

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-534090

(P2019-534090A)

(43) 公表日 令和1年11月28日 (2019.11.28)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 N 7/00 (2006.01)	A 6 1 N 7/00	4 C 0 9 6
A 6 1 B 18/00 (2006.01)	A 6 1 B 18/00	4 C 1 6 0
A 6 1 B 8/08 (2006.01)	A 6 1 B 8/08	4 C 6 0 1
A 6 1 B 5/055 (2006.01)	A 6 1 B 5/055 3 9 0	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 48 頁)

(21) 出願番号	特願2019-522954 (P2019-522954)	(71) 出願人	390041542
(86) (22) 出願日	平成29年10月31日 (2017.10.31)		ゼネラル・エレクトリック・カンパニー
(85) 翻訳文提出日	令和1年6月20日 (2019.6.20)		アメリカ合衆国、ニューヨーク州 1 2 3
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/059394		4 5、スケネクタデイ、リバーロード、1
(87) 国際公開番号	W02018/081826		番
(87) 国際公開日	平成30年5月3日 (2018.5.3)	(74) 代理人	100133503
(31) 優先権主張番号	62/415, 212		弁理士 関口 一哉
(32) 優先日	平成28年10月31日 (2016.10.31)	(72) 発明者	ブレオ, クリストファー マイケル
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 2 3
			0 9, ニスカユナ, リサーチ サークル
			1
		(72) 発明者	コテロ, ビクトリア
			アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 2 3
			0 9, ニスカユナ, リサーチ サークル
			1

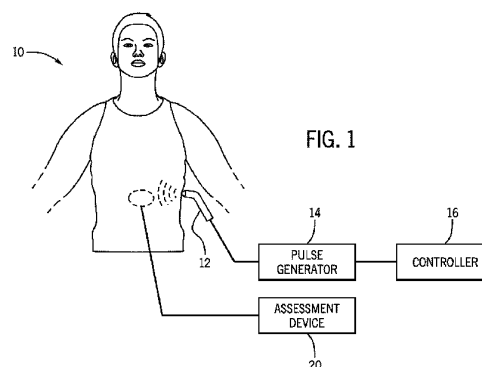
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 神経調節のための技術

(57) 【要約】

本開示の主題は、一般に、組織内にエネルギー（例えば、超音波エネルギー）を印加して神経細胞と非神経細胞との間のシナプスで活性を変化させることを含む、組織の神経調節のための技術に関する。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

被験体の組織の対象領域にエネルギーを印加するように構成されたエネルギー印加装置であって、前記組織がそれぞれのニューロンの複数の軸索終末を含み、前記軸索終末が個々の軸索終末とそれぞれの非神経細胞との間に軸索外細胞シナプスを形成する、エネルギー印加装置と、

前記組織の前記対象領域を空間的に選択し、前記対象領域は前記複数の軸索終末のサブセットと前記軸索外細胞シナプスの関連するサブセットとを含み、

前記対象領域に前記エネルギーを集束させ、

前記関連するサブセットの細胞外シナプスの優先的活性化を誘導して、目標とする生理学的結果を引き起こすために、前記エネルギー印加装置を介した前記対象領域への前記エネルギーの印加を制御する

ように構成されたコントローラと

を含む調節システム。

10

【請求項 2】

前記コントローラが、

プロセッサと、

前記組織の前記対象領域を空間的に選択する、前記対象領域に前記エネルギーを集束させる、または前記エネルギーの印加を制御する、またはそれらの組み合わせをプロセッサによって実行するように構成された命令を記憶するメモリと

を備える、請求項 1 に記載のシステム。

20

【請求項 3】

前記コントローラが、評価装置から、前記目標とする生理学的結果の特徴を示す入力を受信するように構成されている、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 4】

前記特徴は、前記エネルギーが印加される前のベースライン濃度に対する前記被験体の血液中の 1 つ以上の分子の濃度である、請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 5】

前記血液中の 1 つ以上の分子がグルコースおよびインスリンの一方または両方を含み、かつ前記組織が肝臓である、請求項 4 に記載のシステム。

30

【請求項 6】

前記エネルギー印加装置に前記エネルギーを印加させるために前記プロセッサによって実行されるように構成された前記命令は、一組の調節パラメータを含み、前記コントローラは、前記ベースライン濃度に対するグルコース濃度の変化が閾値変化を上回る場合に、前記調節パラメータが有効であるという表示を提供するように構成される、請求項 5 に記載のシステム。

【請求項 7】

前記血液中の前記 1 つ以上の分子は、1 つ以上の参照分子を含み、前記コントローラは、前記ベースライン濃度に対する前記参照分子の濃度の変化が閾値変化を下回り、前記ベースライン濃度に対するグルコース濃度の変化が閾値変化を上回る場合に、前記調節パラメータが有効であるという表示を提供するように構成されている、請求項 6 に記載のシステム。

40

【請求項 8】

血中グルコース濃度が 300 mg/dL 超であり、前記エネルギーが肝臓の対象領域に印加された後のグルコース濃度が 220 mg/dL 未満である、請求項 6 に記載のシステム。

【請求項 9】

前記血液中の前記 1 つ以上の分子は、コリン作動性抗炎症経路に関連する分子を含み、前記組織が脾臓である、請求項 4 に記載のシステム。

【請求項 10】

50

前記血液中の前記 1 つ以上の分子は、TNF- α およびインターロイキン - 1 の一方または両方を含み、前記組織が脾臓である、請求項 4 に記載のシステム。

【請求項 11】

前記エネルギー印加装置に前記エネルギーを印加させるために前記プロセッサによって実行されるように構成された前記命令は、一組の調節パラメータを含み、前記コントローラは、前記ベースライン濃度に対する TNF- α またはインターロイキン - 1 の濃度の変化が閾値変化を上回る場合に、前記調節パラメータが有効であるという表示を提供するように構成される、請求項 10 に記載のシステム。

【請求項 12】

前記調節パラメータは、前記対象領域内の超音波刺激の時間平均強度が所定の閾値以下になるように選択される、請求項 11 に記載のシステム。

10

【請求項 13】

前記血液中の前記 1 つ以上の分子は、1 つ以上の参照分子を含み、前記コントローラは、前記ベースライン濃度に対する前記 1 つ以上の参照分子の濃度の変化が閾値変化を下回り、前記ベースライン濃度に対する TNF- α またはインターロイキン - 1 の濃度の変化が閾値変化を上回る場合に、前記調節パラメータが有効であるという表示を提供するように構成されている、請求項 11 に記載のシステム。

【請求項 14】

前記 1 つ以上の参照分子がノルエピネフリンおよびアセチルコリンの一方または両方を含む、請求項 13 に記載のシステム。

20

【請求項 15】

前記特徴が、前記エネルギーが印加された後 30 ~ 90 分以内に測定される、請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 16】

前記特徴は、前記エネルギーが印加される前のベースライン濃度に対する脳内の 1 つ以上の分子の濃度であり、前記対象領域が脳内にない、請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 17】

前記脳内の 1 つ以上の分子が、pIRS-1、NPY、pAKT、もしくは pAMP-k、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 16 に記載のシステム。

【請求項 18】

前記特徴は、ベースライン濃度に対する脳活動の変化を表すデータであり、前記対象領域が脳内にない、請求項 3 に記載のシステム。

30

【請求項 19】

前記データが fMRI データである、請求項 18 に記載のシステム。

【請求項 20】

前記複数の軸索終末の追加のサブセットは前記対象領域の外側にあり、前記追加のサブセットが非活性化軸索外細胞シナプスに関連している、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 21】

前記優先的活性化が、前記エネルギーの印加に応答して前記複数の軸索終末のサブセットから前記軸索外細胞シナプスの関連するサブセットに神経伝達物質または神経ペプチドが分泌されることによって達成される、請求項 1 に記載のシステム。

40

【請求項 22】

前記軸索外細胞シナプスは、組織、血液、リンパ液、または細胞外組織のうちの 1 つ以上を有する感覚軸索終末間に形成され、前記目標とする生理学的結果は、求心性突出ニューロンにおける活動電位の刺激である、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 23】

前記求心性突出ニューロンが前記対象領域内にない、請求項 22 に記載のシステム。

【請求項 24】

前記コントローラは、前記エネルギー印加装置に、調節パラメータに従って前記エネルギーを印加させ、前記標的生理学的結果の特徴を示す評価装置またはユーザから受信した

50

フィードバックに基づいて前記調節パラメータを動的に変更させるように構成されている、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 25】

前記エネルギー印加装置は超音波プローブであり、前記コントローラは、前記エネルギーの印加前に前記組織の参照画像データを取得し、前記エネルギーの印加後に前記組織の処置後画像データを取得するように構成された撮像モードで前記超音波プローブを動作させるように構成されている、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 26】

前記コントローラが、前記参照画像データと前記処置後画像データとの比較に基づいて前記組織の変位測定値を決定するように構成されている、請求項 25 に記載のシステム。

10

【請求項 27】

前記コントローラは、前記変位測定値に基づいて前記エネルギーの調節パラメータを修正するように構成されている、請求項 26 に記載のシステム。

【請求項 28】

前記コントローラは、前記変位測定値が前記目標とする生理学的結果に関連する閾値変位を下回ることに基づいて前記エネルギーの前記調節パラメータを修正するように構成されている、請求項 27 に記載のシステム。

【請求項 29】

前記組織が脾臓または肝臓である、請求項 25 に記載のシステム。

【請求項 30】

20

前記エネルギー印加装置が超音波トランスデューサを含む、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 31】

前記エネルギー印加装置は、前記エネルギーを印加するように構成された第 1 の超音波トランスデューサと、前記対象領域の空間情報を取得するように構成された第 2 の超音波トランスデューサとを備える、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 32】

前記組織は脾臓であり、前記コントローラは、脾臓の脾臓軸を識別することによって前記対象領域を空間的に選択するように構成され、前記対象領域は前記脾臓軸と少なくとも部分的に重なる、請求項 1 に記載のシステム。

30

【請求項 33】

前記コントローラは、前記組織に進入する神経または血管の部位を識別することによって前記対象領域を空間的に選択するように構成され、前記対象領域は前記進入部位と少なくとも部分的に重なる、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 34】

前記対象領域が、前記組織の総体積の 5 % 以下、および / または 25 mm^3 未満の体積を含む、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 35】

前記エネルギー印加装置が機械的振動装置を含む、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 36】

40

前記エネルギー印加装置は、前記対象領域の外側にある前記組織の一部に前記エネルギーを印加しない、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 37】

神経調節の方法であって、前記方法は、

エネルギー印加装置を臓器または末梢組織に向けるステップと、

エネルギーを前記臓器または前記末梢組織の対象領域に集束させるステップであって、前記対象領域は、神経細胞と非神経細胞との間にシナプスを含む末梢組織または臓器の小領域である、ステップと、

目標とする生理学的結果を達成するために前記シナプスで前記神経細胞または前記非神経細胞の少なくとも一方に前記エネルギーを送達しそれによって活性を調節するために、

50

前記エネルギー印加装置にパルス発生器を介してパルス電力を印加するステップとを含む、方法。

【請求項 38】

前記エネルギー印加装置は超音波トランスデューサであり、前記エネルギーは超音波刺激である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

前記超音波刺激は、前記目標とする生理学的結果を達成するために、選択された種類の軸索外細胞シナプス内の前記非神経細胞に対して前記神経細胞を優先的に調節する、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 40】

前記超音波刺激は、前記目標とする生理学的結果を達成するために、ベースライン濃度に対して上昇したレベルで神経伝達物質または神経ペプチドを放出させるように選択された種類の軸索外細胞シナプスで前記神経細胞の軸索終末を優先的に調節する、請求項 38 の方法。

【請求項 41】

前記超音波刺激は、求心性神経における活動電位を誘発するために、前記選択された種類の軸索外細胞シナプス内の感覚終末を優先的に調節する、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 42】

前記超音波刺激は、前記目標とする生理学的結果を達成するために、細胞内シグナル伝達経路の成分の活性または濃度を同じ方向に調節するように神経伝達物質 / 神経ペプチド放出および非神経細胞活性の両方を調節する、請求項 38 の方法。

【請求項 43】

前記エネルギー印加装置によって生成された超音波トランスデューサビームが前記対象領域で交差する、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 44】

前記超音波刺激は約 0.1 MHz ~ 約 5 MHz の範囲の超音波周波数を有する、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 45】

前記超音波刺激は約 0.1 Hz ~ 約 10 kHz の範囲の超音波周波数パルス繰り返し周波数を有する、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 46】

前記超音波刺激は約 1 mW / cm² ~ 約 1000 mW / cm² の範囲の時間平均強度で印加される、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 47】

前記エネルギーは超音波エネルギーであり、前記超音波エネルギーの 1 パルス当たりの超音波サイクル数が約 1 ~ 約 1000 の範囲内である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 48】

前記対象領域における前記超音波刺激の焦点面積は、前記臓器または前記末梢組織の総体積の約 0.1 % ~ 約 90 % の範囲を表す約 0.5 mm³ ~ 約 50 mm³ の範囲内である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 49】

前記臓器は脾臓であり、前記シナプスはカテコールアミン含有神経細胞と非神経免疫細胞との間であり、前記目標とする生理学的結果はベースラインに対するサイトカイン分泌の変化である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 50】

前記臓器は脾臓であり、前記シナプスはカテコールアミン含有神経細胞と非神経免疫細胞との間であり、前記目標とする生理学的結果は TNF - α 分泌の変化である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 51】

前記脾臓は、関節リウマチ、過敏性腸疾患、および慢性炎症状態のうちの 1 つ以上を有

10

20

30

40

50

する被験体内にある、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

前記臓器は脾臓であり、前記シナプスはカテコールアミン含有神経細胞と非神経免疫細胞との間であり、前記目標とする生理学的結果は、細胞表面マーカーの調節または特異的なタンパク質の細胞内発現である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 53】

前記細胞表面マーカーが CD11b を含む、請求項 52 に記載の方法。

【請求項 54】

前記脾臓が慢性閉塞性肺疾患および慢性炎症状態の一方または両方を有する被験体内にある、請求項 53 に記載の方法。

10

【請求項 55】

前記臓器は肝臓であり、前記シナプスは感覚神経終末に関連し、前記目標とする生理学的結果は視床下部脳中心に突出する求心性神経の調節である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 56】

前記臓器は肝臓であり、前記目標とする生理学的結果は、エネルギーが小領域に印加された後のグルコースまたはインスリンの血中濃度の変化である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 57】

前記肝臓は糖尿病および代謝機能不全障害の一方または両方を有する被験体内にある、請求項 56 に記載の方法。

20

【請求項 58】

前記臓器は肝臓であり、前記シナプスは感覚神経終末に関連し、前記目標とする生理学的結果は、視床下部脳中心に突出する求心性神経の活性化である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 59】

前記目標とする生理学的結果が肥満または摂食障害の軽減である、請求項 58 に記載の方法。

【請求項 60】

前記肝臓は肥満および摂食障害の一方または両方を有する被験体内にある、請求項 58 に記載の方法。

30

【請求項 61】

前記臓器は肝臓であり、前記シナプスは感覚神経終末に関連し、前記目標とする生理学的結果は前記視床下部脳中心に突出する求心性神経の活性化である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 62】

前記目標とする生理学的結果が海馬の活性化である、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 63】

機能的磁気共鳴イメージング、拡散テンソル磁気共鳴イメージング、ポジティブエミッショントモグラフィ、音響モニタリング、熱モニタリング、血液試料から得られたタンパク質または細胞の測定、および他の生体体液または組織から得られたタンパク質または細胞の測定のうちの少なくとも 1 つからフィードバックを受け取るステップと、前記フィードバックに基づいて、パルス電力の 1 つ以上のパラメータを変更するステップと

40

を含む、請求項 37 の方法。

【請求項 64】

被験体における組織調節の方法であって、

エネルギー印加装置が組織を調節することができる位置に前記エネルギー印加装置を配置するステップと、

前記エネルギー印加装置を前記組織内の対象領域に集束させるステップと、

1 つ以上のエネルギーパルスに応答して前記 1 つ以上のエネルギーパルスを印加する前

50

のベースライン活性に対して神経細胞と非神経細胞との間のシナプスにおける活性に変化を引き起こすために、前記対象領域内に1つ以上のエネルギーパルス印加するステップを含む方法。

【請求項65】

前記1つ以上のエネルギーパルスが印加された後の時間は時間ゼロとして示され、前記ベースライン活性は時間ゼロでの活性を示す、請求項64に記載の方法。

【請求項66】

前記組織内の前記対象領域は約 2.5 mm^3 未満の体積を有する、請求項64に記載の方法。

10

【請求項67】

前記組織内の前記対象領域の外側の別の神経細胞と別の非神経細胞との間の別のシナプスにおける活性は、前記1つ以上のエネルギーパルスに応答して変化しない、請求項64に記載の方法。

【請求項68】

前記対象領域は前記組織の総体積の約5%以下の体積を有する、請求項64に記載の方法。

【請求項69】

前記組織が肝臓または脾臓である、請求項64に記載の方法。

【請求項70】

前記活性の前記変化の特徴を測定することを含む、請求項64に記載の方法。

20

【請求項71】

前記特徴が前記活性の変化が閾値未満であることを示している場合に、前記エネルギー印加装置を再配置するステップ、または前記対象領域を変更するステップを含む、請求項70に記載の方法。

【請求項72】

前記特徴が前記活性の変化が閾値を上回ること示している場合に、前記1つ以上のエネルギーパルスの1つ以上のパラメータを変更するステップを含む、請求項70に記載の方法。

【請求項73】

糖尿病の診断に基づいて前記被験体を選択するステップを含む、請求項64に記載の方法。

30

【請求項74】

測定された海馬活動の欠乏に基づいて前記被験体を選択することを含む、請求項64に記載の方法。

【請求項75】

前記被験体が認知症および/または糖尿病関連認知症を有する、請求項74に記載の方法。

【請求項76】

前記1つ以上のエネルギーパルス印加する前後に海馬活動の特徴を測定するステップを含む、請求項74に記載の方法。

40

【請求項77】

前記測定するステップは、前記被験体の脳の画像を取得するステップを含む、請求項78に記載の方法。

【請求項78】

前記特徴が前記海馬または視床下部の活動の変化が調節の成功に関連していないことを示すという入力を受け取ると、前記エネルギー印加装置を再配置するステップ、または焦点領域を変更するステップとをさらに含む、請求項77に記載の方法。

【請求項79】

前記再配置するステップまたは前記変更するステップの後に、後続の1つ以上のエネルギー

50

ギーパルスを印加するステップと、前記特徴を測定するステップとを含む、請求項 78 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【関連出願との相互参照】

【0001】

本出願は、2016年10月31日に出版された米国仮特許出願第62/415,212号の優先権を主張し、その全体があらゆる目的のために参照により本明細書に組み込まれる。

【政府支援の表明】

【0002】

本発明は、国防高等研究計画局(DARPA)により授与された助成金番号W911NF-09-1-0125の下で政府の支援により行われた。政府は本発明において一定の権利を有する。

【背景技術】

【0003】

本明細書に開示される主題は、神経調節に関し、より具体的には、エネルギー源から印加されるエネルギーを使用して生理学的反応を調節するための技術に関する。

【0004】

神経調節は、様々な臨床状態を治療するために使用されてきた。例えば、脊髄に沿った様々な場所での電気刺激は、慢性的な背中の痛みを治療するために使用されてきた。そのような治療は、特定の神経線維を活性化させるために組織に印加される電気エネルギーを周期的に発生させる埋め込み型装置によって実行されてもよく、その結果として痛みの感覚の減少をもたらすことができる。脊髄刺激の場合、刺激電極は一般に硬膜外腔に配置されるが、パルス発生器は電極から幾分離れて、例えば腹部または臀部領域に配置することができ、ただし導線を介して電極に接続される。他の実装形態では、深部脳刺激を使用して、脳の特定の領域を刺激して運動障害を治療することができ、刺激位置は神経画像処理によって案内され得る。そのような中枢神経系刺激は、一般に、局所神経または脳細胞機能を標的とし、電気パルスを送達し、かつ標的神経またはその近くに配置される電極によって媒介される。しかしながら、標的神経にまたはその近くに電極を配置することは困難である。例えば、そのような技術は、エネルギーを送達する電極の外科的配置を含み得る。さらに、神経調節を介した特定の組織標的化は困難である。特定の標的神経またはその近くに配置される電極は、神経線維内の活動電位を誘発することによって神経調節を媒介し、その結果として神経シナプスでの神経伝達物質放出および次の神経とのシナプス連絡をもたらす。このような伝播は、埋め込まれた電極の現在の実装形態が一度に多くの神経または軸索を刺激するため、望まれるよりも比較的大きいまたはより拡散した生理学的効果をもたらし得る。神経経路は複雑であり相互接続されているため、より標的化された調節効果がより臨床的に有用であり得る。

