加し、電気二重層容量  $C_{dl}$  が減少する[77]。刺激電流を流すと吸着したタンパク質は脱離し、電極表面は清浄化される[89]。二元配置分散分析 rANOVA により、「通電」とその「期間」の2因子が溶液抵抗  $R_{sol}$  に影響することが明らかとなった（表 5-1）。

溶液抵抗  $R_{sol}$  は、微小電極への通電で生じる  $iR$  drop ( $= R_{sol} \times$  刺激電流振幅) に関わる。網膜刺激のための定電流出力を維持するには、電源電圧を十分に高くする必要がある。 $iR$  drop と分極電位は刺激電流に対する負荷を決定する。これらの値は人工網膜デバイスを設計する際に、定電流パルスを印加するための刺激装置の駆動電圧を見積もる際に有用である。

刺激装置に必要な駆動電圧は、(1) 電気刺激時に生体組織内で生じる  $iR$  drop, (2) 刺激電極の分極電位, (3) 定電流回路の駆動電圧, (4) 出力端に挿入された直流遮断コンデンサーの充電電圧, から推定できる。溶液抵抗  $R_{sol}$  の最大推定値 ( $\sim 2.52$  k $\Omega$ : 図 5-4a) に対して刺激電流 1 mA を流す場合を想定すると、 $iR$  drop は  $\sim 3$  V と推定できる。刺激電流 1.2 mA 通電時の分極電位は最大値  $-1.14$  V 程度であるため[16]、分極電圧は大きく見積もって  $\sim 2$  V である。本研究で使用した定電流刺激装置の仕様により、定電流源回路の動作電圧に約 1.5 V、生体へ有害な直流電流が流れ出ることを防止する直流阻止コンデンサーの充電電圧に 0.5 V を生じる。これらの合計と設計マージンを考慮すると、定電流刺激装置の動作に必要な電源電圧は約 10 V と推定できる。このように、本研究の等価回路解析は、刺激電極を介して生体に一定の刺激電流を流すために必要な電源電圧の設計に有用である。

溶液抵抗  $R_{sol}$  が刺激期間中に安定であったこと（図 5-4a および図 5-4b）は、十分な刺激電流を供給する電源システムの設計に有用な知見である。STS 方式による網膜刺激では、刺激電流が大きいため  $iR$  drop の影響が比較的大きい。反対に、その他の網膜刺激方式では、刺激電流が小さいため分極電位の影響が相対的に大きくなる。 $iR$  drop と分極電位の影響は、電極の形状（電極サイズと表面粗さ）[77]と刺激電流条件（振幅と持続時間）に依存する。分極電位が  $iR$  drop よりもはるかに大きい（すなわち刺激電流が小さい）場合は、電圧源を設計する際に分極電位を第一に考慮すべきである。

#### 5.4.2 拡散抵抗 $Z_w$ と電荷移動抵抗 $R_{ct}$ の経時変化

電極表面にタンパク質が吸着すると、電極表面の有効面積が減少し、電極界面での電荷移動と物質拡散に影響が生じる[70]. 拡散抵抗  $Z_w$  は低周波数領域における電極界面のイオン拡散の生じにくさを反映し、電荷移動抵抗  $R_{ct}$  は電極/電解質溶液界面における電荷移動反応（酸化還元反応）の生じにくさを反映する[90]. 電荷移動抵抗  $R_{ct}$  は電極表面へのタンパク質吸着で増大する. これは、吸着タンパク質が電荷移動を阻害するためである[77]. 電極に刺激電流を流すと吸着タンパク質が脱離し、電極表面が清浄化されることで物質拡散と電荷移動反応が容易となる[70]. 拡散抵抗  $Z_w$  と電荷移動抵抗  $R_{ct}$  は刺激開始時に低下し、その後は安定したまま一定推移したことから（図 5-4c-f）、通電によって Active 電極表面の吸着タンパク質が脱離したと推定できる. 摘出した Active 電極の表面に付着していたタンパク質は、Inactive 電極よりも少ない傾向にあった（図 5-4b）. したがって、Inactive 電極における電荷移動抵抗  $R_{ct}$  と拡散抵抗  $Z_w$  の大きな変動は、電極間における付着タンパク質量の不均等が要因と考えられる[70].

刺激電流の周波数成分は拡散速度に対して高いため、拡散抵抗  $Z_w$  は人工網膜用刺激電極の性能には直接影響しない. しかし、等価回路モデルを電極インピーダンス実測値にフィッティングさせ、各回路要素を推定するためには拡散抵抗  $Z_w$  が必要である[81].

#### 5.4.3 電気二重層容量 $C_{dl}$ の経時変化

刺激後の電気二重層容量  $C_{dl}$  の増大は、刺激電流に伴う電極表面の清浄化による電気二重層の形成を反映している. 刺激電極の電気二重層容量  $C_{dl}$  は、不可逆的な電荷移動反応を伴わずに電解質中の可逆的な電荷の流れを誘導する能力（容量性電流）を反映し[90]、CIC に寄与する[69]. したがって、電気二重層容量  $C_{dl}$  が大きな電極ほど多くの電荷量を安全に注入することができる[69]. 電気二重層容量  $C_{dl}$  は、電極表面にタンパク質が吸着すると減少する[77]. ばらつきが大きいいため統計的に有意な差は認められなかったが、Active 電極の電気二重層容量  $C_{dl}$  の平均値と変動幅は刺激開始直後から増大し、その後は安定していた（図 5-4g および図 5-4h）. これらの結果は、刺激電流によって吸着タンパク質が脱離し、電極表面が清浄化されたことを反映する.

イオン濃度の変化は、電気二重層の形成に寄与する. Gouy-Chapman-Stern モデルでは、電極界面の電気二重層は、ヘルムホルツ層の電気二重層（容量  $C_H$ ）とその外側の拡散層（容量  $C_{diff}$ ）の直列接続で表される（式 5-1）. この拡散層（容量  $C_{diff}$ ：式 5-2）は、イオン濃度が  $C_{diff}$  の増大に寄与することを示す[91].



$$\frac{1}{C_{dl}} = \frac{1}{C_H} + \frac{1}{C_{diff}}, \quad (5-1)$$

$$C_{diff} = \sqrt{\frac{2\varepsilon z^2 F^2 C_x^0}{RT}} \cosh\left[\frac{zF\psi_d}{2RT}\right], \quad (5-2)$$

( $\varepsilon$  : 溶媒の誘電率,  $z$  : イオンの価数,  $F$  : ファラデー定数,  $C_x^0$  : バルク溶液中の全イオン濃度,  $R$  : 気体定数,  $T$  : 絶対温度,  $\psi_d$  : 静電ポテンシャル)

Active 電極における刺激期間中の電気二重層  $C_{dl}$  の大きな変動は、水の電気分解によるものである。FLiP 電極に刺激電流 1.2 mA を通電すると、電極電位が水の電位窓を逸脱し、水の電気分解（水の還元反応： $2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\uparrow + 2\text{OH}^-$ ）が生じる[16]。そのため、より大きな刺激電流 1.5 mA（電流密度  $175\ \mu\text{C cm}^{-2}$ ）を通電した本研究でも、Active 電極で水の電気分解が生じていたと推定できる。Active 電極では酸化膜の形成と水の電気分解により、電極界面でイオン濃度変化と  $\text{H}_2$  分子の発生が生じることで電気二重層容量  $C_{dl}$  が増大した[91]。したがって、Active 電極近傍のイオン濃度変化が電気二重層容量  $C_{dl}$  の増加を引き起こした。

