

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-524484
(P2009-524484A)

(43) 公表日 平成21年7月2日(2009.7.2)

(51) Int.Cl. F 1 テーマコード (参考)
A 6 1 B 17/00 (2006.01) A 6 1 B 17/00 3 2 0 4 C 1 6 0

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 44 頁)

(21) 出願番号 特願2008-552387 (P2008-552387)
(86) (22) 出願日 平成19年1月25日 (2007.1.25)
(85) 翻訳文提出日 平成20年9月18日 (2008.9.18)
(86) 国際出願番号 PCT/US2007/001913
(87) 国際公開番号 W02007/087355
(87) 国際公開日 平成19年8月2日 (2007.8.2)
(31) 優先権主張番号 11/339, 320
(32) 優先日 平成18年1月25日 (2006.1.25)
(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 508223653
ベス イスラエル ディアコネス メディ
カル センター
BETH ISRAEL DEACONE
SS MEDICAL CENTER
アメリカ合衆国 02215 マサチュー
セッツ州 ボストン, ブルックライン ア
ベニュー 330
330 Brookline Avenue,
Boston, MA 02215 (US)
(74) 代理人 100062225
弁理士 秋元 輝雄

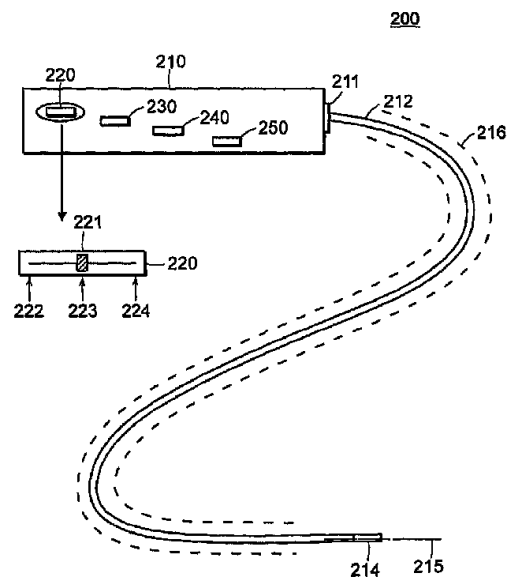
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 組織移植および再生のための器具および方法

(57) 【要約】

傷ついた筋肉細胞組織をもつ患者を処置するおよび/あるいは細胞の再増殖により筋肉の機能を改善するための再生の目的で組織を移植する器具および方法。特に器具および方法は細胞の変質の難局をなくす。器具は尖った先端をもつ中空のチューブ、中空のチューブ内に取り付けられた可動スタイレットおよびスタイレットの動きを抑える停止器具を備えている。方法は哺乳類の器官の第1の部位から完全な組織を切除しそして同じ器官の第2の部位に埋め込むことからなる

【選択図】 図1C



- 【特許請求の範囲】
- 【請求項 1】
細胞増殖による傷ついた心筋の修復のための器具で、器具は次からなる：
筋肉組織内に挿入するための先端をもつスリーブ；および
スリーブに関連して組織試料を動かすスリーブ内の可動部材。
- 【請求項 2】
スリーブがチューブからなる請求項 1 の器具。
- 【請求項 3】
チューブがステンレス鋼あるいはニチノールからなる請求項 2 の器具。
- 【請求項 4】 10
チューブが約 100 μm と約 1000 μm の間の範囲の内径の孔をもつ請求項 2 の器具。
- 【請求項 5】
スリーブが尖った先端をもつ請求項 1 の器具。
- 【請求項 6】
スリーブが可動部材の動きを抑える停止器具をさらに含む請求項 5 の器具。
- 【請求項 7】
停止器具がスリーブの内側壁に位置づけられ、停止器具が前記スリーブの先端から 0 .
5 から 2 . 0 cm の範囲に位置づけられる先端表面をもつ請求項 6 の器具。
- 【請求項 8】 20
チューブが切断用カニューレである請求項 2 の器具。
- 【請求項 9】
可動部材がスリーブ内で軸方向に動くスタイレットを含む請求項 1 の器具。
- 【請求項 10】
後部停止部分および前部部分を含むスタイレット、停止器具および後部停止部分が前部
部分の動きを制限する請求項 9 の器具。
- 【請求項 11】
器具がカテーテル本体をさらに含む請求項 1 の器具。
- 【請求項 12】 30
スリーブがカテーテル本体の先端に取り付けられる請求項 11 の器具。
- 【請求項 13】
カテーテルが手前端でハンドルに取り付けられる請求項 11 の器具。
- 【請求項 14】
ハンドルが可動部材に接続される推進器を含む請求項 13 の器具。
- 【請求項 15】
推進器がケーブルで可動部材に接続される請求項 14 の器具。
- 【請求項 16】
カテーテル本体が 30 cm から 100 cm の範囲の長さをもつ曲げられるチューブをさ
らに含む請求項 11 の器具。
- 【請求項 17】 40
スリーブが先端開口をともなう内部孔そして 5 mm から 15 mm の範囲の長さをもつ請
求項 1 の器具。
- 【請求項 18】
スリーブが吸引器具と流体接続をする内部孔をもつ請求項 1 の器具。
- 【請求項 19】
スリーブが流体源と流体接続をする内部孔をもつ請求項 1 の器具。
- 【請求項 20】
ハンドルが半径方向にカテーテルの先端を動かす第 2 の推進器を含む請求項 13 の器具。
- 【請求項 21】 50

