



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105813579 B

(45)授权公告日 2019.05.07

(21)申请号 201480055532.3

(22)申请日 2014.08.08

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105813579 A

(43)申请公布日 2016.07.27

(30)优先权数据
61/863,903 2013.08.08 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2016.04.08

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2014/050441 2014.08.08

(87)PCT国际申请的公布数据
W02015/021443 EN 2015.02.12

(73)专利权人 全球生物疗法有限公司
地址 美国加利福尼亚

(72)发明人 J·G·卡布雷拉阿奎诺
B·A·塞居拉帕谢科
S·马斯特森 A·罗森贝格
P·福谢 J·霍夫曼

(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
72002

代理人 左路

(51)Int.Cl.
A61B 17/12(2006.01)

(56)对比文件
US 3667471 A,1972.06.06,全文.
US 5626607 A,1997.05.06,说明书第7栏第
50-53行、第20栏第45-51行、附图33A.
US 3667471 A,1972.06.06,全文.

审查员 孙茜

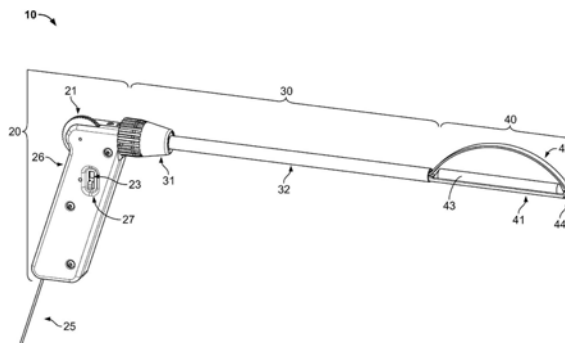
权利要求书4页 说明书103页 附图36页

(54)发明名称

用于微创手术过程的夹具装置和其应用

(57)摘要

本文提供能在微创手术包括外科手术如腹腔镜手术用于夹紧组织或器官或者一部分组织或器官的夹具装置。所述夹具装置包含细长型表面构件、在所述表面构件远端搁置在所述表面构件上的可变形部件和弹性带。所述弹性带的近端连接所述表面构件的远端，且所述弹性带与所述可变形部件形成闭合环。所述弹性带的近端设置为用于以可调节方式张紧，这样所述弹性带与所述可变形部件形成闭合环的部分可以缩短或变长。本文还提供在微创手术过程中采用本文提供的夹具装置夹紧组织或器官或其部分的方法。还提供进行微创手术的系统，包括本文所提供的用于微创手术的夹具装置和设置成进入用于微创的手术内窥镜通道的注射装置。



1. 一种用于微创手术的夹具装置,包含:
 - a) 具有近端和远端的细长型表面构件;
 - b) 在所述表面构件远端搁置在表面构件上的生物相容性可变形部件,其中所述表面构件是凹面的以形成搁置所述生物相容性可变形部件的支架;以及
 - c) 具有近端和远端的弹性带,其中:

所述弹性带远端连接所述表面构件远端;

所述弹性带与所述表面构件上的生物相容性可变形部件形成闭合环,在微创手术期间,所述闭合环能适合组织或器官或其部分,由此其将均匀压缩组织、器官或其部分;和

所述弹性带近端设置为用于以可调节方式张紧,从而与生物相容性可变形部件形成闭合环的该弹性带的部分可缩短或变长,从而所述环能夹紧组织或器官或其部分,并且所述生物相容性可变形部件能符合组织或器官或其部分的形状。
2. 如权利要求1所述的装置,进一步包含护套,所述护套具有包含近端和远端的内腔,其中:

所述护套内腔包围部分所述细长型表面构件和弹性带;和

所述表面构件长于护套,从而所述护套内腔不包围搁置在表面构件远端支架中的生物相容性可变形部件。
3. 如权利要求1所述的夹具装置,其中所述生物相容性可变形部件是可膨胀球囊。
4. 如权利要求2所述的夹具装置,其中所述生物相容性可变形部件是可膨胀球囊。
5. 一种用于微创手术的夹具装置,包含:
 - a) 具有近端和远端的细长型表面构件;
 - b) 在所述表面构件远端搁置在表面构件上的生物相容性可变形部件,其是可膨胀球囊;以及
 - c) 具有近端和远端的弹性带,其中:

所述弹性带远端连接所述表面构件远端;

所述弹性带与表面构件上的球囊形成闭合环;

在微创手术过程中,所述闭合环能适合组织或器官或其部分,由此其能均匀压缩组织、器官或其部分;

所述弹性带近端设置为用于以可调节方式张紧,从而与球囊形成闭合环的该弹性带部分可缩短或变长,由此所述环能夹紧组织或器官或其部分;

当所述弹性带处于张紧的位置时,所述球囊膨胀时符合所述组织或器官或其部分的形状;和

所述夹具装置设置为用于进入用于微创手术的内窥镜通道。
6. 如权利要求4所述的装置,其中:

所述护套内腔含有具有近端和远端的球囊膨胀线,所述球囊膨胀线的远端与可膨胀球囊近端相连以控制球囊膨胀;

所述护套内腔包围部分所述细长型表面构件、弹性带和球囊膨胀线;和

所述表面构件长于所述护套,从而所述护套内腔不包围搁置在表面构件远端的支架中的可膨胀球囊。
7. 如权利要求1所述的装置,进一步包含护套,所述护套具有包含近端和远端的内腔,

其中：

所述护套内腔包围部分所述细长型表面构件；和

所述护套设置成可沿着所述表面构件线性运动以使护套内腔不包围的表面构件部分缩短或变长。

8. 如权利要求2所述的装置，其中所述护套设置成可沿着所述表面构件线性运动以使护套内腔不包围的表面构件部分缩短或变长。

9. 如权利要求1所述的用于微创手术的夹具装置，进一步包含：

d) 护套，所述护套具有包含近端和远端的内腔，其中：

所述护套内腔包围部分所述细长型表面构件和弹性带；和

所述表面构件长于所述护套，从而所述护套内腔不包围搁置在表面构件远端的支架中的生物相容性可变形部件；和

e) 调节器以控制护套沿着表面构件线性运动，其中：

所述调节器与所述护套可操作连接；和

所述调节器设置在所述装置上，从而调节器相对于护套的轴向转动使护套相对于表面构件线性运动，以推进护套或使之缩入调节器，从而缩短或变长护套内腔包围的表面构件部分。

10. 如权利要求1-7中任一项所述的装置，进一步包含连接表面构件近端的柄，其中所述柄包含：

包含内部和外部的箱体；

所述箱体中安装的第一张紧轮，用于由操作者使用以可调节方式张紧弹性带；以及

可操作啮合第一张紧轮的弹性带近端，从而所述张紧轮的运动使弹性带部分缩短或变长，所述弹性带部分与细长型表面构件远端的生物相容性可变形部件或球囊形成闭合环。

11. 如权利要求10所述的装置，其中：

所述第一张紧轮可操作连接第二张紧轮，从而第一张紧轮的运动实现第二张紧轮在相同方向的同步运动；和

第二张紧轮设置为用于保持所述弹性带围绕在其外周，从而第一张紧轮的运动可使弹性带部分缩短或变长，所述弹性带部分与细长型表面构件远端的生物相容性可变形部件或球囊形成闭合环。

12. 如权利要求10所述的装置，其中：

所述柄还包含安装于柄上的活动开关，其控制第一张紧轮的运动方向。

13. 如权利要求12所述的装置，其中：

所述开关安装成具有操作者可及的处于所述箱体外部的部分和可操作偶联开关附近的棘轮的处于所述箱体内部的部分，从而开关的运动使棘轮运动；

棘轮的运动啮合第一张紧轮；和

棘轮位置决定第一张紧轮能运动的方向。

14. 如权利要求3-9中任一项所述的装置，包含：

a) 具有近端和远端的细长型表面构件，其中所述表面构件是凹面的；

b) 具有近端和远端的可膨胀球囊，其中所述球囊沿着细长型表面构件远端搁置在凹面的表面构件所形成的支架中；

c) 具有近端和远端的弹性带,其中:

所述弹性带远端连接表面构件远端;和

所述弹性带与表面构件上的球囊形成闭合环;

d) 护套,所述护套具有包含近端和远端的内腔,其中:

所述护套内腔含有具有近端和远端的球囊膨胀线,从而所述球囊膨胀线远端连接可膨胀球囊近端以控制球囊膨胀;

所述护套内腔包围部分细长型表面构件、弹性带和球囊膨胀线,所述球囊膨胀线位于弹性带与表面构件之间的表面构件支架中;

所述表面构件长于护套,从而护套内腔不包围搁置在表面构件远端支架中的可膨胀球囊;和

所述护套设置成可沿着表面构件线性运动以使护套不包围的表面构件部分缩短或变长;

e) 调节器,用于控制护套沿着表面构件线性运动,其中:

所述调节器可操作连接护套近端;和

所述调节器设置在所述装置上,从而调节器相对于护套的轴向转动使护套相对于表面构件线性运动,以推进护套或使之缩入调节器,从而使护套内腔包围的表面构件部分缩短或变长;和

f) 位于调节器附近并连接表面构件近端的柄,其中所述柄包括:

有内部和外部的箱体;

所述箱体中安装的第一张紧轮,用于由操作者使用以可调节方式张紧弹性带;

可操作连接所述第一张紧轮的第二张紧轮,从而第一张紧轮的运动实现第二张紧轮在相同方向的同步运动,第二张紧轮设置为保持所述弹性带近端围绕在其外周;

设置于所述箱体内且能可操作连接第一张紧轮的棘轮,从而棘轮的运动啮合第一张紧轮;和

安装于所述柄上的活动开关,其控制第一张紧轮的运动方向,所述开关安装成具有操作者可及的处于所述箱体外部的部分和可操作偶联棘轮的处于所述箱体内部的部分,所述棘轮邻近开关内部部分,由此开关的运动使棘轮运动,因而啮合第一张紧轮以使与细长型表面构件的远端球囊形成闭合环的弹性带的部分缩短或变长,从而闭合环的尺寸可调整,用于在微创手术中夹紧组织或器官。

15. 如权利要求1-9中任一项所述的装置,其中所述细长型表面构件的长度和直径足以在微创手术过程中通过内窥镜通道到达组织或器官或其部分。

16. 如权利要求15所述的装置,其中所述微创手术是腹腔镜检查。

17. 如权利要求1-9中任一项所述的装置,其中所述组织或器官或其部分选自肝、胰腺、胆囊、脾脏、胃、生殖器官和其部分。

18. 如权利要求16所述的装置,其中所述组织或器官或其部分选自肝、胰腺、胆囊、脾脏、胃、生殖器官和其部分。

19. 如权利要求1-9中任一项所述的装置,其中所述弹性带由材料组成,从而所述闭合环在不夹紧任何组织的情况下具有在生物相容性可变形部件或球囊与弹性带之间的开放区,从而张紧或放松弹性带增加或减少生物相容性可变形部件或球囊与弹性带之间的开放

区中所形成的空间。

20. 如权利要求1-9中任一项所述的装置,其中可以放松所述弹性带以使弹性带变长从而使所述闭合环达到大于组织或器官或其部分的厚度的高度,以便适合将组织或器官或其部分放入所述闭合环中。

21. 如权利要求1-9中任一项所述的装置,其中:

所述弹性带远端设置为在邻近细长型表面构件远端处以可调节方式张紧;和

所述弹性带长于细长型表面构件的量大于待夹紧组织或器官或其部分的厚度。

22. 如权利要求4-9中任一项所述的装置,其中所述表面构件是凹面的以形成搁置生物相容性可变形部件或球囊的支架。

23. 如权利要求1-9中任一项所述的装置,其中所述生物相容性可变形部件或球囊在弹性带远端靠近弹性带与表面构件连接处附于弹性带。

24. 如权利要求14所述的装置,其中所述球囊在弹性带远端靠近弹性带与表面构件连接处附于弹性带。

25. 如权利要求19所述的装置,其中所述生物相容性可变形部件或球囊不附于弹性带,而是在搁置在表面构件中的生物相容性可变形部件或球囊远端附近通过连接弹性带与表面构件来形成闭合环;或

所述生物相容性可变形部件或球囊搁置在表面构件支架中。

26. 如权利要求9所述的装置,其中:

所述护套包含近端外表面上的外螺纹;和

所述调节器是空心圆柱体,且包含调节器远端内表面上内螺纹,由此调节器相对于护套的围绕护套的轴向转动使护套相对于表面构件线性运动以推进护套或使之缩入调节器,从而使护套内腔包围的表面构件部分缩短或变长。

27. 如权利要求11所述的装置,其中:

所述第二张紧轮包含齿;和

所述弹性带由齿形弹性聚合物构成,以允许弹性带啮合第二张紧轮上的齿。

28. 如权利要求1-9中任一项所述的装置,其中所述细长型表面构件是弹性的或刚性的。

29. 如权利要求1-9中任一项所述的装置,其中:

所述表面构件远端具有凹口;和

所述弹性带远端在凹口处连接表面构件远端以形成闭合环。

30. 如权利要求1-9中任一项所述的用于微创手术的夹具装置,其中所述夹具装置设置为用于进入用于微创手术的内窥镜通道。

31. 如权利要求1-9任一项所述的夹具装置,其中所述生物相容性可变形部件由选自泡沫胶、硅酮、弹性体、硅橡胶、粘弹性胶、水凝胶和非弹性薄膜材料材料制成。

32. 如权利要求31所述的夹具装置,其中所述材料选自聚氨酯、聚乙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、改性聚对苯二甲酸乙二醇酯(PETG)、乙烯醋酸乙烯酯(EVA)和硅酮。

33. 如权利要求1-9任一项所述的装置,用于夹紧组织或器官或其部分的实质以实现组织或器官或其部分的区室化以中断从体循环流向组织或器官或其部分的血流。

用于微创手术过程的夹具装置和其应用

[0001] 相关申请

[0002] 要求2013年8月8日提交、题为“用于微创手术过程的夹具装置和其应用”的美国临时申请号61/863,903的优先权。

[0003] 此申请涉及同日提交的美国专利申请序列号14/455,871,题为“用于微创手术过程的夹具装置和其应用”,其要求美国临时申请号61/863,903的优先权。

[0004] 此申请还涉及同日提交的美国申请序列号14/455,865,和同日提交的国际PCT申请号PCT/US2014/050446,各自题为“用于微创手术过程的注射装置和其应用”,两者都要求2013年8月8日提交、题为“用于微创手术过程的注射装置和其应用”的美国临时申请号61/863,888的优先权。

[0005] 此申请还涉及2013年2月7日提交的美国申请序列号13/815,206和2013年2月7日提交的国际PCT申请号PCT/US13/25234,各自题为“核酸递送的区室化方法和其组合物及应用”,两者都要求2012年2月7日提交、题为“核酸递送的区室化方法和其组合物及应用”的美国临时申请序列号61/633,287的优先权。

[0006] 在允许的情况下,上述各申请的主题通过引用全文纳入。

[0007] 通过引用纳入电子方式提供的序列列表

[0008] 随同提交序列列表的电子版,其内容通过引用全文纳入。所述电子文件在2014年8月7日建立,大小为1千字节,名为552SEQPC1.txt。

技术领域

[0009] 本文提供能在微创手术包括外科手术如腹腔镜手术中用于夹紧组织或器官或者一部分组织或器官的夹具装置。本文还提供在微创手术中采用本文提供的夹具装置夹紧组织或器官或其部分的方法。还提供进行微创手术的系统,包括本文所提供用于微创手术的夹具装置和设置成进入用于微创手术的内窥镜通道(port)的注射装置。

发明内容

[0010] 许多包括腹腔镜外科手术在内的腹腔镜操作可能需要夹紧组织或器官或者一部分组织或器官以进行操作。可能需要夹紧所有或部分组织或器官如肝、肾或其他器官以停止流向组织部分的血流,从而能观察而不出现大量血。通常难以实现在组织或器官周围的足以阻断循环且同时也使组织不受损的夹压。因此,需要微创手术期间能使用的夹具装置,所述夹具装置可达到阻断循环而同时使组织无损的夹压。

[0011] 参考编号列表

[0012] 下表指示所用术语和对应参考编号。各自应结合下面描述和附图参考。

[0013] 10-带夹具装置

[0014] 20-手枪式握柄部分

[0015] 21-第一带张紧轮(大)

[0016] 22-第二带张紧轮(小)

- [0017] 23-带张紧/松开开关
- [0018] 23a-开关-下位置
- [0019] 23b-开关-上位置
- [0020] 24-棘轮机构
- [0021] 24a-棘轮机构-松开位置
- [0022] 24b-棘轮机构-张紧位置
- [0023] 25-球囊膨胀线
- [0024] 26-箱体
- [0025] 27-开关开口 (23)
- [0026] 30-护套组件
- [0027] 31-护套调节器
- [0028] 32-中空护套
- [0029] 33-螺旋机构以推进护套
- [0030] 40-夹具部分
- [0031] 41-细长型表面构件
- [0032] 42-弹性上带
- [0033] 42a-弹性上带-平放位置
- [0034] 42b-弹性上带-松弛位置
- [0035] 42c-弹性上带-张紧位置
- [0036] 4-生物相容性可变形部件
- [0037] 43-球囊
- [0038] 43a-球囊-缩小
- [0039] 43b-球囊-膨胀
- [0040] 44-凹口
- [0041] 45-支架
- [0042] 50-靶组织
- [0043] 51-注射装置
- [0044] 501-肝
- [0045] 60, 60' 或60''-腹腔镜注射装置
- [0046] 71或71'-针头护套控制器
- [0047] 710-针头护套控制器外壳
- [0048] 711-定位器
- [0049] 711a-定位器-前方位置
- [0050] 711b-定位器-中间位置
- [0051] 711c-定位器-后方位置
- [0052] 712-锁和释放元件
- [0053] 713-连接构件
- [0054] 715-远端护套限位器
- [0055] 716-近端护套限位器

- [0056] 717-控制器内腔
- [0057] 72,72' 或72"-针头护套
- [0058] 72a-针头护套-覆盖的位置
- [0059] 72b-针头护套-过渡位置
- [0060] 72c-针头护套-未覆盖位置
- [0061] 720-针头护套近端部分
- [0062] 723-针头护套腔
- [0063] 724-可视性窗口
- [0064] 725-可视性窗口
- [0065] 726-开口腔
- [0066] 73或73'-针头护套远端
- [0067] 733-针道
- [0068] 76-针槽
- [0069] 81-注射针
- [0070] 82-联接构件
- [0071] 83-注射管
- [0072] 84-针座
- [0073] 85-针偶联器
- [0074] 900a-标准注射器-分离位置
- [0075] 900b-标准注射器-连接位置
- [0076] 910-可停驻 (dockable) 注射器
- [0077] 910a-可停驻注射器-未停驻位置
- [0078] 910b-可停驻注射器-停驻位置
- [0079] 91,91' 或91"-注射器筒
- [0080] 92,92' 或92"-柱塞
- [0081] 920-辅助柱塞
- [0082] 93-鲁尔接头
- [0083] 94-注射器筒基座
- [0084] 95或95'-柱塞头
- [0085] 951-柱塞接头
- [0086] 96-注射器接头内衬
- [0087] 960-柱塞静止腔
- [0088] 961-筒停驻处
- [0089] 962-筒静止腔
- [0090] 963-筒停驻处

发明内容

[0091] 本文提供用于微创手术的夹具装置,包括具有近端和远端的细长型表面构件;在表面构件远端搁置在表面构件上的生物相容性可变形部件;以及具有近端和远端的弹性带,该弹性带远端连接表面构件远端并与表面构件上的生物相容性可变形部件形成闭合

环,所述闭合环能在微创手术中适合组织或器官或其部分。所述生物相容性可变形部件是能符合组织或器官解剖结构的任何材料以确保夹紧力分布均匀。例如,所述生物相容性可变形部件是生物相容的低或中等硬度材料。这种材料示例包括但不限于泡沫胶、硅酮(如低硬度硅酮)、弹性体(如低硬度弹性体)、硅橡胶、粘弹性胶或水凝胶。在一些示例中,所述生物相容性可变形部件是可膨胀球囊,其中该球囊膨胀时能符合所述解剖结构。因此,本文提供用于微创手术的夹具装置,包括具有近端和远端的细长型表面构件;在表面构件远端搁置在表面构件上的可膨胀球囊;以及具有近端和远端的弹性带,该弹性带远端连接表面构件远端并与表面构件上的球囊形成闭合环,所述闭合环能在微创手术中适合组织或器官或其部分。所述弹性带近端设置为用于以可调节方式张紧,从而与生物相容性可变形部件如球囊形成闭合环的该弹性带部分可缩短或变长以使该环能在微创手术过程中夹紧组织或器官或其部分。

[0092] 在本文提供的任何示例中,本文提供的装置还包括含内腔的护套,具有近端和远端。在本文提供的含球囊的夹具装置的示例中,护套内腔包含具有近端和远端的球囊膨胀线,其中所述远端与可膨胀球囊近端相连以控制球囊膨胀。护套内腔包围部分细长型表面构件和弹性带,但由于表面构件长于护套,该护套内腔不包围搁置在表面构件远端支架中的生物相容性可变形部件。例如,在含球囊的装置中,护套内腔包围部分细长型表面构件、弹性带和球囊膨胀线,且表面构件长于护套,因此该护套内腔不包围在表面构件远端位于支架中的可膨胀球囊。在一些示例中,夹具装置护套设置成可沿着表面构件线性运动以使护套内腔不包围的表面构件部分缩短或变长。

[0093] 在本文提供的任何示例中,所述装置还能包括可操作连接护套的调节器以控制护套沿着表面构件线性运动。调节器设置在所述装置上,从而调节器相对于护套的轴向转动使护套相对于表面构件线性运动,以推进护套或使之缩入调节器,因此使护套内腔包围的表面构件部分缩短或变长。

[0094] 本文提供的任何上述装置还能包括连接表面构件近端的柄。所述柄包括有内部和外部的箱体,所述箱体中安装的第一张紧轮用于由操作者达到以可调整张紧弹性带,以及弹性带近端。弹性带近端可操作啮合第一张紧轮,所述张紧轮的运动可使弹性带部分缩短或变长,所述部分在细长型表面构件远端与生物相容性可变形部件如球囊形成闭合环。第一张紧轮可操作连接第二张紧轮,从而第一张紧轮的运动实现第二张紧轮在相同方向的同步运动。第二张紧轮设置成沿着外周抓住弹性带,从而第一张紧轮的运动可使弹性带部分缩短或变长,所述部分在细长型表面构件远端与生物相容性可变形部件如球囊形成闭合环。

[0095] 在任何这类示例中,本文提供的带夹具装置的柄还能包括安装于柄上的活动开关,其控制第一张紧轮的运动方向。在一些示例中,安装所述开关以具有操作者可及的箱体外面部分和可操作偶联开关附近棘轮的内部部分,从而开关的运动使棘轮运动且棘轮的运动啮合第一张紧轮。棘轮位置决定第一张紧轮能运动的方向。

[0096] 本文提供用于微创手术的夹具装置,包括细长型表面构件;生物相容性可变形部件;弹性带;护套,含有包围部分表面构件和弹性带的内腔;控制护套运动的调节器;和柄,含有箱体、第一张紧轮、第二张紧轮、棘轮和开关。在装置示例中,生物相容性可变形部件能包括通过球囊膨胀线控制的可膨胀球囊。因此,本文提供用于微创手术的夹具装置,包括细

长型表面构件;可膨胀球囊;弹性带;含内腔的护套,所述内腔含有连接可膨胀球囊的球囊膨胀线,其中护套包围部分表面构件、弹性带和球囊膨胀线;控制护套运动的调节器;和柄,含有箱体、第一张紧轮、第二张紧轮、棘轮和开关。本文所提供装置的细长型表面构件具有带近端和远端的凹面。生物相容性可变形部件如可膨胀球囊具有近端和远端,沿着的细长型表面构件远端凹面表面构件所形成支架中搁置。弹性带具有近端和远端,弹性带的远端连接表面构件的远端,从而弹性带与生物相容性可变形部件如表面构件上的球囊形成闭合环。

[0097] 在任何装置中,护套包括有近端和远端的内腔。护套内腔包围部分细长型表面构件和弹性带。在含球囊的装置的实施方式中,护套内腔所含球囊膨胀线具有近端和远端,所述远端与可膨胀球囊近端连接以控制球囊膨胀。护套所封闭的球囊膨胀线位于弹性带与表面构件之间的表面构件中。护套内腔包围部分细长型表面构件、弹性带和球囊膨胀线,球囊膨胀线位于弹性带与表面构件之间的表面构件支架中。表面构件长于护套,因此护套内腔不包围生物相容性可变形部件如球囊,其位于表面构件远端的支架中。

[0098] 在任何装置中,护套设置成可沿着表面构件线性运动以使护套内腔不包围的表面构件部分缩短或变长。调节器可操作连接护套近端以控制护套沿着表面构件线性运动。调节器相对于护套的轴向转动使护套相对于表面构件线性运动,以推进护套或使之缩入调节器,因此缩短或变长护套内腔不包围的表面构件部分。

[0099] 在任何装置中,柄位于调节器附近并连接表面构件近端。所述柄包括有内部和外部的箱体;箱体中安装的第一张紧轮,用于由操作者达到以可调整张紧弹性带;可操作连接第一张紧轮的第二张紧轮,从而第一张紧轮的运动实现第二张紧轮在相同方向的同步运动,第二张紧轮设置为用于保持所述弹性带近端围在其外周;设置于箱体内且能可操作偶联第一张紧轮的棘轮,从而棘轮的运动啮合第一张紧轮;安装于柄上的活动开关,其控制第一张紧轮的运动方向。所述开关安装成具有操作者可及的处于箱体外部的部分和可操作偶联棘轮的处于所述箱体内部的部分,所述棘轮邻近开关内部部分。开关的运动使棘轮运动,因此啮合第一张紧轮以使在细长型表面构件远端与生物相容性可变形部件如球囊形成闭合环的弹性带部分缩短或变长,从而闭合环的尺寸可调整用于在微创手术中夹紧组织或器官。

[0100] 在本文提供的任何夹具装置中,弹性带由允许闭合环在没有任何夹紧组织情况下于生物相容性可变形部件如球囊与弹性带之间形成开放区的材料构成,从而张紧或放松弹性带增加或减少生物相容性可变形部件如球囊与弹性带之间开放区所形成的空间。在本文提供的任何装置示例中,弹性带能放松以延长弹性带从而达到一定闭合环高度,所述高度大于组织或器官或其部分的厚度以适合闭合环中的组织或器官或其部分。例如,弹性带能放松以延长弹性带从而达到1cm-10cm、1cm-5cm、2cm-4cm或3cm-4cm的闭合环高度。在本文提供的任何装置示例中,弹性带远端设置为在邻近细长型表面构件远端处以可调节方式张紧且弹性带长于细长型表面构件的量大于待夹紧组织或器官或其部分的厚度。在本文提供的任何示例中,弹性带长度大于待夹紧组织或器官或其部分的上表面,表面构件的长度以及弹性带啮合第二张紧轮所需的距离的组合通路长度。弹性带能由弹性聚合物构成,如聚氨酯或聚乙烯。这包括例如纤维加固的聚氨酯。

[0101] 在本文提供的任何装置示例中,表面构件为凹形以形成支架和生物相容性可变形

部件如球囊,位于支架中并在弹性带远端靠近弹性带与表面构件连接处的附于弹性带。例如,生物相容性可变形部件如球囊位于弹性带与表面构件之间的表面构件支架中。其他示例中,生物相容性可变形部件如球囊不附于弹性带,而是在生物相容性可变形部件如球囊远端附近通过连接弹性带和表面构件形成闭合环,所述部件位于表面构件中。

[0102] 在本文提供的任何装置示例中,细长型表面构件可以是弹性或刚性的。在示范性装置中,细长型表面构件是刚性的。在本文提供的任何装置示例中,表面构件远端具有凹口且弹性带远端在凹口处连接表面构件远端以形成闭合环。

[0103] 在本文提供的任何示例中,本文提供的装置具有细长型表面构件,其长度和直径足以在微创手术中通过内窥镜通道到达组织或器官或其部分。例如,微创手术是腹腔镜检查。微创手术中到达的组织或器官或其部分选自肝、胰腺、胆囊、脾脏、胃、生殖器官和其部分。在特定示例中,组织或器官是肝或其部分。肝的进入部分可以是左中叶。在肝是组织或器官的这类示例中,内窥镜通道位于待夹紧肝部分上面腹部的腹上部。

[0104] 在本文提供的任何示例中,细长型表面构件具有的长度和直径足以在微创手术中通过内窥镜通道到达组织或器官或其部分。因此,所述装置具有细长型表面构件,从其近端到其远端的长度是100mm-600mm、100mm-500mm、250mm-400mm或300mm-400mm或约100mm-600mm、100mm-500mm、250mm-400mm或300mm-400mm。长度示例为至少300mm或大约至少300mm或者至少400mm或大约至少400mm。

[0105] 在本文提供的任何示例中,护套具有的长度和直径允许在微创手术中进入组织或器官或其部分。因此,护套长度是100mm-500mm或200mm-400mm,且直径多至3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm或至少3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm或约为3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm。示例长度是300mm且直径是10mm。

[0106] 在本文提供的任何装置示例中,护套未包围的表面构件长度大于组织或器官或其部分的宽度,以便适合将组织或器官或其部分放入闭合环中。例如,护套未包围的表面构件长度是25mm-200mm、50mm-150mm或75mm-125mm。在一些示例中,护套未包围的表面构件长度是75mm-125mm。例如,护套未包围的表面构件长度是100mm或者约100mm或至少100mm。在任何这类示例中,生物相容性可变形部件如球囊与长于护套的表面构件部分基本一样长。例如,位于延长构件远端支架中的生物相容性可变形部件如可膨胀球囊长度为25mm-200mm、50mm-150mm或75mm-125mm。在特定示例中,位于延长构件远端支架中的生物相容性可变形部件如可膨胀球囊长度为100mm或至少为100mm。

[0107] 在本文提供的任何夹具装置示例中,护套包括近端外表面上的外螺纹且调节器是含调节器远端内表面上内螺纹的空心圆柱体。调节器相对于护套的轴向转动使护套相对于表面构件线性运动以推进护套或使之缩入调节器,因此使护套内腔不包围的表面构件部分缩短或变长。

[0108] 在本文提供的任何装置示例中,第二张紧轮包含齿且弹性带由齿形弹性聚合物构成,因而允许弹性带啮合第二张紧轮上的齿。在本文提供的任何示例中,第一张紧轮的直径可大于第二张紧轮的直径。例如,第一张紧轮直径与第二张紧轮直径之比是2:1-10:1。在本文提供的任何装置示例中,弹性带部分不可操作连接张紧轮且在箱体内游离,该游离部分能在张紧轮上方运动并作为在闭合环中能够变长的弹性带部分。

[0109] 在本文提供的装置示例中,箱体之外的开关部分位于箱体一侧并仅能由一侧操作。其他示例中,箱体之外的开关部分位于箱体两侧并能由一侧或两侧操作。在本文提供的任何示例中,棘轮可以是Y形,具有带2个尖头的底部和顶部,开关内部可操作连接Y形棘轮底部且顶部可操作偶联第一张紧轮。开关的运动可迁移棘轮,从而每次仅1个尖头啮合第一张紧轮,因而啮合第一张紧轮以缩短或变长在细长型表面构件远端与生物相容性可变形部件如球囊形成闭合环的弹性带部分,从而闭合环的尺寸可调整用于在微创手术中夹紧组织或器官。

[0110] 在本文提供的任何示例中,生物相容性可变形部件是具有低或中等硬度(即硬性)并能符合靶组织而不损伤组织的任何材料。然而,材料的硬度充足,从而当组织或器官或其部分置于弹性上带与生物相容性可变形部件之间时,夹压能通过组织或器官或其部分上的弹性上带施加。其也是生物相容性材料。这类材料示例是泡沫胶、硅酮(如低硬度硅酮)、弹性体(如低硬度弹性体)、硅橡胶、粘弹性胶或水凝胶。在一些示例中,生物相容性可变形部件的直径不大于护套组件的直径,从而所述装置的夹具部分能通过内窥镜通道拟合。例如,生物相容性可变形部件的直径小于15mm,如小于14mm、13mm、12mm、11mm、10mm、9mm、8mm、7mm、6mm、5mm、4mm、3mm、2mm或更小。在一些示例中,生物相容性可变形部件是可膨胀球囊。由于球囊能在经内窥镜通道插入后膨胀,所述示例中球囊直径可大于护套直径,但一般没有那么大以破坏弹性带和球囊所形成夹具装置闭合环中组织或其部分的适合度。通常,球囊直径多至3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm,或至少3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm,或约为3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm。

[0111] 在本文提供的任何含球囊示例中,本文所提供装置的可膨胀球囊能由刚性球囊材料如中等硬度材料制成,包括聚氨酯或聚乙烯材料。用于可膨胀球囊的示范性材料选自肖氏硬度为70A-85A的聚氨酯、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)和改性聚对苯二甲酸乙二醇酯(PETG)。可膨胀球囊连接球囊膨胀线。在任何示例中,球囊膨胀线近端延伸自柄底部并可操作连接外部液体或气体来源,如注射器、泵和容器,通过球囊膨胀线使可膨胀球囊膨胀和缩小。在一些示例中,所述气体是空气。

[0112] 在本文提供的任何装置示例中,所述装置能用于夹紧组织或器官或其部分,包括组织或器官或其部分的实质。在一些示例中,夹紧可能实现组织或器官区室化以中断从体循环流向组织或器官的血流或其部分。

[0113] 本文还提供在微创手术中夹紧组织或器官或其部分的方法,包括将本文所提供任何上述夹具装置插入用于微创手术的内窥镜通道,调整弹性带以延长闭合环中的弹性带,从而在下面生物相容性可变形部件与上面夹具部分弹性带之间形成闭合环以适合组织或器官或其部分,环置于待夹紧的组织或器官或其部分周围,张紧弹性带以减小闭合环尺寸从而弹性带稳固地套住所述组织或器官或其部分以在其上产生压力。弹性上带处于张紧位置时,生物相容性可变形部件能符合靶组织形状,从而夹紧组织或器官或其部分。

[0114] 例如,本文提供在微创手术中夹紧组织或器官或其部分的方法,包括将本文所提供含球囊的任何上述夹具装置插入用于微创手术的内窥镜通道,调整弹性带以延长闭合环中的弹性带,从而形成闭合环以适合组织或器官或其部分,环置于待夹紧的组织或器官或其部分周围,张紧弹性带以减小闭合环尺寸从而弹性带稳固地套住所述组织或器官或其部

分,使球囊膨胀使其符合组织或器官或其部分,从而夹紧组织或器官或其部分。

[0115] 在所述方法的任何这类示例中,所述内窥镜通道是腹腔镜通道。在所述方法的任何示例中,所述组织或器官或其部分选自肝、胰腺、胆囊、脾脏、胃或生殖器官或其部分。在示例性方法中,所述组织或器官是肝或其部分,例如所述肝部分是左中叶。所述通道能位于待夹紧肝部分上面腹部的腹上部。

[0116] 在本文提供的任何方法中,提供所述装置,因而将夹具装置插入用于微创手术的内窥镜通道时,弹性带能平置于表面构件上的生物相容性可变形部件。在本文的方法中,如果生物相容性可变形部件是球囊,能提供所述装置用于插入内窥镜通道,气囊被缩小。例如,在本文提供的任何方法中,提供所述装置以便其具有缩小的球囊和弹性带,当将本文提供的夹具装置插入用于微创手术的内窥镜通道时,所述弹性带平置于表面构件上。

[0117] 在本文提供的任何方法中,调整弹性带以延长闭合环中的弹性带,从而形成闭合环以适合组织或器官或其部分,这是通过使第一张紧轮转向该装置远端以延长闭合环中的弹性带来完成。在任何这些方法中,待夹紧组织或器官或其部分周围的环位置能用手术工具在环中调整以促进该组织或器官或其部分在环中的定位。例如,所述手术工具可以是抓紧器或镊子。所述环位于部分组织或器官上。在本文的任何方法中,环置于待夹紧组织或器官或其部分周围后,调节器相对于护套轴向转动,因而使护套相对于表面构件线性运动以缩短护套不包围的表面构件部分。在本文的任何这类方法中,护套包围的表面构件长度调整到符合待夹紧组织或器官或其部分结构的尺寸。

[0118] 在本文提供的任何方法中,张紧弹性带以减小闭合环尺寸,从而环中的弹性带非常适合组织或器官或其部分,这是通过使第一张紧轮转向该装置近端来完成,因此降低带生物相容性可变形部件如球囊的闭合环中形成的弹性带量,张紧组织或器官或其部分上牢固的弹性带。在任何这类示例中,所述环减小到适合待夹紧组织或器官或其部分的尺寸。在本文的任何方法示例中,弹性带对组织的张力用张力计进一步监测。在用含可膨胀的生物相容性可变形部件如可膨胀球囊的装置的本文方法示例中,所述球囊膨胀到符合组织或其部分结构,因而向待夹紧组织或器官或其部分施加均匀夹压,从而夹紧所述组织或器官或其部分。例如,所述球囊膨胀到50mmHg-250mmHg压力。例如,所述球囊膨胀到压力大于120mmHg。在一些示例中,所述压力能用压力计进一步监测。

[0119] 在本文所述的任何方法中,夹紧组织或器官或其部分以用于组织切除或移植。在本文的其他方法中,夹紧组织或器官或其部分以用于切开、子宫切除术、阑尾切除术、胆囊切除术(治疗胆结石)、减肥手术、胃分流术和束带手术、用于子宫内异位的腹腔镜手术、用以治疗胃肠道疾病的疝修补或腹腔镜手术。在一些示例中,夹紧组织或器官或其部分可中断从体循环流向组织或器官的血流,导致组织或器官或其部分从体循环区室化。

[0120] 在本文的任何方法中,在夹具部分牢固置于组织或器官或其部分上从而夹紧该组织或器官或其部分之后,向夹紧的组织或器官或其部分施用治疗组合物。例如,在球囊膨胀到符合组织或器官或其部分从而夹紧该组织或器官或其部分之后,向夹紧的组织或器官或其部分施用治疗组合物。在一些示例中,向区室化组织或器官或其部分的实质直接施用核酸分子。

[0121] 本文提供的示范性方法是向受试者的区室化组织或器官或其部分递送核酸分子的方法,其中所述方法包括用本文所提供夹具装置夹紧组织或器官或其部分,其中夹紧组

织或器官或其部分可中断从体循环流向组织或器官的血流,导致组织或器官或其部分从体循环区室化,并向区室化组织或器官或其部分的实质直接施用核酸分子。

[0122] 在向区室化组织或器官或其部分递送核酸的任何方法示例中,所述方法包括将本文所提供装置插入用于微创手术的用于微创手术的内窥镜通道,调整弹性带以延长闭合环中的弹性带,从而形成闭合环以适合组织或器官或其部分,环置于待夹紧的组织或器官或其部分周围,张紧弹性带以减小闭合环尺寸从而闭合环中的弹性带稳固地套住所述组织或器官或其部分且生物相容性可变形部件符合组织或器官或其部分结构,因此夹紧组织或器官或其部分。例如,所述方法包括将本文所提供装置插入用于微创手术的内窥镜通道,调整弹性带以延长闭合环中的弹性带,从而形成闭合环以适合组织或器官或其部分,环置于待夹紧的组织或器官或其部分周围,张紧弹性带以减小闭合环尺寸从而闭合环中的弹性带稳固地套住所述组织或器官或其部分且球囊膨胀到符合组织或器官或其部分结构,因此夹紧组织或器官或其部分。

[0123] 在向区室化组织或器官或其部分递送核酸的任何方法示例中,所述核酸分子在组织或器官或该组织或器官部分区室化后施用不超过5分钟、4分钟、3分钟、2分钟、1分钟或30秒。

[0124] 在向区室化组织或器官或其部分递送核酸的任何方法示例中,核酸分子示例是编码多肽的核酸分子。编码的多肽可选自酶、激素、凝血因子或凝结因子、细胞因子、生长因子或其活性部分、抗体或抗体的抗原结合部分、血管生成调节因子、免疫调节剂、疼痛调节剂、受体或其活性部分、转运蛋白、调节蛋白、抗原和过敏原。编码的多肽选自腺苷脱氨酶、囊性纤维化跨膜传导调节蛋白(CTFR)、加硫酶、拉罗尼酶、N-乙酰半乳糖胺6-硫酸酯酶、苯丙氨酸氨裂解酶、酸性 α -葡萄糖苷酶、伊米苷酶、阿糖苷酶 α 、促甲状腺素、生长激素、胰岛素、甲状腺激素、红细胞生成素(EPO)、白介素-1(IL-1)、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-7、干扰素- α (IFN- α)、IFN- β 、IFN- γ 、肿瘤坏死因子(TNF)、IL-12、IL-18、Fms相关的酪氨酸激酶3(f1t3)、神经纤毛蛋白-2(NP2)、骨形态发生蛋白(BMP)、表皮生长因子(EGF)、红细胞生成素(EPO)、成纤维细胞生长因子(FGF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、肝细胞生长因子(HGF)、胰岛素样生长因子(IGF)、血小板来源的生长因子(PDGF)、转化生长因子 α 或 β 、血管内皮生长因子(VEGF)、表皮生长因子受体(EGFR)、成纤维细胞生长因子受体(FGFR)、FGFR拮抗剂(sFGFR)、转化生长因子受体(TGFR)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、纤溶酶原激活剂、尿激酶、因子VIII、因子IX、血管假性血友病因子、生长激素、金属蛋白酶血小板反应蛋白基序1(METH-1)、METH-2、色氨酸tRNA合成酶(TrpRS)片段、增殖蛋白相关蛋白、催乳激素片段、色素上皮细胞来源的因子(PEDF)、血管抑制因子、血管抑素、内皮抑素、kininostatin、纤维蛋白原-E片段、血小板反应蛋白、肿瘤抑素、血管能抑素、休眠蛋白、可溶性fms样酪氨酸激酶-1(sF1t-1)、可溶性血管内皮生长因子受体(sF1k)、可溶性神经纤毛蛋白1(sNRP1)、干扰素 γ 诱导蛋白10(IP-10)、血小板因子4(PF-4)、Gro- β 、可溶性ephrinB受体4(sEphB4)、可溶性ephrinB2、IGF-1、单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-TK)、羧肽酶G2(CPG2)、羧酸酯酶(CA)、胞嘧啶脱氨酶(CD)、细胞色素P450(cyt-450)、脱氧胞苷激酶(dCK)、硝基还原酶(NR)、嘌呤核苷磷酸化酶(PNP)、胸苷磷酸化酶(TP)、水痘带状疱疹病毒胸苷激酶(VZV-TK)、黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(XGPT)、天冬氨酰氨基葡萄糖苷酶、 α -半乳糖苷酶A、棕榈酰蛋白硫酸酯酶、三肽氨基肽酶、溶酶体跨膜蛋白、半胱氨酸转

运蛋白、酸性神经酰胺酶、酸性 α -L-岩藻糖苷酶、保护蛋白/组织蛋白酶A、酸性 β -葡糖苷酶或葡糖脑苷脂酶、酸性 β -半乳糖苷酶、艾杜糖-2-硫酸酯酶、 α -L-艾杜糖醛酸酶、半乳糖脑苷酯酶、酸性 α -甘露糖苷酶、酸性 β -甘露糖苷酶、芳香基硫酸酯酶B、芳香基硫酸酯酶A、N-乙酰半乳糖胺-6-硫酸硫酸酯酶、N-乙酰氨基葡萄糖-1-磷酸转移酶、酸性鞘磷脂酶、尼曼匹克症C1型(NPC-1)、 β -己糖胺酶B、乙酰肝素N-硫酸酯酶、 α -N-乙酰葡糖胺糖苷酶(NaGlu)、乙酰-CoA: α 氨基葡糖苷N-乙酰转移酶、N-乙酰氨基葡萄糖-6-硫酸硫酸酯酶、 β -葡萄糖醛酸酶、酸性脂肪酶、脑啡肽酶、胰岛素降解酶胰岛素酶、西梅脱寡肽酶、钙结合蛋白D28、小清蛋白、缺氧诱导因子1- α (HIF1- α)、去乙酰化酶-2(SIRT-2)、运动神经元生存蛋白-1(SMN-1)、SMN-2、胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)、睫状神经营养因子(CNF)、低密度脂蛋白受体(LDLR)、脂蛋白脂肪酶(LPL)、 α -1-抗胰蛋白酶(AAT)、UDP葡萄糖醛酸基转移酶(UGT)、UGT1A1、葡萄糖-6磷酸酶、磷酸烯醇丙酮酸羧激酶、半乳糖-1-磷酸转尿苷酰酶、苯丙氨酸羟化酶、支链 α 酮酸脱氢酶、延胡索乙酰乙酸水解酶、甲基丙二酰-CoA变位酶、鸟氨酸转氨甲酰酶、精氨基琥珀酸合成酶、腺苷脱氨酶、次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶、生物素酶、 β -葡糖脑苷脂酶、 β -葡萄糖醛酸酶、胆色素原脱氨酶(PBDG)和p53。

[0125] 在向区室化组织或器官或其部分递送核酸的任何方法示例中,所述核酸分子是编码治疗产物的治疗性核酸分子,因此递送核酸分子实现疾病或病症的治疗。所述疾病或病症选自关节炎、慢性疼痛、HIV-相关AIDS、动脉粥样硬化、再狭窄、遗传性酶缺陷、遗传性免疫缺陷、癌、逆转录病毒感染、血友病、糖尿病、肌肉萎缩症、心血管障碍、囊性纤维化、神经退行性疾病、创伤、疼痛、镰状细胞贫血、自身免疫疾病、炎症疾病和高血压。

[0126] 例如,在任何上述方法中,所述核酸分子编码选自以下的蛋白:用于治疗血友病A的因子VIII;用于治疗血友病B的因子IX;用于治疗I型糖尿病的胰岛素基因;用于治疗 α -1-抗胰蛋白酶(AAT)缺陷的 α -1-抗胰蛋白酶(AAT);用于治疗血色沉着病的血色沉着病蛋白(HFE);用于治疗威尔森氏症的铜转运ATP酶2;用于治疗I型克果纳杰氏综合症的UDP葡萄糖醛酸转移酶1A1(UGT1A1);用于治疗II型鸟氨酸转氨甲酰酶缺陷的鸟氨酸转氨甲酰酶(OTC);用于治疗家族性高胆固醇血症的低密度脂蛋白受体(LDLR);用于治疗无纤维蛋白原血症的纤维蛋白原 α (FGA)、 β (FGB)或 γ (FGB);用于治疗糖原贮积病(GSD)Ia型的葡萄糖-6-磷酸- α ;用于治疗GSD Ib型的G6PT;用于治疗GSD II型(庞贝氏症)的酸性 α -葡糖苷酶;用于治疗粘多糖病(MPSI)的 α -L-艾杜糖醛酸酶;用于治疗MPS IIIA的硫酸胺酶;用于治疗MPS IIIB的 α -N-乙酰葡糖胺糖苷酶(NaGlu);用于治疗MPS VII的 β -葡萄糖醛酸酶;用于治疗法布里病的 α -半乳糖苷酶A;用于治疗高雪氏病的葡糖脑苷脂酶;用于治疗尼曼-匹克综合症的酸性鞘磷脂酶;用于治疗苯丙酮尿的苯丙氨酸羟化酶;用于治疗肝纤维化的TIMP拮抗剂或抗HSC分子;用于治疗肝缺血再灌注损伤的抗ROS分子;用于治疗阿尔茨海默病的 β 淀粉样蛋白降解酶脑啡肽酶、胰岛素降解酶胰岛素酶或西梅脱寡肽酶;用于治疗肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)的胰岛素生长因子1(IGF-1)、钙结合蛋白D28、小清蛋白、HIF1- α 、SIRT-2、VEGF、SMN-1、SMN-2、GDNF或睫状神经营养因子(CNF);用于治疗半乳糖血症的半乳糖-1-磷酸转尿苷酰酶;用于治疗枫糖尿症的支链 α 酮酸脱氢酶;用于治疗酪氨酸血症1型的延胡索乙酰乙酸水解酶;用于治疗甲基丙二酸血症的甲基丙二酰-CoA变位酶;用于治疗瓜氨酸血症的精氨基琥珀酸合成酶;用于治疗痛风和莱施-尼汉综合症的次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶;用于治疗斯赖综合症的 β -葡萄糖醛酸苷酶;用于治疗泽尔韦格综合症的过氧化物酶

体膜蛋白70kDa,用于治疗人类免疫缺陷病毒(HIV)感染的恩夫韦地;用于治疗联合免疫缺陷疾病(SCID)的腺苷脱氨酶(ADA);用于治疗囊性纤维化的CFTR;用于治疗急性间歇性卟啉症的胆色素原脱氨酶(PBDG);用于治疗多发性硬化的干扰素- β ;用于治疗脂蛋白脂肪酶缺陷(LPLD)的脂蛋白脂肪酶,用于治疗癌症的p53;和用于治疗帕金森病的谷氨酸脱羧酶(GAD)。

[0127] 在向区室化组织或器官或其部分递送核酸的任何方法示例中,所述核酸分子编码多肽,其增加动物中的肌肉生成、增加动物中的毛发生成、增加动物中的毛生成、增加动物生长,或参与营养物合成或利用,编码的多肽选自增加动物中肌肉生成的多肽即肌肉生长抑制素抑制剂,增加动物生长的多肽即生长激素IGF-1、生长激素释放因子或鸡Ski,和参与营养物合成或利用的多肽即丝氨酸转乙酰酶和O-乙酰丝氨酸硫基酶。例如,所述肌肉生长抑制素抑制剂是卵泡抑素。

[0128] 在向区室化组织或器官或其部分递送核酸的其他方法示例中,所述核剂分子选自DNA分子、RNA分子、适配体,包括微RNA、小干扰RNA、核酶和反义核酸。在向区室化组织或器官或其部分递送核酸的任何方法示例中,所述核酸在载剂如脂囊泡、病毒或微生物中递送,其中脂囊泡是脂质体或微团且载剂是选自腺病毒、腺相关病毒(AAV)、逆转录病毒、牛痘病毒和单纯疱疹病毒的病毒。例如,所述逆转录病毒是慢病毒,或所述病毒是腺病毒,如在E1、E2a、E2b、E3或E4编码区有缺失的腺病毒。在其他示例中,血清型是2型腺病毒或5型腺病毒。在一些示例中,施用的病毒量是 $10^{-1} \times 10^{12}$ 颗粒、 $10^{-1} \times 10^6$ 颗粒、 $1 \times 10^3 - 1 \times 10^{12}$ 颗粒、 $1 \times 10^6 - 1 \times 10^{10}$ 颗粒或 $1 \times 10^7 - 1 \times 10^9$ 颗粒或约 $10^{-1} \times 10^{12}$ 颗粒、 $10^{-1} \times 10^6$ 颗粒、 $1 \times 10^3 - 1 \times 10^{12}$ 颗粒、 $1 \times 10^6 - 1 \times 10^{10}$ 颗粒或 $1 \times 10^7 - 1 \times 10^9$ 颗粒;或者是 $10^{-1} \times 10^{12}$ pfu、 $10^{-1} \times 10^6$ pfu、 $1 \times 10^3 - 1 \times 10^{12}$ pfu、 $1 \times 10^6 - 1 \times 10^{10}$ pfu或 $1 \times 10^7 - 1 \times 10^9$ pfu或约 $10^{-1} \times 10^{12}$ pfu、 $10^{-1} \times 10^6$ pfu、 $1 \times 10^3 - 1 \times 10^{12}$ pfu、 $1 \times 10^6 - 1 \times 10^{10}$ pfu或 $1 \times 10^7 - 1 \times 10^9$ pfu;或者小于 1×10^{12} 颗粒、 1×10^{11} 颗粒、 1×10^{10} 颗粒、 1×10^9 颗粒、 1×10^8 颗粒、 1×10^7 颗粒、 1×10^6 颗粒、 1×10^5 颗粒、 1×10^4 颗粒、 1×10^3 颗粒或更少;或者小于 1×10^{12} pfu、 1×10^{11} pfu、 1×10^{10} pfu、 1×10^9 pfu、 1×10^8 pfu、 1×10^7 pfu、 1×10^6 pfu、 1×10^5 pfu、 1×10^4 pfu、 1×10^3 pfu或更少。

[0129] 在本文提供的任何方法中,所述受试者选自小鼠、大鼠、牛、猪、绵羊、山羊、马和人。例如,所述受试者是18岁以下人类儿童或人类胎儿。在其他示例中,所述受试者是成年人。

[0130] 本文提供的任何方法中,所述方法还能包括施用治疗组合物,采用设置用于微创手术的注射装置如含注射器和针的装置。所述方法包括将注射装置插入通道或套管并按下柱塞以注射液体到组织中,所述通道或套管设置成在微创手术中提供组织或器官入口。所述注射装置可以是如美国临时申请号61/863,888所要求保护的装置。例如,所述注射装置可以是如本文他处提供的任何装置。

[0131] 在本文提供的任何方法示例中,所述方法还包括从夹紧的组织或器官或其部分中松开夹具装置。例如,通过使第一张紧轮转向装置远端能调整弹性带张力,因此增加带生物相容性可变形部件如球囊的闭合环中形成的弹性带量,从而松开弹性带使得组织或器官或其部分能从装置中移出或放开。在采用含可扩张生物相容性可变形部件如膨胀球囊的装置的本文方法的实施方式中,所述夹具装置能如下松开:球囊缩小并使第一张紧轮转向装置远端以延长闭合环中的弹性带。放开夹具装置可恢复组织或器官或其部分与体循环的连

通。施用核酸分子后能松开夹具装置一段预定时间,以便该预定时间足以使施用的核酸分子进入实质细胞,而恢复连通后,不超过20%的所递送的药剂未进入实质细胞或不超过20%的所递送的药剂暴露于体循环。例如,不超过15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%或5%的所递送的药剂暴露于体循环。在一些示例中,所述预定时间是施用所递送的药剂后1分钟-120分钟。在一个示范性方法中,所述预定时间是施用所递送的药剂后至少30分钟或至少约30分钟或约30分钟。

[0132] 在本文提供的任何方法示例中,所述组织或器官或者该组织或器官部分选自肝、脑脊髓、胰腺、心、皮肤、肾、肺、血管、骨、肌肉、子宫、子宫颈、前列腺、尿道和肠。在一个示范性方法中,所述组织或器官或者该组织或器官部分是肝。本文提供的方法中,所述组织或器官或者该组织或器官部分是肝,与体循环恢复连通前的预定时间至少30分钟或至少约30分钟或是30分钟或约30分钟。所述方法还能包括从通道中移出装置。

[0133] 本文提供进行微创手术的系统,包括本文所提供用于微创手术的夹具装置和设置成进入内窥镜通道以用于微创手术的注射装置。在系统示例中,所述注射装置如2013年8月8日提交、题为“微创手术的注射装置和其应用”的美国临时申请序列号61/863,888所述,且能包含于带夹具装置的本文所提供系统以用于本文提供的微创手术。

[0134] 例如,所述注射装置包括提供储液罐的注射器筒;柱塞,其设置成由装置操作者控制并在注射器筒内运动以从注射器筒中的储液罐加载和释放液体;可操作连接注射器筒的注射针,在按下柱塞时提供注射器筒所含液体注入靶组织的液体通路;延长护套,其包括含注射针的内腔和含注射针开口的远端,从而护套可在注射针周围运动;用于放置护套的控制器,包括含至少第一和第二限位器的外壳以控制注射针暴露并在外壳内以彼此预定距离提供,和具有连接构件的外壳内中央腔,其设置成在外壳内中央腔中可运动并连接护套从而护套近端偶联连接构件远端以便连接构件的运动控制护套的运动,以及安装于外壳内的定位器,其设置成在外壳限位器之间针对控制器远端前移和针对控制器近端后移。定位器可操作连接连接构件以引导定位器向远端的前移啮合第一限位器并使护套运动以包围护套内腔中的注射针,而定位器向近端的后移啮合第二限位器并使护套运动从而暴露不超过预定长度的注射针远端,这是通过注射针中的开口以注入组织。在注射装置的特定示例中,延长护套具有足够的长度和宽度以经内窥镜通道到达器官。

[0135] 附图简要说明

[0136] 本文所述附图仅用于阐明选定实施方式而不是所有可能的实施,且不意在限制本公开的范围。

[0137] 图1A和1B是根据本文所提供描述的带夹具装置的侧视图。图1A描述含任何生物相容性可变形部件的装置。图1B描述含生物相容性可变形部件即可膨胀球囊的装置,其中所述装置还包含球囊膨胀线。

[0138] 图2是图1A和1B所示手枪式握柄和护套的放大剖视图,阐明安置在箱体下的装置内部组件。

[0139] 图3A和3B是图2所示开关、棘轮机构和大张紧轮的放大图。图3A显示下位的开关和处于放松位置的棘轮机构,后者使张紧轮能顺时针旋转。图3B显示上位的开关和处于张紧位置的棘轮机构,后者使张紧轮能逆时针旋转。

[0140] 图4A-4E是图1B所示装置的带夹具部分的放大图,夹具部分组件处于示范性位置。

图4A显示缩小的球囊和张紧的弹性上带,两者都平置于细长型表面构件上。图4B显示弹性上带松开到松弛位置后的带夹具装置。球囊保持缩小并搁置在细长型表面构件上。图4C显示处于张紧位置的弹性上带和缩小并搁置在细长型表面构件上的球囊。图4D显示处于张紧位置的弹性上带和缩小的球囊。图4E是不同角度的图4D视图,阐明齿形弹性上带。

[0141] 图5A-5C阐明图1B所示装置应用于靶组织时带夹具部分的不同位置。图5A显示处于松弛位置的带和缩小并搁置在细长型表面构件上的球囊。图5B显示靶组织周围处于松弛位置的带和缩小并搁置在细长型表面构件上的球囊。图5C显示靶组织周围处于松弛位置的带和膨胀到符合靶组织结构并在张紧上面弹性带后填充剩余孔隙空间的球囊。

[0142] 图6A-6F阐明就腹腔镜手术用图1B所示装置的方法,用靶组织如成年人肝。图6A阐明图1B所示装置,如同经腹腔镜通道插入之前。球囊缩小且弹性上带张紧,因而其平置,两者都搁置在细长型表面构件上。图6B阐明图6A的装置,在此之前经腹腔镜通道插入,将带张紧/放松开关置于下位并顺时针转动张紧轮以使弹性上带处于松弛位置。球囊保持缩小并搁置在细长型表面构件上。图6C显示图6B所示装置,阐明通过弹性上带和细长型表面构件形成的闭合环在靶组织如成年人肝上的位置。图6D描述图6C所示装置和靶组织如成年人肝,但在转动护套调节器以推进护套和调整环长度到所需尺寸之后。图6E描述图6D所示装置和靶组织如成年人肝,带张紧/放松开关处于上位,使张紧轮能逆时针转动并通过张紧弹性上带到所需位置来减小靶组织上的环尺寸。图6F是图6E所示装置的带夹具部分的放大图,球囊膨胀到符合靶组织结构。

[0143] 图7阐明带夹具装置在区室化靶组织以递送治疗剂或药物中的应用。

[0144] 图8A-8C描述腹腔镜通道关于人体解剖区域的示范性位置,其能与图1A或1B所示装置和其他手术工具在腹腔镜手术中联用。

[0145] 图9A和9B描述标准注射器注射装置。图9A显示注射装置的示范性实施方式的透视图,所述装置在装置近端包含标准注射器。图9B阐明注射器筒与针头护套控制器的连接。

[0146] 图10显示集成式注射器注射装置的示范性实施方式的透视图,其中注射器筒在装置远端整合到针头护套内腔中。

[0147] 图11显示可停驻注射器注射装置的示范性实施方式的透视图,其中含辅助柱塞的注射器、筒和注射针适合在装置远端停驻于针头护套内腔中的注射器接头。

[0148] 图12A-12C阐明注射装置的针头护套在夹套与未覆盖位置之间的运动,由操作者控制。图12A的鸟瞰图显示定位器位置趋向远端,从而针头护套处于覆盖的位置。图12B的鸟瞰图显示处于中间或居中位置的定位器,处于过渡位置的针头护套在夹套与未覆盖位置之间运动。图12C的鸟瞰图显示定位器位置趋向近端,从而针头护套处于未覆盖位置。

[0149] 图13是图9A和9B所示装置的针头护套控制器的放大剖视图。

[0150] 图14是图10所示装置的针头护套控制器的放大剖视图。

[0151] 图15是图11所示装置的针头护套控制器的放大剖视图。

[0152] 图16A-16B显示图9A和9B所示装置的针头护套顶部的放大剖视图。图16A显示处于覆盖的位置的针头护套。图16B显示处于未覆盖位置的针头护套。

[0153] 图17A-17D显示图9A和9B所示装置的针头护套的放大透视图。图17A阐述无窗针头护套轴中处于覆盖的位置的针头护套。图17B阐述无窗针头护套轴中处于未覆盖位置的针头护套。图17C用可视性窗口阐明针状轴中处于覆盖的位置的针头护套。图17D用可视性窗

口阐明针状轴中处于未覆盖位置的针头护套。

[0154] 图18A-18D阐明图10所示装置的放大图。图18A是处于覆盖的位置的针头护套的剖视图。图18B是处于未覆盖位置的针头护套的剖视图。图18C是处于覆盖的位置的针头护套的透视图。图18D是处于未覆盖的位置的针头护套的透视图。

[0155] 图19A-19D阐明图11所示装置的放大图。图19A是装置远端的透视图,显示注射器接头腔和注射器接头,可停驻注射器处于脱离位置。图19B是装置远端的透视图,可停驻注射器停驻于注射器接头且针头护套处于覆盖的位置。图19C是装置远端的透视图,可停驻注射器停驻于注射器接头且针头护套处于未覆盖位置。图19D是装置远端的透视图,可停驻注射器停驻于注射器接头,针头护套处于未覆盖位置且可停驻注射器柱塞处于按压位置。

[0156] 对应的参考编号指示附图数个视图中的对应部分。对于和用给定数字最初指定部分类似但不相同的部分,采用初始数字的上撇号(')。小写参考编号(如a、b等)指相同部分,但位置或状态不同。

[0157] 发明详述

[0158] A. 定义

[0159] B. 带夹具装置

[0160] 1. 装置组件

[0161] a. 手枪式握柄

[0162] b. 护套组件

[0163] c. 夹具部分

[0164] i. 弹性上带

[0165] ii. 生物相容性可变形部件

[0166] 球囊

[0167] 2. 装置操作

[0168] C. 方法和夹具装置的应用

[0169] 1. 核酸递送的区室化方法

[0170] a. 用带夹的组织或器官区室化

[0171] b. 递送核酸分子

[0172] i. 所递送的药剂的实质注射

[0173] ii. 剂量和量

[0174] c. 区室化的终止/释放

[0175] 2. 切除和移植

[0176] 3. 其他手术

[0177] D. 所递送的药剂和其组合物

[0178] 1. 核酸分子

[0179] 2. 含核酸分子的载剂和构建体

[0180] a. 病毒和病毒载体

[0181] i. 腺病毒

[0182] ii. 腺相关病毒(AAV)

[0183] iii. 逆转录病毒

- [0184] iv. 慢病毒
- [0185] b. 非病毒载体
- [0186] 3. 示范性基因治疗剂
- [0187] 4. 组合物
- [0188] E. 注射装置
- [0189] 1. 标准注射装置
- [0190] 2. 集成式注射装置
- [0191] 3. 可停驻注射装置
- [0192] F. 系统和试剂盒
- [0193] G. 实施例
- [0194] A. 定义

[0195] 除非另有定义,本文所用的全部技术和科学术语具有与本发明所属领域技术人员通常理解相同的含义。除非另有说明,本文完整公开内容提及的所有专利、专利申请、公开的专利和出版物、Genbank序列、数据库、网站和其他发表材料通过引用全文纳入。在有多种定义用于本文术语的情况下,此章节的那些优先。提到URL或其他这类标识符或地址时,应理解这类标识符可变化且因特网上的特定信息可能变化不定,但通过网络搜索能发现等价信息。其中的引用证实这些信息的可得性和公开传播。

[0196] 如本文所用,提及“微创外科手术”或“微创手术”,有时也称为内窥镜检查,指比用于相同目的的开放手术侵入性更小的任何手术(外科手术或其他)。微创手术经皮肤或经体腔或解剖开口完成。手术一般涉及使用适于该手术的装置,如关节镜装置(用于关节和脊柱)或腹腔镜检查设备(用于腹部外科手术)。微创手术能通过经内窥镜或大型显示板间接观察手术区来完成,可包括手动或遥控操作仪器。微创手术示例是腹腔镜检查。其他微创手术包括但不限于屈光手术、经皮穿刺手术、关节镜手术、冷冻手术、显微手术、洞眼手术、胸腔镜手术、血管内手术(如血管成形术)、冠状动脉导管插入术、立体定位手术、影像导航手术和超声引导下经皮穿刺注射无水乙醇治疗。

[0197] 本文所用的“腹腔镜检查”或“腹腔镜手术”指微创手术,其中腹部手术通过小切口进行。切口通常长5毫米(mm)-20mm。切开一个或多个切口,将一般直径为5mm-12mm的腹腔镜通道插入切口内。腹腔镜手术器械经腹腔镜通道插入或取出。

[0198] 本文所用的“内窥镜”指能引入体内以看到其内在部分的仪器。“腹腔镜”指能引入腹部以看到其内在部分的仪器。

[0199] 本文所用的“内窥镜通道”指插入切口用于微创手术的医疗器械,其提供允许微创设备穿过皮肤或体腔的通路。关于腹腔镜检查,“腹腔镜通道”是插入切口用于腹腔镜手术的医疗器械,其提供允许腹腔镜检查设备穿过皮肤进入腹腔的通路。

[0200] 如本文所用,用于微创手术的设备是足够长和窄的设备以允许在微创手术中进入组织或器官。

[0201] 如本文所用,腹腔镜检查设备是足够长和窄的设备以允许在微创手术中进入组织或器官。

[0202] 如本文所用,夹具指用于压缩诸如器官、脉管或组织等解剖结构的装置,如手术装置。夹具一般具有相对的侧面和部分,其能运动或调整以产生对解剖结构两侧的压力或力