#### 5.4.4 電気二重層容量 $C_{dl}$ と電荷注入能力 CIC の相関

電気二重層容量  $C_{dl}$  は可逆的な容量性電流に寄与する。そのため、電気二重層容量  $C_{dl}$  の減少は CIC の低下に寄与し、有害な不可逆反応が生じやすくなる。一般的に、電気二重層容量  $C_{dl}$  は CIC と正の相関を示す。しかし、FLiP 電極では  $\text{H}_2$  分子の可逆的酸化還元反応による擬容量性電流が CIC に寄与するため、正の相関は検出されなかった（図 5-7）。リン酸緩衝生理食塩水（PBS）中で  $-0.85$ – $+0.3\ \text{V}$  (vs Ag/AgCl) の間で記録された FLiP 電極のサイクリック・ボルタンモグラムにおいて、0 V 付近に円滑電極では観察されない  $\text{H}_2$  分子の酸化還元反応に起因するピークが検出されている[88]（図 5-8）。一般に、円滑電極では水の電気分解によって発生する  $\text{H}_2$  分子は電極界面（反応場）から拡散して消失するため不可逆反応であり、それに伴いファラデー電流が発生する[69]。

これに対し、FLiP 電極の場合、水の電気分解によって生成した  $\text{H}_2$  分子は電極表面の微細孔構造に捕捉されて電極界面（反応場）に留まるため、可逆的な酸化還元反応を引き起こす[15]。反応場に留まる活性種によって生じるこのような可逆反応は、CIC の増大に寄与する擬容量性電流を誘導する[69]。このように、電気二重層容量  $C_{dl}$  によって誘導される容量性電流と、 $\text{H}_2$  分子の可逆的な酸化還元反応によって誘導される擬容量性電流の寄与によって高い CIC を示すことが、FLiP 電極の特徴である。

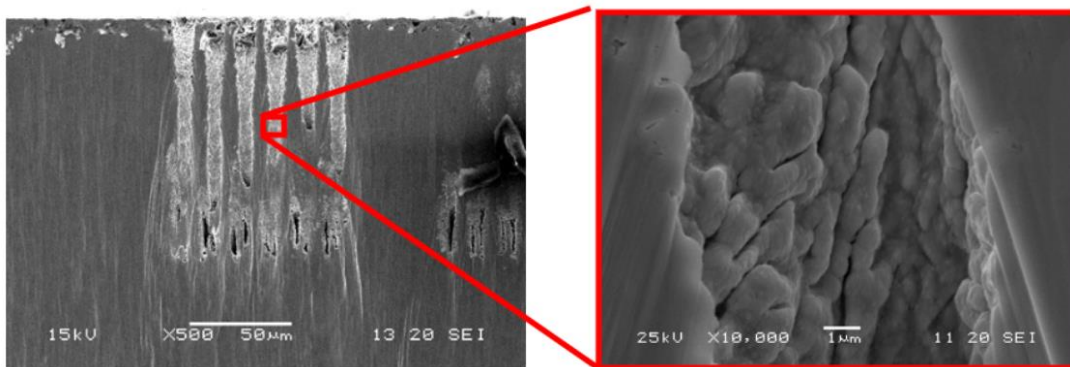
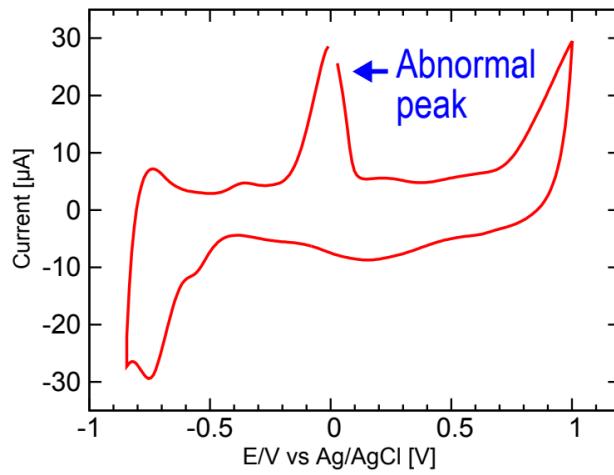


図 5-8 FLiP 電極のサイクリックボルタモグラム (CV) と電極表面の SEM 画像[88]. (上段) リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中で測定した FLiP 電極の CV. 0 V (vs Ag/AgCl) 付近に, 非多孔性電極では観察されない  $\text{H}_2$  分子の酸化還元反応に起因するピーク (青矢印: Abnormal peak) を検出した. (下段) FLiP 電極の複雑な多孔表面構造の SEM 画像.

#### 5.4.5 電極インピーダンス $Z$ と電荷注入能力 CIC の相関

臨床使用中に CIC を測定することは容易ではないため、刺激性能の安全性指標として CIC を定期モニタリングすることは難しい。一方で、刺激電流通電時に容易に測定できる電極インピーダンス  $Z$  は、デバイスの稼働状態を定期モニタリングのための指標として有望である。人工内耳や人工網膜では、電源状態や断線トラブルの有無がバックテレメトリーによる電極インピーダンス  $Z$  [一般に 1 kHz における値 ( $Z_{1\text{kHz}}$ ) [92]] の定期測定で監視されている[93–95]。

本研究では、CIC と 0.1 kHz における電極インピーダンス  $Z_{0.1\text{kHz}}$  の間に有意な相関が認められた (図 5-7)。これは、0.1 kHz 付近の低周波数領域では、電荷移動抵抗  $R_{ct}$  ( $\text{H}_2$  分子の可逆的な酸化還元反応を反映) と拡散抵抗  $Z_w$  の影響が大きいためである。しかし、この相関は弱いものであった ( $r=-0.36$ )。これは、FLiP 電極特性に影響する (1) 刺激時の  $iR$  drop, (2) 埋植電極近傍の生体内環境の変化, (3) 製造プロセスに起因する電極の個体差, 等の要因によるもの考えられる。各要因について、以下に説明する。(1) について、微小サイズの FLiP 電極を用いた STS 方式による網膜刺激の場合、分極電位よりも  $iR$  drop の方が相対的に電極電位への影響が大きいと、溶液抵抗  $R_{sol}$  が電極インピーダンス  $Z$  の主要成分となる。そのため、電極インピーダンス  $Z$  に対する CIC, 電気二重層容量  $C_{dl}$ , 電荷移動抵抗  $R_{ct}$ , 拡散抵抗  $Z_w$  の影響は、溶液抵抗  $R_{sol}$  に比べて相対的に小さいものとなる。(2) について、電極埋植部では、電極電位が水の電位窓の範囲内であっても、生体内の活性種 (イオン, タンパク質, アミノ酸, 等) が電荷移動反応を起こす[65, 66, 96, 97]。さらに、CIC には FLiP 電極周辺の水, イオン, 溶存酸素の量も影響する[98]。(3) について、個々の FLiP 電極間の大きな個体差は、Pt 棒材を旋盤加工とレーザー照射により多孔化処理する製造プロセスに起因する。特に、FLiP 電極の電気化学特性は、表面の酸化状態の不均一性に大きく影響される[16]。これらの影響も電極インピーダンス  $Z$  に含まれるため、CIC と電極インピーダンス  $Z$  の間の相関は弱いものとなった。