ハンドルが可動部材の動きを抑えるスリーブ内の停止器具の動きを推進する第3の推進器を含む請求項13の器具。

【請求項22】

スリーブがハンドルに取り付けられる少なくとも20cmの長さをもつ曲がらないチューブ状本体をさらに含む請求項1の器具。

【請求項23】

カテーテル本体が少なくとも45cmの長さをもつ請求項12の器具。

【請求項24】

カテーテル本体が少なくとも80cmの長さの曲げられる部分をもつ請求項12の器具。

10

【請求項25】

スタイレットがスタイレットの手前および先端側の間に流体の流れを作る一つあるいはそれ以上の開口をもつ請求項9の器具。

【請求項26】

カテーテルがガイドカテーテル内をスライドする寸法の外径をもつ請求項11の器具。

【請求項27】

ガイドカテーテルがカテーテルの長軸に対して斜線角で曲がらないように位置づけられる先端をもつ請求項12の器具。

【請求項28】

ガイドカテーテルがガイドワイヤー上をスライドする請求項27の器具。

20

【請求項29】

スリーブが廃棄できる器具を提供するためハンドルから引き離せる請求項1の器具。

【請求項30】

切除された組織試料をとまなうスリーブがカテーテル切除器具から引き離されそして埋め込み器具に取り付けできる請求項1の器具。

【請求項31】

埋め込み器具が胸部鏡的埋め込み器具を含む請求項30の器具。

【請求項32】

カテーテルが同心円的に位置づけられる少なくとも三つのチューブ状本体を含む請求項11の器具。

30

【請求項33】

組織試料を含むためのポリマーシースをさらに含む請求項1の器具。

【請求項34】

組織試料を処置するためのシステムをさらに含む請求項1の器具。

【請求項35】

斜線角でカテーテル本体の先端でスリーブを方向づけるための引っ張りワイヤーをさらに含む請求項1の器具。

【請求項36】

患者の状態を観察するためのモニターをさらに含む請求項1の器具。

【請求項37】

スリーブ内の流体圧力をモニターするための圧力検出器をさらに含む請求項1の器具。

40

【請求項38】

1cmから10cmの長さをもつ金属製スリーブをさらに含む請求項1の器具。

【請求項39】

スリーブがガイドチューブに対して手動で引き延ばされる請求項1の器具。

【請求項40】

哺乳類器官の第1の部位から哺乳類器官の第2の部位へ組織を移植する器具で、器具は次からなる：

尖った先端をもつ中空チューブ；および

組織試料を動かすため中空チューブ内を動けるスタイレット。

50

- 【請求項 4 1】
中空チューブ内のスタイレットの動きを制限する停止器具をさらに含む請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 4 2】
チューブがステンレス鋼あるいはニチノールを含む請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 4 3】
チューブが約 2 0 0 μm と約 8 0 0 μm の間の範囲の内径をもつ請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 4 4】
停止器具がチューブの内側壁に位置づけられ、停止器具が前記中空チューブの先端から 0 . 5 から 2 . 0 c m の範囲に位置づけられる先端表面をもつ請求項 4 1 の器具。 10
- 【請求項 4 5】
チューブが切断用カニューレである請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 4 6】
スタイレットがチューブ内を軸方向に動く請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 4 7】
チューブが胸部鏡挿入のための少なくとも 1 0 c m の長さをもつ請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 4 8】
チューブが 5 m m から 1 5 m m の範囲の長さの試料部位をもつ請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 4 9】
チューブが手前端でハンドルに取り付けられる請求項 4 0 の器具。 20
- 【請求項 5 0】
ハンドルがスタイレットの動きを促進するため推進器をもつ請求項 4 9 の器具。
- 【請求項 5 1】
チューブが吸引器具と流体接続する請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 5 2】