从而压缩解剖结构。夹具可具有锯齿爪、止动柄和/或可膨胀球囊。一般,能调整夹持力或压力。

[0203] 本文所用的“实质夹”指能压缩组织或器官实质的夹。

[0204] 如本文所用,带夹指具有可调节弹性带和表面构件的夹,所述表面构件包括生物相容性可变形部件如可膨胀球囊,所述弹性带和表面构件形成相对的侧面或部分,其能运动或调整以产生对解剖结构如组织或器官或其部分两侧的压力或力从而压缩解剖结构。可调节弹性带能张紧以对解剖结构产生力,而生物相容性可变形部件符合组织或器官以对解剖结构产生均匀压力。例如,可调节弹性带能张紧以对解剖结构产生力而球囊能膨胀以对解剖结构产生均匀压力。弹性带和球囊的组合确保夹在靶解剖结构周围均匀一致和压缩以产生均一夹压。本文所述带夹是闭合环装置。带夹能应用于夹紧组织或器官或其部分实质。出于本文目的,带夹设置用于微创手术如腹腔镜手术,因此包含狭长主体,允许在手术中进入体腔。所述设备可在用于微创手术的通道外手动操作。

[0205] 如本文所用,夹具部分指部分设备如带夹具装置,其能运动或调整以产生对解剖结构两侧的力从而压缩解剖结构。例如,带夹具装置的夹具部分由弹性带和表面构件构成,所述表面构件包括生物相容性可变形部件如球囊。出于本文目的,带夹的夹具部分是闭合环。

[0206] 如本文所用,涉及带夹具装置的闭合环指夹具部分为连续环而没有开口端的夹具装置。因此,夹具装置包围被夹紧的解剖结构(如组织或器官或其部分)。

[0207] 如本文所用,弹性带指由弹性并能运动的材料制成的带,但该材料含有足够柱强度从而带能保持结构并形成环。所述带可来自材料如硅酮和弹性聚合物,并能用材料增强以提供柱强度,如纤维。例如,弹性带可由聚氨酯或聚乙烯制成,例如纤维加固的聚氨酯。

[0208] 如本文所用,生物相容性可变形部件指展现变形能力的部件,因此当用于本文内所提供装置时能符合组织或器官或其部分解剖结构。这种部件通常由具有低、低到中等或中等硬性或硬度且生物相容的材料制成。展现一定变形能力的生物相容性可变形部件由硬度足够高的材料制成,从而其在施力后显示充足变形抗力并能符合解剖结构以针对组织或器官或其部分产生相对均匀夹压,用本文所提供装置。例如,用肖氏硬度A标尺测定的材料硬度或肖氏硬度可以是5A-95A,一般是10A-95A或20A-95A,如20A-85A,20A-70A,20A-60A,20A-50A,20A-40A,30A-85A,30A-70A,30A-60A,30A-50A,30A-40A,40A-85A,40A-70A,40A-60A,40A-50A,50A-85A,50A-70A,50A-60A,60A-85A,60A-70A或70A-85A(各包含端点)。材料可以是弹性或非弹性。例如,生物相容性可变形部件能生产自泡沫胶、硅酮(如低硬度硅酮)、弹性体(如低硬度弹性体)、粘弹性胶、水凝胶或非弹性薄膜。这类材料示例包括但不限于聚氨酯、聚乙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、改性聚对苯二甲酸乙二醇酯(PETG)、乙烯醋酸乙烯酯(EVA)或硅酮。在特定示例中,所述生物相容性可变形部件是球囊。

[0209] 如本文所用,提及球囊或可膨胀球囊时,指能用空气或气体填充以提高其体积的部件,用于生成可变形的膨胀球囊以便在用于本文内所提供装置时能符合组织或器官或其部分解剖结构。尽管可变形,球囊膨胀时足以抵抗施力后的变形,从而其能符合解剖结构且相对均匀的夹压能施加于组织或器官或其部分,用本文所提供装置。球囊可由弹性或非弹性材料制成,例如但不限于聚氨酯、聚乙烯、软质聚氯乙烯(PVC)、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PETG)、尼龙、乙烯醋酸乙烯酯(EVA)、乙烯-丙烯酸甲酯

(EMA)、乙烯-丙烯酸乙酯 (EEA)、聚苯乙烯-丁二烯-苯乙烯 (SBS) 和三元乙丙橡胶 (EPDM)。通常,可膨胀球囊由非弹性材料制成,如中等硬度(即硬性)材料。如本文所述,球囊或可膨胀球囊能以膨胀或缩小形式在本文所提供装置内提供。

[0210] 如本文所用,硬度或计示硬度(也称为肖氏硬度)通常指材料如橡胶或塑料对变形的抗力,一般通过具有特定大小和形状的硬度计压头在已知负荷下变形。硬度能根据肖氏硬度A和D标尺以及洛氏硬度R标尺测量。通常,硬度根据肖氏硬度A标尺(A)测量,所述标尺提供0-100标度的硬度值(A),值越高表明材料越硬。如本文所用,涉及弹性带的张紧指减少夹具部分闭合环中弹性带长度的动作或过程,以对组织或器官或其部分施力。

[0211] 本文所用的“夹压”或“夹紧压力”指通过本文所提供夹具装置施加于组织或器官或其部分或对其施加的力。例如,其是通过所述装置的带张力与生物相容性可变形部件的组合来施加于组织或器官或其部分的力。能控制或调整力或压力的程度,例如通过带张力的程度。在含可膨胀球囊的装置示例中,压力还能通过膨胀球囊膨胀来控制,所述球囊通常膨胀到符合组合或其部分的解剖结构。弹性带与生物相容性可变形部件如球囊的组合确保在靶解剖结构周围均匀一致和压缩以产生均一夹压。因此,均一夹压能在夹紧组织区域实现,即在腹腔镜手术中,厚的部分不过度夹紧而薄的部分不会夹紧不够。例如,均一夹压使血流能在靶组织完整区段中切断,而没有较厚区段过度夹紧且较薄区段不够夹紧的情况,组织无创伤。

[0212] 本文所用的“棘轮”或“棘轮机构”指仅允许一个方向旋转运动而防止反向运动的装置。棘轮可以是任何形状或构型,允许例如圆形齿轮或轮子仅以一个方向旋转运动,同时防止防止相方向的运动。例如,棘轮可以是Y形,其中棘轮顶部是例如形成“Y”顶的2个尖头。通常,棘轮顶部的尖头啮合圆形齿轮或轮子的齿。

[0213] 如本文所用,涉及弹性带的放松指增加夹具部分闭合环中弹性带长度的动作或过程。所述环中弹性带长度增加的程度能部分或完全移除施用于组织、器官或其部分的力或者另外使组织、器官或其部分摆脱弹性带施加的力。

[0214] 如本文所用,组织或器官指行使特定功能的受试者体内不同部分。组织一般是聚集在一起形成特殊功能的专门细胞。例如,肌肉组织是能收缩的特殊组织。器官由行使某一功能的组织构成。器官示例包括但不限于眼、耳、肺、肝、肾、心或皮肤。

[0215] 如本文所用,提及“组织或器官部分”指受试者身体的组织或器官部分。所述部分可以是组织或器官的区域、区段、叶、截面或其他部分。所述部分一般可运动或分离自剩余组织或器官以允许夹紧来自剩余组织或器官的部分。其还可以是足以实现试剂递送的部分。本领域技术范围包括确定足以夹紧和/或实现试剂递送的组织或器官部分的合适尺寸,这取决于具体器官、所治疗适应症、剂量、受试者尺寸和其他参数。通常,组织或器官部分具有至少约 5mm^3 、 10mm^3 或更大的体积。例如,所述部分可以是长度范围为 0.5cm - 25cm ,高度(或厚度)为 0.5cm - 20cm 和/或深度为 0.5cm - 15cm 的组织或器官。例如,肝叶或区段部分的长度为 5cm - 10cm ,高度为 1cm - 3cm 和深度(从顶部开始)为 1.5cm - 3cm 。还考虑更小的区域或部分,只要该部分能夹紧。

[0216] 如本文所用,涉及装置组件或装置的“近端”指组件或装置末端在装置应用中最接近操作装置的医学专业人士。应理解近端部分不必要是组件末端,但包括在装置应用中最接近操作装置的医学专业人士的完整组件部分。例如,关于弹性带,近端部分包括啮合张紧

轮或能啮合张紧轮或的部分,这是依靠其从张紧轮自由下垂。

[0217] 如本文所用,涉及装置组件或装置的“远端”指装置末端在装置应用中离医学专业人士最远。

[0218] 本文所用的“可操作”或“操作的”指2个组件时,意味着区段排列成就预期目的协作发挥作用,如一个组件使另一组件运动。

[0219] 本文所用的“啮合”指设计成接触或连接的2个构件彼此物理接触或连接的情况,采用的方式中其设计成接触或连接。例如,内和外螺纹彼此物理连接时能啮合,采用的方式中其设计成连接。

[0220] 如本文所用,涉及螺纹的“外”指其外表面上含螺纹的构件。

[0221] 如本文所用,涉及螺纹的“内”指内表面上含螺纹的连接构件。

[0222] 如本文所用,涉及表面构件的延长指该表面构件相对于宽度或直径较长。延长结构允许在微创手术如腹腔镜手术或外科手术中经通道使用装置以进入体腔。

[0223] 如本文所用,关于旋转的“轴向转动”或“轴向地”指某一物体绕其自身轴旋转运动。

[0224] 如本文所用,线性地或线性运动指沿直线运动。运动可以沿着水平面或垂直面的线。例如,关于护套运动,护套沿着其水平面以一个方向装置远端前移或向装置近端后移/反移。

[0225] 如本文所用,涉及组件或部分的安装指设置于或附于基底、衬背或底座。因此,组件或部分从基底、衬背或底座伸出。组件或部分能完全设置于基底、衬背或底座上或者能设置于基底、衬背或底座中,只要部分从基底、衬背或底座向外伸出并能接近。

[0226] 本文所用的“区室化核酸递送”指向区室化组织或器官或其部分递送核酸。

[0227] 如本文所用,涉及组织或器官或其部分的“区室化”、“区室化的”或其语法变异(本文也称为循环系统分离或脉管系统分离)指从体循环分离组织或器官或其部分。分离能如下完成:阻断或堵塞一个或多个且一般是所有穿过组织或器官或其部分的动脉、静脉、导管或血管,其注入、进入或另外连通体循环。组织或器官区室化的特征是中止或阻滞流向组织或器官或者该组织或器官部分或区域的血流。区室化破坏组织和器官或者组织或器官部分或区域与身体其他部位之间通过体循环的连通或入口。区室化能通过阻断或堵塞一个或多个动脉、静脉、导管或血管的任何方法完成,如用本文所述带夹具装置。

[0228] 如本文所用,列举“减少或消除流向组织或器官或其部分的血流”或相似的这类语言意味着来自动脉、静脉、导管和/或血管的血液供给或血流中有干扰或阻断,所述动脉、静脉、导管和/或血管帮助或穿过组织或器官或其部分,从而使组织或一部分组织不能接近血中携带的物质。这种阻断可导致组织或器官或者该组织或器官部分缺氧或缺血。监控流向组织或器官的血流减少或消除在技术人员水平范围内。例如,监测血流减少或消除可基于组织颜色;用墨汁或其他可报告染料的电子顺磁共振(EPR)血氧定量;用组织分光镜(TiSpec);磁共振灌注成像、正电子发射成像、近红外(NIR)光谱术、光学多普勒断层成像术、超声和其他技术人员已知方法。出于区室化核酸递送目的,流向组织或器官或一部分组织或器官的血流在组织或器官或其部分区室化中应减少超过75%、80%、85%、90%、95%且多至约或100%。

[0229] 本文所用的“体循环”或“总体循环”指从左心室携带氧合血到身体组织并使静脉

血返回右心房的总体循环。

[0230] 如本文所用,涉及区室化的连通恢复指终止组织或器官或一部分组织或器官的区室化以恢复或重新开始体循环与组织或器官连接的过程。这能如下完成:移出或解除装置、设备或过程,其用于阻断或堵塞一个或多个且一般是所有穿过组织或器官或其部分的动脉、静脉、导管或血管。

[0231] 如本文所用,涉及恢复体循环连通前终止区室化的预定时间指之前已知且能控制的限定时间。通常,预定时间是施用或递送某一所递送的药剂之后的时间,其中至少或约至少80%、85%、90%、95%或更多所递送的药剂在组织或器官细胞(如肝的肝细胞)的细胞内。一般,这类时间中有小于10%、5%或更少的所递送的药剂在通过终止区室化恢复连通后存在于体循环内。这类时间可由本领域技术人员凭经验确定,并是例如特定靶器官和所递送的药剂的函数。在特定示例中,预定时间是区室化开始和/或施用所递送的药剂后至少约或是15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟或60分钟。通过增加细胞摄取所递送的药剂的方法、机制或技术,能控制预定时间。这些方法为本领域技术人员已知并如本文所述。因此,在一些示例中,预定时间可小于15分钟,如5分钟-15分钟。

[0232] 如本文所用,涉及递送核酸分子的“持续”表达指向器官引入核酸后,观察到至少70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多峰值表达的时间段。通常,如果编码蛋白在大于6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、16个月、24个月或更长时间段中表达,则表达为持续。

[0233] 如本文所用,受试者可以是脊椎动物,更特定是哺乳动物(如人、马、猫、狗、牛、猪、绵羊、山羊、小鼠、兔、大鼠和豚鼠)、鸟、爬行动物、两栖动物、鱼和任何其他动物。所述术语不指示具体年龄或性别。因此,意在涵盖成年和新生受试者,而无论性别。如本文所用,患者或受试者可交换使用且可指需要治疗剂的受试者。术语患者或受试者包括人和兽类受试者。本文公开了治疗、工业、兽医和农业(如肉类生产)应用。

[0234] 本文所用的患者指人受试者。

[0235] 本文所用的实质指器官的组织和相关细胞部分,其行使特定器官功能并构成器官大体。因此,实质是器官的主要基本功能组织。这些包括上皮组织、肌肉组织、神经组织和其相关细胞。实质不同于基质,后者是结缔组织、血管、神经和导管。因此,实质不包括结缔组织、血管、神经和导管。例如,肝实质包括肝细胞,心脏实质包括心肌细胞如肌细胞,肾实质包括肾元。皮肤实质是上皮。

[0236] 本文所用的“实质细胞”指组织或器官所含有或由其构成的细胞。例如,肝细胞是肝主要组织的细胞,其构成70-80%的肝质量。在肺中,实质包含75%的所有肺细胞。这些包括例如沿肺泡排列的间质成纤维细胞和上皮细胞,如1型和2型细胞(肺泡细胞)及刷细胞。在皮肤中,实质内所见细胞包括上皮细胞如角质细胞。本领域技术人员熟悉多种组织和器官及其中细胞的实质。

[0237] 本文所用的实质施用指向组织或器官的实质施用。通常经注射或毛细管扩散来向实质施用。

[0238] 本文所用的组合物指任何混合物。其可以是溶液、悬液、液体、粉末、糊剂、水性、非水性或其任何组合。

[0239] 本文所用的液体指能流动的任何组合物。因此,液体涵盖采用半固体、糊剂、溶液、

水性混合物、凝胶、洗液、乳膏形式的组合物和其他这类组合物。出于本文目的,液体一般可注射。

[0240] 本文所用的治疗剂指能产生治疗效果的试剂、制品、化合物或组合物。所述试剂、制品、化合物或组合物可包括小分子药物、前药、蛋白、肽、DNA、RNA、病毒、抗体、有机分子、糖、多糖、脂质以及其组合或缀合物。所述试剂、制品、化合物或组合物可包括一般领域已知的其他药学上有效试剂从而有益于治疗一种或多种疾病或医疗病症。治疗剂示例如本文所述。

[0241] 本文所用的治疗效果指治疗受试者产生的效果,所述效果改变且通常是改善或缓解疾病或病症症状或者治愈疾病或病症。治疗有效量指施用受试者后引起治疗效果的组合物、分子或化合物含量。

[0242] 本文所用的“遗传治疗”或“基因治疗”包括将核酸分子如异源DNA转移到寻求这类治疗的患有疾病或病症的哺乳动物尤其是人的特定细胞、靶细胞。将DNA引入选定靶细胞以便异源DNA表达并因而生成编码的治疗产物。或者,异源DNA能以某种方式调节编码治疗产物的DNA表达,其能编码产物如肽或RNA,一定程度上直接或间接调节治疗产物的表达。遗传治疗还能用于递送编码基因产物的核酸以取代缺陷基因或补充引入其的哺乳动物或细胞生成的基因产物。引入的核酸可编码治疗化合物(如其生长因子抑制剂,或肿瘤坏死因子或其抑制剂,如受体),所述化合物一般不在哺乳动物宿主中生成或者不以治疗有效量或在治疗有用时间生成。编码治疗产物的异源DNA能在引入受折磨宿主的细胞前修饰以提高或另外改变产物或其表达。

[0243] 本文所用的核酸分子指单链和/或双联多核苷酸,如脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA),以及RNA或DNA的类似物或衍生物。术语“核酸”还包括核酸类似物如肽核酸(PNA)、硫代磷酸DNA以及其他这种类似物和衍生物。核酸能编码基因产物,例如多肽、调节RNA、微RNA、小干扰RNA(siRNA)和功能RNA。因此,核酸分子意在包括所有类型和大小的DNA分子,包括siRNA、适配体、核酶、互补DNA(cDNA)、包含修饰核苷酸及核苷酸类似物的质粒和DNA。

[0244] 本文所用的治疗性核酸是编码治疗产物或能产生治疗效果的核酸分子。所述产物可以是核酸如调节序列或基因,或能编码具有治疗活性或效果的蛋白。例如,治疗性核酸可以是核酶,反义、双链RNA,编码蛋白的核酸等。

[0245] 本文所用的“载剂”指试剂或导管如载体或构建体,其含有用于基因治疗的核酸分子且促进核酸分子进入细胞和/或其表达。因此,含核酸的载剂是施用受试者并含核酸分子的所递送的药剂,所述核酸分子包装于其中或与之相关。载剂示例包括但不限于病毒、病毒样颗粒、微环、质粒或载体、脂质体和/或纳米颗粒。例如,载剂可包括脂质基或其他聚合物基组合物,如脂质体、微团或反微团,其与核酸分子或其他试剂如本文提供的非病毒载体或病毒相联以递送入宿主受试者。可用多种机械技术提高或促进载剂摄取,如电穿孔、声致穿孔或“基因枪”。

[0246] 如本文所用,涉及病毒基因组所含核酸的异源核酸(也称为外源核酸或外来核酸)指一般不由生物体或病毒体内生成但从中表达或者由生物体或病毒生成但基因座不同的核酸,或者介导或编码改变内源核酸如DNA表达的调节因子的核酸,所述改变是通过实现转录、翻译或其他可调节的生化过程。因此,异源核酸通常对引入其的生物体或病毒而言不是内源的。异源核酸可指来自同一生物体中另一病毒或来自另一生物体的核酸,包括相同物

种或其他物种。然而,异源核酸可以是内源的,但其是从不同基因座表达或者其表达或序列改变的核酸(如质粒)。由此,异源核酸包括不以精确定位或位置存在的核酸分子,因为基因组中发现对应核酸分子如DNA。一般,尽管不必要,这些核酸编码一般不由生物体或病毒生成或者在其表达的病毒中采用相同方式的RNA和蛋白。异源核酸在本文中涵盖本领域技术人员识别或视作对表达核酸的病毒而言为异源、外源或外来的任何核酸如DNA。异源核酸示例包括但不限于编码外源肽/蛋白的核酸,包括诊断和/或治疗剂。由异源核酸编码的蛋白能在病毒内表达、分泌或在病毒表面表达,所述病毒中引入异源核酸。

[0247] 本文所用的DNA构建体是单链或双链,线性或环状DNA分子,含有以自然界中尚未发现方式组合和并列的DNA区段。DNA构建体作为人操作的结果存在,且包括所操作分子的克隆和其他拷贝。

[0248] 本文所用的载体(或质粒)指用于向细胞引入异源核酸以表达或复制的独立元件。所述载体通常保持游离体状态,但能设计成实现基因或其部分整合入基因组染色体。载体包括非病毒载体,如非病毒表达载体。还考虑作为人工染色体的载体,如酵母人工染色体和哺乳动物人工染色体。载体还包括“病毒载体”或“病毒型载体”。这类载剂的选择和应用为本领域技术人员熟知。

[0249] 本文所用的表达载体包括能表达可操作连接调节序列如启动子区域的DNA的载体,和能实现这种DNA片段表达的载体。这类额外区段可包括启动子和终止子序列,可选包括一个或多个复制起点、一个或多个选择标记、增强子、多腺苷酸化信号等。表达载体一般获自质粒或病毒DNA,或能包含这2种元件。因此,表达载体指重组DNA或RNA构建体,如质粒、噬菌体、重组病毒或引入合适宿主细胞后引起克隆DNA表达的其他载体。合适表达载体为本领域技术人员熟知,包括在真核细胞和/或原核细胞中可复制的那些以及保持游离体状态的那些或整合入宿主细胞基因组的那些。

[0250] 本文所用的“病毒”指没有宿主细胞不能生长或复制的一大组感染实体中的任何一个。病毒通常包含围绕遗传物质RNA或DNA的蛋白外壳,但没有半透膜,仅能在活细胞中生长和增殖。病毒包括例如当含所有或部分病毒基因组的载体转导入合适细胞或细胞系以产生所述颗粒时形成的那些。所得病毒颗粒具有多种应用,包括但不限于将核酸体外或体内转入细胞。因此,病毒是包装的病毒基因组。病毒可指单一颗粒,颗粒储液或病毒基因组。

[0251] 本文所用的病毒载体指核酸载体构建体,包括至少一个具有病毒起点的元件并能包装入病毒载体颗粒或病毒。本文提及病毒载体时,若其包装入蛋白外壳内则与病毒互换使用。病毒载体颗粒或病毒能用于将DNA、RNA或其他核酸体外或体内转入细胞。病毒载体包括但不限于逆转录病毒载体、痘苗病毒载体、慢病毒载体、单纯疱疹病毒载体(如HSV)、杆状病毒载体、巨细胞病毒(CMV)载体、乳头瘤病毒载体、猿猴病毒(SV40)载体、辛德毕斯病毒载体、塞姆利基森林病毒载体、噬菌体载体、腺病毒载体和腺相关病毒(AAV)载体。例如,合适的病毒载体描述于美国专利号6,057,155,5,543,328和5,756,086。病毒载体通常包括可操作连接外源基因的工程病毒以转移(作为载剂或穿梭)外源基因到细胞内。

[0252] 本文所用的“腺病毒载体”和“腺病毒的载体”互换使用且在本领域清楚理解为指含所有或部分腺病毒基因组的多核苷酸。腺病毒载体指编码完整基因组或修饰基因组的核酸,或当转入细胞尤其是包装为颗粒时能用于引入异源核酸的核酸。腺病毒载体可采用数种形式中的任意一种,包括但不限于裸DNA,封装于腺病毒衣壳中的DNA,包装于另一病毒或

病毒样形式(如单纯疱疹和AAV)的DNA,封装于脂质体的DNA,与聚赖氨酸络合、与合成聚阳离子分子络合、与转铁蛋白缀合、与化合物如PEG络合以免疫学地“掩盖”分子和/或增加半衰期、或缀合非病毒蛋白的DNA。

[0253] 本文所用的术语“腺病毒”或“腺病毒颗粒”用于包括任意和所有能分类为腺病毒的病毒,包括任何感染人或动物的腺病毒,包含所有群、亚群和血清型。根据上下文,提及“腺病毒”可包括腺病毒载体。有至少51个血清型的腺病毒,所述腺病毒分成数个亚群。例如,A亚群包括腺病毒12、18和31型。B亚群包括腺病毒3、7、11a、11p、14、16、21、34、35和50型。C亚群包括腺病毒1、2、5和6型。D亚群包括腺病毒8、9、10、13、15、17、19、19p、20、22-30、32、33、36-39、42-49和51型。E亚群包括腺病毒4型。F亚群包括腺病毒40和41型。因此,本文所用的腺病毒或腺病毒颗粒是包装载体或基因组。出于本文目的,所述病毒通常是重组腺病毒,其基因组中含有异源核酸分子且在腺病毒载体封装于腺病毒衣壳时形成。

[0254] 腺病毒包括任意和所有能分类为腺病毒的病毒,包括任何感染人或动物的腺病毒,包含所有群、亚群和血清型。因此,本文所用的“腺病毒”或“腺病毒颗粒”指病毒本身和其衍生物,涵盖所有血清型和亚群以及天然产生和重组的形式,除非另有说明。包括感染人细胞的腺病毒。腺病毒可以是野生型或能以本领域已知或本文公开的多种方式修饰。这类修饰包括但不限于对包装于颗粒中的腺病毒基因组的修饰以形成传染性病毒。修饰示例包括本领域已知的缺失,如一个或多个E1a、E1b、E2a、E2b、E3或E4编码区中的缺失。其他修饰示例包括腺病毒基因组中所有编码区的缺失。这种腺病毒称为“无胆(gutless)”腺病毒。所述术语还包括条件复制型腺病毒,这是优选在某些细胞或组织类型中复制但其他类型中程度较低或完全没有的病毒。

[0255] 本文所用的转导指通过病毒向细胞转入遗传物质。

[0256] 本文所用的注射装置指能用于递送液体到身体或其腔如组织或器官或其部分的装置。所述装置一般包含装有柱塞和针如空心针的空心筒或注射器,用于穿透靶标。出于本文目的,注射装置能用于微创手术,如腹腔镜外科手术或手术。

[0257] 本文所用的直接注射指直接给入靶标的注射,例如直接给入组织或器官或其部分。

[0258] 如本文所用,涉及注射装置柱塞的延伸指柱塞近端不靠近注射器筒,从而柱塞长度扩大或增加以覆盖更大区域以便能可操作连接注射器筒。

[0259] 如本文所用,提及暴露的针长度与护套限位器间距离“基本相同”指长度和距离大抵相同或本质上相同,但可能以不显著方式略有差异。例如,若暴露的针长度比护套限位器间距离长或短不超过1mm,一般小于1mm、0.8mm、0.6mm、0.5mm、0.4mm或更少,则暴露的针长度与护套限位器间距离基本相同。

[0260] 如本文所用,涉及针头护套控制器的护套限位器指控制器中形成的开口或槽以停止或终止或防止护套运动。护套与限位器啮合不必需直接,而可以间接。例如,护套能可操作连接自身啮合限位器的组件。在本文的注射装置示例中,所述护套与连接构件相连,所述构件连接直接啮合限位器的定位器以停止或终止或防止护套运动。因此,所述限位器锁定护套防止运动。所述限位器以彼此不同长度放置从而护套可运动锁入大于一个位置(如夹套和未覆盖位置)。

[0261] 如本文所用,涉及注射针的“覆盖的”或“覆盖的位置”指护套包围针,这样护套不

延伸到或暴露于护套钝端外。

[0262] 如本文所用,涉及注射针的“未覆盖”或“未覆盖位置”指针远端在护套外延伸或暴露,且护套不包围针远端。针远端未覆盖的程度取决于具体装置(如护套限位器)。

[0263] 本文所用的轴向力指直接作用于物体轴中心的力。本文所用的轴向力沿纵轴施加。例如,必须施加轴向力以按下或拉回柱塞。轴向力通常是压力例如按下柱塞,或拉力如拉回柱塞。

[0264] 本文所用的内腔指管状结构的内部。管状结构可具有规则管状或圆柱形,或不规则管状或圆柱形。

[0265] 本文所用的腔指空的或空心的空间或者通向物体内空的空间的开口。

[0266] 本文所用的凹处指由部分物体形成的空或空心空间,其进一步从剩余部分后面构建。其可以是由包围空间的壁形成的空心空间。例如,凹处可以是在末端之一或全部两个末端有开口的槽,从而物体能通过。

[0267] 本文所用的预定长度指由装置构型设置的长度。一旦构建和设置装置,预定长度不能改变。

[0268] 本文所用的加载注射器指用液体填充注射器筒、储液罐。一般通过向装置近端后拉柱塞,来加载或填充注射器筒。

[0269] 本文所用的从注射器释放、消散或喷射液体指通过按下柱塞经注射器远端排空注射器的液体内容物。

[0270] 本文所用的内衬指位于物体内表面的单独材料层。例如,若空心管状结构具有内表面上适配稍小直径的另一空心管状结构,则内部管状结构是外部管状结构的衬里。

[0271] 本文所用的集成描述用另一部分物理封闭或包住的部分。集成部分不能与包住或封闭整合部分的部分隔离。关于集成式注射装置,注射器筒由护套封闭或包住且不能与护套隔离。

[0272] 本文所用的可停驻或可分开描述能附于、停驻、扣合或置于另一部分接头内的部分。可停驻部分能以可逆方式附着停驻、扣合或置于接头内。例如,所述部分可脱离或移出,即与该部分隔离。因此,所述部分与含停驻处或接头的其他部分非物理结合。涉及可停驻注射器注射装置时,注射器能从护套中移出或脱离。同样,涉及标准注射装置时,注射器能与装置分离。

[0273] 本文所用的死体积指加载到注射器内但不能从装置中排出且保留在注射器筒或针内的液体体积。实现死体积量的因素包括针长度、针直径和注射器筒直径。

[0274] 本文所用的注射压力指从储液罐注射液体到靶标所需的压力。所需注射压力可根据液体组成性质(如粘度)、针长度和靶位点(如硬度)而不同。

[0275] 本文所用的压降指由于诸如牵制和摩擦效应等因素,压力随着液体流过液体通路而减小。能实现压降的因素包括针长度、针直径和液体粘度。如果出现显著压降,施加于柱塞的轴向力不在针头引起充足注射压力。

[0276] 本文所用的组合指2个或更多物件之间或之中的任何关联。所述组合可以是2个或更多单独物件如2种组合物或2个集合,可以是其混合物如2个或更多物件的单一混合物,或其任何变化。组合元件一般功能性关联或相关。

[0277] 本文所用的系统是含2个或更多物件或组件的组合,旨在就共同目的一起使用。例

如,所述组件能联用于实施手术,如外科手术,例如微创手术或外科手术。所述组件能制造用于共同应用。

[0278] 本文所用的试剂盒是包装的组合或系统,可选包括其他元件如额外试剂和该组合或其元件的使用说明书。试剂盒可选包括使用说明书。

[0279] 本文所用的单数形式“a”、“an”和“the”包括复数指示物,除非上下文另有明确说明。

[0280] 本文所用的术语“或”用于指“和/或”,除非明确表示指仅替代方案或替代方案互斥。

[0281] 本文所用的范围和量可表示为“大致”特定值或范围。大致还包括实际量。因此“大致5克”指“约5克”和“5克”。还应理解本文表示的范围包括该范围内的整数和其分数。例如,5克-20克的范围包括整数值如5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20克,该范围内的分数包括但不限于5.25、6.72、8.5和11.95克。

[0282] 本文所用的“可选”或“可选地”指后面所述事件或情况确实或没有发生,该描述包括所述事件或情况发生的示例和其没有发生的示例。

[0283] 为了阐明且不得以任何方式限制本公开,详细描述分成以下小段。

[0284] B. 带夹具装置

[0285] 本文所述装置是能用于微创手术如腹腔镜手术的带夹具装置以夹紧组织或器官或其部分。所述装置能经内窥镜通道如腹腔镜通道插入,并在微创手术(如腹腔镜手术)中操作,因此能在微创手术期间使用以中断流向部分组织的血流。所述装置能用于任何手术或技术,其中需要夹紧组织或器官或其部分。例如,该装置能夹紧组织或器官或其部分以从体循环实现组织或器官或组织部分区室化用于基因治疗方法,包括向区室化的靶组织或其部分递送核酸。本文所述装置还能用于其他组织手术,如移植和切除。该装置可在单通道或多通道手术中与其他微创(如腹腔镜)手术器具联用。

[0286] 带夹具装置用于夹紧任何组织或器官部分。一些情况下,根据施加于组织或器官部分的特定张力和压力,夹紧能从体循环区室化组织或器官部分。所施加的压力或力程度取决于具体应用。这些组织或器官包括但不限于肝、脑脊髓、胰腺、心、皮肤、肾、肺、血管、骨、肌肉、子宫、子宫颈、前列腺、尿道或肠。此列表不意在穷尽,本领域技术人员应认识到额外靶器官或其部分。在特定示例中,与本文所述带夹具装置一起使用的组织或器官或其部分是肝或其部分。

[0287] 如下面参考附图进一步详述,本文提供的带夹具装置包含手柄用于操作内窥镜通道(如腹腔镜通道)外装置,直径小到足以经内窥镜通道(如腹腔镜通道)适应的长且延伸的可运动护套,所述护套终止于装置远端的夹具部分。所述夹具部分包括起始于手柄并穿过护套的弹性上带,其在装置远端附于细长型表面构件远端,从手柄延伸出该装置长度。细长型表面构件包含生物相容性可变形部件如球囊,搁置在其远端表面上,从而弹性带和细长型表面构件远端的连接形成与细长型表面构件以及由此的生物相容性可变形部件如球囊之间的闭合环。

[0288] 由细长型表面构件形成的闭合环、生物相容性可变形部件如球囊和弹性上带形成装置的夹具部分。所述夹具部分可调整并能适合组织或器官部分。在含本文所述球囊的装置的实施方式中,下面的球囊能膨胀和缩小。夹具部分对面的弹性上带和下面的生物相容

性可变形部件如球囊能运动或调整以对一部分组织或器官两侧施力或压力。在夹紧力作用下,生物相容性可变形部件如球囊能符合解剖结构以确保夹紧力均匀分布从而统一压缩被夹紧的组织或器官部分。这意味着带夹可避免用其他夹具装置出现的夹紧组织过度夹紧和夹紧不足问题。另外,含球囊装置的实施方式允许用户精确控制和监测夹紧力。在其他示例中,夹紧力能由带张力控制。

[0289] 例如,弹性上带可调整成增加(即放松)或减小(即张紧)闭合环尺寸,从而使得贴合部分(snug)适应任何所需组织或器官部分。可运动护套能通过轴向转动进一步线性调整,以改变或调整夹具部分尺寸从而适合组织或器官部分。由于弹性带与位于细长型表面构件中毗邻弹性带的生物相容性可变形部件如球囊形成闭合环,本文所提供带夹具装置的夹具部分能符合有张力的任何所需组织或器官部分解剖结构。张力能由操作者调整以确保贴合部分适应组织或器官,而不施加有损组织或器官的夹紧力。弹性上带和可运动护套的可调节性还能适应任意多种组织厚度。

[0290] 此外,大部分组织尺寸不一(如组织中厚度不均)。特别地,肝如成年人肝在整个组织中组成不一致,即肝厚度在整个组织中可变化,因此腹腔镜手术中的夹紧可能困难。生物相容性可变形部件符合组织解剖结构的能力,例如当施加带张力时,可填充任何间隙,其中所述组织在其他情况下不会接触夹具部分。例如,在含球囊装置的实施方式中,球囊膨胀的能力使所述夹具部分进一步符合组织解剖结构并填充该夹具部分的任何间隙,其中弹性带不完全符合。这意味着实现对夹紧组织完整部分的均匀压力。这确保所述夹具部分在全部夹紧部分周围均匀啮合并避免选定区域的夹紧不足或过度夹紧。因此,本文所述带夹具装置可在组织夹紧区域中实现均匀夹压以及全部夹紧部分的区室化,即腹腔镜手术期间厚的部分不会过度夹紧而薄的部分不会夹紧不足。

[0291] 本文所述带夹具装置能在微创手术中经内窥镜通道如腹腔镜通道插入。通常,通道尺寸范围为3mm-15mm,例如,通道尺寸即直径可多至3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm,或大致多至3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm,但在一些示例中能更小,如小于3mm,或更大,如大于15mm。本文所述装置设计成适合用于微创手术的典型通道,如典型内窥镜通道,例如直径为3mm-15mm或约3mm-15mm,通常直径是至少5mm、10mm或12mm或至少约5mm、10mm或12mm,一般至少10mm或至少约10mm。例如,待经通道插入的装置部分即本文所述装置护套组件和夹具部分的直径可与通道尺寸相同。例如,待经通道插入的装置部分即本文所述装置护套组件和夹具部分的直径可为3mm-15mm或约3mm-15mm,如直径可多至3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm,或大致多至3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm,但在一些示例中能更小,如小于3mm,或更大,如大于15mm。通常,直径是至少5mm、10mm或12mm或至少约5mm、10mm或12mm,一般至少10mm或至少约10mm。在一个示例中,待经通道插入的装置部分即本文所述装置护套组件和夹具部分的直径可与通道尺寸相同。例如,待经通道插入的装置部分即本文所述装置护套组件和夹具部分的直径是10mm或约10mm。

[0292] 带夹具装置个体组件的尺寸和直径能调整至所需尺寸,所述组件包括手枪式握柄部分、护套组件和夹具部分。例如,带夹具装置的尺寸和大小能根据一种或多种考虑确定,包括但不限于待进行的手术、装置用户、靶组织的特性和物理性质以及技术人员水平范围

内的其他因素。例如,本文所提供带夹具装置的尺寸和大小一般参考肝如成年人肝来描述,但可就带夹具装置调整和改变,所述带夹具装置能夹紧任何组织或器官。

[0293] 参照附图描述带夹具装置,包括装置的示范性实施方式。带夹具装置一般具有2个末端即手柄端和夹子端。除非另有注明,本文所述装置的示范性实施方式从“正面”描述,夹子端一般在图中朝向右侧,手柄端一般朝向图左侧。夹子端一般描述为“远端”而手柄端一般描述为“近端”。术语“远端”意在指离手持装置的人最远的带夹具装置端,术语“近端”意在指离装置持有人最近的带夹具装置端。如果组件描述成更“靠近”另一组件,该组件更接近近(手柄)端。如果组件描述成更“远离”另一组件,该组件更接近远(夹子)端。

[0294] 一些带夹具装置组件能顺时针和逆时针旋转或转动。术语“顺时针”和“逆时针”用于描述从装置正面观察时的旋转方向。一些组件能绕轴旋转或转动。旋转被描述为“轴向转动”或与组件绕着转动或旋转的轴“轴向”相关。轴向运动可以是朝着装置正面和朝着装置背面的旋转。术语“向前旋转”用于描述朝着装置正面的旋转方向。术语“向后旋转”用于描述朝着装置背面的旋转方向。一般,旋转方向由附图箭头指示。一些组件能线性运动、推进或缩回。运动被描述为相对于运动涉及的另一组件“线性运动”或“线性地”。线性运动可朝着装置远端或装置近端。例如,如下所述,护套的线性运动能由向前或向后轴向转动引发,从而护套线性前进或缩回。

[0295] 1. 装置组件

[0296] 图1A和1B阐明本文所述带夹具装置的实施方式。本文所述带夹具装置10一般包括手枪式握柄部分20、护套组件30和夹具部分40。细长型表面构件41连接手枪式握柄部分20,其中其固定于手枪式握柄部分20的箱体26上面部分(如图3A和3B详示)。细长型表面构件41可通过能连接和保持2个组件在一起的任何方式固定于手枪式握柄部分20,例如细长型表面构件41可用螺丝、别针、狭缝、槽或机械方法固定于手枪式握柄部分20,所述机械方法包括焊接或用粘合剂。在一个示例中,细长型表面构件41用螺丝附于手枪式握柄部分20。

[0297] 如图1A和1B所示,细长型表面构件41从手枪式握柄部分20水平延伸到装置远端,并用作将护套组件30和夹具部分40连接手枪式握柄部分20的基底。护套组件30的中空护套32内腔是绕着细长型表面构件41的圆柱形,并能关于细长型表面构件41线性运动,如下面参照图6D详述。细长型表面构件41在中空护套32远端外存在并延长夹具部分40长度,其中其在夹具部分40上形成基底。

[0298] 因此,细长型表面构件41延伸带夹具装置的护套组件30和夹具部分40的完整长度,其是插入内窥镜通道(如腹腔镜通道)的部分。护套组件30和夹具部分40的总长度足以允许在微创手术(如腹腔镜手术)中进入体内和进入感兴趣靶标,如一般长100mm-600mm,如100mm-500mm或约100mm-500mm,一般250mm-400mm或300mm-400mm或约250mm-400mm或300mm-400mm。例如,选择护套组件30和夹具部分40和由此细长型表面构件41的综合长度,取决于诸如待进行的手术类型、待夹紧的组织或器官、或患者类型如成年患者或儿童患者等因素以及其他因素。下面结合具体附图讨论各个体组件和构型的更详细描述。

[0299] a. 手枪式握柄

[0300] 如图1A和1B所示,手枪式握柄部分20用作带夹具装置10用户的握柄或手柄。手枪式握柄20的大小即长、宽和高,可以是足以为用户提供夹具装置10握柄同时还封闭内部组件的任何大小,所述组件控制带夹具装置10的运转。通常,手枪式握柄20的长度即近端到远

端为15mm-50mm或约15mm-50mm,一般20mm-40mm或约20mm-40mm,例如约30mm。手枪式握柄20的宽度即正面到背面可以是10mm-40mm或约10mm-40mm,通常15mm-30mm或约15mm-30mm,例如20mm。高度即顶部到底部可以是75mm-200mm或约75mm-200mm,通常100mm-150mm或约100mm-150mm,例如125mm。

[0301] 手枪式握柄20包括封闭控制带夹具装置10运转的内部组件的箱体26,如图1A和1B所示。箱体26包括暴露带张紧/松开开关23的开口27。带张紧/松开开关23能暴露于箱体26两侧,即可以有2个开口,在箱体26每侧一个,或带张紧/松开开关23可仅暴露于箱体26一侧,即箱体26有1个开口。开口27能位于箱体26任一侧或两侧。例如,开关23能暴露于箱体26两侧以允许装置10的操作者灵活控制和操作装置,如操作者能用左手或右手接触开关23。带张紧/松开开关23可以动且能向上和向下运动,即到上位和下位(见3A和3B)。

[0302] 如图1A和1B所示,箱体26封闭带夹具装置10的内部组件。箱体26可以由硬塑料,如注射模制塑料制成。例如,塑料可以是能注射模制的任何类型,如任何热塑性或热固性聚合物,包括但不限于丙烯酸(即聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA))、聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物(ABS)和聚碳酸酯。箱体26可以由金属制成。箱体26包括正面和背面。箱体26的正面和背面能由一个连续组件即块构成。箱体26的正面和背面能由2个分开组件即块构成。在一个示例中,箱体26的正面和背面由2个分开组件构成,例如2块塑料。2个组件即块能彼此接近和附着以封闭位于手枪式握柄部分20中的内部组件。2个组件可通过能连接和保持2个组件在一起的任何方式相互附着,例如2个组件即块能沿着缝拧接、胶合、热封、焊接、或模制在一起以形成箱体26。

[0303] 图2显示手枪式握柄20的放大剖视图,以及联接护套调节器31和护套组件30的护套32,如图1A和1B所示。图2的剖视图阐明带夹具装置10中手枪式握柄部分20的内部组件,如其在箱体26下出现。

[0304] 如图2所示,弹性上带42的近端封闭在带夹具装置10的手枪式握柄部分20内。一部分弹性上带42弯曲并啮合第二带张紧轮22,而弹性上带42的近端在手枪式握柄部分20内自由垂挂。例如,弹性上带42的近端不附于手枪式握柄部分20内以允许弹性上带42运动,即张紧或松开。随着弹性上带42和细长型表面构件41水平延伸到空心护套调节器31近端内,弹性上带42的远端架在细长型表面构件41的支架45中并由其引导。弹性上带42持续通过护套调节器31并延伸中空护套32长度,延伸到夹具部分40(如图1A和1B所示)。

[0305] 关于下面弹性带描述,弹性上带42总长度即封闭在手枪式握柄部分20内、延伸通过护套32并扩展到夹具部分40的弹性上带42长度,至少与以下一样长:弹性上带42啮合第二带张紧轮22所需的量,加上护套组件30和夹具部分40的长度,加上能放松或松开中空护套32以形成环的弹性上带42的长度,所述环大到足以置于靶组织上(参照图6B如下更详细描述)。一般,弹性上带42总长度是200mm-1000mm或约200mm-1000mm,通常300mm-800mm,例如400mm-600mm,但可根据装置尺寸和待夹紧组织尺寸而更长或更短。在一个示例中,当靶组织需要3cm-4cm长的环且护套组件30和夹具部分40的长度为或大致400mm时,弹性上带42总长度是至少450mm。

[0306] 如图2所示,第一带张紧轮21和第二带张紧轮22位于手枪式握柄20之内的顶部。第一带张紧轮21部分封闭于手枪式握柄20内,第二带张紧轮22完全封闭于手枪式握柄20内,即没有第二带张紧轮22部分在手枪式握柄20外部。第一带张紧轮21剩余部分从手枪式握柄

20伸出且未封闭于手枪式握柄20内。

[0307] 第一带张紧轮21连接第二带张紧轮22。第一带张紧轮21和第二带张紧轮22在第一带张紧轮21中心处或附近连接在一起。第一带张紧轮21和第二带张紧轮22可通过能固定约束2个轮的任何方法连接,例如所述轮能熔凝、拧接、胶合、热封、焊接、或模制在一起。第一和第二带张紧轮21、22分别可运动并彼此相对运动,即第一带张紧轮21和第二带张紧轮22彼此不独立运动。第一和第二带张紧轮21、22分别能顺时针或逆时针转动或旋转。旋转第一带张紧轮21同时使第二带张紧轮22旋转并啮合搁置在第二带张紧轮22上的弹性上带42。

[0308] 如图2所示,第一带张紧轮21和第二带张紧轮22的外缘都能为齿形。第一带张紧轮21的外缘能为齿形,例如用于在旋转第一带张紧轮21时为用户提供牵引,如顺时针或逆时针旋转第一带张紧轮21时。第二带张紧轮22的外缘能为齿形,例如用于啮合和运动搁置在第二带张紧轮22上的弹性上带42,如在第一和第二带张紧轮21、22分别同时顺时针或逆时针旋转时。例如,如前所述,弹性上带42能为齿形,如具有横向或纵向穿过弹性上带42的齿。弹性上带42中各独立齿之间的距离即齿隙可以是与第二带张紧轮22的齿互补的距离,如同一个齿隙。例如,弹性上带42的齿横向设置且弹性上带42的齿隙与第二带张紧轮22的齿隙互补,例如与之相同,第二带张紧轮22的齿能啮合弹性上带42的齿,因此随着带42沿第二带张紧轮22弯曲,保持弹性上带42位于第二带张紧轮22上,并在第一和第二带张紧轮21、22分别同时旋转时引起弹性上带42运动。

[0309] 一般,如图2所示,第一带张紧轮21直径长于第二带张紧轮22。第一带张紧轮21的直径能为20mm-50mm或约20mm-50mm,如25mm-45mm或30mm-40mm或约25mm-45mm或30mm-40mm,但若需要可以更长或更短。第二带张紧轮22的直径能为5mm-30mm或约5mm-30mm,如5mm-25mm或10mm-20mm或约5mm-25mm或10mm-20mm,但若需要可以更长或更短。在一些实施方式中,第一带张紧轮21与第二带张紧轮22的尺寸比是或约为10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3.3:1、3:1、2:1、1.5:1或1:1或更小。一般,测定第一带张紧轮21与第二带张紧轮22的比例和直径,从而为装置10的操作者提供操作者拇指施力与带张紧(弹性上带42)之间的机械效益。例如,更大的第一带张紧轮21尺寸能通过工效学测定,第一带张紧轮21与第二带张紧轮22之比能通过每次棘轮点击张紧弹性上带42所需量来测定,如下参照图3A和3B所述。在一个示例中,第一带张紧轮21与第二带张紧轮22直径之比是3.3:1。另一示例中,第一带张紧轮21具有33mm的直径且第二带张紧轮22具有10mm的直径。

[0310] 图2描述带张紧/松开开关23和棘轮机构24的位置。带张紧松开开关23和棘轮机构24共同作用以控制第一带张紧轮21能旋转的方向,例如顺时针或逆时针。第一带张紧轮21的顺时针或逆时针进而控制弹性上带42,其分别松开即放松以及收进即张紧,如参照图6B和6E所详述。

[0311] 如图2所示,带张紧/松开开关23位于手枪式握柄20中心处或附近的第一带张紧轮21之下。开关23从箱体26各侧或仅一侧的开口突出,并在箱体26任一侧或两侧可及,如上参照图1A和1B所述。带张紧/松开开关23能上下运动,如由带夹具装置10的用户手动上下运动。

[0312] 棘轮机构直接位于第一带张紧轮21之下,如图2所见。如下参照图3A和3B更详细描述,运动带张紧/松开开关23进入上位或下位可同时将棘轮机构24分别移入张紧和松开位置。棘轮机构24可以是Y形,或当带张紧/松开开关23移入上位或下位时能接触即触摸第一

带张紧轮21和带张紧/松开开关23的任何形状。例如,棘轮机构24底部能接触即触摸带张紧/松开开关23,而棘轮机构24顶部能接触即触摸第一带张紧轮21底部。Y形棘轮机构24底部靠在开关23侧面并能通过向上或向下运动开关23来改变位置即转移,如下参照图3A和3B所详述。Y形棘轮机构24顶部终止于2个尖头。根据带张紧/松开开关23的位置,各尖头顶部能接触即触摸第一带张紧轮21底部。所述尖头可以是棘轮机构24处于张紧或放松位置时能置于即放于第一带张紧轮21齿之间的任何尺寸,如下参照图3A和3B所述。Y形棘轮机构24下部近侧(关于开关23)能具有一个或多个槽或凹口,当开关23移入上或下位时带张紧/松开开关23能适应,如图3A和3B详细所见。

[0313] 图3A和3B是图1A和1B及图2所示手枪式握柄部分20的放大剖视图,阐明第一带张紧轮21、棘轮机构24(24a和24b)与带张紧/松开开关23(23a和23b)之间的关系。带张紧/松开开关23(23a和23b)和棘轮机构24(24a和24b)的位置控制第一带张紧轮21能旋转的方向(即顺时针或逆时针),因而控制弹性上带42运动(即放松或张紧)。通过旋转第一带张紧轮21能张紧或放松弹性上带42的程度可由放松或吸进每次棘轮机构点击的弹性上带42的量确定,其中点击描述第一带张紧轮21的齿在Y形棘轮机构24尖头上的运动。例如,能松开或收进每次棘轮点击的弹性上带42的量可为0.1mm-1mm或约0.1mm-1mm,一般0.25mm-0.75mm,通常约0.5mm,但若需要可以更多或更少。

[0314] 带张紧/松开开关23(23a和23b)能向上或向下运动以同时将Y形棘轮机构24(24a和24b)分别移入张紧或放松位置。例如,Y形棘轮机构24a的一个尖头如离开关23更远的尖头顶部在开关23a处于下位时能接触即触摸第一带张紧轮21底部,Y形棘轮机构24b的另一尖头如更接近开关23的尖头顶部在开关23b处于上位时能接触即触摸第一带张紧轮21底部,如下所述。

[0315] 图3A显示开关23a处于下位时,第一带张紧轮21、棘轮机构24a和带张紧/松开开关23a彼此之间的位置。处于下位的开关23a接触棘轮机构24a底部,将棘轮机构24a放置或运动到放松位置。棘轮机构24a处于放松位置时,棘轮机构24a放置成将棘轮机构24a底部推离开关23a(即朝向带夹具装置10的近(手柄)端)和Y形棘轮机构24a上部推向开关23a(即朝向带夹具装置10的远(夹)端)。在放松位置中,离开关23更远的尖头顶部能接触即触摸第一张紧轮21底部。这使第一张紧轮21能顺时针旋转并防止逆时针旋转。随着第一带张紧轮21顺时针旋转,所述尖头会脱离其齿,但针对反(即逆时针)向轮21的齿结合。例如,离Y形棘轮机构24a开关更远的尖头顶部能置于即放于第一带张紧轮21底部上的2个齿之间,因此防止逆时针旋转。第一带张紧轮21的顺时针旋转使相连的第二张紧轮22顺时针旋转(如上参照图2所示和描述)。第一和第二带张紧轮21、22的顺时针旋转分别松开或放松啮合第二带张紧轮22的弹性上带42。例如,第一和第二带张紧轮21、22的顺时针旋转分别经中空护套32松开弹性上带42并进入夹具部分40(如下参照图4B所示和描述)。

[0316] 图3B显示开关23b处于上位时,第一带张紧轮21、棘轮机构24b和带张紧/松开开关23a彼此之间的位置。处于上位的开关23b接触棘轮机构24b中间部分,将棘轮机构24b放置或运动到张紧位置。棘轮机构24b处于张紧位置时,棘轮机构24b放置成将棘轮机构24b底部推向开关23b(即朝向带夹具装置10的远(夹)端)和Y形棘轮机构24b上部推离开关23b(即朝向带夹具装置10的近(手柄)端)。在张紧位置24b中,离开关23更近的尖头顶部能接触即触摸第一张紧轮21底部。这使第一张紧轮21能逆时针旋转并防止顺时针旋转。随着第一带张

紧轮21逆时针旋转,所述尖头会脱离其齿,但针对反(即顺时针)向轮21的齿结合。例如,离Y形棘轮机构24b开关更近的尖头顶部能置于即放于第一带张紧轮21底部上的2个齿之间,因此防止顺时针旋转。第一张紧轮21的逆时针旋转使相连的第二带张紧轮22逆时针旋转(如上参照图2所示和描述)。第一和第二带张紧轮21、22的逆时针旋转分别收进或张紧啮合第二带张紧轮22的弹性上带42(如上参照图2所述)。例如,第一和第二带张紧轮21、22的逆时针旋转分别经中空护套32收进即张紧弹性上带42并进入夹具部分40(如下参照图4C所示和描述)。

[0317] b. 护套组件

[0318] 如上所示,手枪式握柄20通过固定于手枪式握柄20远端上部的细长型表面构件41来连接护套组件30(图1A和1B所示)并延伸护套组件30和夹具部分的总长度。细长型表面构件可以为弹性或刚性。一般,细长型表面构件41为刚性,从而其坚硬且缺乏弹性,并能由不会弯曲的任何材料如金属或硬质塑料制成。例如,细长型表面构件41能由金属如黄铜、不锈钢、钛或铝制成,或由硬质塑料如玻璃纤维填充尼龙制成。在一个示例中,细长型表面构件41由黄铜制成。另一示例中,细长型表面构件41由不锈钢制成。

[0319] 细长型表面构件41可以是平面或带槽。例如,关于图2、3A、3B、4B和4C,细长型表面构件41可为凹形并具有碰到细长型表面构件41中部的支架45。在一个示例中,细长型表面构件41具有碰到细长型表面构件41完整长度中心的支架45,即贯穿护套组件30和夹具部分40的细长型表面构件41的长度(如图2、3A、3B、4B和4C所详述)。例如,细长型表面构件41的支架45能用于稳定即固定弹性上带42搁置在装置10护套组件30和夹具部分40的细长型表面构件41上。在含能膨胀的生物相容性可变形部件如可膨胀球囊的装置实施方式中,细长型表面构件41的支架45还固定球囊膨胀线25和球囊43,其分别搁置在护套组件30和夹具部分40中的细长型表面构件41上。

[0320] 如图1A和1B所示,细长型表面构件41从护套32远端延伸形成装置10的夹具部分40下段。细长型表面构件41区段即连接手枪式握柄20并从手枪式握柄20向远侧延伸的细长型表面构件区段,由护套32包围,护套32是延长护套组件30长度的空心、圆柱形轴。护套32从护套调节器31向远侧延伸(如下进一步讨论),终止于夹具部分40的近端。

[0321] 护套32经护套调节器31连接手枪式握柄20。护套调节器31是可调节的钮,其是空心圆柱体并在两端即近端和远端有开口,以分别容纳手枪式握柄20和中空护套32。护套调节器31的近端开口连接手枪式握柄20。护套调节器31能连接手枪式握柄20,这是通过允许护套调节器31在转动或旋转如向前或向后旋转时绕护套32轴向和自由旋转的任何方式。例如,别针或螺丝能插入位于手枪式握柄20内对应槽的护套调节器31。另一示例中,护套调节器31的内表面能适应啮合手枪式握柄20内对应槽的环。护套调节器31的远端开口连接护套32近端开口。护套32近端能经护套螺旋机构33拧入护套调节器31远端开口(如图3A和3B所示)。例如,护套调节器的内表面可刻有螺纹,如内螺纹,护套32近端的外表面可刻有互补的螺纹,如螺旋机构33的外螺纹。

[0322] 护套调节器31任一末端的开口可具有任何尺寸即直径,其大到足以在近端容纳手枪式握柄20和在远端容纳护套32。例如,护套32具有10mm直径时,护套调节器31的远端开口略大于10mm。护套调节器31能轴向旋转并能转动或旋转以控制护套32运动,如下参照图6D所述。

[0323] 护套调节器31通常由硬塑料制成,如注射模制塑料。例如,塑料可以是能注射模制的任何类型,如任何热塑性或热固性聚合物,包括但不限于丙烯酸(即聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA))、聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物(ABS)和聚碳酸酯。护套调节器31的近端外表面能有凹口或成脊状以形成钮31上的握把部分用于用户。

[0324] 如图1A和1B所示,护套32可涉及细长型表面构件41线性运动。例如,护套32能沿着细长型表面构件41向远侧推进,即朝着装置10的夹具装置端或远端,并能沿着细长型表面构件41向近侧缩回,即朝着装置10的手柄端或近端。推进护套32可减少从中空护套32远端延伸出的夹具部分40的量,缩回护套32可增加从中空护套32远端延伸出的夹具部分40的量。例如,能调整护套32以分别通过推进或缩回护套32来包围更多或更少细长型表面构件41。护套32的位置和线性运动由护套调节器31经螺旋机构33控制(如图6D详述)。关于图3A和3B以及图6D,护套调节器31的内表面远端部分刻有螺纹如内螺纹,并啮合有外螺纹的螺旋机构33以在护套调节器31转动或旋转时,相对于细长型表面构件41线性推进和缩回护套32,如下参照图6D所述。

[0325] 护套32的长度通常是100mm-500mm或约100mm-500mm,一般200mm-400mm或约200mm-400mm,例如300mm,但若需要则长度可以更长即大于500mm,或更短即小于100mm。在一个示例中,护套32的长度是300mm或约为300mm。

[0326] 通常,如图1所示,中空护套32的直径是3mm-15mm或约3mm-15mm,例如,直径多至3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm,或多至约3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm,或约为3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm,但在一些示例中,可以更小如少于3mm,或更大如高于15mm。通常,护套32的直径是至少5mm、10mm或12mm或至少约5mm、10mm或12mm,一般至少10mm或至少约10mm。在一个示例中,护套32的直径是10mm或约为10mm。

[0327] 护套32能由任何耐用材料制成,如常用于腹腔镜手术器械的那些,例如不锈钢或耐用塑料。

[0328] c. 夹具部分

[0329] 如图1A和1B所示,细长型表面构件41从中空护套32远端延伸出并形成夹具部分40底部。如图1A和1B所示,夹具部分40的长度如从中空护套32延伸出的细长型表面构件41长度,可以是容纳需要夹紧的所需区域或部分组织的任何长度。特定尺寸能根据待夹紧组织的大小和物理性质、待夹紧组织的具体量测定。例如,待夹紧组织的量可基于例如待实施手术的性质或待夹紧的具体组织。组织大小和因而所需的夹尺寸可根据夹子在组织的位置而变化。例如,所述组织是肝如人肝时,组织的边缘更薄且尺寸如厚度朝向组织中央增加。例如,待夹紧组织的大小可根据受试者而变化。在一个示例中,所述组织可以更大,例如成年人肝。另一示例中,所述组织可以更小,例如人类儿童的肝。更大的组织可能需要更长的夹具部分40,而更小的组织可能需要更短的夹具部分40。在一个示例中,待夹紧的组织是肝,如成年人肝,用本文所述带夹具装置夹紧的组织量通常是1g-100g或约1g-100g,如5g-50g肝或约5g-50g。

[0330] 在特定示例中,可关于待夹紧组织即靶组织进行建模研究如3-D建模研究如MRI建模研究,以确定组织的结构和其他物理性质、容纳给定区域或部分所需的夹尺寸。在一些示例中,建模研究的结果用于确定带夹具装置10的大小和组件尺寸。在一个示例中,肝例如成

年人肝的3-D建模研究结果用于确定带夹具装置10的大小和组件尺寸。建模研究如3-D建模研究例如MRI建模研究的结果能用于确定在手术如腹腔镜中待夹紧或区室化的组织量。例如,组织如人肝的3-D模型能逐步分段以确定能分离的组织体积。所述体积可以是待分离的组织体积,随后能用于确定夹40的合适尺寸即宽和高。

[0331] 通常,从中空护套32延伸形成夹具部分40基底的细长型表面构件41的长度是50mm-500mm或约50mm-500mm,一般75mm-200mm或约75mm-200mm,例如多至100mm或至少100mm或约100mm,但若需要则长度可以更长即大于500mm,或更短即小于50mm。在一个示例中,待夹紧组织是肝,如成年人肝,夹具部分40的长度如从中空护套32延伸出的细长型表面构件41的长度是100mm或约为100mm。

[0332] i. 弹性上带

[0333] 细长型表面构件41终止于夹具部分40远端。如图1A和1B所示,细长型表面构件41远端包括凹口44。细长型表面构件41在凹口44处连接弹性上带42。弹性上带42末端能插入凹口44以形成细长型表面构件41与弹性上带42之间的闭合环。凹口44可以是任何尺寸即深度,即能接受弹性上带42末端。例如,凹口44可与弹性上带42厚度一样深或大致一样深。细长型表面构件41与弹性上带42之间在凹口44处形成的闭合环能固定,即细长型表面构件41和弹性上带42能在凹口44处封在一起形成密封闭合环。例如,弹性上带42和细长型表面构件41能胶合、热封、焊合、或模制在一起。或者,细长型表面构件41与弹性上带42之间在凹口44处形成的闭合环可拆开或扣紧,即弹性上带42能插入凹口44以和细长型表面构件41形成闭合环并可从凹口44移出以打开环,如用钩子。例如,弹性上带42能从细长型表面构件41的凹口44移出,需要时再插入细长型表面构件41的凹口44。

[0334] 图1A和1B所示的弹性上带42起始于手枪式握柄部分20并穿过中空护套32,如下参照图2更详细描述。弹性上带42从中空护套32远端延伸出并终止于夹具部分40的细长型表面构件41中的凹口44。从护套32延伸出的弹性上带42长度能调整并可取决于弹性上带42的位置。例如,带42可处于松弛位置(如图1A和1B所示)、平面位置或张紧位置,如下参照图4A-4D更详细描述。一般,从中空护套32延伸出的弹性上带42长度至少与从中空护套32延伸出的细长型表面构件41长度一样,例如至少或至少约50mm、75mm、100mm、150mm、200mm、250mm、300mm、350mm、400mm、450mm或500mm或更多。在一个示例中,从中空护套32延伸出的弹性上带42长度至少为100mm。

[0335] 如图1A和1B所示,弹性上带42可由能与细长型表面构件41形成环的任何材料制成,随着带松开或放松护套32,其不会平置在细长型表面构件41上。例如,所述材料可以有合适刚度和/或形状记忆的任何材料,从而随着弹性上带42松开或放松护套32,能与细长型表面构件41形成环。能用于弹性上带42的材料示例包括具有柱强度和弹性组合的任何材料,在弹性上带42放松后允许弹性上带42与细长型表面构件41形成环而不是平置在细长型表面构件41上,并且足够软以符合靶组织张紧时的结构。材料示例包括常用于制备皮带的材料,例如同步皮带,例如但不限于硅酮和弹性聚合物,如聚氨酯或聚乙烯,例如弹性的、加固的聚氨酯,如纤维加固的聚氨酯。在一些示例中,纤维增强通过聚合物完整封装和/或生物相容。

[0336] 弹性上带42可带齿(参见例如图4E)。弹性上带上的齿能横向或纵向穿过弹性上带42。例如,就弹性上带42全长而言,即从手枪式握柄部分20延伸穿过护套组件30和夹具部分

40的弹性上带42全长,所述齿能横向或纵向穿过弹性上带42。在一个示例中,装置10的一端如手柄端的齿能横向穿过一部分弹性上带42,装置10的另一端如夹具装置端的齿能纵向穿过弹性上带42。在一个示例中,弹性上带42由弹性、齿形的玻璃纤维加固的聚氨酯制成。另一示例中,弹性上带42由模压、弹性、无玻璃纤维加固的聚氨酯制成。弹性上带42各独立齿之间的空间即齿隙能选择成具有与第二带张紧轮22相同的空间即齿隙(如下参照图2更详细所示和描述)。弹性上带42的齿隙能根据一种或多种因素选择,包括但不限于弹性上带42的尺寸或宽度、第二带张紧轮22的齿隙、或靶组织特性。通常,需要更小的齿隙,因为其产生齿间更小的间隔并能更精细控制和流畅操作弹性上带42。一般,弹性上带42上的齿隙与第二带张紧轮22的齿隙相同。

[0337] ii. 生物相容性可变形部件

[0338] 如图1A所示,生物相容性可变形部件4搁置在夹具部分40的细长型表面构件41上。由于生物相容性可变形部件4搁置在细长型表面构件41远端中且弹性带连接细长型表面构件41远端,通过弹性带42和生物相容性可变形部件4还形成闭合环。在闭合环中,生物相容性可变形部件4位于细长型表面构件41与弹性上带42之间。形成的闭合环足以能够在微创手术中适合组织或器官或其部分。因此,生物相容性可变形部件4形成所述装置夹具部分的对侧部分,以对组织或器官或其部分产生压力或力从而压缩解剖结构。

[0339] 出于本文装置的目的,生物相容性可变形部件是能符合组织或器官或其部分解剖结构的任何部件以确保夹紧力均匀分布和因而是均一压力,使用本文的装置。生物相容性可变形部件4能由符合靶组织并对靶组织加压而不损伤该组织的任何材料制成,此时靶组织置于闭合环内并从带张紧中施加夹压或夹紧力。生物相容性可变形部件4能由任何可变形聚合材料制成。能用于生物相容性可变形材料4的材料示例是低、低到中等或中等硬度(即硬性)材料。例如,用肖氏硬度A标尺测定的材料硬度或肖氏硬度可以是5A-95A,一般是10A-95A或20A-95A,如20A-85A、20A-70A、20A-60A、20A-50A、20A-40A、30A-85A、30A-70A、30A-60A、30A-50A、30A-40A、40A-85A、40A-70A、40A-60A、40A-50A、50A-85A、50A-70A、50A-60A、60A-85A、60A-70A或70A-85A(各含端点)。一些情况下,能使用肖氏硬度00标度的材料。根据特定靶组织、应用、待施加的夹压和其他因素选择合适材料在本领域技术人员水平范围内。生物相容性可变形部件4可制造自泡沫胶、硅酮(如低硬度硅酮)、弹性体(如低硬度弹性体)、硅橡胶、粘弹性胶、水凝胶或非弹性薄膜材料。这类材料示例包括但不限于聚氨酯、聚乙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、改性聚对苯二甲酸乙二醇酯(PETG)、乙烯醋酸乙烯酯(EVA)或硅酮。在特定示例中,生物相容性可变形部件可以是能膨胀的任何部件,如球囊43,如图1B所示。