電極インピーダンス  $Z$  は、FLiP 電極の刺激性能が刺激期間中に維持されているかどうかの大まかな指標として有用である。過剰な刺激電流 1.5 mA を 6 ヶ月間印加しても、埋植した FLiP 電極の CIC に大きな変化はなく、組織や電極に損傷は生じない[15, 16]。また、FLiP 電極の電気化学的特性を反映する各回路要素は、6 ヶ月の刺激期間中安定していた (図 5-4)。よって、FLiP 電極の特性に変化が生じた場合、その変化を電極インピーダンス  $Z$  で検出できると推定できる。

能動デバイスでは、単一周波数のインピーダンスを測定するか、負荷電圧と刺激電流から測定したインピーダンスにより、断線や短絡がなく正常に稼働しているかどうかを監視する[93–95]。デバイス稼働状態が正常であれば、 $iR$  drop, 分極電位, 装置負荷のみがインピーダンスに反映される。よって、これらの不具合検出法はシンプルかつ効果的な手法である。一方、EIS-ECA による評価法は、生体内でのカプセル化などの影響と電極界面の電気化学

特性変化を分離して評価できる。したがって、本研究で提案する解析手法は、能動デバイス用刺激電極の開発にとって有用なツールとなる。

## 5.5 まとめ

FLiP 電極の電気化学特性を 6 ヶ月間の生体内長期通電下で評価した。電極特性の評価には EIS 測定と、拡散抵抗  $Z_w$  を含む Randles 型回路モデルを用いた ECA を行った。その結果、埋植電極に吸着したタンパク質が刺激電流によって脱離して電極表面が清浄化し、イオン拡散や電荷移動反応が促進されることが明らかとなった。吸着タンパク質の脱離に加え、水の電気分解によるイオン濃度の上昇により電気二重層容量  $C_{dl}$  が増大した。発生した  $H_2$  分子は FLiP 電極表面の微細孔構造に捕捉されて電極界面に留まるため、可逆的な酸化還元反応による擬似容量性電流を誘導する[88]。このように、電気二重層容量  $C_{dl}$  による容量性電流と  $H_2$  分子の酸化還元反応による擬似容量性電流の寄与によって高い CIC を示すことが FLiP 電極の特徴である。FLiP 電極の電気化学的特性は 6 か月間の刺激期間を通じて安定していたことから、慢性期の電極特性は急性期の評価から推定できる。

電気化学インピーダンス分光法 (EIS) と等価回路解析 (ECA) による電極特性の評価手法は、生体内で起こる複雑な現象を解明することができるため、慢性期における埋植電極の特性や刺激性能の評価に有用である。これらの結果を他の *in vitro*/*in vivo* 実験の結果と対比させることで、刺激電極として備えるべき性能を開発の初期段階で把握でき、デバイス設計へフィードバックすることができる。これにより、能動型埋植デバイスの開発を効率化し、動物実験を削減することで倫理的問題の回避にも貢献できる。本研究で得られた知見は、今後のより有効かつ安全な神経補綴デバイスの開発に役立てることができる。

## 第6章 結論

### 6.1 本研究の成果

本研究では、STS 方式人工視覚システム用高性能刺激電極として開発された多孔性白金電極 (FLiP 電極) の生体内埋植下における電気化学特性を評価し、電極界面で生じる現象を明確化した。電気化学インピーダンス分光法 (EIS) とその等価回路解析 (ECA) を組み合わせた評価手法を用いることで、生体内に埋植した FLiP 電極の界面で生じる複雑な物理化学現象を、複数の要素に分離して解釈することが可能となる。

実験動物 (家兎) の眼球に FLiP 電極アレイを埋植し、STS 方式で 6 か月間の電気刺激 (電荷平衡型 Cathodic-First 二相性矩形パルス電流, 振幅 1.5 mA, パルス幅 500  $\mu$ s, 注入電荷量 750  $\mu$ C/phase, 繰り返し周波数 50 Hz) を行った。通電期間中、周波数応答解析装置を搭載したポテンショスタットを用いて 20 mV の正弦波 (周波数範囲 10 Hz–100 kHz) を印加し、FLiP 電極の電気化学インピーダンスを測定した。この測定値に対して Randles 型回路モデルを用いた等価回路解析を行い、各回路要素の経時変化を評価した (第 3 章)。その結果、FLiP 電極の界面特性は、生体組織のバルク抵抗を反映する溶液抵抗  $R_{sol}$ 、電極-電解質界面に形成される電気二重層の静電容量  $C_{dl}$ 、電極界面で生じる電荷移動反応 (酸化還元反応) の起こりにくさを反映する電荷移動抵抗  $R_{ct}$ 、低周波数領域のイオン拡散に起因する抵抗を反映する拡散抵抗  $Z_w$  の 4 つの回路要素で構成される Randles 型回路モデルで模擬できることを明らかにした (第 4 章)。FLiP 電極は、レーザー加工で形成された多孔構造と、その多孔表面へのタンパク質等の付着により、電極界面の物質拡散現象が制限される。

4 つの等価回路要素の経時変化を評価することで、6 か月間の長期通電で生じる FLiP 電極界面の物理化学現象を明らかにした (第 5 章)。各回路要素は通電直後に変化するが、その後は比較的一定推移する。電極表面の吸着タンパク質は刺激電流によって脱離することで電極表面が清浄化され、イオン拡散や電荷移動反応が促進される。加えて、水の電気分解によるイオン濃度の上昇によって電気二重層容量  $C_{dl}$  が増大する。水の電気分解で生じた  $H_2$  分子は FLiP 電極の多孔構造に捕捉されて電極界面に留まるため、可逆的酸化還元反応による擬似容量性電流を誘導する。

以上のことから、FLiP 電極の高い電荷注入能力 (CIC) は、電気二重層容量  $C_{dl}$  による容量性電流と、 $H_2$  分子の可逆的酸化還元反応による擬似容量性電流の 2 つの要因の寄与によるものであることが明らかとなった。加えて、FLiP 電極の電気化学特性は 6 か月間もの長期通電期間を通じて比較的安定推移したことから、急性期の評価から慢性期の電極状態を推定可能であることも明らかとなった。今後の刺激電極の開発および評価に有用なこれらの知見が本研究の成果である。

## 6.2 今後の展望

人工網膜の開発における大きな課題の一つは、再建する視覚機能の高解像度化である。より自然に近い視覚機能を得るには網膜を高密度に刺激する必要があり、微細化した刺激電極を高密度に配置した電極アレイが必要となる。そのため、今後の刺激電極には更なる電荷注入能力（CIC）の向上と微細化が要求される。