【発明の概要】

【0005】

当初請求された主題と範囲が等しい特定の実施形態を以下に要約する。これらの実施形態は特許請求される主題の範囲を限定することを意図するものではなく、むしろこれらの実施形態は可能な実施形態の簡単な要約を提供することのみを意図するものである。実際に、本開示は、以下に記載される実施形態と同様であり得るかまたは異なり得る様々な形態を包含し得る。

【0006】

一実施形態では、被験体の組織の対象領域にエネルギーを印加するように構成されたエネルギー印加装置を含むシステムが提供され、組織は、それぞれのニューロンの複数の軸索終末を含み、軸索終末は個々の軸索終末とそれぞれの非神経細胞との間にシナプス(例えば、軸索外細胞または他のシナプス型)を形成する。このシステムはまた、組織の対象領域を空間的に選択し、この対象領域は複数の軸索終末のサブセットと関連するシナプス

10

20

30

40

50

のサブセットとを含み；対象領域にエネルギーを集束させ；関連するシナプスのサブセットの優先的活性化を誘導して目標とする生理学的結果を引き起こすためにエネルギー印加装置を介して対象領域へのエネルギーの印加を制御するように構成されたコントローラを含む。

【0007】

別の実施形態では、エネルギー印加装置を臓器または末梢組織に向けるステップと、エネルギーを臓器または末梢組織の対象領域に集束させるステップであって、この対象領域は、神経細胞と非神経細胞との間にシナプスを含む末梢組織または臓器の小領域である、ステップと、目標とする生理学的結果を達成するために選択された種類のシナプスで神経細胞または非神経細胞の少なくとも一方にエネルギーを送達しそれによって活性を調節するために、エネルギー印加装置にパルス発生器を介してパルス電力を印加するステップとを含む方法が提供される。

10

【0008】

別の実施形態では、エネルギー印加装置が組織を調節することができる位置にエネルギー印加装置を配置するステップと、エネルギー印加装置を組織内の対象領域に集束させるステップと、1つ以上のエネルギーパルスに応答して1つ以上のエネルギーパルスを印加する前のベースライン活性に対して神経細胞と非神経細胞との間のシナプスにおける活性を変化させるために対象領域内に1つ以上のエネルギーパルスを印加するステップとを含む方法が提供される。

【図面の簡単な説明】

20

【0009】

本発明のこれらおよび他の特徴、態様、および利点は、図面を通して同じ文字が同じ部分を表す添付の図面を参照しながら以下の詳細な説明を読むとよりよく理解されよう。

【0010】

【図1】本開示の実施形態によるパルス発生器を用いた神経調節システムの概略図である。

【0011】

【図2】本開示の実施形態による神経調節システムのブロック図である。

【0012】

【図3】本開示の実施形態による、動作中の超音波エネルギー印加装置の概略図である。

30

【0013】

【図4】本開示の実施形態による、脾臓内の対象領域に焦点を合わせるために空間情報として使用することができる脾臓の超音波視覚化図である。

【0014】

【図5】本開示の実施形態による神経調節技術のフロー図である。

【0015】

【図6】体外装置として構成され、超音波トランスデューサを含むエネルギー印加装置の概略図である。

【0016】

【図7】高密度集束超音波を印加するように構成されたエネルギー印加装置およびパルス発生器の概略図である。

40

【0017】

【図8】図7のシステムと共に使用することができるエネルギー印加装置の一例である。

【0018】

【図9】目標とする生理学的結果を達成するための超音波エネルギー印加用の実験設定の概略図である。

【0019】

【図10】超音波エネルギー印加の実験的タイムラインである。

【0020】

【図11】印加された超音波エネルギーパルスのパルス特性を示す図である。

50

- 【 0 0 2 1 】
- 【 図 1 2 】 ハイドロフォン測定設定を示す図である。
- 【 0 0 2 2 】
- 【 図 1 3 】 $x - y$ 平面における超音波圧力場の一例を示す図である。
- 【 0 0 2 3 】
- 【 図 1 4 】 炎症および / または高血糖症 / 高インスリン血症および超音波処置のモデルを生成するための L P S 注射の実験ワークフローを示す図である。
- 【 0 0 2 4 】
- 【 図 1 5 】 ラットにおける T 1 / D W I 画像の例をスライス毎の相互相関係数と共に示す図である。 10
- 【 0 0 2 5 】
- 【 図 1 6 】 直接および対側膝窩リンパ節ならびに遠位腋窩リンパ節に対する標準電極刺激の結果を示す図である。
- 【 0 0 2 6 】
- 【 図 1 7 】 超音波刺激後の直接刺激膝窩リンパ節に対する非刺激膝窩リンパ節におけるリンパ球数の比較の結果を示す図である。
- 【 0 0 2 7 】
- 【 図 1 8 】 超音波刺激後のリンパ節解離組織中のノルエピネフリン、エピネフリン、およびドーパミンの濃度を示す図である。
- 【 0 0 2 8 】 20
- 【 図 1 9 】 超音波刺激後の脾臓中のノルエピネフリン、エピネフリン、アセチルコリン、およびドーパミンの濃度を示す図である。
- 【 0 0 2 9 】
- 【 図 2 0 】 ピーク超音波圧力に対する T N F - α の脾臓濃度を示す図である。
- 【 0 0 3 0 】
- 【 図 2 1 A 】 ピーク超音波圧力に対するノルエピネフリンの脾臓濃度を示す図である。
- 【 0 0 3 1 】
- 【 図 2 1 B 】 ピーク超音波圧力に対するアセチルコリンの脾臓濃度を示す図である。
- 【 0 0 3 2 】
- 【 図 2 1 C 】 ピーク超音波圧力に対する T N F - α の脾臓濃度を示す図である。 30
- 【 0 0 3 3 】
- 【 図 2 2 】 ピーク超音波圧力に対する T N F - α の循環濃度を示す図である。
- 【 0 0 3 4 】
- 【 図 2 3 】 刺激されていないが L P S 処置された動物の対照群と比較した、刺激され L P S 処置された動物の群についての肝臓中の T N F - α の濃度を示す図である。
- 【 0 0 3 5 】
- 【 図 2 4 】 治療部位における超音波処置の異なる時間平均強度について、対照と比較したサイトカイン変化を示す表である。
- 【 0 0 3 6 】
- 【 図 2 5 】 脾臓の超音波処置の異なるピーク圧力について、L P S 処置対照と比較した二次メッセンジャー分子のリン酸化状態の百分率変化を示す図である。 40
- 【 0 0 3 7 】
- 【 図 2 6 】 経路遮断処置の状況における、刺激された L P S 処置動物群についての T N F - α の脾臓濃度を示す図である。
- 【 0 0 3 8 】
- 【 図 2 7 】 経路遮断処置の状況における、刺激された L P S 処置動物群についてのノルエピネフリンの脾臓濃度を示す図である。
- 【 0 0 3 9 】
- 【 図 2 8 】 迷走神経切断または経路遮断で処置した動物と比較した、刺激した L P S 処置動物群についての T N F - α の脾臓濃度を示す図である。 50

【 0 0 4 0 】

【 図 2 9 】 L P S 処置と組み合わせた超音波処置後の様々な時点での T N F - α の脾臓濃度を示す図である。

【 0 0 4 1 】

【 図 3 0 】 超音波処置後の L P S 処置についての実験的タイムラインである。

【 0 0 4 2 】

【 図 3 1 】 図 3 0 のタイムラインに従った、超音波および L P S 処置後の様々な時点での T N F - α の脾臓濃度を示す図である。

【 0 0 4 3 】

【 図 3 2 】 非侵襲的超音波刺激動物対電極刺激動物の T N F - α の脾臓濃度を示す図である。

10

【 0 0 4 4 】

【 図 3 3 】 図 3 5 A および図 3 5 B の超音波処置について対象領域および超音波配置を識別するために使用される超音波画像である。

【 0 0 4 5 】

【 図 3 4 】 制御電気刺激実験設定を示す図である。

【 0 0 4 6 】

【 図 3 5 A 】 L P S 処置の状況における、非侵襲的超音波刺激動物対電極刺激対照動物の T N F - α の脾臓濃度を示す図であり、電極刺激は図 3 4 の設定に従って行われた。

【 0 0 4 7 】

【 図 3 5 B 】 L P S 処置の状況における、非侵襲的超音波刺激動物対電極刺激対照動物の循環グルコース濃度を示す図であり、電極刺激は図 3 4 の設定に従って行われた。

20

【 0 0 4 8 】

【 図 3 6 】 非刺激動物と比較した、心拍数に対する V N S 電極刺激対超音波脾臓神経調節の効果を示す図である。

【 0 0 4 9 】

【 図 3 7 A 】 対照と比較した、血糖に対する超音波肝門部肝調節の効果を示す図である。

【 0 0 5 0 】

【 図 3 7 B 】 様々な分子の肝臓濃度に対する超音波肝門部肝調節の効果を示す図である。

【 0 0 5 1 】

【 図 3 7 C 】 様々な分子の肝臓濃度に対する超音波肝門部肝調節の効果を示す図である。

30

【 0 0 5 2 】

【 図 3 8 A 】 様々な分子の脳内濃度に対する超音波肝門部肝調節の効果を示す図である。

【 0 0 5 3 】

【 図 3 8 B 】 様々な分子の脳内濃度に対する超音波肝門部肝調節の効果を示す図である。

【 0 0 5 4 】

【 図 3 8 C 】 様々な分子の脳内濃度に対する超音波肝門部肝調節の効果を示す図である。

【 0 0 5 5 】

【 図 3 9 A 】 グルコース濃度に対する様々な位置での超音波肝調節の効果を示す図である。

40

【 0 0 5 6 】

【 図 3 9 B 】 図 3 9 A の対象領域の調節位置を示す図である。

【 0 0 5 7 】

【 図 4 0 】 L P S 処置動物における脾臓超音波刺激が肝臓で見られる効果をもたらさないことを示す図である。

【 0 0 5 8 】

【 図 4 1 A 】 対照対 L P S 処置動物刺激動物における視床下部 N P Y 濃度を示す図である。

【 0 0 5 9 】

【 図 4 1 B 】 対照対 L P S 処置刺激動物における視床下部 P O M C 濃度を示す図である。

50

- 【 0 0 6 0 】
- 【 図 4 2 A 】 非刺激 L P S 偽動物からの冠状切片を示す図である。
- 【 0 0 6 1 】
- 【 図 4 2 B 】 刺激 L P S 処置動物からの冠状切片を示す図である。
- 【 0 0 6 2 】
- 【 図 4 3 】 刺激 L P S 処置動物からの D f M R I データを示す図である。
- 【 0 0 6 3 】
- 【 図 4 4 】 非刺激 L P S 偽動物からの D f M R I データを示す図である。
- 【 0 0 6 4 】
- 【 図 4 5 A 】 対照海馬における c F O S および G l u t 1 染色を示す図である。 10
- 【 0 0 6 5 】
- 【 図 4 5 B 】 刺激海馬における c F O S および G l u t 1 染色を示す図である。
- 【 0 0 6 6 】
- 【 図 4 5 C 】 図 4 5 B の画像に対する図 4 5 A の画像の蛍光染色 R F U を示す図である。
- 【 0 0 6 7 】
- 【 図 4 6 】 経路遮断薬で処置した L P S 処置動物における肝臓での刺激後の海馬ノルエピネフリンを示す図である。
- 【 0 0 6 8 】
- 【 図 4 7 】 L P S 処置動物における糖尿病薬標的に対するアゴニストで処置後の海馬ノルエピネフリンを示す図である。 20
- 【 0 0 6 9 】
- 【 図 4 8 】 基準超音波信号で追跡した組織変位を示す図である。
- 【 0 0 7 0 】
- 【 図 4 9 】 脾臓刺激部位から得られたせん断波測定を示す図である。
- 【 0 0 7 1 】
- 【 図 5 0 】 脾臓刺激部位から得られた変位測定値を示す図である。
- 【 0 0 7 2 】
- 【 図 5 1 】 低減された超音波臨床効力で処置した動物における脾臓ノルエピネフリン濃度を示す図である。
- 【 0 0 7 3 】 30
- 【 図 5 2 】 低減された超音波臨床効力で処置した動物における脾臓 T N F - α 濃度を示す図である。
- 【 0 0 7 4 】
- 【 図 5 3 】 低減された超音波臨床効力で処置した動物における血中ノルエピネフリン濃度を示す図である。
- 【 0 0 7 5 】
- 【 図 5 4 】 低減された超音波臨床効力で処置した動物における血中 T N F - α 濃度を示す図である。
- 【 0 0 7 6 】
- 【 図 5 5 】 修正パルスシーケンスで処置した動物における脾臓 T N F - α 濃度を示す図である。 40
- 【 0 0 7 7 】
- 【 図 5 6 】 修正パルスシーケンスで処置した動物における脾臓ノルエピネフリン濃度を示す図である。
- 【 0 0 7 8 】
- 【 図 5 7 】 修正パルスシーケンスで処置した動物における血中 T N F - α 濃度を示す図である。
- 【 0 0 7 9 】
- 【 図 5 8 】 修正パルスシーケンスで処置した動物における血中ノルエピネフリン濃度を示す図である。 50

【 0 0 8 0 】

【図 5 9】脾臓の直接機械的振動後の対照と比較した脾臓ノルエピネフリン濃度を示す図である。

【 0 0 8 1 】

【図 6 0】脾臓の直接機械的振動後の対照と比較した脾臓 T N F - α 濃度を示す図である。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 8 2 】

1 つ以上の特定の実施形態を以下に説明する。これらの実施形態の簡潔な説明を提供するための努力において、実際の実装形態の全ての特徴が本明細書に記載されているわけではない。当然のことながら、そのような実際の実装形態の開発においては、エンジニアリングまたは設計プロジェクトの場合と同様に、システム関連およびビジネス関連の制約の遵守など、開発者固有の目標を達成するために実装形態固有の多数の決定がなされなければならない、それは実装形態毎に異なる。さらに、そのような開発努力は複雑で時間がかかる可能性があるが、それにもかかわらず、本開示の恩恵を受ける当業者にとっては設計、製作、および製造の日常的な仕事であることを理解されたい。

【 0 0 8 3 】

本明細書に示されるいかなる実施例または例示も、それに利用されるいずれかの用語に対する制約、制限、またはその定義を表すものとして決して見なされるべきではない。代わりに、これらの実施例または例示は、様々な特定の実施形態に関して説明されていると見なされるべきであり、単に例示として見なされるべきである。当業者は、これらの実施例または例示に利用される用語は、それと共にまたは明細書の他の場所に与えられても与えられなくてもよい他の実施形態を包含し、全てのそのような実施形態はその用語の範囲内に含まれるように意図されることを認識するであろう。そのような非限定的な実施例および例示を指定する言葉は、「例えば (f o r e x a m p l e)」、「例えば (f o r i n s t a n c e)」、「など」、「例えば (e . g .)」、「含む」、および「一実施形態では」を含むがこれらに限定されない。

【 0 0 8 4 】

本技法は、エネルギー源によるエネルギーの印加を介した組織内の軸索終末におけるシナプスの調節に関する。例えば、これは、シナプス前軸索終末とシナプス後非神経細胞との間に形成された軸索外細胞シナプスを含み得る。さらに、開示される特定の実施形態は軸索外細胞シナプスの文脈で論じられているが、軸索終末は軸索分泌性、軸索シナプス性、軸索細胞体間または軸索外細胞シナプスを形成する場合があります。加えて、またはその代わりに、これらのシナプス型は本明細書で提供されるように選択的に調節されているものとして企図されることを理解されたい。さらに、特定の軸索終末は間質液中または体液中で終結することがあり、調節の結果として神経伝達物質の放出も発生し得る。開示されているシナプスは、シナプス内の活性、例えばシナプス前軸索終末からの神経伝達物質の放出を変化させるように調節することができる。言い換えると、変化した活性は、局所的効果および/または非局所的 (例えば、全身的) 効果をもたらすことができる。本技術は、所望の結果を達成するために標的軸索終末を優先的に直接活性化するために特定の軸索終末を含む組織の体積にエネルギーを標的化する方法で集束させることを可能にする。このようにして、対象領域内の標的軸索終末は活性化されるが、特定の実施形態では、同じ臓器または組織構造内にあるが対象領域の外側にある軸索終末は活性化されない。臓器および組織構造は、異なる種類のシナプス後非神経細胞とシナプスを形成する異なる種類の軸索終末を含み得るため、活性化されると所望の目標とする生理学的結果を生じる軸索終末を含む対象領域が選択され得る。したがって、調節は、シナプス前ニューロン型、シナプス後細胞型、またはその両方に基づいて特定の種類の軸索終末を標的とすることができる。

【 0 0 8 5 】

例えば、一実施形態では、軸索終末の種類は、内在性 (すなわち、組織内在性または非

循環性)免疫細胞と軸索外細胞シナプスを形成する軸索終末であり得る。すなわち、軸索外細胞シナプスは、軸索終末と非神経細胞または間質液もしくは体液との間の接合部に形成される。したがって、エネルギーの印加は、対象領域における免疫機能の調節をもたらす。しかしながら、軸索終末型の集団および軸索外細胞シナプスのシナプス前ニューロン型およびシナプス後細胞(例えば、免疫細胞、リンパ球、粘膜細胞、筋肉細胞など)の特徴に基づいて、異なる目標とする生理学的効果が達成され得ることを理解されたい。したがって、被験体の組織内の対象領域にエネルギーを印加することは、対象領域内の軸索終末およびそれらに関連する軸索外細胞シナプスを活性化し得るが、対象領域の外側の非標的軸索終末(および関連シナプス)は影響を受けないであろう。しかしながら、調節は全身的效果をもたらし得るため、対象領域の外側の非標的軸索終末には、対象領域内の軸索終末の活性化の結果としてある一定の全身的变化が発生し得る。本明細書で記載される場合、優先的活性化または直接活性化は、対象領域内でエネルギーの直接印加を経験する細胞または構造を指すことがある。すなわち、軸索終末、軸索外細胞シナプス、および/またはシナプス後非神経細胞、あるいは本明細書で提供されるような印加エネルギーを直接経験する間質液もしくは体液である。

10

【0086】

ヒトの神経系は、脳と脊髄の中樞、そして体の様々な神経内に末梢性に見出される神経細胞、つまりニューロンの複雑なネットワークである。ニューロンは細胞体、樹状突起および軸索を有する。神経は、体の特定の部分に作用するニューロンの群である。神経は、数百のニューロンから数十万のニューロンを含み得る。神経は、求心性ニューロンと遠心性ニューロンの両方を含むことが多い。求心性ニューロンは中枢神経系にシグナルを運び、遠心性ニューロンは末梢にシグナルを運ぶ。ある場所にある神経細胞体群は、神経節として知られている。(例えば、内因性または外部から印加され得る刺激を介して)神経内で生成された電気信号は、ニューロンおよび神経を介して伝導される。ニューロンは、電気信号の継続および調節を可能にするために、受容細胞に隣接するシナプス(接続部)で神経伝達物質を放出する。末梢では、シナプス伝達はしばしば神経節で起こる。

20

【0087】

ニューロンの電気信号は活動電位として知られている。細胞膜を横切る電位が特定の閾値を超えると活動電位が開始される。この活動電位は、次にニューロンの長さに沿って伝播される。神経の活動電位は複雑であり、その中の個々のニューロンの活動電位の合計を表す。ニューロンの軸索終末と受容細胞との間の接合部はシナプスと呼ばれる。活動電位は、ニューロンの軸索を下ってその軸索終末、すなわちシナプス前端部を形成する軸索神経の分岐の遠位末端部、または神経線維のシナプス瘤へと移動する。活動電位の電気的インパルスは、シナプス前軸索終末のシナプス前膜への神経伝達物質を含む小胞の遊走を誘発し、最終的にはシナプス間隙(例えばシナプス前細胞とシナプス後細胞との間に形成される空間)または軸索外細胞空間への神経伝達物質の放出を誘発する。活動電位の電気信号を神経伝達物質放出の化学信号に変換するためにシナプス瘤に達するシナプスは、化学シナプスである。化学シナプスは、シナプス前軸索終末に流れ込むイオン電流が2つの細胞膜の障壁を越えてシナプス後細胞に進入することができる電気シナプスとは対照的であり得る。