チューブが生理食塩水のような液体源と流体接続する請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 5 3】
チューブが脳組織を試料採取するため頭蓋骨の穿孔内をスライドする外径をもつ請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 5 4】
チューブが肝臓組織を切除あるいは挿入するため腹腔鏡器具チャンネル内をスライドするための寸法をもつ請求項 4 0 の器具。 30
- 【請求項 5 5】
チューブが目の目網下スペース内に挿入するためプローブ内をスライドする外径をもつ請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 5 6】
停止器具がチューブに対して動くことができる請求項 4 1 の器具。
- 【請求項 5 7】
ハンドルが試料容器に接続されている請求項 4 9 の器具。
- 【請求項 5 8】
ハンドルが吸引推進器をもつ請求項 4 9 の器具。 40
- 【請求項 5 9】
チューブがガイドに対して移動されることができる請求項 4 0 の器具。
- 【請求項 6 0】
哺乳類の内部器官の第 1 の部位から哺乳類の内部器官の第 2 の部位へ筋肉組織を移植する方法で、方法は次からなる。
哺乳類の内部器官の第 1 の部位から組織試料を切除し；そして
哺乳類の内部器官の第 2 の部位に第 2 の部位における細胞の増殖を増加するために組織試料を埋め込む。
- 【請求項 6 1】 50

哺乳類の器官が心筋でありそして完全な心筋組織から組織試料を切除することからさらになる請求項 6 0 の方法。

【請求項 6 2】

心筋の心室隔壁から組織試料を切除することからさらになる請求項 6 1 の方法。

【請求項 6 3】

虚血性心筋組織内に組織試料を埋め込むことからさらになる請求項 6 0 の方法。

【請求項 6 4】

細胞の変質なしに組織試料を埋め込むことからさらになる請求項 6 0 の方法

【請求項 6 5】

脳組織試料切除しそして埋め込むことからさらになる請求項 6 0 の方法。

10

【請求項 6 6】

複数の組織試料で複数の切除そして埋め込む段階を実施することからさらになる請求項 6 0 の方法。

【請求項 6 7】

梗塞組織部位内に組織試料を埋め込むことにより心筋梗塞後に方法を実施することからさらになる請求項 6 0 の方法。

【請求項 6 8】

被検者にカテーテルの先端を挿入し、切除される組織に隣接し先端を位置づけ、組織にチューブ状器具を挿入し、組織から組織試料を切除し、チューブ状器具が埋め込み部位に隣接するようにカテーテルを再位置づけし、チューブ状器具を組織試料を埋め込むために埋め込み部位内に挿入することからさらになる請求項 6 0 の方法。

20

【請求項 6 9】

請求項 6 0 の方法でさらに次からなる：

哺乳類心筋の第 2 の部位に組織試料を埋め込む前に組織試料で診察あるいは治療方法を実施する。

【請求項 7 0】

実施する段階が組織試料の組織足場内の細胞の特質を変質することからさらになる請求項 6 9 の方法。

【請求項 7 1】

細胞の特質を変質する段階が組織足場から細胞構成成分を切除しそして組織足場内に材料を挿入することからなる請求項 7 0 の方法。

30

【請求項 7 2】

組織足場内に血管新生蛋白質を挿入することからさらになる請求項 7 1 の方法。

【請求項 7 3】

細胞材料を形成しそして細胞材料を組織足場内に挿入することからさらになる請求項 7 1 の方法。

【請求項 7 4】

組織足場内にトランスフェクトされた心室心筋細胞あるいは内皮前駆細胞を挿入することからなる請求項 7 1 の方法。

【請求項 7 5】

器官が脳からなる請求項 6 0 の方法。

40

【請求項 7 6】

器官が肝臓からなる請求項 6 0 の方法。

【請求項 7 7】

器官が目からなる請求項 6 0 の方法。

【請求項 7 8】

ガイドカテーテルで外科手術サイトへチューブを導入するため経皮的カテーテル化を実施することからさらになる請求項 6 0 の方法。

【請求項 7 9】

組織試料の胸部鏡的埋め込みを実施することからさらになる請求項 6 0 の方法。

50

【請求項 80】

患者に少なくとも6個の組織の切除および埋め込み段階を実施することからさらになる請求項60の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