CICの向上には、高性能電極材質の利用[69]、電極形状および表面構造の改良[15, 74, 99]、電極と生体組織間にハイドロゲル材料を介在させる手法[98]などのアプローチが試みられている。加えて、電気刺激条件の改良からのアプローチも試みられている。刺激電流パルスの波形（方形波、三角波、鋸波、逆鋸波、正弦波）[100, 101]、対称性[102]、極性（Cathodic-first）、二相性パルス間への Interpulse gap の導入[103]などによる刺激閾値の低減を目指した研究が進められている。このような刺激電流条件が刺激電極の通電性能や耐久性におよぼす長期的な影響の評価も重要である。今後は、緑内障や糖尿病性網膜症による失明者へも適用できる大脳刺激型人工視覚システムの開発も進められる[58]。このような大脳皮質の電気刺激に用いる微小電極には、さらに厳格な安全性や耐久性、精密な刺激性能が要求される。

このような能動型埋植デバイスの開発では、長期的な安全性や有効性の評価に刺激電極の仕様だけでなく、刺激電流条件や埋植環境など、複数の要因による複合的な影響を考慮する必要がある。しかし、多数の条件パラメーターを振り、かつそれらの膨大な組み合わせを動物実験で評価することは現実的ではなく、デバイス開発における大きな障壁となっている。

本研究で確立した電極特性の評価手法（EIS-ECA）は、複数の要因からなる複雑な物理化学現象を要素分解して解明することができる有用な手法である。埋植した刺激電極の慢性期の刺激性能や安全性を、急性期の *in vitro*/*in vivo* 評価から推定することができれば、デバイス開発の効率化や迅速化だけでなく、動物実験を削減することで倫理問題の回避にも貢献できる。本研究で得られた上記の知見は、人工視覚システムの開発だけでなく、神経インターフェースを用いる全ての能動型埋植デバイスの開発に大きく貢献するものである。

## 参考文献

- [1] 長谷川良平:「ブレイン-マシンインタフェースの現状と将来」. 電子情報通信学会誌, vol. 91, no. 12, pp. 1066–1075, 2008.
- [2] 森尚彫:「日本における人工内耳の現状」. 保健医療学雑誌, vol. 6, no. 1, pp. 15–23, 2015.
- [3] 博行清水:「人工内耳の歴史としくみ」. リハビリテーション・エンジニアリング, vol. 33, no. 4, pp. 130–133, 2018.
- [4] M. J. Burton *et al.*, “The Lancet Global Health Commission on Global Eye Health: vision beyond 2020,” *Lancet Glob Health*, vol. 9, no. 4, pp. e489–e551, 2021.
- [5] World Health Organization, “Global data on visual impairments 2010.” Geneva (Switzerland), 2012.
- [6] 若生里奈, 安川力, 加藤亜紀, 大森豊緑, 石田晋, 石橋達郎, 小椋祐一郎:「日本における視覚障害の原因と現状」. 日本眼科学会雑誌, vol. 118, no. 6, pp. 495–501, 2014.
- [7] A. Kral, F. Aplin, and H. Maier, “Chap.12: Visual neuroprostheses,” in *Prostheses for the Brain: Introduction to Neuroprosthetics*, Academic Press, 2021, pp. 251–289.
- [8] P. M. Lewis and J. V. Rosenfeld, “Electrical stimulation of the brain and the development of cortical visual prostheses: An historical perspective,” *Brain Res.*, vol. 1630, pp. 208–224, 2016.
- [9] G. S. Brindley and W. S. Lewin, “The sensations produced by electrical stimulation of the visual cortex,” *J. Physiol.*, vol. 196, no. 2, pp. 479–493, 1968.
- [10] W. H. Dobbelle and M. G. Mladejovsky, “Phosphenes produced by electrical stimulation of human occipital cortex, and their application to the development of a prosthesis for the blind,” *J. Physiol.*, vol. 243, no. 2, pp. 553–576, 1974.
- [11] A. Santos *et al.*, “Preservation of the inner retina in retinitis pigmentosa. A morphometric analysis,” *Arch. Ophthalmol.*, vol. 115, no. 4, pp. 511–515, 1997.
- [12] M. S. Humayun, E. de Juan Jr, G. Dagnelie, R. J. Greenberg, R. H. Propst, and D. H. Phillips, “Visual perception elicited by electrical stimulation of retina in blind humans,” *Arch. Ophthalmol.*, vol. 114, no. 1, pp. 40–46, 1996.
- [13] P. M. Lewis *et al.*, “Advances in implantable bionic devices for blindness: a review,” *ANZ J. Surg.*, vol. 86, no. 9, pp. 654–659, 2016.
- [14] T. Endo, T. Fujikado, M. Hirota, H. Kanda, T. Morimoto, and K. Nishida, “Light localization with low-contrast targets in a patient implanted with a suprachoroidal-transretinal stimulation retinal prosthesis,” *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 256, no. 9, pp. 1723–1729, 2018.
- [15] Y. Terasawa, H. Tashiro, Y. Nakano, and J. Ohta, “Safety and efficacy of semichronic suprachoroidal transretinal stimulation with femtosecond laser-induced porosity and smooth-surface electrodes,” *Sens. Mater.*, vol. 30, no. 2, pp. 235–249, 2018.

- [16] H. Tashiro *et al.*, “*In Vitro* and *In Vivo* Long-term Electrochemical Properties of Electrodes with Femtosecond-laser-induced Porosity for Visual Prostheses Based on Suprachoroidal Transretinal Stimulation,” *Sens. Mater.*, vol. 30, no. 2, pp. 251–268, 2018.
- [17] H. Tashiro *et al.*, “Initial Evaluation of the Safety and Durability of Retinal Prostheses Based on Suprachoroidal–transretinal Stimulation using Bullet-shaped Platinum Electrodes,” *Advanced Biomedical Engineering*, vol. 6, pp. 8–14, 2017.
- [18] S. F. Cogan, K. A. Ludwig, C. G. Welle, and P. Takmakov, “Tissue damage thresholds during therapeutic electrical stimulation,” *J. Neural Eng.*, vol. 13, no. 2, 021001, 2016.
- [19] F. Delcomun : 「ニューロンの生物学」. pp. 235–266, 南江堂, 東京, 1999.
- [20] L. Yue, J. D. Weiland, and M. S. Humayun, “Retinal Prostheses: A Brief History,” in *Retinal Prosthesis: A Clinical Guide to Successful Implementation*, M. S. Humayun and L. C. Olmos de Koo, Eds. Cham: Springer International Publishing, 2018, pp. 1–22.
- [21] L. N. Ayton *et al.*, “First-in-human trial of a novel suprachoroidal retinal prosthesis,” *PLoS One*, vol. 9, no. 12, e115239, 2014.
- [22] L. N. Ayton *et al.*, “An update on retinal prostheses,” *Clin. Neurophysiol.*, vol. 131, no. 6, pp. 1383–1398, 2020.
- [23] 高橋寛二, 小椋祐一郎, 石橋達朗, 白神史雄, 湯澤美都子 : 「加齢黄斑変性の治療指針」, 日本眼科学会雑誌, vol. 116, no. 12, pp. 1150–1155, 2012.
- [24] L. da Cruz *et al.*, “Five-Year Safety and Performance Results from the Argus II Retinal Prosthesis System Clinical Trial,” *Ophthalmology*, vol. 123, no. 10, pp. 2248–2254, 2016.
- [25] M. S. Humayun *et al.*, “Interim Results from the International Trial of Second Sight’s Visual Prosthesis,” *Ophthalmology*, vol. 119, no. 4, pp. 779–788, 2012.
- [26] P. Falabella, H. Nazari, P. Schor, J. D. Weiland, and M. S. Humayun, “Argus® II Retinal Prosthesis System,” in *Artificial Vision: A Clinical Guide*, V. P. Gabel, Ed. Cham: Springer International Publishing, 2017, pp. 49–63.
- [27] D. Güven, E. Düzgün, O. K. Kutucu, and C. Gül, “Evaluation of the Long-Term Clinical Results of 3 Patients Implanted with the Argus II Retinal Prosthesis,” *Turk J Ophthalmol*, vol. 53, no. 1, pp. 58–66, 2023.
- [28] R. Hornig *et al.*, “Pixium Vision: First Clinical Results and Innovative Developments,” in *Artificial Vision: A Clinical Guide*, V. P. Gabel, Ed. Cham: Springer International Publishing, 2017, pp. 99–113.
- [29] V. Wang and A. E. Kuriyan, “Optoelectronic Devices for Vision Restoration,” *Curr Ophthalmol Rep*, vol. 8, no. 2, pp. 69–77, 2020.
- [30] E. Zrenner *et al.*, “The Subretinal Implant ALPHA: Implantation and Functional Results,” in *Artificial Vision: A Clinical Guide*, V. P. Gabel, Ed. Cham: Springer International Publishing, 2017, pp. 65–83.