30

40

【0088】

活動電位の生理学的効果は、細胞膜を横切るイオンの移動によって媒介される。ニューロンは、ニューロン膜を通る Na^+ 、 K^+ 、および Cl^- などのイオンの移動を容易にするイオンポンプを介して静止膜電位を能動的に維持する。異なる種類のニューロンは、異なる静止電位、例えば -75 mV から -55 mV を維持し得る。活動電位は、イオンの流入、すなわち、膜を横切る電圧の一時的な上昇(例えば、 $30\sim60\text{ mV}$ の範囲内の膜電位への上昇)に関連する膜電位の大きな偏差を生じる電荷の移動によって発生する。個々のニューロンにおける活動電位は、シナプス前(例えば上流)ニューロンからの神経伝達物質の放出に応答して開始され得、その結果としてシナプス後細胞における受容体結合、ならびにイオンの流入および神経を介して伝播される活動電位をもたらす膜脱分極につな

50

がる事象のカスケードをもたらす。

【0089】

シナプスは2つのニューロン間の接合部に位置することがあり、それによって活動電位が神経線維を伝って伝播することが可能になる。しかしながら、軸索終末は、神経細胞と非神経細胞との間の接合部でシナプスを形成することもあり、または間質液もしくは体液で終結することもある。シナプス型の例には、神経免疫接合部に免疫細胞を有するシナプス、臓器内に存在する感覚細胞を有するシナプス、または腺細胞を有するシナプスが挙げられる。シナプス間隙への神経伝達物質の放出およびシナプス後細胞のシナプス後膜における受容体への結合は、シナプス前ニューロンの性質および放出された特定の神経伝達物質ならびにシナプス後細胞の性質（例えばシナプス後細胞の利用可能な受容体の種類）に依存する下流効果をもたらす。さらに、活動電位は興奮性または抑制性であり得る。興奮性シナプス後活動電位はシナプス後ニューロンが次の活動電位を発射または放出する可能性をより高くするシナプス後電位であり、抑制性シナプス後活動電位はシナプス後ニューロンが次の活動電位を発射または放出しにくくするシナプス後電位である。さらに、いくつかのニューロンが協調して下流の活動電位を誘発するかまたは下流の活動電位を阻害する神経伝達物質を放出することがある。

10

【0090】

神経調節は、外部エネルギー源からのエネルギーが神経系の特定の領域に印加されて神経または神経機能を活性化または増大させ、かつ／または神経または神経機能を遮断または減少させる技術である。特定の神経調節技術では、1つ以上の電極を標的神経にまたはその近くに印加し、エネルギーの印加が神経を通して（例えば活動電位として）運ばれて、エネルギー印加部位の下流の領域に生理学的応答を引き起こす。しかしながら、神経系は複雑であるため、所与のエネルギー印加部位についての生理学的反応の範囲および最終的な終点を予測することは困難である。

20

【0091】

中枢神経系（すなわち、脳組織）の超音波調節のための戦略は神経活動の調節の成功を実証したが、末梢神経を調節する試みは遅れている。例えば、中枢神経系（CNS）の超音波調節は、シナプス構造が豊富である脳の皮質領域の刺激を含み、一方、末梢神経の超音波刺激の試みは、シナプス構造がそれほど多くないまたは欠けている神経幹を標的とする。本技術において、末梢神経の調節は、1つ以上の末梢軸索終末を標的とすることを含む。さらに、刺激が神経生成活動電位の伝播をもたらす末梢組織における伝統的なニューロン-ニューロンシナプスを標的とする代わりに、本技術では、軸索外細胞シナプス、または例えば神経免疫シナプスにおける他の細胞型、間質液、または体液とのニューロン接合部を含む軸索終末を含む被験体の内部組織に1つ以上のエネルギーパルス印加し、ここで、軸索終末の刺激は、神経伝達物質／神経ペプチドを放出するか、または免疫細胞または他の細胞などの隣接非神経細胞の近傍で変化した神経伝達物質の放出を誘導し、細胞活性を調節する。さらに、そのような調節を介して、直接の刺激なしに他の組織構造または臓器の調節を達成することができる。一実施形態では、臓器の比較的小さい領域（例えば、全臓器体積の25%未満の体積）への直接的なエネルギー印加は、脳の異なる領域（例えば視床下部）に突出する求心性突出ニューロンにおける活動電位の刺激をもたらし得る。しかしながら、この結果は、シナプスに富む領域の直接的な脳刺激なしに達成され得る。直接的な脳刺激は、所望の生理学的結果を妨害し、またはそれを圧倒し得る他の経路の望ましくない活性化をもたらすことがある。したがって、本技法は、直接的な脳刺激または電氣的末梢神経刺激よりもより標的化されかつより特異的な方法で、脳活動または臓器内活動のいずれかの粒状活性化を可能にする。

30

40

【0092】

本技法の利点には、局所的および／または全身的效果を達成するための組織の対象領域における局所的調節が含まれる。さらに、局所的調節は、これらの効果を達成するために、組織の比較的小さい領域（例えば、全組織体積の25%未満）の直接的な活性化を含み得る。このようにして、所望の生理学的結果を達成するために、合計の印加工ネルギーは

50

比較的小さい。特定の実施形態では、印加エネルギーは、非侵襲体外エネルギー源（例えば超音波エネルギー源）からのものであり得る。例えば、集束エネルギープローブは、被験体の皮膚を通してエネルギーを印加することができ、内部組織の対象領域に焦点を合わせる。そのような実施形態は、侵襲的処置なしに、または他の種類の処置もしくは治療に関連し得る副作用なしに所望の生理学的結果を達成する。

【0093】

開示されている技術の局所調節は、電極を介した電気刺激などの他の調節技術と比較して実証された。例えば、全身性炎症を調節する神経経路の刺激は、代謝制御に關与する経路の標的外刺激なしに示された（末梢神経に対する以前の電気刺激実験はこれらの標的外効果を切り離すことができなかった）。さらに、本技法は、局所のおよび全身的の両方の、臨床的に有用な様々な生理学的結果を誘導することが実証された。

10

【0094】

本明細書で提供されるのは、エネルギー印加の焦点部位、例えば軸索終末で放出される神経伝達物質が、活動電位に応答してではなく、エネルギーの印加に応答して誘発されるような方法で、エネルギー源（例えば、外部または体外エネルギー源）からのエネルギーが軸索終末に印加される神経調節のための技術である。すなわち、軸索終末への直接のエネルギーの印加が活動電位の代わりに作用して、神経免疫接合部または非神経細胞との他のニューロン接合部への神経伝達物質の放出を促進する。軸索終末への直接的なエネルギーの印加はさらに、軸索外細胞シナプス内の軸索終末から隣接する非神経細胞の近傍への変化した神経伝達物質放出を誘導する。一実施形態では、エネルギー源は、超音波エネルギー源または機械的振動子などの体外エネルギー源である。このようにして、非侵襲的で標的化された神経調節は、上流部位での調節を介しそれが次に下流の標的を活性化する活動電位を誘発するのではなく、エネルギー焦点の部位で直接達成することができる。

20

【0095】

本技術は、任意の神経免疫界面（例えば、軸索終末と免疫細胞との間の接合部またはシナプス）の調節に加えて、リンパ節神経調節またはリンパ球滞留神経免疫反射の調節と共に使用され得る。さらに、例えばニューロンとの接合部の一部ではない免疫細胞など、免疫細胞自体の直接的な調節も企図される。本開示の特定の実施形態は神経免疫調節の状況で提示されているが、開示されている技術は他の標的組織および他の種類の非神経細胞と共に使用されてもよいことを理解されたい。本明細書で記載される場合、非神経細胞は免疫細胞、内皮細胞、分泌細胞などを含み得る。

30

【0096】

特定の実施形態では、標的組織は、電気刺激技術を用いてアクセスすることが困難である内部組織または臓器である。他の企図される組織標的としては、胃腸組織（胃、腸）、筋肉組織（心臓、平滑および骨格）、上皮組織（表皮、臓器/胃腸内層）、結合組織、腺組織（外分泌/内分泌）などが挙げられる。一例では、神経筋接合部でのエネルギーの集中的な印加は、上流の活動電位なしに神経筋接合部での神経伝達物質放出を促進する。企図される調節標的は、マクロファージからのTNF- α 放出を制御することに関与する脾臓の一部、ドーパミン放出を制御するための副腎内の部位、または腸内の炎症およびマクロファージ機能を制御する腸間膜叢内の局所部位を含み得る。さらに、抗体産生またはリンパ球の機能状態を制御し得る神経免疫界面が超音波エネルギーを介して調節され得る。

40

【0097】

そのために、開示されている神経調節技術は、神経調節システムと共に使用されてもよい。図1は、エネルギーの印加に応答して神経伝達物質の放出を達成し、および/または軸索外細胞シナプス内の成分を活性化するための、神経調節のためのシステム10の概略図である。図示のシステムは、エネルギー印加装置12（例えば超音波トランスデューサ）に結合されたパルス発生器14を含む。エネルギー印加装置12は、例えば導線または無線接続を介して、エネルギーパルスを受信するように構成されており、使用時には被験体の内部組織または臓器の対象領域に向けられ、その結果、目標とする生理学的結果がもたらされる。特定の実施形態では、パルス発生器14および/またはエネルギー印加装置

50

12は生体適合性部位（例えば腹部）に埋め込まれてもよく、1つまたは複数の導線はエネルギー印加装置12とパルス発生器14とを内部で結合する。例えば、エネルギー印加装置12は、容量性マイクロマシン超音波トランスデューサなどのMEMSトランスデューサであってもよい。

【0098】

特定の実施形態では、エネルギー印加装置12および/またはパルス発生器14は、例えばパルス発生器14に命令を順番に提供することができるコントローラ16と、無線で通信することができる。他の実施形態では、パルス発生器14は体外装置であってもよく、例えば、被験体の体外の位置から経皮的または非侵襲的にエネルギーを印加するように動作させることができ、また特定の実施形態ではコントローラ16内に統合することができる。パルス発生器14が体外である実施形態では、エネルギー印加装置12は、介護者によって操作され、エネルギーパルスが所望の内部組織に経皮的に送達されるように被験体の皮膚の上または上方の箇所に配置され得る。所望の部位にエネルギーパルスを印加するように配置されると、システム10は、目標とする生理学的結果または臨床効果を達成するために神経調節を開始することができる。

10

【0099】

特定の実施形態では、システム10は評価装置20を含んでもよく、評価装置20は、コントローラ16に結合され、調節の目標となる生理学的結果が達成されたかどうかを示す特徴を評価する。一実施形態では、目標とする生理学的結果は局所的であり得る。例えば、調節は、組織構造の変化、特定の分子の濃度の局所的な上昇、組織の変位、および流体の動きの増加などの局所的な組織または機能の変化をもたらす得る。調節は、全身的または非局所的変化をもたらす可能性があり、目標とする生理学的結果は、循環する分子の濃度の変化、またはエネルギーが直接印加された対象領域を含まない組織の特徴の変化に関連し得る。一例では、変位は、調節の成功のための代理測定値であり得、期待される変位値未満の変位測定値は、期待される変位値が観察されるまで調節パラメータの修正をもたらすことができる。

20

【0100】

エネルギーが神経免疫接合部に印加される実施形態では、調節はまた、免疫細胞の集団の変化、またはリンパ組織内の化合物の存在もしくは濃度の変化など、免疫機能の変化をもたらすことができる。評価に基づいて、コントローラ16の調節パラメータを変更することができる。例えば、成功した調節が、処置の開始と比較した規定の時間枠内（例えば、処置開始後5分、30分）でのノルエピネフリンまたは腫瘍壊死因子濃度の減少に関連している場合、頻度または他のパラメータの変更が望まれる場合があり、これは、パルス発生器14のエネルギーパルスを規定または調整するために操作者によってコントローラ16に提供されてもよい。

30

【0101】

本明細書で提供されるシステム10は、様々な調節パラメータに従ってエネルギーパルスを供給することができる。例えば、調節パラメータは、連続的なものから断続的なものまでの範囲の様々な刺激時間パターンを含み得る。断続的な刺激では、信号オン時間の間にエネルギーが一定の周波数で一定期間供給される。信号オン時間の後には、信号オフ時間と呼ばれる、エネルギー供給がない期間が続く。調節パラメータはまた、刺激印加の頻度および持続時間を含み得る。印加頻度は連続的であってもよく、または例えば1日以内または1週間以内の様々な期間に送達されてもよい。治療の持続時間は、数分から数時間までを含むがこれらに限定されない様々な期間にわたって持続し得る。特定の実施形態では、指定された刺激パターンを用いた治療の持続時間は1時間続き、例えば72時間間隔で繰り返されてもよい。特定の実施形態では、治療は、より高い頻度、例えば3時間毎に、より短い持続時間で、例えば30分間送達され得る。治療の持続時間および頻度は、所望の結果を達成するために調節可能に制御され得る。

40

【0102】

図2は、システム10の特定の構成要素のブロック図である。本明細書で提供されるよ

50

うに、神経調節のためのシステム 10 は、被験体の組織に印加するために複数のエネルギーパルスが発生させるように適合されているパルス発生器 14 を含み得る。パルス発生器 14 は別個でもよく、またはコントローラ 16 などの外部装置に統合されてもよい。コントローラ 16 は、装置を制御するためのプロセッサ 30 を含む。ソフトウェアコードまたは命令は、コントローラ 16 のメモリ 32 に記憶され、プロセッサ 30 によって実行されて装置の様々な構成要素を制御する。コントローラ 16 および / またはパルス発生器 14 は、1 つ以上の導線 33 を介してエネルギー印加装置 12 に接続することができる。

【0103】

コントローラ 16 はまた、臨床医が選択入力または調節パラメータを調節プログラムに提供することを可能にするように適合された入出力回路 34 およびディスプレイ 36 を有するユーザインターフェースを含む。各調節プログラムは、パルス振幅、パルス幅、パルス周波数などを含む 1 組以上の調節パラメータを含むことができる。パルス発生器 14 は、制御装置 16 からの制御信号に応答してその内部パラメータを修正して、導線 33 を介して被験体に伝達されるエネルギーパルスの刺激特性を変える。定電流、定電圧、多重独立電流または電圧源などを含む任意の適切な種類のパルス発生回路を使用することができる。印加されるエネルギーは、電流振幅とパルス幅持続時間の関数である。

【0104】

一実施形態では、メモリ 32 は、操作者によって選択可能な異なる動作モードを記憶する。例えば、記憶された動作モードは、特定の治療部位に関連した一組の調節パラメータを実行するための命令を含み得る。部位が異なれば、関連付けられている調節パラメータも異なり得る。操作者に手動でモードを入力させるのではなく、コントローラ 16 は、選択に基づいて適切な命令を実行するように構成されてもよい。別の実施形態では、メモリ 32 は異なる種類の治療のための動作モードを記憶する。例えば、活性化は、組織機能の低下または遮断に関連するものに対して異なる刺激圧力または周波数範囲に関連し得る。具体例では、エネルギー印加装置が超音波トランスデューサである場合、時間平均電力およびピーク陽圧は、 $1 \text{ mW} / \text{cm}^2 \sim 30,000 \text{ mW} / \text{cm}^2$ および $0.1 \text{ MPa} \sim 7 \text{ MPa}$ の範囲内である。別の特定の例では、エネルギー印加装置が機械的アクチュエータである場合、振動の振幅は $0.1 \sim 10 \text{ mm}$ の範囲内である。選択された周波数は、エネルギー印加のモード、例えば超音波または機械的アクチュエータに依存し得る。

【0105】

別の実施形態では、メモリ 32 は、所望の結果を達成するために調節パラメータの調整または修正を可能にする較正または設定モードを記憶する。一例では、刺激は、より低いエネルギーパラメータで始まり、自動的にまたは操作者入力の受信時に徐々に増加する。このようにして、操作者は、調節パラメータが変更されているときの効果を観察することができる。

【0106】

システムはまた、エネルギー印加装置 12 の集束を容易にする撮像装置を含むことができる。一実施形態では、撮像装置は、異なる超音波パラメータ（周波数、開口、またはエネルギー）が標的化およびその後の神経調節のために印加されるように、エネルギー印加装置 12 と一体化されてもよく、またはエネルギー印加装置 12 と同じ装置でもよい。別の実施形態では、メモリ 32 は、臓器または組織構造内の対象領域を空間的に選択するために使用されるターゲティングモードまたはフォーカシングモードを記憶する。例えば、エネルギー印加装置 12 は、対象領域を識別するために使用される画像データを取込むために使用されるエネルギーを印加するために、最初にターゲティングモードで動作するように構成されてもよい。ターゲティングモードのエネルギーは、優先的活性化に適した調節パラメータが適用されていない、および / またはそのレベルではない。しかしながら、一旦対象領域が識別されると、コントローラ 16 は優先的活性化に関連する調節パラメータに従って治療モードで動作することができる。

【0107】

コントローラ 16 はまた、調節パラメータの選択への入力として、目標とする生理学的

10

20

30

40

50

結果に関する入力を受け取るように構成されてもよい。例えば、撮像モダリティが組織の特徴を評価するために使用される場合、コントローラ 16 は、特徴の計算された指数またはパラメータを受け取るように構成されてもよい。指数またはパラメータが閾値を上回るか下回るかに基づいて、調節パラメータを修正することができる。一実施形態では、パラメータは罹患組織の組織変位の尺度または罹患組織の深さの尺度であり得る。さらに、エネルギー印加装置 12 (例えば、超音波トランスデューサ) は、コントローラ 16 の制御下で動作して、a) 標的組織内の対象領域を空間的に選択するために画像データを取得する、b) 対象領域に調節エネルギーを印加する、および c) (例えば、変位測定によって) 目標とする生理学的結果が生じたことを決定するために画像を取得する。そのような実施形態では、撮像装置、評価装置 20 およびエネルギー印加装置 12 は同じ装置であり得る。

10

【0108】

別の実装形態では、成功した調節パラメータセットもコントローラ 16 によって記憶することができる。このようにして、被験体特有のパラメータを決定することができる。さらに、そのようなパラメータの有効性を経時的に評価することができる。特定のパラメータのセットが経時的にあまり効果的ではない場合、被験体は活性化経路に対して感受性の欠如を発生している可能性がある。システム 10 が評価装置 20 を含む場合、評価装置はコントローラ 16 にフィードバックを提供してもよい。特定の実施形態では、フィードバックは、目標とする生理学的結果の特徴を示すユーザまたは評価装置 20 から受け取ることができる。コントローラ 16 は、エネルギー印加装置に調節パラメータに従ってエネルギーを印加させ、フィードバックに基づいて調節パラメータを動的に変化させるように構成することができる。例えば、フィードバックに基づいて、プロセッサ 16 は、調節パラメータ (例えば、超音波ビームまたは機械的振動の周波数、振幅、またはパルス幅) を自動的に変更することができる。

20

【0109】

図 3 は、エネルギー印加装置 12 が、例として脾臓として示されている標的組織にエネルギーを印加することができる超音波トランスデューサ 42 を含む、特定の例である。エネルギー印加装置 12 は、超音波トランスデューサ 42 を制御するための制御回路を含み得る。超音波トランスデューサ 42 はまた、印加されたエネルギーを所望の標的位置に集束させるのを助けるために画像データを取得するように構成され得る。

30

【0110】

所望の標的組織 43 は、シナプス空間 49 に放出するために標的組織 43 の対象領域 44 に集束された超音波トランスデューサ 42 の焦点領域内で軸索終末にエネルギーを直接印加することによって刺激され得る軸索終末 46 のシナプスと非神経細胞 48 とを含む、内部組織または臓器であり得る。図示の実施形態では、軸索終末 46 は免疫細胞とシナプスを形成し、神経伝達物質の放出は、マクロファージまたは他の内在するもしくは遊走する免疫細胞の活性化などの下流効果を引き起こす。対象領域は、特定のニューロン型の軸索終末 46 および / または特定の種類の非神経細胞 48 (例えば、図示のような脾臓 T 細胞) を有するシナプスを形成するものなど、特定の種類の軸索終末 46 (例えば、図示のような白色脾髄内の脾臓軸索) を含むように選択することができる。したがって、対象領域 44 は、所望の軸索終末 46 (および関連する非神経細胞 48) を有する標的組織 43 の一部に対応するように選択され得る。エネルギーの印加は、シナプス内の神経からのニューロン伝達物質の放出を優先的に引き出すか、または直接的なエネルギー伝達 (すなわち、非神経細胞内のメカノトランスダクションまたは電位活性化タンパク質) を介して非神経細胞自体を直接活性化させるか、または所望の生理学的効果を引き出す神経細胞および非神経細胞の両方の中で活性化を引き起こすように選択することができる。図示の例では、対象領域は脾臓神経から延出する神経支配された赤色および / または白色の脾髄組織を含む。本明細書で記載される場合、脾臓の刺激または調節は、神経支配された白色脾髄組織を含む対象領域 44 の調節を指すことがある。