(関連申請との相互参照)

これはUS申請No. 11/339,320、2006年1月25日付け申請の部分的延長であり、全内容をここに参照として組み入れる。

【0002】

(発明の背景)

成人の心筋梗塞および虚血性心臓病は心筋細胞を損傷し弱める機能障害および不可逆の心筋細胞の喪失結果となり、もし処置をしないならば心筋細胞の損失と心臓の損傷は鬱血性心臓疾患となり数年内の心筋梗塞あるいは虚血症で死亡する運命に至る。

【0003】

心筋機能は特に老人の間では、典型的に身体の本래の回復機構により元に戻すことができない。成人の心筋細胞の再生はまた限られる。さらに、心筋の移植は器官のドナーの不足により制約される。従って、成人の身体の自然の治癒の能力の補足のための筋形成および/あるいは心筋再生の手段および方法は強い研究および開発の課題となっている。

【0004】

例えば、細胞の心筋症の細胞移植は心筋梗塞あるいは虚血症による心筋細胞の喪失を置き換える方法である。簡潔には、身体他の部分から自己の細胞あるいは外来の細胞が心筋に移植された(transplanted)あるいは植え付けられた(engrafted)細胞は分化し、現時点では理由は完全に知られていないが、心筋の機能の改善を提供する。

【0005】

無数の異なる細胞の型はそのような細胞のあるいは細胞を基本とする治療のために使用される。例えば、細胞を基本とする治療は、制約なしに、成人の培養された心臓および骨格の筋肉心筋細胞あるいは筋芽細胞、同種の骨髄および/あるいは末梢血液からの前駆細胞、培養された間葉系および/あるいは胚性幹細胞を含んでいる。

【0006】

細胞の増殖を強めるため、器官の出所に係わらず抽出された細胞は人工的に培養される。細胞の培養は同種の筋肉細胞、あるいは組織、血液細胞、幹細胞を採取し、より高い細胞の密度を提供するために生体外あるいは生体内で細胞あるいは組織を培養しそして心筋の損傷を受けた部分に培養された細胞を導入することを含んでいる。細胞の培養の歴史的問題は高価で、採取工程の潜在的な危険性、細胞を増殖する時間、および細胞を採取し移植するために必要な装置を含んでいる。

【0007】

心筋の機能を改善する方法は流体容器の中に心筋のミクロな微粒をおいているドナーの箇所から心筋のミクロな微粒を回収し、心筋のミクロな流体を埋め込む(implanting)ことを含んでいる。

【0008】

組織細胞の再生のシステムおよび方法の改善のため引き続いての必要性がある。

【0009】

(発明の概要)

本発明は哺乳類の内部器官、例えば、心筋、脳、肝臓、腎臓、あるいは胆嚢の第1の部位から哺乳類の第2の部位に組織を移植する器具と方法を開示する。望ましくは、方法は哺乳類器官の第1の部位から組織試料を切除してそして哺乳類の第2の部位に組織試料を第2の部位で細胞の増殖を増加するため埋め込むことからなる。この実施態様において、切除および埋め込みの段階は細胞の変質の中間段階を含まないことが望ましい。組織の切

10

20

30

40

50

除および埋め込みの間、組織の構造を保持することにより工程は多くの内在する幹細胞を増加する。

【0010】

実施方法の一つの観点で、哺乳類の器官が心筋であるとき、方法は完全な心筋組織から、そしてもっと特別には心室の隔膜から組織試料を切除することをさらに含んでいる。心臓補助循環法のため切除される量は速く回復する健康な組織への打撃を最小とし、そして同時に損傷した部位内の心臓の機能を維持しあるいは改善するように選ばれる。