- [31] K. Stingl *et al.*, “Subretinal Visual Implant Alpha IMS–Clinical trial interim report,” *Vision Res.*, vol. 111, Part B, pp. 149–160, 2015.
- [32] R. Daschner *et al.*, “Laboratory and clinical reliability of conformally coated subretinal implants,” *Biomed. Microdevices*, vol. 19, no. 1, 7, 2017.
- [33] D. Palanker, Y. Le Mer, S. Mohand-Said, M. Muqit, and J. A. Sahel, “Photovoltaic Restoration of Central Vision in Atrophic Age-Related Macular Degeneration,” *Ophthalmology*, vol. 127, no. 8, pp. 1097–1104, 2020.
- [34] D. Lemoine, E. Simon, G. Buc, and M. Deterre, “*In vitro* reliability testing and *in vivo* lifespan estimation of wireless Pixium Vision PRIMA photovoltaic subretinal prostheses suggest prolonged durability and functionality in clinical practice,” *J. Neural Eng.*, vol. 17, no. 3, 035005, 2020.
- [35] E. Borda and D. Ghezzi, “Advances in visual prostheses: engineering and biological challenges,” *Prog. Biomed. Eng.*, vol. 4, no. 3, 032003, 2022.
- [36] J. Villalobos *et al.*, “A wide-field suprachoroidal retinal prosthesis is stable and well tolerated following chronic implantation,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 54, no. 5, pp. 3751–3762, 2013.
- [37] T. Fujikado *et al.*, “One-Year Outcome of 49-Channel Suprachoroidal-Transretinal Stimulation Prosthesis in Patients With Advanced Retinitis Pigmentosa,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 57, no. 14, pp. 6147–6157, 2016.
- [38] H. Kanda, T. Morimoto, T. Fujikado, Y. Tano, Y. Fukuda, and H. Sawai, “Electrophysiological studies of the feasibility of suprachoroidal-transretinal stimulation for artificial vision in normal and RCS rats,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 45, no. 2, pp. 560–566, 2004.
- [39] K. Nakauchi *et al.*, “Transretinal electrical stimulation by an intrascleral multichannel electrode array in rabbit eyes,” *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 243, no. 2, pp. 169–174, 2005.
- [40] T. Fujikado *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.*, vol. 245, no. 10, pp. 1411–1419, 2007.
- [41] T. Morimoto *et al.*, “Testing of Newly Developed Wide-Field Dual-Array Suprachoroidal-Transretinal Stimulation Prosthesis in Dogs,” *Transl. Vis. Sci. Technol.*, vol. 10, no. 3, 13, 2021.
- [42] D. A. X. Nayagam *et al.*, “Chronic electrical stimulation with a suprachoroidal retinal prosthesis: a preclinical safety and efficacy study,” *PLoS One*, vol. 9, no. 5, e97182, 2014.
- [43] M. N. Shivdasani *et al.*, “Factors affecting perceptual thresholds in a suprachoroidal retinal prosthesis,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 55, no. 10, pp. 6467–6481, 2014.
- [44] N. C. Sinclair *et al.*, “The Appearance of Phosphenes Elicited Using a Suprachoroidal Retinal Prosthesis,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 57, no. 11, pp. 4948–4961, 2016.
- [45] M. A. Petoe *et al.*, “Determining the Contribution of Retinotopic Discrimination to Localization

- Performance With a Suprachoroidal Retinal Prosthesis,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 58, no. 7, pp. 3231–3239, 2017.
- [46] J. A. Zhou *et al.*, “A suprachoroidal electrical retinal stimulator design for long-term animal experiments and *in vivo* assessment of its feasibility and biocompatibility in rabbits,” *J. Biomed. Biotechnol.*, vol. 2008, 547428, 2008.
- [47] J. Jeong, S. H. Bae, K. S. Min, J.-M. Seo, H. Chung, and S. J. Kim, “A miniaturized, eye-conformable, and long-term reliable retinal prosthesis using monolithic fabrication of liquid crystal polymer (LCP),” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 62, no. 3, pp. 982–989, 2015.
- [48] C. Veraart, M. C. Wanet-Defalque, B. Gérard, A. Vanlierde, and J. Delbeke, “Pattern recognition with the optic nerve visual prosthesis,” *Artif. Organs*, vol. 27, no. 11, pp. 996–1004, 2003.
- [49] D. D. Zhou and R. J. Greenberg, “Microelectronic Visual Prostheses,” in *Implantable Neural Prostheses 1: Devices and Applications*, E. Greenbaum and D. Zhou, Eds. New York, Springer US, 2009, pp. 1–42.
- [50] S. I. Fried and M. N. Shivdasani, “Selective activation of the visual cortex,” *Nature biomedical engineering*, vol. 4, no. 2, pp. 139–141, 2020.
- [51] J. Delbeke, M. Oozeer, and C. Veraart, “Position, size and luminosity of phosphenes generated by direct optic nerve stimulation,” *Vision Res.*, vol. 43, no. 9, pp. 1091–1102, 2003.
- [52] V. Gaillet *et al.*, “Spatially selective activation of the visual cortex via intraneural stimulation of the optic nerve,” *Nat Biomed Eng*, vol. 4, no. 2, pp. 181–194, 2020.
- [53] V. Gaillet, E. Borda, E. G. Zollinger, and D. Ghezzi, “A machine-learning algorithm correctly classifies cortical evoked potentials from both visual stimulation and electrical stimulation of the optic nerve,” *J. Neural Eng.*, vol. 18, no. 4, 046031, 2021.
- [54] W. H. Dobelle, “Artificial vision for the blind by connecting a television camera to the visual cortex,” *ASAIO J.*, vol. 46, no. 1, pp. 3–9, 2000.
- [55] R. M. G. Reinhart, W. Xiao, L. J. McClenahan, and G. F. Woodman, “Electrical Stimulation of Visual Cortex Can Immediately Improve Spatial Vision,” *Curr. Biol.*, vol. 26, no. 14, pp. 1867–1872, 2016.
- [56] P. Kosta *et al.*, “Electromagnetic Safety Assessment of a Cortical Implant for Vision Restoration,” *IEEE Journal of Electromagnetics, RF and Microwaves in Medicine and Biology*, vol. 2, no. 1, pp. 56–63, 2018.
- [57] A. J. Lowery *et al.*, “Monash Vision Group’s Gennaris Cortical Implant for Vision Restoration,” in *Artificial Vision: A Clinical Guide*, V. P. Gabel, Ed. Cham, Springer International Publishing, 2017, pp. 215–225.
- [58] X. Liu *et al.*, “A narrative review of cortical visual prosthesis systems: the latest progress and significance of nanotechnology for the future,” *Ann Transl Med*, vol. 10, no. 12, 716, 2022.
- [59] P. R. Troyk, “The Intracortical Visual Prosthesis Project,” in *Artificial Vision: A Clinical Guide*,