[0340] 细长型表面构件41可包括支架45(如上所述并如图2、3A、3B、4B和4C所详示),其能稳定即固定生物相容性可变形部件4并防止生物相容性可变形部件4从夹具部分40的细长型表面构件41移开。如上所示,生物相容性可变形部件4具有适合组织或器官或其部分的尺寸,需要所述尺寸以夹入夹紧部分的闭合环所需并允许在待夹紧组织或器官或其部分中施加均匀压力。根据特定部件、夹紧的组织或器官或其部分、夹的具体应用、待施加的压力和其他因素来调整或选择部件尺寸在技术人员水平范围内。通常,生物相容性可变形部件与长于护套的表面构件部分基本一样长。例如,搁置在延长构件远端支架中的生物相容性可变形部件的长度是25mm-200mm、50mm-150mm或75mm-125mm。在特定示例中,搁置在延长构件

远端支架中的生物相容性可变形部件的长度是100mm或至少为100mm。

[0341] 一般,生物相容性可变形部件的直径大于护套组件32的直径,从而装置的夹具部分能通过内窥镜通道适应。例如,生物相容性可变形部件的直径小于15mm,如小于14mm、13mm、12mm、11mm、10mm、9mm、8mm、7mm、6mm、5mm、4mm、3mm、2mm或更小。在一些示例中,生物相容性可变形部件是可膨胀球囊,如图1B所示装置例证。由于球囊能在经内窥镜通道插入后膨胀,所述示例中球囊直径可大于护套直径,但一般没有那么大以破坏弹性带和球囊所形成夹具装置闭合环中组织或其部分的适合度。通常,球囊直径多至3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm,或至少3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm,或约为3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm或15mm。

[0342] 球囊

[0343] 在本文所提供装置的一个实施方式中,生物相容性可变形部件4是球囊43,如图1B所示示例。所述球囊膨胀时,能符合解剖结构并确保夹紧力均匀分布。所述球囊或其他可扩张部件的额外有利设计属性是用户通过监测球囊压力来精确控制和监控夹紧力的能力。例如,如下进一步所述,能监测球囊压力以确定何时达到所需压力量或确定压力是否有变化如损失。一些情况下,不需监控夹紧力或压力,因为夹紧力能用带张力适当控制。

[0344] 如图1B所示,球囊43搁置在夹具部分40的细长型表面构件41上。细长型表面构件41可包括支架45(如上所述并如图2、3A、3B、4B和4C所详示),其能稳定即固定球囊43并在例如球囊43缩小时防止球囊43从夹具部分40的细长型表面构件41移开。由于球囊43搁置在细长型表面构件41远端中且弹性带连接细长型表面构件41远端,通过弹性带42和球囊43还形成闭合环。在闭合环中,球囊43位于细长型表面构件41与弹性上带42之间。如图1B所示,球囊43能由可符合靶组织解剖结构并在膨胀时向靶组织加压而不过度扩张和损伤组织的任何材料制成。这些可包括弹性或非弹性材料,例如非弹性薄膜材料。通常,球囊由硬度在肖氏硬度试验中落在AA标尺范围内的材料制成,如20A-95A,例如40A-90A,如50A-70A或70A-85A。能用于球囊43的材料示例是中等硬度(即硬性)材料,如本领域技术人员已知的刚性球囊材料,例如用于血管成形术球囊的材料。例如,中等硬度材料可以是聚氨酯,如肖氏硬度为70A-85A或约70A-85A的聚氨酯。中等硬度材料可以是聚乙烯材料,例如聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)或改性聚对苯二甲酸乙二醇酯(PETG)。通常,球囊43的材料弹性不足以致球囊43膨胀时球囊43凸起而不向靶组织加压,例如通常球囊43不由诸如乳胶等材料制成。

[0345] 球囊43在中空护套32附近的球囊43末端连接球囊膨胀线25远端。如图1B所示,球囊膨胀线25经箱体26底部开口进入箱体26,持续通过手枪式握柄部分20和护套组件30的中空护套32,从中空护套32远端延伸出并连接夹具部分40的球囊43近端。球囊膨胀线25能用于使球囊43膨胀和缩小,如下参照图6F更详细讨论。球囊膨胀线25外部(即近端)即从箱体26底部延伸出的球囊膨胀线25部分能连接外部液体或气体如空气源,其能用于使球囊43膨胀和缩小。

[0346] 球囊膨胀线25可由广泛范围的材料制成,包括但不限于尿烷、聚氯乙烯(PVC)、聚丙烯和聚氨酯。在一个示例中,球囊膨胀线25由PVC制成。在其他示例中,球囊膨胀线25由与球囊43相同的材料制成,例如球囊膨胀线25和球囊43都由尿烷制成。球囊膨胀线25的尺寸能根据一种或多种因素而变化,如球囊尺寸、中空护套32的尺寸、用于给球囊43膨胀的液体

或气体来源和性质以及待实施的手术类型。一般,球囊膨胀线25的内径可为0.01英寸-0.05英寸或约0.01英寸-0.05英寸,通常0.02英寸-0.04英寸或约0.02英寸-0.04英寸,如0.02英寸或0.03英寸。球囊膨胀线25的外径可为0.04英寸-0.08英寸或约0.04英寸-0.08英寸,通常0.05英寸-0.07英寸或约0.05英寸-0.07英寸,如0.06英寸。在一个示例中,球囊膨胀线25由PVC制成,内径为0.02或0.03英寸且外径为0.06英寸。

[0347] 2. 装置操作

[0348] 本文提供的装置能用于任何外科手术或技术,其中需要夹紧组织或器官或其部分。例如,所述装置能夹紧组织或器官或其部分以实现组织或器官或其部分从体循环区室化用于基因治疗方法,包括向区室化的靶组织或其部分递送核酸。本文所述装置还能用于其他组织手术,如移植和切除。该装置能用于微创手术如腹腔镜手术以夹紧组织或器官或其部分。该装置能在微创手术(如腹腔镜手术)中经内窥镜通道如腹腔镜通道插入并操作,因此能在微创手术中使用以中断流向一部分组织的血流。该装置可在单通道或多通道手术中与其他微创(如腹腔镜)手术器具联用。

[0349] 所述装置在这类手术中的操作或应用如下所述。以下描述由含生物相容性可变形部件的装置例示,所述材料是能通过球囊膨胀线膨胀或缩小的球囊。如上所述,这种装置提供相对于本文所提供其他生物相容性可变形部件的优势,因为其允许用户精确控制和监测夹紧力。然而,应理解能采用符合解剖结构的本文所述任何生物相容性可变形部件。特别地,当不需要所述精确控制和监测夹紧力或另有控制夹紧力如带张力的合适方法时,能使用这类其他部件。取代另一生物相容性可变形部件和另外基本如所述使用装置而不需要使部件膨胀或缩小在技术人员水平范围内。

[0350] 如参照图6A-F更详细所述,一般,夹具部分40的组件和其位置由带夹具装置10的其他组件控制,其位于手枪式握柄部分20和护套组件30中,如上参照图1A-1B和3A-3B所示和描述。例如,通过分别顺时针或逆时针旋转手枪式握柄20的第一带张紧轮21,来控制运动如松开或放松夹具部分40的弹性上带42(42a、42b和42c)(如上参照图2和3A-3B所述)。球囊43(43a和43b)能通过球囊膨胀线25膨胀或缩小。球囊膨胀线25连接球囊43(43a和43b)远端,延伸穿过护套组件30和手枪式握柄部分20并外部连接液体或气体如空气来源,如上参照图1B所述。

[0351] 图4A-4E阐明图1A和1B所示带夹具装置10的夹具部分40的放大图。夹具部分40从中空护套32远端延伸出。夹具部分40由细长型表面构件41、弹性上带42(42a、42b和42c)和球囊43(43a和43b)构成,如上参照图1A和1B所述。如上所述,弹性上带42(42a、42b和42c)和细长型表面构件41在凹口44处连接形成闭合环。

[0352] 图4A显示夹具部分40组件的示范性位置,其中球囊43a缩小且弹性上带42a处于平面位置。夹具部分40可处于此位置,例如在经内窥镜通道(如腹腔镜通道)插入带夹具装置10之前。夹具部分40可处于此位置,例如当带夹具装置10经腹腔镜通道插入时。球囊43a处于缩小位置并搁置在细长型表面构件41的支架45中(图4A中未见),如上参照图1B所述。弹性上带42a处于平面位置并搁置在缩小球囊43a和细长型表面构件41的顶部上。一般,弹性上带42a处于平面位置时,没有松弛,即弹性上带42a平置于细长型表面构件41上且弹性上带42a与细长型表面构件41之间没有开放空间。例如,弹性上带42a处于平面位置时,弹性上带42a张紧即没有松弛。弹性上带42a处于平面位置时,从中空护套32末端延伸的弹性上带

42a的长度能等于或大致等于从中空护套32延伸出的细长型表面构件41的长度。在一个示例中,从中空护套32延伸出的细长型表面构件的长度是或约为100mm,从中空护套32延伸出的弹性上带42a的长度是或约为100mm。

[0353] 图4B显示带夹具装置10的夹具部分40的示范性位置。球囊43a缩小并搁置在细长型表面构件41的支架45中。支架45用于稳定即固定球囊43a在细长型表面构件41上的位置并防止球囊43a运动同时保持缩小位置。弹性上带42b处于松弛位置。一般,弹性上带42b处于松弛位置时,弹性上带42b经中空护套32松开。当弹性上带42a处于平面位置时,相较从中空护套32延伸出的弹性上带的量(即长度),松开弹性上带42b可增加从中空护套32延伸出的弹性上带42b的量(即长度)。松开弹性上带42b可放宽即增加弹性上带42与细长型表面构件41所形成闭合环的尺寸。

[0354] 如图4B所示,当弹性上带42b处于松弛位置时,松开的弹性上带42b的量可以是足以形成环的任何量,所述环大即宽到足以适合靶组织。例如,从中空护套32松开的弹性上带42b的量可以是在细长型表面构件41与处于松弛位置的弹性上带42b之间能形成加宽环的任何量,宽度为1cm-10cm或约1cm-10cm,一般2cm-5cm或约2cm-5cm,例如3cm-4cm或约3cm-4cm,但若需要则可以更大即高于10cm,或更小即少于1cm。在一个示例中,在细长型表面构件41与处于松弛位置的弹性上带42b之间形成的加宽环尺寸是约30mm-40mm。夹具部分40可处于此位置,即弹性上带42b处于松弛位置并与细长型表面构件41形成加宽环,例如在带夹具装置10经腹腔镜通道插入后。夹具部分40可处于此位置,即弹性上带42b处于松弛位置并与细长型表面构件41形成加宽环,例如在由弹性上带42b和细长型表面构件41形成的加宽环置于靶组织如肝周围之前。

[0355] 带夹具装置10的夹具部分40的示范性位置如图4C所示。球囊43a缩小并搁置在细长型表面构件41的支架45中。弹性上带42c处于张紧位置。一般,弹性上带42c处于张紧位置时,弹性上带42c经中空护套32收回即张紧,且环张紧(即张紧)。当弹性上带42b处于松弛位置时,相较从中空护套32延伸出的弹性上带的量(即长度),张紧弹性上带42c可减少从中空护套32延伸出的弹性上带42c的量(即长度)。例如,弹性上带42c处于张紧位置时,从中空护套32延伸出的弹性上带42c的量可小于弹性上带42处于松弛位置42b时从护套32延伸出的弹性上带42的量,但大于弹性上带处于平面位置42a的量。收进即张紧弹性上带42c可缩小即瓦解由弹性上带42和细长型表面构件41形成的闭合环。夹具部分40可处于此位置,例如在带夹具装置10经内窥镜通道(如腹腔镜通道)插入之后。夹具部分40可处于此位置,例如在由弹性上带42和细长型表面构件41形成的闭合环置于靶组织如肝周围,以及弹性上带42c被收进即张紧之后,如下参照图5B所述。

[0356] 如图4C所示,弹性上带42c处于张紧位置时收进的弹性上带42c量可以是足以张紧弹性上带42c与细长型表面构件41之间所形成闭合环的量,所述量足以紧密贴合靶组织并符合靶组织解剖结构,如下参照图5B所示和更详细描述。例如,张紧时,弹性上带42c针对靶组织贴合,但未施加明显夹紧力。通常,张紧环的长度可以是或大致是被夹紧组织上表面的长度,张紧环的高度可以是或大致是被夹紧组织或器官或其部分的厚度。在一些示例中,能测量弹性上带42c在靶组织周围施加的张力,如下参照图5B所详述。夹具部分40可处于此位置,即弹性上带42c处于张紧位置并与细长型表面构件41在靶组织周围形成紧密环,例如在带夹具装置10经内窥镜通道(如腹腔镜通道)插入、置于靶组织如肝周围,以及弹性上带42c

被收进即张紧之后。

[0357] 图4D显示带夹具装置10的夹具部分40的示范性位置,其中球囊43b处于膨胀位置且弹性上带42c处于张紧位置。如下参照图6F更详细描述,球囊43b能用流体或气体如空气经球囊膨胀线25膨胀,球囊膨胀线25能连接外部流体或气体如空气源。一般,球囊43b处于膨胀位置时,球囊43b相较处于缩小位置的球囊43a扩张。例如,球囊43b能膨胀到直径为5mm-15mm或约5mm-15mm,如至少5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm、15mm或更多,或至少约5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、11mm、12mm、13mm、14mm、15mm或更多。膨胀球囊43b的直径能取决于任何一种或多种因素,包括待实施的手术以及装置10的大小和尺寸。在一个示例中,球囊43b的膨胀直径是8mm或约为8mm。在一些示例中,能测量球囊43b对靶组织施加的压力,如下参照图5C所详述。夹具部分40可处于此位置,例如在由弹性上带42c和细长型表面构件41形成的闭合环置于靶组织如肝周围、弹性上带42c被收进即张紧以形成紧密环以及球囊43b膨胀之后。

[0358] 图4E代表图4D的交替视图,其中夹具部分40向后倾斜以暴露弹性上带42c底部。在本文所述带夹具装置的示范性实施方式中,弹性上带42c可带齿。通常,弹性上带42c的齿能穿过带宽度。在一些实施方式中,弹性上带42c的齿能穿过带长度。在其他实施方式中,一个带42c末端如手柄端上的齿可纵向设置,另一带42c末端如夹具装置端上的齿可横向设置。弹性上带42c中各独立齿之间的空间即齿隙能取决于任何一种或多种因素,包括但不限于弹性上带42c的尺寸或宽度、靶组织特性、或第二带张紧轮22的齿隙(如上参照图1A和1B以及2所述)。在一个示例中,弹性上带42c上的齿隙与第二带张紧轮22的齿隙相同。

[0359] 图5A-5C代表施用于靶组织50的带夹具装置10中夹具部分40的放大图像。靶组织可以是任何组织或器官或其部分。能应用夹的靶组织的非限制性示例是肝、脑脊髓、胰腺、心、皮肤、肾、肺、血管、骨、肌肉、子宫、子宫颈、前列腺、尿道或肠或其部分。图5A显示夹具部分40,弹性上带42b处于松弛位置且球囊处于缩小位置43a。弹性上带42b从中空护套32延伸出并通过在凹口44连接细长型表面构件41来与细长型表面构件41形成环。凹口44处的连接能固定即密封,或能扣紧,如用钩子。待夹紧的靶组织50部分位于环内,靶组织50底部搁置在缩小的球囊43a和细长型表面构件41上。弹性上带42b处于松弛位置时,在靶组织50顶部与弹性上带42b之间有真空区或开放区,即弹性上带42b在靶组织50周围未张紧或张紧。

[0360] 图5B描述夹具部分40,弹性上带42c在待夹紧的靶组织50部分周围张紧。靶组织50搁置在缩小的球囊43a和细长型表面构件41上。张紧弹性上带42c,从而其贴合待夹紧的靶组织50部分周围,即所述带在靶组织50周围张紧以符合靶组织50解剖结构。张紧时,弹性上带42c针对靶组织贴合,但未施加明显夹紧力。例如,能张紧弹性上带42c,至少直至移出所有松弛部分。若需要,弹性上带42c能进一步张紧,例如直到弹性上带42c开始压缩组织50和转移组织50到弹性上带42c任一侧。能直观测定或检测张紧弹性上带42c的所需量,例如通过随着弹性上带42c张紧,目测观察弹性上带42c在靶组织50周围的张力。能测定或检测张紧弹性上带42c的所需量,用本领域已知过程,如计量器例如外部计量器,如测张力或测力计,例如弹簧秤、数字应变仪、模拟仪表;目测,例如通过随着弹性上带42c张紧,目测观察弹性上带42c在靶组织50周围的张力;或通过压缩荷载细胞传感器,例如2.2.按钮样式压缩荷载传感器(Interface Advanced Force Measurement;亚利桑那州斯科茨代尔)。在一个示例中,通过连接弹性上带42c的计量器,能直接测量张力。例如,计量器可分成弹性上带42c

区段。计量器能用于测量通过弹性上带42c施加于靶组织50的张力并在达到所需张紧量时测定。另一示例中,通过在活动支承上安排弹性上带42c路径,能间接测量张力,其中支承偏转可指示带42c中的张力。

[0361] 图5C阐明一部分靶组织50的夹紧。弹性上带42c处于张紧位置并贴合靶组织50周围,如上参照图5B所述。搁置在细长型表面构件41上的球囊43b膨胀并符合靶组织50的解剖结构。球囊43b能膨胀到50mmHg-250mmHg,的压力,一般是大于120mmHg的压力(收缩压)。膨胀球囊43b向靶组织50均匀加压。例如,膨胀球囊43b向靶组织50均匀加压,无论夹紧的靶组织50部分的物理维度如厚度或薄度如何。由于弹性和符合夹紧元件,即带夹具装置10的弹性上带和球囊,实现向靶组织50施加的均匀夹压。均匀夹压确保没有靶组织50部分夹紧不足或过度夹紧。例如,均匀夹压使血流能跨整段靶组织50中断,而没有较厚区段过度夹紧和较薄区段夹紧不足并且没有组织创伤。

[0362] 若需要,在球囊43b膨胀和缩小期间和之后能测量和/或监测球囊压力(如图5C所示)。例如,可监测球囊压力以确定何时达到所需压力量或确定压力是否有变化如损失。例如,压力损失能指示夹具部分40在靶组织50周围有位移且夹紧减少。球囊压力能用本领域已知程序测定,例如离体或体内用压力计,如数字式量仪或模拟仪表,如Cole Parmer数字压力测量仪(如**Cole-Parmer®**;伊利诺伊州弗农希尔斯);通过术中超声;通过用户界面的电子方式,可包括压力显示、LED指示灯和警报器,例如用于指示压力变化,如指示夹紧失败的下降;或目测,例如球囊43b能在膨胀和缩小期间目测观察并通过或多或少使球囊43b膨胀和缩小来调整至所需压力。在一个示例中,通过连接球囊膨胀线25的压力计进一步监测压力,例如在带夹具装置10外部的球囊膨胀线25中某一点(如下参照图6F所述)。

[0363] 在一些示例中,用本领域已知的多种其他过程通过测量夹紧水平和因而的区域夹区室化,能评价压力。例如,染料如亚甲蓝或溴酚蓝或其他类似染料能注入夹紧或区室化的靶区域或区段并评价其对该区域的定位。例如,移去夹具装置后,两侧都放置夹具装置的组织能切开并分析染料的存在。染料不穿透分离组织部分或区域时,完成夹紧,如通过夹紧实现区室化。应理解一些染料渗漏(指示血流)可在夹具装置边界的周边区域出现,只要有分离自完整实质压缩阶段脉管系统的组织区域或部分。对于需要区室化的夹紧过程,理想上实现区室化,从而染料不渗透超过夹边界的相邻组织。监测或测量夹压能在任何手术如腹腔镜手术的阶段完成,并能在任何手术如腹腔镜手术的阶段中调整和控制,以达到所需夹压。

[0364] 在一个示范性实施方式中,施加于靶组织50的压力足以中断血流以区室化夹紧的组织或器官或其部分,但未多到导致周围组织严重损伤。例如,施加于靶组织50的压力可引起一部分靶组织50区室化。一般,装置10的完整夹具部分40中的压力均匀。夹具装置和施加的压力应能从相邻组织区域和周围脉管系统中区室化组织或器官区域或区段。确定理想压力以实现最优夹紧和/或区室化器官或其部分而同时尽可能减少组织损伤或创伤,在本领域技术人员水平范围内。

[0365] 图6A-6F阐明用本文所述带夹具装置10的示范性方法。本文所述带夹具装置10能用于夹紧一部分靶组织用于任何医疗手术或外科手术,其需要在手术过程中停止流向组织或部分的血流。能采用带夹具装置的所述方法示例如本文他处章节C中所述。本文所述和图6A-6F所示带夹具装置10能用于任何微创手术(如腹腔镜手术),尤其是需要夹紧一部分或

一段组织的手术。在本文所述和图6A-6F所示的示范性实施方式中,靶组织是肝501,例如成年人肝。

[0366] 带夹具装置10首先经内窥镜通道(如腹腔镜通道)插入。图6A描述带夹具装置10,如其在经通道插入之前和期间所呈现。带张紧/松开开关23b处于上位。如上所述,当带张紧/松开开关23b处于上位时,防止第一张紧轮21顺时针运动并松开或放松弹性上带42a。弹性上带42a位于缩小球囊43a和细长型表面构件41上的平面位置。带夹具装置10经装置夹具装置端的通道插入。夹具部分40和护套部分30能部分经或完全经通道插入。插入腹腔镜通道的夹具部分40和护套部分30的量可取决于一种或多种因素,包括但不限于手术类型、待夹紧组织的性质和位置、患者例如患者年龄、身高和/或体重以及体腔内吹气水平。一旦经腹腔镜通道插入,夹具部分40和护套部分30的量能调整,直至带夹具装置10在患者内达到所需位置。

[0367] 一旦带夹具装置10经腹腔镜通道插入,弹性上带42b能经护套32松开,如图6B所述。带张紧/松开开关23a移至下位,使第一张紧轮21能顺时针运动或选择。第一张紧轮21的顺时针运动啮合弹性上带42b,推动带向前通过护套32,在装置10的夹具部分40中与细长型表面构件41形成松环42b。如上所述,弹性上带42b能由刚度和/或形状记忆合适的材料制成,从而随着弹性上带42b松开,能与细长型表面构件41形成加宽环。例如,所述材料使得弹性上带42b不随着带松开而平置于细长型表面构件。能用于弹性上带42b的材料示例包括具有柱强度和弹性组合的任何材料,在弹性上带42b放松后允许弹性上带42b与细长型表面构件41形成加宽环而不是平置在细长型表面构件41上,并且足够软以张紧时符合靶组织的解剖结构。材料示例包括常用于制备皮带的材料,例如同步皮带,例如但不限于弹性聚合物,如聚氨酯或聚乙烯,例如弹性、加固的聚氨酯带,如纤维增强的弹性聚氨酯。在一些示例中,弹性上带42b带齿。

[0368] 例如,所形成加宽环的尺寸或高度可取决于待夹紧靶组织部分的尺寸。例如,弹性上带42b能放松或松开以形成加宽环,所述环的宽度可以是例如1cm-10cm或约1cm-10cm,如1cm-9cm、1cm-8cm、1cm-7cm、1cm-6cm、1cm-5cm、1cm-4cm、1cm-3cm、1cm-2cm、2cm-10cm、2cm-9cm、2cm-8cm、2cm-7cm、2cm-6cm、2cm-5cm、2cm-4cm、2cm-3cm、3cm-10cm、3cm-9cm、3cm-8cm、3cm-7cm、3cm-6cm、3cm-5cm、3cm-4cm、4cm-10cm、4cm-9cm、4cm-8cm、4cm-7cm、4cm-6cm、4cm-5cm、5cm-10cm、5cm-9cm、5cm-8cm、5cm-7cm、5cm-6cm、6cm-10cm、6cm-9cm、6cm-8cm、6cm-7cm、7cm-10cm、7cm-9cm、7cm-8cm、8cm-10cm、8cm-9cm和9cm-10cm。一般,弹性上带42b与细长型表面构件41之间形成的加宽环高度小于10cm,例如小于5cm。例如,弹性上带42b与细长型表面构件41之间形成的加宽环高度可以是至少1cm、2cm、3cm、4cm、5cm、6cm、7cm、8cm、9cm,或约至少1cm、2cm、3cm、4cm、5cm、6cm、7cm、8cm、9cm,但小于10cm。在一个示例中,靶组织是肝,例如成年人肝,用弹性上带42b与细长型表面构件41形成的加宽环高度是2cm-5cm或约2cm-5cm,如3cm-4cm。

[0369] 弹性上带42b松开并与细长型表面构件41形成所需尺寸即宽度的环后,所述环能置于待夹紧靶组织部分如肝501,如图6C所例示。应理解所述手术能对其他组织或器官或其部分进行,如本文他处所述。待夹紧组织的量可以是例如1g(即1cc)-100g(即100cc)或约1g-100g,一般2g-75g或约2g-75g,通常5g-50g或约5g-50g。一般,待夹紧组织的量取决于靶组织的性质和特性。例如,靶组织是肝如成年人肝501时,待夹紧组织的量可为1g-100g或约

1g-100g (即1cc-100cc或约1cc-100cc), 如1g-50g或约1g-50g, 例如5g-50g或约5g-50g。待夹紧组织的量能通过建模研究测定, 例如3-D建模研究如MRI建模研究。

[0370] 在一个示例中, 夹紧5g-50g或约5g-50g的靶组织如肝501。为夹紧5g-50g或约5g-50g的靶组织如肝501例如成年人肝, 夹具部分40的加宽环能置于离靶组织如肝501顶部1cm-5cm或约1cm-5cm, 通常1cm-3cm或约1cm-3cm, 一般离靶组织如肝501顶部2cm或约2cm。通常, 当夹具部分40的加宽环置于离肝501顶部1-5cm或约1-5cm, 通常2cm时, 肝如成年人肝宽度是5cm-10cm或约5cm-10cm, 一般7cm宽, 以及1cm-2cm厚, 一般1.5cm厚。离边缘越远, 肝厚度越大, 即肝厚度朝着肝中心增加。通常, 肝宽度是10cm或约是10cm时, 肝厚度是3cm或约是3cm。

[0371] 如果初始环尺寸即宽度不大到足以涵盖待夹紧的靶组织如肝501部分, 环尺寸即宽度可如下进一步增加: 顺时针旋转或转动第一带张紧轮21以松开额外弹性上带42b并增加环尺寸即宽度, 直至环能适合所需量的靶组织如肝501。带张紧/松开开关23a保持下位, 这允许第一带张紧轮21顺时针旋转, 并防止第一带张紧轮21逆时针旋转或转动以张紧弹性上带42b。球囊43a保持缩小位置并搁置在支架45的细长型表面构件41上, 如上参照图4B和4C所述(支架45在图6C中不可见)。

[0372] 如图6C所示, 可操作和调整由环涵盖的靶组织如肝501的量, 例如通过将环置于所需量的靶组织如肝501, 并使环运动进入所需位置从而靶组织如肝501平置在细长型表面构件41上。可操作或调整由环涵盖的靶组织如肝501的量, 抓起和推动靶组织如肝501部分通过环到所需位置, 例如通过使用能抓起和推动靶组织如肝501通过环的装置, 如抓紧器或镊子。在一个示例中, 能抓起和推动靶组织如肝501通过环到所需位置, 例如用抓紧器, 所述环由弹性上带42b与细长型表面构件41形成。在一些示例中, 连接靶组织如肝501的韧带可在环置于靶组织如肝501之前切割。连接靶组织如肝501的韧带可用本领域技术人员已知用于手术切开韧带的任何装置或方法切割, 例如腹腔镜手术刀, 如腹腔镜超声刀或腹腔镜剪刀。在一个示例中, 靶组织是肝501, 待夹紧的肝501部分是左叶, 例如左中叶。

[0373] 如图6D所示, 在由弹性上带42b与夹具部分40的细长型表面构件41形成的环置于待夹紧靶组织如肝501所需部分后, 能调整护套32位置, 以适合靶组织如肝501的解剖结构。护套32相对于细长型表面构件41可线性运动并能沿着细长型表面构件41长度推进或缩回, 以调整从护套32远端延伸出的夹具部分40的尺寸。护套32的位置由护套调节器31经螺旋机构33控制。护套调节器31内表面远端部分刻有内螺纹, 并啮合有外螺纹的螺旋机构33以在护套调节器31转动或旋转时, 推进和缩回护套32。

[0374] 护套调节器31轴向旋转并能向前转动或旋转, 即朝向带夹具装置10正面, 或能向后转动或旋转, 即朝向带夹具装置10背面。如图6D所示, 向前转动或旋转护套调节器31可相对于细长型表面构件41线性推动护套32趋向带夹具装置10的夹具装置端。推进护套32可减少从中空护套32末端延伸出的夹具部分40的量。例如, 能调整护套32以包围更多或更少的细长型表面构件41。例如, 向前转动护套调节器31能使从中空护套32延伸出的夹具部分40长度减少到待夹紧靶组织如肝501部分的尺寸, 即夹具部分40能降低到适合待夹紧肝501部分的解剖结构和尺寸。护套32可推进到直至包围所需量的夹具部分40。例如, 可推进护套32, 直至所有或几乎所有夹具部分40被护套32包围。

[0375] 护套调节器31能向后转动或旋转, 即朝向带夹具装置10背面(图6D未显示)。向后

转动或旋转护套调节器31可相对于细长型表面构件41收缩护套32离开带夹具装置10的夹具装置端并趋向手柄端。缩回护套32可增加从中空护套32末端延伸出的夹具部分40的量。例如,向后转动护套调节器31能增加从中空护套32延伸出的夹具部分40长度以容纳待夹紧靶组织如肝501部分的尺寸,即夹具部分40能增加到适合待夹紧靶组织如肝501部分的解剖结构和尺寸。

[0376] 图6E阐明张紧弹性上带42c以适合靶组织如肝501。带张紧/松开开关23b移到上位,这允许第一带张紧轮21逆时针转动或旋转。第一带张紧轮21的逆时针旋转啮合弹性上带42c,并通过护套32张紧或收进带。张紧弹性上带42c可张紧由弹性上带42c与装置10夹具部分40的细长型表面构件41之间形成的环。弹性上带42c能收进或张紧,直至环的尺寸即宽度减小到所需尺寸。例如,第一带张紧轮21能逆时针转动,张紧弹性上带42c直至带针对靶组织如肝501贴合,但不施加明显夹紧力。例如,能张紧弹性上带42c,以占据靶组织如肝501周围的任何多余空间,即符合靶组织如肝501的解剖结构。如上参照图5B所述,弹性上带42c的张力能通过本领域技术人员已知的任何方法测量,如计量器例如外部计量器,如测张力或测力计,例如弹簧秤、数字应变仪、模拟仪表或数字压力计,如Cole Parmer数字压力测量仪(如**Cole-Parmer®**;伊利诺伊州弗农希尔斯);目测,例如通过随着弹性上带42c张紧,目测观察弹性上带42c在靶组织50周围的张力;或通过压缩荷载细胞传感器,例如2.2.按钮样式压缩荷载传感器(Interface Advanced Force Measurement;亚利桑那州斯科茨代尔)。

[0377] 如上所述,弹性上带42可由随着带42张紧,弹性且能符合靶组织如肝501解剖结构和尺寸的任何材料制成,例如聚氨酯。在一些示例中,弹性上带42可带齿。弹性上带42可带齿以提供肝501上的握把。例如,弹性上带42上的齿能用于防止待夹紧的靶组织如肝501部分脱离夹具部分40,即所述齿能保持夹具部分40处于待夹紧的靶组织如肝501部分周围的所需位置。

[0378] 在弹性上带42c张紧并符合靶组织如肝501的尺寸和解剖结构后,球囊43b能膨胀,如图6F所示。球囊43b通过球囊膨胀线25膨胀。如上所述和图1所示,球囊膨胀线25连接球囊43b近端并延伸穿过护套组件30和手枪式握柄20,另一末端离开手枪式握柄20底部并连接外部液体或气体如空气源。球囊43b能用任何液体或气体如空气膨胀,即能填充球囊到所需尺寸和/或球囊膨胀压力。外部液体或气体如空气源可以是注射器,如塑料注射器或玻璃注射器、可重复使用或一次性注射器;泵,如血压泵或套袖;或罐槽或筒,如储气罐或气体钢筒。例如,外部液体或气体如空气源可以是注射器,如任何尺寸的塑料注射器或玻璃注射器,例如500mL、250mL、100mL、75mL、50mL、30mL、25mL、20mL、15mL、10mL、5mL、1mL或更小。在一个示例中,外部液体或气体源是注射器,如20mL充满空气的标准注射器。

[0379] 球囊43能手动膨胀和缩小,例如用注射器或其他手动泵,或能电子膨胀和缩小,例如通过用户界面控制。如图6F所示,球囊43b符合靶组织如肝501的解剖结构,在靶组织如肝501夹紧区域均匀施加一致压力。用于使球囊43膨胀的液体或气体如空气的量可由膨胀球囊43b对例如靶组织如肝501施加的压力量确定。膨胀球囊43b能膨胀到50mmHg-250mmHg,的压力,一般是大于120mmHg的压力(如收缩压)。膨胀球囊43b能向靶组织如肝501均匀加压,无论夹紧的靶组织如肝501部分的物理维度如厚度或薄度如何,即对组织较厚部分以及组织较薄部分均匀施加一致压力。球囊43b膨胀允许实现所需夹压。例如,膨胀球囊43b能膨胀到允许球囊43b符合靶组织如肝501解剖结构并填充环中靶组织如肝501周围任何真空区的

尺寸,所述环由弹性上带42c和细长型表面构件41形成。施加于靶组织如肝501的均匀压力安全,低于可能损害组织的压力。

[0380] 在一个示范性实施方式中,根据施加于组织或器官的特定张力和压力,夹紧和球囊膨胀可从体循环区室化组织或器官夹紧部分。例如,膨胀球囊43b对肝施加的均匀压力尽可能减少组织创伤并确保靶组织如肝501夹紧部分的区室化。例如,球囊膨胀压力范围可以是50mmHg-300mmHg或约50mmHg-300mmHg,通常100mmHg-300mmHg或约100mmHg-300mmHg,如200mmHg-300mmHg。在一个示例中,为实现完整区室化,膨胀球囊43b对靶组织如肝501施加的均匀压力可大于收缩压即120mmHg,但小于可能损害组织的压力。

[0381] 如图6F所示,在球囊43膨胀和缩小期间,能监测或测量球囊压力,如上参照图5C所述。例如,能监测球囊压力以确定何时达到所需压力或确定压力是否有变化如损失。能监测球囊压力,例如用压力计如数字式量仪或模拟仪表。压力计可连接球囊膨胀线25,例如在带夹具装置10外部的球囊膨胀线25中某一点。能通过用户界面以电子方式监测压力,所述界面可包括压力显示、LED指示灯和警报器,例如用于指示压力变化,如指示区室化失败的压力下降。能监测球囊膨胀压力,例如目测。例如,能在膨胀和缩小期间目测观察球囊43,并通过使球囊43或多或少膨胀或缩小来调整到所需压力。监测或测量球囊压力能在任何手术如腹腔镜手术的阶段完成,并能在任何手术如腹腔镜手术的阶段中调整和控制,以达到所需球囊压力。

[0382] C.方法和夹具装置应用

[0383] 本文提供的带夹具装置能用于任何类型的微创外科手术如腹腔镜手术。本文提供的带夹具装置能用于任何微创外科手术,其中需要夹紧组织或器官或其部分。带夹具装置能用于单通道或多通道微创外科手术。带夹具装置引入通道的精确位置取决于待夹紧的特定靶标或器官和夹紧过程的特定用途(如区室化基因递送、移植或切除)。例如,腹腔镜手术能用于夹紧腹部组织或器官,包括例如肝、胰腺、胆囊、脾脏、胃或生殖器官。

[0384] 一般,根据腹腔镜手术的范围和性质以及待使用的腹腔镜器械的量,腹腔镜手术会使用1-6个通道,通常2-5个通道,如3或4个通道。例如,各通道的实际尺寸和位置可根据手术性质、靶组织、腹腔镜器械尺寸和所用腹腔镜器械数量而变化。例如,图8A-8C描述用于夹紧肝或其部分的腹腔镜手术方案示例。如图8A-8C所示,位于腹上部的通道可置于待夹紧的肝部分上面。如图8A-8C所示,其他通道能位于腹部以提供手术中所用其他微创器械的入口,如下进一步所述。这些包括位于近侧左腰部、脐部或左腰部。例如,位于脐部、腹上部正下方的通道能用于腹腔镜。

[0385] 1.核酸递送的区室化方法

[0386] 本文提供的装置能用于递送核酸分子到区室化组织或器官或其部分,这是通过暂时夹紧组织或器官或其部分从而其与体循环分离。在该核酸递送的区室化方法中,所述方法特征为:1)用本文提供的带夹具装置夹紧组织或器官或其部分以中断流向和来自器官或其部分的血流,从而防止或基本防止连通体循环;2)向组织或其部分的组织实质细胞直接施用含核酸分子的所递送的药剂;和3)维持血管阻断,时间足以允许细胞摄取选定药剂。这些方面的效果指所递送的药剂如病毒载体不暴露于总体循环,从而未起始全身免疫应答,避免全身毒性且没有其他靶器官或组织的污染。

[0387] 此外,通过向区室化组织或器官的实质细胞直接施用所递送的药剂,细胞摄取最

大化。细胞摄取最大化意味着组织或器官区室化释放后,几乎所有递送的核酸分子可用于细胞中的转基因表达,能逸入体循环的所递送的药剂的量减少或消除。因此,本文提供的方法允许仅靶向靶器官内的所需细胞和持续表达转基因产物。

[0388] 如下进一步所述,带夹具装置用于夹紧组织或器官或其部分以中断或阻滞流向组织或器官或该组织或器官部分或区域的血流,从而从体循环区室化组织或器官或其部分。这通过调整弹性带来实现,从而其张紧成贴合和紧贴组织以及使球囊膨胀以便球囊向夹紧区域施加均匀压力。如下所述,通过带夹具装置向实质组织施加的张力和压力足以中断血流,但未多到导致周围组织严重损伤。因此,如图7所示,当靶组织如肝501部分位于细长型表面构件41与处于张紧位置的弹性上带之间的带夹具装置10(环紧贴靶组织501顶部)时,能实现组织或器官或其部分如肝501的区室化。球囊还处于膨胀位置43b以符合组织如肝501或其他靶组织的解剖结构,因而向夹紧的区域施加均匀压力。如下进一步所述,能测量、监测或调整手术过程中的夹紧程度。可适当调整夹具部分(即包括张紧带和生物相容性可变形部件如球囊),从而所述装置能用于阻断或堵塞一个或多个且一般是所有穿过组织或器官或其部分的动脉、静脉、导管或血管,其注入、进入或另外连通体循环。

[0389] 在所述方法中,施用核酸剂后维持一段充足时间的组织或器官或其部分区室化,从而少于10%的所递送的药剂暴露于体循环和/或允许器官或其部分的细胞摄取大于80%选定所递送的药剂。本文提供的方法在组织或器官或其部分中维持转基因产物表达大于60天、大于6个月、大于9个月或大于1年。

[0390] 核酸递送的区室化方法允许持续和长期高水平表达转基因产物。因此,所述方法能用于多种应用,包括但不限于医疗应用,包括取代缺陷性基因产物的应用或用于外源施用治疗剂;生成移植用器官;在转基因动物(如生物反应器)中生成治疗蛋白;和农业、兽医和工业应用。例如,所述方法能用于体内细胞表达选定多肽。在一些示例中,所述多肽剂能用于治疗过程,其中该多肽治疗或缓解受试者疾病或病症或者另外提高受试者生活质量。在其他示例中,所述多肽剂能用于农业背景,例如提高肉类生产质量或数量的应用。所述方法的具体应用取决于所施用的特定核酸分子。根据任何所需应用选择感兴趣的核酸分子在本领域技术水平范围内。

[0391] 在特定示例中,选择核酸,从而其在区室化核酸方法递送后的表达实现疾病或病症治疗。下面的章节D提供这类核酸和相关疾病及病症示例。例如,可通过区室化核酸递送方法递送核酸分子来治疗的疾病或紊乱示例包括但不限于遗传性酶缺陷(如粘多糖病、糖原贮积病和溶酶体贮积症)、癌、血友病、糖尿病、肌肉萎缩症、心血管障碍、囊性纤维化、神经退行性疾病、创伤、疼痛、镰状细胞贫血、自身免疫病、炎性疾病、遗传性免疫缺陷、高血压和帕金森病。例如,所述疾病或病症选自血友病A和B、I型糖尿病、 α -1-抗胰蛋白酶(AAT)缺陷、血色沉着病、威尔森氏症、克果纳杰氏症候群第一型、II型鸟氨酸转氨甲酰酶缺陷、家族性高胆固醇血症、无纤维蛋白原血症、糖原贮积病(GSD) Ia型、GSD Ib型、GSD II型(庞贝氏症)、粘多糖病(MPS I)、MPS IIIA、MPS IIIB、MPS VII、法布里病、高雪氏病、尼曼-匹克综合征、鸟氨酸氨甲酰基转移酶(OTC)缺陷、苯丙酮尿、肝纤维化、肝缺血再灌注损伤、阿尔茨海默病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)、半乳糖血症、苯丙酮尿、枫糖尿症、酪氨酸血症1型、甲基丙二酸血症、瓜氨酸血症、痛风和莱施-尼汉综合征、斯赖综合征、泽尔韦格综合征、联合免疫缺陷(SCID)、囊性纤维化、急性间歇性卟啉症、脂蛋白脂肪酶缺陷(LPLD)或多发性硬

化。结合肝示例,本文方法能用于向区室化肝或肝部分递送含任何核酸如章节D所述任何核酸的所递送的药剂以治疗任何疾病,其中基因治疗已用于本领域。例如,肝(或其他组织或器官)能用带夹具装置区室化以递送和治疗疾病及病症,包括但不限于:递送因子VIII以治疗血友病A;递送因子IX以治疗血友病B;递送 α 1-抗胰蛋白酶以治疗 α 1-抗胰蛋白酶缺陷;递送葡萄糖-6-磷酸- α 以治疗糖原贮积病(GSD) Ia型;递送G6PT以治疗GSD Ib型;递送酸性 α -葡萄糖苷酶以治疗GSD II型(庞贝氏症);递送 α -L-艾杜糖醛酸酶以治疗粘多糖病(MPS1);递送硫酸胺酶以治疗MPS IIIA;递送 α -N-乙酰葡萄糖胺糖苷酶(NaGlu)以治疗MPS IIIB;递送 β -葡萄糖醛酸酶以治疗MPS VII;递送 α -半乳糖苷酶A以治疗法布里病;递送葡糖脑苷脂酶以治疗高雪氏病;递送酸性鞘磷脂酶以治疗尼曼-匹克综合征;递送鸟氨酸氨甲酰基转移酶缺陷(OTC)以治疗OTC缺陷;用于治疗克果纳杰氏综合征的UDP葡萄糖醛酸转移酶1A1(UGT1A1);用于治疗家族性高胆固醇血症的LDL受体;用于治疗苯丙酮尿的苯丙氨酸羟化酶;金属蛋白酶(MMP1或MMP8);用于治疗肝纤维化的 α -PA、TIMP拮抗剂或抗HSC分子;用于治疗肝缺血再灌注损伤的抗ROS分子;用于治疗糖尿病的胰岛素原前体或 β 细胞转分化的转录因子;用于治疗血友病B的针对病毒RNA的RNAi;用于治疗血友病C的针对病毒RNA的RNAi;用于治疗肝癌的p53;用于治疗多发性硬化的IFN- β 或其他抗炎细胞因子;用于治疗诱发性肝炎的干扰素- α ;用于治疗脂蛋白脂肪酶缺陷(LPLD)的脂蛋白脂肪酶;或用于治疗癌症的抗血管生成剂,如内皮抑素或血管抑素。

[0392] 用本文所提供带夹具装置的递送核酸方法能对任何哺乳动物受试者进行。所述装置尺寸能调整成容纳特定受试者,包括腹腔镜进口长度和/或夹具部分。通常,所述装置设置成可调整,并能容纳不同受试者。这类受试者示例包括但不限于小鼠、大鼠、狗、牛、猪、绵羊、山羊、马和人。特别地,本文提供的方法对人受试者进行。特别地,所述方法能对18岁以下儿童的人受试者进行,如婴儿、小孩和幼儿。在一些示例中,所述方法能对胎子宫进行。由于所述方法允许持续和长期高水平表达转基因产物,该方法能用于多种应用,包括但不限于医疗应用,包括取代缺陷性基因产物的应用或用于外源施用治疗剂;生成移植用器官;在转基因动物(如生物反应器)中生成治疗蛋白;和农业或兽医以及工业应用。

[0393] 用带夹具装置区室化组织或器官或其部分以递送核酸分子的方法能对受试者一次进行;或能多次进行。例如,带夹具装置可在治疗过程中再定位以实现多靶基因座递送,尤其是其中在组织或器官内寻求高水平转导或表达。或者,所述方法能用注射装置进行,而不是再定位带夹具装置,所述注射装置在腹腔镜外科手术中可运动和/或另外能在组织或其部分的夹紧或区室化区域内实现多基因座递送。在这些示例中,所述方法一般在第一方法应用的数分钟、数小时或数天内重复。在其他示例中,所述方法能在第一应用后数周、数月或数年重复。

[0394] 以下子章节提供关于方法步骤和多个示范性非限制性实施方式的描述。

[0395] a. 用带夹具装置区室化组织或器官

[0396] 在本文提供的方法中,本文提供的带夹具装置用于在微创手术中夹紧组织、器官或其部分以通过从脉管系统分离来实现组织、器官或其部分的区室化。在一些示例中,根据特定组织、器官或其部分,区室化还可通过从导管系统和/或淋巴系统分离来实现。在施用选定剂前开始区室化,不放松或终止夹具装置以恢复器官或其部分的血管循环,直到时间足以允许细胞摄取选定剂。

[0397] 任何组织或器官或其部分能通过带夹具装置夹紧以向区室化区域递送核酸,只要其可由掌握技术的医师或外科医生在微创手术法中达到,带夹具装置能在该组织或器官或其部分上设置以实现弹性带张紧和球囊膨胀。这类组织或器官包括但不限于肝、肺、CNS(脑或脊髓)、周围神经系统(如神经)、胰腺、胆囊、内分泌腺(垂体、肾上腺、甲状腺等)、心血管器官(如心脏和血管)、皮肤、尿殖器官(肾、子宫、子宫颈、前列腺、尿道)、呼吸系统器官(如肺或气道)、骨、肌肉和肠。此列表不意在穷尽,本领域技术人员应认识到额外靶器官和其部分。在特定示例中,带夹具装置用于区室化肝或其部分以递送核酸。

[0398] 一般,本文方法中夹紧和区室化的组织或器官或其部分可经血管分离,持续时间足以允许几乎所有所递送的药剂被实质细胞摄取。在本文的特定示例中,本文提供的带夹具装置维持于组织或器官或其部分上以维持器官或其部分区室化至少10分钟、15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟、55分钟60分钟或更多。一般,夹紧和区室化持续至少20分钟,但不长于60分钟。例如,维持带夹具装置以区室化器官或其部分如肝或其部分至少30分钟且一般不长于60分钟。因此,根据特定所递送的药剂,在能导致器官组织或其部分短暂缺血的条件维持区室化。由此,用于本文方法的器官或其部分可经受短暂缺血期。

[0399] 所述方法能用微创外科手术如腹腔镜检查进行。带夹具装置用于夹紧组织或器官或其部分的实质以压缩血管、动脉、导管或淋巴管并阻断流向组织或器官的区域、叶、段、区段的血流。对于微创手术应用,带夹具装置能用于组织或器官或其部分,如本文参照图6A-6F所述。如上参照图6A所述,在夹具装置插入通道或套管用于内窥镜入口(如腹腔镜入口或其他微创手术类型)前,设置夹具装置从而弹性带平置在细长型表面构件远端上,球囊缩小且带张紧/松开开关调整至其上位23b。此位置中,夹具部分和护套部分能经通道插入,而手柄保持在通道外以操作弹性带和球囊。

[0400] 带夹具装置引入通道的精确位置取决于待区室化的特定靶标或器官以递送核酸。例如,腹腔镜手术能用于夹紧腹部组织或器官,包括例如肝、胰腺、胆囊、脾脏、胃或生殖器官。例如,图8A-8C描述夹紧肝或其部分的示范性腹腔镜手术方案。如图8A-8C所述,带夹具装置10和注射装置能用于多通道腹腔镜手术。例如,腹腔镜手术可以是采用4个通道的多通道腹腔镜手术,如图8A-8C的黑色圆圈所示。根据寻求区室化以递送核酸分子的特定靶组织,所述4个通道能位于多个腹部区域。例如,对于区室化和递送核酸分子到肝,所述4个通道能位于腹上部、脐部、近侧左腰部和远端左腰部(参见例如图8A-8C)。图8A-8C所示4个通道的位置是通道能定位区域的一般描述。实际位置和定位可变化并取决于任何一种或多种因素,包括但不限于手术类型、组织定位和待用腹腔镜器械的量。

[0401] 特别地,图8A-8C以不同示意图描述腹部,阐明4个腹腔镜通道相对于肝的位置以用于示范性腹腔镜手术,采用本文所述带夹具装置。所述手术能与注射装置联用,所述装置也设置用于微创手术如腹腔镜手术,如下进一步所述。位于腹上部的通道定位于待夹紧肝部分的正上方。本文提供的带夹具装置能在腹腔镜手术中插入腹上部通道。位于脐部、腹上部正下方的通道能用于例如腹腔镜。位于左腰部、接近肝的通道定位于肝附近和腹上部通道附近。近侧左腰部通道能用于实施手术所需的其他手术器械。例如,其能用于插入注射装置到腹腔内,例如任何注射器或针。根据注射装置的尺寸和长度以及夹紧组织的位置,可确定近侧左腰部通道的位置。例如,近侧左腰部通道能放置成就注射装置如本文所述注射器

注射装置而言足够接近靶组织如肝,以在经通道插入时递送治疗剂到夹紧区域。位于肝远端左腰部的通道可与手术工具联用,所述手术工具能抓起和运动靶组织如肝,例如抓紧器或镊子。根据抓紧装置的尺寸和长度以及夹紧组织的位置,可确定远端左腰部通道的位置。

[0402] 插入通道的带夹具装置的量可在外科手术中变化。例如,外科医生能不断调整(内和外)腹腔内装置的长度,直至实现合适的可视化和夹紧所需部分的组织或器官或其部分(如肝或其部分)。另外,根据接受手术的受试者结构层次(如年龄、体重、身高),腹腔镜手术中身体如人腹部内装置的量可变。此外,外科医生能选择调整吹气如腹腔吹气的量,这是根据腔内部可由外科医生目测观察以放置装置的程度,使得有必要或多或少插入装置到体腔以实现成功夹紧和区室化组织或器官或其部分(如肝或其部分)。

[0403] 一旦在待夹紧的组织或器官或其部分附近插入通道如腹腔镜通道,能调整带夹具装置以实现夹紧组织或其部分。例如,如参照图6B所述,带张紧/松开开关23a能移至下位以允许调整例如松开弹性带。张紧轮21能顺时针转动或旋转以向前推进带,从而在装置夹具部分于细长型表面构件远端形成环。

[0404] 如本文他处所述,可确定张紧轮运动程度和因而推进到护套外形成环的带部分,以便环适合待夹紧的组织或器官或其部分。为实施基因递送方法,环高度足以使组织区域能经环推动,足够实现所递送的药剂的递送和注射。例如,调整环,从而能夹紧5g-50g或约5g-50g的组织如肝501。例如对于肝如成年人肝,离肝顶部1-5cm或约1-5cm,通常2cm,肝宽度是5cm-10cm或约5cm-10cm,一般7cm宽,以及1cm-2cm厚,一般1.5cm厚。离边缘越远,肝厚度越大,即肝厚度朝着肝中心增加。通常,肝宽度是10cm或约是10cm时,肝厚度是3cm或约是3cm。因此,为夹紧5g-50g或约5g-50g的肝501例如成年人肝,环高度应为3cm-4cm或约3cm-4cm,从而加宽环能置于离肝顶部1cm-5cm或约1cm-5cm,通常1cm-3cm或约1cm-3cm,一般离靶组织如肝顶部2cm或约2cm。特别地,弹性带调整至3-4cm高度,以便环适合肝的左中叶。

[0405] 如本文参照图6C所述,调整弹性带形成所需尺寸的环后,所述环能置于待夹紧的靶组织部分。一些情况下,需要运动一部分组织或器官以允许接近区域从而能夹紧。例如,连接夹紧组织或部分的韧带能切开以暴露足够部分的组织或器官或其部分以经夹具装置中的环进入。例如,由于进入独立单元的肝分段解剖结构,可实现特定叶、区段或其部分的区室化,同时维持流向其他区段的血流。运动可能需要分开相关韧带和/或其他相关腺。用于运动或分离不同肝叶或区段的过程和技术为本领域技术人员熟知。例如,尾状叶、左叶或左中叶全部合理地血管分离和可及。哺乳动物种类之间的肝解剖结构差异可产生相比另一物种更适合在一个物种中分离的特定区域或叶。本领域技术人员应识别其他动物中相当的叶,且能鉴定适于运动或分离的叶或区段以用本文方法区室化。

[0406] 在本文的特定示例中,区室化尾状叶、左叶或左中叶或其部分。若需要,可从周围附着物中缩回和切开肝叶或区段以允许进入能从脉管系统适当区室化的区域,而不损伤或实现其他组织或器官区域或周围解剖结构。例如,尾状叶位于区段IV后方,并紧密连接下腔静脉和门静脉。通过分开胃肝网膜和背侧尾状-腔静脉韧带,能实现尾状叶运动。通过分开左三角韧带,能运动肝左叶。类似过程能用于运动人或其他受试者中相当的叶。

[0407] 若需要,可将组织或器官或其部分拉入夹具装置中的环,使用能经腹腔镜器械进入的抓紧器或镊子。在这种构型中,缩小的球囊一般在组织下方,弹性带在组织或器官顶部延伸。一旦纳入夹具装置的环,所述夹具装置能调整尺寸以通过调节护套来适合组织或器

官部分,例如用护套调节器31,如本文参照图6D所述。如图6E所述,夹紧组织或器官或其部分能如下实现:运动带张紧/松开开关23b到上位,调整张紧轮从而牵拉弹性带以减小组织或器官或其部分周围的环尺寸。例如,能使护套运动并张紧弹性带,从而其贴合组织,但不提供过于显著或过高夹紧力。

[0408] 若需要,夹力能用本领域已知过程测定,如用张力计。可使用直接或间接指示弹性带所施加张力量的任何张力计。张力计可以是机械或电子、数字或模拟。例如,张力计可具有定量指示弹性带所施加张力量的数字显示器。还能使用线性模拟指示器装置,其中读数采用线性方式运动的针形式,装置一侧有张力标记量尺。所述指示器还可通过电缆或无线原理计算机。计量器可在微创手术中分开引入通道,或可设置成用带夹具装置引入。例如,张力计能分成带区端,从而能直接测量带中的张力。或者,带夹具装置能设置有活动支承,其中在支承上安排弹性带。所述装置中,可根据弹性带偏向测量弹性带对组织的张力。

[0409] 为实现组织或其部分的均匀压缩以产生夹紧组织完整区域的区室化,球囊一般也膨胀。如本文他处所述,球囊可通过球囊膨胀线膨胀,使用能填充球囊到所需尺寸和/或膨胀压力的任何外部来源。如本文参照图6F所述,球囊膨胀符合球囊,从而球囊向夹紧的组织或器官或其部分施加均匀夹压。

[0410] 膨胀程度或量和因而向组织施加的均匀压力可以实现跨整个夹紧组织或器官区段或部分停止或中断血流的压力。确定实现最优区室化器官或其部分而同时尽可能减小组织损伤或创伤的理想压力,在本领域技术人员如熟练外科医生的水平范围内。根据120mmHg(收缩压)-80mmHg(舒张压)的正常生理血压范围,安全有效的组织或器官区室化能通过50mmHg-300mmHg的球囊膨胀压力范围实现,如120mmHg-250mmHg,例如200-250mmHg。通常,压力高于120mmHg的收缩压,从而完全切断血流,但不高到发生组织损伤。球囊中的压力可测量作为器官压缩的指示。以mmHg计的压力能用压力计测定,如Cole Parmer数字压力测量仪(如**Cole-Parmer®**;伊利诺伊州弗农希尔斯)或技术人员已知的其他类似装置。可在外科手术过程中监测或测量球囊压力。例如,球囊压力变化可指示夹具装置在受试者中运动,球囊膨胀受实现,或张紧带另外松开。通过监测球囊压力,所述装置能在外科手术过程中调整以确保球囊压力保持均衡。

[0411] 用于确保实现组织或器官或其部分区室化的带夹具装置施加的张力和压力可通过能使血流进入组织或器官的任何方法监控。例如,监测血流减少或消除可基于组织颜色;用墨汁或其他可报告染料的电子顺磁共振(EPR)血氧定量;用组织分光镜(TiSpec);磁共振灌注成像、正电子发射成像、近红外(NIR)光谱术、光学多普勒断层成像术、超声和其他技术人员已知方法。

[0412] 夹紧和因而出现组织或器官或其部分区室化后,所递送的药剂直接施用区室化区域。因此,临向组织递送所递送的药剂前,开始夹紧组织或器官或其部分以实现区室化。如下进一步所讨论,递送核酸后,维持从体循环区室化区域,在放松带夹具装置前持续一段预定时间。

[0413] b. 递送核酸分子

[0414] 夹紧或区室化组织或器官后,含感兴趣核酸分子的所递送的药剂能递送到区室化的组织或器官区域中的组织实质。一般在器官或其部分区室化开始后立即施用所递送的药剂,如在器官或其部分区室化开始后10分钟内或不超过10分钟且一般不超过5分钟。例如,

在区室化开始后不超过30秒、1分钟、2分钟、3分钟、4分钟或5分钟、6分钟、7分钟、8分钟、9分钟或10分钟,向受试者递送所递送的药剂。

[0415] i. 所递送的药剂的实质注射

[0416] 通常,采用直接实质内施用所递送的药剂。含核酸分子的任何所需核酸分子或所递送的药剂能递送给区室化的组织或器官或其部分,尤其是章节D所述的。特别地,通过直接注入组织实质来施用所递送的药剂,从而核酸直接递送到器官或组织或其部分中的细胞。例如,在肝情况中,靶实质细胞是肝细胞,而非实质细胞包括血管内皮细胞、枯否细胞和支持性基质细胞。通过上述偶联组织细胞区室化(如血流阻断和分离)来直接注入实质或间隙,可增加组织细胞摄入所递送的药剂的频率和效率而同时时间尽可能减少暴露于总体循环。除了增加组织细胞摄入所递送的药剂的频率和效率,实质递送也能防止所递送的药剂暴露于免疫细胞。

[0417] 通常,递送的所递送的药剂作为组合物提供。这类所递送的药剂和组合物示例是章节D所述的那些。所递送的药剂能以药学上可接受液体或水性载体递送。通过用针或其他类似装置注射,所递送的药剂可直接引入组织或器官或其部分的实质。待递送的载体中所递送的药剂体积是或约是0.5mL-100mL,如0.5mL-50mL、1mL-20mL、5mL-50mL或5mL-20mL。

[0418] 例如,在递送含核酸的所递送的药剂到区室化区域的任何方法中,含待递送药剂且适合腹腔镜进入的注射装置能用于递送含核酸分子的所递送的药剂(见图7和图8A-8C)。注射装置能设置成带夹具装置部分,或可以是分开的装置。例如,带夹具装置能适合或改良或使之与递送装置相容以允许在血流阻断后更快或更有效递送所递送的药剂。通常,采用单独注射装置,其在手术中提供弹性从而核酸向组织内的递送不受注射装置靠近带夹具装置或组合装置构型限制。例如,如图7所示,含核酸分子的所递送的药剂能通过技术人员已知的任何注射装置施用,所述装置能递送药剂到靶组织如注射装置51。装置51一般包括含药剂储液罐的注射器筒、控制药剂释放和加载的限位器以及穿透靶组织的注射针。通常,采用单独注射装置,其在微创手术中经分开的腹腔镜通道引入。因此,设置注射装置用于腹腔镜进入。能用于本文区室化方法的注射装置示例是章节E所述腹腔镜注射装置和美国临时申请序列号61/863,888所述的任何装置。

[0419] 在本文中应理解如下进一步所述,递送到组织或细胞的所递送的药剂能由驻留型细胞摄取。若需要,可改良所递送的药剂以增加或介导特定细胞进入。例如,腺病毒的纤维衣壳体修饰为本领域已知,以允许病毒载体附于细胞靶标用于有效病毒侵入(参见例如Campos等.(2007) *Curr. Gene Ther.*, 7:189-204; Russell, W.C., (2009) *J. Gen. Virol.*, 90: 1-20)。

[0420] 所递送的药剂通过实质注射递送可用成像技术协助,所述技术区分实质组织与来自周围血管和相关解剖结构的细胞。成像可在临注射前进行,与注射一致和/或在注射后。这种成像技术包括但不限于磁共振成像(MRI)、超声和超声波扫描技术,包括多普勒超声。例如,可使用B-发光、3-D成像或彩色多普勒。若需要,能注射对比剂以促进成像。例如,这类方法还能用于使药剂引入血管或导管系统内腔的可能性减到最小。

[0421] 若需要,可用本领域技术人员已知的多种技术增加组织细胞摄取所递送的药剂的功效。应理解提高所递送的药剂摄取的过程能减少区室化时间(如上所述),因为确保细胞吸收足够所递送的药剂所需的时间更少。选择具体过程可由本领域技术人员凭经验确定且

取决于递送的特定所递送的药剂、施用途径(如特定组织或器官)和施用药剂的剂量或量。在一个示例中,所递送的药剂能用脂质、聚合物转染试剂或其他试剂配制。在其他示例中,物理方法能用于增强递送。增强所递送的药剂递送的物理方法示例包括但不限于“基因枪”法、电穿孔、声致穿孔、压力或超声。作为提高体内基因递送而组织损伤最小的替代方式,药物组合物能用飞秒红外光施用(LBGT技术)。

[0422] 在一个示例中,摄取所递送的药剂且尤其是作为病毒或病毒样颗粒如腺病毒的所递送的药剂,可通过存在多种试剂来增强。例如,所递送的药剂能与作为病毒特异性细胞表面受体转录增强子的试剂或化合物一起施用。例如,这些试剂或化合物包括组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂。HDAC抑制剂包括异羟肟酸、环四肽、苯甲酰胺、亲电酮或脂肪酸化合物类的抑制剂。例如,HDAC抑制剂包括但不限于曲古抑菌素A、伏立诺他(SAHA)、belinostat(PXD101)、LAQ824、帕比司他(LBH589)、恩替诺特(MS-275)、C199、mocetinostat(MGCD0103)、罗咪酯肽(1stodax)、丙戊酸、PCI-24781、SB939、resminostat、givinostat、CUDC-101、AR-42、CHR-2845、CHR-3996、4SC-202、CG200745、Kevetrin或曲古抑菌素A(TSA)。HDAC抑制剂包括但不限于丙戊酸,其是腺病毒受体CAR和治疗转基因的转录增强子。研究显示腺病毒摄取在丙戊酸存在下增加(Segura-Pancheco等.(2007) *Genet. Vaccines Ther.*, 5:10)。在这些示例中,病毒载体与药剂一起或分开配制。在病毒载体分开配制的示例中,转录增强剂或化合物在运送所递送的药剂之前递送。转录增强剂能以1mg/kg-100mg/kg或约1mg/kg-100mg/kg施用,例如20mg/kg-60mg/kg或约20mg/kg-60mg/kg,如40mg/kg。剂量可分开且单独施用以达到总剂量。例如,施用周期可以是每日1次,每日2次、3次、4次或5次。施用频率可以是每日,持续至少3天、4天、5天、6天、7天或2周。药剂能通过任何施用途径施用,如皮下、静脉内、口服或局部。在特定示例中,药剂通过直接实质施用施用。

[0423] 在一些示例中,所递送的药剂用结合或复合所递送的药剂并介导其进入细胞的试剂或递送载体配制。试剂示例包括但不限于阳离子脂质体和脂质、脂蛋白、合成聚合物或多肽、矿物复合物或维生素。聚合物示例包括聚阳离子或聚阴离子。例如,所递送的药剂可用以下配制:聚胺、磷酸钙沉淀、组蛋白、鱼精蛋白、聚乙烯亚胺、聚赖氨酸、多聚精氨酸、多聚鸟氨酸、DEAE葡聚糖、聚凝胺、聚两性电解质复合体、精胺、亚精胺、腐胺、人血清白蛋白、DNA结合蛋白、非组蛋白染色体蛋白质、来自DNA病毒的外壳蛋白和N取代甘氨酸的聚合物。

[0424] 例如,所递送的药剂能封装于脂质或包装于脂质体,然后递送给从中获取的受试者或细胞。脂质封装一般用能稳定结合或陷入和保持核酸的脂质体完成。浓缩核酸所递送的药剂与脂质制品之比可变,但一般为约1mg DNA:1微摩尔脂质或更多脂质。脂质体制品包括阳离子(带正电)、阴离子(带负电)和中性制品。这类制品为本领域技术人员熟知并且可得。例如,阳离子脂质示例包括但不限于N[1-2,3-二油氧基)丙基]-N,N,N-三乙胺(DOTMA;以产品系列Lipofectin®可得);DDAB/DOPE和DOTAP/DOPE。阴离子和中性脂质体也可得,且能制备自磷脂酰胆碱、胆固醇、磷脂酰乙醇胺、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二油酰磷脂酰甘油(DOPG)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE),如市售可得制品Avanti极性脂质。所述脂质体包括多层囊泡(MLV)、单层小囊泡(SUV)或单层大囊泡(LUC)。

[0425] 在一些示例中,所递送的药剂可以是纳米颗粒,包括官能团或靶向剂以进一步协助和增加细胞递送药剂,例如结合待靶定细胞所表达受体的靶向分子。例如,官能团或靶向剂包括增强试剂或复合体与细胞关联的细胞靶向部分。细胞靶向部分可以是但不限于蛋

白、肽、脂质、类固醇、糖、碳水化合物、(非表达)多核酸或合成化合物。例如,细胞靶向信号可包括提高细胞结合受体的配体。这类配体包括但不限于胰岛素、生长因子(如EGF或FGF)、转铁蛋白、含RGD序列的肽。其他靶向分子包括但不限于与细胞上硫醇、巯基或二硫化物基反应的化学基、叶酸和其他维生素。