【0011】

実施方法の他の一つの観点で、心筋の生体検査組織は虚血性心筋組織および/あるいは心筋梗塞(MT)部位に移植される。組織への損傷が起きた後はできるだけ速く手順を実施することが望ましい。しかしながら、手順は最初の障害の後、上手く実施されれば優位である。

10

【0012】

他の実施態様で、本発明は傷ついた心筋細胞をもつ哺乳類の被験者を処置する方法を提供する。望ましくは、方法は哺乳類の心筋組織の第1の部位から組織試料を切除しそして傷ついた哺乳類の心筋組織の第2の部位に組織試料を細胞の増殖を強めるため埋め込むことからなる。傷ついた部位の寸法により外科医は任意に追加的組織の切除を行いそして細胞の再生速度を増大させるよう他の場所に埋め込むことからなる。かくして、2から10あるいはそれ以上の埋め込みが担当患者に実施される。

20

【0013】

さらに他の実施態様で、本発明は傷ついた心筋をもつ哺乳類被験者の心臓機能を改善する方法を提供する。望ましくは、哺乳類の心筋の第1の部位から組織試料を切除しそして哺乳類の第2の部位に細胞の再増殖による心臓機能を改善するために埋め込むことからなる。これは、例えば、改善された心臓の駆出率および収縮性を含んでいる。

【0014】

本発明の望ましい実施態様は傷ついた心筋を細胞の再増殖により修復するための器具を含んでいる。望ましい実施態様において、心筋組織に挿入する尖った先端をもつスリーブ(sleeve)あるいはチューブ(tube)、チューブ内の組織試料を動かすためにチューブ内を調和して動くことができるスタイレット(styilet)のような可動部材、そしてスタイレットの動きを抑えてチューブ内の位置決めをする停止器具を含んでいる。さらに実施器具は試料の変質なしに心筋の部分に埋め込むためにドナーの箇所から組織試料を取り戻しそして/あるいは哺乳類の器官の第1の部位からは哺乳類の器官の第2の部位へ組織を移植するために適している。器具は心筋組織を切除しそして埋め込むための開胸あるいは最小に浸入手順の間使用されあるいは組織を切除しそして埋め込むための経皮的カテーテルシステムと一緒に使用される。器具は2から50mm³の範囲の組織容量を切除する。試料は血液が壊死を避けるような速度で試料を通して容易に動けるように望ましくは十分小さい。

30

【0015】

中隔の厚みは10と13mmの間のヒトの範囲で取られる生体組織の長さを決定する。試料採取チューブの長さは応用により5mmと15mmの間を変化する。このように技術は組織容量と寸法の均一性を作るため中隔解剖の長所となる。これはまた組織の切断と損傷の必要なしに切断器具として働く生体組織器具となる。チューブは内径約100から1000μm、望ましくは200から800μmである。これは血液の拡散範囲内にある試料の厚みを決定しそしてこれ故これら自身の血液供給で移植されるため埋め込みを要求しない。

40

【0016】

本発明の他の好ましい提案の実施態様は切除された組織の全てあるいは部分は診断および健康上の処置を受ける。カテーテル送致システムおよび心筋組織埋め込み手順は細胞部材の細胞外マトリックス(matrix)足場を空にする尿素で消化される中隔の生体組織をまた含んでいる。かくして人工のマトリックス足場は他の細胞部材で実質的に再度

50

住み着くことができる。足場内の異なった細胞の型はかくして心筋内に埋め込まれそして心筋を再生し血管新生を促進するこれらの能力は評価される。これらの細胞の型は内皮細胞先駆体、平滑筋細胞先駆体あるいは心筋細胞先駆体を含んでいる。さらに幹細胞に由来する髄血液はこの方法と共に使用される。

【0017】

かくして、本発明は組織の足場あるいは十分な固体数の細胞を器官の細胞再生を強めるため供給する細胞外供給組織構造を利用する。選択された容量の組織の利用によって試料の代わりに細胞外が埋め込みの再生性質をさらに改善するために利用される。

【0018】

追加的に、細胞部材があるあるいはない足場は血管新生蛋白質（VEGF、FGF-2、HIF-1およびPR39）および他の増殖因子で浸されそしてそれにより心臓にある幹細胞が移動することができるプラットフォームを形成しそしてそこで成熟した心室心筋細胞に増殖し分化するために栄養環境を見つける。