- V. P. Gabel, Ed. Cham, Springer International Publishing, 2017, pp. 203–214.
- [60] T. L. Rose, E. M. Kelliher, and L. S. Robblee, “Assessment of capacitor electrodes for intracortical neural stimulation,” *J. Neurosci. Methods*, vol. 12, no. 3, pp. 181–193, 1985.
- [61] A. Hung, I. B. Goldberg, and J. W. Judy, “Stimulation Electrode Materials and Electrochemical Testing Methods,” in *Implantable Neural Prostheses 2: Techniques and Engineering Approaches*, D. Zhou and E. Greenbaum, Eds. New York, NY: Springer US, 2010, pp. 191–216.
- [62] A. Kral, F. Aplin, and H. Maier, “Chap.5: Electrode-tissue interface,” in *Prostheses for the Brain: Introduction to Neuroprosthetics*, Academic Press, 2021, pp. 77–93.
- [63] A. Kral, F. Aplin, and H. Maier, “Chap.6: Artificial electrical stimulation: Principles, efficacy, and safety,” in *Prostheses for the Brain: Introduction to Neuroprosthetics*, Academic Press, 2021, pp. 95–113.
- [64] N. Farfour, M. El Mahi Chbihi, D. Takky, K. Eddahaoui, and S. Benmokhtar, “Catalytic oxidation of methanol on Pt/X (X = CaTP, NaTP) electrodes in sulfuric acid solution,” *Mediterr.J.Chem.*, vol. 2, no. 4, pp. 595–606, 2013.
- [65] J. McHardy, L. S. Robblee, J. M. Marston, and S. B. Brummer, “Electrical stimulation with pt electrodes. IV. Factors influencing Pt dissolution in inorganic saline,” *Biomaterials*, vol. 1, no. 3, pp. 129–134, 1980.
- [66] L. S. Robblee, J. McHardy, J. M. Marston, and S. B. Brummer, “Electrical stimulation with Pt electrodes. V. The effect of protein on Pt dissolution,” *Biomaterials*, vol. 1, no. 3, pp. 135–139, 1980.
- [67] T. L. Rose and L. S. Robblee, “Electrical stimulation with Pt electrodes. VIII. Electrochemically safe charge injection limits with 0.2 ms pulses (neuronal application),” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 37, no. 11, pp. 1118–1120, 1990.
- [68] S. B. Brummer, J. McHardy, and M. J. Turner, “Electrical stimulation with Pt electrodes: Trace analysis for dissolved platinum and other dissolved electrochemical products,” *Brain Behav. Evol.*, vol. 14, no. 1-2, pp. 10–22, 1977.
- [69] S. F. Cogan, “Neural stimulation and recording electrodes,” *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 10, pp. 275–309, 2008.
- [70] A. R. Harris, P. Carter, R. Cowan, and G. G. Wallace, “Impact of protein fouling on the charge injection capacity, impedance, and effective electrode area of platinum electrodes for bionic devices,” *ChemElectroChem*, vol. 8, no. 6, pp. 1078–1090, 2021.
- [71] S. Nomura *et al.*, “Effects of long-term *in vivo* stimulation on the electrochemical properties of a porous stimulation electrode for a suprachoroidal–transretinal stimulation (STS) retinal prosthesis,” *Sens. Mater.*, vol. 35, no. 11, pp. 3567–3584, 2023.
- [72] M. Schuettler *et al.*, “Cytotoxicity of Platinum Black,” proceeding of 10th Annual Conference of the International Functional Electrical Stimulation (FES) Society, pp. 343–345, Montreal,

Canada, (2005.07.)

- [73] The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO): <https://www.arvo.org/About/policies/arvo-statement-for-the-use-of-animals-in-ophthalmic-and-vision-research/> (accessed August 2023).
- [74] Y. Terasawa, H. Tashiro, Y. Nakano, T. Tokuda, and J. Ohta, “Mechanical Machining-based Three-Dimensional Electrode Array for Chronic Neural Stimulation,” *Advanced Biomedical Engineering*, vol. 5, pp. 137–141, 2016.
- [75] S. Nomura *et al.*, “Randles circuit model for characterizing a porous stimulating electrode of the retinal prosthesis,” *Electron. Commun. Jpn.*, vol. 104, no. 3, e12324, 2021.
- [76] 板垣昌幸:「電気化学インピーダンス法 第2版 原理・測定・解析」. pp.27–37, 東京, 丸善出版, 2011.
- [77] W. Franks, I. Schenker, P. Schmutz, and A. Hierlemann, “Impedance characterization and modeling of electrodes for biomedical applications,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 52, no. 7, pp. 1295–1302, 2005.
- [78] M. M. Straka, B. Shafer, S. Vasudevan, C. Welle, and L. Rieth, “Characterizing Longitudinal Changes in the Impedance Spectra of *In-Vivo* Peripheral Nerve Electrodes,” *Micromachines (Basel)*, vol. 9, no. 11, 587, 2018.
- [79] 桑原真理子, 田代洋行, 寺澤靖雄, 中野由香梨, 太田淳:「人工視覚システム用刺激電極の慢性通電下における電気化学的特性解析」. 電子情報通信学会技術研究報告, 信学技報, vol. 117, no. 324, pp. 23–28, 2017.
- [80] 板垣昌幸:「電気化学インピーダンス法 第2版 原理・測定・解析」. pp. 55–103, 東京, 丸善出版, 2011.
- [81] S. Nomura *et al.*, “Comparison of electrochemical circuit models with/without diffusion element for laser-induced porous electrodes of retinal prostheses,” the 45th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (IEEE EMBC), 1518, Sydney, Australia, (2023.07.)
- [82] 野村修平, 田代洋行, 寺澤靖雄, 太田淳:「人工視覚システム用多孔性刺激電極の電気化学的特性解析のための等価回路の検討」. 電子情報通信学会 ME とサイバネティックス研究会, 宮城 (2018年10月)
- [83] 野村修平, 田代洋行, 寺澤靖雄, 太田淳:「短期間通電下における脈絡膜上経網膜刺激方式人工視覚用多孔性刺激電極の生体内電気化学インピーダンス特性」. 電子情報通信学会 ME とサイバネティックス研究会, 京都 (2018年11月)
- [84] S. Nomura, H. Tashiro, Y. Terasawa, Y. Nakano, J. Ohta, “Electrochemical Characterization of Implantable Porous Electrode During Long-Term *In Vivo* Stimulation Using Electrochemical Impedance Spectroscopy,” proceeding of 7th International Conference on BioSensors, BioElectronics, BioMedical Devices, BioMEMS/NEMS & Applications 2018/2019 (Bio4Apps