40

【0111】

50

エネルギーは、対象領域 4 4、および内部組織 4 3 の一部のみに、例えば組織 4 3 の総体積の約 5 0 % 未満、約 2 5 % 未満、約 1 0 % 未満、または約 5 % 未満に集束または実質的に集中させることができる。一実施形態では、標的組織 4 3 内の 2 つ以上の対象領域 4 4 にエネルギーを印加することができ、対象領域 4 4 の総体積は、組織 4 3 の総体積の約 9 0 % 未満、約 5 0 % 未満、約 2 5 % 未満、約 1 0 % 未満、または約 5 % 未満であり得る。一実施形態では、エネルギーは、組織 4 3 の総体積の約 1 % ~ 5 0 % のみ、組織 4 3 の総体積の約 1 % ~ 2 5 % のみ、組織 4 3 の総体積の約 1 % ~ 1 0 % のみ、または組織 4 3 の総体積の約 1 % ~ 5 % のみに印加される。特定の実施形態では、標的組織 4 3 の対象領域 4 4 内の軸索終末 4 6 のみが直接エネルギーを受け取り、神経伝達物質を放出するが、対象領域 4 4 の外側の刺激されていない軸索終末は実質的なエネルギーを受け取らず、したがって同様に活性化 / 刺激されない。いくつかの実施形態では、エネルギーを直接受け取る組織の部分の軸索終末 4 6 は、変更された神経伝達物質放出を誘導するであろう。このようにして、組織区画は、粒状に神経調節の標的となり得る。いくつかの実施形態では、エネルギー印加パラメータは、エネルギーを直接受け取る組織内の神経成分または非神経成分のいずれかの優先的活性化を誘導して、所望の複合生理学的効果を誘導するように選択することができる。特定の実施形態では、エネルギーを約 2 5 mm³ 未満の体積内に集束または集中させることができる。特定の実施形態では、エネルギーを約 0 . 5 mm³ ~ 5 0 mm³ の体積内に集束または集中させることができる。対象領域 4 4 内にエネルギーを集束または集中させるための焦点体積および焦点深度は、エネルギー印加装置 1 2 のサイズ / 構成によって影響を受ける可能性がある。エネルギー印加の焦点体積は、エネルギー印加装置 1 2 の焦点領域によって定義されてもよい。

10

20

【 0 1 1 2 】

本明細書で提供されるように、エネルギーは、目標とする生理学的結果を達成するために標的化された方法でシナプスを優先的に活性化するために、対象領域 4 2 のみに実質的に印加することができ、全体的または組織 4 3 全体にわたる不特定なやり方では実質的に印加されない。したがって、組織 4 3 内の複数の異なる種類の軸索終末 4 6 のサブセットのみが直接的なエネルギー印加に曝される。図 4 は、脾臓の対象領域を選択するための空間情報として役立ち得る、脾臓内の血流（ドップラー超音波）の画像である。例えば、血管、神経、または他の解剖学的ランドマークのいずれかを含む臓器内の対象領域を選択し、特定の軸索終末およびシナプスを有する領域を識別するために使用することができる。一実施形態では、対象領域は、脾動脈を識別し、脾動脈に近いまたは平行な領域を空間的に選択することによって選択される。臓器構造は、典型的には、下位臓器組織機能、血管、および神経支配に基づいてセグメント化され、軸索終末のサブセットは、エネルギーが直接印加される対象領域に含まれるように選択され得る。他の軸索終末は対象領域の外側にあり、直接の印加エネルギーに曝されない。対象領域に含める個々の軸索終末は、履歴データまたは実験データに基づいてもよい（例えば、所望の目標とする生理学的結果に対する特定の位置の関連付けに基づく）。別の実施形態では、軸索終末およびそれらの隣接する組織または構造の位置は、優先的活性化のために軸索終末の全セットから個々の軸索終末を選択するために使用され得る。代替的または追加的に、システム 1 0 は、所望の目標とする生理学的効果が達成されるまで、個々の軸索終末にエネルギーを印加してもよい。脾臓画像は単なる例示であることを理解されたい。視覚化された神経の空間情報を用いて対象領域に直接エネルギーを印加することによる優先的活性化のための軸索終末の開示された選択は、他の臓器または構造（例えば、肝臓、リンパ節）と共に使用することができる。

30

40

【 0 1 1 3 】

開示された技術は神経調節効果の評価に使用することができ、ひいては神経調節パラメータを選択または修正するための入力またはフィードバックとして使用することができる。開示された技術は、目標とする生理学的結果として組織状態または機能の直接的な評価を使用することができる。評価は、神経調節の前（すなわちベースライン評価）、間、および / または後に起こり得る。例えば、リンパ排水の増加を必要とする被験体については

50

、選択されたパラメータが排泄の十分な増加を達成したかどうかを判定するために、神経調節の前、間および／または後にそのような排泄を監視してもよい。したがって、リンパ排泄は、リンパ排泄を判定する１つ以上のインビボ技術によって評価することができる。一実施形態では、外因性造影剤は、リンパ組織内に直接投与されるか、または皮内注射を介して間接的に投与される。例えば、ガドリニウムベースの造影剤を使用することができる。所望の臨床結果に応じて、局所的または全身的な流れのいずれかに対処することができる。例えば、MRリンパ管造影法を用いて四肢のリンパ排泄を評価することができる。別の実施形態では、蛍光性微小リンパ管造影法(FML)もリンパ排泄を評価するために使用され得る。FMLは、蛍光染料、デキストランに結合したFITC(FITC-デキストラン)の皮内投与、および高解像度画像を取得するためのビデオ蛍光顕微鏡技術を使用する。さらに別の実施形態では、撮像は、LYVE-1、Prox-1、ポドブラニン、およびVEGFR3などの、リンパ特異的マーカーを標的とする染料または指標を含み得る。

10

【0114】

評価技法は、機能的磁気共鳴イメージング、拡散テンソル磁気共鳴イメージング、ポジティブエミッショントモグラフィ、または音響モニタリング、熱モニタリングのうちの少なくとも１つを含み得る。評価技術はまた、タンパク質および／またはマーカー濃度評価を含み得る。

【0115】

評価技術からの画像は、自動評価または手動評価のためにシステムによって受信してもよい。画像データに基づいて、調節パラメータも修正することができる。例えば、安定したバイタルサインおよび他の健康指標の存在下でリンパ排泄が増加した場合、刺激は、所望の増加したリンパ排泄を維持する最低エネルギーまでステップバックされてもよい。他の実施形態では、リンパ排泄の変化を局所神経伝達物質濃度のマーカーとして利用し、局所免疫(免疫相互作用)細胞を表現型調節神経伝達物質に曝露するための代理マーカーとして、および免疫機能への予測効果のマーカーとして効果的に使用することができる。局所濃度は、エネルギー印加の焦点領域内の濃度を指すことがある。

20

【0116】

追加的または代替的に、システムはリンパ組織、リンパ液中または血液中の神経伝達物質または細胞の存在または濃度を評価することができる。リンパ液または組織は、細針吸引によって取得することができ、神経伝達物質(例えば、ペプチド伝達物質、カテコールアミン)の存在またはレベルの評価は、当業者に公知の任意の適切な技術によって実施することができる。

30

【0117】

別の実施形態では、リンパ節またはリンパ組織中の細胞の種類および／または数の変化は、リンパ組織機能の表示であり得る。細胞集団は、フローサイトメトリーなどのエキスピボ技術によって評価することができる。別の実施形態では、リンパ管細胞集団は、内因性造影剤を用いたレーザー走査型インビボ共焦点顕微鏡法(IVCM)によって評価することができる。

【0118】

他の実施形態では、目標とする生理学的結果は、組織変位、組織サイズの変化、１つ以上の分子の濃度の変化(局所的、非局所的、または循環的)、遺伝子の変化、またはマーカー発現、求心性活性、および細胞遊走などを含み得るがこれらに限定されない。

40

【0119】

図5は、標的組織の対象領域を刺激するための方法50の流れ図である。この方法では、ステップ54でエネルギーパルスが所望の対象領域に集束するようにエネルギー印加装置を配置し、ステップ56でパルス発生器が標的組織に複数のエネルギーパルスを印加して、標的組織のシナプスのサブセットを作動させ、例えば、軸索終末を刺激して神経伝達物質を放出させる、および／または神経伝達物質放出の変更を誘導する、および／または(シナプス内の)非神経細胞において活動の変更を誘導して、ステップ58で目標とする

50

生理学的結果を引き起こす。特定の実施形態では、方法は刺激の効果を評価するステップを含み得る。例えば、組織機能または状態の状況の1つ以上の直接的または間接的な評価を使用することができる。評価した組織機能に基づいて、目標とする生理学的結果を達成するために1つ以上のエネルギーパルスの調節パラメータを（例えば、動的にまたは調整可能に制御して）修正することができる。

【0120】

一実施形態では、調節の結果としてのリンパ機能の変化を評価するために、調節の前後に評価を行うことができる。リンパ機能の評価された特徴の状態における所望の変化が閾値より上または下である場合、調節パラメータに適切な修正を加えることができる。例えば、閾値に対する特徴の変化がリンパ組織の活性化の成功と関連している場合、神経調節の間に印加されるエネルギーを、所望の結果を支持する最小レベルにステップバックすることができる。閾値に対する特徴の変化がリンパ組織の不十分な活性化に関連する場合、調節振幅または周波数、パルス形状、刺激パターン、および/または刺激場所を含むがこれらに限定されない特定の調節パラメータを変更することができる。特定の所望の臨床結果がその代わりに活性化の遮断と関連している可能性があることも理解されたい。そのような実施形態では、神経機能および/またはリンパ機能の低下の評価は、調節パラメータを維持することに関連しており、望ましくないレベルのリンパ活性が持続する場合は、調節パラメータを修正することができる。

10

【0121】

さらに、評価された特徴または状態は、値または指標、例えば、流速、濃度、細胞集団、またはそれらの任意の組み合わせであり得、それは次に適切な技術によって分析され得る。例えば、閾値を超える相対変化を用いて、調節パラメータが修正されているかどうかを判定することができる。調節の成功は、組織構造サイズ（例えば、リンパ節サイズ）の増加の有無、または放出分子の濃度の変化（例えば、神経調節前のベースライン濃度に対する）などの、測定された臨床結果によって評価することができる。一実施形態では、調節の成功は、閾値を超える濃度の上昇、例えばベースラインと比較して濃度の約50%、100%、200%、400%、1000%の上昇を含み得る。遮断治療では、評価は、経時的な分子濃度の減少、例えば対象分子の少なくとも10%、20%、30%、50%、または75%の減少を追跡することを含み得る。さらに、特定の被験体にとって、遮断治療の成功は、分子濃度を上昇させる傾向があり得る他の臨床的事象の状況において、特定の分子が比較的安定した濃度を維持することを含み得る。つまり、遮断が成功すると潜在的な上昇が阻止される可能性がある。上昇、低下または他の観察可能な効果は、治療の開始から一定の時間枠内、例えば、約5分以内、約30分以内に測定され得る。特定の実施形態では、神経調節が成功したと判定された場合、神経調節の変化はエネルギーパルスの印加を停止するための命令である。別の実施形態では、神経調節が成功しなかった場合、神経調節の1つ以上のパラメータが変更される。例えば、調節パラメータの変化は、10~100Hzの周波数の段階的な増加などのパルス繰り返し周波数の増加および神経調節の成功が達成されるまでの所望の特徴の評価であり得る。他の実施形態では、パルス幅を変更することができる。他の実施形態では、2つ以上のパラメータを共に変更することができる。複数のパラメータを変更した後に神経調節が成功しない場合は、エネルギー印加の焦点を変更することができる。

20

30

40

【0122】

エネルギー印加装置12は、体外の非侵襲的装置または内部装置、例えば最小侵襲的装置として構成することができる。述べたように、エネルギー印加装置12は体外非侵襲性超音波トランスデューサまたは機械的作動装置であり得る。例えば、図6は、超音波トランスデューサ74を含むハンドヘルド超音波プローブとして構成されたエネルギー印加装置の一実施形態を示す。しかしながら、解剖学的標的に超音波トランスデューサプローブを構成する、付着させる、または配置するための他の方法を含む、他の非侵襲的実施形態も企図されることを理解されたい。さらに、ハンドヘルド構成に加えて、エネルギー印加装置12は、コントローラ16からの命令に応答する操縦機構を含み得る。操縦機構は

50

、エネルギー印加装置 12 を標的組織 43 (または構造) に向けて配向または方向付けることができ、次いで、コントローラ 16 は、エネルギー印加を対象領域 44 に集束させることができる。

【実施例】

【0123】

1. 実験方法

図7は、高密度集束超音波(HIFU)を印加するように構成されたエネルギー印加装置12およびパルス発生器14を含むシステム10のブロック図である。一実施形態では、システム10は、例えば、関数発生器80、電力増幅器82、および整合ネットワーク84を含むパルス発生器を含む。本明細書で提供される実験結果を生成するために使用される一実施形態では、パルス発生器は、1.1MHzの高密度集束超音波(HIFU)トランスデューサ(Sonic Concepts H106)、整合ネットワーク(Sonic Concepts)、RF電力増幅器(ENI350L)、および関数発生器(Agilent 33120A)を含む。HIFUトランスデューサ12を、脱気水で満たされた高さ6cmのプラスチックコーンを通して動物被験体に連結した。図8は、図7のシステム10と共に使用され得るエネルギー印加装置の一例であり、本明細書で提供されるようにエネルギーを印加し、かつ標的組織を撮像するために、例えばコントローラ16によって制御され得る単一のエネルギー印加装置12内に配置されたHIFUトランスデューサ74Aと撮像用超音波トランスデューサ74Bとを含む。

10

【0124】

図9は、本明細書で提供されるような特定の脾臓調節実験を実施するために使用される実験設定を示す。図示の実施形態は脾臓標的組織43を示しているが、実験設定の特定の要素は異なる標的組織43間で共通であり得ることを理解されたい。例えば、エネルギー印加装置12は、標的組織43内の対象領域にエネルギーを印加するために、コントローラ16によって設定されたパラメータに従って動作してもよい。

20

【0125】

図10は、本明細書で提供されるような特定の調節実験を実行するために使用される超音波エネルギー印加のための実験的タイムラインを示す。図示の実施形態では、超音波の印加は、リボ多糖注射の前後1分間行われる。リボ多糖類(LPS)は、強い免疫反応または炎症反応を引き出す細菌膜分子である。したがって、LPS処置動物は、免疫応答が活性である疾患または状態のモデルとして役立ち得る。実験的タイムラインでは、臓器採取および様々な目標とする生理学的結果の測定は、治療後一定期間が経過した後に起こり得る。

30

【0126】

関数発生器80は、図11に示すパルス状の正弦波形を発生させる。このパルス正弦波形は、RF電力増幅器によって増幅され、HIFUトランスデューサの整合ネットワークに送信される。動物実験中に、パルス振幅、パルス長、パルス繰り返し周波数の3つの超音波パラメータを調整することができる。パルス振幅は0.5Vピークから62Vピークの範囲である。18.2μs、136.4μs、363.6μsの3つのパルス長を使用する。パルス繰り返し周波数(1/T)は2kHzである。治療時間は1分である。表1は、HIFU超音波パラメータを要約している。超音波調節パラメータは一例である。一実施形態では、調節は、約0.1MHz~約5MHzの範囲の超音波トランスデューサ周波数を有する超音波刺激を用いて提供され、超音波刺激は、約0.1Hz~約10kHzの範囲の超音波周波数パルス繰り返し周波数を有する。超音波エネルギーのパルス当たりの超音波サイクルは、約1~約1000の範囲内であり得る。

40

トランスデューサ周波数 (MHz)	パルス振幅 (Vピーク)	パルス長 (μs)	繰り返し周波数 (Hz)	ピーク圧力 (MPa)
1.1	62	136.4	2000	1.72
1.1	46.5	136.4	2000	1.27
1.1	31	136.4	2000	0.83
1.1	15.5	136.4	2000	0.41
1.1	9.8	136.4	2000	0.25
1.1	7.75	136.4	2000	0.20
1.1	5	136.4	2000	0.13
1.1	0.5	136.4	2000	0.01
1.1	31	18.2	2000	0.83
1.1	31	363.6	2000	0.83

10

【0127】

圧力測定は、Onda Corp.製のHIFUハイドロフォン (HNA-0400) を使用して脱気水中で行った。HIFUトランスデューサは、100サイクルの正弦波形によって駆動された。ハイドロフォンでx-y平面における0.1mmのグリッドサイズおよびz軸に沿って0.2mmのステップサイズで焦点を通してスキャンした。図12はハイドロフォンの設定を示し、図13はスキャン結果を示す。ピーク正(負)圧力は、x-y平面内のトランスデューサ焦点における最大正(負)圧力として定義される。入力電圧は、非線形性の影響を排除するのに十分な低さであった。したがって、ピーク正圧力の値はピーク負圧力の値と同一であった。全動作電圧でのピーク圧力を推定するために、キャピテーションが発生し曲線適合を行う前に、ピーク圧力をいくつかの異なる駆動電圧で測定した。計算されたピーク圧力を表1に示す。

20

臓器特異的神経調節のための超音波標的化

【0128】

神経調節が始まる前に、GE Vivid E9超音波システムおよび11Lプローブを使用して超音波スキャンを行った。対象領域は動物の皮膚上に標識した。HIFUトランスデューサを標識領域上に配置した。より小型の撮像プローブ(3S)を使用して別の超音波スキャンも行い、このプローブはHIFUトランスデューサの開口部に配置した。3Sプローブの撮像ビームをHIFUビームと整列させた。したがって、(超音波スキャナー上に可視化された)標的臓器の画像を用いて、HIFUビームが対象領域を標的としていることを確認できた。

30

動物プロトコル

【0129】

実験を行う前に、8~12週齢の成体雄Sprague-Dawleyラット(250~300g、Charles River Laboratories)を12時間の明/暗サイクルで25で飼育し、1週間馴化した。水と通常のげっ歯類の餌は自由に摂取できた。

【0130】

内毒素(大腸菌由来のLPS、0111:B4;Sigma-Aldrich)を用いて、未処置の成体Sprague-Dawleyラットに有意な状態の炎症および代謝機能不全(例えば高血糖症および高インスリン血症)を生じさせた。動物に腹腔内(IP)注射でLPSを投与したところ(10mg/kg; Rosa-Ballinas PNAS、2008)、TNF、循環グルコースおよびインスリン濃度の有意な上昇を引き起こし、上昇は4時間でピークに達したが、対照群と比較して注射の8時間後まで上昇したままであった。脾臓、肝臓、視床下部、海馬および血液の試料を、LPS投与から60分後(効力研究用)および30、60、120、240または480分後(持続時間および動態研究用)に採取した。ホスファターゼ(0.2mMのフェニルメチルスルホニルフルオリド、5μg/mLのアプロチニン、1mMのベンズアミジン、1mMのオルトバナジン酸ナトリウム、および2μMのカンタリジン)およびプロテアーゼ(Roche Diagnosticsによる組織1μL~20mg)阻害剤を含むPBS溶液中で脾臓および肝臓の試料をホモジナイズした。PBS溶液1mL当たり組織0.2gの目標最終濃度を

40

50

全ての試料に適用した。血液試料は、試料の凝固を防ぐために抗凝固剤（二ナトリウム）EDTAと共に保存した。試料をサイトカイン（Bio-Plex Pro; Bio-Rad）、TNF（Lifespan）およびアセチルコリン（Lifespan）濃度の変化についてELISAアッセイで分析した。カテコールアミン濃度は、HPLC検出またはELISA（Rocky Mountain Diagnostic）分析を用いて評価した。

【0131】

血糖値およびインスリンレベルに対するLPSの影響を調べた。LPS注射の0、60、90、120、150、180、および240分後に尾静脈から血液試料を採取し、グルコースおよびインスリンレベルを測定した。循環血中グルコース濃度は、OneTouch Eliteグルコメーター（LifeScan、Johnson & Johnson）によって測定した。血液から得られた血漿中のインスリン濃度は、ELISAキット（Crystal Chem、Chicago、IL）を使用して決定し、全身性インスリン抵抗性に対するLPSおよびその後の超音波刺激の影響を決定した。シグナル伝達の変化は、肝臓、筋肉、心臓および視床下部組織試料におけるIRS-1/2、PI3K、Akt、GLUT2、GLUT4、GLUTamate、GABAおよびAMPKを含む重要なバイオマーカーの評価によって測定した。