10

【0019】

一般的に人工の細胞はこの足場伝達手段およびここで述べるカテーテルシステムを使用してまた埋め込まれる。例えば、心室心筋細胞あるいは内皮細胞前駆体をトランスフェクトされた（transfected）VEGF、PI3 KinaseあるいはAktが埋め込まれる。これらの増殖因子および信号蛋白質は細胞の生き残りを強めアポトーシスを減らすことを示している。

【0020】

この方法は個々の血管新生因子と筋細胞およびこれらのそれぞれの再生性質を評価し使用するために有効である。足場は裸のcDNAの市場で使用できる直接の内部心筋注入方法で見られる水準における短期間の増加よりむしろこれらの因子のさらなる維持された開放をもたらす。

20

【0021】

本発明の望ましい実施態様は切除される器官の部分が望ましい長さの試料を提供するために選ばれる厚さをもつ試料の切除方法を採用する。例えば、5mmの長さをもつ試料を埋め込むことが望ましい実施態様において、5mmの厚さをもつ中隔壁の部分が選ばれる。これは周囲の組織から試料の端を切断しあるいは切り離さねばならない困難を避ける。他の実施態様は試料採取器具が、先端が第3心室あるいは他の腔に延びているように、試料採取される部位を通して挿入される脳の部分の試料採取を含んでいる。

30

【0022】

脳の組織の再生は脳がまた制約された再生可能性をもっているので心筋と同様な仕方で行われる。脳卒中によって影響される患者は不可逆の中央の大脳動脈のようなある動脈の区域内のニューロンの損失をしばしば被る。ニューロンが酸素欠乏症に対してもっと敏感であるので、大脳動脈の再疎通をするための血栓溶解療法の執行は心筋梗塞の間心臓冠状動脈の再疎通よりもしばしば敏感である。ニューロンにある幹細胞が脳組織内に存在するならば、同様な方法が前頭葉からの脳組織あるいは不要な機能をもつ他の脳の部分が梗塞によって損傷を受けた脳の重要な優れた機能の箇所にも埋め込まれることにより応用される。ニューロン外科手順のための計算機援助の内視鏡は前頭葉の生体組織を得るために使用される。生体組織の場所は完全な箇所が損傷を受けていないことを確かめるため生体組織手順の前に定位放射線照射マッピングで前もって決める。その後生体組織/埋め込みカテーテルは内視鏡の助けと脳梗塞の箇所へのCTガイダンスで挿入される。手順はまた、例えば、腹腔鏡器具のチャンネルを通して供給される試料採取チューブで肝臓再生を助けるために使用される。

40

【0023】

本発明の他の望ましい実施態様は磁気共鳴画像（MRI）による灌流、梗塞の容量、壁の動作および駆出率の測定のような埋め込み後の器官の性能の測定あるいは監視する方法を含んでいる。

【0024】

50

(図面の簡単な説明)