[0426] ii. 剂量和量

[0427] 根据特定应用和所递送的特定试剂类型(如病毒),施用的所递送的药剂的量或剂量可凭经验确定。递送核酸到区室化组织或器官如用本文所提供带夹具装置实现,产生线性剂量反应动力学。例如,在所递送的药剂如病毒例如腺病毒或腺相关病毒或施用的其他病毒的量与所生成转基因产物之间有直接关联。由于转导病毒的40个基因组足以生成治疗量的蛋白(参见例如Nathwani等.(2002)Blood,100:1662),能用区室化基因递送施用更少量病毒。例如,所述量可以是足以转导细胞的量,每细胞40个基因组或更多病毒。基因递送的区室化方法可进一步增加每细胞的基因组拷贝,从而进一步增加产物持续表达,剂量低于现有方法。因此,使用基因递送的区室化方法,能精确关联所注入颗粒、胞内基因组的量与所表达蛋白的量。

[0428] 一般,使用核酸递送的区室化方法,可施用比现有方法明显降低量的所递送的药剂以实现核酸分子如治疗性核酸分子的最优递送。另外,由于所递送的药剂的剂量与所生成治疗产物的量之间存在线性关系,能控制所施用所递送的药剂的量。结果是用核酸递送的区室化方法可施用的所递送的药剂比静脉内施用相同所递送的药剂所实现的低多至100倍。例如,用基因递送的区室化方法所施用所递送的药剂的量可比静脉内施用靶器官或组织的相同所递送的药剂的量低多至10倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1000倍、5000倍、10000倍。根据特定所递送的药剂、核酸分子和所治疗疾病或病症,确定所施用所递送的药剂的特定量在本领域技术人员水平范围。

[0429] 特别地,施用区室化组织或器官的所递送的药剂的剂量或量使得生成的蛋白产物水平能传递治疗或预防效果。通常,所述量使得用核酸递送的区室化方法时,该水平维持至少6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、14个月、16个月、18个月、20个月、24个月、36个月、48个月、60个月、72个月、84个月、96个月、10年、15年或更长。由于施用的所递送的药剂与所生成产物的量之间有线性关系,这类剂量能由本领域技术人员确定。确定剂量的考量可包括特定基因治疗和治疗产物、蛋白产物半衰期、用于表达转基因产物的启动子、特定所递送的药剂和其他类似因素。

[0430] 所递送的药剂是非病毒核酸时,有效剂量的DNA或RNA范围是0.005mg/kg体重-50mg/kg体重或约0.005mg/kg体重-50mg/kg体重。一般,剂量是0.005mg/kg-20mg/kg或约0.005mg/kg-20mg/kg,更一般是0.05mg/kg-5mg/kg或约0.05mg/kg-5mg/kg。例如,对于非病毒核酸(如质粒、裸DNA、siRNA、shRNA或反义核酸),递送0.01mg-2000mg,如0.05mg-1500mg、1mg-1000mg、10mg-1500mg或100mg-1000mg。

[0431] 所递送的药剂是病毒如腺病毒或腺相关病毒或其他病毒时,剂量通常由病毒颗粒(vp)或空斑形成单位(pfu)的数目提供,剂量一般小于 1×10^{12} 总颗粒或 1×10^{12} pfu,且一般范围是 $10-1 \times 10^{12}$ 颗粒、 $10-1 \times 10^6$ 颗粒、 $1 \times 10^3-1 \times 10^{12}$ 颗粒,如 $1 \times 10^6-1 \times 10^{10}$ 颗粒或 $1 \times 10^7-1 \times 10^9$ 颗粒或者范围是 $10-1 \times 10^{12}$ pfu、 $10-1 \times 10^6$ pfu、 $1 \times 10^3-1 \times 10^{12}$ pfu,如 $1 \times 10^6-1 \times 10^{10}$ pfu或 $1 \times 10^7-1 \times 10^9$ pfu。可能需要低于或高于所示的剂量。任何特定受试者或患者的

特定剂量和治疗方案可取决于多种因素,包括特异性基因治疗和其治疗产物、特定化合物或试剂的活性、年龄、体重、总体健康状况、性别、饮食、施用时间、排泄率、药物组合、疾病严重性和进程、病症或症状、受试者或患者的疾病、病症或症状倾向、施用方法和治疗医生的判断。确定精确剂量在本领域治疗医生的水平范围内。

[0432] 滴定病毒以制备其组合物和/或确定剂量的方法为本领域技术人员熟知。例如,效价能由测量病毒DNA和蛋白浓度的OD₂₆₀检测确定。为进行这种检测,需要纯化病毒储液,因为生长培养基中的血清和其他因子可能干扰吸光度读数。例如,用CsCl梯度密度或本领域技术人员已知的其他方法通过条带能纯化病毒。通常,制备病毒稀释液。每mL的光学颗粒单位(opu)或病毒颗粒(vp)可从吸光度测定。例如,对于腺病毒, vp/mL如下测定: 1.1×10^{12} 乘以OD₂₆₀吸光度和病毒稀释因子。OD₂₆₀检测不区分活和死病毒。在另一示例中,用本领域已知标准过程通过空斑试验可测定效价。通常,能单层生长的细胞如293细胞以适度高密度(如70%或约70%或以上)接种,然后用不同稀释的病毒储液感染。在时间足以允许感染和转导细胞后,向细胞加入琼脂糖溶液。通过细胞裂解形成的斑在数天中可见,且可计数多至10天(通常用能区分斑区域的染料)。效价计算为空斑形成单位(pfu)/mL,这是通过将空斑数目除以稀释因子。另一示例中,可使用终点稀释测定。此测定类似空斑试验,除了形成更高稀释数(一般 10^{-3} - 10^{-10})。同样,感染细胞板在显微镜下手动呈现以就细胞病变效应(CPE)鉴定孔,代替琼脂糖覆盖以鉴定斑。平板的孔可评分以根据斯皮尔曼-寇氏法确定终点稀释。

[0433] 剂量治疗可以是单剂量方案或多剂量方案。施用频率能取决于施用的试剂、疾病或病症在受试者中的发展以及本领域技术人员已知的其他考量。例如,所递送的药剂或组合物能递送1次,或能多次施用递送,如至少或约或2、3、4、5、6、7或8次施用。治疗还可处于单个靶基因座或多个靶基因座。例如,传送所递送的药剂可以是每个靶位点单次注射,或能在靶位点反复注射。举例而言,治疗肺病如囊性纤维化时,可能需要靶向至少25、50、75、80、85、90或95%的肺,多次注射以在受试者中获得足够转基因产物和/或功能提高。因此,可使用多注射位点。重复注射能连续实现,如紧跟着先前注射,或可比所述过程延迟数分钟、数小时、数天或数年。在一些示例中,将所递送的药剂施用器官或其部分中一个以上的基因座,尤其是其中寻求高水平转导或表达。例如,在一些实施方式中,除了第一施用位点,向另一位点或基因座施用含所递送的药剂的组合物。另一位点或基因座可处于同一靶组织区域或部分中第一位点相邻或附近的位点,或可处于远离第一基因座的位点而仍在同一靶器官中(如肝或肺的不同叶或区域)。

[0434] c. 终止/释放区室化

[0435] 传送所递送的药剂后,维持组织或器官或其部分的区室化,持续时间足以允许充分摄取所递送的药剂和/或尽可能减少所递送的药剂暴露于体循环。例如,区室化时间足以允许所递送的药剂进入细胞而同时避免体循环。此区室化效果意味着毒性和免疫活化最小化。一般,维持组织或器官或其部分的区室化以限制、尽可能减小或防止毒性和免疫活化(如通过局部或全身细胞因子表达、炎症浸润如嗜中性粒细胞和淋巴细胞浸润、和/或组织酶评价)。根据多种因素凭经验确定维持区室化的精确时间段在本领域技术人员水平范围内,所述因素包括施用的特定所递送的药剂、靶组织或器官或其部分、所治疗受试者或具体应用。

[0436] 区室化的最优持续时间可根据多种因素而变化,所述因素包括特定靶器官或组织

或其部分、所递送的药剂以及用于递送的特定方法。例如,不同组织或器官驻留型细胞就所递送的药剂胞内摄取显示不同内吞能力和动力学。此内吞功能可根据特定所递送的药剂而受实现或区分。例如,对于作为病毒载体如腺病毒的所递送的药剂,腺病毒动力学在结合其受体并与之相互作用后起始,所述受体对于腺病毒亚组A、C-F而言是柯萨奇病毒B Ad受体(CAR)。结合主要受体可介导相关病毒的内吞作用。转导后1分钟内,一般约2%病毒在胞内。通过释放内体内容物到细胞质,非组装腺病毒逃向细胞溶质。转导后30分钟内或之前,约80%病毒在胞内。进一步分解后,衣壳通过细胞质运输,在细胞质中其最终递送病毒DNA到细胞核内。转导后60分钟内或之前,所有转基因递送到核内。

[0437] 另外,血管区室化的最优持续时间可取决于器官或组织或其部分以及其中驻留型细胞对缺血状态的耐受性,并且是本文方法的考量。一些器官或组织显示对缺血状态的耐受性小于其他器官或组织。例如,肝细胞一般比经受血管阻断的神经元或心肌细胞存活更长。肝一般耐受血流中断多至或大于60分钟(Abdalla等.(2004) Surg. Clin. N. Am, 84:563-585)。对于肾,可实施预定时间的血管阻断以允许组织细胞吸收几乎所有核酸。肾通常耐受多至2小时的缺血时间段,但一般不超过1小时或不超过30分钟(Hoffman等.(1974) AMA Arch. Surg., 109:550-551;Thompson等.(2006) J. Urology, 177:471-476)。肌肉耐受多至4小时的缺血(Blaisdell F.W. (2002) Cardiovascular Surgery, 10:620-630)。本领域技术人员能监测和评价组织或器官以确定时间段,所述时间段实现充足细胞摄取、尽可能减少全身暴露且不导致器官或其部分缺血或导致可逆或可恢复的可接受缺血。例如,数字光处理(DLP®)高光谱成像能用于构建组织或器官或其部分的“实时”组织氧合图(Best等.(2011) Proc. SPIE, 7932, 793202)。

[0438] 在特定示例中,组织或器官或其部分的区室化持续超过15分钟。例如,维持组织或器官或其部分区室化的时间段是区室化开始和/或所递送的药剂施用后至少15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115或120分钟,或至少约15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115或120分钟,或多至15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115或120分钟。应理解维持区室化的时间段在能促进摄取或进入的试剂存在下可短于15分钟。因此,在本文示例中,维持组织或器官或其部分区室化的时间段是至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15分钟或更多,或至少约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15分钟或更多,或多至5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15分钟或更多。在某些实施方式中,区室化维持至少约或多至30分钟。一般,在任何本文方法中,组织或器官或其部分的区室化持续不超过60分钟,如大于15分钟但小于60分钟。

[0439] 例如,在肝或其部分通过本文方法区室化的本文示例中,维持肝区室化的时间段是区室化开始和/或所递送的药剂施用后至少15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟或60分钟,或至少约15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟或60分钟,或多至15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟或60分钟。一般,在任何本文方法中,肝或其部分的区室化持续不超过60分钟,如至少15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟,或至少约15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟,但小于60分钟。例如,区室化可以是15分钟-60分钟,15分钟-50分钟、15分钟-40分钟、15分钟-30分钟、20分钟-60分钟、20分钟-40

分钟或约20分钟-40分钟,一般是约30分钟或近于30分钟。

[0440] 在本文一些示例中,核酸递送的区室化方法还能包括从器官或其部分,或从手术视野移出胞外所递送的药剂(即施用的但未被区室化器官或其部分的细胞吸收的所递送的药剂部分)。移出步骤可包括吸收、抽吸或冲刷,从而一旦恢复器官或其部分的血管循环,极少或没有所递送的药剂会到达总体循环。因此,移出步骤在器官或其部分的血管循环恢复前进行。

[0441] 区室化阶段后,终止器官或其部分的区室化。这如下实现:通过移出夹具装置来恢复组织或器官或其部分与体循环的连通。例如,通过带夹具装置实现的区室化能如下终止:球囊缩小,运动带张紧/松开开关至下位以允许张紧的弹性环放松,顺时针转动张紧轮以在松弛位置松开弹性带。然后,组织或器官能从夹具部分移出且完整夹具装置可从通道中移出。熟练的医生水平范围包括仔细移出用于阻断流向组织或器官或其部分的血流的装置、设备或工艺,从而不出现对基础组织、血管、静脉或动脉、或导管的损伤。例如,可仔细释放夹压以控制组织或器官或其部分的血流恢复。

[0442] 2. 切除和移植

[0443] 本文提供的带夹具装置能用于任何腹腔镜外科手术,如组织切除手术或移植手术。通常,切除手术包括手术移除所有或部分器官、组织或解剖结构,包括来自周围组织的肿瘤、恶性肿瘤或其他生长或异常,如损伤。组织切除手术可对任何组织或器官或其部分实施,其中需要移除部分或完整组织或器官。例如,组织切除可对肝、前列腺、肾、肠、肺、脾脏、内脏、胃、胰腺、生殖器官以及需要移除部分或完整组织或器官的任何其他组织或器官实施。例如,本文提供的带夹具装置能用于肝切除。肝切除可能是治愈性治疗肝肿瘤和赘生物的最有效模式。

[0444] 本文提供的装置能用于腹腔镜移植手术。腹腔镜手术通常包括从供体移出即切除所有或部分组织或器官,其中移出的组织或器官或其部分重新置于受体。移植可仅对有供体和受体的任何组织或器官实施,包括但不限于肝、前列腺、肾、肠、肺、脾脏、内脏、胃、胰腺、生殖器官以及需要从供体移出部分或完整组织或器官并重新置于受体的任何其他组织或器官。在一个示例中,本文提供的装置能用于任何器官移植手术,例如腹腔镜下活体供肾切取术,如肾移植手术,其中从供体移出肾并移植入受体。一般,在切除手术或移植手术中,夹具装置能应用于所需组织或器官的任何位置并由操作者操纵以允许切除不同尺寸的组织或器官。

[0445] 3. 其他手术

[0446] 本文提供的带夹具装置能用于需要夹紧组织或器官或其部分的任何其他微创外科手术类型。手术示例包括切开、子宫切除术、阑尾切除术、胆囊切除术(治疗胆结石)、减肥手术如胃分流术、束带手术、用于子宫内膜异位的腹腔镜手术、用以治疗胃肠道疾病的疝修补或腹腔镜手术,所述疾病如克罗恩病、结直肠癌、憩室炎、家庭性息肉病、排便失禁、直肠脱垂、溃疡性结肠炎、结肠息肉、慢性顽固性便秘,以及能夹紧组织或器官或其部分的任何其他微创手术。

[0447] D. 所递送的药剂和其组合物

[0448] 通过章节C所述区室化核酸递送方法用于递送到区室化组织或器官的所递送的药剂可以是任何所需核酸分子,或含任何核酸分子的载剂、构建体或复合体。特别地,所递送

的药剂是核酸分子或包括核酸分子,该核酸分子具有所需功能或编码有所需功能的选定多肽。所递送的药剂可以是DNA(如双链环状或线性)、RNA、核酶或适体。此外,所递送的药剂可采用任何形式,包括但不限于裸DNA、微RNA、小干扰RNA或反义核酸。所递送的药剂可作为含异源核酸分子的构建体提供。本领域技术人员已知多种构建体用于体外或体内递送核酸到细胞。这类构建体包括基于病毒的递送系统和非基于病毒的递送系统。例如,所递送的药剂可以是含核酸分子的构建体,其以纳米颗粒(如靶向或放射标记的纳米颗粒)、质粒或载体(如病毒载体或表达载体)递送。这类构建体为本领域熟知且易适应与本文所述组合物和方法联用。

[0449] 应理解选择所用所递送的药剂取决于靶组织或器官基因座。凭经验确定和鉴定与靶组织或器官细胞摄取相容的所递送的药剂和/或递送方法,在本领域技术人员水平范围内。例如,本领域技术人员已知基于逆转录病毒的载体一般仅转导旺盛分裂的细胞。肝细胞一般处于静止,因此向肝细胞递送基于逆转录病毒的载体需要手术,其中所述方法包括刺激细胞分裂的步骤(如部分肝切除术)。相反,基于腺病毒的载体能递送到非分裂细胞。

[0450] 1. 核酸分子

[0451] 用于区室化核酸递送方法的特定所递送的药剂是或包括核酸分子,其中递送和/或表达其可实现在靶器官中出现或分泌入血流时有用的活性或特性。例如,递送和/或表达核酸分子可实现缺失或缺陷(如部分或无功能)基因产物的取代,达到基因产物过量生成,用作DNA疫苗,编码具有所需效果或治疗活性的多肽,或抑制基因表达。例如,核酸分子可选择用于就所需效果或治疗结果编码多肽。另一示例中,核酸分子是基于核酸的基因或基因产物抑制剂,如基因转录或翻译的抑制剂。例如,所递送的药剂可以是小干扰RNA(siRNA)序列、反义序列或微RNA(miRNA)序列。在其他示例中,所递送的药剂能预防性用于递送预防蛋白。另一示例中,递送和/或表达核酸分子能编码蛋白用于农业应用,例如提高肉类生产(如通过阻断肌肉生长抑制素)。根据特定应用或所治疗特定疾病或病症选择核酸分子,在本领域技术人员技术水平范围内。

[0452] 核酸分子可作为裸DNA递送,或可以载剂或者作为复合体或构建体递送。因此,应理解所递送的药剂是或包括核酸分子。例如,核酸分子可包括含核酸分子的载体或质粒,如病毒载体或非病毒载体。核酸分子能包封于脂质体。核酸分子可复合其他试剂如靶配体或其他部分,并作为纳米颗粒递送。

[0453] 核酸分子能通过启动子到增强子推动以控制或调节表达。启动子可操作连接编码区。本领域技术人员已知的任何强启动子能用推动DNA表达。启动子可以是组成型启动子,如CMV启动子、组织特异性启动子、诱导型或可调节启动子。在一个特定实施方式中,出于基因治疗目引入的核酸分子包含可操作连接编码区的诱导型启动子,从而通过控制合适转录诱导子是否存在可控制核酸表达。一般,启动子是调控型启动子和转录因子表达系统,如公开的四环素调控系统或其他调控系统(参见例如国际PCT公开号W0 01/30843),用于允许调节编码多肽表达。其他启动子示例是组织选择性启动子,如美国专利号5,998,205所述的那些,包括例如甲胎蛋白、DF3、酪氨酸酶、CEA、表面活化蛋白和ErbB2启动子。调控启动子系统示例是Tet-On(和Tet-Off)系统,可获自例如克隆泰克公司(Clontech)(加利福尼亚州帕洛阿尔托)。此启动子系统允许调控表达由四环素或四环素衍生物如强力霉素控制的转基因。已知其他调控启动子系统(参见例如美国专利公开号2002-0168714,题为“用单链单体的配

体依赖性多肽开关调节基因表达” (Regulation of Gene Expression Using Single-Chain, Monomeric, Ligand Dependent Polypeptide Switches), 所述专利描述含配体结合域和转录调节域的基因开关, 如来自激素受体的那些)。可采用的其他合适启动子包括但不限于腺病毒启动子如腺病毒主要晚期启动子和/或E3启动子; 或异源启动子如巨细胞病毒 (CMV) 启动子; 劳斯肉瘤病毒 (RSV) 启动子; 诱导型启动子如MMT启动子; 金属硫蛋白启动子; 热激启动子; 白蛋白启动子; 和ApoAI启动子。

[0454] 在一些示例中, 所递送的药剂是或包括编码所需多肽的核酸。所递送的药剂以区室化核酸递送方法传送后, 编码的多肽能用作生物治疗或药物。核酸分子能编码所需基因产物, 如细胞因子、凝固因子或凝血因子、激素、生长因子、酶、转运蛋白、调控蛋白、受体或抗原。核酸分子能编码激素蛋白以调节细胞生长、细胞分化或代谢。选择编码所需治疗多肽的特定核酸分子取决于所治疗的特定疾病或病症, 且在本领域技术人员水平范围内。例如, 如果待治疗受试者有I型糖尿病, 则核酸分子编码胰岛素, 如果受试者有血友病, 则编码特异性凝血因子, 如果受试者有帕金森病, 则编码多巴胺, 或如果所治疗受试者有家族性高胆固醇血症, 则编码LDL受体。本领域技术人员会知道如何选择所需多肽和根据待治疗受试者特定需求编码其的核酸。示范性核酸分子编码免疫调节蛋白、酶、激素、细胞因子、受体、抗体或血管抑制剂。核酸分子能编码作为融合蛋白的蛋白。

[0455] 选定核酸分子能编码作为免疫刺激蛋白或显示免疫调节特性的多肽。这种核酸分子包括但不限于编码细胞因子的基因, 例如白介素、干扰素、粒细胞集落刺激因子, 如白介素 (IL) -1、IL-2、IL-4、IL-5、IFN- β 、IFN- γ 、IFN- α 、TNF、IL-12、IL-18和f1t3; 刺激与免疫细胞相互作用的蛋白 (B7、分化簇28 (CD28)、) 主要组织相容性复合体I类 (MHC I类)、MHC II类、抗原加工相关转运体 (TAP)); 肿瘤相关抗原 (来自T细胞识别的黑素瘤抗原1 (MART-1) 的免疫原性多肽、gp100 (黑素细胞蛋白pme1-17)); 酪氨酸酶、酪氨酸酶相关蛋白1、酪氨酸酶相关蛋白2、促黑色素细胞激素受体、黑色素瘤相关抗原1 (MAGE1)、MAGE2、MAGE3、MAGE12、B黑色素瘤抗原 (BAGE)、癌症种系性抗原 (GAGE)、癌-睾丸抗原NY-ESO-1、 β -连环蛋白、突变的黑色素瘤相关抗原1 (MUM-1)、周期蛋白依赖性激酶4 (CDK-4)、半胱天冬酶8、由单克隆抗体Ki-67鉴定的抗原 (KIA) 0205、人白细胞抗原 (HLA) -A2R1701、甲胎蛋白、端粒酶催化蛋白、G-250、粘蛋白1 (MUC-1)、癌胚蛋白、p53、Her2/neu、磷酸丙糖异构酶、细胞分裂控制蛋白27 (CDC-27)、低密度脂蛋白受体-GDP-1-岩藻糖: β -d-半乳糖苷2- α -1-岩藻糖转移酶融合蛋白 (LDLR-FUT)、端粒酶逆转录酶和前列腺特异性膜抗原 (PSMA)、阻断抑制信号的cDNA编码抗体 (细胞毒性T淋巴细胞抗原4 (CTLA4) 阻塞)、趋化因子 (巨噬细胞炎性蛋白 (MIP1)、MIP3、CCR7配体和钙网蛋白) 和其他蛋白。

[0456] 核酸分子能编码作为生长因子或其部分的多肽, 其结合受体或生长因子受体或其结合配体的部分。生长因子和生长因子受体为本领域已知。参见例如Baxley和Serra, *Curr. Drug Targets* 11 (9):1089-102 (2010); Lo, *Curr. Mol. Pharmacol.* 3 (1):37-52 (2010); Barakat和Kaiser, *Expert Opin. Investig. Drugs* 18 (5):637-46 (2009); Trojanowska和Varga, *Curr. Opin. Rheumatol.* 19 (6):568-73 (2007); Jimeno和Hidalgo, *Biochim. Biophys. Acta* 1766 (2):217-29 (2006); Finch和Rubin, *J. Natl. Cancer Inst.* 98 (12):812-24 (2006); Lo等, *Breast Canc. Res. Treat.* 95 (3):211-8 (2006); Schilephake, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 31 (5):469-84 (2002); George, *Urology* 60 (3增刊.1):115-

21 (2002)。例如,生长因子包括骨形态发生蛋白(BMP)、表皮生长因子(EGF)、红细胞生成素(EPO)、成纤维细胞生长因子(FGF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、肝细胞生长因子(HGF)、胰岛素样生长因子(IGF)、血小板来源的生长因子(PDGF)、转化生长因子 α 和 β 以及血管内皮生长因子(VEGF)。例如,生长因子受体包括表皮生长因子受体(EGFR)、成纤维细胞生长因子受体(FGFR)或转化生长因子受体(TGFR)。

[0457] 核酸分子能编码作为抗体或抗体片段的多肽,包括单链抗体或抗特异性抗体。抗体为本领域已知。参见例如Brekke和Sandlie, *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2 (1) :52-62 (2003); Mellstedt, *Drugs Today* 39 (增刊C) :1-16 (2003); 《治疗抗体:方法和操作》(Therapeutic Antibodies:Methods and Protocols); Dimitrov, A.S. 编,胡马纳出版社(Humana Press), 纽约州纽约的施普林格公司(Springer) (2009); Zheng等. (2007) *Cell Research*, 17:303-306。例如,所编码抗体或其片段的非限制性示例包括抗胸腺细胞球蛋白、莫罗单抗、阿昔单抗、阿达木单抗、阿仑单抗、巴利昔单抗、贝伐单抗、西妥昔单抗、赛妥珠单抗、赛尼哌、依库两单抗、依法利珠单抗、吉妥珠单抗、替伊莫单抗、英夫利西单抗、莫罗莫那-CD3、那他珠单抗、奥马珠单抗、帕利珠单抗、帕尼单抗、兰尼单抗、利妥昔单抗、托西莫单抗或曲妥单抗。

[0458] 核酸分子能编码作为但不限于以下的多肽:酶(如加硫酶、拉罗尼酶、N-乙酰半乳糖胺6-硫酸酯酶、苯丙氨酸氨裂解酶、酸性 α 葡萄糖苷酶、伊米昔酶、阿糖苷酶 α)、激素(如促甲状腺素、生长激素、胰岛素、甲状腺激素、红细胞生成素)、血管生成调节剂、免疫调节剂(地尼白介素;白介素-2)、疼痛调节剂(如NP2)、融合蛋白(如胰岛素样生长因子2和酸性 α 葡萄糖苷酶(IGF2-GAA);阿巴西普;阿法赛特;依那西普)、多聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂、hylan或其他透明质酸衍生物、或过敏原(如花生或其他食物过敏原)。

[0459] 例如,核酸分子能编码人红细胞生成素或其变体(参见例如美国专利号4,703,008,登录号P01588)、人G-CSF或其变体(参见例如登录号P09919);人GM-CSF或其变体(参见例如Cantrell等.(1985) *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 82:6250-4;登录号P04141);纤溶酶原激活物或其变体(参见例如登录号P00750);尿激酶或其变体(参见例如登录号P00749);胰岛素或其变体(参见例如美国专利号4,652,525、美国专利号4,431,740, Groskreutz等.(1994) *J. Biol. Chem.*, 269:6241-5, 登录号P01308);白介素如白介素-1或其变体(参见例如登录号P01584)、白介素-2或其变体(参见例如登录号P60568, 美国专利号4,738,927)、白介素-3或其变体(参见例如登录号P08700, EP Publ. EP275,598或282,185)、白介素-4或其变体(参见例如登录号P05112)、白介素-7或其变体(参见例如登录号P13232, 美国专利号4,965,195)、干扰素或其变体、因子VIII或其变体(参见例如登录号P00451)、因子IX或其变体(参见例如P00740)、血管假性血友病因子或其变体(参见例如登录号P04275)、或人生长激素或其变体(参见例如登录号P01241, P01242, 美国专利号4,342,832)。

[0460] 感兴趣的其他核酸分子包括编码抗血管生成或自杀蛋白的那些。例如,抗血管生成蛋白包括METH-1、METH-2、TrpRS片段、增殖蛋白相关蛋白、催乳激素片段、PEDF、血管形成抑制素、不同胞外基质蛋白片段和生长因子/细胞因子抑制剂。不同胞外基质蛋白片段包括但不限于血管抑素、内皮抑素、kininostatin、纤维蛋白原-E片段、血小板反应蛋白、肿瘤抑素、血管能抑素和休眠蛋白。生长因子/细胞因子抑制剂包括但不限于VEGF/VEGFR拮抗剂、sFlt-1、sFlk、sNRP1、血管生成素/tie拮抗剂、sTie-2、趋化因子(IP-10、PF-4、Gro- β 、IFN- γ (Mig)、IFN、FGF/FGFR拮抗剂(sFGFR)、ephrin/Eph拮抗剂(sEphB4和sephrinB2)、PDGF、

TGF和IGF-1。自杀蛋白是随着白喉毒素A表达能导致细胞死亡的蛋白,或该蛋白的表达可使细胞对某些药物选择性敏感,如单纯疱疹病毒胸苷激酶基因(HSV-TK)的表达使细胞对抗病毒化合物敏感,如阿昔洛韦、更昔洛韦和FIAU(1-(2-脱氧-2-氟-β-D-阿拉伯呋喃基)-5-碘尿嘧啶)。其他自杀蛋白包括羧肽酶G2(CPG2)、羧酸酯酶(CA)、胞嘧啶脱氨酶(CD)、细胞色素P450(cyt-450)、脱氧胞苷激酶(dCK)、硝基还原酶(NR)、嘌呤核苷磷酸化酶(PNP)、胸苷磷酸化酶(TP)、水痘带状疱疹病毒胸苷激酶(VZV-TK)和黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(XGPRT)。其他编码蛋白包括但不限于用作安全开关的单纯疱疹病毒胸苷激酶基因(HSV-TK)(参见1997年11月19日提交的美国专利申请号08/974,391,其以PCT公开号W0 99/25860公开)、Nos、FasL和sFasR(可溶性Fas受体)。

[0461] 在本文的其他示例中,核酸分子编码涉及溶酶体贮积症的蛋白,尤其是其中缺陷的酶,包括但不限于天冬氨酰氨基葡萄糖苷酶、α-半乳糖苷酶A、棕榈酰蛋白硫酸酯酶、三肽氨基肽酶、溶酶体跨膜蛋白、半胱氨酸转运蛋白、酸性神经酰胺酶、酸性α-L-岩藻糖苷酶、保护蛋白/组织蛋白酶A、酸性β-葡萄糖苷酶或葡萄糖脑苷脂酶、酸性β-半乳糖苷酶、艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶、α-L-艾杜糖醛酸酶、半乳糖脑苷酯酶、酸性α-甘露糖苷酶、酸性β-甘露糖苷酶、芳基硫酸酯酶B、芳基硫酸酯酶A、N-乙酰半乳糖胺-6-硫酸硫酸酯酶、N-乙酰氨基葡萄糖-1-磷酸转移酶、酸性鞘磷脂酶、尼曼匹克症C1型(NPC-1)、β-己糖胺酶B、乙酰肝素N-硫酸酯酶、α-N-乙酰葡萄糖胺糖苷酶(NaGlu)、乙酰-CoA:α-氨基葡萄糖苷N-乙酰转移酶、N-乙酰氨基葡萄糖-6-硫酸硫酸酯酶、β-葡萄糖醛酸酶和酸性脂肪酶。这些酶在不同溶酶体贮积症中的作用为本领域技术人员已知(参见例如美国专利公开号US2008/0025952;US20120009268)。酶的选择取决于特定溶酶体病症。感兴趣核酸分子的非限制性示例包括编码以下的任何核酸分子:用于治疗粘多糖病(如斯赖综合征)的β-葡萄糖醛酸苷酶;用于治疗胡尔勒综合征的α-L-艾杜糖醛酸酶;用于治疗沙伊氏症或胡-射二氏综合征的α-L-艾杜糖醛酸酶;用于治疗亨特氏综合征的艾杜糖醛酸硫酸酯酶;用于治疗乙酰肝素硫酸酯酶缺乏综合征A(MPSIIIA)的肝素硫酸胺酶;用于治疗乙酰氨基葡萄糖苷酶缺乏综合征B(MPSIIB)的N-乙酰葡萄糖胺糖苷酶;用于治疗山菲立普综合征C(MPSIIC)的乙酰-CoA:α-氨基葡萄糖苷乙酰转移酶;用于治疗山菲立普综合征D(MPSIID)的N-乙酰氨基葡萄糖-6-硫酸酯酶;用于治疗莫尔丘综合征A的半乳糖-6-硫酸硫酸酯酶;用于治疗莫尔丘综合征B的β-半乳糖苷酶;用于治疗马-拉氏综合征的N-乙酰半乳糖胺-4-硫酸酯酶;用于治疗法布里病的α-半乳糖苷酶;用于治疗高雪氏病的葡萄糖脑苷脂酶或用于治疗糖原贮积病(如庞贝氏症)的溶酶体酸性α-葡萄糖苷酶。

[0462] 其他感兴趣核酸分子示例包括但不限于编码以下的任何核酸分子:治疗阿尔茨海默病的蛋白如金属内肽酶,例如β淀粉样蛋白降解酶脑啡肽酶、胰岛素降解酶胰岛素酶或西梅脱寡肽酶;能用作抗逆转录病毒剂以治疗病毒感染如人类免疫缺陷病毒(HIV)感染的蛋白或肽,例如恩夫韦地(Fuzeon®);用于治疗肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)的蛋白,包括但不限于胰岛素生长因子1(IGF-1)、钙结合蛋白D28、小清蛋白、HIF1-α、SIRT-2、VEGF、SMN-1、SMN-2、GDNF或睫状神经营养因子(CNF);患有血友病的受试者中缺乏的蛋白,例如但不限于因子VIII或因子IX;用于治疗I型糖尿病的蛋白,如弗林蛋白酶可切割的胰岛素基因;用于治疗家族性高胆固醇血症的蛋白,如低密度脂蛋白受体(LDLR);用于治疗脂蛋白脂肪酶缺陷(LPLD)的蛋白,如脂蛋白脂肪酶(LPL);用于治疗α-1-抗胰蛋白酶(AAT)缺陷的蛋白,如AAT;用于治疗克果纳杰氏症候群第一型或第二型的蛋白,如肝胆红素UDP葡萄糖醛酸转移

酶或其功能变体,例如UGT1A1 (Gong等. (2001) *Pharmacogenetics*, 11:357-68); 用于治疗糖原贮积病1A型的蛋白,如葡萄糖-6-磷酸酶; 用于治疗Pepck缺陷的蛋白,如磷酸烯醇丙酮酸羧激酶; 半乳糖血症相关蛋白,如半乳糖-1-磷酸转尿苷酰酶; 苯丙酮尿相关蛋白,如苯丙氨酸羟化酶,枫糖尿症相关蛋白,如支链 α 酮酸脱氢酶; 酪氨酸血症1型相关蛋白,如延胡索乙酰乙酸水解酶; 甲基丙二酸血症相关蛋白,如甲基丙二酰-CoA变位酶; 鸟氨酸转氨甲酰酶缺陷相关蛋白,如鸟氨酸转氨甲酰酶 (OTC); 瓜氨酸血症相关蛋白,如精氨基琥珀酸合成酶; 联合免疫缺陷相关蛋白,如腺苷脱氨酶; 痛风和莱施-尼汉综合征相关蛋白,如次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶; 生物素酶缺陷相关蛋白,如生物素酶; 高雪氏病相关蛋白,如 β -葡糖脑苷脂酶; 斯赖综合征相关蛋白,如 β -葡萄糖醛酸苷酶; 泽尔韦格综合征相关蛋白,如过氧化物酶体膜蛋白70kDa; 急性间歇性卟啉症相关蛋白,如胆色素原脱氨酶 (PBGD); α -1-抗胰蛋白酶缺陷 (肺气肿) 相关蛋白,如 α -1-抗胰蛋白酶; 癌相关蛋白,如肿瘤抑制基因如p53; 用于治疗帕金森病的谷氨酸脱羧酶 (GAD) 编码蛋白; 或溶酶体贮积症且尤其是沙费利波综合征 (粘多糖病III型, MPSIII) 中缺乏的蛋白,如溶酶体硫酸胺酶和 α -N-乙酰葡萄糖胺糖苷酶 (NaGlu)。

[0463] 其他感兴趣核酸分子示例包括但不限于编码以下的任何核酸分子: 用于治疗癌症的蛋白。例如,所述癌可以是实体瘤,包括但不限于乳腺癌、黑素瘤、头颈癌、结肠癌、肾癌和肉瘤。这类癌能用任何抑制血管生成的分子治疗。因此,核酸分子可编码抑制血管生成的蛋白,包括但不限于内皮抑素、血管抑素、血小板反应蛋白-1、金属蛋白酶组织抑制剂 (TIMP)、可溶性血管内皮生长因子 (VEGF) 受体和血管形成抑制素 (钙网蛋白片段)。这种抗血管生成剂还能用于治疗其他血管生成疾病或病症,如眼病。

[0464] 或者,治疗核酸能在RNA水平发挥作用,例如通过编码反义信息或核酶,实现剪接或3'加工(如聚腺苷酸化)的蛋白,或实现细胞内另一基因表达水平的蛋白,如通过调节速度改变的mRNA积累,改变mRNA转运,和/或转录后调节变化。这些包括RNA,如RNAi和其他双链RNA、反义和核酶,其功能可指向编码增殖所必需蛋白的mRNA,如结构蛋白、转录因子、聚合酶、编码细胞毒性蛋白的基因、编码核酸酶(如RNase A)或蛋白酶(如胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、蛋白酶K和羧肽酶)的工程细胞质变体的基因。

[0465] 例如,核酸分子可以是基于核酸的基因或基因产物抑制剂,如基因转录或翻译的抑制剂。所递送的药剂可以是小干扰RNA (siRNA) 序列、反义序列或微RNA (miRNA) 序列。RNA长度可以是10-30个核苷酸,如19-25或21-25个核苷酸。本领域已知siRNA介导的基因沉默法(参见例如PCT国际专利公开号W000/44895、W001/75164、W001/92513或W001/29058),其中基因的表达产物被特异性双链来源的siRNA核苷酸序列靶定,所述序列与靶基因转录物核苷酸区段互补(如与至少19-25个核苷酸长度的区段互补),包括5'非翻译(UT)区、ORF或3'UT区。siRNA序列通常以精确互补性结合靶mRNA内的独特序列,导致靶mRNA分子降解。siRNA序列能结合mRNA分子内的其他地方。siRNA靶向序列包括表达感兴趣多肽的基因,或所述基因的上游或下游调节因子。基因的上游或下游调节因子示例包括基因启动子、与感兴趣多肽相互作用的激酶或磷酸酶以及参与能实现感兴趣多肽的调节通路的多肽。miRNA序列通常以精确互补性或小于精确互补性来结合靶mRNA内的独特序列,导致靶mRNA分子的翻译阻遏。miRNA序列能结合mRNA序列内的任何地方,但一般在mRNA分子的3'非翻译区内结合。

[0466] 例如,核苷酸siRNA或mRNA序列(如长度为21-25个核苷酸)可如下产生自表达载体:转录短发夹RNA(shRNA)序列、较长(如60-80个核苷酸)前体序列,所述序列随后通过细胞RNAi机器加工以生成siRNA或miRNA序列。或者,核苷酸siRNA或mRNA序列(如长度为21-25个核苷酸)可例如化学合成。化学合成siRNA或mRNA序列市售可得,来自诸如Dharmacon公司(Dharmacon, Inc., 科罗拉多州拉斐特)、凯杰(Qiagen, 加利福尼亚州巴伦西亚)和安碧公司(Ambion, 得克萨斯州奥斯丁)等公司。递送siRNA或miRNA分子的方法为本领域已知。参见例如Oh和Park, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 61 (10): 850-62 (2009); Gondi和Rao, *J. Cell Physiol.* 220 (2): 285-91 (2009); 和Whitehead等, *Nat. Rev. Drug. Discov.* 8 (2): 129-38 (2009)。

[0467] 例如,核酸分子可以是反义核酸序列。通过杂交相互作用,反义核酸阻断细胞或病原体mRNA的表达。例如,反义核酸分子能转录自表达载体以生成与以下互补的RNA:至少一个独特部分的靶mRNA和/或编码靶标的内源基因。通过抑制转录和/或翻译,反义核酸在特定细胞条件下的杂交导致靶蛋白表达受抑制。反义核酸示例包括但不限于下列艾希司制药公司(Isis Pharmaceuticals, Inc.)产品:用于高胆固醇的米泊美生;用于冠状动脉疾病、炎症和肾病的ISIS-CRP_{Rx};用于高甘油三酯的ISIS-APOCIII_{Rx};用于凝固障碍的ISIS-FXI_{Rx};用于冠状动脉疾病的BMS-PCSK9_{Rx};用于2型糖尿病的ISIS-SGLT2_{Rx}、ISIS-PTP1B_{Rx}、ISIS-GCGR_{Rx}和ISIS-GCCR_{Rx};用于肥胖症的ISIS-FGFR4_{Rx};用于癌症的OGX-011f、LY2181308、ISIS-EIF4E_{Rx}、OGX-427、ISIS-STAT3_{Rx};用于ALS的ISIS-SOD1_{Rx};用于TTR淀粉样变性的ISIS-TTR_{Rx};用于脊髓性肌萎缩的ISIS-SMN_{Rx};用于CMV视网膜炎的福米韦生;用于溃疡性结肠炎的阿利福生;用于重症细菌感染的ACHN-490;用于多发性硬化的ATL1102;用于局部纤维化的EXC 001;用于眼病的iCo-007;和用于肢端肥大症的ATL1103。能用本文所述方法施用的微RNA示例包括但不限于下列Santaris制药公司(Santaris Pharma)产品:用于丙型肝炎的Miravirsen;用于实体瘤的EZN-2968;用于癌的EZN-3042;用于雄激素受体的EZN-4176;用于高胆固醇的SPC 4955和SPC 5001。额外治疗性微RNA包括下列治疗癌的MIRN (Mirna Therapeutics, Inc.)产品:let-7, miR-34, miR-Rx02, miR-16, miR-Rx-01, miR-Rx-03, miR-Rx-06和miR-Rx-07。

[0468] 在其他示例中,核酸分子可以是核酶(如锤头或发夹基核酶),其设计用于修复缺陷细胞RNA或破坏不需要的细胞或病原体编码RNA(参见例如Sullenger (1995) *Chem. Biol.*, 2:249-253; Czubayko等. (1997) *Gene Therapy*, 4:943-9; Rossi (1997) *Ciba Found. Symp.*, 209:195-204; James和Gibson (1998) *Blood*, 91:371-82; Sullenger (1996) *Cytokines Mol. Ther.*, 2:201-5; Hampel (1998) *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, 58:1-39; 或Curcio等. (1997) *Pharmacol Therapy*, 74:317-32)。

[0469] 2. 含核酸分子的载剂和构建体

[0470] 核酸分子能在载体、构建体或其他递送载剂中提供。其示例是病毒载体、非病毒载体、纳米颗粒或全细胞。产生所述递送用构建体或载剂的方法为技术人员熟知。例如,核酸分子能插入非病毒或病毒载体,使用本领域技术人员熟知的标准方法。一些情况下,能使用常规分子生物学和重组DNA技术(参见例如Ausubel等,《最新分子生物学实验方法汇编》(*Current Protocols in Molecular Biology*), 纽约州纽约的约翰威利父子出版公司(John Wiley&Sons), 1998, Sambrook等,《分子克隆:实验指南》(*Molecular Cloning:*

ALaboratory Manual), 纽约的冷泉港出版社 (Cold Spring Harbor), N.Y. (1989))。其他情况下,能插入核酸分子,从而其在任何一种或多种合适调节序列控制下。在其他示例中,插入核酸分子作为表达盒部分,其包括调控元件如启动子或增强子。根据例如所需表达水平,本领域普通技术人员可选择合适调控元件。在特定示例中,能选择调控元件以包括组织特异性启动子如肝特异性启动子,从而限制组织特异性细胞的基因表达。

[0471] a. 病毒和病毒载体

[0472] 病毒能用作区室化核酸递送分子中的所递送的药剂,作为所递送的药剂,其中外源核酸序列插入病毒载体。病毒用于体内递送核酸分子,因为其有效转移病毒DNA到宿主细胞内,其能感染并依赖病毒粘附蛋白(如衣壳或糖蛋白)被特异性靶细胞吸收,且其能操作成移出非必需基因和加入异源核酸分子。许多病毒载体为本领域技术人员已知。能用于本文方法的病毒示例包括但不限于腺病毒、腺相关病毒、甲病毒、杆状病毒、肝DNA病毒、杆状病毒、痘病毒、疱疹病毒、逆转录病毒、慢病毒、正粘病毒、乳多空病毒、副粘病毒和细小病毒。在特定示例中,所述病毒是腺病毒。选择病毒在本领域技术人员水平范围内且取决于多种因素,如复制或整合病毒DNA的需求,病毒趋向性和/或病毒免疫原性。这些病毒和其衍生物为本领域技术人员熟知且可得。例如,许多可获自美国模式培养物保藏所(马里兰州罗克维尔的ATCC)或商业供应商(如宾夕法尼亚州费城的Vector Biolabs;加拿大不列颠哥伦比亚省里士满的ABM公司(Applied Biological Materials, Inc.))。

[0473] 用于产生重组病毒的病毒载体包括可复制型病毒和复制缺陷型病毒。在复制缺陷型病毒中,病毒通常缺乏一个或多个与病毒复制相关的基因且不能复制超过第一轮感染。一些情况下,为了生成复制缺陷型病毒,需要转移载体、包装载体或辅助病毒。例如,包装载体能作为粘粒或在细胞系中提供,其提供病毒结构蛋白以包装缺陷性载体。

[0474] 病毒载体还能包括含调控元件如启动子和增强子的表达盒,所述元件可操作连接所选转基因。如上所讨论,可使用任何合适启动子。合适启动子和增强子在本领域广泛可得用于所选病毒载体。通常,所述启动子是组成型启动子。启动子示例包括但不限于CMV启动子、截短的CMV启动子、人血清白蛋白启动子或 α -1-抗胰蛋白酶启动子。例如,所述启动子是截短的CMV启动子,其中用于已知转录抑制子的结合位点缺失。在其他示例中,所述启动子是诱导型启动子。例如,所述启动子是诱导型蜕化素启动子。其他启动子示例包括类固醇启动子,如雌激素和雄激素启动子,以及金属硫蛋白启动子。增强子可以是组织特异性或非特异性增强子。例如,所述增强子是肝特异性增强子。增强子元件示例包括但不限于人血清白蛋白(HSA)增强子、人凝血酶原(HPrT)增强子、 α -1-微球蛋白增强子、内在醛缩酶增强子和载脂蛋白E肝控制区。

[0475] 1. 腺病毒

[0476] 腺病毒是病毒载体,能用作含感兴趣核酸分子的所递送的药剂。腺病毒是基因组约为36kb的核DNA病毒,其已通过经典遗传学和分子生物学研究充分鉴定(Horwitz, M.S., "腺病毒科和其复制(Adenoviridae and Their Replication)," 收录用《病毒学》(Virology), 第2版, Fields, B.N. 等编, 纽约的雷文出版社(Raven Press), 1990)。所述基因组分成早期(称为E1-E4)和晚期(称为L1-L5)转录单元,指产生2个时态类病毒蛋白。这些事件的分界线是病毒DNA复制。

[0477] 腺病毒显示对呼吸和胃肠道上皮细胞的天然趋向性。腺病毒还能感染肝脏细胞,

如肝细胞和内皮细胞,这可在全身施用后病毒清除到肝内时发生。特别地,在本文方法中,直接注入实质促进肝细胞的选择性肝脏细胞摄取。五邻体基底和病毒表面的纤维蛋白负责病毒趋向性。需要腺病毒颗粒与宿主细胞之间的多种相互作用以促进有效细胞进入(Nemerow (2000) *Virology* 274:1-4)。对于腺病毒亚组C如腺病毒2和5 (Ad2或Ad5),病毒进入通路已充分鉴定并认为包括2个单独细胞表面事件。首先,腺病毒纤维钮与柯萨奇-腺病毒受体(CAR)之间的高亲和性相互作用介导腺病毒颗粒对细胞表面的附着。蛋白与细胞表面整合素 $\alpha_v\beta_3$ 和 $\alpha_v\beta_5$ 的后续关联可增强病毒内化,所述整合素用作辅助受体。在包括肺上皮细胞在内的许多人组织中表达的CAR (Bergelson等, (1997) *Science* 275:1320-1323) 看来用作大部分腺病毒亚组的细胞受体,除了亚组B (Bergelson等, (1997) *Science* 275:1320-1323;Roelvink等, (1998) *J. Virol.* 72:7909-7915)。

[0478] 腺病毒包括超过50个血清型,分成6个不同亚组A-F。任何这些腺病毒血清型能用于本文方法或用作本领域已知更多修饰的来源,所述腺病毒血清型获自美国模式培养物保藏所(马里兰州罗克维尔的ATCC)以及其他商业和非商业供应商。同样,获自任何其他来源的任何其他腺病毒血清型能使用或进一步修饰。例如,腺病毒可以是亚组A(如血清型12、18、31)、亚组B(如血清型3、7、11a、11p、14、16、21、34、35、50)、亚组C(如血清型1、2、5、6)、亚组D(如血清型8、9、10、13、15、17、19、19p、20、22-30、32、33、36-39、42-49、51)、亚组E(如血清型4)、亚组F(如血清型40、41)或任何其他腺病毒血清型。在某些实施方式中,所述腺病毒是腺病毒亚组C或衍生自腺病毒亚组C。腺病毒亚组C包括但不限于Ad2和Ad5。

[0479] 腺病毒载体在本领域可得(如获自美国模式培养物保藏所(马里兰州罗克维尔的ATCC)),来自许多不同腺病毒血清型的野生型腺病毒蛋白的序列为本领域熟知(参见例如Roberts等. (1984) *J. Biol. Chem.*, 259:13968-13975;Chroboczek等. (1992) *Virology*, 186:280-285;Sprengel等. (1994) *J. Virol.*, 68:379-389;Chillon等. (1999) *J. Virol.*, 73:2537-2540;Davison等. (1993) *J. Mol. Biol.*, 234:1308-1316;www.binf.gmu.edu/wiki/index.php/Human_Adenovirus_Genome_Sequences_和注释)。腺病毒载体对技术人员而言广泛可得,例如来自美国模式培养物保藏所(ATCC)或其他商业或非商业供应商。来自ATCC,腺病毒以ATCC号VR-1-VR-1616可得。例如,野生型腺病毒2型可作为VR-846获自ATCC,5型可作为VR-5和VR-1082获自ATCC。能生成衍生自任何上述血清型的任意多种重组或修饰腺病毒,如本领域和本文所述或通过本领域技术人员已知的任何合适方法。

[0480] 腺病毒载体具有用作基因递送载体的数种优势,包括趋向分裂和非分裂细胞,致病潜力极小,就制备载体储液而言复制到高效价的能力,携带大插入物的潜能(参见例如Berkner (1992) *Curr. Top. Micro. Immunol.*, 158:39-66;Jolly等. (1994) *Cancer Gene Therapy*, 1:51-64)。

[0481] 例如,腺病毒载体包括缺陷型腺病毒载体,含有第一早期基因区(E1-E4)中的至少一个缺失。腺病毒载体的修饰包括本领域已知的缺失,如一个或多个E1、E2a、E2b、E3或E4编码区中的缺失。例如,通过异源核酸分子取代E1、E2a、E2b、E3和/或E4基因,可制备用于基因治疗的腺病毒载体。用限制性内切酶能实现缺失。例如,用E1a区内便利的限制性内切酶位点可删除E1a区。通常,也通过加入限制性内切酶来删除一部分E3,从而允许大段外来DNA插入而同时仍满足包装入新病毒颗粒所需的尺寸约束。由于这些区域缺失,腺病毒载体的克隆容量可约为8kb。这种腺病毒载体通常称为复制缺陷型腺病毒,因为第一病毒早期基因区

如含E1a和E1b区的E1中有至少一个缺失。

[0482] 缺失早期基因如病毒E1区可产生就复制而言缺陷的重组腺病毒,且在随后感染的靶细胞中不能生成感染性病毒颗粒。因此,为允许早期基因缺失的腺病毒基因组复制如E1缺失的腺病毒基因组复制以及生成病毒颗粒,需要提供缺失基因产物的补体系统。例如,E1补体通常由表达E1的细胞系提供,如人胚肾包装细胞系即称为293的上皮细胞系(以登录号CRL-1573在ATCC保藏)。细胞系293包含腺病毒E1区,其提供E1基因区产物以“支持”E1缺失的病毒在细胞系中生长(参见例如Graham等,J.Gen.Virol.36:59-71,1977)。另外,报道了可用于生成缺陷型腺病毒的细胞系,其具有腺病毒E4区部分(参见例如国际公开申请号W096/22378)。E3还能从载体中删除,但由于其不需要用于载体生成,因而可从互补生产细胞中省略。

[0483] 复制缺陷病毒作为载体应用的益处在于其扩散到其他细胞类型的程度受限,因为其可在初始感染细胞内复制,但不能形成新的感染性病毒颗粒。还描述了多个缺陷型腺病毒载体和互补细胞系(参见例如国际PCT公开号W095/34671、美国专利号5,994,106)。描述了构建复制缺陷型腺病毒(Berkner等,J.Virol.61:1213-20(1987);Massie等,Mol.Cell.Biol.6:2872-83(1986);Haj-Ahmad等,J.Virol.57:267-74(1986);Davidson等,J.Virol.61:1226-39(1987);Zhang等,BioTechniques 15:868-72(1993);Berkner(1983)Nuc.Acids Res.11:6003;Ghosh-Choudhury(1987)Biochem.Biophys.Res.Commun.,147:964;Gilardi等(1990)FEBS 267:60;Mittal(1993)Virus Res.28:67;Yang(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:4601;和国际公开的PCT W01995/026411)。

[0484] 腺病毒载体还包括“无胆”或“无肠”载体,其中移出所有病毒基因,仅留下载体增殖所需的ITR和 Ψ 。这种腺病毒载体称为假腺病毒载体(PAV),因为其衍生自腺病毒基因组,所述基因组包含载体基因组复制和包装所需的最小顺式作用核苷酸序列。PAV载体包括5'末端反向重复(ITR)和含有复制起点的3' ITR核苷酸序列,以及包装PAV基因组所需的顺式作用核苷酸序列。其能修饰成包括再多一个转基因,带有合适调控元件(如启动子或增强子)。PAV具有规模上远大于8kb且多至36kb的负载量,因为其包含大部分病毒编码区的缺失(参见例如美国专利号5,882,887或5,670,488;PCT公开号W096/40955、W097/25466、W095/29993、W097/00326;Morrall等(1998)Hum.Gene Ther.,10:2709-2716,Kochanek等(1996)Proc.Natl.Acad.Sci.,93:5731-5736;Parks等(1996)Proc.Natl.Acad.Sci.,93:13565-13570;Lieber等(1996)J.Virol.,70:8944-8960或Fisher等(1996)J.Virol.,217:11-22)。

[0485] 通过用“辅助”病毒(如用E1缺失的腺病毒载体)共感染生产细胞来培养PAV,其中包装细胞表达E1基因产物。辅助病毒反式互补缺失的腺病毒功能,包括颗粒组装所需的病毒结构蛋白生成。例如,向包装细胞递送辅助腺病毒载体基因组和无胆腺病毒载体基因组。所述细胞在标准细胞维持或生长条件下维持,其中辅助载体基因组和包装细胞共同提供互补蛋白用于包装腺病毒载体颗粒。这类无胆腺病毒载体颗粒通过标准技术回收。辅助载体基因组能以质粒或类似构建体形式通过标准转染技术递送,或能通过含基因组的病毒颗粒经感染递送。这种病毒颗粒常称为辅助病毒。类似地,无胆腺病毒载体基因组能通过转染或病毒感染递送到细胞。

[0486] 腺病毒还包括复制条件性腺病毒,其是在某些细胞或组织类型中复制但在其他类型中不复制的病毒,后者是由于将复制必需的腺病毒基因置于异源启动子控制下(如上所

讨论;还参见美国专利号5,998,205、美国专利号5,801,029和美国申请号10/081,969,作为美国2003-0104625公开,以及对应的国际PCT公开号WO 2002/067861)。

[0487] 腺病毒还包括修饰成包含靶向配体的那些以增加感染表达受体(蛋白、脂质、碳水化合物或其部分)的特异性靶细胞,所述受体用于靶向配体,例如用以改变病毒趋向性。尽管腺病毒载体等用于治疗应用的前景广阔,但其有效性受到CAR广泛组织分布的限制,这制约腺病毒载体递送到特定细胞类型。此外,某些细胞上缺乏CAR和/或 α_v 整合素受体会体内限制腺病毒载体靶向的细胞或组织类型。因此,腺病毒还包括如下修饰的那些:减少或去除与天然受体和/或工程衣壳蛋白如HI环、纤维C末端、六邻体L环或五邻体基底RGD环、或衣壳蛋白IX的结合,以纳入所需细胞受体或组织特异性受体的靶配体(参见例如Krasnykh等(2000)Mol. Ther., 1:391-405;Wickham等(2000)Gene Ther., 7:110-4;Dmitriev等(1998)J. Virol., 72:9706-12;Mizuguchi等(2004)Hum. Gene Ther., 15:1034-44;Wickham等(1997)J. Virol., 71:8221-9;Curiel(1999)Ann NY Acad. Sci., 886:158-71)。例如,衣壳蛋白能如下修饰:加入靶配体或用其他腺病毒纤维类型取代纤维。靶配体可以是任何蛋白或其部分,其结合细胞中或之上的部分,如细胞表面蛋白、脂质、碳水化合物或其他部分。例如,靶配体包括但不限于生长因子、粘附分子、细胞因子、蛋白激素、神经肽(神经递质)和单链抗体、或其合适部分。在其他示例中,腺病毒载体能缀合衔接分子,如抗体和含Ad单链抗体(scFv)的融合蛋白或者CAR胞外域,所述CAR胞外域有靶向配体或化学修饰有含靶向配体的聚合物,例如聚乙二醇(PEG)部分(参见例如Mizuguchi等(2004)Hum. Gene Ther., 15:1034-44;Eto等(2008)Int. J. Pharm., 354:3-8)。

[0488] 任何上述腺病毒或任何本领域已知腺病毒能修饰成包含所需异源核酸分子以用作本文的所递送的药剂。含所需异源核酸序列的腺病毒可通过本领域技术人员已知的任何技术制备(Levrero等, Gene 101(1991)195, EP 185 573;Graham, EMBO J. 3(1984)2917;国际PCT公开号W095/26411)。特别地,通过腺病毒载体与携带异源DNA序列的质粒之间同源重组,能制备这类病毒。同源重组可在腺病毒载体和质粒共转染到合适细胞系后发生。所用细胞系一般可转化。转染能在指导腺病毒颗粒进入生产细胞的试剂存在下进行。这种试剂包括但不限于聚阳离子和双功能试剂。在一些示例中,如果腺病毒是缺陷型腺病毒(由于早期基因或纤维蛋白缺失),所述细胞系还包括能互补缺陷型腺病毒基因组部分的序列,如采用整合形式以避免重组风险。互补细胞系的示例包括但不限于含Ad5腺病毒基因组左边部分的人胚肾细胞系293(Graham等, J. Gen. Virol. 36(1977)59)。例如,互补细胞还包括PER.C6细胞系的细胞,其含有腺病毒E1基因(PER.C6获自例如荷兰的库赛尔(Crucell);以ECACC登录号96022940保藏;还参见Fallaux等(1998)Hum. Gene Ther. 9:1909-1907;还参见美国专利号5,994,128),或者AE1-2a细胞(参见Gorziglia等(1996)J. Virology 70:4173-4178;和Von Seggern等(1998)J. Gen. Virol. 79:1461-1468)。然后,已增殖的腺病毒根据常规分子生物学技术回收和纯化。

[0489] 描述腺病毒在基因治疗中应用的参考文献包括但不限于Vorburger和Hunt(2002)The Oncologist, 7:46-59;Breyer等(2001)Current Gene Therapy, 1:149-162;Shirakawa(2009)Drugs News Perspectives, 22:140-5;Wang等(2005)Gene Therapy and Mol. Biology, 9:291-300;和Sheridan(2011)Nature Biotechnology, 29:121)。

[0490] ii. 腺相关病毒(AAV)

[0491] 用作所递送的药剂的病毒载体包括腺相关病毒(AAV)。AAV是单链人DNA细小病毒,其基因组大小为4.6kb。AAV基因组包含2种主要基因:rep基因和cap基因。rep基因编码rep蛋白(Rep 76、Rep 68、Rep 52和Rep40)。cap基因编码用于AAV复制、拯救、转录和整合,而cap蛋白形成AAV病毒颗粒。AAV的名字来源于其对腺病毒或其他辅助病毒(如疱疹病毒)的依赖性,用于提供允许AAV经受生产性感染(即在宿主细胞中自身复制)的必需基因产物。没有辅助病毒时,AAV作为前病毒整合入宿主细胞染色体,直到用辅助病毒(通常腺病毒)双重感染宿主细胞来拯救(Muzyczka (1992) *Curr. Top. Micro. Immunol.*, 158:97-129)。

[0492] AAV病毒能整合入细胞基因组。整合机制通过在AAV基因组两个末端存在末端反向重复(ITR)来调节,所述重复包含病毒复制、拯救、包装和整合所需的顺式作用核苷酸序列。由rep蛋白反式介导的ITR整合功能允许AAV基因组在没有辅助病毒情况下于感染后整合入细胞基因组。AAV的整合位点已明确并定位于人染色体19(Kotin等(1990) *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87:2211-2215)。了解整合位点可减少细胞基因组内随机插入事件的危险,所述事件能活化或灭活宿主基因或中断编码序列。AAV也用于基因治疗应用,因为其宿主范围广泛,显示对许多细胞类型的趋向性。AAV也能感染非分裂和分裂细胞。

[0493] AAV载体可衍生自任何天然产生的AAV血清型,包括AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8或AAV-9。这类病毒为本领域技术人员熟知且可得(参见例如Grimm等(2003) *Current Gene Therapy*, 3:281-304;Muramatsu等(1996) *Virol.*, 221:208-217;Chiorini等(1997) *J. Virol.*, 71:6823-6833;Chiorini(1999) *J. Virol.*, 73:1309-1319;Rutledge等(1998) *J. Virol.*, 72:309-319;Xiao等(1999) *J. Virol.*, 73:3994-4003;Gao等(2002) *Proc Natl. Acad. Sci.*, 99:11854-11859;Kotin(1994) *Human Gene Therapy*, 5:793-801)。其他血清型也已知且可得,并包括AAV-8-AAV-12。例如,许多AAV载体获自美国模式培养物保藏所(马里兰州罗克维尔的ATCC;参见例如VR-197, VR-645, VR-646, VR-680, VR-681, VR-1449, VR-1523, VR-1616)。相容性宿主细胞和辅助病毒也可得。AAV载体还包括“假病毒”AAV载体,其中AAV-2载体基因组交叉包装入其他AAV血清型的衣壳(Burger等(2004) *Mol. Ther.*, 10:302-17;美国专利号7,094,604)。这些假病毒AAV载体克服AAV-2-源性血清型的限制,如其对转导一些细胞如肝或肌肉细胞无效。

[0494] 在获得全身表达的递送方法后,许多AAV载体在多种组织如骨骼和心肌中表现出广泛转导。这些包括例如AAV血清型-6、-8和-9。特别地,AAV载体包括腺相关病毒血清型9(AAV-9;GenBank登录号AY530629.1;Gao等(2004) *J. Virol.*, 78:6381-6388)。AAV-9是能绕过血脑屏障以靶向中枢神经系统(CNS)的载体(参见例如Foust等,(2009) *Nature Biotechnology*, 27:59-65;Duque等(2009) *Mol. Ther.*, 17:1187-1196)。因此,在神经退行性疾病或者实现脑或CNS或与之相关的本文其他疾病示例中,AAV-9能用作所递送的药剂以编码感兴趣蛋白用于全身递送(如递送到肝或其部分以在血中表达)。

[0495] AAV载体包括含感兴趣异源核酸的重组AAV载体。产生这类载体的过程为本领域技术人员已知。例如,产生AAV载体的标准方法需要用AAV载体基因组转染宿主细胞,所述基因组含有感兴趣核酸分子且两侧有AAV ITR序列,通过编码AAV rep和cap蛋白基因的质粒转染宿主细胞(需要反式),用辅助病毒感染经转染细胞以提供非AAV辅助功能(需要反式)(Muzyczka (1992) *Curr. Top. Micro. Immunol.*, 158:97-129;美国专利号5,139,941)。辅助病毒可以是腺病毒或其他辅助病毒。辅助病毒蛋白激活AAV rep基因转录,rep蛋白随后激活

AAV cap基因转录。cap蛋白随之用ITR序列包装AAV基因组到病毒颗粒内。

[0496] 或者, AAV病毒颗粒能用含辅助功能基因的质粒协助, 联合一种熟知辅助病毒感染, 所述辅助病毒能用作复制功能源(参见例如美国专利号5, 622, 856和5, 139, 941)。类似地, 技术人员可使用含辅助功能基因的质粒, 联合wt AAV感染, 以提供必需复制功能。三重转染法还能用于生成rAAV病毒颗粒, 所述方法不需要辅助病毒(参见例如美国专利号6, 001, 650)。这通过3种用于rAAV病毒颗粒生成的载体完成: AAV辅助功能载体、辅助功能载体和rAAV载体。

[0497] 描述AAV病毒在基因治疗中应用的参考文献包括但不限于Sheridan (2011) *Nature Biotechnology*, 29:121。

[0498] iii. 逆转录病毒

[0499] 用作所递送的药剂的病毒载体包括逆转录病毒载体(参见例如Miller (1992) *Nature*, 357:455-460)。逆转录病毒载体非常适合递送核酸到细胞, 因为其能递送未重排、单拷贝基因到广泛范围或啮齿类、灵长类和人类体细胞。逆转录病毒载体整合到宿主细胞基因组内。不同于其他病毒载体, 其仅感染分裂细胞。

[0500] 逆转录病毒是病毒基因组为RNA的RNA病毒。宿主细胞用逆转录病毒感染时, 基因组RNA反转录到DNA中间物, 所述中间物极有效整合入感染细胞的染色体DNA。此整合的DNA中间物称为前病毒。前病毒转录并组装入传染性病毒在合适辅助病毒或含合适序列的细胞系中发生, 所述序列允许包封而不同时生成污染辅助病毒。如果包封由合适载体共转染提供, 则生成重组逆转录病毒不需要辅助病毒。

[0501] 逆转录病毒基因组和前病毒DNA具有3种基因: gag、pol和env, 其侧翼有2个长末端重复(LTR)序列。gag基因编码内部结构(基质、衣壳和核衣壳)蛋白且env基因编码病毒包膜糖蛋白。pol基因编码的产物包括RNA指导的DNA聚合酶逆转录酶、整合酶和蛋白酶, 所述逆转录酶使病毒RNA转录成双链DNA, 所述整合酶使逆转录酶生成的DNA整合到宿主染色体DNA内, 所述蛋白酶用于加工编码的gag和pol基因。5'和3'LTR用于促进病毒颗粒RNA转录和聚腺苷酸化。LTR包含病毒复制所需的全部其他顺式作用序列。