超音波神経調節に使用したプロトコルは以下の通りであった。

動物を2～4%イソフルランで麻酔する。

処置中の温熱療法を防ぐために、動物は水循環温暖パッドの上にうつぶせに置く。

刺激の前に、超音波刺激の指定箇所（対象神経）上の領域を、使い捨てかみそりと動物用バリカンで剃毛してもよい。

診断イメージング超音波を用いて対象領域を識別する。

肝臓は、肝門脈のドップラー同定によって示される肝門部とする。

脾臓は、診断用超音波によって脾臓を視覚的に識別する。刺激の位置は、識別された脾臓軸に沿って維持する。

後で識別できるように領域に永久マーカーを付けてもよい。

FUS超音波プローブまたはLogiq E9プローブのいずれかを、診断用超音波で先に識別した指定の対象領域に配置する。

次に、単一の1分のパルスを超えない単一の刺激の総持続時間で超音波パルスを実施する。どの時点でも、エネルギーが熱損傷やアブレーション/キャビテーションに関連するレベルに達することはない。

その後、LPS（10mg/kg）を腹腔内注射してもよい（急性/動態研究用）。あるいは、効果の持続時間の間、LPSはここで注射せず、代わりに後に指定された時点で注射する。

2回目の1分の超音波刺激を印加する。

次いで、急性（1時間）および動態（LPS後最大3時間まで変動する）研究用に麻酔下で動物をインキュベートすることが可能になる。その後、動物を屠殺して組織、血液試料を採取する。

効果の持続時間の研究のために、LPSは超音波刺激時には注射せず、むしろ超音波刺激印加後の指定された時点（例えば0、5、1、2、4または8時間）で注射する。その後、動物を麻酔薬保持チャンパーに入れ、安楽死および組織/体液採取までモニターする。

腹膜腔の基部から延長して胸膜腔まで切開を行う。臓器（脾臓および肝臓を含む）を速やかに取り出し、ホスファターゼ（0.2mMのフェニルメチルスルホニルフルオリド、5μg/mLのアプロチニン、1mMのベンズアミジン、1mMのオルトバナジン酸ナトリウム、および2μMのカンタリジン）およびプロテアーゼ（Roche Diagnosticsによる組織1μL～20mg）阻害剤を含むPBS溶液中でホモジナイズする。PBS溶液1mL当たり組織0.2gの目標最終濃度を全ての試料に適用した。血液試料は、試料の凝固を防ぐために抗凝固剤（二ナトリウム）EDTAと共に保存した。次い

で試料を分析まで - 80 で保存する。試料をサイトカイン (Bio-Plex Pro; Bio-Rad)、TNF (Lifespan / Abcam / ThermoFisher) およびアセチルコリン (Lifespan) 濃度の変化について ELISA アッセイで分析した。カテコールアミン濃度は、HPLC 検出または ELISA (Rocky Mountain Diagnostic) 分析を用いて評価した。

電極に基づく迷走神経刺激制御実験プロトコル

【0132】

雄の Sprague-Dawley ラットを 2 % イソフルランで麻酔した。頸部に沿って単一の切開を行って僧帽筋、胸鎖乳突筋および咬筋を露出させ、左頸部迷走神経を露出させる鈍的切開を行った。露出した頸部迷走神経の主幹部に沿って微小電極を配置した。電気刺激 (5 V、30 Hz、2 ms; 5 V、5 Hz、2 ms; 1 V、5 Hz、2 ms) を、AcqKnowledge ソフトウェア (Biopac Systems) の制御下で BIOPAC MP150 モジュールを使用して発生させた。LPS 10 mg / kg の IP 注射の前後に、ラットに 3 分間の迷走神経刺激を与えた。LPS 注射の 60 分後にラットを安楽死させ、TNF 測定のために脾臓および血液試料を採取した。偽手術を行ったラットでは、迷走神経を露出させたが、触れたり操作したりしなかった。

HPLC 分析

【0133】

血清試料を前処理なしで機械に直接注入した。組織ホモジネートを最初に 0.1 M 過塩素酸でホモジナイズし、15 分間遠心分離した後、上清を分離し、試料を HPLC に注入した (Dhir & Kulkarni, 2007)。

【0134】

カテコールアミン (ノルエピネフリン / エピネフリン) を、インライン紫外線検出器を備えた高速液体クロマトグラフ (HPLC) で分析した。この分析に使用した試験カラムは、Supelco Discovery C18 (内径 15 cm × 4.6 mm、粒径 5 μm) であった。二相移動相は [A] アセトニトリル: [B] 50 mM KH₂PO₄ を含み、(リン酸を用いて) pH 3 に設定した。次いで溶液を 100 mg / L の EDTA および 200 mg / L の 1 - オクタンスルホン酸で緩衝した。移動相混合物の最終濃度は 5 : 95、A : B に設定した。1 mL / 分の流速を用いて全体のピーク分離能を改善しながら、カラムを一定の 20 に保持して、利用した移動相の粘度から生じるカラムの圧力圧縮を最小限にした。UV 検出器は、ノルエピネフリン、エピネフリンおよびドーパミンを含むカテコールアミンに対する吸収を捕捉することが知られている波長 254 nm に維持した。

超音波調節分子シグナル伝達経路の化学的障害

【0135】

上記の超音波刺激手順を実行する前に、機械対直接神経刺激 (および軸索外細胞シナプスの神経対非神経成分の優先的調節)、SRC 障害剤 (直接機械受容器の共通マーカー) または PI3K 障害剤 (神経シグナル伝達の共通マーカー) の影響をさらに調査する。

組織抽出とパラフィンブロック変換:

【0136】

組織 (ラットの脳) を直ちに固定液に入れ、10 % ホルマリン中 4 で約 24 時間固定する。

次のプロトコルで (各インキュベーション中に真空と圧力で) 組織を処理する。

- a. 70 % エタノール、37、40 分
- b. 80 % エタノール、37、40 分
- c. 95 % エタノール、37、40 分
- d. 95 % エタノール、37、40 分
- e. 100 % エタノール、37、40 分
- f. 100 % エタノール、37、40 分
- g. キシレン、37、40 分

h . キシレン、37、40分

i . パラフィン、65、40分

j . パラフィン、65、40分

k . パラフィン、65、40分

l . パラフィン、65、40分は、包埋の準備ができるまでこのパラフィンに入れたままにする。ただし、12～18時間を超えないこと。

切出しのためにパラフィンブロックに包埋し、切出し前にブロックを冷却/固化させる。厚さ5ミクロンに切出し、採取のために50の水浴上に浮遊させる。正電荷を帯びたスライドガラスを使用し、全てのスライドガラスについて同じ向きに組織を配置するように努める。スライドガラスを風乾させる。一晚室温におくことが乾燥させるのに最善のようであるが、スライドガラスを40のスライドウォーマーの上に置いて乾燥工程を早めることができる。ただし、スライドガラスをウォーマー上に1時間以上放置しないこと。スライドガラスを4で保存する。

IHCプロセス

【0137】

ホルマリン固定パラフィン包埋(F F P E)組織試料(ラット脳)を65で1時間焼成した。スライドガラスをキシレンで脱パラフィン化し、低下したエタノール濃度で洗浄することによって再水和し、次いで抗原検索のために処理した。特にF F P E組織との多重化のために2段階の抗原検索法を開発し、同じ試料(2)に対して異なる抗原検索条件を有する抗体を共に使用することを可能にした。次に試料を0.3%トリトンX-100を含むPBS中で周囲温度で10分間インキュベートした後、1×PBS中10%(wt/vol)ロバ血清および3%(wt/vol)BSAを用いて45分間室温で非特異的結合をブロックした。一次抗体c F O S (santa cruz - SC52)を最適濃度(5μg/mL)に希釈し、PBS/3%(vol/vol)BSA中、室温で1時間適用した。次に、試料をPBS、PBS - Triton X - 100、その後再びPBSで、10分間、それぞれ攪拌しながら洗浄した。二次抗体検出の場合、Cy3またはCy5のいずれかに結合した一次抗体種特異的二次ロバIgGと共に試料をインキュベートした。次にスライドガラスを上記のように洗浄し、5分間DAPI(10μg/mL)中で染色し、PBS中で再度すすぎ、次いで画像取得のために退色防止媒体を載せた。全組織像を蛍光Olympus IX81顕微鏡で10倍の倍率で得た。

画像処理

【0138】

F F P E組織に典型的な自己蛍光は、自家蛍光除去プロセスを用いて標的フルオロフォアシグナルから特徴付け分離するべきであり、染色画像に加えて未染色試料の画像が得られる。未染色画像および染色画像を、それらの露光時間および暗いピクセル値(ゼロ露光時間におけるピクセル強度値)に関して正規化する。次いで、各正規化自己蛍光画像を対応する正規化染色画像から差し引く。登録されているDAPI画像とマージしたAF除去画像を写真に示す。刺激試料および対照試料中の同じ領域を画像化し、画像をc F O S発現について定性的に評価して神経活性化関連遺伝子発現の変化を検出した。

【0139】

脾臓の組織学的評価：刺激ラットおよび対照ラットからの脾臓を上記のようにパラフィンブロックに加工した。文献に報告されている標準プロトコルに従ってパラフィン包埋切片を透明にし、H&Eについて染色し、明視野オリンパススキャナーでスキャンした。H&E画像を形態学的差異について定性的に評価したところ、刺激試料と対照試料との間に有意な差異は見られなかった。

心拍数のモニタリングと分析

【0140】

(超音波または電極刺激実験中の)心拍数は、市販の赤外線オキシメーターおよび生理学的モニタリングシステム(Star Life Sciences)を使用し製造業者の説明書を用いてモニターした。刺激プロトコルの間、フットクリップセンサー(製造業

10

20

30

40

50

者によって提供された)を動物の足跡に設置した。動物は、測定前に少なくとも5分間馴化し、動物が正常な心拍数活動まで回復するのに十分な時点および対照における生理学的読み取り値を見出した。電気微小電極または超音波プローブのいずれかをを用いた刺激の前(2分の記録期間)、刺激の間、および刺激の後(2分の記録期間)の測定値をそれぞれ記録した。

超音波誘導性活性化の拡散機能的MRI測定

【0141】

神経活性化は通常、血中酸素濃度依存性(BOLD)fMRIを用いて検出し、代謝要求が増加した脳領域は、脳血流の増加、酸素化血液供給の増加、および勾配エコー信号の減少をもたらす。BOLD効果に対する感度には、高速勾配エコーの取得を用いる必要があるが、これは、副鼻腔や外耳道など、空気溜りの隣の脳領域で望ましくない信号損失を引き起こし、これらの特定の脳領域付近で神経活性化の検出を妨げる。あるいは、大きな磁場不均一性を特徴とする領域における信号損失を最小限に抑えるために、スピンエコー(またはダブルスピンエコー)拡散強調イメージング(DWI)を使用することができる。DWI-fMRIでは、遅拡散性の(おそらくは細胞内の)水プールの体積増加、または水拡散(または見かけの拡散係数(ADC))の増加の両方が、神経活性化による細胞の膨潤および膜の拡大に起因していた。

【0142】

図14のパラダイムを用いて10匹のラットに脳のMRIスキャンを行った。このうち6匹にLPS注射(上記の通り)および超音波処置の両方を行い、4匹にはLPS注射のみを行った。

【0143】

スキャンは、Doty Scientificの直角位相鳥かご型コイルを使用して、3T GE DVスキャナー(Waukesha, WI)で行った。スキャンは、T1取得で開始し、スポイル勾配エコーシーケンスを用い、0.4/1mmの面内/面外空間分解能で、10/1475msのTE/TRを用い、総取得時間は3:22分であった。6ブロックのダブルスピンエコーDWI画像(前方極性勾配、またはFPGと呼ばれる)を取得し、それぞれ、0.6/1mmの面内/面外空間分解能、82/3400msのTE/TRで、b=0/b=1000s/mm²について3/4の平均を用い、ブロック当たりの総取得時間は1:49分であった。6回の注射前DWI取得の完了時に、歪み補正の目的で、勾配の方向を逆にして別のDWI取得を実施し、この取得は逆極性勾配(RPG)取得と呼ばれる。LPS注射、1回目の超音波処置、5分間の待機時間、および2回目の超音波処置の後、他の6ブロックのFPG DWI画像を取得した。LPS注射のみを受けている対照ラットについては、最後の6つのDWIブロックがLPS注射の直後に続いた。

【0144】

超音波処置は、水で満たされた円錐体を使用して肝臓の肝門部領域(求心性神経を含む;上記の通り)に結合されたMR適合1.47MHz集束超音波トランスデューサを使用して実施した。各超音波処置は60秒間続き、その間にパルス状の正弦波超音波波形を印加した。パルスオン時間は150μsであり、パルスオフ時間は350μsであった。ラットの腹部は撮像コイルの外側にあり、動物の配置は仰向けで、カップリングゲルを使用して皮膚を通して肝臓への超音波プローブの容易なカップリングを確実にした。

データ分析と結果

【0145】

反対方向へのk空間の横断は歪みの逆転をもたらす(すなわち、圧縮が拡大に変換される)という観察に基づいて、FPG画像とRPG画像とをオーバーラップさせるフィールドマップが推定され得る。このフィールドマップ推定は、全てのボクセル変位に明示的に依存する最小二乗コスト関数を設定することによって行い、変形場の滑らかさは、各ボクセルにおける変位の勾配の二乗和を制限する正則化パラメータの導入によって制御する。このコスト関数を効率的に最小化するという数値タスクは、大きくぼやけているFPGお

10

20

30

40

50

よび R P G 画像から始めて、ぼけているガウスカーネルの幅を徐々に狭くすることによって達成される。この作業で本発明者らが行った全ての歪み補正では、このぼかしのスケジュールは 25 ピクセルのカーネル幅から始まり、2 段階で入力イメージの本来の解像度まで減少し、合計 13 回繰り返し、正則化パラメータは $\lambda_1 = 0$ 、 $\lambda_2 = 1100$ であった。要約すると、推定されたフィールドマップは、12 個の F P G および単一の R P G 取得の各々の $b = 0$ 取得を用いて最初を取得され、12 個の補正された F P G D W I 画像は、F P G シリーズの歪んだ D W I 画像にシフトを適用することによって得られる。

【0146】

歪み補正作業の成果は、T1 画像用の脳境界ボックスを設定し、解剖学的 T1 画像と機能的 D W I 画像との間のスライス毎に相互相関係数を推定することによって評価した。相互相関係数が 0.5 を超える脳切片のみを活性化領域分析に残した。

10

【0147】

図 15 は、ラットのうち 1 匹における補正後の T1 / D W I 画像の例をスライス毎の相互相関係数と共に表示し、活性化分析のために保持されるスライスは赤で強調表示されている。

【0148】

12 個の補正された D W I データセットのそれぞれについて、見かけの拡散係数は以下のようにピクセル毎に決定した。

$$ADC = \ln \left(\frac{S(b_1)}{S(b_2)} \right) / (b_2 - b_1)$$

20

ここで、 $b_1 = 0$ 、 $b_2 = 1000 \text{ s/mm}^2$ であり、 $S(b_i)$ は i 番目の b 値における信号強度を表す。

【0149】

2 つの条件（処置前および処置後）の各々について、6 つの A D C マップをまとめてビン化し、t 検定をピクセル毎に行って、超音波エネルギー印加の結果として平均シグナルが有意に増加または減少した（神経活性化の非活性化変化に対応する）領域を同定した。

30

【0150】

解剖学的活性化領域を識別するために、並進、回転およびスケーリング（9 自由度）のみを使用して、脳の境界を整列させる I T K S n a p 登録ツールを使用して、各ラットの解剖学的 T1 画像とラット脳アトラスとの手動登録を行った。次いで、これらの補正され解剖学的に整列された画像を使用して、L P S 処置ラットにおいて肝超音波神経調節に回答して活性化された脳の領域を決定した。

2. 実験結果

【0151】

対照として、膝窩リンパ節に進入する坐骨神経からの神経をラットで刺激した。双極電極を使用して、200 マイクロ秒の 20 H z の刺激周波数（平衡二相パルス）を用いた一定範囲の印加電流で 5 分間刺激した。刺激後、リンパ節を摘出し、単一細胞懸濁液に解離させ、次いで H e m a v e t 細胞計数器を使用して分析した。直接刺激した膝窩リンパ節、反対側の膝窩リンパ節、および腋窩リンパ節について、解離組織の 1 立方ミリリットル当たりのリンパ球細胞数をプロットした。リンパ球数は刺激したリンパ節においてのみ統計的に増加した。結果を図 16 に示す。本明細書で提供されるように、標的化された方法で組織内の対象領域にエネルギー、例えば超音波エネルギーを印加することは、図 16 に示すように直接電気刺激と比較してより標的化された結果を達成し得る。

40

【0152】

50

電気刺激とは対照的に、膝窩リンパ節内の細胞および神経終末は、リンパ節をパルス正弦波形の形態の超音波エネルギーに曝露することによって刺激した。使用した超音波パラメータは以下の通りであった。

周波数：1．1 MHz

パルス長：136 μ s

パルス繰り返し間隔：500 μ s（27%デューティサイクル）

総超音波照射時間：1分

焦点での推定陽圧：5 MPa

焦点での推定負圧：-2 MPa

トランスデューサの幾何学形状：中心開口部を使って球状に焦点を合わせる

トランスデューサ外径：約70 mm

トランスデューサ中央開口部直径：約20 mm

焦点距離：約54．8 mm（Fナンバー約1）

焦点スポット領域：直径1．8 mm、長さ11．7 mmのほぼ楕円形

10

【0153】

刺激後、刺激された（および他の）リンパ節を切除し、細胞計数器を使用して調べた。図17に示すように、刺激されたリンパ節のみがリンパ球の増加を示した。超音波刺激リンパ節における神経伝達物質レベルは、電気刺激リンパ節と比較して異なっていた。しかしながら、リンパ球についての細胞計数データは、超音波刺激リンパ節および電気刺激リンパ節の両方で類似していた。リンパ球流出の局所的な調節（遠心性神経線維を介する）に加えて、リンパ節に進入する神経の電気刺激は、肝臓および脾臓の免疫細胞濃度に遠位効果を及ぼすことが見出された。

20

【0154】

図18は、超音波刺激リンパ節における神経伝達物質濃度の結果を示す。エピネフリンとドーパミンは超音波刺激リンパ節で上昇した。

【0155】

図19は、リンパ節超音波刺激の遠位効果としての脾臓中のノルエピネフリン、エピネフリン、ドーパミンおよびアセチルコリン濃度の結果を示す。

【0156】

図20は、未刺激動物の対照群と比較した、超音波刺激動物の脾臓中のサイトカイン（TNF）濃度の結果を示す。図21Aはノルエピネフリン濃度を示し、図21Bはアセチルコリン濃度を示し、図21Cは超音波刺激後の脾臓中のTNF- α 濃度を用量依存的に示す。図22は、脾臓の超音波刺激後の循環（すなわち、血液）TNF- α 濃度を示す。

30

【0157】

図23は、LPS処置動物の対照群対超音波刺激およびLPS処置動物の肝臓からの結果を示す。

【0158】

図24は、脾臓超音波処置の異なる時間平均強度について、対照と比較した脾臓サイトカインの変化を示す表である。評価したサイトカインは、コリン作動性抗炎症経路の指標となり得るサイトカイン、およびその他の関連性のないサイトカインである。TNF- α （コリン作動性抗炎症経路（CAP）関連サイトカイン）については、偽対照と比較した変化の減少が全ての時間平均強度にわたって観察された。対照的に、IFN- γ （CAPとは無関係のサイトカイン）は、より高い時間平均強度で観察された減少を示した。結果は、ある範囲の時間平均強度での脾臓の超音波調節が、CAP活性化bに特異的に関連するサイトカイン濃度の対応する減少をもたらし得ることを示す。したがって、本明細書で提供されるように、目標とする生理学的結果は、サイトカイン濃度の減少、例えば、少なくとも1 mW / cm²の時間平均強度から30,000 mW / cm²の時間的強度への調節の結果としてのTNF- α 濃度またはIL-1濃度の減少であり得る。特定の実施形態では、TNF- α 濃度またはIL-1濃度の対応する減少に関連して脾臓の対象領域に印加されるエネルギーを使用して、慢性炎症、例えば関節炎を治療することができる。