- 2018/2019), pp. 46–47, 7A-I2, Harbin, China (2019. 01)
- [85] 野村修平, 田代洋行, 寺澤靖雄, 中野由香梨, 春田牧人, 笹川清隆, 竹原浩成, 太田淳:「人工視覚システム用多孔性刺激電極界面特性解析のための Randles 型回路モデルの提案」. 電気学会論文誌 E (センサ・マイクロマシン部門誌), *IEEE Transactions on Sensors and Micromachines*, vol. 141, no. 5, pp. 134–140, 2021.
- [86] 板垣昌幸:「電気化学インピーダンス法 第2版 原理・測定・解析」. pp.153–167, 東京, 丸善出版, 2011.
- [87] N. Lewis *et al.*, “Relevance of impedance spectroscopy for the monitoring of implant-induced fibrosis: A preliminary study,” proceeding of IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS), 15651474, Atlanta, GA, USA (2015.10.)
- [88] Y. Terasawa, H. Tashiro, Y. Nakano, K. Osawa, and M. Ozaw, “An analysis of abnormal peak in cyclic voltammogram of porous platinum electrode,” the 36th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (IEEE EMBC), 1402, Chicago, Illinois, USA (2014.08)
- [89] C. Newbold, R. Richardson, R. Millard, P. Seligman, R. Cowan, and R. Shepherd, “Electrical stimulation causes rapid changes in electrode impedance of cell-covered electrodes,” *J. Neural Eng.*, vol. 8, no. 3, 036029, 2011.
- [90] D. R. Merrill, M. Bikson, and J. G. R. Jefferys, “Electrical stimulation of excitable tissue: design of efficacious and safe protocols,” *J. Neurosci. Methods*, vol. 141, no. 2, pp. 171–198, 2005.
- [91] A. Allagui, H. Benaoum, and O. Olendski, “On the Gouy–Chapman–Stern model of the electrical double-layer structure with a generalized Boltzmann factor,” *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, vol. 582, 126252, 2021.
- [92] A. R. Harris, C. Newbold, D. Stathopoulos, P. Carter, R. Cowan, and G. G. Wallace, “Comparison of the *In Vitro* and *In Vivo* Electrochemical Performance of Bionic Electrodes,” *Micromachines (Basel)*, vol. 13, no. 1, 103, 2022.
- [93] A. P. Sanderson, E. T. F. Rogers, C. A. Verschuur, and T. A. Newman, “Exploiting Routine Clinical Measures to Inform Strategies for Better Hearing Performance in Cochlear Implant Users,” *Front. Neurosci.*, vol. 12, 1048, 2019.
- [94] F. G. Zeng, S. Rebscher, W. Harrison, X. Sun, and H. Feng, “Cochlear implants: system design, integration, and evaluation,” *IEEE Rev. Biomed. Eng.*, vol. 1, pp. 115–142, 2008.
- [95] Y. H. L. Luo and L. da Cruz, “A review and update on the current status of retinal prostheses (bionic eye),” *Br. Med. Bull.*, vol. 109, pp. 31–44, 2014.
- [96] L. S. Robblee, J. McHardy, W. F. Agnew, and L. A. Bullara, “Electrical stimulation with Pt electrodes. VII. Dissolution of Pt electrodes during electrical stimulation of the cat cerebral cortex,” *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 9, no. 4. pp. 301–308, 1983.
- [97] D. B. Hibbert, K. Weitzner, and P. Carter, “Voltammetry of platinum in artificial perilymph

- solution,” *J. Electrochem. Soc.*, vol. 148, no. 1, pp. E1–E7, 2001.
- [98] H. Tashiro, Y. Terasawa, K. Osawa, T. Noda, T. Tokuda, and J. Ohta, “Feasibility study of high-performance implantable stimulation electrode with nanocomposite gel coating as a brain-machine interface device,” *Sens. Mater.*, vol. 28, no. 12, pp. 1283–1293, 2016.
- [99] Y. Terasawa, H. Tashiro, Y. Nakano, and J. Ohta, “Porosification of surface of platinum electrode by anisotropic etching,” *Sens. Mater.*, vol. 31, no. 6, pp. 1957–1971, 2019.
- [100] 中野由香梨, 寺澤靖雄, 神田寛行, 大澤孝治, 三好智満, 澤井元, 不二門尚: 「脈絡膜上-経網膜刺激方式人工視覚における三角波と鋸波電流パルスの有効性」. *視覚の科学*, vol. 38, no. 3, pp. 53–59, 2017.
- [101] Y. Nakano *et al.*, “Sinusoidal electrical pulse more efficiently evokes retinal excitation than rectangular electrical pulse in retinal prostheses,” *Sens. Mater.*, vol. 29, no. 12, pp. 1667–1677, 2017.
- [102] Y. Nakano, Y. Terasawa, H. Kanda, J. Ohta, H. Sawai, and T. Fujikado, “Effects of an asymmetric electrical pulse on retinal excitement for retinal prostheses,” *Sens. Mater.*, vol. 30, no. 2, pp. 315–326, 2018.
- [103] H. Kanda, Y. Nakano, Y. Terasawa, T. Morimoto, and T. Fujikado, “The relationship between retinal damage and current intensity in a pre-clinical suprachoroidal-transretinal stimulation model using a laser-formed microporous electrode,” *J. Neural Eng.*, vol. 14, no. 5, 056013, 2017.

## 研究発表目録

### 発表論文

- [1] **S. Nomura**, H. Tashiro, Y. Terasawa, Y. Nakano, M. Haruta, K. Sasagawa, H. Takehara, T. Morimoto, T. Fujikado, J. Ohta, “Effects of Long-Term *In vivo* Stimulation on the Electrochemical Properties of a Porous Stimulation Electrode for a Suprachoroidal-Transretinal Stimulation (STS) Retinal Prosthesis,” *Sensors and Materials*, vol.35, no.11, pp. 3567–3584 (2023) <査読あり>
- [2] **野村修平**, 田代洋行, 寺澤靖雄, 中野由香梨, 春田牧人, 笹川清隆, 竹原浩成, 太田 淳: 「人工視覚システム用多孔性刺激電極界面特性解析のための Randles 型回路モデルの提案」. 電気学会論文誌E (センサ・マイクロマシン部門誌), 141 巻, 5 号, pp. 134–140 (2021 年) <査読あり>
- S. Nomura**, H. Tashiro, Y. Terasawa, Y Nakano, M Haruta, K. Sasagawa, H. Takehara, J. Ohta, “Randles circuit model for characterizing a porous stimulating electrode of the retinal prosthesis,” *Electronics and Communications in Japan*, vol. 104, e12324 (2021) <翻訳>

### 参考論文

- [1] **野村修平**, 田代洋行, 寺澤靖雄, 中野由香梨, 太田 淳: 「電気化学インピーダンススペクトル法による人工視覚システム用多孔性刺激電極界面特性解析のための Randles 型回路モデルの提案」. 電気学会バイオ・マイクロシステム研究会資料, BMS20029, pp. 57–62 (2020) <査読なし>