[0502] 逆转录病毒载体如Coffin等, *Retroviruses*, 冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press) (1997)所述。逆转录病毒示例是莫洛尼氏鼠白血病病毒(MMLV)或鼠干细胞病毒(MSCV)。逆转录病毒载体可以是复制型或复制缺陷型。通常, 逆转录病毒载体是复制缺陷型, 其中额外轮的病毒颗粒复制和包装所需的基因编码区缺失或用其他基因取代。因此, 一旦感染初始靶细胞, 病毒不能持续其典型裂解通路。这些逆转录病毒载体和生成这类病毒的必需试剂(如包装细胞系)市售可得(参见例如获自克隆泰克公司的逆转录病毒载体和系统, 如产品目录号634401、631503、631501等, 加利福尼亚州帕洛阿尔托的克隆泰克公司)。

[0503] 通过用待递送的核酸分子取代复制所需的病毒基因, 这些逆转录病毒载体能作为所递送的药剂生成。所得基因组包含LTR, 各末端有所需基因或之间的基因。生成逆转录病毒的方法为本领域技术人员已知(参见例如国际PCT公开号W01995/26411)。逆转录病毒载体能在含一种或多种辅助质粒的包装细胞系中生成。包装细胞系提供载体衣壳生成和病毒颗粒成熟(如gag、pol和env基因)所需的病毒蛋白。通常, 使用至少2种单独辅助质粒(分开含有gag和pol基因; 以及env基因)从而载体质粒之间的重组无法发生。例如, 逆转录病毒载

体能转移到包装细胞系内,使用标准转染方法如磷酸钙介导转染。包装细胞系为本领域技术人员熟知并且市售可得。包装细胞系示例是GP2-293包装细胞系(产品目录号631505、631507、631512,克隆泰克公司)。在时间就病毒颗粒产物而言足够后,收获病毒。若需要,收获的病毒能用于感染第二包装细胞系,例如用不同宿主嗜性生成病毒。最终结果是不能复制的重组逆转录病毒,所述病毒包括感兴趣核酸但缺乏其他结构基因,从而新病毒不能在宿主细胞中形成。

[0504] 描述逆转录病毒载体在基因治疗中应用的参考文献包括:Clowes等,(1994) *J.Clin.Invest.* 93:644-651;Kiem等,(1994) *Blood* 83:1467-1473;Salmons和Gunzberg (1993) *Human Gene Therapy* 4:129-141;Grossman和Wilson (1993) *Curr.Opin.in Genetics and Devel.* 3:110-114;Sheridan (2011) *Nature Biotechnology*, 29:121; Cassani等 (2009) *Blood*, 114:3546-3556。

[0505] iv. 慢病毒

[0506] 慢病毒是逆转录病毒子类。慢病毒示例是HIV、SIV和FIV。不同于其他逆转录病毒,慢病毒能整合到非分裂细胞基因组内。因此,例如,报道了慢病毒载体将基因有效和永久递送到原发性肝细胞,整合入非分裂原发性肝细胞基因组 (Lewis和Emerman (1994) *J.Virol.*, 68:510-6)。慢病毒载体不受与MMLV逆转录病毒载体相同的转录沉默机制实现。慢病毒与其他逆转录病毒的差异在于其具有数种病毒颗粒蛋白所含亲核决定簇,如基质或VPR,其与核进入途径相互作用并介导通过核孔的病毒整合前复合体主动转运。因此,慢病毒整合入宿主细胞基因组不取决于细胞分离。

[0507] 类似其他逆转录病毒,慢病毒包含作为病毒蛋白主要编码基因的gag、pol和env基因。另外,还有参与病毒RNA合成、加工和其他复制功能调节的另外附加基因(如HIV中的Tat和Rev)。这些侧翼有2个长末端重复(LTR)序列。通过病毒糖蛋白结合宿主细胞受体、膜融合和病毒进入细胞,来起始复制周期。进入后,病毒无包衣且发生逆转录导致整合前复合体(PIC)形成。其是在PIC形成和慢病毒感染非分裂细胞能力中起作用的另外附加基因,所述感染是通过经PIC穿过核膜主动进入细胞核。一旦前病毒进入核膜,其自身整合到宿主基因组内。

[0508] 慢病毒示例是基于HIV-1、HIV-2、SIV或FIV。为产生安全的慢病毒载体,形成含数种质粒载体的包装细胞系,如四质粒载体系统。例如,第一质粒包括辅助蛋白(如tat、brf、vpr和nef),从而其仅含有启动子、gag和pol以及Psi包装序列,所述序列允许转录病毒RNA纳入新病毒组装,第二质粒包括逆转录酶,第三质粒包括用水泡性口炎病毒包膜蛋白(VSV-G)取代的env基因,第四质粒是感兴趣载体,这是通过用待递送的核酸分子取代复制所需病毒基因。

[0509] 这类慢病毒载体以及生成慢病毒的系统和方法为本领域已知(参见例如Buchshacher和Wong-Staal (2000) *Blood*, 95:2499-2504;Blomer等 (1997) *J.Virol.*, 71:6641-9;Choi等 (2001) *Stem Cells*, 19:236-46;;美国专利号6,218,186)。慢病毒载体是复制缺陷型且不含复制所需基因。为生成慢病毒,数种包装质粒转染到包装细胞系,一般是HEK 293或其他类似细胞系的衍生物(如293FT细胞,产品目录号R700-07,加利福尼亚州卡尔斯巴德的英杰公司(Invitrogen),生命技术公司(Life Technologies);293LTV细胞,产品目录号LTV-100,加利福尼亚州圣地亚哥的Cell Biolabs公司(Cell Biolabs, Inc.);

Lenti-Pac 293Ta细胞系,产品目录号CLv-PK-01,马里兰州罗克维尔的复能基因(GeneCopoeia)。包装质粒分开编码病毒颗粒蛋白(如衣壳和逆转录酶)和待通过载体(能转染入包装细胞系)递送的核酸分子。转录单链RNA病毒基因组,其包装到病毒颗粒内。产生慢病毒的方法为本领域技术人员熟知(参见例如Naldine等(1996) *Science*, 272:263-267)。生成病毒的慢病毒载体和系统市售可得(参见例如慢病毒表达载体如pSMPUW慢病毒载体和其衍生物以及慢病毒表达和包装系统,来自Cell Biolabs公司)。

[0510] 慢病毒载体已用于基因治疗应用(参见例如Manilla等(2005) *Human Gene Therapy*, 16:17-25; Sheridan(2011) *Nature Biotechnology*, 29:12)。特别地,慢病毒载体已用于递送小干扰RNA(siRNA)(Sachdeva等(2007) *Journal of Medical Virology*, 79:118-26)。

[0511] b. 非病毒载体

[0512] 基于非病毒的试剂能用作所递送的药剂。这些包括非病毒表达载体。非病毒表达载体包含感兴趣核酸,如编码多肽的核酸、反义DNA或siRNA,其中所述核酸可操作连接表达控制序列(如启动子)。例如,合适的载体主干包括本领域常用的那些,如质粒、微环和人工染色体(例如哺乳动物人工染色体(MAC)、细菌人工染色体(BAC)、酵母人工染色体(YAC)或植物人工染色体(PAC))。许多载体和表达系统可购自诸如诺瓦杰公司(Novagen,威斯康星州麦迪逊)、克隆泰克公司(加利福尼亚州帕洛阿尔托)、Stratagene(加利福尼亚州拉荷亚)和英杰公司/生命技术公司(加利福尼亚州卡尔斯巴德)等公司。

[0513] 载体通常包含一个或多个功能性连接编码区的调控区。调控区包括但不限于启动子序列、增强子序列、SMARS(核骨架基质结合区)、绝缘子、反应元件、蛋白识别位点、诱导型元件、蛋白结合序列、5'和3'非翻译区、转录起始位点、终止序列、多聚腺苷酸序列和内含子。

[0514] 在哺乳动物宿主细胞中控制载体转录的启动子可获自多种来源,例如,病毒如多瘤病毒、猿猴病毒40(SV40)、腺病毒、逆转录病毒、乙肝病毒且最优选巨细胞病毒(CMV)的基因组,或来自异源哺乳动物启动子如 β -肌动蛋白启动子或EF1 α 启动子,或来自杂交或嵌合启动子(如融合 β -肌动蛋白启动子的CMV启动子)。来自宿主细胞或相关物种的启动子也用于本文。

[0515] 增强子一般指在离转录起始位点无固定距离处发挥作用且可以是转录单元5'或3'的DNA序列。此外,增强子能在内含子中以及自身编码序列中。其通常长10-300个碱基对(bp)并顺式作用。增强子一般用于增加来自附近启动子的转录。增强子还能包含介导转录调节的反应元件。已知许多增强子序列来自哺乳动物基因(球蛋白、弹性蛋白酶、白蛋白、胎蛋白和胰岛素),通常使用来自真核细胞病毒的增强子以用于一般表达。示例是复制起点后侧上的SV40增强子、巨细胞病毒早期启动子增强子、复制起点后侧上的多瘤病毒增强子以及腺病毒增强子。

[0516] 启动子和/或增强子可以是诱导型(如化学或物理调节)。例如,化学调节的启动子和/或增强子可通过醇、四环素、类固醇或金属的存在来调控。例如,物理调节的启动子和/或增强子可通过环境因素如温度和光来调控。启动子和/或增强子能任选用作组成型启动子和/或增强子以使待转录的转录单元区表达最大。在某些载体中,启动子和/或增强子区可以细胞类型特异性方式具有活性。在某些载体中,启动子和/或增强子区能任选在所有真

核细胞中具有活性,与细胞类型无关。此类型启动子示例是CMV启动子、SV40启动子、 β -肌动蛋白启动子、EF1 α 启动子和逆转录病毒长末端重复(LTR)。

[0517] 例如,所述载体还能包括复制起点和/或标记。标记基因能赋予细胞可选择表型(如抗生素抗性)或另外可检测。可检测标记示例包括大肠杆菌(*E. coli*) lacZ基因、绿色荧光蛋白(GFP)和荧光素酶。另外,表达载体能包括设计成促进表达多肽操作或检测(如定位)的标签序列。标签序列如GFP、谷胱甘肽S-转移酶(GST)、多组氨酸、c-myc、血凝素或FLAG™标签(柯达(Kodak));康涅狄格州纽黑文市)序列通常表达为融合多肽,包括编码多肽和标记。这类标签能插入编码多肽内的任何位置,包括羧基或氨基末端。

[0518] 特别地,所需核酸分子表达载体可用作所递送的药剂,所述载体含有所需感兴趣核酸分子例如编码感兴趣基因的核酸分子、反义DNA或siRNA或其他核酸分子,可作为裸DNA递送。本文方法中的裸DNA递送效率能通过多种本领域技术人员熟知方法增加(参见例如Li和Huang(2006) *Gene Therapy*, 13:1313-1319)。例如,这种方法包括电穿孔、声致穿孔或“基因枪”法,如本文他处所述和本领域技术人员已知。同样,递送效率能通过包封于脂质体或复合本文所述聚合物来增加。在特定示例中,所述核酸能作为纳米颗粒递送。

[0519] 描述逆非载体在基因治疗中应用的参考文献包括:Sheridan(2011) *Nature Biotechnology*, 29:12。

[0520] 非病毒基所递送的药剂包括纳米颗粒(一般3-200nm),其中核酸分子包封于或缀合特定载体,所述载体含有靶向分子以特异性靶向感兴趣细胞。产生用于基因治疗的纳米颗粒为本领域熟知(参见例如Cho等(2008) *Clin. Cancer. Res.*, 14:1310;Jin等(2007) *Biotechnol. Prog.*, 23:32-41)。纳米颗粒可制备成聚合物,如用聚合物载体(如聚乳酸、多糖、聚氰基丙烯酸酯、聚丙交酯-乙交酯)或支链聚合物以产生树枝状大分子,如通过来自聚L-谷氨酸(PGA)、聚酰胺-胺(PAMAM)、聚乙二醇(PEG)和聚乙烯亚胺(PEI)的生长聚合步骤。能使用生物可降解聚合物,包括例如聚乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸-乙醇酸(PLGA)或聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)。能产生其他纳米颗粒类型,用不同脂质混合物产生为脂质体;用氧化铁产生为磁性纳米颗粒,用SiO₂产生为硅纳米颗粒或者用氯金酸或柠檬酸钠产生为金纳米颗粒。纳米颗粒系统为本领域技术人员熟知。

[0521] 纳米颗粒能如下功能化:靶向分子缀合或包被到表面上,例如,作为配体或其他的靶向分子结合待靶定细胞所表达的受体。这类靶向分子包括但不限于配体、抗体或肽。在特定示例中,双配体法能用于增加对细胞的选择性。靶向分子示例可以是生长因子,如靶向成纤维细胞生长因子受体的成纤维细胞生长因子。靶向分子的选择取决于特定应用,包括待靶向的组织或器官,且可由本领域技术人员凭经验确定。靶向纳米颗粒为本领域已知(参见例如Franzen(2011) *Expert Opin. Drug. Deliv.* 8(3):281-98;Faraji和Wipf(2009) *Bioorg. Med. Chem.* 17(8):2950-62;Sajja等,(2009) *Curr. Drug. Discov. Technol.* 6(1):43-51)。特别地,组织特异性基因递送纳米颗粒的方法为本领域已知(参见例如Harris等(2010) *Biomaterials*, 31:998-1006)。例如,实质肝细胞表达脱唾液酸糖蛋白受体(ASGP-R)和肝凝集素。因此,肝特异性纳米颗粒为本领域已知且能包括用识别脱唾液酸糖蛋白受体(ASGP-R)和其他受体的试剂功能化,包括例如去唾液酸-feutin、去唾液酸转铁蛋白、去唾液酸血浆铜蓝蛋白、去唾液酸乳铁蛋白、去唾液酸血清类粘蛋白、lac-BSA、肝球蛋白、抗体和半乳糖(参见例如Pathak等(2008) *Int. J. Nanomedicine*, 3:31-49)。

[0522] 3. 基因治疗剂示例

[0523] 含核酸分子的所递送的药剂可以是编码感兴趣核酸的任何病毒或非病毒载体,如技术人员已知的任何基因治疗剂。根据所治疗特定疾病或病症选择合适基因治疗剂,在技术人员水平范围内。数以百计的基因治疗剂处于临床试验,且数种在欧洲(如**Glybera®**, AdLPL)和中国(如rAd53, **Gendicine®**)获得市场认可(参见例如Sheridan (2011) *Nature Biotechnology*, 29:121)。

[0524] 例如,基因治疗载体示例包括基于腺病毒或AAV的治疗。用于本文方法、应用或组合物的基于腺病毒或基于AAV治疗的非限制性示例包括但不限于:rAd-p53,其是编码野生型人肿瘤抑制蛋白p53的重组腺病毒载体,例如用于治疗癌(也称为**Gendicine®**, **Genkaxin®**, Qi等(2006) *Modern Oncology*, 14:1295-1297); Ad5_d11520,其是缺乏E1B基因以灭活宿主p53的腺病毒(也称为H101或ONYX-015;参见例如Russell等(2012) *Nature Biotechnology*, 30:658-670); AD5-D24-GM-CSF,含细胞因子GM-CSF的腺病毒,例如用于治疗癌(Cerullo等(2010) *Cancer Res.*, 70:4297); rAd-HSVtk,有HSV胸苷激酶基因的复制缺陷型腺病毒,例如用于治疗癌(Ark治疗公司(Ark Therapeutics)开发的**Cerepro®**,参见美国专利号6,579,855; Advantagene开发的ProstAtak™; 国际PCT公开号W02005/049094); rAd-TNF α ,在放疗诱导型EGR-1启动子控制下表达人肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的复制缺陷型腺病毒载体,例如用于治疗癌(TNFerade™, 金维克(GenVec); Rasmussen等(2002) *Cancer Gene Ther.*, 9:951-7); rAd-FGF4,编码FGF-4的腺病毒载体血清型5,例如用于治疗血管生成和冠状动脉疾病(GENERX, BioDrugs, 2002, 16:75-6; 美国专利号5,792,453); rAd-VEGF-D,含血管内皮生长因子(VEGF-D)编码基因的腺病毒载体5,例如用于治疗血管生成相关疾病和病症(**Trinam®**, Ark治疗公司; 美国专利公开号US20120308522); rAd-PDGF,含PDGF-B编码基因的腺病毒载体5,例如用于治疗创伤(Excellerate, GAM501 Tissue Repair Co.; Blume等(2011) *Wound Repair Regen.*, 19:302-308); Ad-IFN β , E1和E3基因缺失的腺病毒血清型5载体,在巨细胞病毒(CMV)即刻早期启动子指导下表达人干扰素 β 基因,例如用于治疗癌(BG00001和H5.110CMVhIFN- β , 百健(Biogen); Sterman等(2010) *Mol. Ther.*, 18:852-860); 含脂蛋白脂肪酶缺陷(LPLD)编码基因的AAV,例如用于治疗患有LPLD或家族性高乳糜微粒血症的受试者(阿利泼金, **Glybera®**, AMT (Amsterdam Molecular Therapeutics); 参见例如国际PCT公开号W02010/134806; W02001000220, Yla-Herttuala (2012) *Mol. Ther.*, 20:1831-2); AMT-021,含胆色素原脱氢酶(PBGD)编码基因的AAV,例如用于治疗患有急性间歇性卟啉症(AIP)的受试者(参见例如美国专利公开号US2011/0262399; 欧洲专利号EP1049487); rAAV9-CMV-hNaGlu,含CMV控制下NaGlu编码基因的AAV-9c(参见例如Fu等(2011) *Mol. Ther.*, 19:1025-33)。

[0525] 用于本文方法、应用和组合物的其他基因治疗剂示例包括但不限于rAd-H1F1 α (健赞(Genzyme)/双威(Sunway))、V930/V932(默克公司(Merck))、NLX-P101(Neurologix)、Toca-511(圣地亚哥的Tocagen)、LentiGlobin(蓝鸟生物公司(Bluebird Bio))、ProSavin(牛津生物医药公司(Oxford BioMedica))、rAAV1-CB-hAAT(AGTC(Applied Genetic Technologies))、rAAV2-CB-人视网膜色素上皮细胞特异性65道尔顿蛋白(RPE65)(AGTC)、AMT-101(阿姆斯特丹分子公司(Amsterdam Molecular))、Ad5CMV-p53(安内特(Aventis))、

CERE-120 (圣地亚哥的Ceregene)、CERE-110 (圣地亚哥的Ceregene)、SERCA-2a (拉荷亚的Celladon)、AAV2-sFLT01 (健赞)、tgAAG76 (西雅图的目标遗传公司(Targeted Genetics))、tgAAC94 (西雅图的目标遗传公司)、GX-12 (韩国首尔的Genexine)、SC1B1 (英国诺丁汉的ScanCell)、Allovectin-7 (圣地亚哥的维考(Vical)、VM202 (明尼苏达州明尼唐卡的ViroMed)或Rexin-G纳米颗粒(加利福尼亚州圣马力诺的伊佩尤斯生物技术(Epeius Biotechnologies))。

[0526] 4. 组合物

[0527] 所递送的药剂能作为组合物如药物组合物提供。所述组合物适于体内施用。所述组合物配制用于实质施用。通常,本文组合物作为注射剂提供,且能用任何注射装置如本文提供的腹腔镜注射装置递送。注射剂可以常规形式制备,作为液体溶液或悬液,在注射前适合液体中溶液或悬液的固体形式,或作为乳液。一般,本文提供的所递送的药剂组合物采用液体形式。

[0528] 所述组合物能包括药学上可接受载体。对于注射,所述载体通常是液体。特别地,所述药物载体是非生物或另外不需要的任何载体,即向受试者施用组合物而不导致不需要的副作用或以有害方式与药物组合物所含其他组分相互作用。选择载体以尽可能减少活性成分降解并使受试者的不良副作用减到最小。例如,用于细胞施用的药学上可接受载体通常是就注射而言可接受的载体,且不包括试剂如清洁剂或可能损害细胞的其他化合物。

[0529] 合适载体和其配制如所述《雷明顿:药物技术与实践》(Remington:The Science and Practice of Pharmacy),第21版,David B.Troy编辑,利平科特·威廉斯·威尔金斯出版公司(Lippicott Williams&Wilkins)(2005)。用于施用的组合物包括无菌水或非水溶液、悬液和乳液。非水溶剂示例是丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油以及可注射有机酯如油酸乙酯。水性载体包括水、醇/水溶液、乳液或悬液,包括盐水和缓冲介质。作为注射介质,其是含水的通用载体,包括用于注射溶液的添加剂,如稳定剂、盐或盐水、和/或缓冲液。生理上可接受载体示例包括无菌水、盐水、缓冲溶液或葡萄糖溶液。例如,生理学载体示例包括生理盐水、磷酸盐缓冲盐水、平衡盐溶液(BSS)或林格溶液以及含增厚和增溶剂的溶液,如葡萄糖、聚乙二醇和聚丙二醇及其混合物。溶液pH一般是约5-8或约7-7.5。如果必要,制剂pH能用药学上可接受酸、碱或缓冲液调整以提高所配制化合物或其递送形式的稳定性。

[0530] 所递送的药剂(是核酸分子或含核酸分子)能配制成组合物中的唯一药物活性成分或能联合其他活性剂用于所治疗特定疾病。其他药物制剂、药剂、载体、佐剂、稀释剂能任选纳入本文所提供组合物。例如,组合物中还可存在任意一种或多种湿润剂、乳剂和润滑剂如十二烷基硫酸钠和硬脂酸镁以及着色剂、释放剂、包被剂、甜味剂、增味剂和香料、防腐剂、抗氧化剂、螯合剂和惰性气体。例如,能纳入组合物的其他试剂和赋形剂示例包括水溶性抗氧化剂,如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠;油溶性抗氧化剂,如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基羟基茴香醚(BHA)、丁羟甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚;和金属螯合剂,如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸和磷酸。

[0531] 所述组合物还能配制用于缓释制剂,如吸附于包括包括胶原海绵在内的生物可降解支持物,或在脂质体中。缓释制剂能配制用于多剂量施用,从而在选定时间段中,如1个月或多至约1年,施用数个剂量。因此,例如,可制备脂质体,从而在1次注射中施用总共约2倍或多至或约5倍或更多倍的单剂量。

[0532] 所述组合物能用保护其免于体内快速消除的载体制备,如延时释放制剂或包被。这类载体包括控释制剂,例如但不限于微胶囊包埋递送系统和生物可降解、生物相容性聚合物如乙烯醋酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、聚原酸酯、聚乳酸以及能直接置于体内的其他移植物类型。所述组合物还能以丸剂施用,如ELVAX丸剂(乙烯-醋酸乙烯酯共聚物树脂)。

[0533] 包括组织靶向脂质体在内的脂质体悬液还能适合作为药学上可接受载体。例如,脂质体制剂能通过本领域技术人员已知方法制备(参见例如Kim等(1983) Bioch. Bioph. Acta 728:339-348; Assil等(1987) Arch Ophthalmol. 105:400; 和美国专利号4,522,811)。所递送的药剂能包封入脂质体系统的水相。

[0534] 所述活性材料还能混合不削弱所需作用的其他活性材料、或补充所需作用或具有其他作用的材料,包括粘弹性材料,如以商标HEALON销售的透明质酸,其是约300万高分子量(MW)的透明质酸钠溶液(法玛西亚(Pharmacia, Inc)生产;参见例如美国专利号5,292,362, 5,282,851, 5,273,056, 5,229,127, 4,517,295和4,328,803)。可纳入额外活性剂。

[0535] 所述组合物能配制用于单一或多剂量施用。例如,用于单剂量施用的组合物中腺病毒的量是10个空斑形成单位(pfu)- 1×10^{12} pfu、 1×10^2 pfu- 1×10^{10} , 1×10^3 pfu- 1×10^{10} pfu、 1×10^3 pfu- 1×10^9 pfu、 1×10^3 pfu- 1×10^8 pfu或 1×10^6 pfu- 1×10^9 pfu,或是10个颗粒- 1×10^{12} 颗粒、 1×10^2 颗粒- 1×10^{10} 颗粒、 1×10^3 颗粒- 1×10^{10} 颗粒、 1×10^3 颗粒- 1×10^9 颗粒、 1×10^3 颗粒- 1×10^8 颗粒或 1×10^6 颗粒- 1×10^9 颗粒。一般,用于单剂量施用的组合物中腺病毒的量是10个病毒颗粒(vp)- 1×10^{12} vp、 1×10^2 vp- 1×10^{10} vp、 1×10^3 vp- 1×10^{12} vp、 1×10^3 vp- 1×10^{10} vp、 1×10^3 vp- 1×10^9 vp、 1×10^3 vp- 1×10^8 vp、 1×10^3 vp- 1×10^6 vp、 1×10^6 vp- 1×10^{12} vp、 1×10^6 vp- 1×10^{10} vp,或小于或约小于 1×10^{12} vp、 1×10^{11} vp、 1×10^{10} vp、 1×10^9 vp、 1×10^8 vp、 1×10^7 vp、 1×10^6 vp、 1×10^5 vp、 1×10^4 vp、 1×10^3 vp、 1×10^2 vp、10vp或更少。在其他示例中,用于单剂量施用的组合物中腺病毒的量是10pfu- 1×10^{12} pfu、 1×10^2 pfu- 1×10^{10} pfu、 1×10^3 pfu- 1×10^{12} pfu、 1×10^3 pfu- 1×10^{10} pfu、 1×10^3 pfu- 1×10^9 pfu、 1×10^3 pfu- 1×10^8 pfu、 1×10^3 pfu- 1×10^6 pfu、 1×10^6 pfu- 1×10^{12} pfu、 1×10^6 pfu- 1×10^{10} pfu,或小于或约小于 1×10^{12} pfu、 1×10^{11} pfu、 1×10^{10} pfu、 1×10^9 pfu、 1×10^8 pfu、 1×10^7 pfu、 1×10^6 pfu、 1×10^5 pfu、 1×10^4 pfu、 1×10^3 pfu、 1×10^2 pfu、10pfu或更少。所述组合物可配制于10 μ L-5mL,如20 μ L-1mL或50 μ L-500 μ L。在这种组合物中,配制腺病毒用于实质施用。在特定示例中,配制腺病毒用于向肝实质施用。

[0536] 所述组合物能包装用于存储和/或使用。用于包装试剂的包装材料为本领域技术人员熟知。包装材料示例包括安瓶、瓶、管、小瓶、容器、注射器以及适合所选制剂和实质施用的任何包装材料。例如,所述组合物能封闭于安瓶、一次性注射器或者多或单剂量瓶,所述瓶由玻璃、塑料或其他合适材料制备。包装材料可包括针或其他注射装置以促进用于实质施用目的的施用。例如,所述组合物能包装于注射器筒以用于章节E所述注射装置。包装的选择取决于特定所递送的药剂。一般,所述包装与其中所含组合物无反应。所述组合物和包装材料同样无菌。

[0537] 例如,含所递送的药剂的组合物可在容器中提供,如密封无菌小瓶或注射器筒(如适合章节E所述注射装置),所含量使得施用后递送足够量的所递送的药剂(如病毒颗粒)。组合物中所递送的药剂如腺病毒或腺相关病毒的量是10pfu- 1×10^{12} pfu、 1×10^2 pfu- 1×10^{10} , 1×10^3 pfu- 1×10^{10} pfu、 1×10^3 pfu- 1×10^9 pfu、 1×10^3 pfu- 1×10^8 pfu或 1×10^6 pfu- $1 \times$

10^9 pfu或约 10^9 pfu- 1×10^{12} pfu、 1×10^2 pfu- 1×10^{10} 、 1×10^3 pfu- 1×10^{10} pfu、 1×10^3 pfu- 1×10^9 pfu、 1×10^3 pfu- 1×10^8 pfu或 1×10^6 pfu- 1×10^9 pfu;或10个颗粒- 1×10^{12} 颗粒、 1×10^2 颗粒- 1×10^{10} 颗粒、 1×10^3 颗粒- 1×10^{10} 颗粒、 1×10^3 颗粒- 1×10^9 颗粒、 1×10^3 颗粒- 1×10^8 颗粒或 1×10^6 颗粒- 1×10^9 颗粒或约10个颗粒- 1×10^{12} 颗粒、 1×10^2 颗粒- 1×10^{10} 颗粒、 1×10^3 颗粒- 1×10^{10} 颗粒、 1×10^3 颗粒- 1×10^9 颗粒、 1×10^3 颗粒- 1×10^8 颗粒或 1×10^6 颗粒- 1×10^9 颗粒。容器中的组合物体积可以是50 μ L-50mL、50 μ L-5mL、50 μ L-500 μ L、100 μ L-10mL、100 μ L-5mL、100 μ L-2mL、100 μ L-1mL、200 μ L-4mL、200 μ L-2mL、1mL-10mL或1mL-2mL。例如,所述容器可提供用于单用途或多用途施用。容器中的试剂体积可以是100 μ L-10mL,其中递送约20-5mL如20-500 μ L、50-150 μ L、100 μ L-10mL或200 μ L-2mL,所述体积中含有至少约 10^2 - 10^{10} 空斑形成单位(pfu)或颗粒,如 10^2 - 10^6 空斑形成单位(pfu)或颗粒。

[0538] E. 注射装置

[0539] 本文提供能用于微创手术如腹腔镜手术的注射装置,以用于递送液体如治疗剂,这是通过直接注入靶基因座,如通过直接注入靶组织。所述装置具有直径小的延长针护套,且能经内窥镜通道如腹腔镜通道、套管针或套管插入,以到达内部靶位点。本文提供的装置可递送将小和精确剂量的液体直接递送到靶组织,而不需要大标准注射器和开放手术。所述装置能任选递送多剂量到同一或不同靶位点。

[0540] 所述装置能用于需要直接注射试剂到靶位点的任何方法,其中进入靶位点受限,如微创手术。例如,除了腹腔镜手术,本文提供的装置还能用于在其他微创医疗或外科手术如胸腔镜手术中直接注射液体如治疗剂。如本文他处所述,可施用任何液体如治疗剂,包括但不限于核酸、小分子、病毒、抗体或其他液体。所述装置能与其他微创手术器具联用,采用单孔或多孔内窥镜(如腹腔镜)手术。所述装置还能用于递送多个分开剂量到同一或不同注射位点,而不从腹腔镜通道移出装置或在移出之后。

[0541] 结合附图描述所述装置,包括该装置的示范性实施方式。如所示,使用带数字的上撇号(')标示表明所示或所述元件与非上撇号元件相同,除非所示或所述不同。小写参考数(如a、b等)指同一部分,但位置或状态不同。

[0542] 所述装置一般具有2个末端,即针尖端和柱塞端。出于阐明目的,应注意描绘示范性装置时针尖端一般朝向图右侧,柱塞端一般朝向图左侧。针尖端一般描述为“远端”,而柱塞端一般描述为“近端”。术语“远端”意在指离手持装置的人最远的注射装置末端,术语“近端”意在指离装置持有人最近的注射装置末端。如果组件描述成更“靠近”另一组件,该组件更接近近(柱塞)端。如果组件描述成更“远离”另一组件,该组件更接近远(针尖)端。

[0543] 一些注射装置组件能相对于其他组件沿纵轴以2个大方向运动。例如,组件一般可朝着近端或远端运动,或以近侧方向或远侧方向运动。移向远侧方向(针尖)的组件描述为前移,移向近侧方向(柱塞)的组件描述为后移/倒移。示范性装置还一般描绘成针头护套控制器放置成定位器上指,除了图12A-12C,所述图是俯瞰装置的鸟瞰图。一些组件如定位器能与纵轴平行运动。所述组件可以向上或向下运动。朝着针头护套控制器按压定位器被描述为下“压”而放松定位器被描述为定位器“上”移。

[0544] 在一个一般实施方式中,本文提供的注射装置或设备包括针头护套和针头护套控制器,具有可覆盖的和未覆盖针尖的注射针,用作递送给靶组织液体如治疗剂储液罐的注射器筒,以及控制液体加载和释放的柱塞。针头护套一般是刚性轴,但弹性或可操纵轴也能

根据应用目的来使用。

[0545] 例如,参照描述本文所提供第一示范性实施方式的图9A和9B,注射器注射装置一般用参考数字60指示,且包括针头护套72和针头护套控制器71、注射针81、注射器筒91和柱塞92。图10和图11以及下述其他图描述注射器装置的其他实施方式。例如,图10显示一般用参考数字60',指示的另一实施方式,且包括针头护套72'、针头护套控制器71'、注射针81、注射器筒91'和柱塞92'。此实施方式中,针头护套72'、针头护套控制器71'、注射器筒91'和柱塞92'与图9A和9B的实施方式基本相同,除了注射器筒91'位于装置远端并与针头护套72'组合,因而柱塞92'穿过针头控制护套控制器71'。图11显示一般用参考数字60''指示的另一实施方式,且包括针头护套72''、针头护套控制器71'、注射针81、注射器筒91''和柱塞92''。此实施方式中,针头护套72''、针头护套控制器71'、注射器筒91''和柱塞92''与图9A和9B的实施方式基本相同,除了注射器筒91''位于装置远端并适应停驻于针头护套72''内。此外,柱塞92''穿过针头护套控制器71',且进一步适应与位于针头护套控制器71'远端的辅助柱塞920关联,其中辅助柱塞920适应在注射器筒91''内运动。

[0546] 在本文所提供腹腔镜装置的所有实施方式中,腹腔镜装置的尺寸允许其经腹腔镜手术或其他微创外科手术的典型通道使用。例如,腹腔镜手术的典型通道直径是约5-10mm,仪器和装置通过所述通道进入患者。所述装置用于到达和注入靶组织,所述靶组织通常是身体内部组织或器官,包括器官实质。装置长度足以允许经腹腔镜通道到达特定所需靶组织,而不笨重到难以控制。选择装置尺寸取决于具体用户、靶组织、所治疗受试者、施用的药剂以及技术人员水平范围内的其他因素。一般,注射装置的针头护套72、72'或72''长度足以允许腹腔镜到达感兴趣靶标,一般长度为200mm-600mm,如250-400mm,一般至少300mm或约至少300mm或300mm。

[0547] 在本文所提供装置的所有方面中,注射器筒91、91'或91''为圆柱形,具有能适合柱塞92、92'或92''的空心,从而柱塞可在注射器筒内来回运动。注射器能由塑料或玻璃或其他合适材料制造。一般,注射器由玻璃或塑料如聚丙烯、聚乙烯或聚碳酸酯制造。也可使用其他类型的生物相容性材料。注射器筒可在外表面包含校准刻度或标记以测量或检测溶液体积。校准刻度能以任何量度标示,如立方厘米(cc)、毫升(mL)、十分之一毫升、百分之一毫升或其他量度。注射器筒的体积可由操作者根据特定应用、施用的药剂、所用装置类型和其他类似因素来选择。例如,注射器筒的体积可取决于待递送液体如治疗剂的所需量,一般是200 μ L-10mL,更常为500 μ L-2.5mL,如至少500 μ L、1毫升(mL)、2mL、2.5mL、3mL、4mL、5mL、6mL、7mL、8mL、9mL、10mL或更多。例如,注射器筒可以是0.5mL-20mL(即0.5cc-20cc),一般是0.5mL-3mL(即0.5cc-3cc),如至少或约1mL(即1cc)注射器。注射器筒还可有单元校准,如存在于标准胰岛素注射器上(如100单位与1mL相关联)。通常,向靶基因座递送200 μ L-600 μ L液体如治疗剂,注射器筒的体积是1mL。

[0548] 注射器筒91、91'或91''常位于注射针近侧,但能置于针头护套控制器任一侧和针头护套控制器近侧或远侧。例如,注射器筒能置于针头护套控制器近侧,或针头护套72、72'或72''内。参照附图和以下描述,在特定方面,图9A和9B显示装置60,其中注射器筒91在针头护套控制器71近端。相反,图10显示装置60',其中注射器筒91'在针头护套控制器71'远端并与其远端的针头护套组合。图11显示装置60'',其中注射器筒91''在针头护套控制器71'远端且可停驻,因而可从远端的针头护套运动。

[0549] 在需要无菌注射的情况下,注射器筒能在无菌环境如无菌手术室中加载液体如治疗剂,或可使用无菌预加载注射器。例如,无菌标准或可停驻注射器能在加载液体如治疗剂后连接装置,处于无菌环境下。其他情况下,整个装置在无菌环境中加载、操作和运转。

[0550] 柱塞位于装置近端且可运动,从而能沿着注射器筒内部推拉。柱塞部分在注射器筒内沿着装置纵轴运动。柱塞是圆柱形以穿过注射器筒,并由允许在注射器筒内方便运动的材料制成。例如,柱塞一般由塑料如聚丙烯或聚乙烯制成。柱塞还包括处于装置近端的头部,其可由操作柱塞的操作者方便地抓住。柱塞头能以远或近侧方向传递来自操作者的轴向力,分别引起柱塞下压和缩回。柱塞能缩回以向注射器筒加载液体如治疗剂,或下压以在靶组织中注射液体如治疗剂。拉回柱塞可将液体如治疗剂吸入注射器筒。推进柱塞可将空气或液体或空气压出注射器筒。柱塞还能在注射位点拉回到测试针位置。

[0551] 柱塞长度足以允许其与注射器筒内部直接或间接关联以实现驱散液体如治疗剂、或组合物或溶液通过注射器远端(和进入针或管(如果连接))。例如,在本文的一些方面,操作者可及的控制柱塞能适应在注射器筒远端放置时与辅助柱塞联用。柱塞长度可为5mm-500mm,如10mm-300mm、10mm-200mm或10mm-100mm。在一些方面,根据注射器筒关于针头护套控制器的位置,柱塞还穿过针头护套控制器。在特定方面,参照附图和一下描述,图9A和9B显示装置60,其中柱塞92是标准柱塞,尺寸调整到仅在相对于针头护套控制器位于装置近端的注射器筒91内运动。相反,图10显示装置60',其中柱塞92'延伸穿过针头护套控制器71'和针头护套中空腔,然后穿过装置远端处的注射器筒91'。另一方面,图11显示装置60'',其中柱塞92''延伸穿过针头护套控制器71'和针头护套中空腔,但不穿过装置远端处的注射器筒92''。相反,柱塞可适应辅助柱塞920,尺寸调整到仅在位于装置近端的注射器筒内运动。

[0552] 柱塞92、92'或92''能手动下压或拉回,或自动控制器能用于控制柱塞。自动或机械柱塞机构能递送数个固定或可变剂量的液体如治疗剂,需要或不必要从腹腔镜通道移出注射装置。例如,下压柱塞92、92'或92''的方式可包括液压组件,如机械或电子驱动活塞以及缸塞系统,其经液压管线可操作连接各柱塞92、92'或92''元件。所述装置能用于递送单剂量液体如治疗剂,或向同一患者多次注射而需不从腹腔镜通道收回该装置。多剂量可在不同注射位点递送,如果多个位点彼此相当靠近,则不必移出腹腔镜通道。注射数个分开剂量能用不同控制方式完成,如机械控制和液压机构。例如,液压组件如机械和/或电子驱动活塞/缸塞系统或液压柱塞致动器能用于控制柱塞,其允许使用行程或力量倍增器,还允许用于柱塞机构的弹性轴,以传递轴向力。对于多次注射,附标注射激发器用于在激发器各拉动后递送分开剂量的液体如治疗剂,例如100微升(μL)。多次注射的剂量可固定或可变,就多次注射的剂量控制而言能采用体积控制或反馈机制。多剂量提供相比单一大剂量的优势在于其可由参数操作,如组织位置、几何参数和时间参数。

[0553] 在本文所提供装置的所有方面,所述装置包括位于针近端护套内的注射针81,且其远端可覆盖的和未覆盖。注射针通常包括足以穿透或刺穿组织或器官的斜尖。注射针81能直接或间接连接注射器筒的远端,能允许注射器筒中的液体或溶液通过针到其远端。例如,在一些方面,注射针81能通过中间管83间接连接注射器筒,中间管83与注射针共同形成连续密封液体通路用于溶液穿过。中间管可以是塑料或金属管,通过焊接、粘合或模塑与注射针81直接或间接耦合。中间注射管83能通过针偶联器85与注射管81间接耦合。针偶联器

85可由任何生物相容性和药物相容性刚性材料制成,包括金属、塑料和陶瓷,且通常由塑料如聚碳酸酯或丙烯腈丁二烯 (ABS) 制成。任选联接构件82能存在于针偶联器85腔内。针偶联器85通过焊接、粘合、模塑或产生安全可靠密封的其他过程与各中间注射管83和注射管81耦合。

[0554] 在一些变化中,注射器筒远端能包括与注射针81近端针座或其他中间管83相容的接头,中间管83自身连接注射针81。例如,参照图9A和如下进一步所述,注射器筒91远端能包括与中间注射管83近端针座84相容的鲁尔接头93,中间注射管83自身直接或间接连接注射针81。在本文装置的其他变化中,注射针81近端部分或连接注射针的其他中间管83直接固定于注射器筒远端并延伸出注射器筒。例如,参照图10和11,注射针81直接连接注射器筒。

[0555] 注射针81的尺寸和直径根据以下选择:插入组织的便利性、能耐受的组织损伤、液体的剪切/流动参数如粘度、液体所需的注射力和注入速率、靶组织特性、注射后保持于装置中的死体积量以及本领域技术人员考虑的其他因素。通常,小直径针82用于减少针插入靶组织或器官所需的力以及降低对靶组织或器官的创伤。一般,注射针81是25-34号,如25号、26号、27号、28号、29号、30号或31号,通常是27号。

[0556] 注射针81的长度取决于装置中的注射器筒构型(即注射器筒位于装置近端还是远端)。注射针81的长度还取决于针直接连接中间注射管83还是通过针偶联器85间接连接中间注射管83。这些参数可能与能耐受的压降、液体粘度、能耐受的死体积以及其他类似因素相关。例如,实现压降的因素包括针长度、针直径和液体粘度。可能需要一定量的注射压力以向特定组织递送液体如治疗剂。可能需要特定注射压力以递送某些液体组合物。所需注射压力可取决于诸如所递送液体参数等因素,如粘度、注入速率和靶组织压力。

[0557] 例如,在所述装置的一些变化中,注射针81可较长并从装置远端延伸通过护套控制器71,在该处其连接装置近端的注射器筒91。因此,注射针长度范围可为5mm-500mm或更多,如10mm-300mm。一般,在本文装置的示例中,注射针较短,这避免溶液经长针注射时可能出现的压降问题。例如,注射针长度范围一般是5mm-40mm,如10mm-40mm。例如,广泛可用的普通针长度包括例如12.7mm、25.4mm或38.1mm针。如果溶液或液体穿过需要更长通路(即注射器筒位于装置近端,如图9A和9B),仍能使用较小注射针81,但通过直接或间接连接直径较小的注射针81与直径较大的中间注射管83能防止压降。例如,如果注射针81是27号,则中间注射管可以是15号-25号,如一般20号-25号,例如21号。

[0558] 所述装置的注射针81由钝的延伸针头护套保护,所述护套能在注射前覆盖并保护针以及在注射时拔出针。因此,在本文所提供腹腔镜注射装置的所有实施方式中,如图9A、9B、10或11所示装置,针头护套72、72'或72''改装成注射针81能覆盖的和未覆盖。覆盖和拔出注射针81针的能力允许装置操作者控制何时暴露注射针或何时保护注射针。例如,覆盖针能防止意外注射或穿透,损伤包括靶组织和非靶组织在内的患者组织,损坏腹腔镜手术器械如在装置插入腹腔镜通道或装置从腹腔镜通道移出期间损坏弹料密封和腹腔镜通道的阀,损坏针,液体如治疗剂在装置插入腹腔镜通道或装置从腹腔镜通道移出期间偶然滴下。在注射位点,针可未覆盖,暴露注射针81以允许针尖穿透靶组织和递送药剂到靶组织,如靶器官实质。注射针81可在注射后再次覆盖的以防止在注射位点以外偶然针穿刺组织。

[0559] 特别地,针头护套72、72'或72''适应受针头护套控制器71或71'控制。针头护套控

制器71或71'包括控制针头护套72、72'或72''运动的组件,连接装置近端和远端,并且是内部管道、柱塞或其他组件能在装置近端与远端之间运动的导管。针头护套控制器71或71'包括针头护套控制器外壳710,其封闭针头护套控制器71或71'内部的组件和针头护套72、72'或72''近端。针头护套控制器外壳710可由任意合适弹性和刚性材料制成,如任何聚合材料,包括塑料或橡胶、金属、陶瓷、复合材料或本领域技术人员已知的其他合适材料。通常,针头护套控制器外壳710由塑料制备,包括医用级塑料如聚丙烯、聚苯乙烯、聚乙烯、聚氯乙烯、聚氨酯、或硅胶、橡胶、或丙烯酸。针头护套控制器外壳710能用本领域已知的任何技术模塑,包括压制成型、热成型或注射成型。外壳710能由单块构成,使用方法如注射成型。或者,外壳710能包括多块,其分开生产并在次级过程中相连,如用粘合剂、扣接合或其他紧固件。

[0560] 如图9A、9B、10或11所示,针头护套控制器71或71'位于针头护套72、72'或72''近侧。针头护套控制器71或71'设置成由操作者如外科医生握住和操作。针头护套控制器71或71'可具有便于操作者握住和操作装置的任何形状和尺寸。一般,针头护套控制器71或71'是圆柱形并能适合普通人的手掌。针头护套控制器71或71'的直径大于针头护套72、72'或72''的直径以容纳针头护套72、72'或72''近端。例如,所述直径可以是15mm-100mm,一般20-35mm。所述直径可均一或可变。例如,针头护套控制器71或71'外部能渐变、波状外形、有斜面或沟槽式。针头护套控制器71或71'一般长30mm-225mm,如50mm-75mm。针头护套控制器71或71'外部可存在任选握把以有利于操作和处理装置。

[0561] 针头护套控制器71或71'包括外部可及的定位器711,其控制针头护套72相对于注射针81的位置。如图9A、9B、10或11可见,针头护套控制器71或71'是圆柱形,具有从针头护套控制器71或71'延伸出的定位器711,从而其可由操作者达到。定位器711能与外壳710一体成型,或可以是组装期间连接外壳的分开部分。

[0562] 定位器711设置于针头护套控制器71或71'中,从而其相对于针头护套控制器71或71'可前后运动。定位器711前后运动可控制针头护套72、72'或72''在2个固定或闭锁位置即覆盖的位置72a与未覆盖位置72c之间运动。覆盖的时,注射针81隐藏于针头护套内,未覆盖时,注射针81暴露于针头护套外。然而,注射针81固定且相对于针头护套控制器71或71'不运动。因此,定位器711仅控制针头护套72、72'或72''的运动,而注射针81和所述装置其他组件的位置固定,无论定位器711的位置如何。然而,注射针81的相对位置随着针头护套72、72'或72''运动而变化,因为针头护套71或71'向远侧或近侧运动,隐藏或暴露注射针81。

[0563] 如图12A所示,定位器以前方711a位置定位可运动针头护套超过覆盖的位置72a的注射针,从而注射针隐藏于针头护套的轴内。如图12B所示,定位器向未充分锁定向前或向后的中间位置711b定位或运动,使针从针头护套轴之外转向过渡位置72b,针的暴露少于其最大程度或长度。如图12C所示,定位器向后方位置711c的定位使针头护套近侧移向针头护套控制器到其充分未覆盖位置72c,从而允许最大暴露注射针81。

[0564] 定位器711啮合针头护套并滑动针头护套。如图13-15可见,针头护套72、72'或72''通过定位器711的运动,由连接构件713促进。连接构件713连接针头护套72、72'或72''近端和定位器711下部。定位器711和针头护套连接器713能通过焊接、粘合、扣接合、紧固件或其他合适方式彼此相连。连接构件713远端与针头护套72、72'或72''近端相连,从而护套相对于控制器外壳710和注射针81纵向可运动。特别地,连接构件713外的远端啮合其周围的针头护套近侧内腔723。针头护套72、72'或72''能通过焊接、粘合、扣接合、紧固件或其他合适

方式与连接构件713相连。

[0565] 定位器711下部、连接构件713和针头护套72、72'或72''近端由控制器外壳710封闭。参照图13-15,针头护套控制器外壳710域内部针头护套控制器腔717模制成型,717是针头护套控制器71或71'内的中空腔,具有足够长度和直径以容纳连接构件713的前后运动。然而,控制器内腔717的长度和直径常小于针头护套控制器71或71'的总长度和直径,从而限制针头护套控制器71或71'内的针头护套连接器713运动。控制器内腔717一般纵向沿着外壳体。控制其的内部或中央腔717形状可以是任意多种形状和构型,只要其提供连接构件713滑动的追踪方式。例如,控制器内腔717可以是圆柱形或矩形。控制器内腔717还能具有均匀或不均匀形状、尺寸或直径。例如,远端和近端可具有相同直径或不同直径。

[0566] 针头护套控制器外壳710还包括断路槽以用作护套限位器715和716,其提供啮合定位器711的方法。如图13-15所示,定位器711包括从针头护套控制器71或71'突出的计划顶部或头部,在该处其能由操作者向前或向后运动。在针头护套控制器71或71'内部,定位器711机体在其侧面有凹口或另外设置成啮合护套限位器。护套限位器715和716是针头护套控制器外壳710中的槽,适合定位器的缺口体并堵住定位器711,从而其在没有外力情况下无法运动。

[0567] 定位器711设置成在护套限位器715和716中可锁定和可释放,从而当定位器啮合护套限位器时,可安全防止护套运动,但能方便地重定位以控制护套运动。例如,护套限位器能设置成产生定位器支架,从而定位器711在护套限位器内稳固且不会掉出限位器的支架外。为使定位器711移到限位器的支架外,定位器必须从支架向外物理运动,从而定位器711能重定位。为锁住定位器,定位器必须向内物理运动(朝着限位器中的槽或支架)以啮合限位器中形成的支架。因此,定位器711还能旋转向外运动(离开限位器中的槽或支架)以从护套限位器715和716中解锁,随后沿着纵轴滑动以改变位置,再次转动内移(朝着限位器中的槽或支架)以啮合并锁入护套限位器715和716,从而锁住定位器711和针头护套72。

[0568] 或者,定位器711能包括锁和释放元件,其有利于用护套限位器的槽锁住和放开定位器。图13显示任选的锁和释放元件712,能纳入定位器以促进用护套限位器的槽锁住和放开定位器711。例如,锁和释放元件712可以是弹簧或其他弹性手段。定位器711移入或适合限位器中的槽时,其通过针对定位器711的垂直向上力和针对连接构件713的向下力锁入位置。垂直向下按压定位器711可释放锁和释放元件712施加的垂直向上力,并从限位器中放开定位器。

[0569] 由于定位器711和连接构件713相连,定位器711的运动能控制连接构件713和针头护套72、72'或72''的运动。因此,定位器711在护套限位器715和716之间的运动使针头护套72、72'或72''在覆盖的与未覆盖位置之间运动。在其他变化中,锁和释放机构可以是门闩或开关,能根据其机械性质选择性啮合或脱离,例如通过滑动门闩或转动附于定位器711头部的杠杆,因而使其脱离护套限位器中的凹口或其他紧固系统方式。例如,参照图13-15,针头护套控制器外壳710包括排列在针头护套控制器外壳710内的2个护套限位器715和716,处于定位器711近和远侧。参照图13,定位器711啮合任一护套限位器715或716,锁和释放元件712如弹簧能针对定位器711以垂直向上方向施力,且连接构件713以向下方向。除非通过下压定位器711针对锁和释放元件712施力,由于锁和释放元件712施加力,定位器711和连接构件713有以垂直方向彼此推离的趋势。向上推动定位器711的力允许定位器711锁入远端

护套限位器715或近端护套限位器716。如果垂直下压定位器711,定位器711摆脱槽并且能向前或向后纵向运动。

[0570] 图13-15显示定位器711相对于护套限位器的替代位置。例如,图13描述处于前方位置711a的定位器711,在该处其啮合或适合远端护套限位器715。定位器711啮合远端限位器715时,连接构件713纵向移到控制器内腔717内的最远位置且护套处于隐藏针尖的延伸位置。图14描述处于后方位置711c的定位器711,在该处其啮合或适合近端护套限位器716。定位器711啮合近端限位器716时,连接构件713纵向移向针头护套腔近端,从而暴露注射针。图15描述处于中间位置711b的定位器711,这是在任一护套限位器中从锁定位置松开定位器并沿纵轴滑动之后。此位置中,注射针81处于中间未覆盖位置,但未完全暴露。

[0571] 注射针81在装置远端能暴露或未覆盖的程度或长度与第一护套限位器和第二护套限位器之间沿纵轴距离相关,该距离是定位器711和因而控制护套位置的连接构件713在锁定位置之间运动的距离。例如,参照图13-15,注射针81在装置远端能暴露或未覆盖的程度或长度可与远端护套限位器715和近端护套限位器716之间的距离基本相同。然而,应理解注射针能暴露的程度或长度可能比第一和第二槽之间距离更长或更短,这是由于未覆盖时针头护套远端中的注射针远端略微凹进。例如,如果注射针81远端从处于完全覆盖的位置72c的针头护套73远端凹陷,注射针能暴露的程度或长度小于第一护套限位器和第二护套限位器之间的距离。暴露程度与套限位器间距离基本相同的针仅略微凹进且不大于1mm,从而套限位器间距离与能暴露的注射针长度之间的差异小于1mm或0.5mm或更小。例如,如果注射针81远端从处于完全覆盖的位置72c的针头护套73远端略微凹进,注射针在装置远端能暴露或未覆盖的最大程度或长度是远端护套限位器715和近端护套限位器716之间的距离,减去注射针81顶部与处于完全覆盖的位置的针头护套73远端之间的细小距离。

[0572] 在其他示例中,暴露或延伸的注射针长度适当短于护套限位器之间的距离。此情况下,注射针能放置成在处于未覆盖位置72c的针头护套73远端内凹陷大于1mm,且一般离处于未覆盖位置72c的针头护套73远端2mm-5mm。因此,如果注射针81远端从处于完全覆盖的位置72c的针头护套73远端凹进,注射针在装置远端能暴露或未覆盖的最大程度或长度是远端护套限位器715和近端护套限位器716之间的距离,减去注射针81顶部与处于完全覆盖的位置的针头护套73远端之间的距离。

[0573] 注射针81未覆盖时暴露的程度或长度可凭经验确定,且是靶组织、所治疗特定受试者、施用的药物和技术人员水平范围内其他因素的函数。例如,注射针未覆盖的程度足够长,从而针尖能穿透感兴趣靶组织实质,但不长到能容易穿过或刺穿靶组织到另一侧。通常,暴露的注射针在未覆盖时的所需长度是2mm-10mm或约2mm-10mm,如一般5mm-10mm。例如,一般成人组织如肝具有10mm-30mm的厚度。组织厚度根据受试者结构层次可变,如年龄、身高、体重和/或组织或器官类型。因此,远端护套限位器715和近端护套限位器716之间的距离是2mm-15mm,如2mm-12mm、2mm-10mm,例如一般5mm-10mm。

[0574] 在本文注射装置的变化中,2个以上护套限位器如3、4、5或更多个护套限位器能设置到针头护套控制器外壳710内,其能各自分开啮合定位器711以锁定护套。定位器啮合最远端护套限位器使护套以最充分延伸位置锁定从而注射针完全隐藏到针头护套内。定位器啮合最近端护套限位器使护套以最充分缩回或打开位置锁定从而在针头护套外最大程度暴露注射针。其他护套限位器提供手段以改变来自充分覆盖的或未覆盖位置的暴露针长

度。因此,暴露的注射针81长度可用多种针头护套锁槽来改变。例如,除了近端715和远端716针头护套限位器,在近端和远端限位器之间可存在数个额外护套限位器,允许定位器711和针头护套72、72'或72"在数种不同位置锁定,暴露的注射针81长度不同。例如,控制器外壳710能包括4个沿着纵轴分开的护套限位器,距离为2mm。因此,定位器711能锁入4种不同位置,使注射针放置成能覆盖的或暴露2mm、4mm或6mm。

[0575] 连接构件713包括同样沿着外壳体纵向的中央腔,尺寸足以在穿过针头护套控制器71、71'或71"的装置组件周围独立滑动。例如,图13-15中,注射管或柱塞能跨纵轴穿过针头护套控制器内部。特别地,图13显示穿过针头护套控制器内部的中间注射管83,连接构件713包括在注射管83周围独立滑动的中央腔。注射管83在近端固定于针头护套控制器71。如图14-15所示,柱塞92'或92"分别纵向穿过针头护套控制器71'内部,连接构件713包括容纳柱塞92'或92"并且在周围独立滑动的中央腔。柱塞在针头护套控制器71'内可运动且不固定于其。腔的具体宽度或尺寸取决于穿过其的特定组件。连接构件713脱离穿过其内部中央腔的组件(如注射管或柱塞)并相对于该组件独立运动。

[0576] 在本文所提供注射装置的方面,针头护套可选具有可视窗,能直观呈现退后的液体以测试靶器官中的针位置。对于注入具有大量脉管系统的靶器官实质,退后的液体能用于确认实质中的针位置,并避免注入脉管系统或胆管。在注射位点,柱塞能略微拉回以取出少量液体,从而确定针是否置于血管或靶器官。一旦针81放置并穿透靶注射位点,能压下柱塞92、92'或92"以向靶位点递送注射器筒所含液体如治疗剂。

[0577] 注射器筒91、91'或91"和/或所述装置可以是一次性或重复使用。例如,除非注射器与装置组合,注射器筒可在液体如治疗剂注射或耗尽后移出,用新加载注射器取代,或重新加载和重新连接。如果注射器筒处于腹腔镜通道外,如装置60所述,其可实现而不需从腹腔镜通道缩回装置。一些情况下,所述装置能从腹腔镜通道缩回并在一次使用后废弃。加载方法和注射器类型及所用注射器模式可凭经验确定,且是本领域技术人员考虑因素的函数,如注射目标、靶组织或器官、所需注射剂量和频率、液体性质如治疗剂、组合物以及手术环境。

[0578] 出于阐明目的,注射装置的示范性实施方式如下所述。应理解所述实施方式、所述装置的一般方面和组件相同,也描述不同方面或组件。因此,除非另有注明,不同示范性实施方式的描述和上述实施方式的结构适用于注射装置的所有实施方式。另外,用注射装置以例如在微创手术中向靶组织注射液体如治疗剂的方法,同样适用于有实施方式。所用特定注射装置可凭经验确定,且是本领域技术人员考虑因素的函数,如注射目标、靶组织或器官、所需注射剂量和频率、液体性质如治疗剂、组合物以及手术环境。

[0579] 1. 标准注射装置

[0580] 图9A-B、13、16A-B和17A-D描述注射装置60和其组件和特征。图9A和9B所示注射装置包括针头护套72、针头护套控制器71、注射针81、注射器筒91和柱塞92。参照图9A,一般,注射装置的针头护套72具有足够长度以允许腹腔镜进入感兴趣靶标,一般长度为200mm-600mm,如250-400mm,且一般至少或约至少或300mm。所述装置一般沿纵轴呈圆柱形,通常在针头护套72区和柱塞92区具有较小直径,而在针头控制器71区具有较大直径。装置的针头护套72部分通常经腹腔镜通道插入。针头护套72的直径一般是3mm-12mm,常为5mm-10mm。应理解腹腔镜通道外部的装置部分可具有大于10mm的直径。例如,针头护套控制器体71可具

有足够长的直径,只要其能由操作者方便地握牢或处理。针头护套控制器体71由操作者通常是外科医生握住,以操作和放置装置60,控制针头护套72并支持装置同时操作柱塞92。

[0581] 注射器筒91为圆柱形,具有适合柱塞92的空心,从而柱塞能在注射器筒内来回运动。注射器筒一般清澈透明。注射器筒91可由塑料或玻璃或其他合适材料制造,特别是由塑料如聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯或其他透明材料制造。如上所述,注射器筒91可包括外表面上的校准刻度或标记以指示筒内药剂体积。如上所述,注射器筒91的体积容量范围是0.5mL-20mL(即0.5cc-20cc),一般是0.5mL-3mL(即0.5cc-3cc),如至少或约1mL(即1cc)注射器。通常,向靶基因座递送200 μ L-600 μ L液体如治疗剂,注射器筒的体积是1mL。

[0582] 注射器筒91位于注射针81近侧,且能置于针头护套控制器71近侧。如图9A所示,注射器筒91包括与针头护套控制器71近侧针座84相容的鲁尔接头93。通过操作鲁尔接头锁定机构,注射器筒91可运动且可连接针头护套控制器71和相连针头护套72。图9A显示处于分离位置900a的注射器。因此,当上拉或加载注射器时,无菌注射器筒91能方便地使用,液体如治疗剂、组合物或其他溶液进入注射器筒。若需要,分开的无菌针能适合鲁尔接头93以允许注射器筒91加载液体如治疗剂。药剂上升进入注射器后,注射器筒91(无针)能通过注射器筒91远端鲁尔接头93和针头护套控制器71近侧针座84绑定到针头护套控制器71。一些情况下,可连接用标准鲁尔接头93的预加载注射器。图9B显示注射装置60,有以连接位置900b绑定到针头护套控制器的注射器筒91。具有可运动和可连接注射器筒91的装置60的优势包括便于加载注射器筒和交换已加载注射器筒。由于标准注射器能用于连接针头护套控制器71,可使用多种注射器类型,若需要,数种不同类型的注射器能用于一个患者。在注射器必须再加载或需要额外液体的情况下,新或重新加载的注射器可方便地连接。

[0583] 柱塞92位于装置60近端且可运动,从而其能沿着注射器筒91内部推拉。柱塞92能缩回以用液体加载注射器筒91或下压以注射液体到靶组织。柱塞92还能在注射位点拉回以测试针位置。柱塞为圆柱形以穿过注射器筒91,并由允许容易穿过注射器筒的材料制成,如塑料例如聚丙烯或聚乙烯。柱塞包括装置近端的头95,其能由操作者方便抓住以操作柱塞。柱塞头95一般由塑料组成。柱塞92远端一般由硅胶或其他天然或合成橡胶制成以在注射器筒91内运动时提供注射器筒91内的密封。

[0584] 柱塞92长度足够允许其与注射器筒91内部关联以驱散液体通过注射器远端(和进入针或管(如果连接))。例如,柱塞为5cm-50cm,如5cm-30cm或10cm-20cm。拉回柱塞92可拉动液体如治疗剂或空气,推动柱塞92可将液体如治疗剂或空气压出注射器筒。柱塞能任选包括注射器筒基座94,其可相对于柱塞92协助操作注射器筒91。

[0585] 注射器筒91和/或装置60可以是一次性或重复使用。例如,通过鲁尔接头93连接针头护套控制器71近侧的注射器筒91可在注射液体如治疗剂后移出,用新加载注射器取代,或重新加载和重新连接,需要或不需要从腹腔镜通道缩回装置。装置60能从腹腔镜通道缩回并在一次使用后废弃。

[0586] 装置60包括位于针头护套72内部的注射针81,其可在针81远端覆盖的和未覆盖。参照图9A,针头护套73远端包括针道733,其在如图9B所示未覆盖时引导针到针头护套72外。如图9B所示,注射针81包含足以穿透或刺穿组织或器官的斜尖。

[0587] 图13描述注射器筒91和针头护套控制器71远端的放大剖视图。如图13所示,柱塞92包含在注射器筒91内,其可选包括注射器筒基座94,在该处其能可运动穿过。针头护套控

制器71位于针头护套72近侧。针头护套控制器71包括控制针头护套72运动的组件,连接装置近端和远端,并且是注射针81直接或间接连接中间注射管83、在装置近端与远端之间运动的导管。针头护套控制器71设置成由操作者如外科医生握住和操作。如上所讨论,针头护套控制器71具有便于操作者握住和操作装置的任何形状和尺寸,通常是圆柱形。针头护套控制器71的直径使得其能握于普通人的手掌,一般直径为20mm-100mm,长度为50mm-225mm。针头护套控制器71可选包括用于处理的外部握把。

[0588] 如图9A-B和图13所示,针头护套控制器71包括控制器外壳710,其封闭针头护套控制器71内部的组件和针头护套72近端。如上所讨论,针头护套控制器外壳710可由任意合适弹性和刚性材料制成,如任何聚合材料,包括塑料或橡胶、金属、陶瓷、复合材料或本领域技术人员已知的其他合适材料。通常,控制器外壳710由聚丙烯、聚苯乙烯、聚乙烯、聚氯乙烯、聚氨酯、硅胶、橡胶、或丙烯酸制成。如上所讨论,外壳710能由技术人员已知的任何制造方法制备,且能作为单块制备或由2个或更多连接在一起的部分构成,如用粘合剂、扣接合或其他紧固件。

[0589] 如图9A和9B所示,针头护套控制器71包括外部可及的定位器711。如上所述,定位器711设置于针头护套控制器71中,从而其相对于针头护套控制器71可前后运动。如上所述,定位器711通过连接构件713啮合针头护套72,且能用于滑动针头护套72。此连接允许定位器711在前方或后方位置之间运动以控制针头护套在2个固定或闭锁位置即覆盖的与未覆盖位置之间运动。覆盖的位置保护或隐藏注射针,而未覆盖位置暴露针。

[0590] 参照图13,连接构件713连接针头护套72近端和定位器711下部。连接构件713与针头护套近端相连,从而针头护套72相对于控制器外壳710和注射针81纵向可运动。例如,连接构件713外的远端啮合其周围的针头护套72近侧内腔。控制构件713与定位器711和针头护套72的连接能通过焊接、粘合、扣接合、紧固件或其他合适方式。

[0591] 如上一般所述,连接构件713在针头护套控制器71的外壳710所含中空腔或内腔717中运动,其相对于外壳710在2个末端封闭。控制器内腔717容纳连接构件713,从而连接构件713能容易滑动或以受限方式向前或向后运动。例如,连接构件713可以是圆柱形并适合圆柱形中空内腔717。如图13所示和如下进一步所讨论,连接构件713包括内部中空腔以适合通过的注射管83。

[0592] 连接构件713的运动由定位器711控制。如图9A、9B和13所示,定位器711包括从针头护套控制器71突出的计划顶部或头部,在该处其能由操作者向前或向后运动。如图13所示,在针头护套控制器71内部,定位器711机体在其侧面有凹口或另外设置成啮合护套限位器715或716。护套限位器715和716是针头护套控制器外壳710中的槽,适合定位器的缺口体并堵住定位器711,从而其无法运动。

[0593] 图13描述设置于定位器711中的任选锁和释放元件712,其有利于用护套限位器715或716的槽锁住和放开定位器。例如,锁和释放元件712可以是弹簧或其他弹性手段。通过锁和释放元件712用护套限位器715或716的槽控制锁住和放开定位器711的机制如上所述,其中向下、垂直或横向力从护套限位器715或716中释放或锁住定位器711。向下推动定位器711允许定位器滑动并适合任一护套限位器715或716。