本発明は図面と合わせて本発明の詳細説明を参照してさらに完全に理解でき、図面は：

【 0 0 2 5 】

図 1 A は本発明に従う取り戻しおよび埋め込み器具の図示的实施態様を提供する；

【 0 0 2 6 】

図 1 B はシース (t h e a t h) に取り付けられた可動停止器具をもつ取り戻しおよび埋め込み器具の図示的实施態様を提供する；

【 0 0 2 7 】

図 1 C は取り戻しおよび埋め込み器具、曲げられるカテーテルおよび制御ハンドルを含むシステムの図示的实施態様を提供する；

【 0 0 2 8 】

図 1 D は吸引による柔らかい組織試料の取り戻しのためのシステムの図示的实施態様を提供する；

【 0 0 2 9 】

図 1 E は真空補助取り戻しおよび埋め込み器具の図示的实施態様を提供する；

【 0 0 3 0 】

図 2 A はヒト筋肉のダイアグラムを提供する；

【 0 0 3 1 】

図 2 B および 2 C は本発明に従う曲がらない器具を使用する完全な筋肉組織を取り戻す方法の図示的实施態様を提供する；

【 0 0 3 2 】

図 2 D は取込みストロークの間の取り戻しおよび埋め込み器具の図示的实施態様を提供する；

【 0 0 3 3 】

図 3 A は処置箇所とともにヒト筋肉のダイアグラムを提供する；

【 0 0 3 4 】

図 3 B から 3 D は心筋組織を本発明に従う曲がらない器具を使用して処置箇所内に埋め込む方法の図を提供する；

【 0 0 3 5 】

図 3 E は埋め込みストロークの間の取り戻しおよび埋め込み器具の図示的实施態様を提供する；

【 0 0 3 6 】

図 4 A は処置箇所とともにヒト心筋のダイアグラムを提供する；

【 0 0 3 7 】

図 4 B は本発明に従うカテーテルを基本とする器具を使用して処置箇所内に心筋組織を埋め込む方法の図を提供する；

【 0 0 3 8 】

図 5 A は M R I により測定した前壁と中隔壁心筋の灌流の比を図示する。

【 0 0 3 9 】

図 5 B は M R I により測定した処置動物の梗塞容量における改善を図示する；

【 0 0 4 0 】

図 6 A と 6 B は M R I により測定した前壁と中隔壁の壁の肥厚をそれぞれ図示する。

【 0 0 4 1 】

図 7 A と 7 B は M R I により測定した前壁と中隔壁の壁の動作を図示する。

【 0 0 4 2 】

図 8 A は M R I により測定した駆出率の改善を図示する；

【 0 0 4 3 】

図 8 B はマイクロマノメーターカテーテルにより測定した処置動物における収縮性の改善を図示する；

【 0 0 4 4 】

10

20

30

40

50

図 9 A と 9 B は T T C 染色により測定した前壁と中隔壁の梗塞寸法の変化をそれぞれ図示する；

【 0 0 4 5 】

図 1 0 A から 1 0 D は非処置および処置動物の血管新生と抗アポトーシスの蛋白質発現の変化を示す；

【 0 0 4 6 】

図 1 1 A は心筋梗塞に続く 2 および 4 週間で処置被検者の駆出率における劣化の防止を図示する；

【 0 0 4 7 】

図 1 1 B と 1 1 C は収縮性および拡張性の血行力学的評価を示す。

10

【 0 0 4 8 】

図 1 1 D は左心房圧力が処置被検者において通常に保たれそして非処置被験者において 4 週で上昇することを示す；

【 0 0 4 9 】

図 1 2 A と 1 2 B は内部壁と中隔壁における処置動物の梗塞部位の改善を示す；

【 0 0 5 0 】

図 1 3 は処置被験者の血管の数における 3 倍の増加を図示する；

【 0 0 5 1 】

図 1 4 A と 1 4 B は V E G F と G D F - 2 の血管新生の水準を示す；

【 0 0 5 2 】

20

図 1 5 A と 1 5 B は M M P - 2 と T I M P - 2 に対するマトリックス分解酵素発現の水準を示す；

【 0 0 5 3 】

図 1 6 は処置動物に対する m d r - 1 の増加を示す；

【 0 0 5 4 】

図 1 7 は処置動物に対する c - k i t 陽性の減少を示す；および

【 0 0 5 5 】

図 1 8 は本発明の望ましい実施態様に従った器官の部分の切除および埋め込みの方法を図示する。

【 0 0 5 6 】

30

(本発明の詳細説明)

本発明は哺乳類器官から組織試料を切除し同じ器官を他の部位にあるいは同じ個体の他の器官に組織試料を埋め込む器具と方法に関する。器具および方法は心臓補助循環法に使用され、これはヒト心筋を使用し、そして他の哺乳類の器官、例えば、肝臓、胆嚢、腎臓および脳でまた使用される。本発明は器官あるいは組織の移植が利用できないあるいは困難であり、あるいは現行の処置方法が適当でない心臓あるいは脳に関して特に重要である。

【 0 0 5 7 】

前記したように、種々の細胞、例えば、成人の培養された心臓および骨格筋細胞、間葉系および / あるいは胚性肝細胞、同種の骨髄および / あるいは末梢血からの前駆細胞が細胞の心臓補助循環法のために提案されている。

40

【 0 0 5 8 】

しかしながら、典型的に、梗塞ゾーンに埋め込まれた心臓幹細胞は完全に成熟した心室心筋細胞を形成しない。さらに特に、心臓幹細胞は小さく留まりそして完全に分化しないで、心臓幹細胞の小さい “ 島 ” を作る。