40

50

【0159】

図25は、脾臓の超音波処置の異なるピーク圧力についてLPS処置対照と比較した、二次メッセンジャー分子のリン酸化状態の変化率を示す。結果は、脾臓における超音波処置が組織内の異なる細胞型にわたる複数の経路を調節することを示している。それにもかかわらず、経路のうちの1つ（または異なるセット）に対してより標的化された効果を有する調節パラメータが見出され得る。示されるように、脾臓の超音波調節については、異なるピーク圧力にわたるp-p38リン酸化は応答におけるtTNF濃度の変化と共に変化し、一方、他の経路は印加される超音波圧力に関して単調に増加または減少する傾向を示す。

【0160】

図26は、経路遮断処置の状況における、刺激されたLPS処置動物の群についてのTNF- α の脾臓濃度を示す。BTXはアセチルコリン受容体の化学的遮断薬であり（インテグレート細胞で神経経路を遮断する）、PP2はSrcキナーゼ阻害剤であり、LYはPI3キナーゼ阻害剤であり、PD98059はMAPKキナーゼ阻害剤である。図27は、経路遮断処置の状況における、刺激されたLPS処置動物群についてのノルエピネフリンの脾臓濃度を示す。図28は、迷走神経切断または経路遮断で処置された動物と比較した、刺激されたLPS処置動物群について、TNF- α の脾臓濃度を示す。図29は、LPS処置と組み合わせた超音波処置後の様々な時点におけるTNF- α の脾臓濃度を示す。効果は3時間後に逆転し始める。

【0161】

図30は、将来の免疫/炎症傷害に対する超音波処置の保護効果を実証するために用いられた超音波処置後のLPS処置についての実験的タイムラインである。超音波処置は、ノルエピネフリンのLPS関連低下およびその後のCAPの活性化に対して保護することによって、処置後数時間のLPS免疫誘発に対して少なくとも部分的な保護効果を提供するとみられ、保護効果は30分間隔で最大であるが、1～2時間で安定する。図31は、図30のタイムラインに従った、超音波およびLPS処置後の様々な時点でのTNF- α の脾臓濃度を示す。TNF- α のLPS関連増加に対する防御による免疫傷害に対する超音波処置の保護効果は、未処置動物（すなわち、LPSまたは炎症性傷害のない動物）におけるよりも大きく、LPS-対照（すなわち、超音波なし）対照と比較してTNF産生が減少した。したがって、本明細書で提供されるように、脾臓への非侵襲的または低侵襲的エネルギー印加は、炎症性傷害または慢性炎症（単一の超音波調節からの保護は長期間にわたって保護的であるため）に対して保護するために使用され得る。

【0162】

図32は、非侵襲的超音波刺激対侵襲的頸部迷走神経電極刺激動物についてのTNF- α の脾臓濃度を示し、図33は、FUSコーンの中に直接画像トランスデューサをセンタリングすることにより、図32の超音波処置の対象領域および超音波配置を識別するために使用される超音波画像である。刺激およびLPS処置は、本明細書に一般的に提供されているように実施した。非侵襲的超音波刺激は、完全に非侵襲的に行われ、侵襲的超音波処置（上記の結果）または侵襲的電極処置（示す通り）と比較して同様の結果（LPS関連TNF- α 増加の逆転）が得られた。

【0163】

図34は、制御電気刺激の実験設定を示す。図35Aは、LPS処置の状況における、非侵襲的超音波刺激動物対電極刺激対照動物についてのTNF- α の脾臓濃度を示し、電極刺激は図34の設定に従って行った。図35Bは、LPS処置の状況における、非侵襲的超音波刺激動物対電極刺激対照動物の血糖濃度を示し、電極刺激は図34の設定に従って行った。超音波刺激および電気刺激は、LPS誘導性TNF濃度に同じ効果を及ぼした。LPSは高血糖症を引き起こすことも知られている（LPS対照、図35B参照）。LPS誘導性高血糖は、（未知の経路によって）VNSによって無効にされることが以前に示されており、これは、VNSコリン作動性抗炎症経路刺激を試みるという観点から見れば「標的外」効果である。しかしながら、超音波コリン作動性抗炎症経路刺激はグルコー

10

20

30

40

50

スに対して標的外効果を生じない。したがって、コリン作動性抗炎症経路超音波刺激は、VNS（または他の不正確な電気神経刺激技術）と比較して、特定の臨床状況において有益であり得、臓器に基づく軸索外細胞シナプス超音波調節はより正確に本明細書に示される。

【0164】

図36は、実験中に動物の足に設置した市販の非侵襲的光心拍数プローブを使用して測定された、非刺激動物と比較した心拍数に対するVNS電極刺激対超音波脾臓神経調節の効果を示す。心拍数の変化率は、非刺激動物と比較した心拍数の変化である。やはり、電気刺激は潜在的な標的外効果（すなわち心拍数の調節）を有することが示され、臓器ベースの軸索外細胞シナプス超音波調節はこの標的外効果（すなわちCAP活性化以外の効果）を有さない。

10

【0165】

図37Aは、対照と比較した、血糖に対する肝門部下の超音波肝調節の効果を示す。肝門部は、グルコース感知ニューロンを有することが知られている部位であり、前述のグルコースに対する標的外VNS効果の起点部位であると仮定された（すなわち、VNSは、CAP経路に加えてこの領域からの求心性神経も刺激した）。図37Bおよび図37Cは、代謝およびグルコース利用に関与する様々な分子の肝臓濃度に対する超音波肝調節の効果を示す。肝臓ではインスリンの変化のみが観察された。しかしながら、インスリンは肝臓では産生されず、他の部位からそこに輸送され、局所肝門部肝刺激の結果としてのインスリン産生およびグルコース代謝に対する全身的影響を示している。

20

【0166】

図38A～図38Cは、様々な分子の脳内濃度に対する超音波肝門部肝調節の効果を示す。視床下部は、体全体にわたるグルコース調節に関与する領域を有することが知られている。肝臓求心性神経はこれらの部位へのPNS制御経路であるとみられ（そして感覚神経/肝臓液軸索外細胞シナプスの神経調節は神経経路を介したシグナル伝達の変化を引き起こす）。したがって、本明細書で提供されるように、肝臓へのエネルギー（例えば、超音波エネルギー）の直接の印加は、グルコース調節に関連する障害を治療するために使用され得る。そのような障害には、肥満、糖尿病関連認知症、摂食障害、糖尿病、低血糖または高血糖などが含まれ得る。特定の実施形態では、高血糖は血中300mg/dL超のグルコース濃度であり、成功した目標とする生理学的結果は血中220mg/dL超のグルコース濃度である。治療は、視床下部組織に目標とする生理学的結果を誘導するために、肝臓内の対象領域にエネルギーを印加することを含み得る。一実施形態では、目標とする生理学的結果は、ベースライン（例えば、エネルギー印加前）と比較した視床下部組織におけるpIRS-1、pAKT1/2、ノルエピネフリン、エピネフリン、および/またはNPYの変化である。

30

【0167】

図39Aは、グルコース濃度に対する肝臓内の様々な位置での超音波肝臓調節の効果を示し、図39Bは、図39Aの対象となる標的領域の調節位置を示す。グルコース濃度に対する超音波調節効果は、対象領域、すなわち刺激部位の位置に依存する。肝門部での刺激後にグルコースの変化が最も顕著であり、左葉の刺激は最も低い観察された変化を示した。したがって、特定の実施形態では、目標とする生理学的結果を誘導するための肝臓内の対象領域にエネルギーを印加することは、肝左葉ではなく肝門部へのエネルギーの印加を含み得る。図40は、LPS処置動物における脾臓超音波刺激は、肝臓の超音波刺激後に見られるグルコース濃度に対して観察された効果をもたらさないことを示し、この効果が刺激部位に特異的であることを示している。

40

【0168】

図41Aは、対照に対するLPS処置動物および超音波刺激動物における視床下部NPY濃度を示す。図41Bは、対照に対するLPS処置動物および超音波刺激動物における視床下部POMC濃度を示す。データは、肝超音波刺激が視床下部内の全ての代謝制御経路を活性化または調節するわけではなく、特定の経路およびニューロン型に特異的である

50

ことを示している。

【0169】

図42Aは、非刺激LPS偽動物からの冠状切片および免疫組織化学/染色像を示し、図42Bは、肝臓刺激LPS処置動物からの冠状切片を示す。刺激LPS処置動物では、非刺激LPS偽動物と比較して、腹内側視床下部(VMH)、弓状(ARC)核においてcFos陽性細胞の有意な減少が観察され、外側視床下部(LH)において中等度の減少が観察された。刺激LPS処置動物では、非刺激LPS偽動物と比較して、海馬(Hc)中のcFos陽性細胞の有意な増加も、海馬固有(CA1、CA2、CA3)領域における明確な増加を伴って観察された。拡散MRIは、海馬における超音波後のADC信号の増加を示す(図示せず)。視床下部では反対のことが起こり、拡散は、非刺激動物(図44)と比較して、超音波刺激の前の方が大きい(図43)。cFos染色はdMRI研究の結論を支持するように思われる。したがって、本明細書で提供されるように、目標とする生理学的結果は、脳への神経シグナル伝達の変化、ならびに連絡および/または効果領域内の遺伝子発現の効果であり得る。図45Aは、対照海馬におけるcFOSおよびGluT1染色を示し、図45Bは、刺激された海馬におけるcFOSおよびGluT1染色を示し、肝臓超音波刺激が視床下部を超えた上流部位に影響を及ぼし、認知への影響など、さらに(グルコース調節および代謝を超えて)影響を及ぼし得ることを示している。図45Cは、図45Aの画像対図45Bの画像の蛍光染色RFUを示す。

10

【0170】

図46は、経路遮断薬で処置したLPS処置動物における肝臓刺激後の海馬ノルエピネフリンを示す(脾臓遮断実験とは異なり、肝超音波神経調節に対する遮断効果を示さない)。これらの結果もまた、超音波調節が異なる軸索外細胞シナプス標的において特異的な効果を有することを示す。図47は、LPS処置動物における糖尿病薬標的のアゴニスト(AICAR; AMPキナーゼ活性化剤)で処置した後の海馬ノルエピネフリンを示し、陽性対照として働き、肝臓超音波処置と比較して同様の効果を示している。したがって、肝臓超音波処置は、糖尿病関連経路を標的とするために使用され得る。

20

【0171】

図48は、超音波神経調節の前後に、神経調節中の組織変位が基準超音波撮像信号でどのように追跡され得るかの概略図を示す。超音波プローブは、1)画像化、2)変位の測定、および3)刺激のために使用されてもよい。組織の変位を使用して、超音波刺激による組織の動きのレベル(したがって、標的の軸索外細胞シナプスの伸張活性化タンパク質またはイオンチャネルを活性化する確率)を評価することができる。すなわち、異なる肥満度指数(および印加する超音波エネルギーを減衰させる可能性がある超音波プローブと神経調節標的との間の組織の異なる厚さ)を有する被験体については、(神経調節部位における)組織変位の直接測定を使用して、神経調節の成功の可能性を測りそれに応じて超音波パラメータを調整することができる。例えば、基準パルスを用いて組織変位を測定することができる。

30

【0172】

図49は、脾臓刺激部位から得られたせん断波測定値を示し、図50は、脾臓刺激部位から得られた変位測定値を示す。D変位測定を行い、目標とする生理学的結果到達のフィードバックのために使用することができる。例えば、フィードバックは、少なくとも1つの撮像フレーム内で最小閾値に到達し、変位曲線下面積などに基づいて特定の総変位値を達成することであり得る。

40

【0173】

図51は、低減された超音波臨床効力で処置した動物における脾臓ノルエピネフリン濃度を示す。図52は、低減された超音波臨床効力で処置した動物における脾臓TNF- α 濃度を示す。図53は、低減された超音波臨床効力で処置した動物における血中ノルエピネフリン濃度を示す。図54は、低減された超音波臨床効力で処置した動物における血中TNF- α 濃度を示す。低減された臨床効力は100%の臨床効力に比例している。

【0174】

50

図 5 5 ~ 図 5 8 は、一度に 3 0 秒または 1 5 秒実施される 8 0 0 パルスの修正パルスシーケンスを用いた脾臓の超音波刺激からの結果を示し、一度に全て実施される 8 0 0 サイクルと同じ効果を示している。図 5 5 は、修正パルスシーケンスで処置した動物における脾臓 T N F - α 濃度を示す。図 5 6 は、修正パルスシーケンスで処置した動物における脾臓 ノルエピネフリン濃度を示す。図 5 7 は、修正パルスシーケンスで処置した動物における血中 T N F - α 濃度を示す。図 5 8 は、修正パルスシーケンスで処置した動物における血中 ノルエピネフリン濃度を示す。

【 0 1 7 5 】

図 5 9 は、機械的振動エネルギーを脾臓に印加した後の対照と比較した脾臓 ノルエピネフリン濃度を示し、図 6 0 は、機械的振動エネルギーを脾臓に印加した後の対照と比較した脾臓 T N F - α 濃度を示す。機械的振動エネルギーは、シェーカー（モデル S 5 0 4 ）および増幅器（B A A 6 0 ）で構成される T I R A G m b H 製の T I R A V i b r a t i o n S y s t e m M o d e l T V 5 0 0 1 8 を使用して発生させた。シェーカーの先端は脾臓表面に直接接触させた。図 5 9 および図 6 0 は、機械的振動エネルギーが超音波エネルギーと同様の方法で特定の標的軸索外細胞シナプスを調節することを示す。

10

【 0 1 7 6 】

本明細書で提供されるのは、対象となる標的領域の直接的かつ集束的な刺激に基づく神経調節のための技術である。対象となる標的領域は、非神経細胞または体液と共に軸索外細胞シナプスを形成する複数の種類の軸索終末を有する体内の任意の組織または構造であり得る。一例では、対象領域は、脾臓またはリンパ節などの免疫器官または構造内であってもよい。リンパ組織の神経調節は、排液速度および / または排液中の細胞集団を変化させる可能性がある。免疫細胞とリンパ節のリンパ管区画を神経支配する神経が共存しているために、神経伝達物質の放出はリンパ機能と免疫機能の両方に同時に影響を及ぼす可能性があり、したがって、リンパ機能の観察可能な変化（すなわち、非侵襲的撮像技術を用いたリンパ組織の容易に観察可能なサイズおよび / または流れの変化）を、目標とする生理学的結果として、および免疫細胞神経調節の代用尺度（すなわち、局所神経伝達物質の放出による免疫細胞表現型における同時の変化）として使用することができる。

20

【 0 1 7 7 】

本明細書で提供されるのは、「神経免疫シナプス」または「神経免疫インターフェース」に適用され得る技術である。描かれた例は、リンパ節上の出口リンパ管に近接しているリンパ節へのエネルギーの印加に関する。これらの神経は、リンパ節を通るリンパ球の通過を変化させ得、刺激されると、リンパ球保持の増加（すなわち、リンパ節におけるより多くのリンパ球）をもたらす。出口リンパ管からのリンパ球放出を減少させるための 1 つの分子機構は、 β アドレナリン受容体を介したカップリングおよびシグナル伝達を介した c c r 7 化学受容器活性の調節である。

30

【 0 1 7 8 】

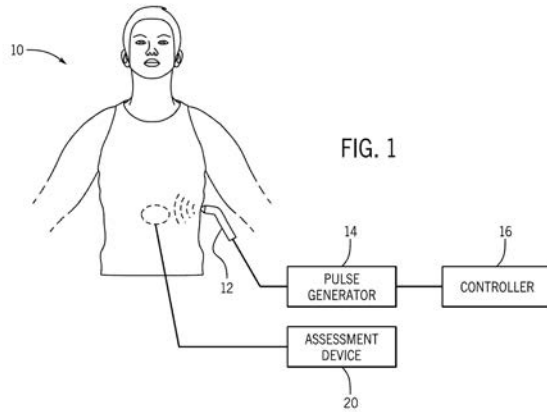
本明細書では、グルコース代謝および関連障害の治療に適用され得る技術も提供される。一実施形態では、1 つ以上の対象領域における肝臓調節を用いて、糖尿病、高血糖症、糖尿病関連認知症、肥満、または他の摂食障害もしくは代謝障害を治療することができる。

40

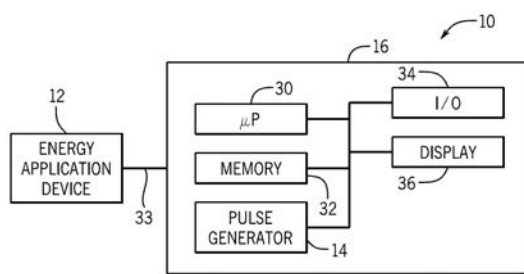
【 0 1 7 9 】

本明細書は、本発明を開示し、また任意の装置またはシステムを製造および使用すること、ならびに任意の組み込まれた方法を実行することを含めて当業者が本発明を実施することを可能にするために実施例を使用する。本発明の特許性のある範囲は特許請求の範囲によって定義され、当業者が思い付く他の例を含み得る。そのような他の例は、それらが請求項の文字通りの言語と異なる構造要素を有する場合、またはそれらが請求項の文字通りの言語とわずかに異なる同等の構造要素を含む場合、請求項の範囲内にあることが意図される。