[0594] 定位器711在护套限位器715和716之间的运动可运动连接构件713,因而也运动针头护套72,从而其能通过操作者控制定位器来从覆盖的和未覆盖位置转变。定位器711处于

如图13所述前方位置711a时,近端护套限位器716游离且定位器711适合远端护套限位器715,从而覆盖注射针使其受到保护。尽管图13未显示,定位器711还能处于如图14所述后方位置711c,其中远端护套限位器715游离且定位器711适合近端护套限位器716,从而注射针除套使其暴露。作为另一位置,定位器711还能处于如图15所述中间位置711b,其中远端护套限位器715和近端护套限位器716游离且不啮合定位器711。

[0595] 如图9B所示注射针81通过图9A和5所示中间注射管83间接连接注射器筒91。注射管83包括用注射器筒91的鲁尔接头93绑定的近端针座84。注射管83直接固定于针头护套控制器外壳710,从而注射管和因而在装置远端连接其的注射针不能运动。

[0596] 如图13所示,注射管83穿过针头护套控制器71的内腔717并穿过连接构件713的中央腔,但不直接附于连接构件。因此,连接构件713能在固定注射管83周围独立运动。如上所讨论,由于针头护套72与控制器内腔717所含连接构件713直接相连,注射管83进入针头护套控制器71的针头护套72内腔723。注射管83离开针头护套控制器71远端,在该处其包含于针头护套72中空腔。

[0597] 参照图16A和16B,注射管83远侧和纵向穿过针头护套72,在该处其连接注射针81。注射管83和注射针81可由一块或一个以上单独部分构成。注射管和注射针81由一块构成时,注射管83还可以是延伸锥形针,在近端区具有较长直径而注射针81附近远端区的直径较小。由相同或不同材料制成的针偶联器85能任选用于间接连接2个部件。注射管83和注射针81可由相同或不同材料制成。注射管83和注射针81具有相同直径,或不同直径。

[0598] 如图16A和16B所示,注射管83通过针偶联器85与注射管81间接耦合。偶联器85连接注射管83和注射针81以形成连续密封液体通路用于溶液穿过。所述连接可通过焊接、粘合、模塑或产生安全可靠密封的其他过程。偶联器85可由任何生物相容性和药物相容性材料制成,所述材料适合提供密封,且一般由塑料制成。偶联器85可以清澈或透明或不透明。例如,偶联器85可由聚碳酸酯或其他透明材料制成。如下进一步所讨论,在针头护套72包含任选可视窗724以观察上拉液体的实施方式中,针偶联器85一般清澈或透明以允许经窗口直观呈现液体或溶液。

[0599] 注射针81包括足以穿透或刺穿组织或器官的斜尖。注射针81一般由金属或合金制成,如手术用不锈钢或其他医疗级金属。注射针81的尺寸和直径根据上述参数选择。如上所述,小直径针81通常用于减小针插入靶组织或器官所需的力,并降低靶组织或器官的创伤。例如,注射针81是25-34号,如25号、26号、27号、28号、29号、30号或31号,通常是27号。

[0600] 注射管83的号可与注射针81相同或不同。然而,本文提供的装置设计成尽可能减小液体横穿路径中的压降。实现液体柱内压力的因素包括针长度、所含液体粘度、液体递送速率以及针号。所述装置设计成具有合理轴向力要求以按下柱塞92,从而允许在注射压力足够的腹腔镜方式中递送液体。例如,按下柱塞92以向靶器官注射液体所需的轴向力通常小于2磅力(1bf),优选小于11bf。按下柱塞92所需的轴向力还能取决于所需液体递送速率,最优压力还能取决于操作者。一些情况下,可能需要显著注射压力以通过腹腔镜装置的长针注射液体。为在液体穿过注射管83时防止立即明显压降,可使用较大号的注射管。因此,为降低可能由于连续密封液体通路所形成长路径而出现的压降,注射管83一般具有大于注射针81的直径,所述通路由注射管83、偶联器85和注射针81构成。

[0601] 例如,如果注射器筒91位于离注射针81近端至少300mm,液体如治疗剂必须经针头

护套轴72穿过长路径,可能出现明显压降。此情况下,可使用具有较大直径的注射管83,其连接直径较小的注射针81,用于在穿过窄针时防止大压降。任选的针偶联器85能用于连接注射管83与注射针81。针偶联器85包括凹陷,通过其注射管83和注射针81能压入配合以稳定保持针头护套腔723内的针组件位置。针偶联器85能任选包含联接构件以促进针偶联器85凹陷中注射管83和注射针81的连接。

[0602] 如果注射管83和注射针81的号不同,偶联器85调整大小以适合对面直径,例如其可在其近或远端有斜面。在特定示例中,注射管83是15号-25号,注射针81是25号-34号。例如,注射管83是21号且注射针81是27号。注射管83可由金属或塑料制成,如任何手术级材料。注射管83、偶联器85和注射针81的组合长度足以从注射器筒91远端到针头护套72远端,例如长100mm-600mm,一般至少或约至少300mm。注射管83、偶联器85和注射针81的特定尺寸可由用户选择,能取决于例如可用注射针的便利性。例如,常用注射针按尺寸分成12.7mm、25.4mm或38.1mm针。

[0603] 由注射管83、偶联器85和注射针81形成的连续密封液体通路通过和穿过针头护套72的中空腔或腔723。针偶联器85也托住注射管83和注射针81,从而当护套在覆盖的位置72a与未覆盖位置72c之间运动时针头护套72能在注射管83、针偶联器85和注射针81上滑动。例如,针偶联器85松散适合中空环状护套腔723。因此,针头护套72从针偶联器85独立运动。针偶联器85可由任何生物相容性和药物相容性刚性材料制成,包括金属、塑料和陶瓷,且通常由塑料如聚碳酸酯或丙烯腈丁二烯(ABS)制成。注射管83和注射针81能压入配合针偶联器的凹陷以与针偶联器85形成稳定的固定关系,因而外壳710也如此。任选联接构件82可存在于针偶联器85的凹陷内并连接注射管83和注射针81。联接构件82通过焊接、粘合、模塑或产生安全可靠密封的其他过程与各中间注射管83和注射管81耦合。联接构件82可由任何生物相容性和药物相容性刚性材料制成,包括金属、塑料和陶瓷,且通常由塑料如聚碳酸酯或丙烯腈丁二烯(ABS)制成。

[0604] 在装置60远端,针头护套72终止于含针道733的针头护套73远端。针道733尺寸足以适合注射针81,从而随着针头护套72运动,注射针能经针道733延伸和缩回。在图16A中,注射针81由针头护套72覆盖且不穿过针道733远端部分。参照图12A,图16A中的装置处于覆盖的位置72a。在图16B中,注射针81从针头护套72延伸出并穿过针道733远端部分。参照图12C,图16B中的装置处于未覆盖位置72c。

[0605] 处于未覆盖位置时,拉回针头护套72,但注射管83、针偶联器85和注射针81固定且不运动。例如,如图16B所示,由于拉回针头护套72,针偶联器85远端与装置远端73之间的护套腔723尺寸相较图16A所示对应护套腔尺寸变短。这证明如上参照图13所述,用定位器711使护套运动仅控制针头护套72的运动,而注射针81和装置其他组件的位置固定,无论定位器711位置如何。

[0606] 如上所述,处于未覆盖位置时,注射针81延伸或暴露在装置60外的程度是图13所示护套限位器715与716之间距离的函数。此距离是特定装置应用、特定靶细胞、所治疗受试者和其他考量的函数。例如,暴露的未覆盖针不应长到能容易穿透至靶组织另一侧。一般,关于大部分靶组织(如肝),图16B、17B和17D所示可未覆盖或暴露的注射针81部分一般小于1cm,如2mm-10mm,一般不大于5mm。对于儿童,长度可更小,一般小于4mm。对于子宫内应用,长度可以是2mm-3mm。

[0607] 针头护套72可以是固体或可透明或清澈。一些情况下,针头护套72包括任选的可视性窗口724。如上所述,存在可视性窗口724能使施用的药剂或溶液可视化以及收回液体。例如,由于一些应用需要直接注入实质且不注入血管或胆管,从针穿透区域收回并目测观察液体的能力能用于确认实质中的针位置,同时避免注入脉管系统或胆管。由于装置60较长且柱塞92在机体外面,直观呈现更接近注射位点和在腹腔镜视图内的液体通路是有用的。为实现此目的,可视性窗口724能任选存在于针头护套72以直观呈现通过清澈或透明针偶联器85的液体通路。图17A和17C提供图16A所示针头护套在覆盖的位置72a的对应透视图。图17A中,针头护套72是固体且护套内的注射针无法可视化。图17C中,针头护套72包括可视性窗口724,允许包括注射针在内的针头护套72内部组件可视化。同样,图17B和17D提供图16B所示针头护套在未覆盖位置72c的对应透视图。图17B中,针头护套72是固体且护套内的注射针81延伸,但另外在针头护套72内无法可视化。图17D中,针头护套72包括可视性窗口724,允许针头护套72内部组件可视化,包括不延伸出护套的注射针81部分。应理解图17B和17D中的可视性窗口724仅用于例示,可视性窗口可以是任何所需尺寸。例如,可视性窗口能延伸整个护套。其还能向远端延伸并包括针头护套73远端。也考虑其他变化且能由技术人员根据此描述容易设想。

[0608] 注射器筒和/或所述装置可以是一次性或重复使用。例如,通过鲁尔接头93连接针头护套控制器71近侧的注射器筒91可在注射或耗尽液体如治疗剂后移出,用新加载注射器取代,或重新加载和重新连接,需要或不需要从腹腔镜通道缩回装置。一些情况下,装置60能从腹腔镜通道缩回并在一次使用后废弃,或能重复使用。

[0609] 结合上图,操作注射装置60的模式示例包括用液体如治疗剂加载含注射器筒91和柱塞92的标准注射器(如1mL胰岛素注射器),然后经注射器筒91的鲁尔接头93和注射管83相连针座84来连接注射器与针头护套控制器71。一旦注射器筒91加载和连接针头护套控制器71后,针头护套72能置于覆盖的位置72a,所述装置能插入待置于注射位点附近的腹腔镜通道。在注射位点(靶组织),针头护套72可以未覆盖72c,注射针81能暴露用于注射。若需要,能拉回柱塞92以从注射位点收回液体,从而测试注射位点处的注射针81位置。任选可视性窗口724能用于显现来自注射位点的收回液体。一旦确定针放置位点,能下压柱塞92以在靶组织注射液体如治疗剂。注射后,针头护套72能置于覆盖的位置72a,以保护非靶标器官并防止意外针穿刺,然后从注射位点移出腹腔镜装置和通过腹腔镜通道。

[0610] 2.集成的注射装置

[0611] 图10、14和18A-D描述注射装置60'和其组件和特征。图10所示注射装置包括针头护套72'、针头护套控制器71'、注射针81、注射器筒91'和柱塞92'。注射装置的针头护套72'足够长以允许腹腔镜到达感兴趣靶标,一般长度为200mm-600mm,如250-400mm,且一般至少或约至少或300mm。所述装置通常是绕纵轴的圆柱形,一般在针头护套72'区和柱塞92'区具有具有较小直径,而在针头控制器71'区具有较大直径。所述装置的针头护套72'通常经通道(如腹腔镜通道)插入。针头护套72'的直径一般是3mm-12mm,常为5mm-10mm。应理解腹腔镜通道外部的装置部分可具有大于10mm的直径。例如,针头护套控制器体71'可具有足够长的直径,只要其能由操作者方便地握牢或处理。针头护套控制器体71'由操作者通常是外科医生握住,以操作和放置装置60',控制针头护套72'并支持装置同时操作柱塞92'。

[0612] 注射器筒91'为圆柱形,具有适合柱塞92'的空心,从而柱塞能在注射器筒内来回

运动。注射器筒一般清澈透明。注射器筒可由塑料或玻璃或其他合适材料制造,特别是由塑料如聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯或其他透明材料制造。如上一般所述,注射器筒91'可包括外表面上的校准刻度或标记以指示筒内药剂体积。如上所述,注射器筒91'的体积容量范围是0.5mL-20mL(即0.5cc-20cc),一般是0.5mL-3mL(即0.5cc-3cc),如至少或约1mL(即1cc)注射器。通常,向靶基因座递送200 μ L-600 μ L液体如治疗剂,注射器筒的体积是1mL。

[0613] 注射器筒91'位于针头护套控制器71'近侧。如图10所示,注射器筒91'集成并包含于针头护套72'的远端最大腔末端内。因此,注射器筒由针头护套72'封闭。如图18A和18B所示以及如下更详细所述,注射器筒91'与护套腔的腔723不直接相连,但其是定位的,这样成其相对于针头护套控制器71'不可运动。因此,在此实施方式中,注射器筒91'不可从针头护套72'移出。

[0614] 针头护套72'可以不透明或可透明或清澈。一般,针头护套72'不透明,但包含可视性窗口725以直观呈现集成注射器筒91'。由于装置60'包括封闭于针头护套72'内且另外情况下不可见的注射器筒91',存在可视性窗口725能使注射器筒上的校准刻度标示可视化以协助上拉药剂或溶液。除了允许施用的药剂或溶液可视化,存在可视性窗口725能使收回液体可视化。例如,由于一些应用需要直接注入实质且不注入血管或胆管,从针穿透区域收回并目测观察液体的能力能用于确认实质中的针位置,同时避免注入脉管系统或胆管。可视性窗口725可由玻璃或透明塑料如聚碳酸酯制成。可视性窗口725直接整合入针头护套72'体内。可视性窗口能包围整个针头护套72'圆周或能部分包围针头护套72'圆周。可视性窗口725可以是任何所需长度,并位于沿着针头护套72'的任何地方,只要一部分注射器筒91'在可视性窗口725下暴露。一般,可视性窗口725暴露注射器筒91'远端部分,但能暴露完整注射器筒91'。可视性窗口725长度可为10cm-300mm,一般20mm-100mm。

[0615] 柱塞92'位于装置60'近端并穿过针头护套控制器71'和针头护套72',在该处其能啮合并进入注射器筒91'。柱塞92'可运动通过针头护套控制器71'、针头护套72'和注射器筒91',从而其能沿着注射器筒91'内部推拉。柱塞92'能收回以用液体如治疗剂加载注射器筒91',或下压以在靶组织中注射液体如治疗剂。柱塞92'还能在注射位点拉回以测试针位置。柱塞为圆柱形以穿过注射器筒91',且由能容易穿过针头护套控制器71'、针头护套72'和注射器筒91'的材料制成。通常,柱塞92'由塑料如聚丙烯或聚乙烯制成。柱塞包括装置近端的头95,其能由操作者方便抓住以操作柱塞。柱塞头95一般也由塑料组成。柱塞92'远端一般由硅胶或其他天然或合成橡胶制成以在注射器筒91'内运动时提供注射器筒91'内的密封。

[0616] 柱塞92'长度足够允许其与注射器筒91'内部关联以驱散液体如治疗剂通过注射器远端和进入其连接的针81。由于柱塞本质上延伸装置长度,柱塞一般与护套至少一样长,且一般更长,因为其在腹腔镜通道外部延伸。例如,柱塞92'可以是200mm-800mm,如300-600mm,一般至少或约至少或300-400mm。拉回柱塞92'可拉动液体如治疗剂或空气,推动柱塞92'可将液体如治疗剂或空气压出注射器筒。

[0617] 装置60'包括位于针头护套72'内部的注射针81,其可在针81远端覆盖的和未覆盖。参照图18A和如下更详细所述,针头护套73远端包括针道733,其在如图10所示未覆盖时引导针到针头护套72'外。如图10所示,注射针包含足以穿透或刺穿组织或器官的斜尖。

[0618] 如下进一步讨论,由于注射针81直接在装置远端附于注射器筒91',注射针相对较

短。这避免用较长针可能出现的压降问题。这也意味着装置60'中的死体积,其是加载到注射器筒91'内但不能从装置中排出且注入组织的液体体积,一般较小。由于治疗通常昂贵或受限,优选尽可能减小死体积量的注射装置。实现死体积量的因素包括针长度、针直径和注射器筒直径。在长针情况下,针内空气量通常是患者和靶组织和/或器官无法耐受的。因此,空气需要从针中移出且针有时“装填”。注射后,柱塞顶部与注射针81顶部之间液体通路中剩余的液体量不能完全排出,因此导致死体积。在长针情况下,死体积的量因而较大。在装置60'中,注射器筒91'位于针头护套72'顶部附近,死体积仅在针头护套72'和注射针81顶部出现。

[0619] 图14描述针头护套控制器71'和柱塞92'延伸通过针头护套控制器71'的放大剖视图。针头护套控制器71'置于针头护套72'近侧。针头护套控制器71'包括控制针头护套72'运动的组件,连接装置近端和远端,并且是柱塞92'在装置近端与远端之间运动的导管。针头护套控制器71'设置成由操作者如外科医生握住和操作。如上所讨论,针头护套控制器71'具有便于操作者握住和操作装置的任何形状和尺寸,通常是圆柱形。针头护套控制器71'的直径使得其能握于普通人的手掌,一般直径为20mm-100mm,长度为50mm-225mm。针头护套控制器可选包括用于处理的外部握把。

[0620] 如图10和图14所示,针头护套控制器71'包括封闭针头护套控制器71'内部组件和针头护套72'近端的控制器外壳710。如上所讨论,针头护套控制器外壳710可由任意合适弹性和刚性材料制成,如任何聚合材料,包括塑料或橡胶、金属、陶瓷、复合材料或本领域技术人员已知的其他合适材料。通常,针头护套控制器外壳710由聚丙烯、聚苯乙烯、聚乙烯、聚氯乙烯、聚氨酯、硅胶、橡胶、或丙烯酸制成。如上所讨论,外壳710能由技术人员已知的任何制造方法制备,且能作为单块制备或由2个或更多连接在一起的部分构成,如用粘合剂、扣接合或其他紧固件。

[0621] 如图10和图14所示,针头护套控制器71'包括外部可及的定位器711。如上所述,定位器711设置于针头护套控制器71'中,从而其相对于针头护套控制器71'可前后运动。如上所述,定位器711通过连接构件713啮合针头护套72',且能用于滑动针头护套72'。此连接允许定位器711在前方或后方位置之间运动以控制针头护套在2个固定或闭锁位置即覆盖的与未覆盖位置之间运动。覆盖的位置保护或隐藏注射针,而未覆盖位置暴露针。

[0622] 参照图14,连接构件713连接针头护套72'近端和定位器711下部。连接构件713与针头护套近端相连,从而针头护套72'相对于控制器外壳710和注射针81纵向可运动。例如,连接构件713外的远端啮合其周围的针头护套72'近侧内腔。控制构件与定位器711和针头护套72'的连接能通过焊接、粘合、扣接合、紧固件或其他合适方式。

[0623] 如上一般所述,连接构件713在针头护套控制器71'的外壳710所含中空腔或内腔717中运动,其相对于外壳710在2个末端封闭。控制器内腔717容纳连接构件713,从而连接构件713能容易滑动或以受限方式向前或向后运动。例如,连接构件713可以是圆柱形并适合圆柱形中空内腔717。如图14所示和如下进一步所讨论,连接构件713包括内部中空腔以适合通过的柱塞92'。

[0624] 连接构件713的运动由定位器711控制。如图10和14所示,定位器711包括从针头护套控制器71'突出的计划顶部或头部,在该处其能由操作者向前或向后运动。如图14所示,在针头护套控制器71'内部,定位器711机体在其侧面有凹口或另外设置成啮合护套限位器

715或716。护套限位器715和716是针头护套控制器外壳710中的槽,适合定位器的缺口体并堵住定位器711,从而其无法运动。

[0625] 如图13用示范性装置60所例示,装置60'还包括设置于定位器711中的任选锁和释放元件712,其有利于用护套限位器715或716的槽锁住和放开定位器。例如,锁和释放元件712可以是弹簧或其他弹性手段。通过锁和释放元件712用护套限位器715或716的槽控制锁住和放开定位器711的机制如上所述,其中向下、垂直或横向力从护套限位器715或716中释放或锁住定位器711。向下推动定位器711允许定位器滑动并适合任一护套限位器715或716。

[0626] 定位器711在护套限位器715和716之间的运动可使连接构件713运动,因而也使针头护套72'运动,从而其能通过操作者控制定位器来从覆盖的和未覆盖位置转变。定位器711处于如图14所述后方位置711c时,远端护套限位器715游离且定位器711适合近端护套限位器716,从而注射针除套使其暴露。尽管图14未显示,定位器711还能处于如图13所述前方位置711a,其中近端护套限位器716游离且定位器711适合远端护套限位器715,从而覆盖注射针使其受到保护。作为另一位置,定位器711还能处于如图15所述中间位置711b,其中远端护套限位器715和近端护套限位器716游离且不啮合定位器711。

[0627] 如图14所示,柱塞92'穿过针头护套控制器71'的内腔717并穿过连接构件713的中央腔,但不直接附于针头护套控制器71'或连接构件713。因此,连接构件713能绕柱塞92'独立运动,柱塞92'能独立穿过连接构件713。如上所讨论,由于针头护套72'与控制器内腔717所含连接构件713直接相连,柱塞92'进入针头护套控制器71'的针头护套72'内腔。柱塞92'离开针头护套控制器71'远端,在该处其包含于针头护套72'中空腔723。

[0628] 参照图18A和18B,柱塞92'远侧和纵向穿过针头护套72',在该处其啮合注射器筒91'近端。注射针81在注射器筒91'远端与注射器筒91'内部直接相连。注射针81包括足以穿透或刺穿组织或器官的斜尖。注射针81一般由金属或合金制成,如手术用不锈钢或其他医疗级金属。注射针81的尺寸和直径一般根据上述参数选择。如上所述,小直径针81通常用于减小针插入靶组织或器官所需的力,并降低靶组织或器官的创伤。例如,注射针81是25-34号,如25号、26号、27号、28号、29号、30号或31号,通常是27号。

[0629] 在装置60'远端,针头护套72'终止于含针道733的远端73。针道733尺寸足以适合注射针81,从而随着针头护套72'运动,注射针能经针道733延伸和缩回。在图18A中,注射针81由针头护套72'覆盖且不穿过针道733。参照图12A,图18A中的装置60'处于覆盖的位置72a。在图18B中,注射针81从针头护套72'延伸出并穿过针道733。参照图12C,图18B中的装置60'处于未覆盖位置72c。

[0630] 如图18A和18B所示,由于注射器筒91'不连接针头护套72',针头护套72'绕注射器筒91'独立运动。处于未覆盖位置时,拉回针头护套72',但注射器筒91'和注射针81固定且不运动。例如,如图18B所示,由于拉回针头护套72',护套腔723尺寸相较图18A针头护套72'未拉回时变短。处于图18B所示未覆盖位置时,注射器筒91'远端接触护套73远端。凹口能设置于远端73以随着置于未覆盖位置72c而容纳注射器筒91'。这证明如上参照图14所述,用定位器711使护套运动仅控制针头护套72'的运动,而装置的注射器筒91'和注射针81的位置固定,无论定位器711位置如何。

[0631] 如上所述,处于未覆盖位置时,注射针81延伸或暴露在装置60'外的程度是图14所

示护套限位器715与716之间距离的函数。此距离是特定装置应用、特定靶细胞、所治疗受试者和其他考量的函数。例如,暴露的未覆盖针不应长到能容易穿透至靶组织另一侧。一般,关于大部分靶组织(如肝),图18B所示可未覆盖或暴露的注射针81部分一般小于1cm,如2mm-10mm,一般不大于5mm。对于儿童,长度可更小,一般小于4mm。对于子宫内应用,长度可以是2mm-3mm。一般,装置60'中注射针81的总长度略长于延伸出装置的未覆盖针尖。如图18B所示,余长程度足以说明远端护套顶部73的距离和针近端连接注射器筒91'的程度。例如,注射针81的总长度范围是5mm-40mm,如10mm-40mm,如12.7mm、25.4mm或38.1mm针。

[0632] 图18C提供处于覆盖的位置72a的图18A所示针头护套的对应透视图。图18D提供处于未覆盖位置72c的图18B所示针头护套的对应透视图。在图18A和图18B中,针头护套72'不透明,但包含可视性窗口725以观察覆盖的或未覆盖的注射器筒91'和注射针81。

[0633] 装置60'可以是一次性或重复使用。例如,装置60'能从腹腔镜通道收回并废弃、或重新加载和重复使用。装置60'还可以是无菌装置。例如,装置60'能经注射针81在无菌环境如无菌手术室中加载。装置60'能用液体如治疗剂预加载,并作为无菌预加载注射器提供。此外,由于注射器筒完全整合入轴,无菌一次性预加载装置的分布易用该装置60'实现,从而在注射器筒和装置必须分开包装或保存时尽量减小可能出现的污染。或者,注射针81能插入带液体如治疗剂、组合物的容器,柱塞92'能拉回以在注射器筒91'中加载液体如治疗剂。

[0634] 参照上述图和描述,操作注射装置60'的模式示例包括首先用液体如治疗剂加载装置60'。针头护套72'处于未覆盖位置72c时,注射针81能插入液体如治疗剂的小瓶或容器,集成式注射器柱塞92'能拉回以用液体如治疗剂加载注射器。用治疗化合物加载注射器时,可选使用小瓶接头,从而较长装置能在液体如治疗剂的小瓶或容器上稳定,加载注射器筒92'。一旦加载注射器,针头护套72'能置于覆盖的位置72a,所述装置能插入腹腔镜通道以将装置放置在注射位点附近。在注射位点(靶组织),针头护套72'可以是未覆盖72c,注射针81能暴露用于注射。若需要,能拉回集成式注射器柱塞92'以从注射位点收回液体,从而测试注射位点处的注射针81位置。注射器可视性窗口725能用于显现柱塞92'的收回和运动。一旦确定针放置位点,能下压柱塞92'以在靶组织注射液体如治疗剂。注射后,针头护套72'能置于覆盖的位置72a,以保护非靶标器官并防止意外针穿刺,然后从注射位点移出腹腔镜装置和通过腹腔镜通道。

[0635] 3. 可停驻的注射装置

[0636] 图11、15和19A-D描述注射装置60''和其组件和特征。图11所示注射装置包括针头护套72''、针头护套控制器71''、柱塞92'以及含注射针81、注射器筒91''和相关辅助柱塞920的可停驻注射器910。注射装置的针头护套72''足够长以允许腹腔镜到达感兴趣靶标,一般长度为200mm-600mm,如250-400mm,且一般至少或约至少或300mm。所述装置通常是绕纵轴的圆柱形,一般在针头护套区72''和柱塞区92''具有具有较小直径,而在针头控制器区71''具有较大直径。所述装置的针头护套72''通常经通道(如腹腔镜通道)插入。针头护套72''的直径一般是3mm-12mm,常为5mm-10mm。应理解腹腔镜通道外部的装置部分可具有大于10mm的直径。例如,针头护套控制器体71''可具有足够长的直径,只要其能由操作者方便地握牢或处理。针头护套控制器体71''由操作者通常是外科医生握住,以操作和放置装置60'',控制针头护套72''并支持装置同时操作柱塞92''。

[0637] 注射装置60"改装使得含注射针81、注射器筒91"和相关辅助柱塞920的可停驻注射器910能暂时停驻。如图11所示,注射器筒91"为圆柱形,具有适合辅助柱塞920的空心,从而柱塞能在注射器筒内来回运动。辅助柱塞920位于注射器筒91"近侧且可运动,从而其能沿着注射器筒91"内部推拉。辅助柱塞920能拉回以向注射器加载液体如治疗剂,或下压以在靶组织中驱散或注射液体。辅助柱塞920还能在注射位点拉回以测试针位置。如下所讨论,辅助柱塞920停驻在装置中时,其运动由柱塞92"控制。辅助柱塞920为圆柱形以穿过注射器筒91",并由允许容易穿过注射器筒的材料制成,如塑料例如聚丙烯或聚乙烯。

[0638] 辅助柱塞920包括装置近端的头95,其能由操作者方便抓住以操作柱塞,或另外设置成控制辅助柱塞920运动。例如,辅助柱塞920能独立运动和控制,例如当可停驻注射器910处于脱离位置时(如下进一步讨论)。其他情况下,当可停驻注射器910停驻于装置60"时,辅助柱塞920的运动由装置60"近端处的柱塞92"通过柱塞接头951控制(如下进一步讨论)。柱塞头95一般由塑料制成。辅助柱塞920远端一般由硅胶或其他天然或合成橡胶制成以在注射器筒91"内运动时提供注射器筒91"内的密封。

[0639] 辅助柱塞920长度足够允许其与注射器筒91"内部关联以驱散液体如治疗剂通过注射器筒91"远端和进入其连接的注射针81。例如,辅助柱塞920可具有50mm-100mm的长度,通常70mm-90mm。拉回辅助柱塞920可拉动液体或空气,推动辅助柱塞920可将液体或空气压出注射器筒。

[0640] 注射器筒91"一般清澈透明。注射器筒91"可由塑料或玻璃或其他合适材料制造,特别是由塑料如聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯或其他透明材料制造。如上所述,注射器筒91"可包括外表面上的校准刻度或标记以指示筒内药剂体积。如上所述,注射器筒91"的体积容量范围是0.5mL-20mL(即0.5cc-20cc),一般是0.5mL-3mL(即0.5cc-3cc),如至少或约1mL(即1cc)注射器。通常,向靶基因座递送200 μ L-600 μ L液体如治疗剂,注射器筒的体积是1mL。

[0641] 装置60"的可停驻注射器910包括注射针81,当可停驻注射器910停驻于装置60"内时,注射针81位于注射器筒91"远端和因而的装置60"远端(如下进一步讨论)。注射针81能直接或间接连接注射器筒91"。例如,注射针81可通过粘合剂、粘合或模塑在注射器筒91"远端直接固定于注射器筒91"内。在其他示例中,注射器筒91"远端可包括鲁尔接头或与注射针81近端针座相容的其他接头。

[0642] 如图11所示,注射针包括足以穿透或刺穿组织或器官的斜尖。注射针81一般由金属或合金制成,如手术用不锈钢或其他医疗级金属。注射针81的尺寸和直径一般根据上述参数选择。如上所述,小直径针81通常用于减小针插入靶组织或器官所需的力,并降低靶组织或器官的创伤。例如,注射针81是25-34号,如25号、26号、27号、28号、29号、30号或31号,通常是27号。

[0643] 由于注射针81直接附于注射器筒91",注射针相对较短。这避免用长针可能出现的压降问题。与上述装置60"类似,这也意味着通常存在由装置60"形成的较小死体积。例如,注射针81的总长度范围是5mm-40mm,如10mm-40mm,如12.7mm、25.4mm或38.1mm针。一般,需要使用较短针以防止与死体积和压降相关的问题。

[0644] 针头护套72"可以不透明或可透明或清澈。针头护套72"一般在针头护套720近端部分是固体,但其远端包含开口腔726。含辅助柱塞920、注射器筒91"和注射针81的可停驻注射器910设置成其能在护套开口腔中停驻和脱离,其中针头护套72"绕可停驻注射器910

可运动。如图11和图19A所示,开口腔726是针头护套72"上半部分中的切断。护套开口腔726的内部能与注射器接头内衬96排列成护套独立于注射器接头内衬96运动。注射器接头内衬96还具有尺寸基本类似的开口腔。

[0645] 例如,如图19A和19B所示,注射器接头内衬96能穿过护套,从而护套绕注射器接头内衬96运动。注射器接头内衬96能在其近端连接或固定于针头护套控制器71'且在其远端具有开口腔以形成可停驻注射器的巢。例如,注射器接头内衬96可以是皮下注射管,其远端部分移出以形成可停驻注射器的巢。所述管的直径可小于针头护套72"内部,从而该管能进入并通过护套,在该处其能连接固定位置的针头护套控制器71'。

[0646] 注射器接头内衬96的开口腔可包括柱塞静止腔960、筒静止腔962和2个筒停驻处961和963。筒静止腔962侧翼是2个筒停驻处961和963,其是适合分别在近和远端密封或绑定注射器筒91"的扣子或配件。筒静止腔962的尺寸和2个筒停驻处961和963之间的距离允许啮合注射器筒91"。如果注射器筒91"包括适合筒停驻处961和963的槽,则2个筒停驻处961和963之间的长度与注射器筒91"中对应槽之间的长度相同。能用筒停驻处961和963停驻的注射器筒91"部分可如下限制:用适合停驻处961和963的窄槽分别在其近端和末端设置注射器筒91"。这确保注射器筒91"在适应开口腔726时可适当排列以覆盖和拔出注射针81。根据注射器筒91"的具体尺寸和构型,筒停驻处961和963尺寸可类似或不同。筒停驻处961或963可为刚性或弹性,可由金属或聚合材料如塑料制造。筒停驻处961和963可以从注射器接头内衬96突出的部件,或可以是附于注射器接头内衬96暴露部分的分开部件。筒静止腔962以及停驻处961和963与针护套不直接相连,从而针头护套72"绕注射器接头内衬96并独立于其运动,包括筒静止腔和停驻处。

[0647] 作为柱塞92"部分的柱塞接头951位于腔726近端。柱塞92"在延伸位置拉回时,柱塞接头951搁置在注射器接头内衬96开口腔内。如下所讨论,柱塞92"在注射器接头内衬96腔内可运动以控制辅助柱塞920的运动。柱塞92"处于其延伸位置(即拉出到注射器筒外最大长度)时,筒停驻处961与柱塞接头951之间的距离产生注射器接头内衬96中的柱塞静止腔960,其尺寸适合处于延伸位置的辅助柱塞920。

[0648] 因此,针头护套72"的开口腔726和注射器接头内衬96开口腔的长度足以适合可停驻注射器910。一些情况下,腔能跨越整个针头护套72"长度,除了下述针头护套73'远端。通常,开口腔长度是50mm-250mm。因此,注射器接头内衬96的开口腔具有与针头护套开口腔726基本类似的长度,为50mm-250mm。开口腔长度也取决于针头护套72"直径、可停驻注射器910的体积、长度和直径。如果特定注射需要大体积的注射器筒91",注射器筒91"和开口腔的长度可变得更长。然而,辅助柱塞920的行程长度限于小于针头护套72"总长度一半,因为完全延伸的辅助柱塞920和注射器筒91"必须适合针头护套72"和开口腔的长度。柱塞92"的行程长度也限于辅助柱塞920的最大行程长度。因此,如果需要更大体积的注射器筒91",针头护套72"的直径可更大。根据腹腔镜通道直径、手术类型和所需注射器筒体积,可凭经验确定注射器筒91"的最优长度和直径,其与针头护套72"行程长度和长度相关,包括针头护套72近端部分的长度。

[0649] 开口腔终止于针头护套73'远端。针头护套73'远端是固体,除非其在正面包含开口针槽76。针槽76是就注射针81而言足够的窄开口以落入针头护套73'远端,在该处其能与针道733排列以在未覆盖时引导外面的注射针81。槽76的长度和直径足以适合注射针81。例

如,针槽76长5mm-40mm,如10mm-40mm。针槽宽度是0.2-2mm,如0.3-1mm。

[0650] 图19A和19B描述可停驻注射器910的可停驻和脱离构型,带有注射器接头内衬96和针头护套72”。例如,图19A显示处于脱离位置910a的可停驻注射器910。如图19A所示,注射器接头内衬96在针头护套72”内。设置于针头护套72”开口腔726中的注射器接头内衬96的开口腔设置成适合上述可停驻注射器910。图19B显示处于脱离位置910b的可停驻注射器910。处于脱离位置910b时,可停驻注射器910位于针头护套控制器71’远侧。处于脱离位置910b时,注射针81位于针头护套72”内且可如下所述在针81远端覆盖的和未覆盖。

[0651] 停驻到针头护套72”开口腔726和注射器接头内衬96开口腔可及的注射器停驻处的能力允许直观显示装置60”中的注射器筒,从而施用的药剂或收回液体能可视化。例如,如上所讨论,由于一些应用需要直接注入实质且不注入血管或胆管,从针穿透区域收回并目测观察液体的能力能用于确认实质中的针位置,同时避免注入脉管系统或胆管。

[0652] 另外,在注射装置60”中运动或停驻注射器910的能力也提供优势,包括便于加载注射器筒、交换已加载注射器筒和注射器无菌。例如,当上拉或加载注射器时,无菌注射器筒91”能方便地使用,液体如治疗剂、组合物或其他溶液进入注射器筒。若需要,分开的无菌针81能适合注射器筒91”如通过鲁尔接头以允许注射器筒91”加载液体如治疗剂。注射器筒91”还能在使用装置60”前分开加载,或可使用预加载注射器筒91”。同样,能使用多种注射器类型和尺寸,只要其可用装置60”停驻。一些情况下,若需要,数种不同类型的注射器能用于一个患者。在注射器必须再加载或需要额外液体的情况下,新或重新加载的注射器能停驻。

[0653] 如图11所示,柱塞92”位于装置60”近端,在该处其能由操作者在腹腔镜通道外控制和操作。柱塞92”穿过针头护套控制器71’和针头护套72”近端部分。柱塞92”一般是圆柱形且在针头护套控制器71’和针头护套72”内可运动。柱塞92”由允许容易穿过针头护套控制器71’和针头护套72”的材料制成。通常,柱塞92”由塑料例如聚丙烯或聚乙烯支撑。柱塞92”远端包括柱塞接头951,其在针头护套72”中通过开口腔726暴露,在该处其与辅助柱塞920相关联。柱塞92”长度足以允许其在辅助柱塞920停驻于腔726时,与辅助柱塞920在针头护套72”中相关联。例如,柱塞92”的长度范围是50mm-500mm,如100mm-400mm或100mm-200mm。柱塞92”一般长于辅助柱塞920。

[0654] 柱塞接头951包括槽或缺口以通过辅助柱塞920的柱塞头95’连接辅助柱塞920。柱塞接头951的尺寸和形状足以使辅助柱塞920的柱塞头95’在柱塞静止腔960中密封或绑定。如图19B所示,辅助柱塞920的柱塞头95’适合或绑定于柱塞接头951时,辅助柱塞920连接柱塞92”,从而柱塞92”的运动控制辅助柱塞920的运动。柱塞92”还包括装置近端处的柱塞头95,其可由操作者方便地抓住以操作柱塞92”和因而的辅助柱塞920。例如,推动柱塞92”也推动辅助柱塞920并使液体或空气压出注射器筒91”。

[0655] 图15描述针头护套控制器71’和柱塞92’延伸通过针头护套控制器71’的放大剖视图。针头护套控制器71’置于针头护套72”近侧。针头护套控制器71’包括控制针头护套72”运动的组件,连接装置近端和远端,并且是柱塞92”在装置近端与远端之间运动的导管。针头护套控制器71’设置成由操作者如外科医生握住和操作。如上所讨论,针头护套控制器71’具有便于操作者握住和操作装置的任何形状和尺寸,通常是圆柱形。针头护套控制器71’的直径使得其能握于普通人的手掌,一般直径为20mm-100mm,长度为50mm-225mm。针头

护套控制器可选包括用于处理的外部握把。

[0656] 如图11和图15所示,针头护套控制器71'包括封闭针头护套控制器71'内部组件和针头护套72"近端的控制器外壳710。如上所讨论,针头护套控制器外壳710可由任意合适弹性和刚性材料制成,如任何聚合材料,包括塑料或橡胶、金属、陶瓷、复合材料或本领域技术人员已知的其他合适材料。通常,针头护套控制器外壳710由聚丙烯、聚苯乙烯、聚乙烯、聚氯乙烯、聚氨酯、硅胶、橡胶、或丙烯酸制成。如上所讨论,外壳710能由技术人员已知的任何制造方法制备,且能作为单块制备或由2个或更多连接在一起的部分构成,如用粘合剂、扣接合或其他紧固件。

[0657] 如图11和图15所示,针头护套控制器71'包括外部可及的定位器711。如上所述,定位器711设置于针头护套控制器71'中,从而其相对于针头护套控制器71'可前后运动。如上所述,定位器711通过连接构件713啮合针头护套72",且能用于滑动针头护套72"。此连接允许定位器711在前方或后方位置之间运动以控制针头护套72"在2个固定或闭锁位置即覆盖的与未覆盖位置之间运动。覆盖的位置保护或隐藏注射针,而未覆盖位置暴露针。

[0658] 参照图15,连接构件713连接针头护套72"近端和定位器711下部。连接构件713与针头护套近端相连,从而针头护套72"相对于控制器外壳710和注射针81纵向可运动。例如,连接构件713外的远端啮合其周围的针头护套72"近侧内腔。控制构件与定位器711和针头护套72"的连接能通过焊接、粘合、扣接合、紧固件或其他合适方式。

[0659] 如上一般所述,连接构件713在针头护套控制器71'的外壳710所含中空腔或内腔717中运动,其相对于外壳710在2个末端封闭。控制器内腔717容纳连接构件713,从而连接构件713能容易滑动或以受限方式向前或向后运动。例如,连接构件713可以是圆柱形并适合圆柱形中空内腔717。如图15所示和如下进一步所讨论,连接构件713包括内部中空腔以适合通过的柱塞92"。

[0660] 连接构件713的运动由定位器711控制。如图11和15所示,定位器711包括从针头护套控制器71'突出的计划顶部或头部,在该处其能由操作者向前或向后运动。如图15所示,在针头护套控制器71'内部,定位器711机体在其侧面有凹口或另外设置成啮合护套限位器715或716。护套限位器715和716是针头护套控制器外壳710中的槽,适合定位器的缺口体并堵住定位器711,从而其无法运动。

[0661] 如图13用示范性装置60所例示,装置60"还包括设置于定位器711中的任选锁和释放元件712,其有利于用护套限位器715或716的槽锁住和放开定位器。例如,锁和释放元件712可以是弹簧或其他弹性手段。通过锁和释放元件712用护套限位器715或716的槽控制锁住和放开定位器711的机制如上所述,其中向下、垂直或横向力从护套限位器715或716中释放或锁住定位器711。向下推动定位器711允许定位器滑动并适合任一护套限位器715或716。

[0662] 定位器711在护套限位器715和716之间的运动可运动连接构件713,因而也运动针头护套72",从而其能通过操作者控制定位器来从覆盖的和未覆盖位置转变。定位器711处于如图15所述中间位置时,远端护套限位器715和近端护套限位器716都游离且不啮合定位器711。尽管图15未显示,定位器711还能处于如图13所述前方位置711a,其中近端护套限位器716游离且定位器711适合远端护套限位器715,从而覆盖注射针使其受到保护。作为另一位置,尽管图15未显示,定位器711还能处于如图14所述后方位置711c,其中远端护套限位

器715游离且定位器711适合近端护套限位器716,从而注射针除套使其暴露。

[0663] 如图15所示,柱塞92"穿过针头护套控制器71'的内腔717并穿过连接构件713的中央腔,但不直接附于针头护套控制器71'或连接构件713。因此,连接构件713能绕柱塞92"独立运动,柱塞92"能独立穿过连接构件713。如上所讨论,由于针头护套72"与控制器内腔717所含连接构件713直接相连,柱塞92"进入针头护套控制器71'的针头护套72'内腔。柱塞92"离开针头护套控制器71'远端,在该处其包含于针头护套72"中空腔。

[0664] 在装置60'远端,针头护套72"终止于含针道733的针头护套73'远端,针道733尺寸足以适合注射针81。当可停驻注射器910以图19B-D所示停驻位置910b停驻于装置中时,注射针81适合通过槽76,在该处其排列整齐以穿过针道733,从而随着针头护套72"运动,注射针81能经针道733延伸和缩回。图19B中,注射针81适合槽76并包含于针头护套72",但不穿过针道733远端。参照图12A,图19B中的装置60"处于覆盖的位置72a。图19C中,注射针81从针头护套72"延伸出并经针道733穿过远端部分。参照图12C,图19C中的装置60"处于未覆盖位置。

[0665] 如图19B和19C所示,由于注射器筒91"不连接针头护套72",针头护套72"绕注射器筒91"独立运动。处于图19C所示未覆盖位置72c时,拉回针头护套72",但注射器筒91"和注射针81固定且不运动。例如,如图19C所示,由于拉回针头护套72",注射器筒91"远端部分被针头护套73远端覆盖。相反,处于图19B所示覆盖的位置72a时,护套不拉回,从而注射器筒91"远端不被针头护套73远端覆盖。因此,针头护套72"在覆盖的与未覆盖位置之间的运动缩小了装置60"停驻腔中所暴露注射器筒91"的量。

[0666] 如上所述,处于图19C所示未覆盖位置72c时,注射针81延伸或暴露在装置60"外的程度是图15(和相关的图13和14)所示护套限位器715与716之间距离的函数。此距离是特定装置应用、特定靶细胞、所治疗受试者和其他考量的函数。例如,暴露的未覆盖针不应长到能容易穿透至靶组织另一侧。一般,关于大部分靶组织(如肝),图19C所示可未覆盖或暴露的注射针81部分一般小于1cm,如2mm-10mm,一般不大于5mm。对于儿童,长度可更小,一般小于4mm。对于子宫内应用,长度可以是2mm-3mm。一般,装置60"中注射针81的总长度略长于能延伸出装置、处于完全未覆盖位置的未覆盖针尖。如图19C所示,余长程度足以说明装置处于未覆盖位置时,护套73'远端仍然含有的注射针81近端部分和注射器筒91"远端。例如,如上所述,注射针81的总长度范围是5mm-40mm,如10mm-40mm,如12.7mm、25.4mm或38.1mm针。

[0667] 经注射针驱散或喷射液体如治疗剂或其他溶液可通过下压柱塞92"来控制,由于柱塞接头完成连接,这实现辅助柱塞920下压。参照图19C,柱塞92"处于延伸位置,从而辅助柱塞920也处于延伸位置。相反,图19D描述处于下压位置的柱塞92",从而辅助柱塞920也处于下压位置。这允许向靶组织递送液体如治疗剂。如果需要收回以测试针位置,柱塞92"还能用于控制从注射位点收回液体。这可通过牵拉或收回柱塞92"完成,通过其与辅助柱塞920连接,也收回辅助柱塞920。收回液体在注射器筒91"中可见,其中其不被针头护套72"覆盖。

[0668] 可停驻注射器910(含辅助柱塞920、注射器筒91"和注射针81)和/或装置60"可以是一次性或重复使用。例如,注射器筒91"中注射或耗尽液体如治疗剂后,或当另有需要时,可停驻注射器910能从腹腔镜通道中缩回。新加载的可停驻注射器910能停驻于装置60"。新加载的可停驻注射器910能包括先前使用的可停驻注射器筒91",其可重新加载或可以是新

的预加载可停驻注射器910。或者,装置60"能在一次使用后从腹腔镜通道中缩回并废弃。在需要无菌注射的情况下,注射器筒91"能在无菌环境如无菌手术室中加载液体如治疗剂,然后停驻到装置60"内。或者,能使用无菌预加载可停驻注射器910,其能停驻到装置60"内。

[0669] 参照上述图和描述,操作注射装置60"的模式示例包括首先用液体如治疗剂加载可停驻注射器910,然后注射器停驻到注射器接头内衬96中的注射器接头内,注射器接头内衬96位于针头护套72"内。一旦加载可停驻注射器910,通过啮合筒停驻处961和963与柱塞接头951,注射器停驻到注射器停驻处。针头护套72"能置于覆盖的位置72a,所述装置能插入腹腔镜通道以置于靶位点附近。在注射位点(靶组织),针头护套72"可以是未覆盖72c,注射针81能暴露用于注射。若需要,能拉回控制柱塞92"以从注射位点收回液体,例如,用于测试注射位点处的注射针81位置。收回液体在针头护套72"的注射器筒91"远端可见。能下压控制柱塞92"以在靶组织注射液体如治疗剂。注射后,针头护套72"能置于覆盖的位置72a,以保护非靶标器官并防止意外针穿刺,然后从注射位点移出腹腔镜装置和通过腹腔镜通道。

[0670] F. 系统和试剂盒

[0671] 带夹具装置能作为系统或试剂盒与其他医用材料的组合提供,其能与采用带夹具装置的特定医疗程序联用。例如,带夹具装置能作为系统与其他手术器械或工具的组合提供,尤其是用于微创手术的其他工具。特别地,带夹具装置能作为系统与抓紧器、镊子、注射装置、泵、压力计、张力计、腹腔镜或医疗设备或仪器的组合提供,所述设备或仪器常规与带夹具装置联用。所述系统和试剂盒还能与夹紧过程所用药物组合物或其他药剂联合提供。

[0672] 在特定示例中,带夹具装置作为系统与注射装置的组合提供,所述装置能用于采用带夹具装置的方法和过程。特别地,注射装置能握住或保存以直接注射液体如治疗剂例如生物、化学或基因治疗(即核酸分子)到靶组织。例如,注射装置能与本文所述区室化核酸递送方法的带夹具装置联用以向用带夹具装置区室化的组织或器官或其部分递送核酸剂。通常,注射装置是腹腔镜注射装置。特别地,本文提供系统或试剂盒,作为含本文章节B所述带夹具装置和本文章节E所述注射装置的组合提供。这种系统或试剂盒能用于区室化核酸递送方法。

[0673] 所述系统或试剂盒可选提供成包含药物组合物以与注射装置联用。例如,本文章节D.4所述任何组合物包括核酸或含核酸分子的所递送的药剂,能提供所述组合物以纳入含注射装置的组合。所述组合物能包含于注射装置用以施用或能分开提供以稍后加入。所述试剂盒可选包括应用说明书,包括一种或多种装置、剂量、剂量方案的使用说明和施用说明。还能提供其他试剂。例如,所述试剂盒可选包括实现组织或器官运动的工具,用于监测区室化的定时器和用于实施所述方法的其他试剂。

[0674] G. 实施例

[0675] 包括下列实施例仅用于阐明目的,而不意在限制发明范围。

[0676] 实施例1. 构建带夹具装置

[0677] 构建如图1-5所示和如详细说明所述类型的带夹具装置。为允许腹腔镜进入一部分肝,护套组件30的直径是10mm,护套组件30和夹具部分40的长度是300mm(参见例如图1)。弹性上带42由纤维加固的聚氨酯(Stock Drive Products,Hyde Park,N.Y.)制成(参见例如图1)。球囊43由中等硬度聚氨酯(Advanced Polymers,Salem,NH)制成,长度约10cm以适

合夹具部分40的细长型表面构件41中形成的支架槽44(参见例如图1)。填充有空气的20mL标准注射器(Becton&Dickinson Corp, Franklin, NJ)连接球囊膨胀线25以控制球囊43膨胀(参见例如图1)。

[0678] 插入腹腔镜通道套管前,球囊保持缩小43a且第一带张紧轮21转向手柄(即逆时针),从而弹性带平置42a在缩小球囊43a上(参见例如图4A)。带张紧/松开开关23位置向上(23b)以防止第一带张紧轮21转向夹具装置端(即顺时针)从而放松或松开弹性带42(参见例如图3B)。

[0679] 实施例2.用带夹具装置进行死猪肝的离体夹紧研究

[0680] 来自死猪的新鲜全/完整肝获自当地屠宰场。使用实施例1所述带夹具装置,带张紧/松开开关23置于下位23a,第一带张紧轮21顺时针转动从而松开弹性带产生3-4cm高度的松弛环42b以适合肝(参见例如图6B)。鉴定肝501左中叶,抓住,并从肝中切割/切下20cm叶。夹具部分40置于肝501切片部分上(参见例如图6C)。转动护套调节器31以推进护套从而减小夹具部分40尺寸,用于适合所夹紧肝部分的解剖结构和尺寸(参见例如图6D)。第一带张紧轮21逆时针转动以减小松弛环42b尺寸从而产生贴合肝解剖结构的张紧环42c(参见例如图6E)。球囊43通过啮合连接球囊膨胀线25的注射器来填充空气,产生膨胀球囊43b,其符合夹具部分40所握肝501下部解剖结构(参见例如图6F)。

[0681] 一旦所述装置放置于并适合切片肝部分,所述开关置于上位23b以防止第一带张紧轮21顺时针运动从而放松或松开张紧的弹性环42c。在夹紧肝部分的切片方面鉴定了主要血管,套管插入3cm到切片肝。五十(50)mL溴酚蓝通过插管血管灌输入夹紧的肝实质。一旦灌输50mL,通过从连接球囊膨胀线25的注射器取出空气来使球囊43缩小,开关移到下位23a以允许松开张紧的弹性环42c,第一带张紧轮21顺时针运动从而松开松弛位置42b的弹性带。从夹具部分40移出肝501。

[0682] 目测观察两侧放置夹的组织并分析蓝色染料的存在。蓝色染料仅定位于插管的夹紧肝部分近端半侧,且不穿透夹紧组织的另一侧。因此,结果显示带夹具装置能模拟循环切断并因而通过防止蓝色染料溶液循环到夹紧肝部分远侧来实现成功的区室化。

[0683] 实施例3.用带夹具装置区室化肝后,所注射腺病毒的延长可溶性报告蛋白表达

[0684] 为评价区室化基因递送方法可实现的长期基因表达程度,向肝实质注入表达可分泌蛋白甲胎蛋白(AFP)的腺病毒,所述肝用带夹具装置从体循环区室化30分钟。在外周血注射后,随着时间评价可溶性蛋白的存在以确定延长基因表达。

[0685] A. 方法

[0686] 称为Ad-pALB.AFP的腺病毒衍生自人5型腺病毒并编码猪(野猪(*Sus scrofa*))甲胎蛋白(AFP) cDNA (Genbank登录号AF517770.1),由野猪血清白蛋白基因启动子区(Genbank登录号AY033476.1)驱动。通过缺失E1区,使腺病毒成为复制缺陷型。在此缺失的E1区中,克隆报告子甲胎蛋白(AFP)并构建成由猪白蛋白(ALB)启动子驱动,对肝有特异性。在ALB启动子控制下的野猪AFP cDNA由Genscript (Piscataway, NJ,)合成并克隆到pUC57质粒。pUC57质粒中的AFP表达盒亚克隆到双重基本腺病毒穿梭载体并与Ad5 (DE1/DE3)载体(Vector Biolabs, Philadelphia, PA)重组。称为Ad.pALB.AFP的腺病毒包装于HEK293细胞,用氯化铯超速离心纯化且用常规HEK293噬斑试验滴定。

[0687] 简言之,在全身麻醉下,20千克(kg)大肚猪(n=3)以仰卧位放置。实施无菌和抗菌

操作,腹部用无菌手术片处理。完成10cm脐上内部切口,暴露腹腔和肝。从腹腔仔细提取10厘米(cm)肝左中叶。

[0688] 约5厘米(cm)左中叶远端用实施例1所述带夹具装置区室化。用实施例1所述带夹具装置,带张紧/松开开关23置于下位23a,第一带张紧轮21转向夹具装置端(即顺时针)从而放松弹性带产生3-4cm高度的松弛环42b以适合肝(参见例如图6B)。用镊子抓紧肝501左中叶,夹具部分40置于肝501上(参见例如图6C)。转动护套调节器31以推进护套32从而减小夹具部分40尺寸,用于适合所夹紧肝部分的解剖结构和尺寸(参见例如图6D)。第一带张紧轮21转向手柄(即逆时针)以减小松弛环42b尺寸从而产生贴合肝解剖结构的张紧环42c(参见例如图6E)。球囊43通过啮合连接球囊膨胀线25的注射器来填充空气,产生膨胀球囊43b,其符合夹具部分40所握肝501下部解剖结构。

[0689] 一旦所述装置放置于并适合肝,所述带张紧/松开开关置于上位23b以防止第一带张紧轮21转向夹具装置端(即顺时针)从而放松或松开张紧的弹性环42c。使用标准1mL胰岛素注射器,0.500mL(500 μ L)含 1.2×10^5 pfu Ad.pALB.AFP的溶液直接注入区室化肝实质(n=2)。作为阴性对照,第三只猪没有注射腺病毒(n=1)。

[0690] 腹腔镜肝夹保持在位置上30分钟,随后从肝中放开。为放开夹,带张紧/松开开关移至下位以允许松开张紧的弹性环42c,第一带张紧轮21转向夹具装置端(即顺时针)从而松开松弛位置42b的弹性带。从夹具部分40移出肝501。就出血情况观察注射位点1分钟,之后将叶仔细地再引入腹腔。腹肌切口用Vycril 1缝合。然后,皮肤用标准外科钉闭合。处理切口并将猪小心运送到其能得以恢复的笼中。负对照(n=1)接受相同手术过程,包括夹紧叶30分钟,但注射PBS。

[0691] 在注射腺病毒前以及注射和手术后60天,于手术过程中从右颈静脉吸出十毫升(10mL)外周血。用血清分离管(Becton Dickinson Corp.,Franklin,NJ)加工血,允许样品凝结30分钟,然后以1,000g离心15分钟。移出血清,等分并-80 $^{\circ}$ C保存。检测血清中的AFP,根据厂商操作使用PIG甲胎蛋白、AFP ELISA试剂盒(中国武汉华美生物工程有限公司(Cusabio Biotech Co.,Ltd.))。

[0692] 1只来自腺病毒注射组的猪和1只PBS注射对照进行后续随访12个月,评价各只猪的AFP水平。如上所述取样血清并处理。由于AFP ELISA试剂盒的敏感性问题的,检测AFP,根据厂商操作使用固相两位点连续化学发光免疫测量分析试剂盒IMMULITE 2000AFP(Siemens Healthcare,Gwynedd,United Kingdom)。

[0693] B. 结果

[0694] 1. 最初6天

[0695] 6天随访结果显示在腺病毒注射前于动物外周血清中检测到0.4ng/mL的平均基础或背景AFP水平。在注射有上述腺病毒Ad.pALB.AFP的动物中,施用腺病毒后60天的猪中检测到36ng/ml的平均AFP水平。相反,未接受腺病毒的对照猪中检测到基础AFP水平(0.4ng/ml)。这些结果证明向用带夹具装置区室化的肝递送腺病毒可实现腺病毒转导后至少60天(2个月)的持续转基因表达。

[0696] 2. 12个月随访

[0697] 表1列出12个月随访结果,其中用固相两位点连续化学发光免疫测量分析检测AFP水平。在注射有Ad.pALB.AFP的动物中,在施用后测试的所有时间点,检测到明显高于对照

的血清AFP水平,其在12个月随访中维持。这些结果证明向用带夹具装置区室化的肝递送腺病毒可实现腺病毒转导后至少1年(12个月)的持续转基因表达。

[0698]

注射后月数	6E6DFA3 (注射 PBS 的对照猪) 的 AFP 水平(ng/mL)	6E6DBFA (Ad.pALB.AFP 注射猪)的 AFP 水平(ng/mL)
0	6	7
1	4	10.3
2	4	65.1
3	4.8	36
4	3.6	38
5	8.2	48.5
6	2.8	35
7	4.5	40
8	2	36

[0699]

注射后月数	6E6DFA3 (注射 PBS 的对照猪) 的 AFP 水平(ng/mL)	6E6DBFA (Ad.pALB.AFP 注射猪)的 AFP 水平(ng/mL)
9	5.8	32
10	7	42
11	15	28
12	4.2	24

[0700] 实施例4.用带夹具装置区室化肝期间和之后的注射腺病毒全身检测

[0701] 将腺病毒注入用带夹具装置从体循环区室化30分钟的肝实质,其在夹紧期间和之后于血流中的存在用定量PCR评价以确定是否发生病毒血症。如实施例3所述名为 Ad.pALB.AFP的腺病毒用于这些实验。

[0702] 简言之,在全身麻醉下,20千克(kg)猪(n=3)以仰卧位放置。实施无菌和抗菌操作,腹部用无菌手术片处理。完成10cm脐上内部切口,暴露腹腔和肝。从腹腔仔细提取10厘米(cm)肝左中叶。猪肝用带夹具装置区室化并注射 1.2×10^{10} pfu Ad.pALB-AFP(n=2)剂量,如实施例3所述。作为负对照,第三只猪没有注射腺病毒。在腺病毒注射后(注射后)1、3和5分钟,从颈静脉吸出5mL外周血。

[0703] 腹腔镜肝夹保持在位置上30分钟,随后从肝中放开。为放开夹,带张紧/松开开关移至下位以允许松开张紧的弹性环42c,第一带张紧轮21转向夹具装置端(即顺时针)从而松开松弛位置42b的弹性带。从夹具部分40移出肝501。然后,在夹放开后(夹释放后)1、3和5分钟,从颈静脉吸出5mL外周血。就出血情况观察注射位点1分钟,之后将叶仔细地再引入腹腔。腹肌切口用Vycril 1缝合。然后,皮肤用标准外科钉闭合。处理切口并将猪小心运送到其能得以恢复的笼中。负对照(n=1)接受相同手术过程,包括夹紧叶30分钟,但注射PBS。

[0704] 所得血液样品用血清分离管(Becton Dickinson Corp.,Franklin,NJ)加工,允许样品凝结30分钟,然后以1,000g离心15分钟。移出血清,等分并-80℃保存。通过扩增E4腺病

毒5基因经定量PCR分析血清样品中是否存在腺病毒DNA。从500 μ l血清样品中纯化DNA,如厂商所述使用Wizard基因组DNA纯化试剂盒(Promega)。使用10ng DNA/PCR反应,通过扩增E4人5型腺病毒区域(GenBank AB685372.1)确定腺病毒基因组拷贝数,用SYBR Green预混液(Applied Biosystems)和Step One Plus System(Applied Biosystems)。PCR循环如下:1轮95 $^{\circ}$ C 10分钟,40轮的95 $^{\circ}$ C 15秒、60 $^{\circ}$ C 1分钟和随后的解离操作。扩增用引物是:正向5'-GGAGTGCGCCGAGACAAC-3'(SEQ ID NO:1)和反向5'-ACTACGTCCGGCGTTCAT-3'(SEQ ID NO:2)(Kanerva等,Molecular Therapy卷5,第6期,2002)。为了定量腺病毒基因组,比较样品读数与标准曲线,所述曲线通过扩增已知数目的腺病毒基因组拷贝(10^6 、 10^5 、 10^4 、 10^3 、 10^2 、 10^1 和1)来产生。

[0705] 结果示于表2。结果显示在任何测试时间点没有检测到基因组,表明病毒血症未发生且腺病毒注射后和夹放开后没有病毒释放到外周循环。

[0706]

猪 (芯片号)	注射后(拷贝/ μ g DNA)			夹放开后 (拷贝/ μ g DNA)		
	1 min	3 min	5 min	1 min	3 min	5 min
6E6F371	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6E6DD9C	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6E6DFA3 (PBS ctrl)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

[0707] 实施例5.用带夹具装置区室化肝之后外周器官中的注射腺病毒检测

[0708] 为进一步确认如实施例3所述的注射病毒血症没有发生,在腺病毒注入区室化肝实质之后评价周围器官中病毒的存在。猪肝(n=2)用带夹具装置区室化并注射 1.2×10^{10} pfu Ad.pALB-AFP剂量,如实施例3所述。作为负对照,猪(n=1)接受相同手术过程,包括夹紧叶30分钟,但注射PBS。

[0709] 30分钟后放开夹,猪如实施例3所述进行缝合并允许恢复。区室化肝转导后8天,处死猪,3个随机组织样品获自注射位点处的肝、注射位点远端的肝组织、心、肺、肾、肌肉、小肠、脾脏、膀胱、动脉组织和睾丸。所得组织样品于-80 $^{\circ}$ C保存直至处理。从组织样品中纯化DNA,如厂商所述使用Wizard基因组DNA纯化试剂盒(Promega)。

[0710] 如实施例3所述,通过扩增E4腺病毒5基因经定量PCR分析来自组织样品的纯化DNA中是否存在腺病毒DNA。结果示于表3。结果显示病毒基因组在腺病毒注射动物注射位点处的肝中存在,但对照动物中没有。结果进一步显示任何其他分析器官/组织中没有检测到病毒基因组。因此,结果显示带夹具装置实现肝区室化,且肝区室化转导避免病毒转导不需要的器官/组织。

[0711]

组织/器官		动物芯片		
		6E6F371	6E6DD9C	6E6DFA3 (PBS 对照)
肝-注射 位点	样品 1	(-)	126 ± 29	(-)
	样品 2	142.5 ± 3.1	(-)	(-)
	样品 3	329 ± 47	234 ± 32	(-)
肝-远端位点		(-)	(-)	(-)
心		(-)	(-)	(-)
肺		(-)	(-)	(-)
主动脉		(-)	(-)	(-)
肾		(-)	(-)	(-)
肌肉		(-)	(-)	(-)
睾丸		(-)	(-)	(-)
小肠		(-)	(-)	(-)
脾脏		(-)	(-)	(-)
膀胱		(-)	(-)	(-)

[0712] 实施例6. 用带夹具装置区室化和递送腺病毒载体后的肝组织损伤评价

[0713] 在用带夹具装置区室化肝和递送腺病毒载体后, 测定由组织学评价的组织损伤以及肝损伤生物标志物天冬氨酸转氨酶 (AST) 和丙氨酸转氨酶 (ALT) 的水平。

[0714] A. 方法

[0715] 为记录肝损伤程度, 猪左中叶用带夹具装置区室化并注射含 1.2×10^{10} pfu、 1.2×10^5 pfu 或 1.2×10^2 pfu Ad.pALB.AFP 的 500 μ L 剂量, 基本如实施例3所述 ($n=3$ /剂量)。负对照组的猪 ($n=2$) 接受相同手术过程, 包括用带夹具装置夹紧肝30分钟, 但注射PBS。30分钟后放开夹, 猪如实施例3所述进行缝合并允许恢复。在夹紧前以及夹紧和转导后24、48、72、96、120和144小时, 从动物中吸出外周血。区室化肝转导后8天, 处死接受 1.2×10^{10} pfu 的猪。

[0716] 1只接受 1.2×10^5 pfu Ad.pALB.AFP 的猪和1只PBS注射对照进行每月后续随访, 持续12个月, 测定肝损伤生物标志物天冬氨酸转氨酶 (AST) 和丙氨酸转氨酶 (ALT) 的血清水平。

[0717] 血液样品用血清分离管 (Becton Dickinson Corp., Franklin, NJ) 加工, 允许样品凝结30分钟, 然后以 1,000g 离心15分钟。移出血清, 等分、冷冻并送至墨西哥国立自治大学 (UNAM) 兽医学院以测定天冬氨酸转氨酶 (AST) 和丙氨酸转氨酶 (ALT) 的血液水平, 在 Hitachi 自动分析仪 (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN) 中使用商业试剂盒 (Sigma Chemicals, St. Louis, MO)。

[0718] B. 结果

[0719] 1. 肝损伤生物标志物

[0720] a. 丙氨酸转氨酶 (ALT)