### 国際会議 Proceeding

- [1] **S. Nomura**, H. Tashiro, Y. Terasawa, Y. Nakano, J Ohta, “Electrochemical Characterization of Implantable Porous Electrode During Long-Term *In Vivo* Stimulation Using Electrochemical Impedance Spectroscopy,” proceedings of the 7th International Conference on BioSensors, BioElectronics, BioMedical Devices, BioMEMS/NEMS & Applications 2018/2019 (Bio4Apps 2018/2019), pp.46–47, Harbin, China (2019. 01) <査読なし>

### 国際会議における発表

- [1] **S. Nomura**, H. Tashiro, Y. Nakano, Y. Terasawa, H. Takehara, M. Haruta, K. Sasagawa, J. Ohta,

“Comparison of electrochemical circuit models with/without diffusion element for laser-induced porous electrodes of retinal prostheses,” the 45th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (IEEE EMBS), 1518, Sydney, Australia (2023. 07)

- [2] **S. Nomura**, H. Tashiro, Y. Terasawa, Y. Nakano, J. Ohta, “Electrochemical Characterization of Implantable Porous Electrode During Long-Term *In Vivo* Stimulation Using Electrochemical Impedance Spectroscopy,” the 7th International Conference on BioSensors, BioElectronics, BioMedical Devices, BioMEMS/NEMS & Applications 2018/2019 (Bio4Apps 2018/2019), 7A-12, Harbin, China (2019. 01)

## 国内会議における発表

- [1] **野村修平**, 田代洋行, 寺澤靖雄, 中野由香梨, 太田淳:「金属製埋植電極に必要な諸特性—人工感覚器への応用を中心に」. 日本生体医工学会九州支部 学術講演会, 3A4, Online (鹿児島) (2022年03月)
- [2] 佐々木海吏, **野村修平**, 田代洋行:「神経細胞に光応答性を付与する Photoactive molecule (BENAQ) の精製純度の検討」. 日本生体医工学会九州支部 学術講演会, 1B1, Online (鹿児島) (2022年03月)
- [3] **野村修平**, 田代洋行, 太田淳:「失われた感覚機能の再建を目指した光学的神経刺激法の有効性および安全性の検証」. 第4回 帝京大学研究交流シンポジウム (ポスター発表), 052, Online (東京) (2021年09月)
- [4] **野村修平**, 田代洋行, 寺澤靖雄, 中野由香梨, 太田淳:「電気化学インピーダンススペクトル法による人工視覚システム用多孔性刺激電極界面特性解析のための Randles 型回路モデルの提案」. 電気学会バイオ・マイクロシステム研究会, BMS-20-029, Online (滋賀) (2020年07月)
- [5] **野村修平**, 田代洋行, 寺澤靖雄, 太田淳:「失われた視覚機能の再生を目指した光による網膜神経刺激法」. 2020年 日本生体医工学会九州支部学術講演会, 5A3, 熊本 (2020年01月)
- [6] **野村修平**, 田代洋行, 中野由香梨, 寺澤靖雄, 太田淳:「人工視覚システム用多孔性刺激電極の一定位相要素に対する電極界面構造の影響」. 第58回 日本生体医工学会大会 (ポスター発表), PO-B-022, 沖縄 (2019年06月)



- [7] **野村修平**, 田代洋行, 中野由香梨, 寺澤靖雄, 太田 淳:「生体内慢性通電に伴う人工視覚システム用多孔性刺激電極の一定位相要素の変化」. 2019 年 日本生体医工学会九州支部学術講演会, 2B7, 福岡 (2019 年 03 月)
- [8] **野村修平**, 田代洋行, 寺澤靖雄, 太田淳:「短期間通電下における脈絡膜上経網膜刺激方式人工視覚用多孔性刺激電極の生体内電気化学インピーダンス特性」. 電子情報通信学会 ME とサイバネティックス研究会, MBE2018-47, 京都 (2018 年 11 月)
- [9] **野村修平**, 田代洋行, 寺澤靖雄, 太田淳:「人工視覚システム用多孔性刺激電極の電気化学的特性解析のための等価回路の検討」. 電子情報通信学会 ME とサイバネティックス研究会, MBE2018-31, 宮城 (2018 年 10 月)

## 謝辞

本研究は主指導教員 太田淳教授の暖かいご指導のもとに遂行されました。社会人学生として論文執筆がなかなか進まない中、博士論文を完成させることができましたのは、ひとえに太田淳教授の叱咤激励のおかげです。ここに深く感謝の意を表します。副指導教員 中村雅一教授には、審査を通して豊富な知識に基づく有益なご指導ご助言を頂きました。実験結果を新たな視点で見直すことができ、今後の研究方針を考える上で大変参考になりました。ここに深く感謝いたします。副指導教員 柳田健之教授には、専門的な知識に基づく大変有益なご指導ご助言をいただきました。研究の位置づけや意義を考える上で大いに役立ちました。ここに感謝の意を表します。副指導教員 笹川清隆准教授には、中間発表や公聴会の準備段階からご指導ご助言いただけましたことを改めて御礼申し上げます。

大阪大学大学院医学系研究科 不二門尚教授には、人工視覚システムの研究に関しまして、ご指導ご助言を賜れましたこと、ここに深く感謝の意を表します。九州大学大学院医学研究院 田代洋行講師（奈良先端科学技術大学院大学 客員准教授 兼任）には、多方面にわたり終始懇篤なご指導ご助言を賜りました。叱咤激励いただきながらも暖かく支えてくださりました。ここに深く感謝の意を表します。千歳科学技術大学工学部 春田牧人准教授（奈良先端科学技術大学院大学 客員准教授 兼任）には、人工視覚の研究に関するご助言だけでなく、国際会議での発表、中間発表、公聴会の準備などにつきましてご指導をいただきましたことを深く感謝いたします。奈良先端科学技術大学院大学 竹原浩成特任助教には、国際会議での発表、中間発表、公聴会の準備につきましてご指導いただけました。ここに深く感謝いたします。光機能素子科学研究室 福澤亨子女史には、研究活動が円滑に進むよう手続き等サポートしていただけましたことを深く感謝いたします。

株式会社ニデック人工視覚研究所 寺澤靖雄博士（奈良先端科学技術大学院大学 客員教授 兼任）、鐘堂健三氏、中野由香梨博士には、人工視覚システムに関するご助言や動物実験の実施、データ取得などに関してご協力をいただきました。ここに深く感謝いたします。桑原真理子博士（元 九州大学大学院医学研究院 助教）には、データ解析に関するご助力を頂きました。改めて御礼申し上げます。

本研究は実験動物を使用しております。研究の遂行に際しては、動物実験に関する指針を遵守し、使用数を必要最低限に抑え、可能な限り苦痛を与えることのないよう細心の注意を払って行いました。本研究は実験動物の犠牲の上に成り立っており、科学技術の発展のために犠牲になりました兎たちのご冥福を心よりお祈りいたします。

このほかにも多方面における多くの方々に暖かいご指導、ご支援、ご協力をいただきました。全ての皆様に謹んで感謝の意を表します。