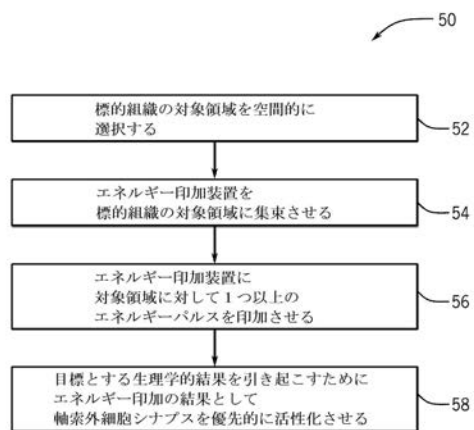
【図 1】



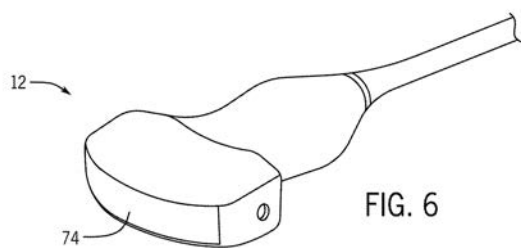
【図 2】



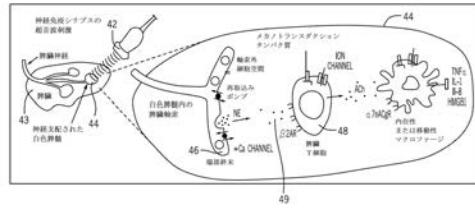
【図 5】



【図 6】



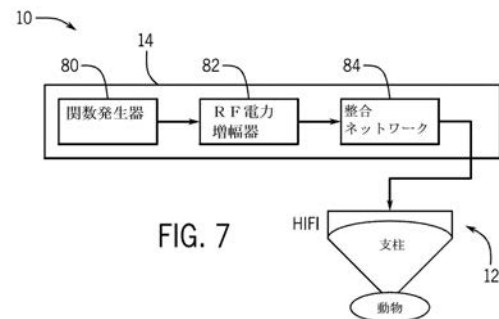
【図 3】



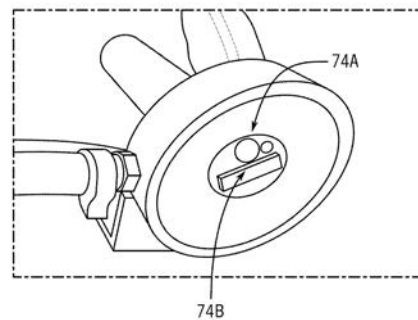
【図 4】



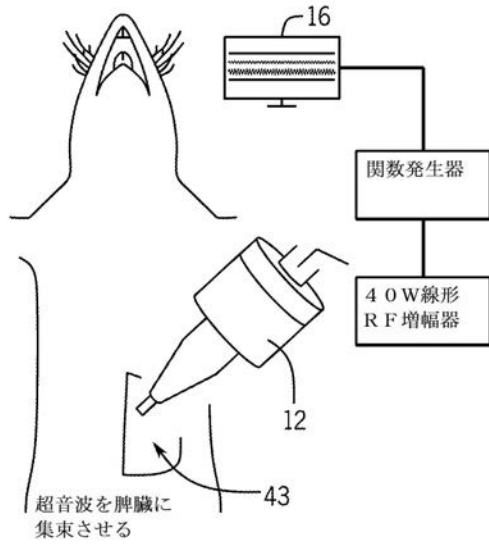
【図 7】



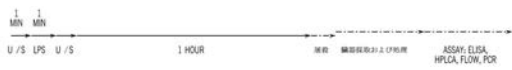
【図 8】



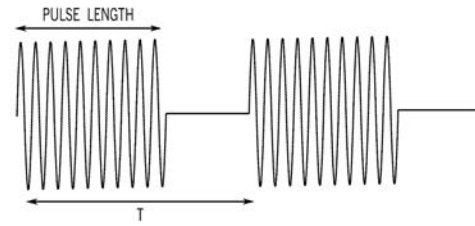
【図 9】



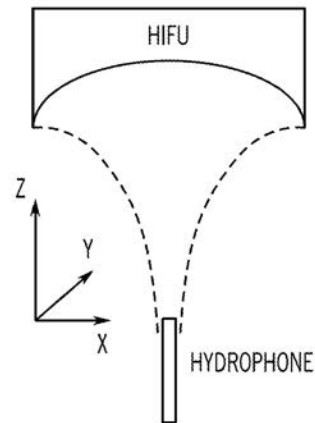
【図 10】



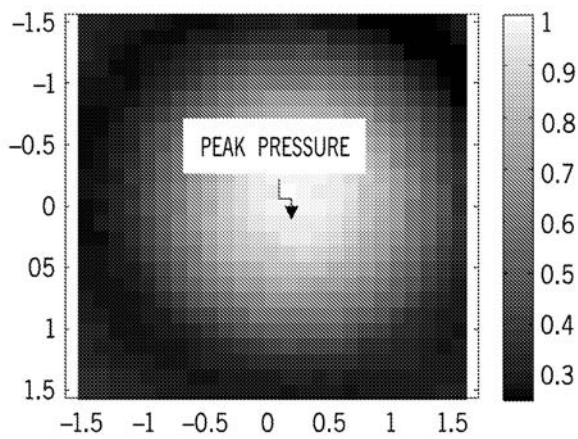
【図 11】



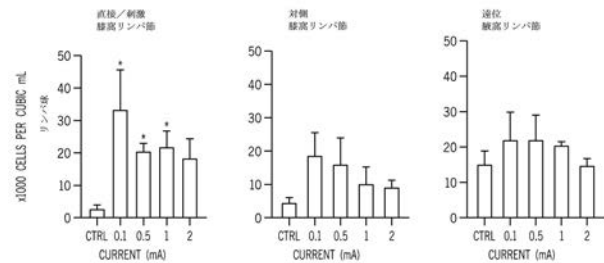
【図 12】



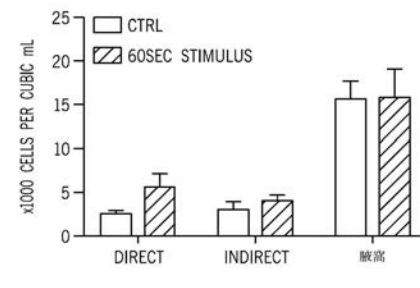
【図 13】



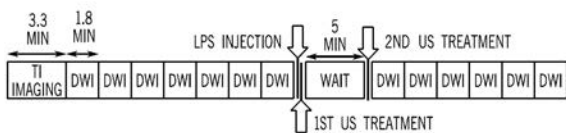
【図 16】



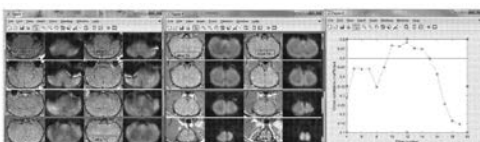
【図 17】



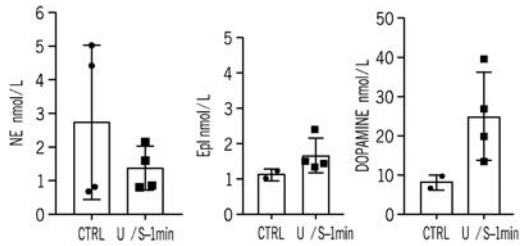
【図 14】



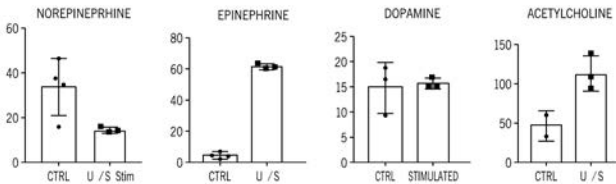
【図 15】



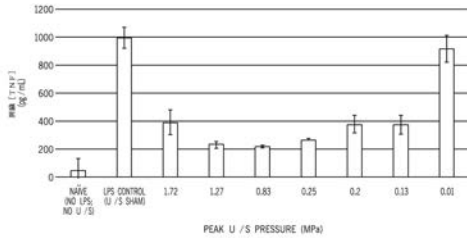
【図 18】



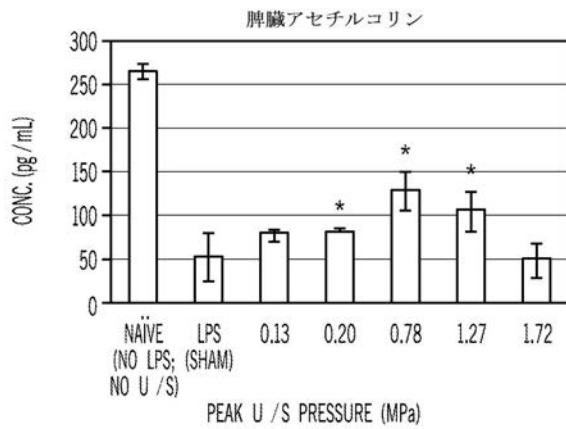
【図 19】



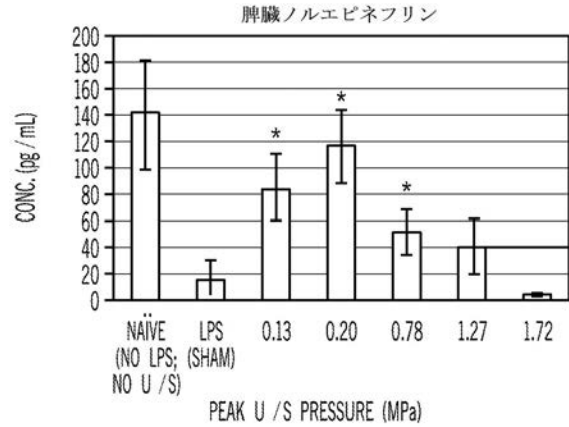
【図 20】



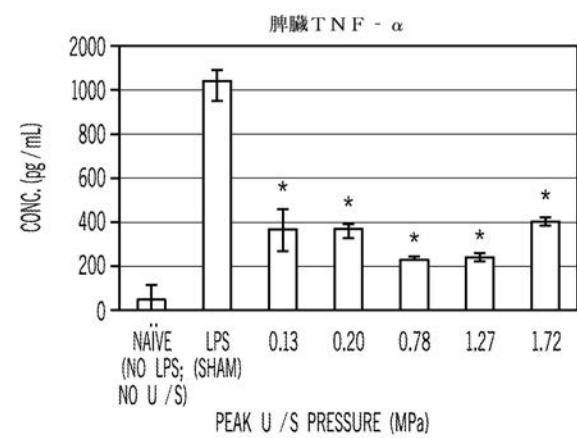
【図 21 B】



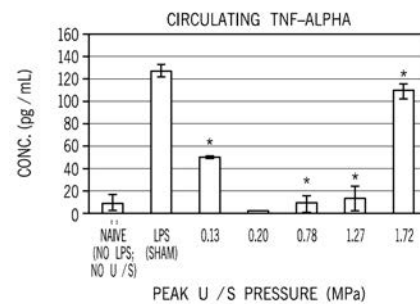
【図 21 A】



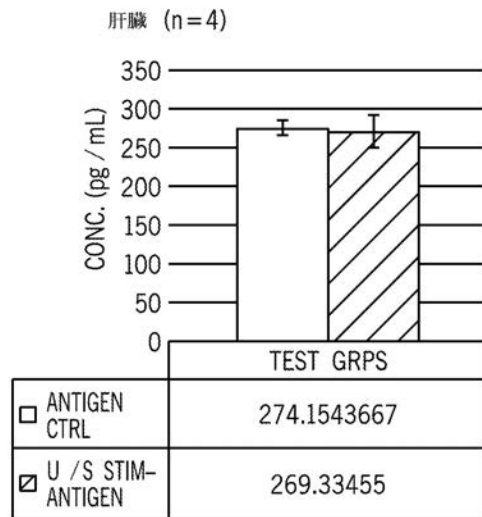
【図 21 C】



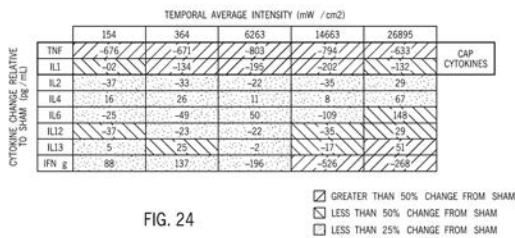
【図 22】



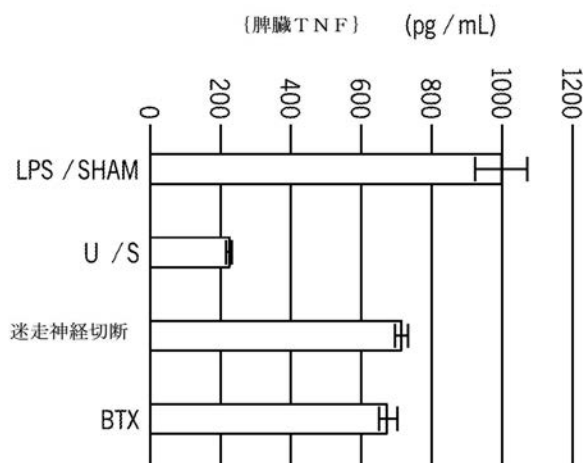
【 図 2 3 】



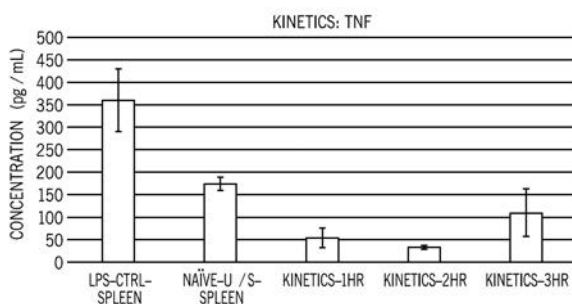
【 図 2 4 】



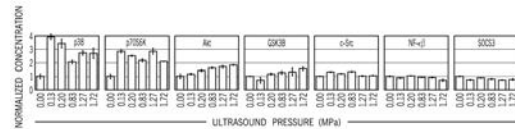
【 図 2 8 】



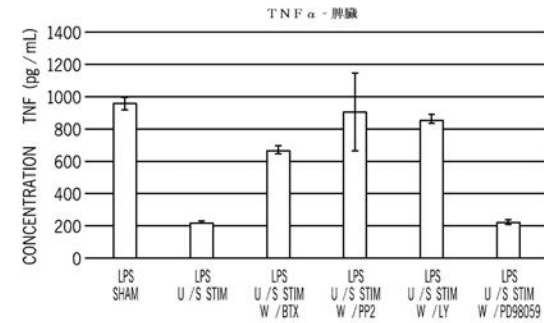
【 図 2 9 】



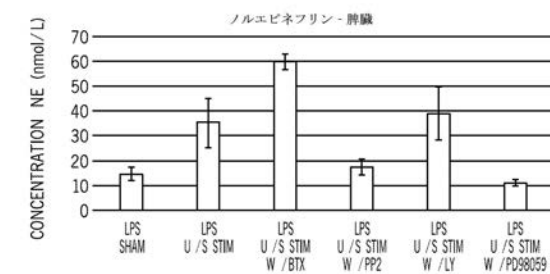
【 図 2 5 】



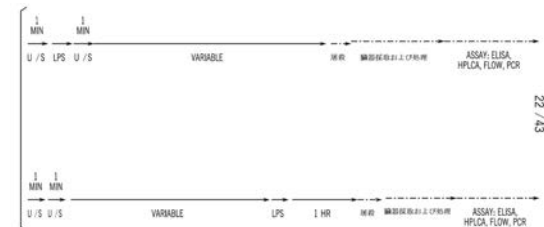
【 図 2 6 】



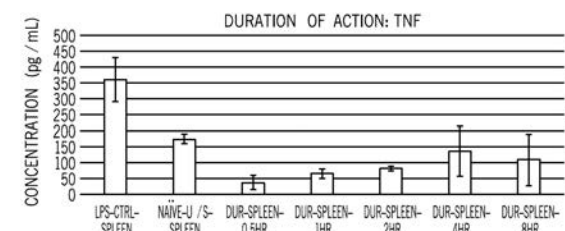
【 図 2 7 】



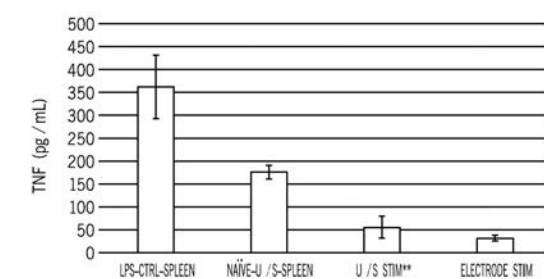
【 図 3 0 】



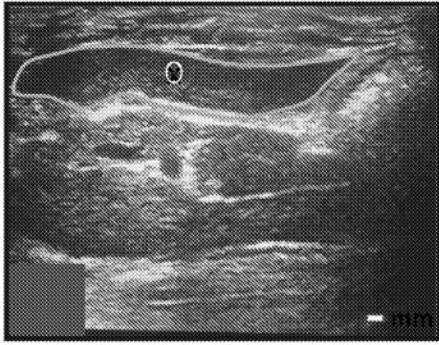
【 図 3 1 】



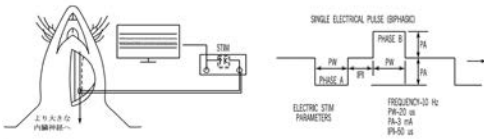
【 図 3 2 】



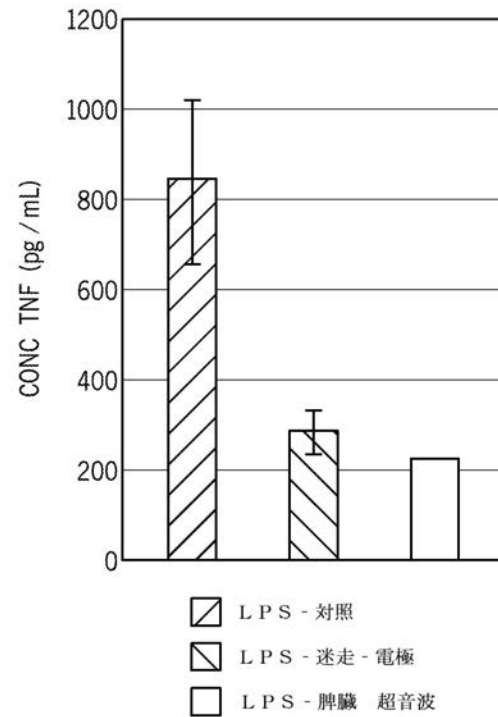
【図 3 3】



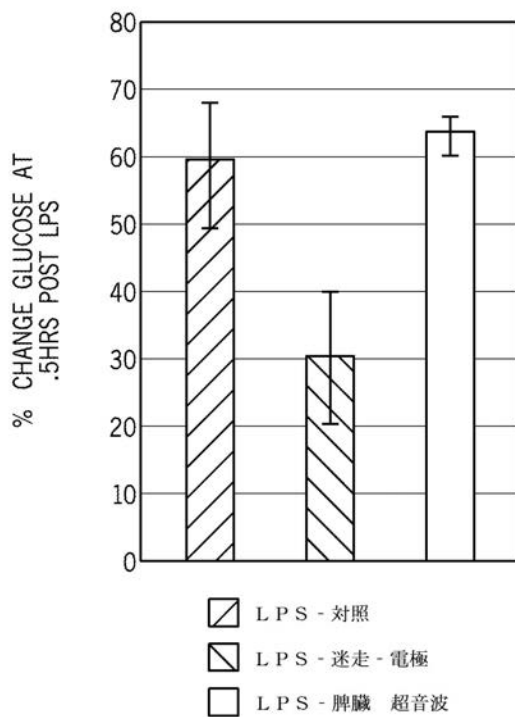
【図 3 4】



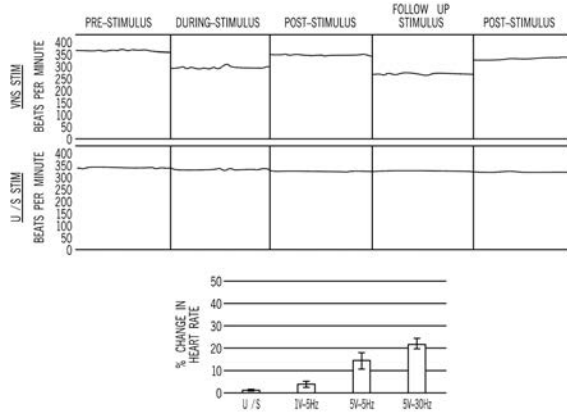
【図 3 5 A】



【図 3 5 B】



【図 3 6】



【図 3 7 A】

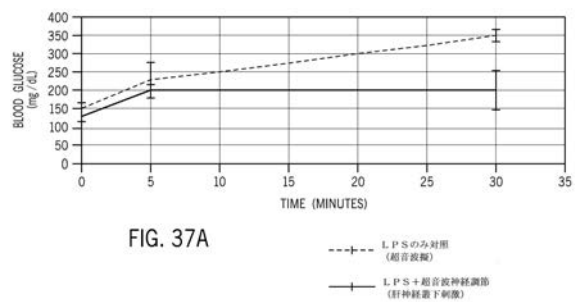
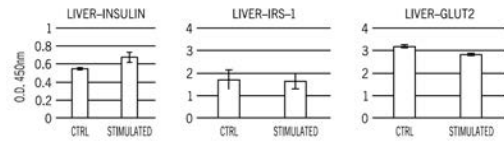
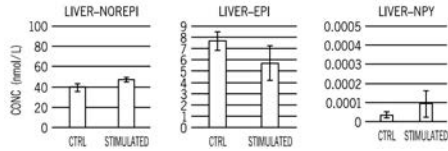