[0721] 初始研究结果显示用带夹具装置区室化30分钟的对照动物中的平均ALT水平范围是约55-80U/L, 平均略高于21-46U/L的正常ALT水平范围。在注射腺病毒的动物中, 腺病毒

肝转导相较对照动物中所观察到的在任何测试剂量不显著增加ALT水平。

[0722] 表4列出12个月随访的ALT水平测定结果,1只猪接受 1.2×10^5 pfu Ad.pALB.AFP肝转导和1只是PBS注射对照。如表4所示,对于前6天,Ad.pALB.AFP注射猪的ALT水平范围是约60-80U/L。在接受用带夹具装置区室化方法的PBS注射对照猪中,值的范围是约55-60U/L。这些结果表明2个组中的ALT水平略高于21-46U/L正常范围。对于Ad.pALB.AFP注射和对照猪,ALT水平一般在约5个月(150天)内逐步降低到落入正常范围(21-46U/L)。

[0723]

注射后天数	6E6DFA3 (注射 PBS 的对照猪)的 ALT 水平(U/L)	6E6DBFA (Ad.pALB.AFP 注射猪) 的 ALT 水平(U/L)
0	33	53
1	55	62
2	53	64
3	50	80
4	59	75
5	60	75
6	60	73
30	50	57
60	52	51
90	48	47

[0724]

注射后天数	6E6DFA3 (注射 PBS 的对照猪)的 ALT 水平(U/L)	6E6DBFA (Ad.pALB.AFP 注射猪) 的 ALT 水平(U/L)
120	49	49
150	37	46
180	29	48
210	46	46
240	31	43
270	22	37
300	22	25
330	35	30
365	25	24

[0725] b. 天冬氨酸转氨酶 (AST)

[0726] 初始研究结果显示用带夹具装置区室化30分钟的对照动物中的平均测量AST水平是约60U/L (1只动物中80U/L-100U/L),AST水平略微增加高于15-55U/L正常水平。在注射腺病毒的动物中,腺病毒肝转导相较对照动物中所观察到的在任何测试剂量不显著增加AST水平。

[0727] 表5列出12个月随访的AST水平测定结果,1只猪接受 1.2×10^5 pfu Ad.pALB.AFP肝转导和1只是PBS注射对照。如表5所示,对于前6天,Ad.pALB.AFP注射猪的AST水平范围是约60-100U/L。在PBS注射猪中,值的范围是约30-60U/L。这些结果表明Ad.pALB.AFP注射猪中

的AST水平略高于15-55U/L正常范围。在后续随访中,AST水平在1个月(30天)内落入正常范围(15-55U/L),2个组的水平在多至12个月时间点保持于正常范围内。

[0728]

注射后天数	6E6DFA3 (注射 PBS 的对照猪)的 AST 水平(U/L)	6E6DBFA (Ad.pALB.AFP 注射猪) 的 AST 水平(U/L)
0	33	60
1	55	58
2	53	80
3	50	97
4	59	64
5	60	62
6	60	57
30	50	30
60	32	35
90	35	33

[0729]

注射后天数	6E6DFA3 (注射 PBS 的对照猪)的 AST 水平(U/L)	6E6DBFA (Ad.pALB.AFP 注射猪) 的 AST 水平(U/L)
120	33	35
150	55	24
180	27	52
210	33	52
240	55	41
270	22	40
300	22	32
330	30	35
365	32	38

[0730] c. 结论

[0731] 结果证明短期中(如用带夹具装置区室化和腺病毒转导后1-6天),ALT和AST水平略高于腺病毒注射组的正常范围。然而,负对照组中也观察到轻微增加,表明手术过程可能是轻微增加的原因。

[0732] 腺病毒注射组的ALT和AST水平未显著增高。长期内(多至12个月),腺病毒注射和对照组的ALT和AST水平都恢复到正常范围。这些结果显示区室化腺病毒转导肝不激发免疫活化事件或损害肝组织伴有肝损伤标志物同步增加的其它反应。

[0733] 2. 组织学

[0734] 区室化肝转导后8天,收获处死猪的肝并处理左内叶。组织固定于4%多聚甲醛并包埋于Tissue Path培养基(宾夕法尼亚州匹兹堡的飞世尔科技(Fisher Scientific))。制备4微米(4 μ m)厚的组织切片并装于组织载玻片上,用苏木精和伊红复染,以60X和190X放大倍数在光学显微镜下观察。这些结果证明区室化腺病毒肝转导不产生多形核白细胞浸润形

式的肝组织损伤。这进一步证明区室化腺病毒肝转导不激发免疫活化事件或损害肝组织的其它反应。

[0735] 实施例7. 构建注射器注射装置

[0736] 构建如图9A所示和如详细说明所述的注射器注射装置类型。所述装置包括柱塞92和注射器筒91、针头护套控制器71、针头护套72、注射管83和注射针81。为允许腹腔镜进入一部分肝,针头护套72的直径是5mm,针头护套72的长度是300mm(参见例如图9A)。

[0737] 所述装置构建成针头护套72内的针头护套腔723在覆盖的位置时容纳注射管83和注射针81(参见例如图9A)。注射针是10mm长度的标准27号,直接连接27号注射管83。注射管83和注射针81由不锈钢制成。注射管83在针头护套控制器71内近端固定于针座84和针头护套控制器71(参见例如图9A)。通过针锁按钮711向前滑动,注射针81可覆盖的并锁定。标准1cc胰岛素注射器填充有0.7mL溶液并净化,所述注射器包含注射器筒91和柱塞92,但没有针。注射器附于针头护套控制器71外的针座84近端,使用鲁尔接头93(参见图9A)。

[0738] 实施例8. 腹腔镜模拟器中的肝区室化转导

[0739] 实施例1所述带夹具装置10和实施例7所述腹腔镜注射装置60由熟练的外科医生/医师用于腹腔镜模拟器以实现一部分肝左中叶的区室化从而递送注射溶液。腹腔镜模拟器(墨西哥Lapa-Pro)放置成 35° - 45° 倾角以模拟受试者的半福勒位。半福勒位有利于到达人肝左叶远端部分,使用重力远侧运动腹部器官。关于受试者,模拟器入口如下放置:1个入口在上腹部;1个入口在脐腹区;2个入口在左腰腹区。

[0740] 将新鲜获得的死猪肝置于腹腔镜模拟器内。腹腔镜经脐部入口插入。如实施例1所述带夹具装置10的护套组件30和夹具部分40经上腹部入口插入。如实施例1所述,对于插入腹腔镜通道套管,所述装置定位于球囊缩小43a,第一带张紧轮21转向手柄端(即逆时针),从而弹性带平置42a在缩小球囊43a上,第一带张紧/松开开关23位置向上(23b)以防止第一带张紧轮21顺时针运动从而放松或松开弹性带42。抓紧器经远端左腰入口插入。

[0741] 带张紧/松开开关23置于下位23a,第一带张紧轮21转向夹具装置端(即顺时针)从而放松弹性带产生3-4cm高度的松弛环42b以适合肝(参见例如图6B)。定位死猪肝左中叶远端部分。用抓紧器将至少5cm的肝501左中叶仔细操作到带夹具装置的放松环42b,从而部分肝平置在夹具部分40的细长型表面构件41上(参见例如图6C)。转动护套调节器31以推进护套32从而减小夹具部分40尺寸,用于适合所夹紧肝部分的解剖结构和尺寸(参见例如图6D)。第一带张紧轮21转向手柄端(即逆时针)以减小松弛环42b尺寸从而产生贴合肝解剖结构的张紧环42c,用于模拟循环切断或区室化肝部分(参见例如图6E)。球囊43通过啮合连接球囊膨胀线25的注射器来填充空气,产生膨胀球囊43b,其符合夹具部分40所握肝501下部解剖结构(参见例如图6F)。

[0742] 标准1cc胰岛素注射器填充有0.7mL自来水溶液并净化。含注射器筒91和柱塞92的填充注射器在针头护套控制器71近端附于针座84。针头护套控制器71上的针锁按钮711向后滑动以解开针锁按钮711并使针除套。整个注射器注射装置如下净化:下压柱塞直至针尖观察到液体(约200 μ L)。针头护套控制器71上的针锁按钮711随后向前滑动以锁定处于前方位置711a的针锁按钮711并覆盖注射针81。针覆盖的的注射器注射装置经近端左腰入口引入模拟器。使用腹腔镜监控器,注射装置顶部置于注射位点附近。腹腔镜注射装置上的注射针81如下除套:针锁按钮711向后滑动并锁定处于后方位置711c的按钮。将注射针81顶部

引入实质组织可确保其不穿过组织。一旦注射针81顶部仔细定位于实质内,下压柱塞92,直至注射500 μ L液体。

[0743] 针头护套控制器71上的针锁按钮711向前滑动以锁定处于前方位置711a的针锁按钮711并覆盖注射针81。从模拟器中取出腹腔镜注射装置60。为从肝中放开夹,通过从连接球囊线25的注射器取出空气来使球囊43缩小,带张紧/松开开关移到下位23a以允许松开张紧的弹性环42c,第一带张紧轮21顺时针运动从而松开松弛位置42b的弹性带。一旦放开,过程结束。从夹具部分40移出肝501。从模拟器移出带夹具装置10。

[0744] 由于改良对本领域技术人员显而易见,本发明仅受所附权利要求范围限制。

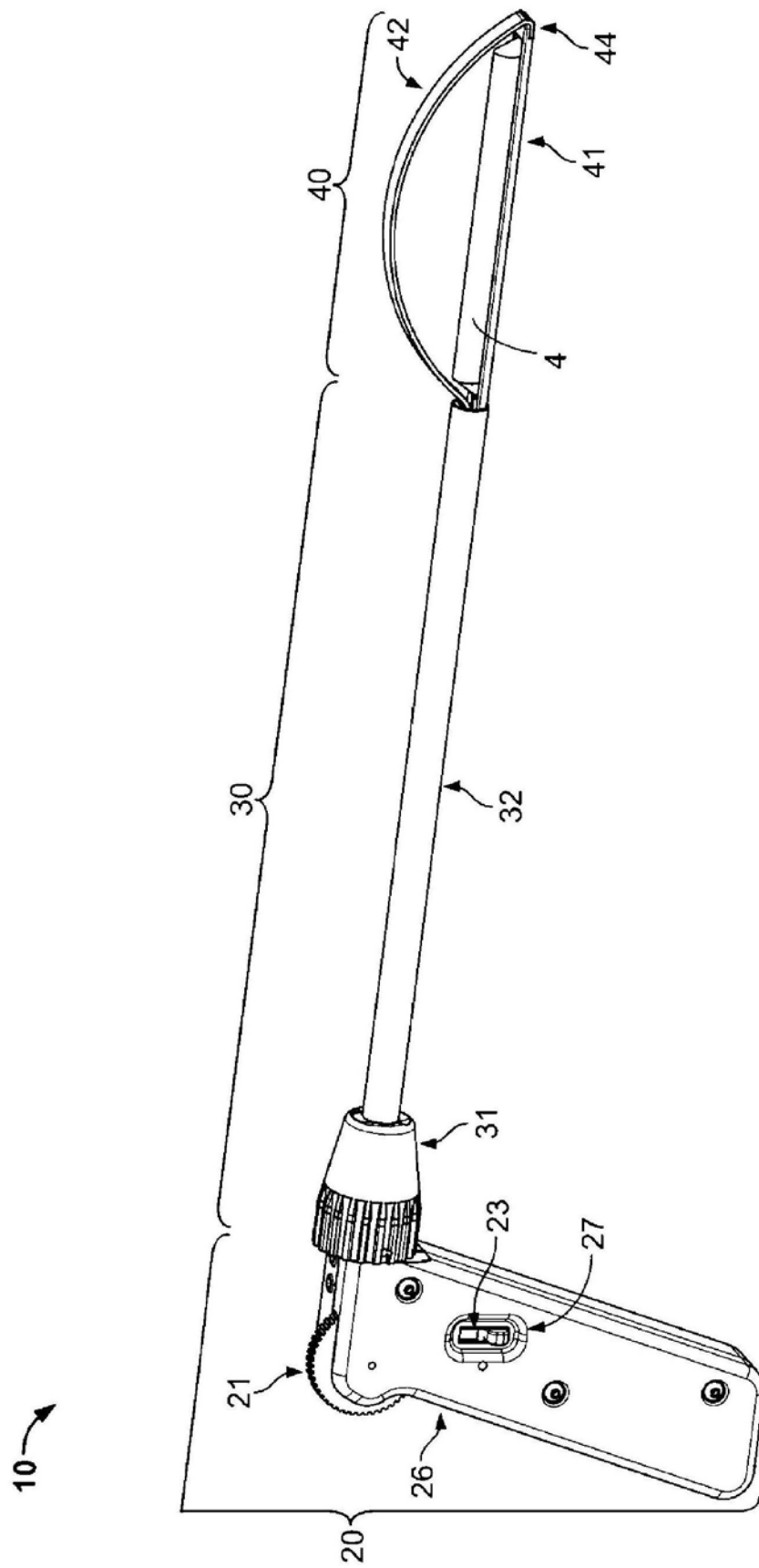


图1A

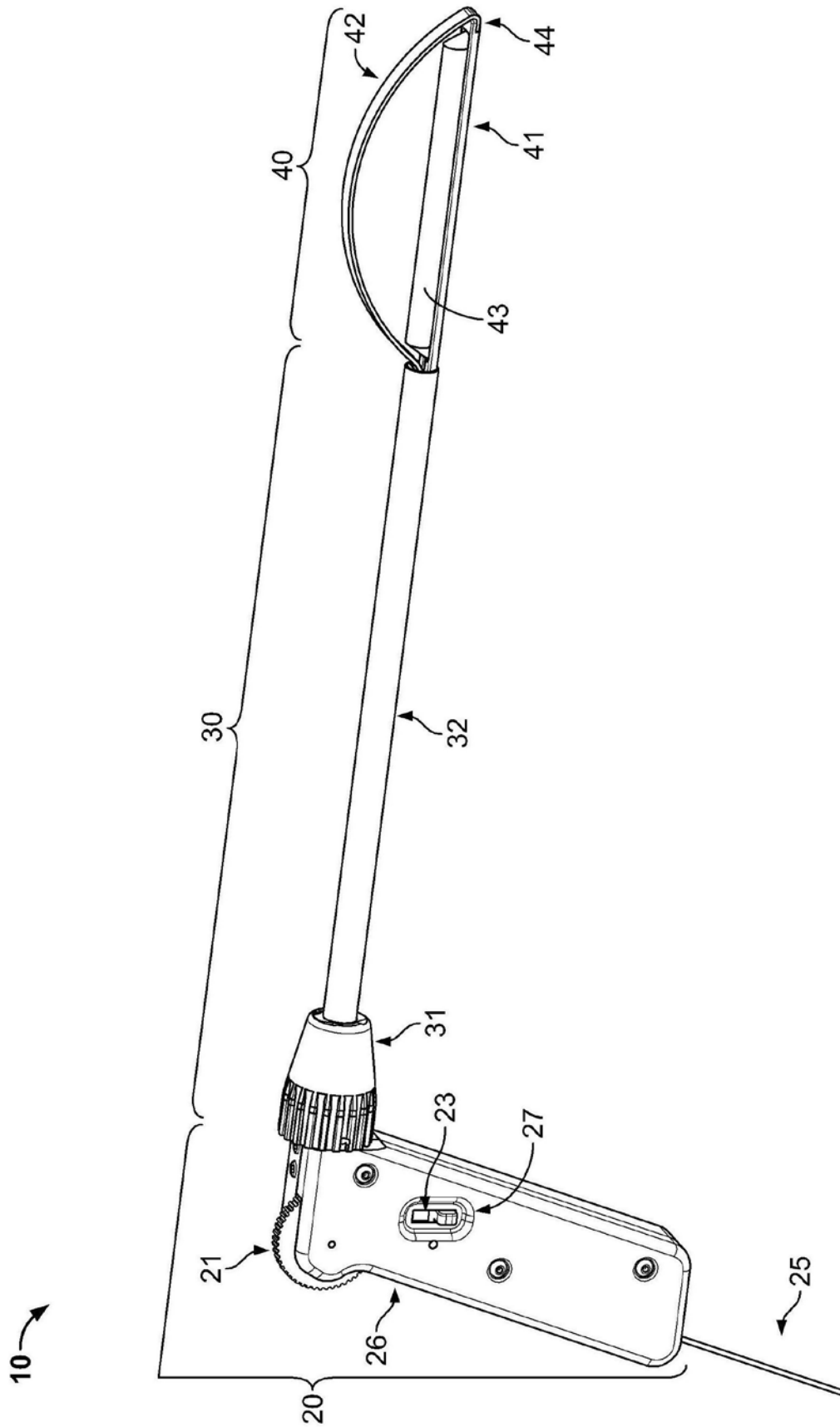


图1B

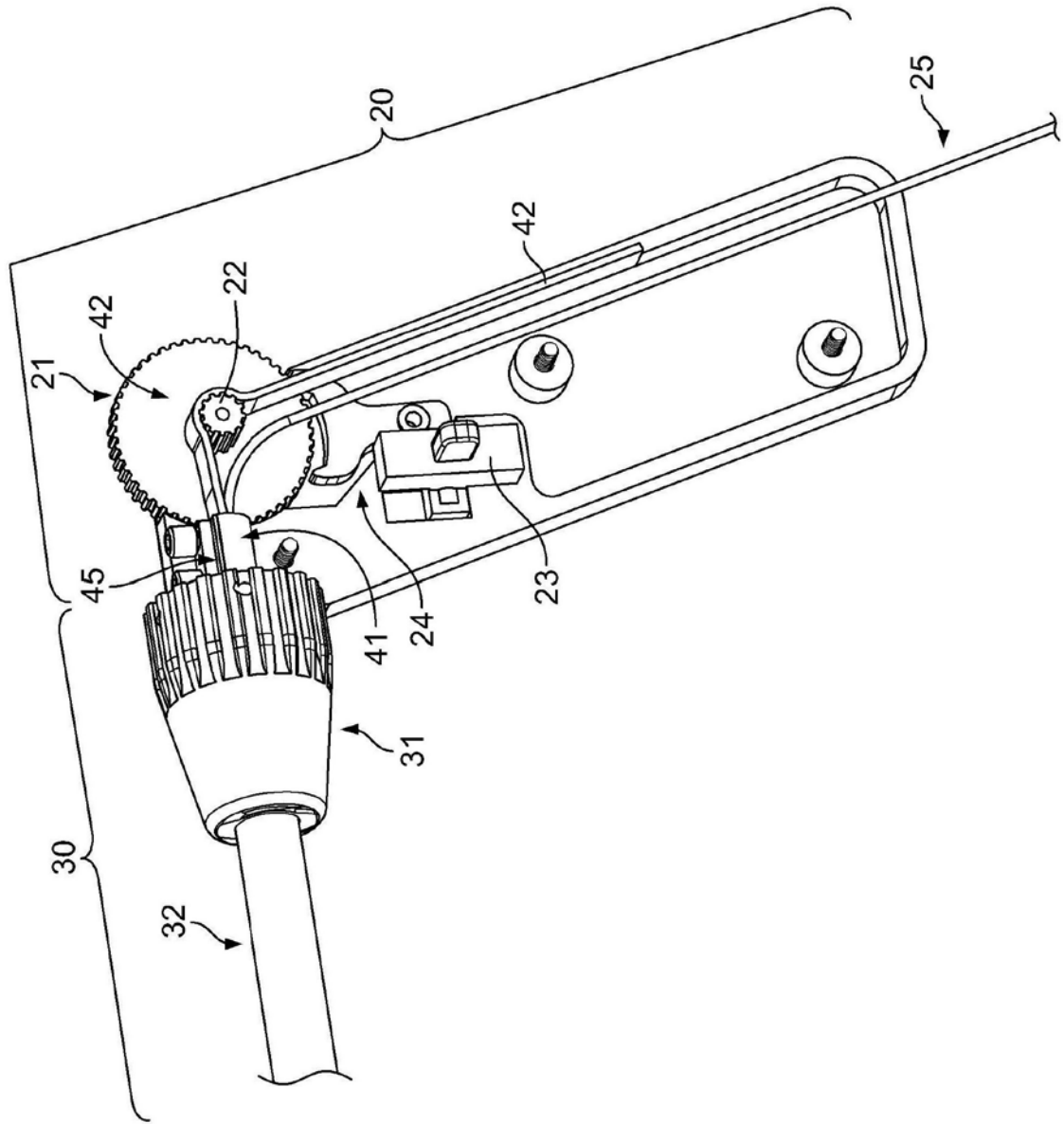


图2

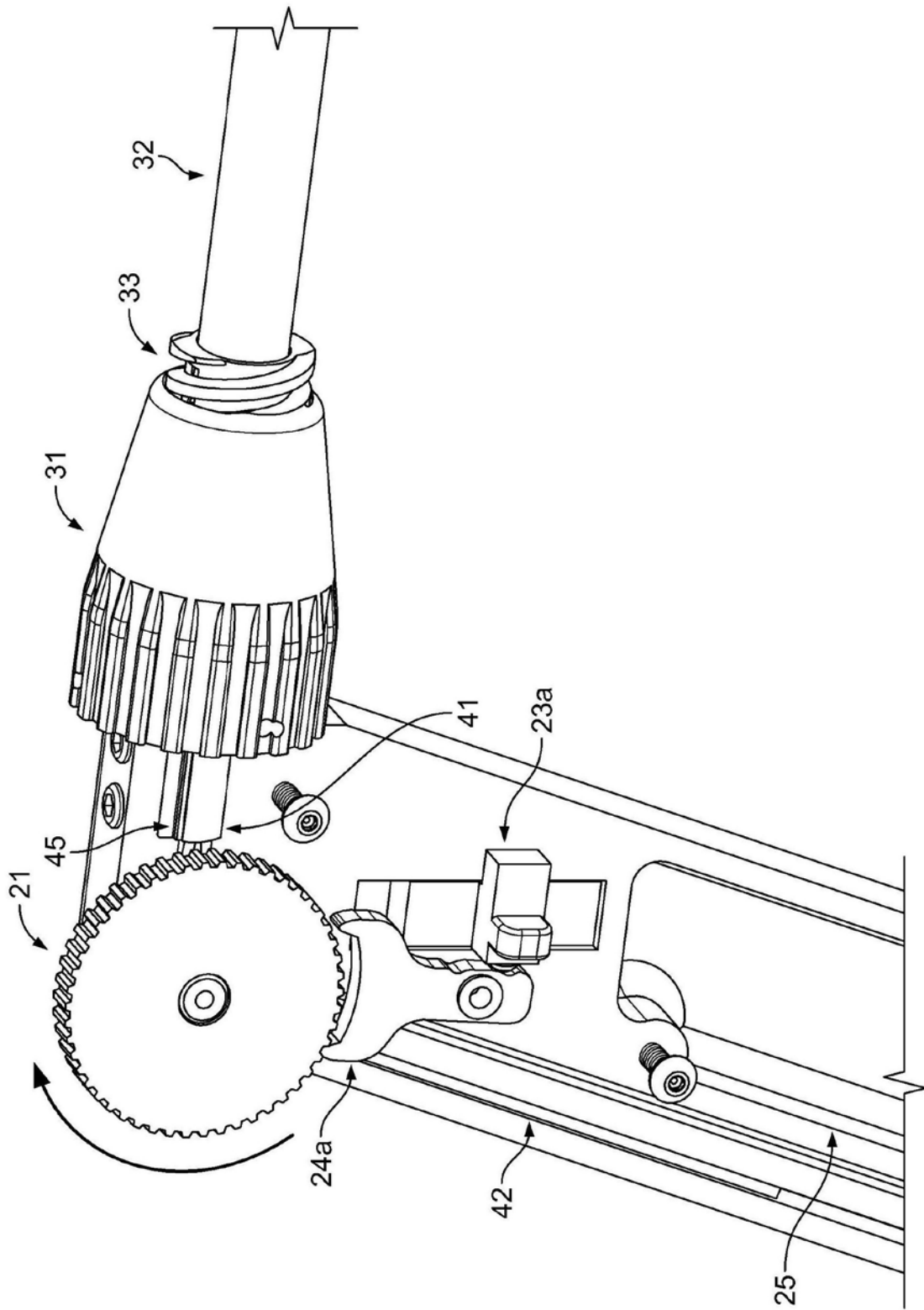


图3A

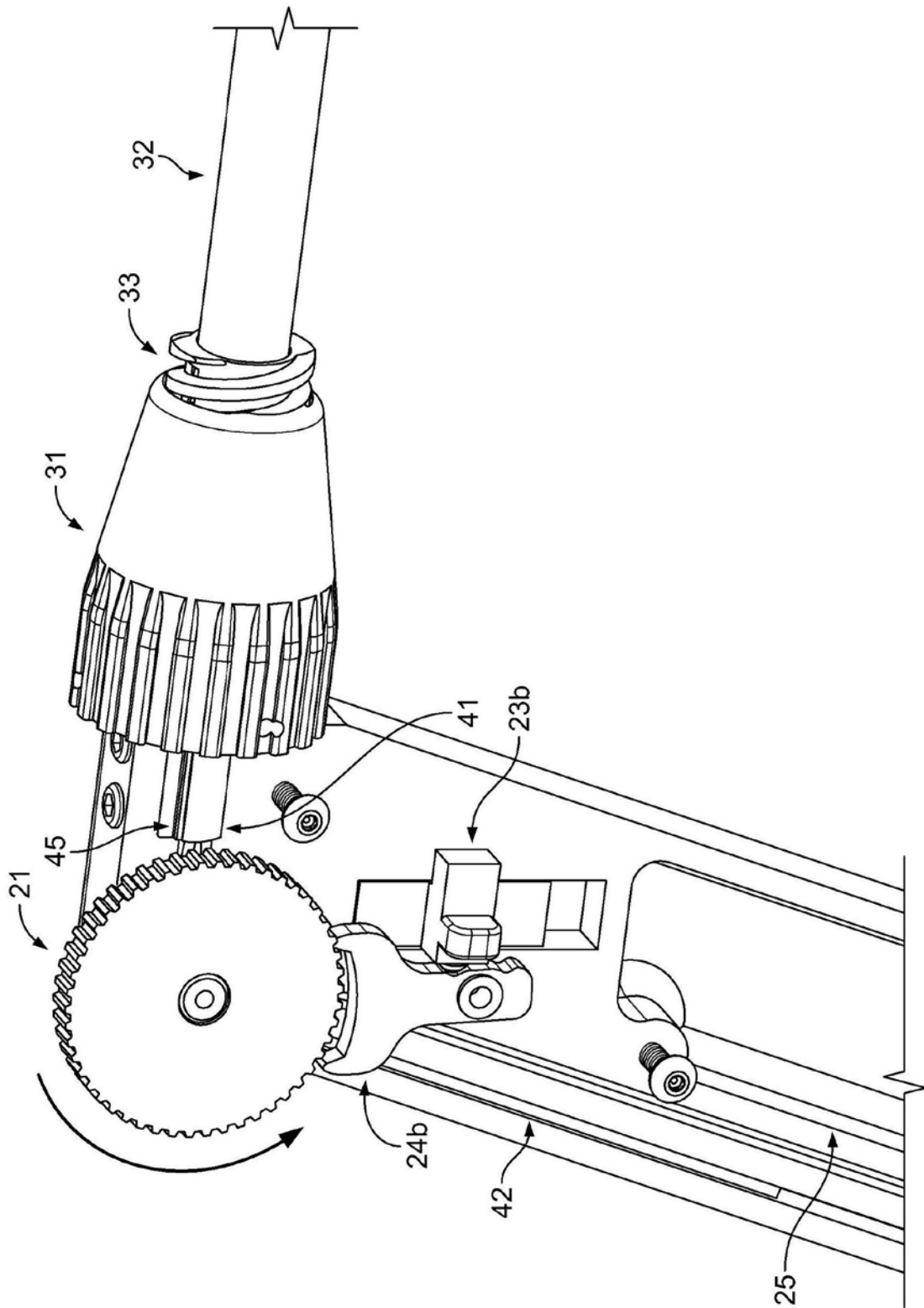


图3B

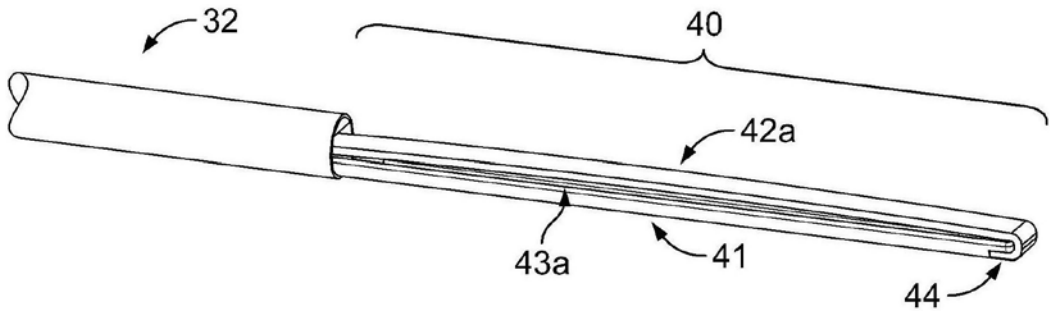


图4A

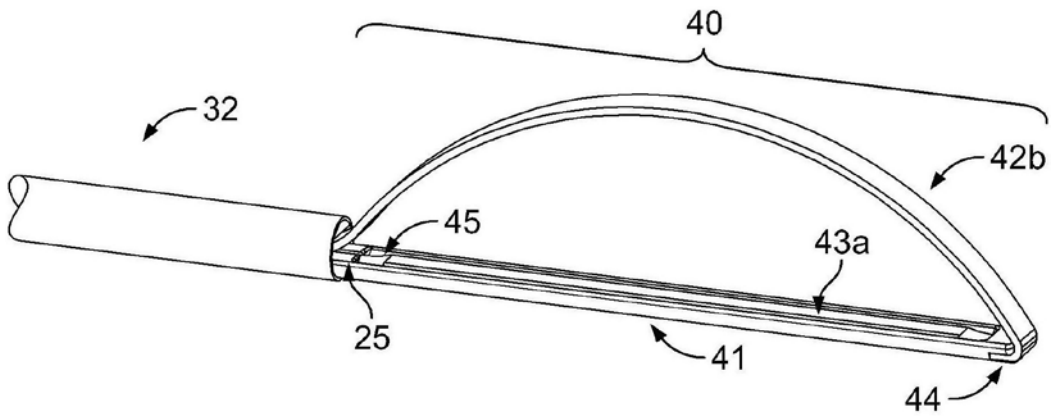


图4B

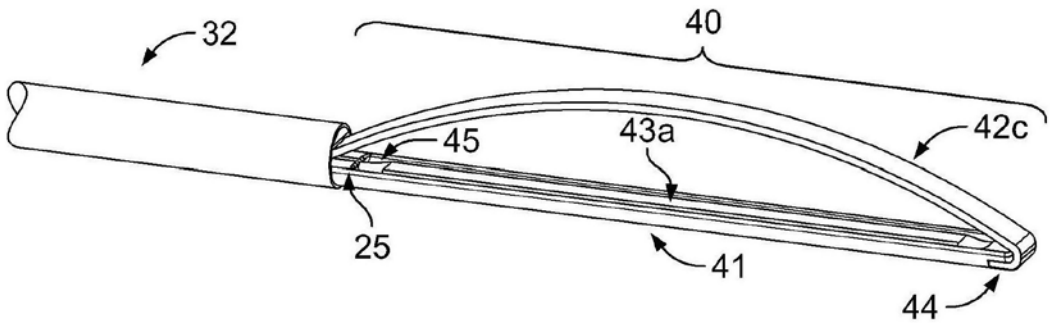


图4C

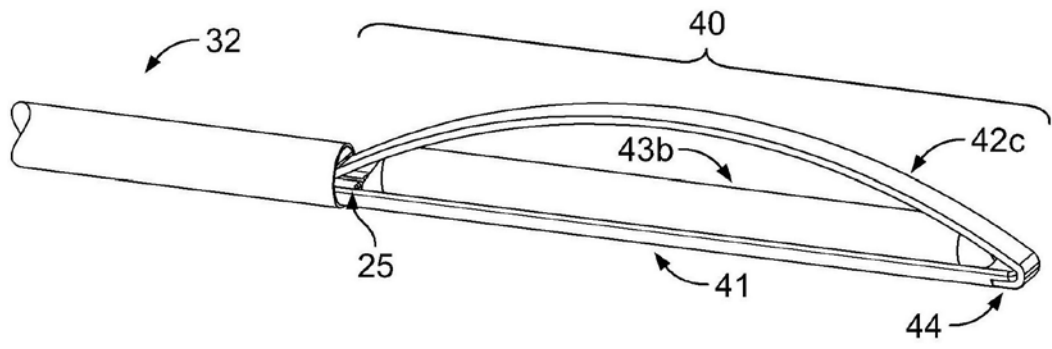


图4D

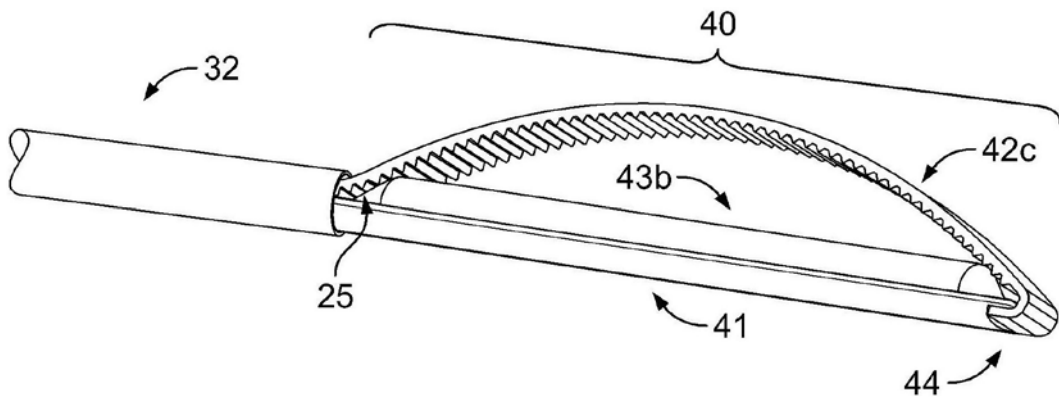


图4E

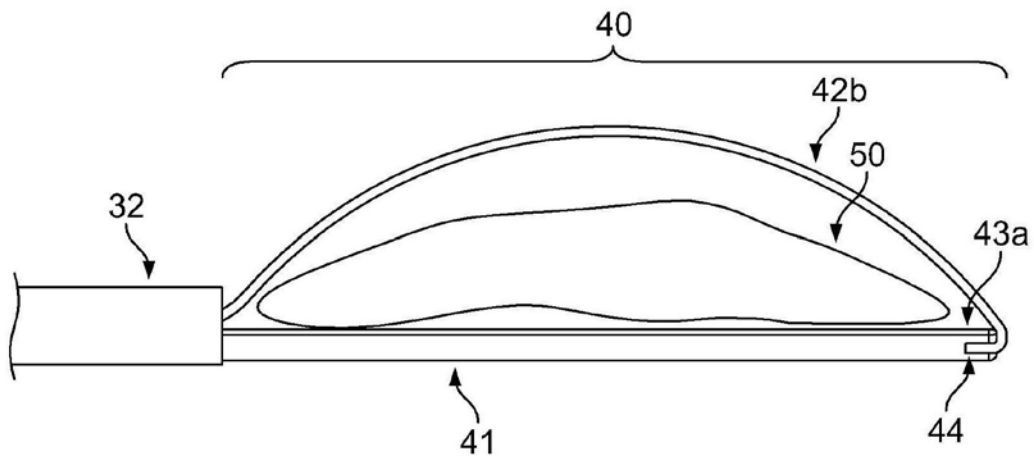


图5A

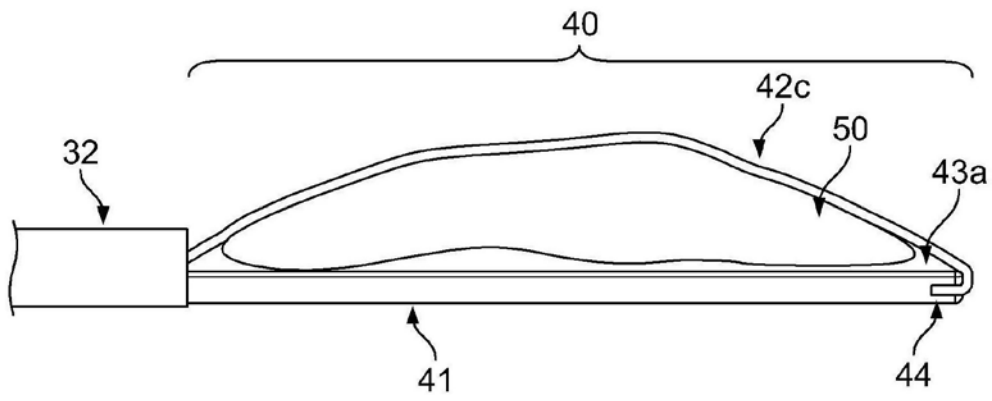


图5B

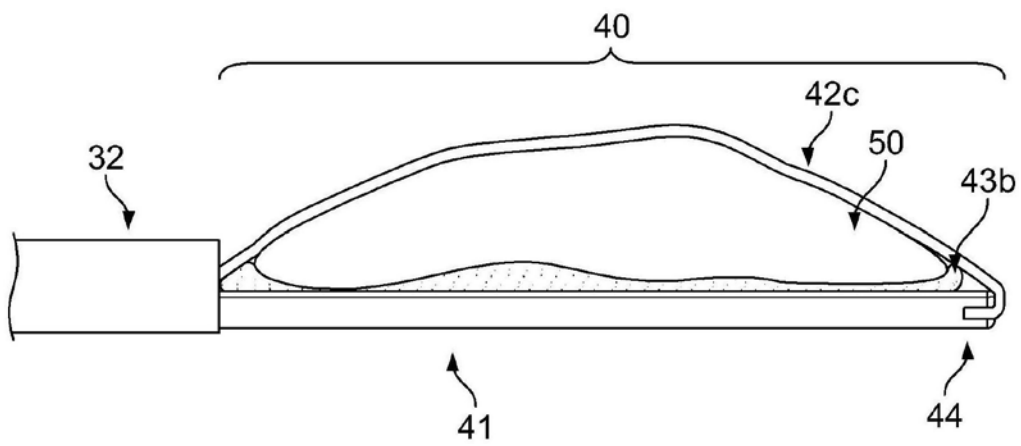


图5C

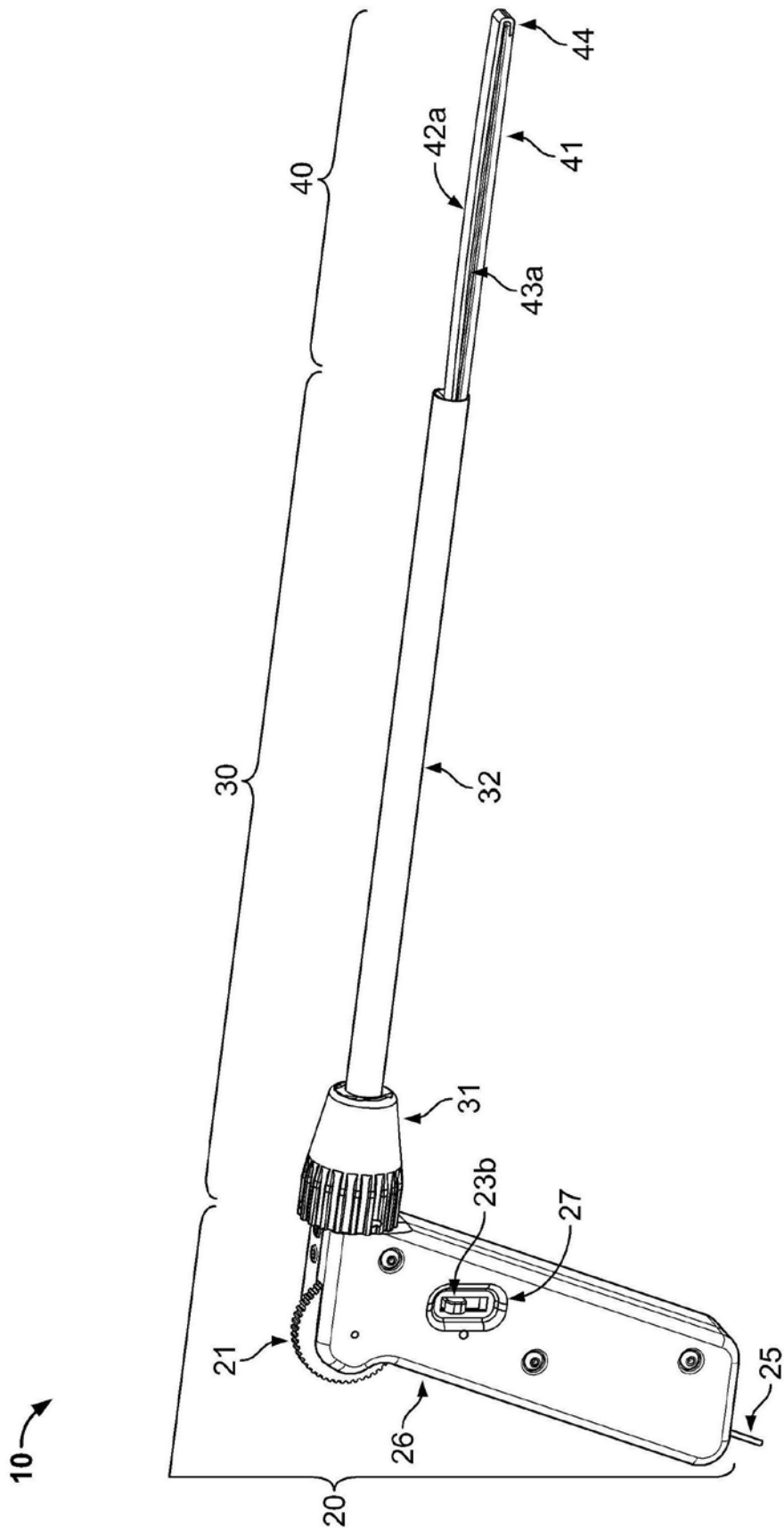


图6A

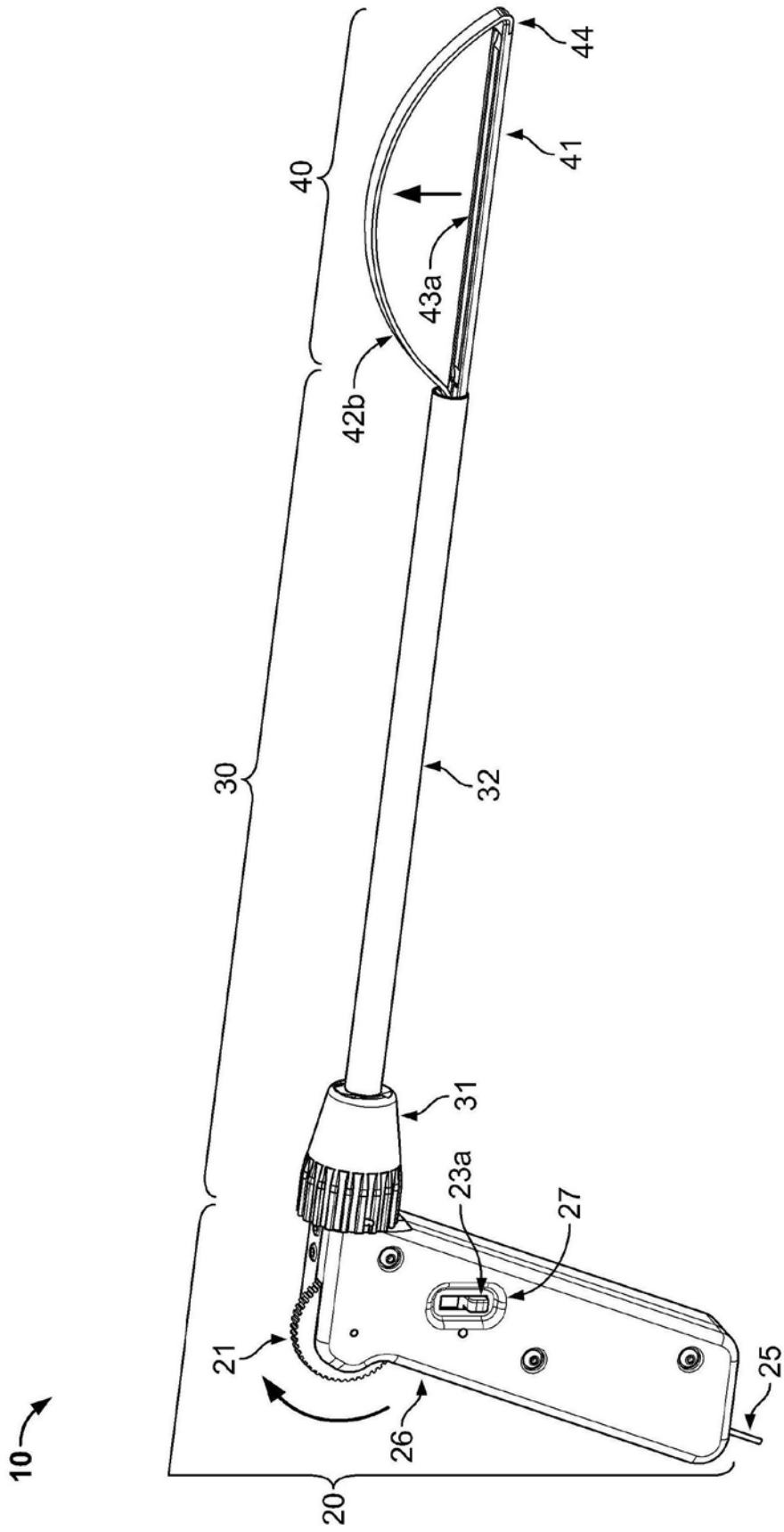


图6B

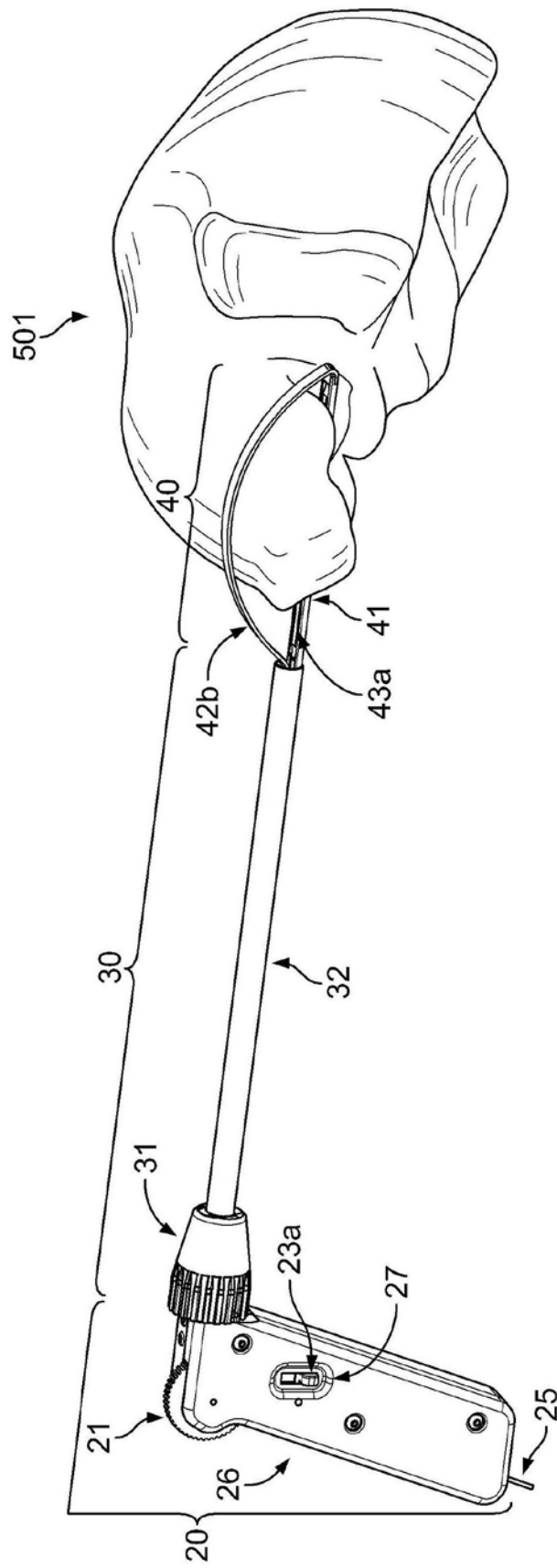


图6C

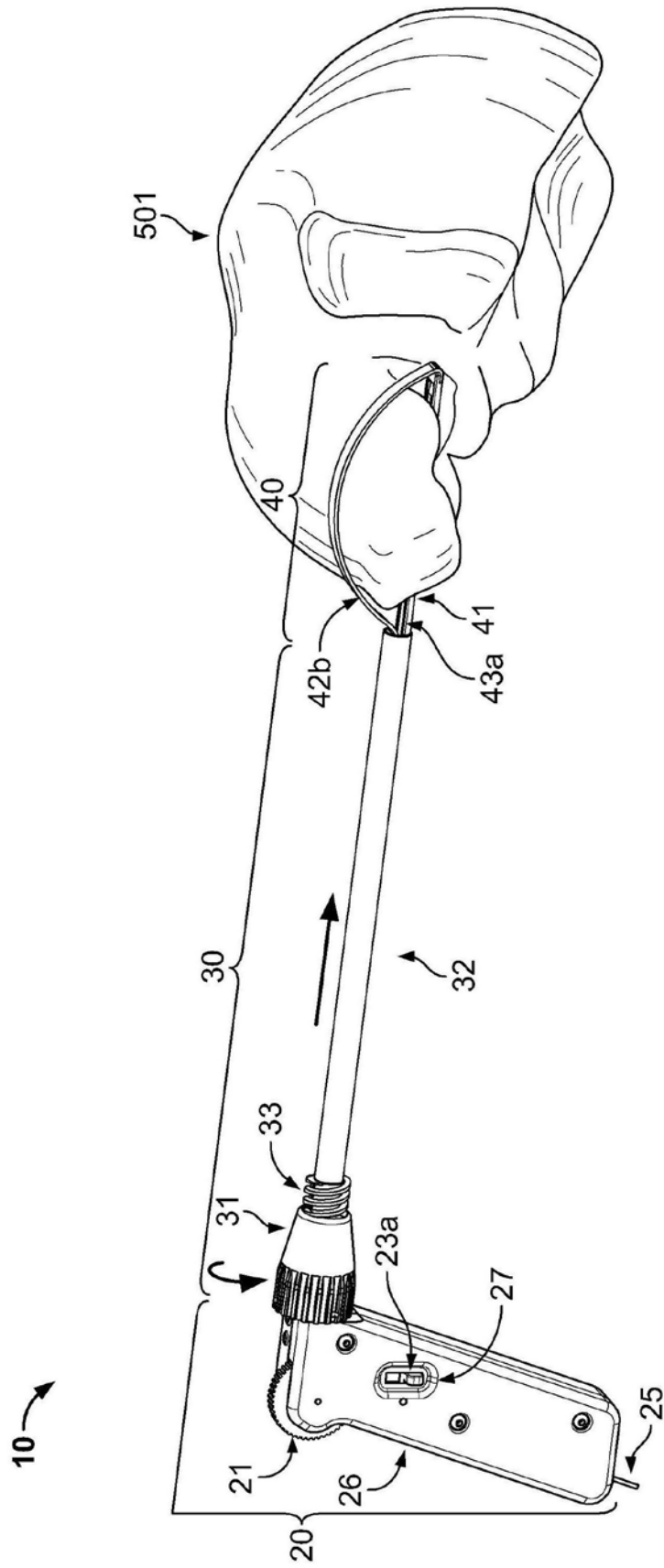


图6D

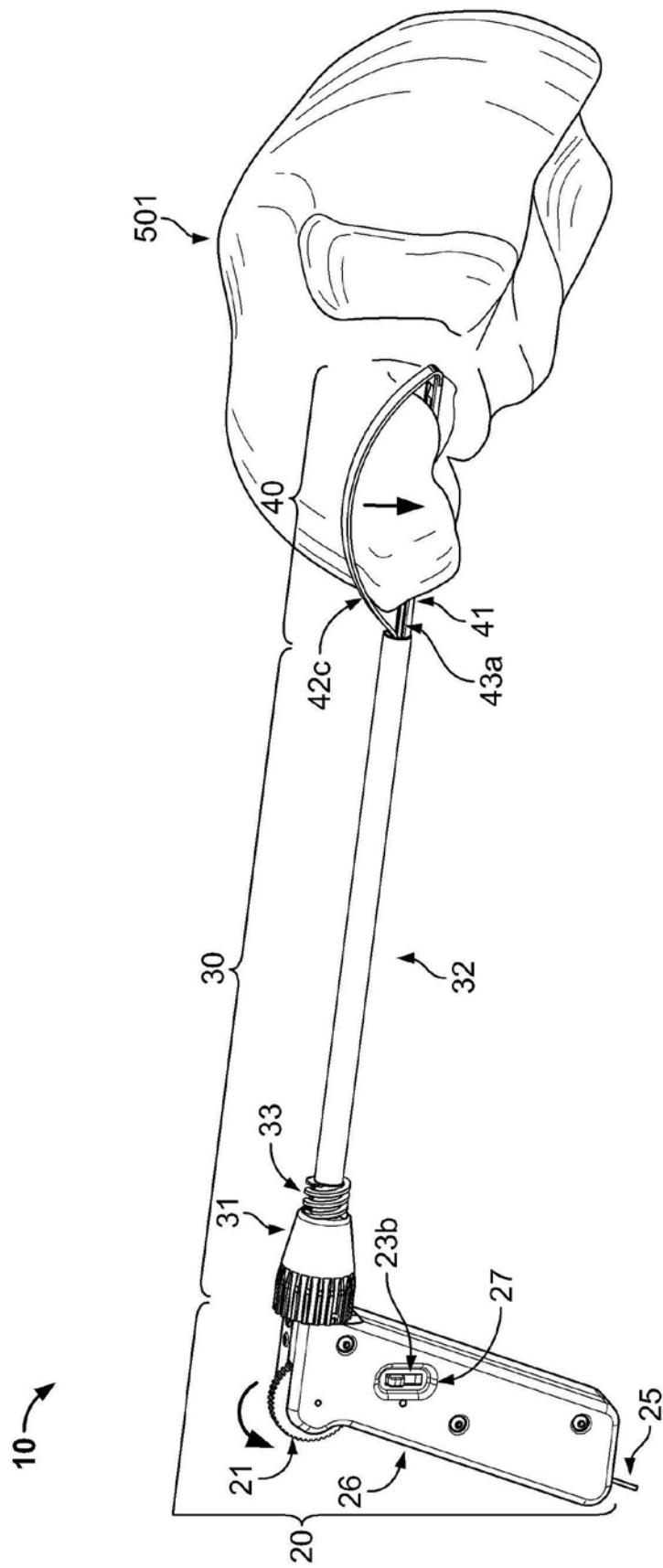


图6E

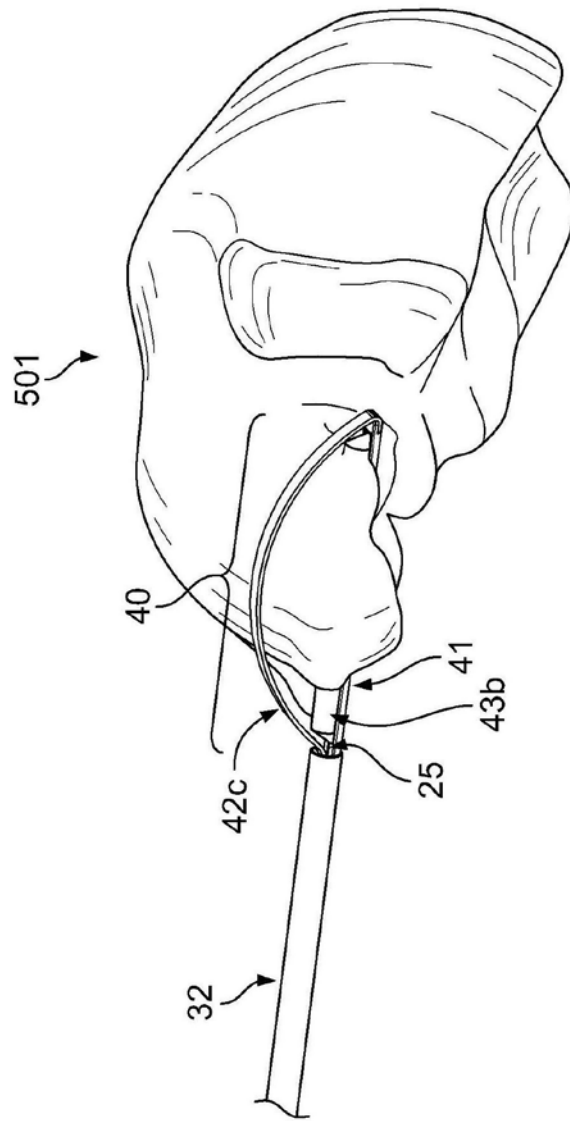


图6F

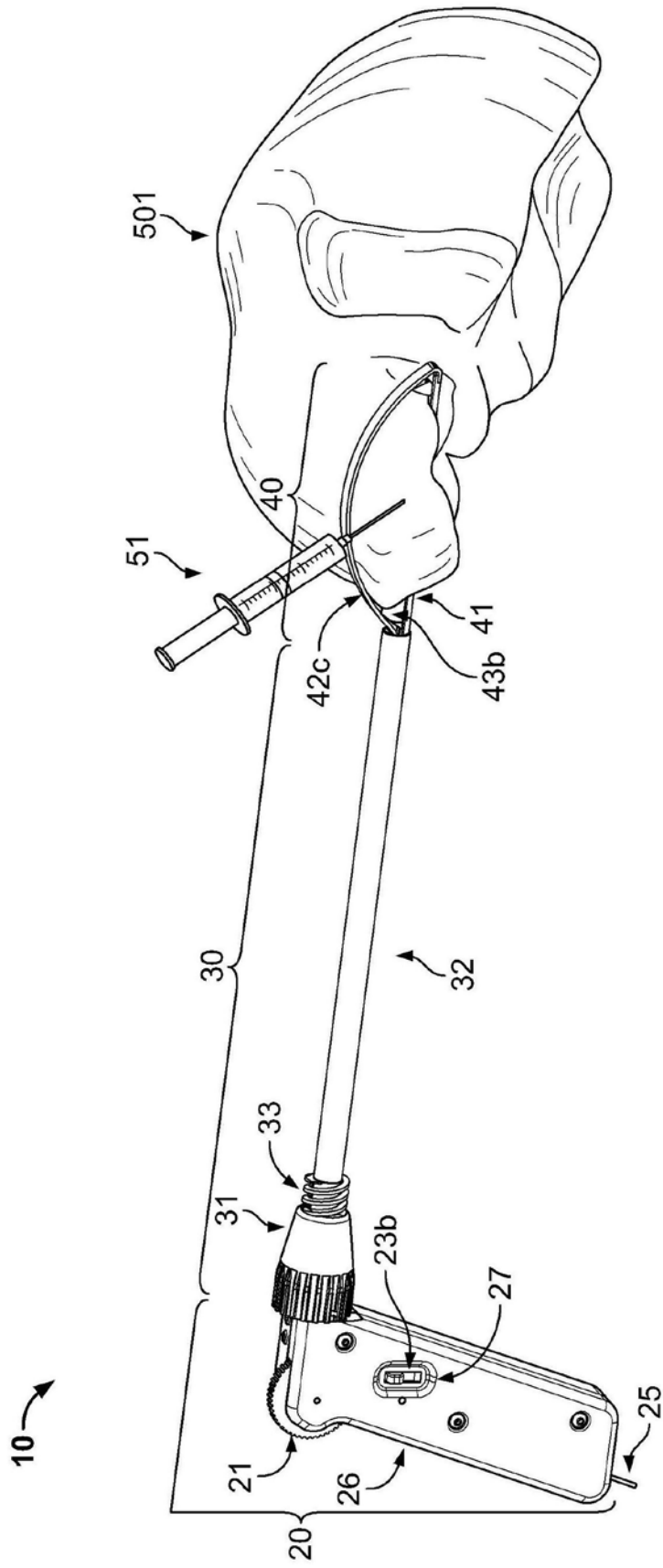


图7

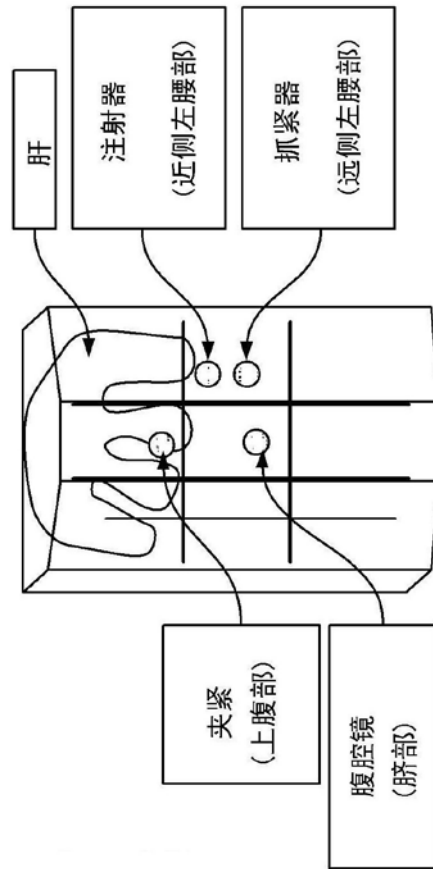


图8A

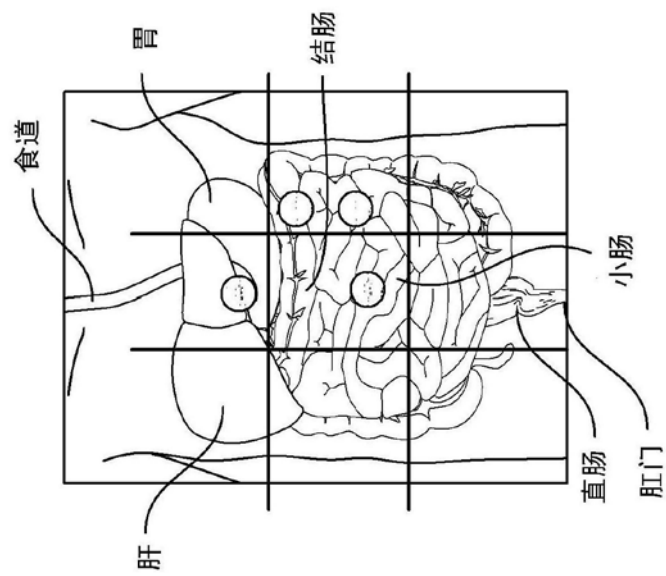


图8B

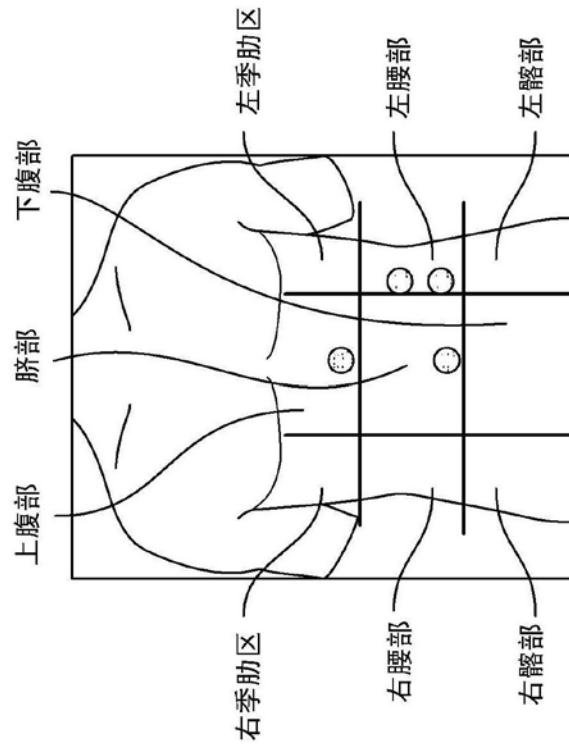


图8C

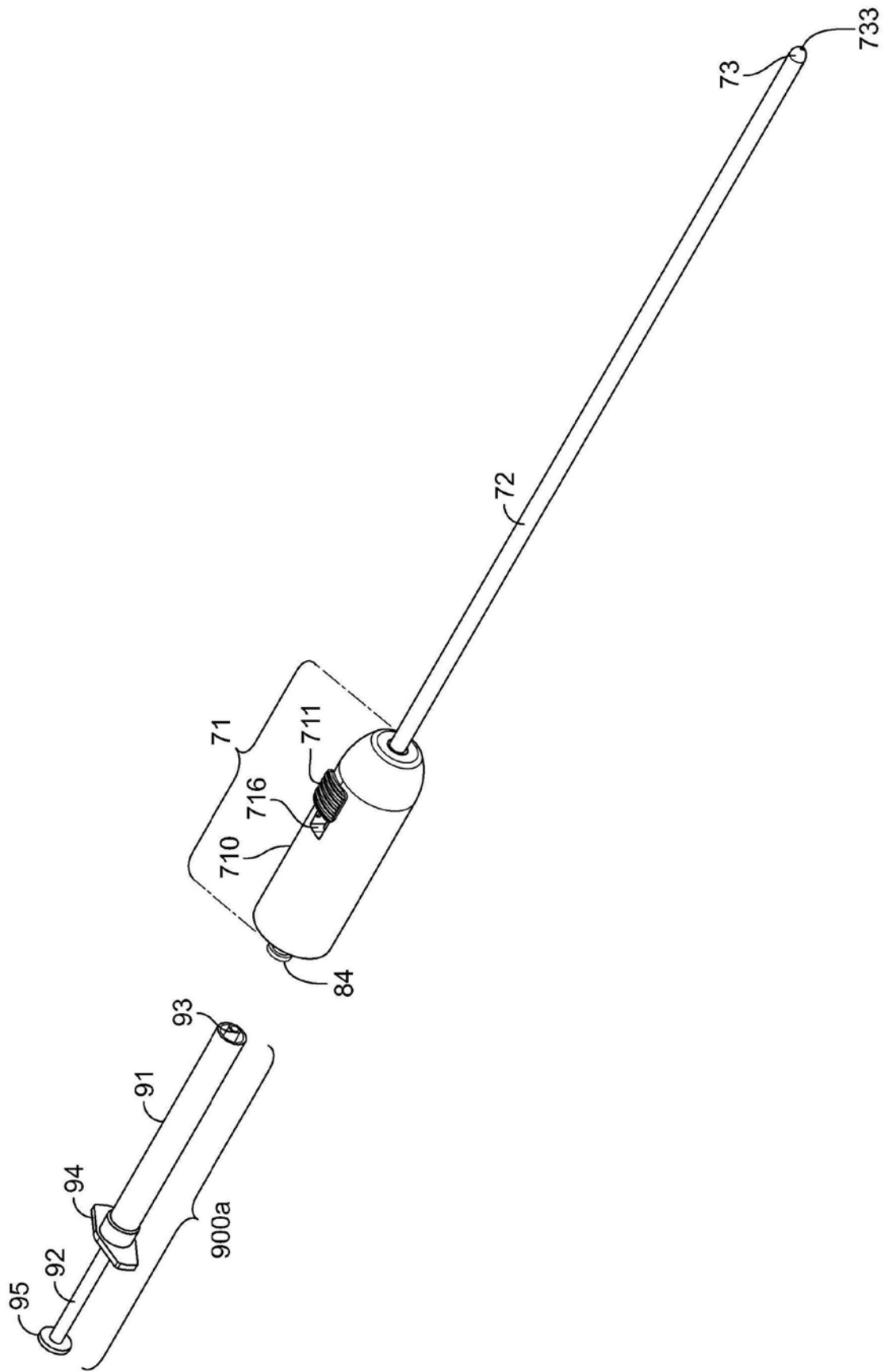


图9A

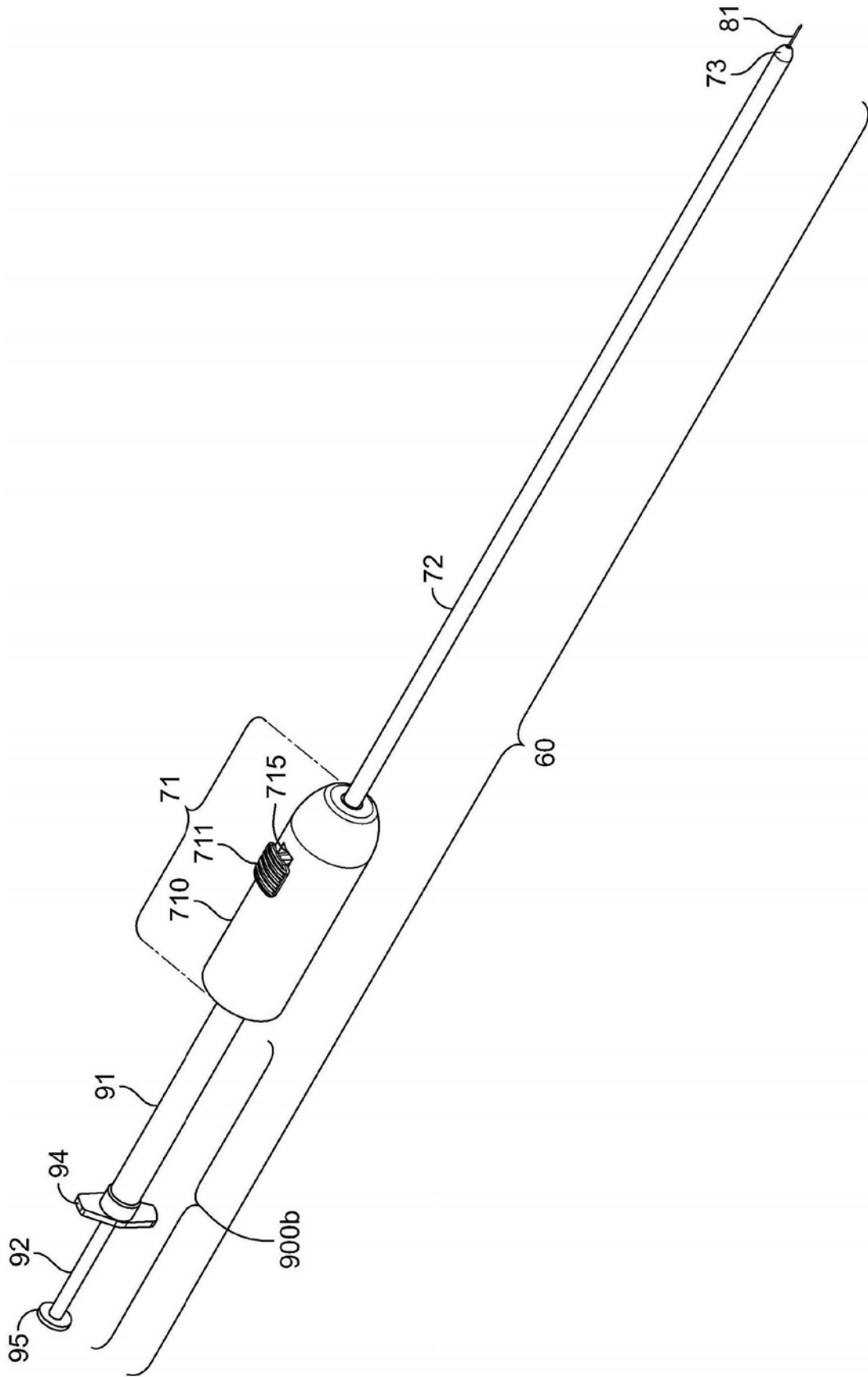


图9B

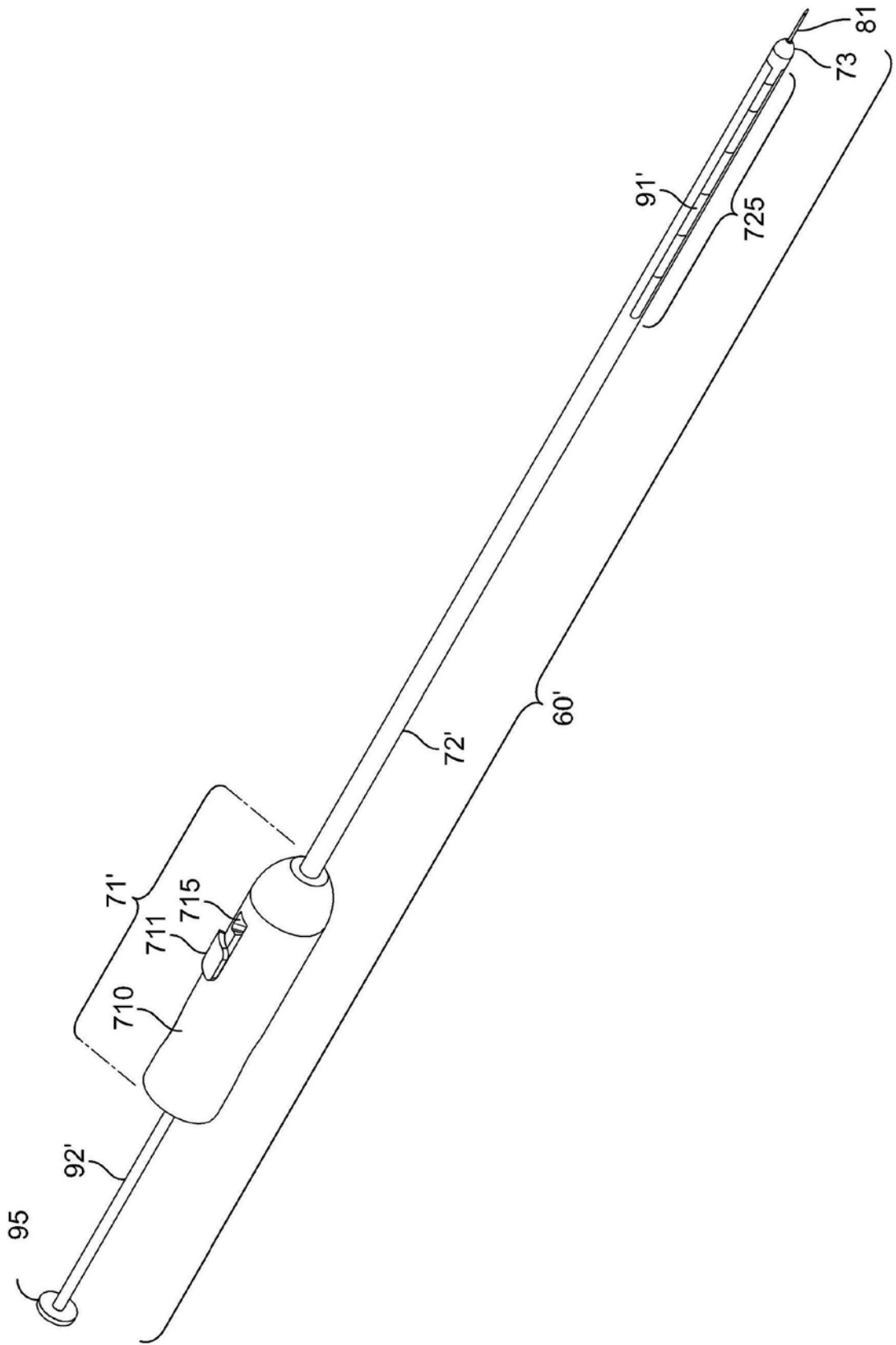


图10

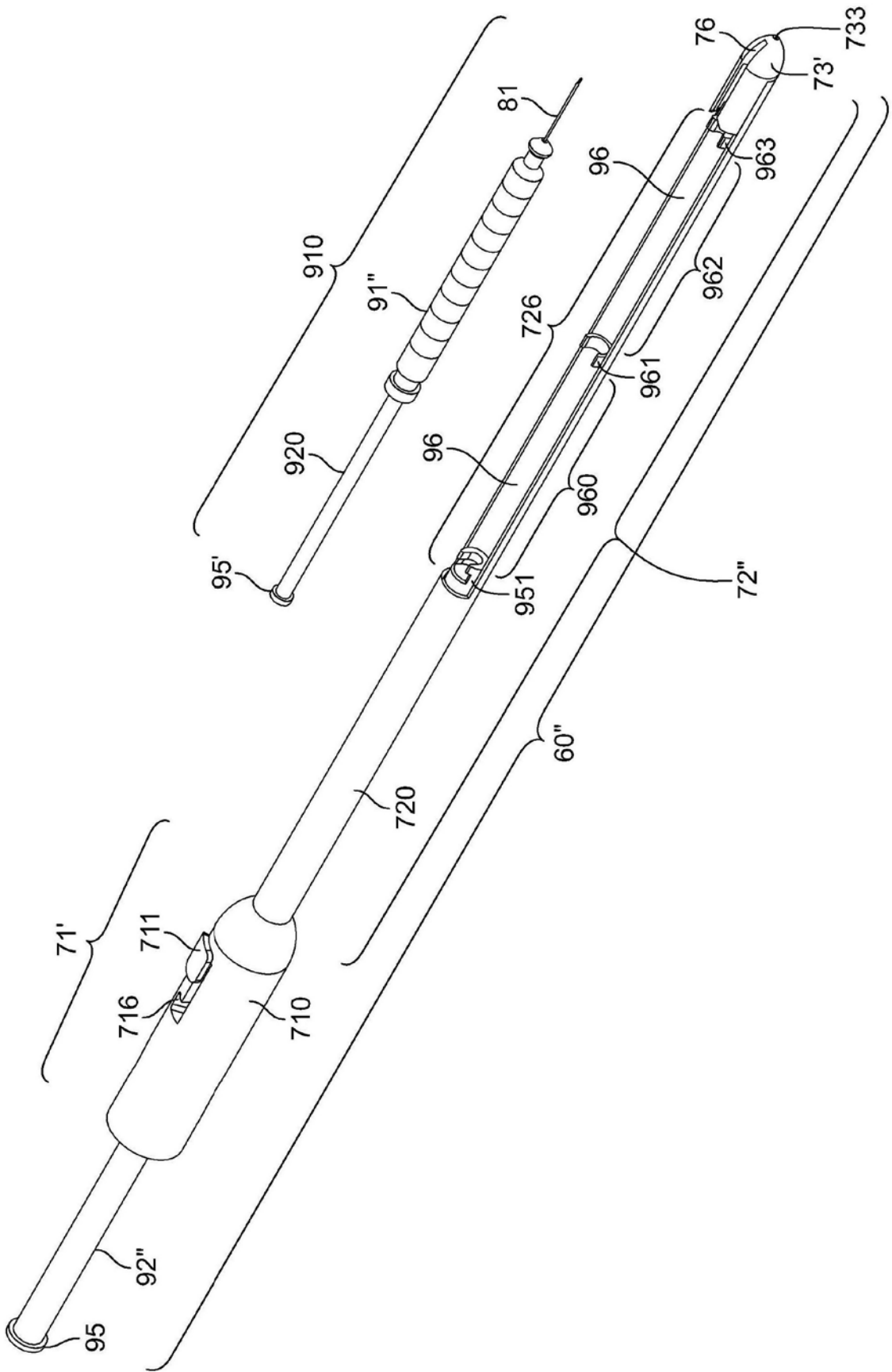


图11

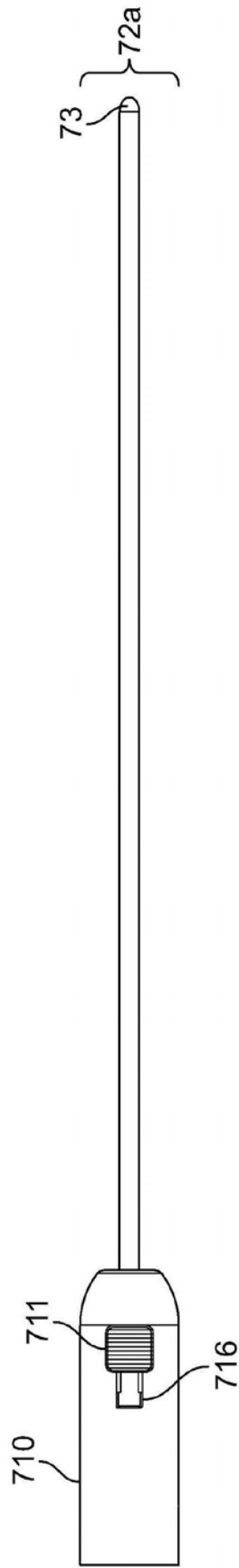


图12A

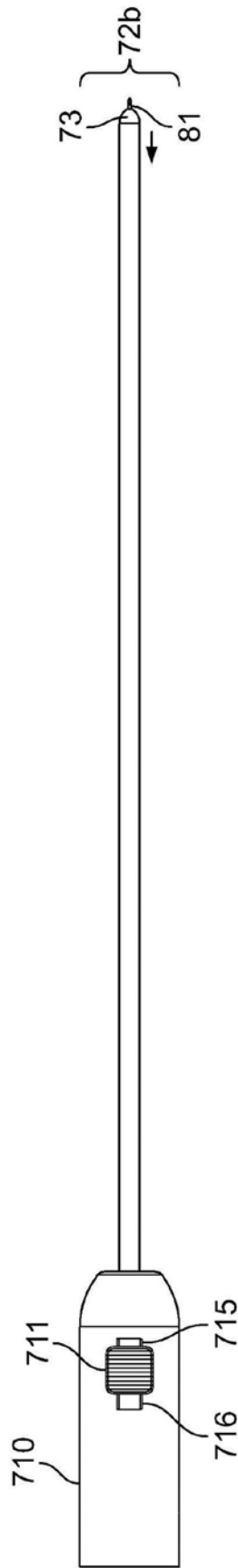


图12B

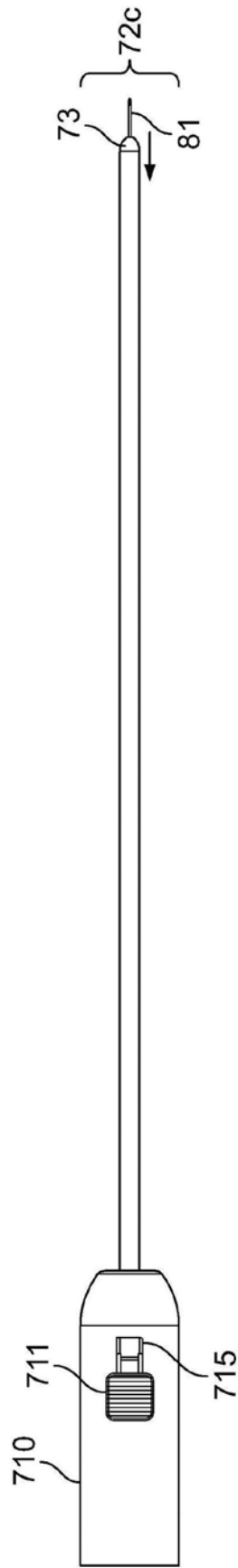


图12C

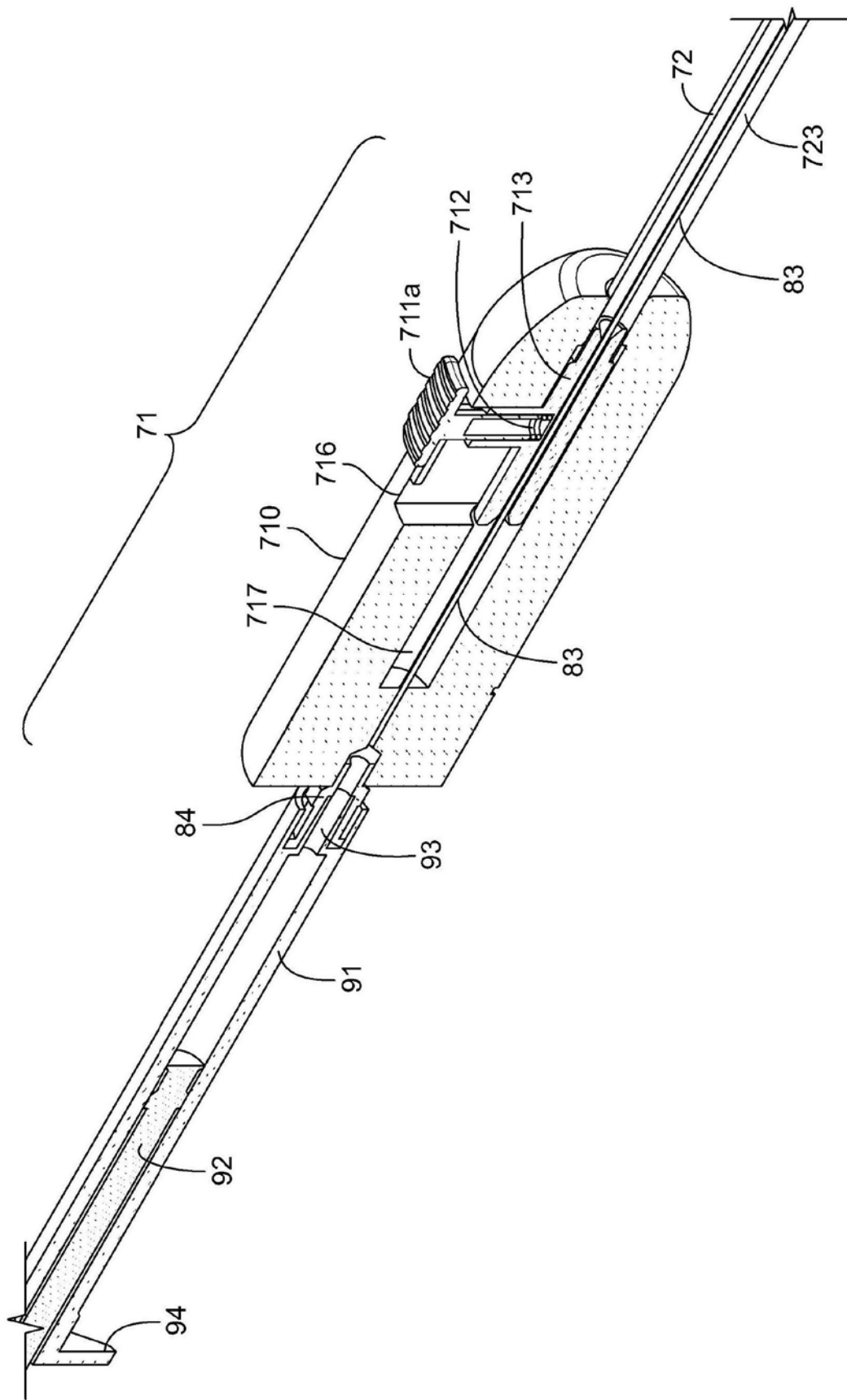


图13

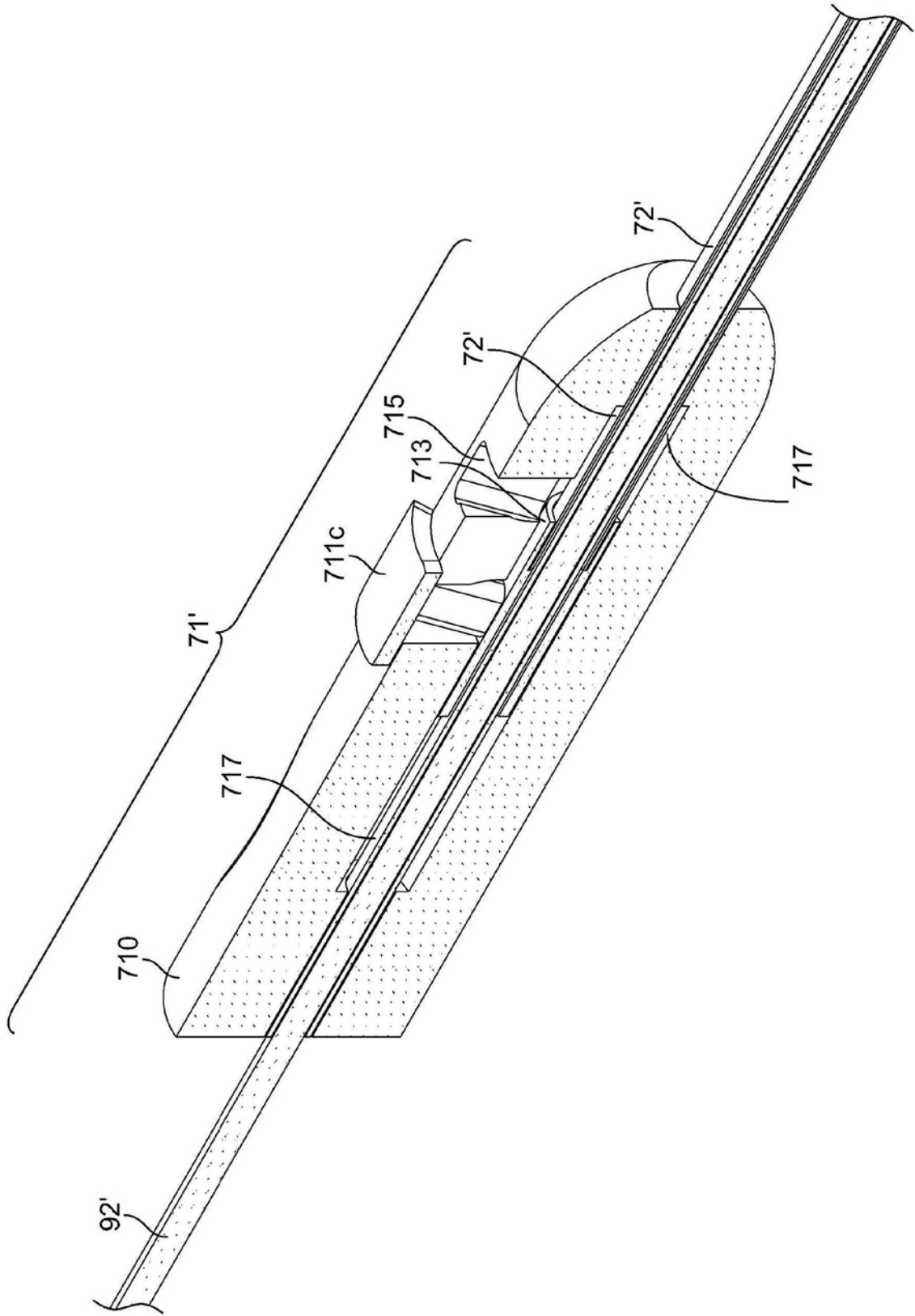


图14

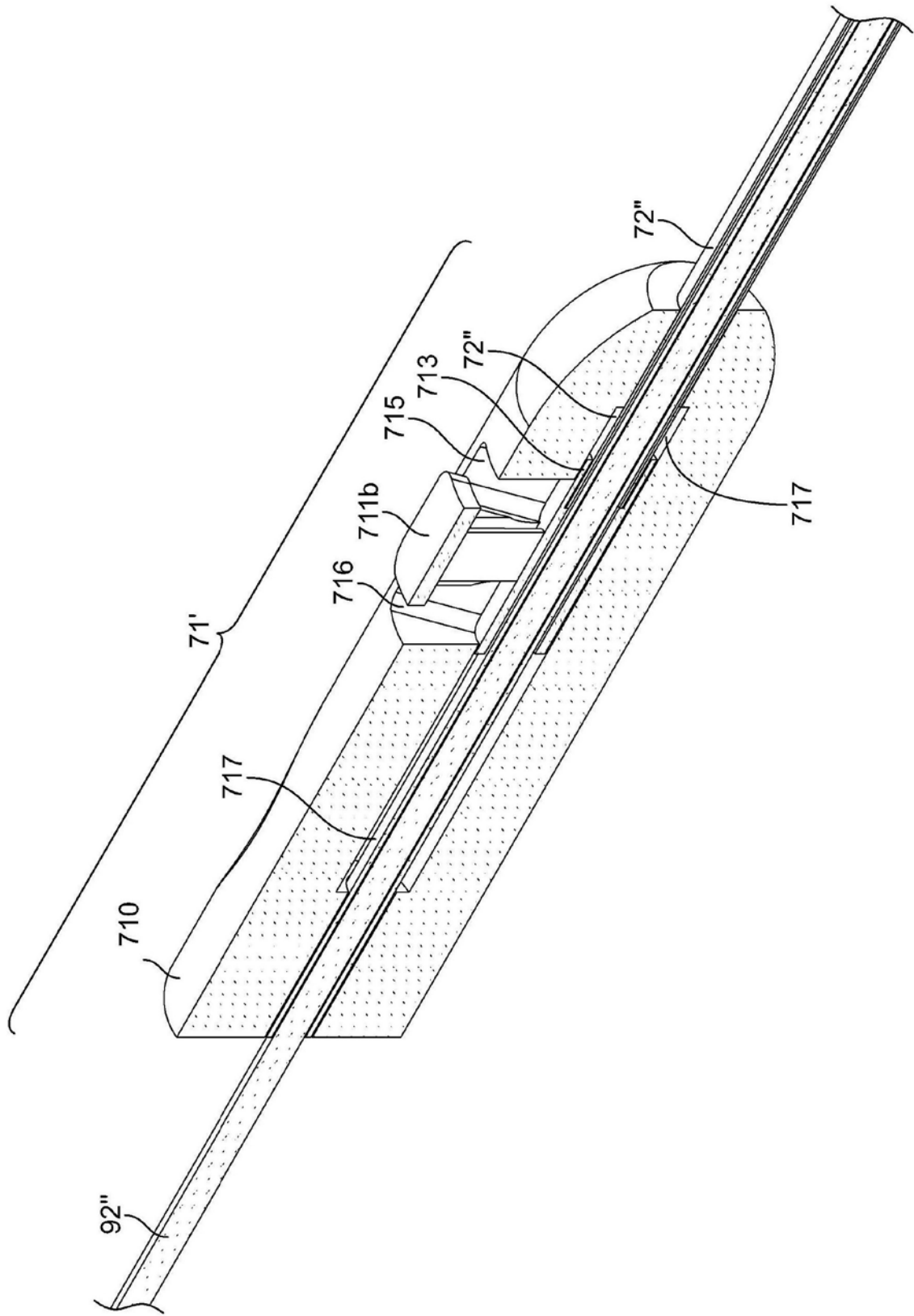


图15

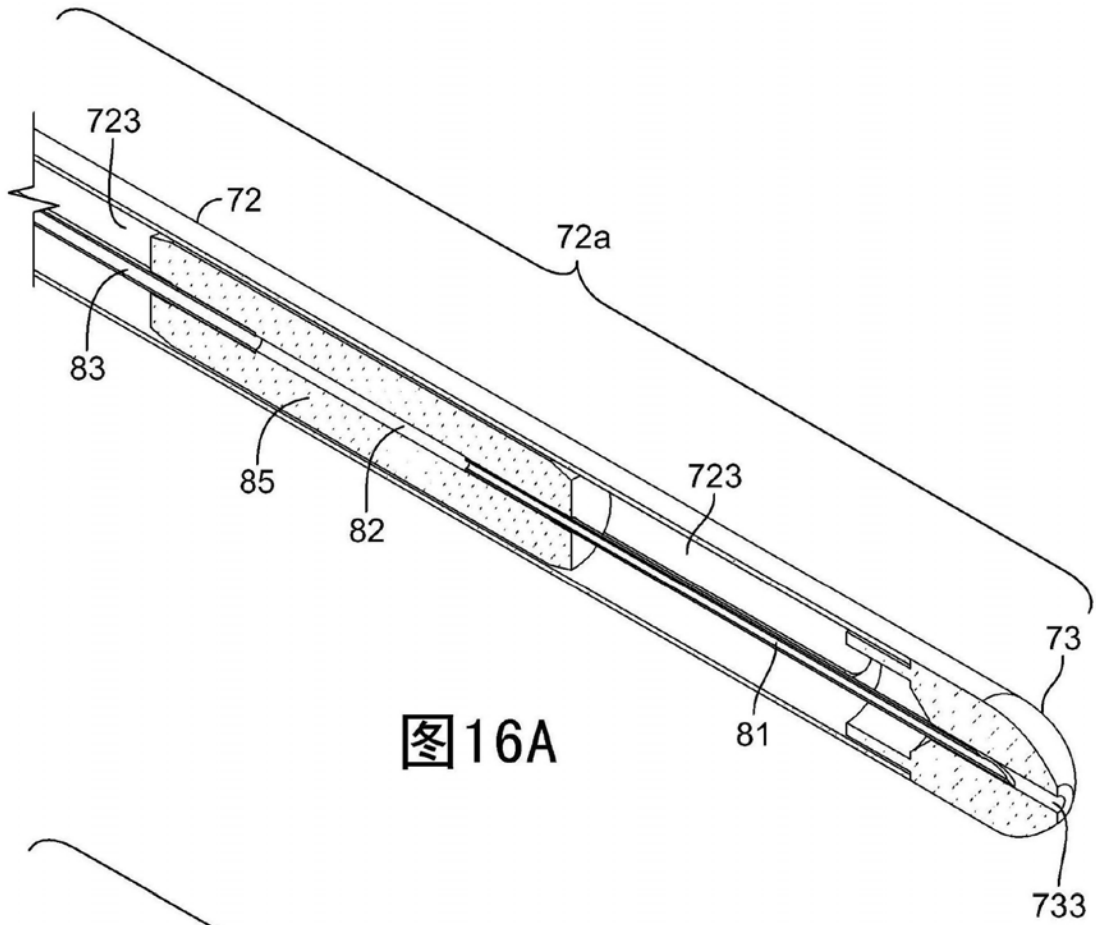


图16A

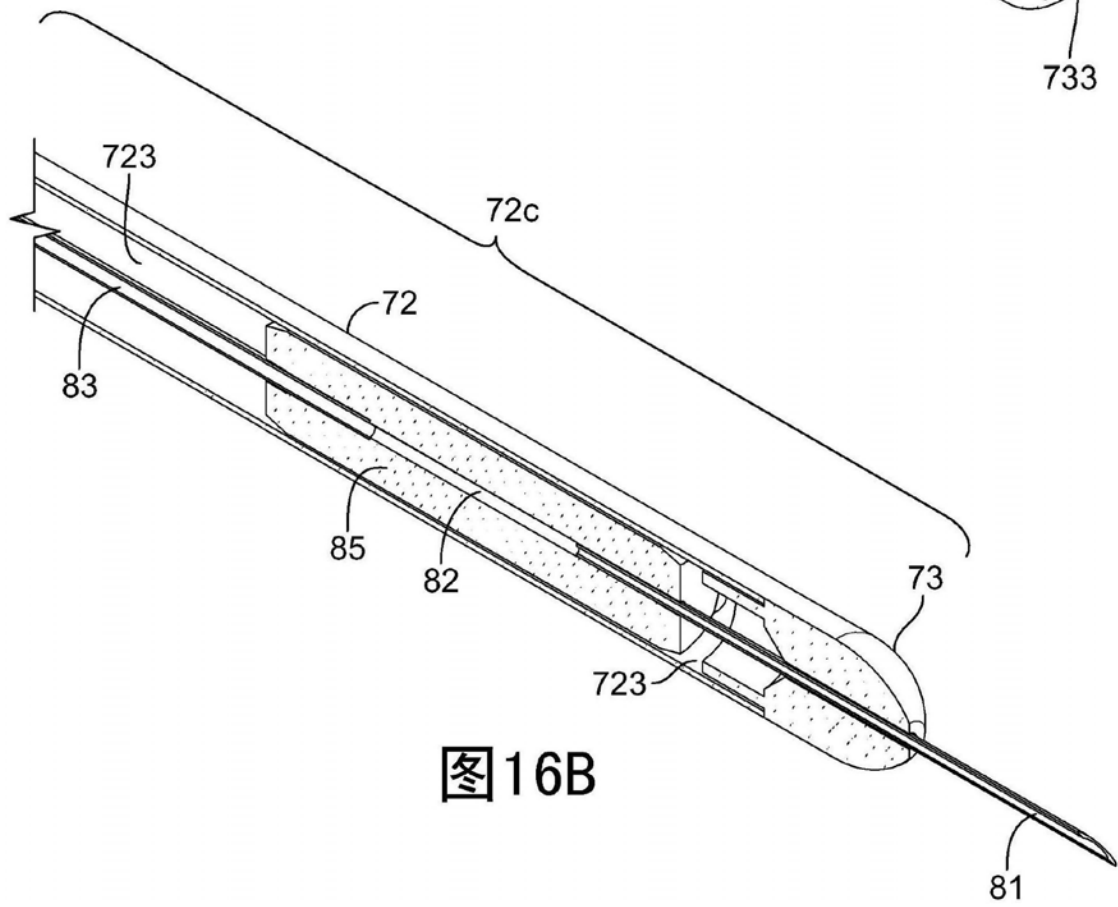


图16B

26/32

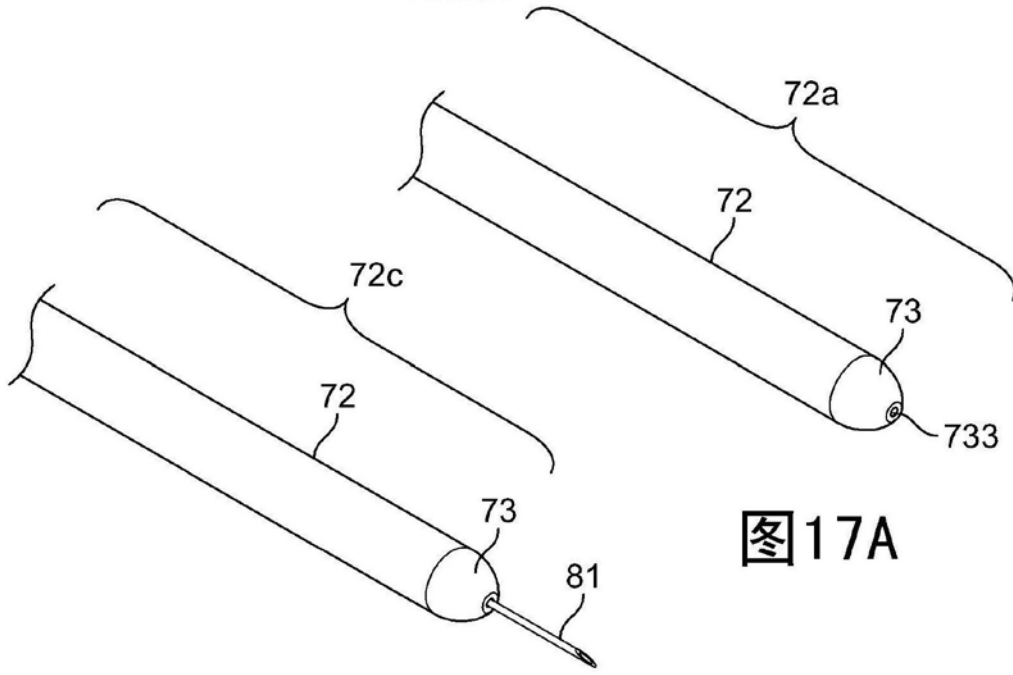
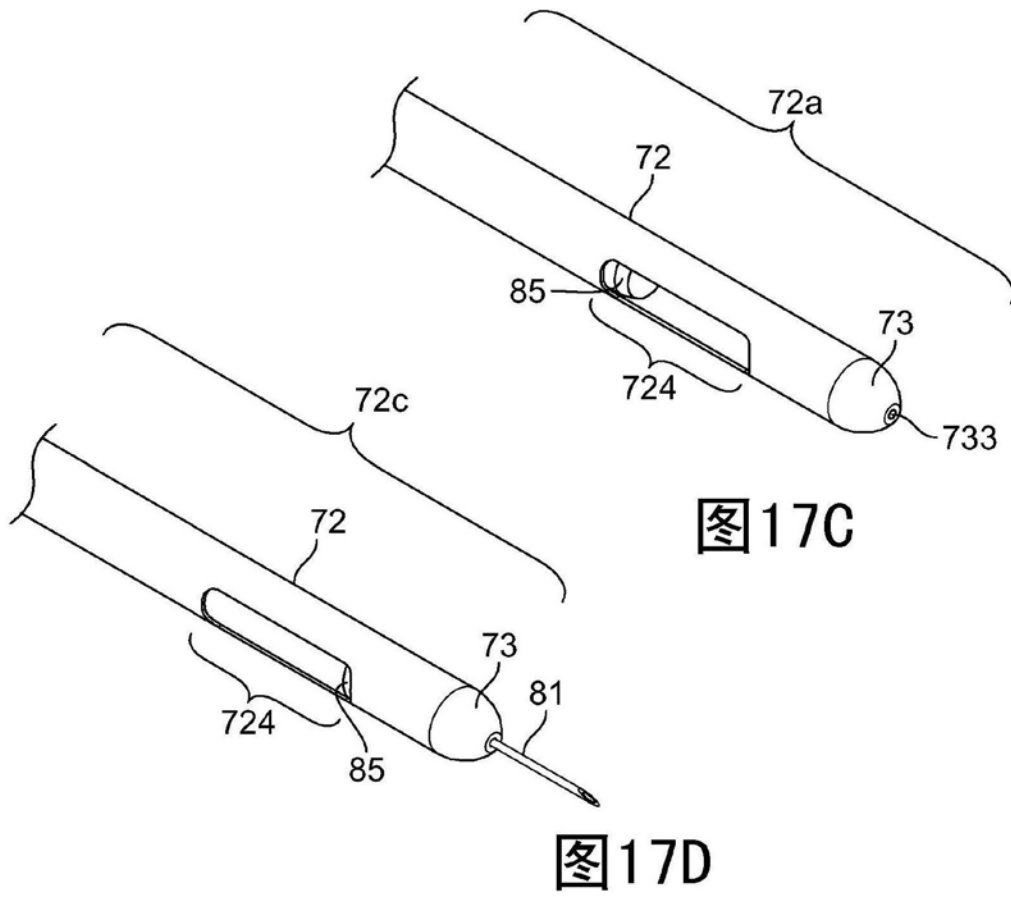


图17A

图17B



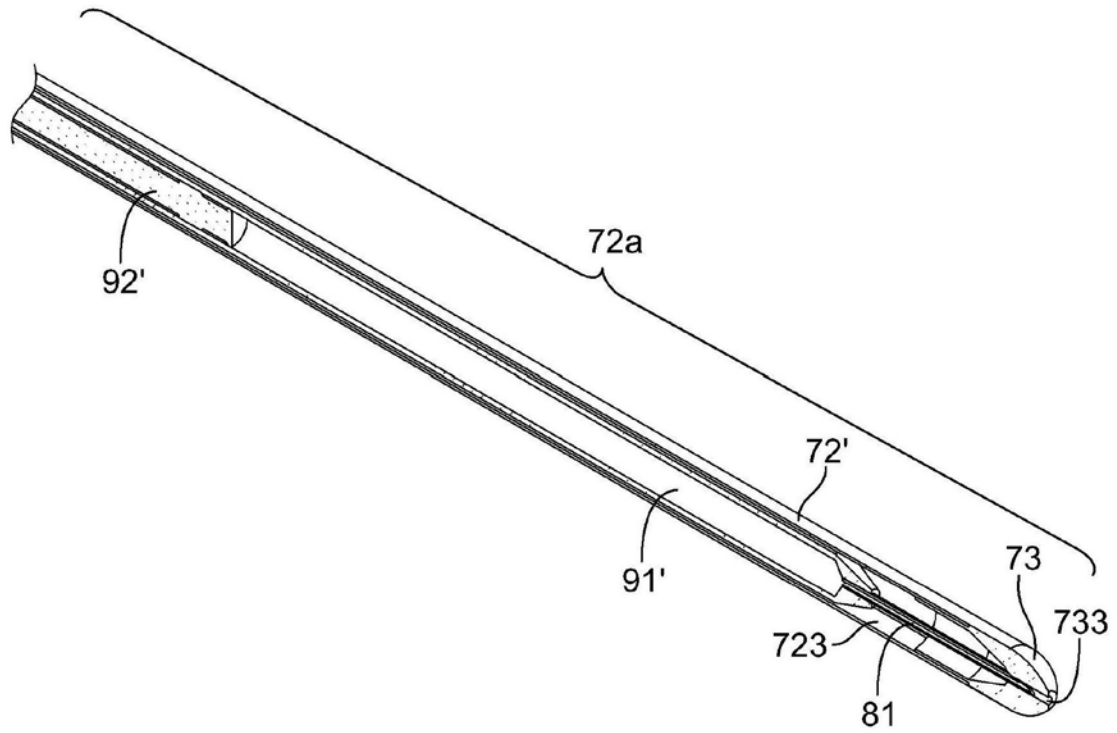


图18A

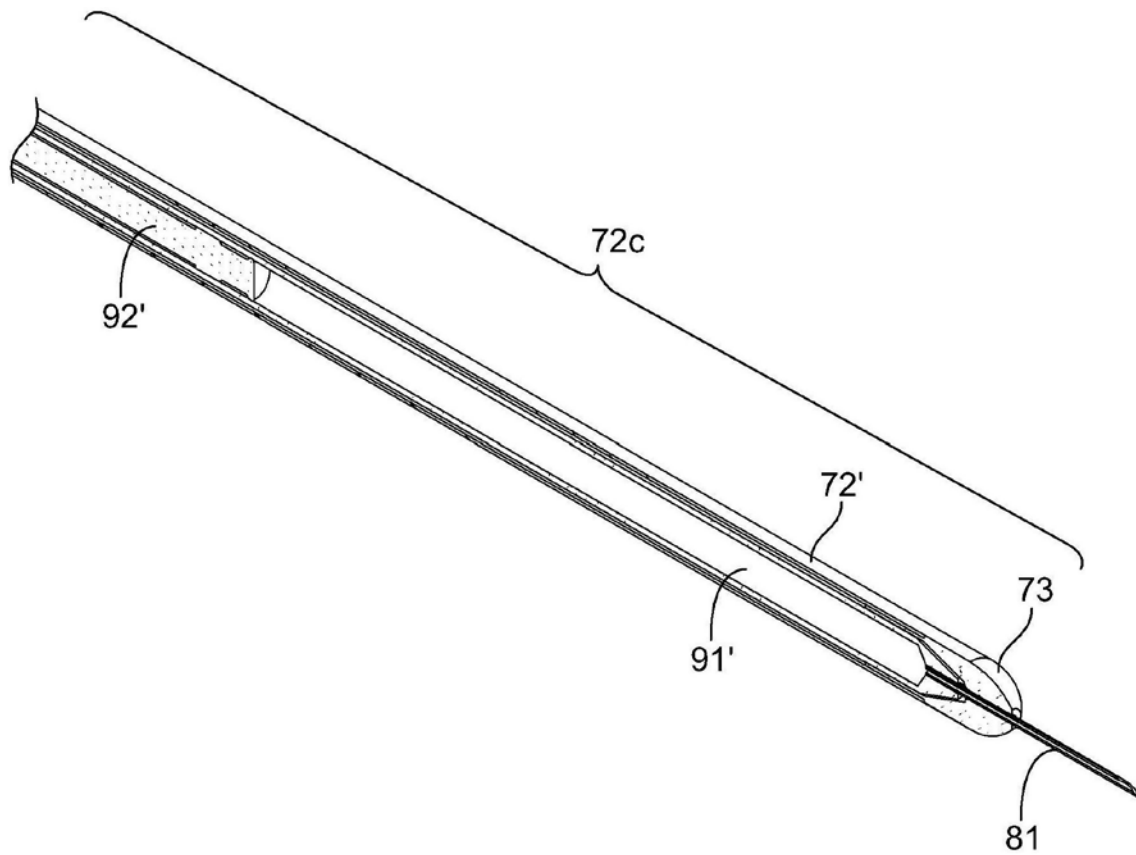


图18B

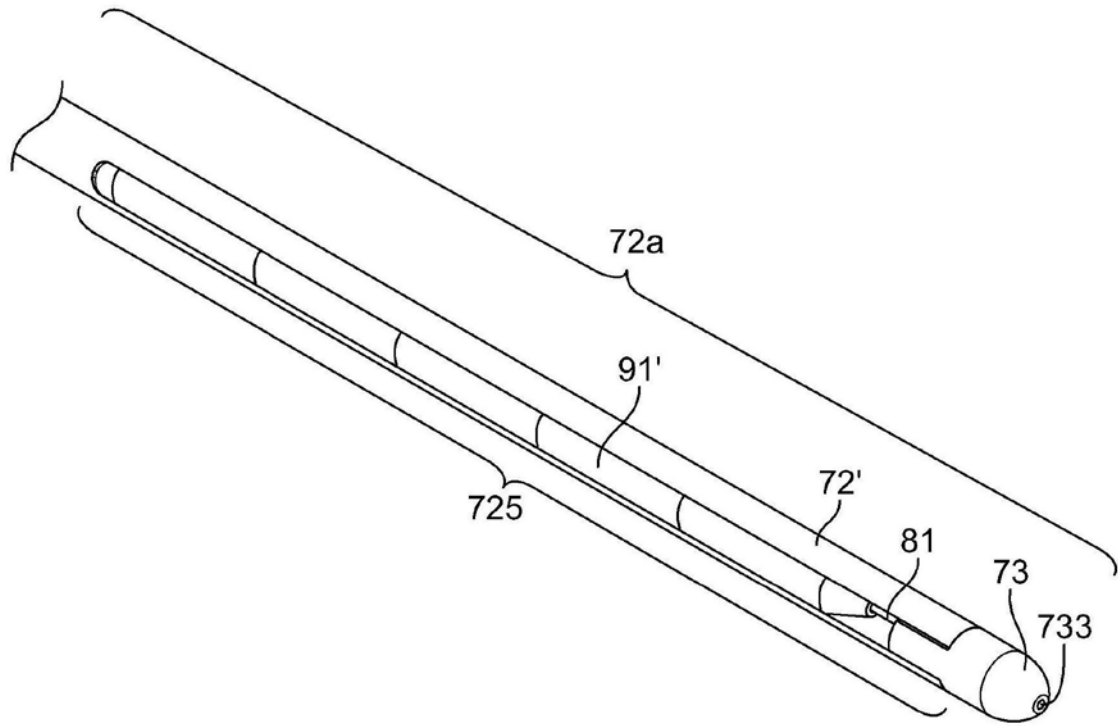


图18C

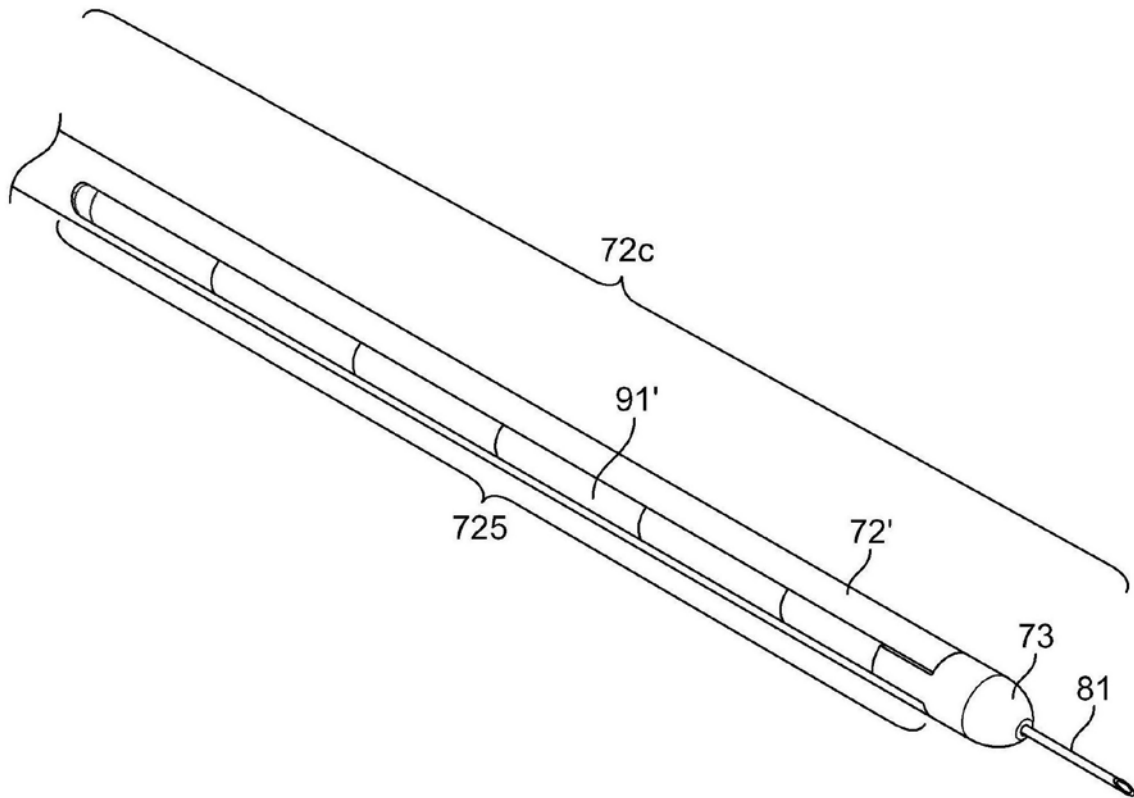


图18D

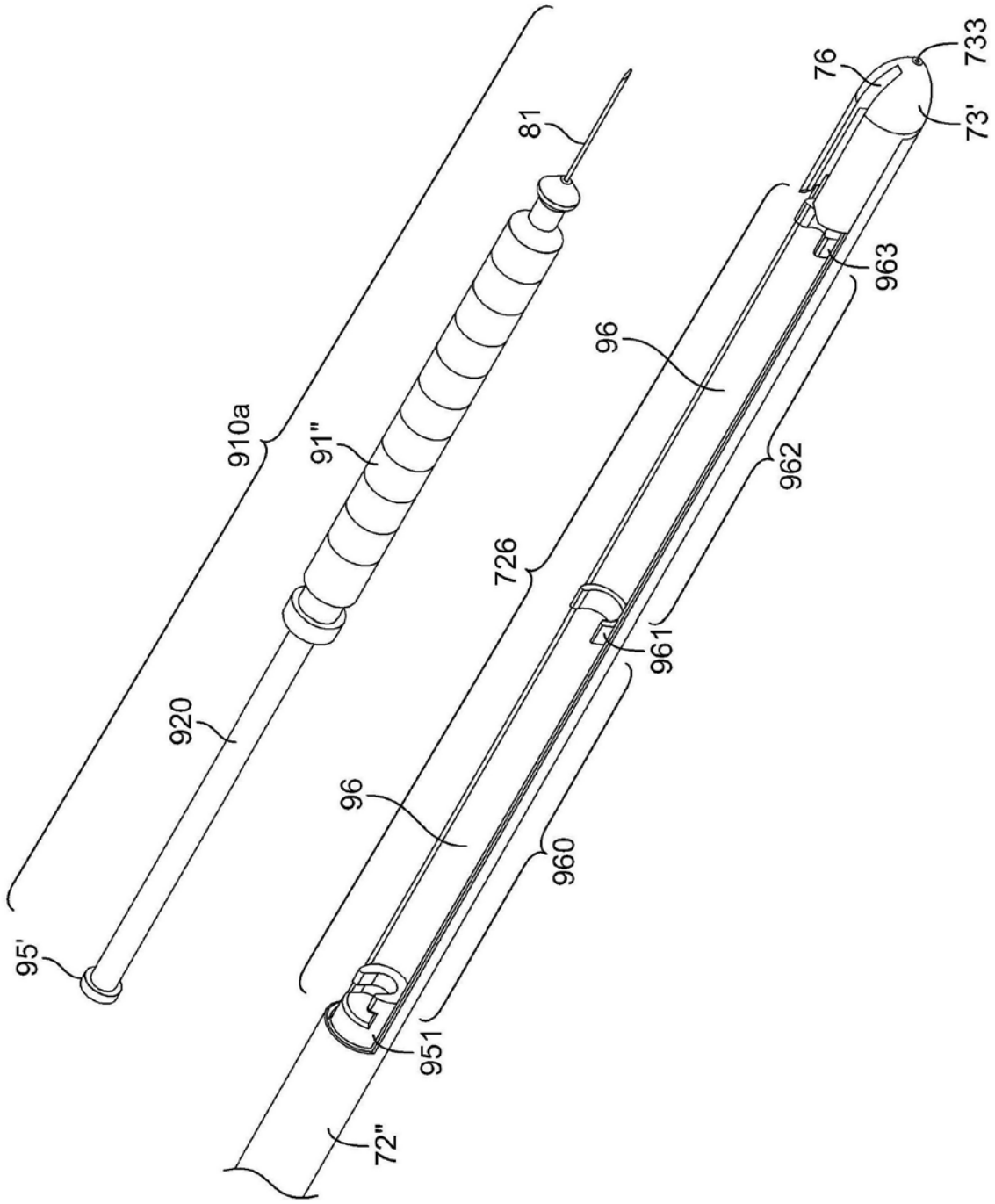


图19A

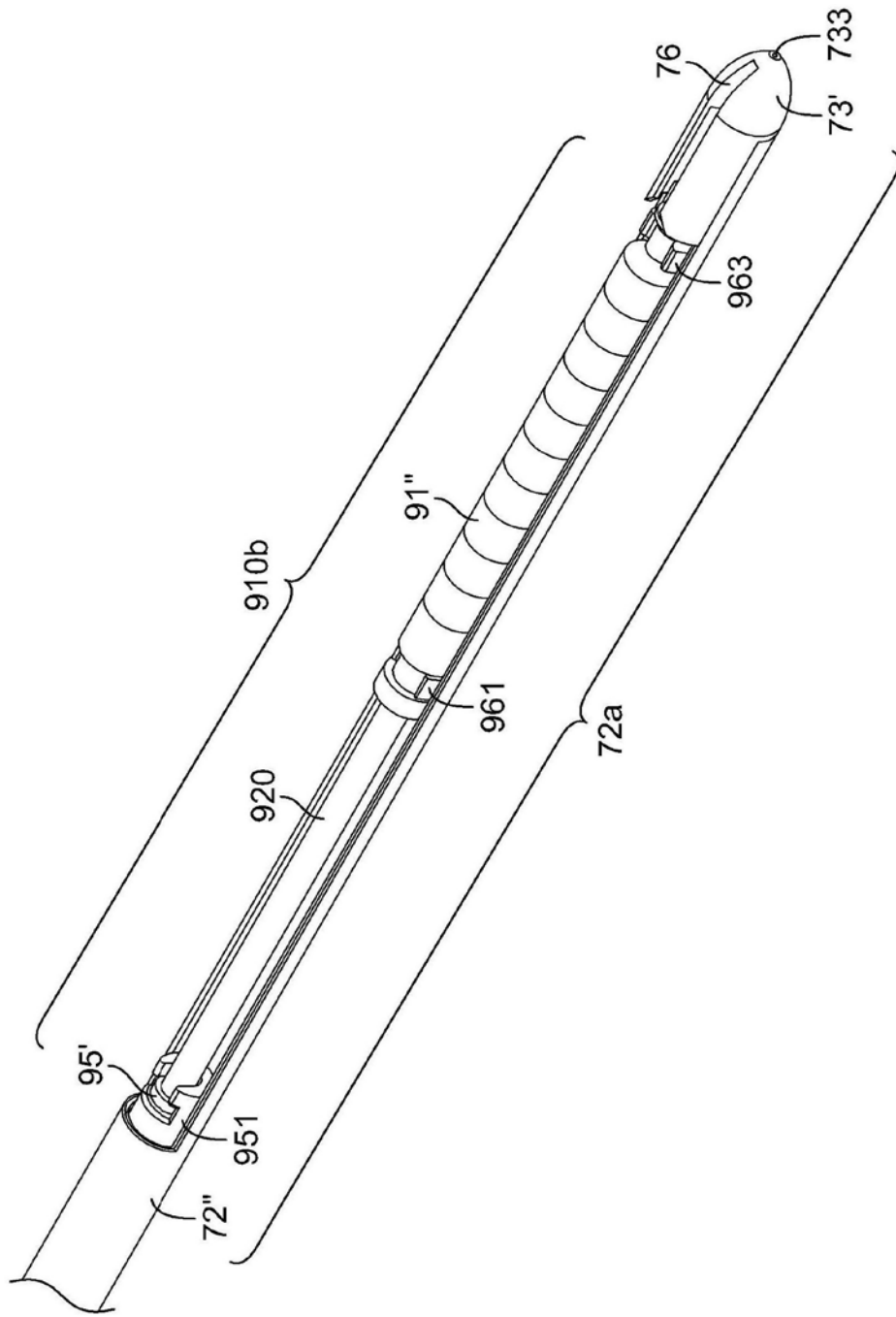


图19B

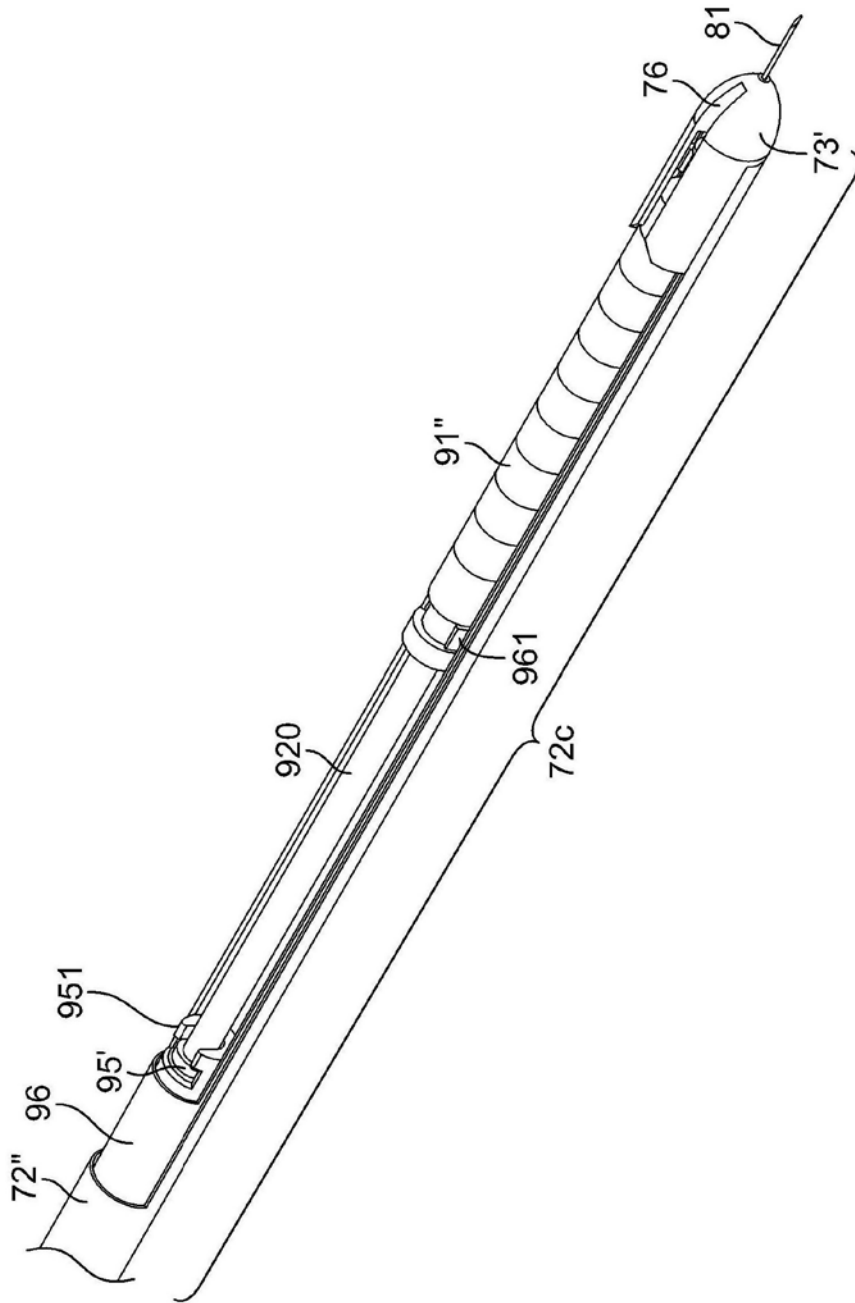


图19C

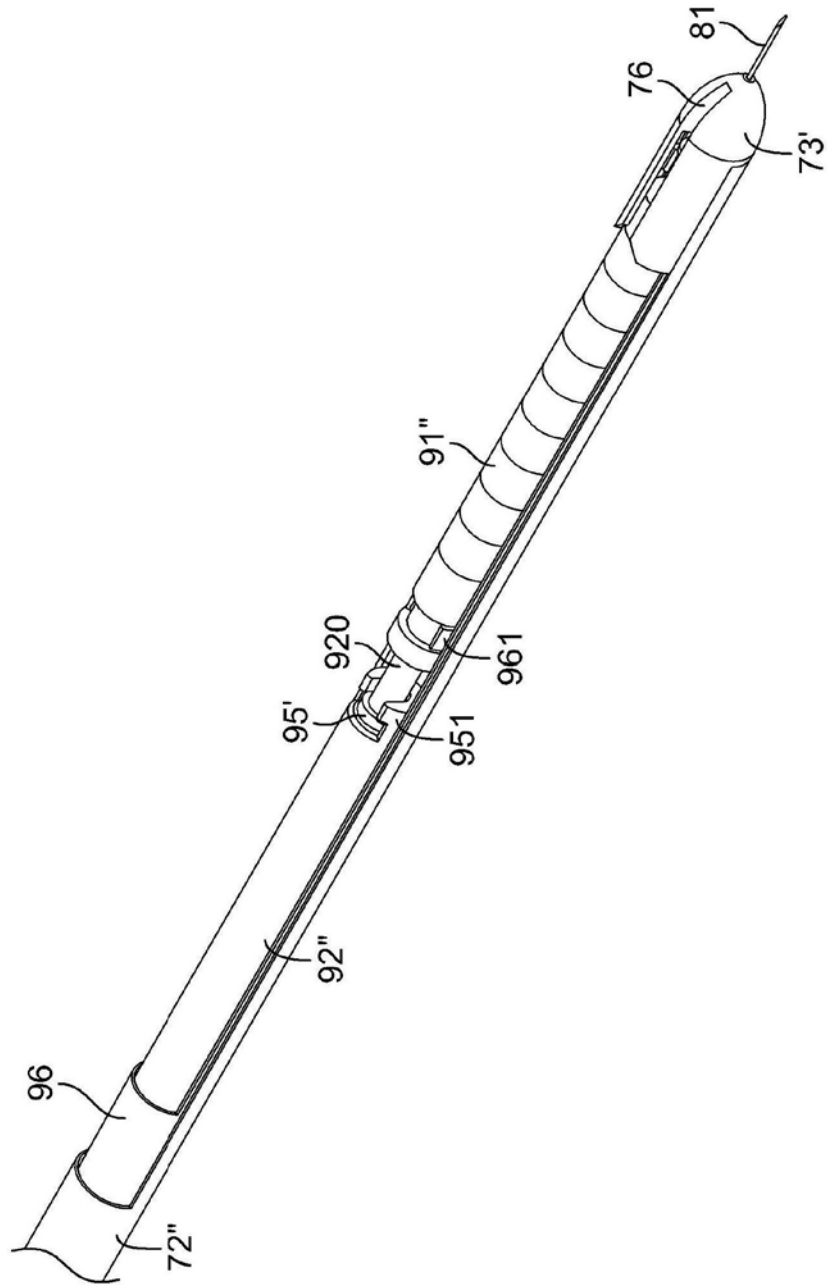


图19D

专利名称(译)	用于微创手术过程的夹具装置和其应用		
公开(公告)号	CN105813579B	公开(公告)日	2019-05-07
申请号	CN201480055532.3	申请日	2014-08-08
[标]申请(专利权)人(译)	全球生物疗法有限公司		
申请(专利权)人(译)	全球生物疗法有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	全球生物疗法有限公司		
[标]发明人	JG卡布雷拉阿奎诺 BA塞居拉帕谢科 S马斯特森 A罗森贝格 P福谢 J霍夫曼		
发明人	J·G·卡布雷拉阿奎诺 B·A·塞居拉帕谢科 S·马斯特森 A·罗森贝格 P·福谢 J·霍夫曼		
IPC分类号	A61B17/12		
CPC分类号	A61B17/12013 A61B2017/00407 A61B2017/00557 A61B2017/00862 A61B2017/12004		
审查员(译)	孙茜		
优先权	61/863903 2013-08-08 US		
其他公开文献	CN105813579A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本文提供能在微创手术包括外科手术如腹腔镜手术用于夹紧组织或器官或者一部分组织或器官的夹具装置。所述夹具装置包含细长型表面构件、在所述表面构件远端搁置在所述表面构件上的可变形部件和弹性带。所述弹性带的近端连接所述表面构件的远端，且所述弹性带与所述可变形部件形成闭合环。所述弹性带的近端设置为用于以可调节方式张紧，这样所述弹性带与所述可变形部件形成闭合环的部分可以缩短或变长。本文还提供在微创手术过程中采用本文提供的夹具装置夹紧组织或器官或其部分的方法。还提供进行微创手术的系统，包括本文所提供的用于微创手术的夹具装置和设置成进入用于微创的手术内窥镜通道的注射装置。