FIG. 37A

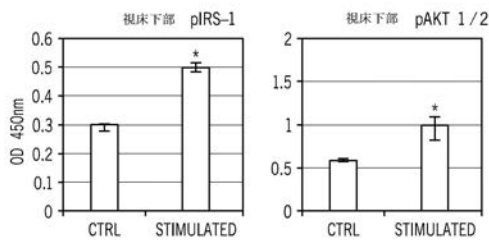
【図 37 B】



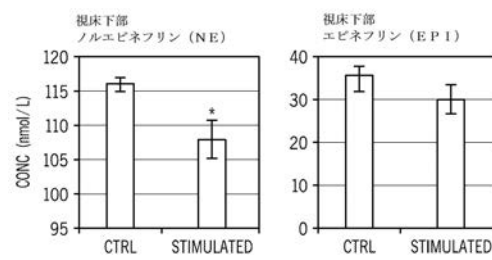
【図 37 C】



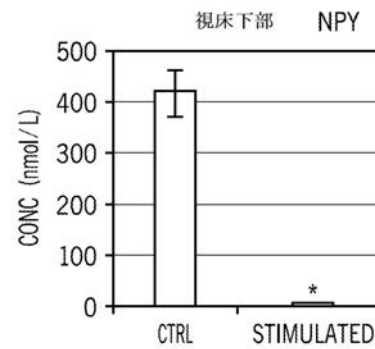
【図 38 A】



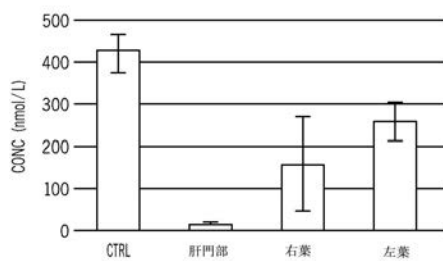
【図 38 B】



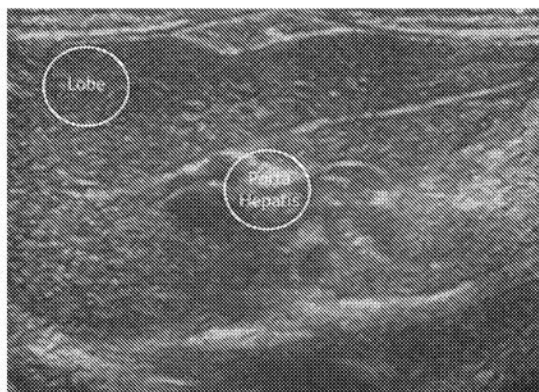
【図 38 C】



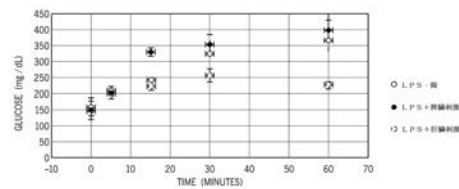
【図 39 A】



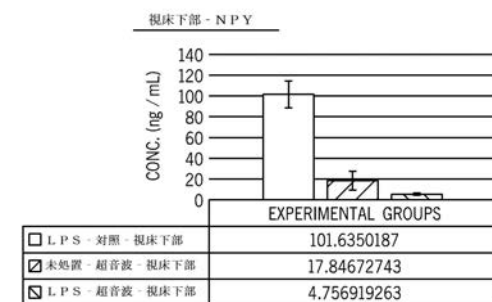
【図 39 B】



【図 40】

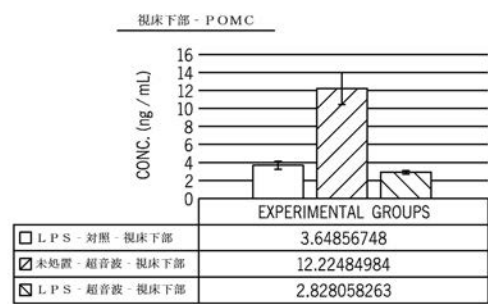


【図 41 A】

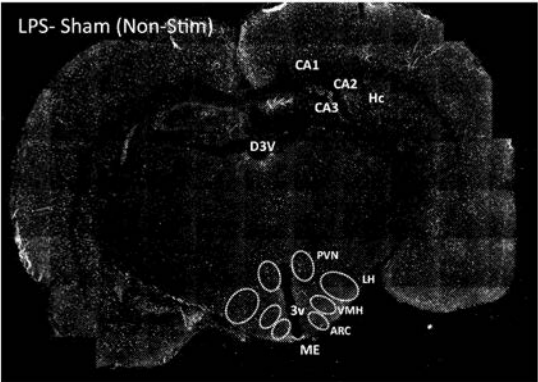


EXPERIMENTAL GROUPS	
LPS - 对照 - 視床下部	101.6350187
未処置 - 超音波 - 視床下部	17.84672743
LPS - 超音波 - 視床下部	4.756919263

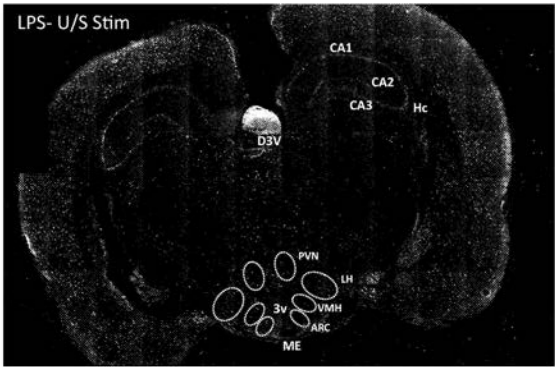
【 図 4 1 B 】



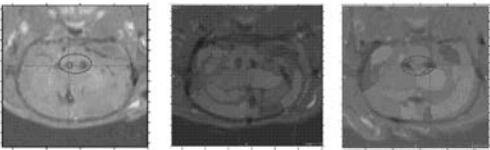
【 図 4 2 A 】



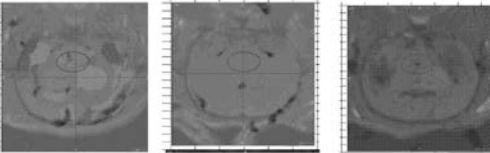
【 図 4 2 B 】



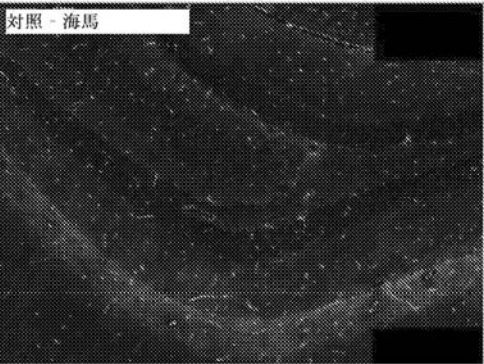
【 図 4 3 】



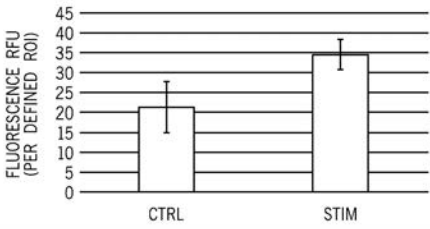
【 図 4 4 】



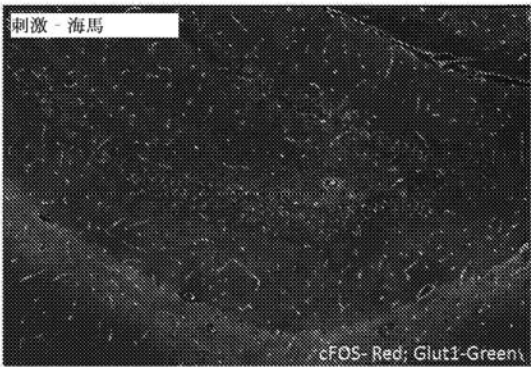
【 図 4 5 A 】



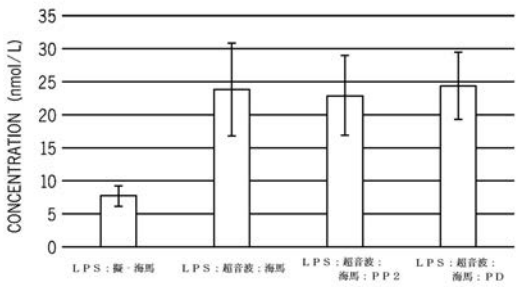
【 図 4 5 C 】



【 図 4 5 B 】



【 図 4 6 】



【 図 4 7 】

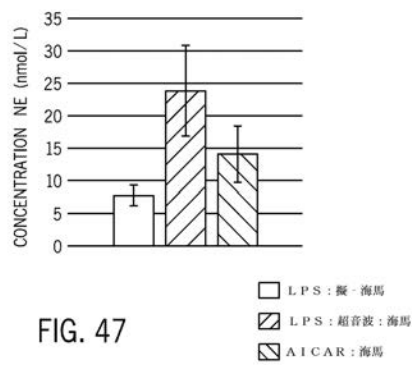
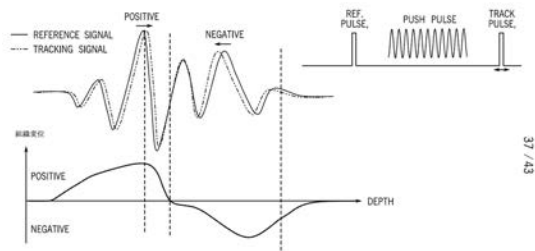
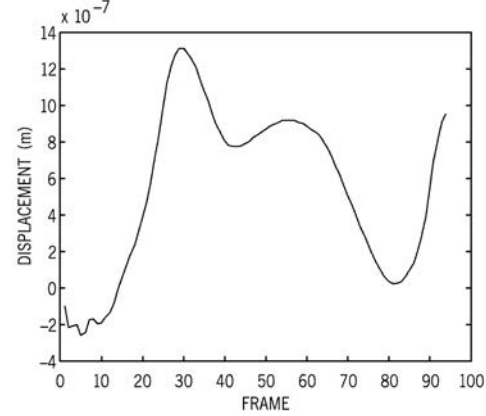


FIG. 47

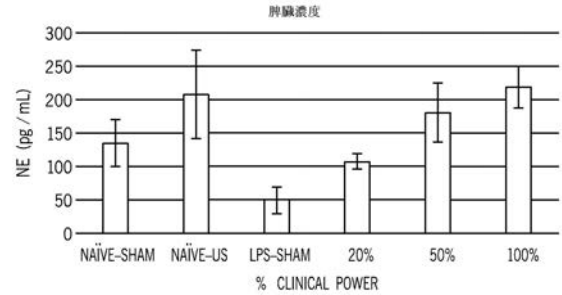
【 図 4 8 】



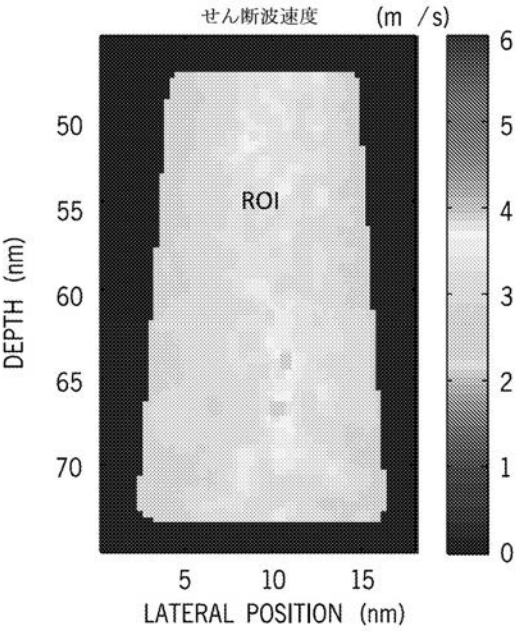
【 図 5 0 】



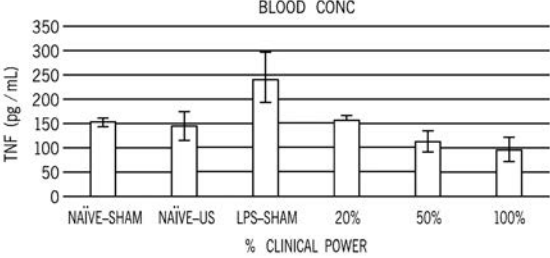
【 図 5 1 】



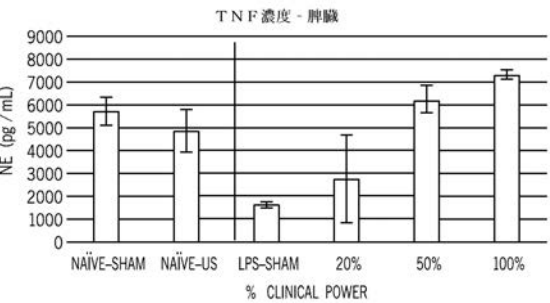
【 図 4 9 】



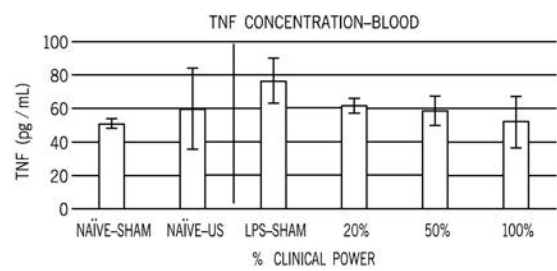
【 図 5 2 】



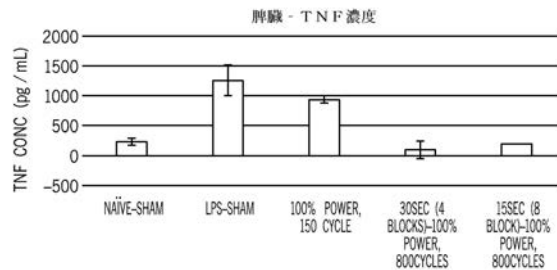
【 図 5 3 】



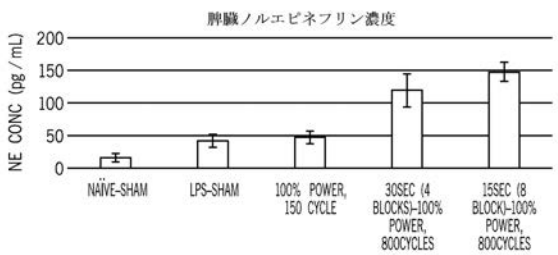
【 図 5 4 】



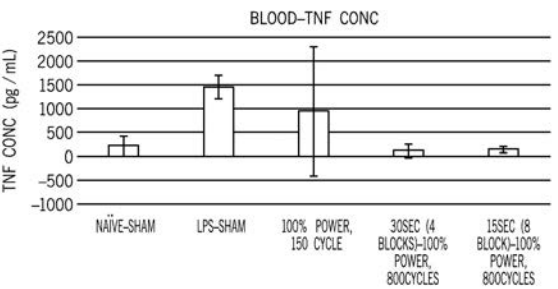
【 図 5 5 】



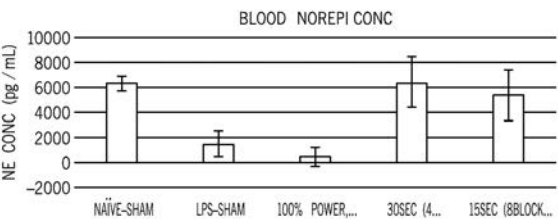
【 図 5 6 】



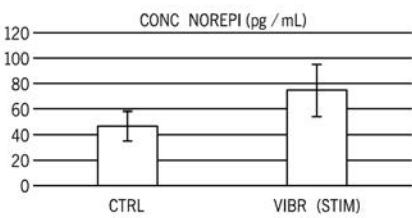
【 図 5 7 】



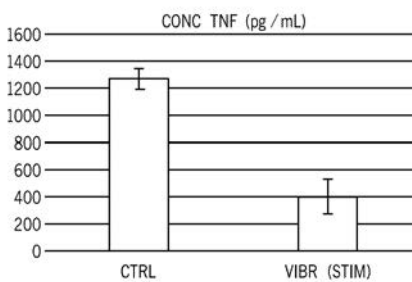
【 図 5 8 】



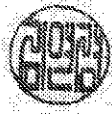
【 図 5 9 】



【 図 6 0 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2017/059394
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61B 5/00(2006.01)i, A61B 5/04(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61B 5/00; A61N 1/362; A61B 5/05; A61N 7/00; A61H 23/00; A61B 5/04		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: ultrasound, neuromodulation, neuron, axon, synapse, spleen		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2015-0025422 A1 (ARIZONA BOARD OF REGENTS FOR AND ON BEHALF OF ARIZONA STATE UNIVERSITY) 22 January 2015 See paragraphs [69]-[182], claims 80,81,88 and figure 3.	64-66, 68, 70, 71, 73
Y		1-5, 9, 15-21, 24-31, 33-36, 67, 69, 72, 74-77
A		6-8, 10-14, 22, 23, 32, 78, 79
Y	US 2015-0224348 A1 (CARDIAC PACEMAKERS, INC.) 13 August 2015 See paragraphs [44],[53],[62], claims 12,16,17 and figures 20,23.	1-5, 9, 15-21, 24-31, 33-36, 67, 72
Y	JOSEPH C. GIGLIOTTI, et al. 'Ultrasound Prevents Renal Ischemia-Reperfusion Injury by Stimulating the Splenic Cholinergic Anti-Inflammatory Pathway'. JASN. September 2013, 24, pages 1340-1342, published ahead of print 01 August 2013, ISSN 1046-6673. See pages 3,4.	9, 29, 69
Y	US 2016-0279021 A1 (ELWHA L.L.C.) 29 September 2016 See claim 1.	35
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 13 February 2018 (13.02.2018)		Date of mailing of the international search report 13 February 2018 (13.02.2018)
Name and mailing address of the ISA/KR  International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Kim, Yeonkyung  Telephone No. +82-42-481-3325

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2017/059394

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2011-0028859 A1 (CHIAN) 03 February 2011 See paragraph [86] and figure 1.	74-77

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2017/059394

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 37-63
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 37-63 pertain to a method for treatment of a human body, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required to search under PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2017/059394

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2015-0025422 A1	22/01/2015	CN 102149428 A	10/08/2011
		CN 102149428 B	08/07/2015
		CN 105126262 A	09/12/2015
		EP 2310094 A1	20/04/2011
		EP 2310094 B1	22/10/2014
		EP 2821103 A1	07/01/2015
		IL 210642 A	31/03/2011
		IL 210642 B	31/10/2016
		JP 2011-527931 A	10/11/2011
		JP 2014-239918 A	25/12/2014
		JP 5597198 B2	01/10/2014
		JP 5879402 B2	08/03/2016
		US 2011-0178441 A1	21/07/2011
		US 2014-0094720 A1	03/04/2014
		US 2016-0303402 A1	20/10/2016
		US 8591419 B2	26/11/2013
		US 8858440 B2	14/10/2014
		US 9403038 B2	02/08/2016
		WO 2010-009141 A1	21/01/2010
US 2015-0224348 A1	13/08/2015	US 2007-0191906 A1	16/08/2007
US 2016-0279021 A1	29/09/2016	KR 10-2017-0132277 A	01/12/2017
		US 2016-0279022 A1	29/09/2016
		US 2016-0279023 A1	29/09/2016
		US 2016-0279024 A1	29/09/2016
		US 2016-0279025 A1	29/09/2016
		US 2016-0279435 A1	29/09/2016
		WO 2016-160478 A1	06/10/2016
US 2011-0028859 A1	03/02/2011	None	

フロントページの続き

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72)発明者 ファン, イング
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 2 3 0 9, ニスカユナ, リサーチ サークル 1

(72)発明者 カーマレ, スイリーシャ
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 2 3 0 9, ニスカユナ, リサーチ サークル 1

(72)発明者 ワラス, カーク デニス
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 2 3 0 9, ニスカユナ, リサーチ サークル 1

(72)発明者 リグビー, ケネス ワイネ
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 2 3 0 9, ニスカユナ, リサーチ サークル 1

(72)発明者 ハンク, イリアナ
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 2 0 6 5, クリフトン パーク, アミティー ポインテ コート 1 9

(72)発明者 ロスマン, ジェイムス
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 2 3 0 9, ニスカユナ, リサーチ サークル 1

(72)発明者 カオ, ツ - ジェン
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 2 3 0 9, ニスカユナ, リサーチ サークル 1

(72)発明者 ミルス, デイビッド
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 2 3 0 9, ニスカユナ, リサーチ サークル 1

(72)発明者 アッシュェ, ジェフリー
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 2 3 0 9, ニスカユナ, リサーチ サークル 1

F ターム(参考) 4C096 AA03 AA17 AA18 AA20 AC01 AD06 AD14 BA05 BA06 BA07
BA25 BA42 BA50 BB02 BB06 BB07 BB28 DC02 DC14 DC22
DC24 DC35 FC20
4C160 JJ22 MM32
4C601 FF15 FF16 JC15

专利名称(译)	神经调节技术		
公开(公告)号	JP2019534090A	公开(公告)日	2019-11-28
申请号	JP2019522954	申请日	2017-10-31
[标]申请(专利权)人(译)	通用电气公司		
申请(专利权)人(译)	通用电气公司		
发明人	プレオ,クリストファー マイケル コテロ,ビクトリア ファン,イング カーヌマレ,スイリーシャ ワラス,カーク デニス リグビー,ケネス ワイネ ハンク,イリアナ ロスマン,ジェイムス カオ,ツ-ジェン ミルス,デイビッド アッシェ,ジェフリー		
IPC分类号	A61N7/00 A61B18/00 A61B8/08 A61B5/055		
CPC分类号	A61B5/04001 A61B5/40 A61B5/407 A61B5/418 A61B5/6823 A61B2090/378 A61N1/36014 A61N2/006 A61N2/02 A61N7/00 A61N2007/0026 A61B5/6825 A61N1/40		
FI分类号	A61N7/00 A61B18/00 A61B8/08 A61B5/055.390		
F-TERM分类号	4C096/AA03 4C096/AA17 4C096/AA18 4C096/AA20 4C096/AC01 4C096/AD06 4C096/AD14 4C096 /BA05 4C096/BA06 4C096/BA07 4C096/BA25 4C096/BA42 4C096/BA50 4C096/BB02 4C096/BB06 4C096/BB07 4C096/BB28 4C096/DC02 4C096/DC14 4C096/DC22 4C096/DC24 4C096/DC35 4C096 /FC20 4C160/JJ22 4C160/MM32 4C601/FF15 4C601/FF16 4C601/JC15		
代理人(译)	哉关口		
优先权	62/415212 2016-10-31 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

当前公开的主题通常涉及组织的神经调节，包括在组织内施加能量（例如，超声能量）以改变神经细胞和非神经细胞之间突触的活性。关于技术。[选型图]图1