【 0 0 5 9 】

第 1 の実施態様において、本発明は哺乳類の器官の第 1 の部位から組織あるいは細胞を哺乳類の器官の第 2 の部位に移植する方法を提供する。さらに特に、方法は心室隔膜から切除された完全な心筋の生体組織を組織の心筋梗塞の部位に移植する。望ましくは、方法は細胞あるいは組織、すなわち完全な心筋の生体組織を哺乳類の器官の第 1 の部位、例え

50

ば、心筋あるいは心室隔膜から切除し、そして哺乳類の器官すなわち心筋梗塞あるいは虚血性心筋組織の第2の部位に細胞あるいは組織試料を埋め込むことからなる。さらに特に、細胞あるいは組織試料は細胞の変質を含まない中間段階なしに埋め込まれる。

【0060】

本発明の他の観点は組織移植カテーテル器具である。組織移植カテーテル装置の本体はステンレス鋼あるいはニチノール(nitinol)、あるいは適当な高分子材料から作られた内径100から800 μ mで外径が1.5mmあるいはそれ以下の中空のハイポチューブ(hypotube)である。チューブは長さ方向軸に沿って曲がらなく一定の長さをもっている。ある実施態様では、チューブは柔軟でなくあるいは曲がらない。他の実施態様で、スリーブあるいはチューブは曲がるかあるいは長さ方向の軸に対して全ての垂直方向に向くことができ、動脈システムあるいは心臓の空洞のような各種の身体の中に移動することができる。チューブは先端に尖った切断用の刃をもっている。任意に、閉鎖孔は器具の先端が希望するドナーの箇所到達する前に組織で満たされることを防ぐように、取り戻す前の組織挿入の間、付け加えることができる。スタイレットはチューブ内に適合しそして組織の移植片あるいは生体組織の長さに相応する距離に対してチューブの先端内で取り戻せるように装着される。停止器具はスタイレットの動きの範囲を制限するようにチューブ内に装着される。例えば、停止器具はチューブの中を部分的に閉じることができ、組織移植片で移植カテーテルを装荷するときスタイレットが引き戻されるよう停止器具の上にスタイレットのベースにあるカラー(collar)を休止させる。ハイポチューブの手元端はカテーテルの先端の部材の動きを制御するための種々な推進器に適應する制御ハンドルを装着している。例えば、他の実施態様で、制御ハンドルはチューブを延ばしたり引き込んだりするための一つあるいはそれ以上の推進器に適應しており、チューブ内のスタイレットを延ばしたり引き込んだりし、スタイレットの移動の長さあるいはチューブ内のスタイレット停止器具の位置を調整し、そしてチューブの曲がることのできる先端の曲がる動きを制御する。

10

20

【0061】

一つの実施態様で、カテーテルは効果的なスタイレットの長さを変えるための機構、例えば、チューブ内の停止位置を動かすかあるいはスタイレットのチップとスタイレットのカラーの間の距離を変える機構を含んでいる。スタイレットの長さを調節することにより、組織移植片の寸法(すなわち長さ)は適当な長さに設定することができる。例えば、一つの実施態様で、スタイレットはドナーの箇所の組織の厚みに等しいかあるいは超える長さに設定し、それにより移植片が切除されるとき組織が傷つくことを防ぐ。

30

【0062】

移植カテーテル器具の他の実施態様は三つの停止器具を採用している。停止器具のそれぞれの対は、生体組織の深さを決めそして調整されるため埋め込む間隔、例えば、器具の手元端の制御ハンドル上の異なる推進器の位置の間を変更することにより、離なされる。間隔は、例えば、1mm、2mm、3mm、4mm、5mm、あるいはそれ以上の増加である。適当な推進器の位置を使用することにより、生体組織標本の深さは、例えば、ドナーの組織箇所あるいは目標組織箇所の手術に基づいて手順の間、選ぶことができる。さらなる実施例の方法では、もし停止器具が3mmの間隔で離され、そして推進器が三つの設定の間を選ぶならば、そうすれば3mm、6mm、あるいは9mmの長さのいずれかの組織移植片が取り戻し時に選ばれる。

40

【0063】

望ましくい実施態様において、器具は心室隔膜の厚みに相応する長さそしてチューブの先端の内径に相応する直径の心筋組織移植片を得ることできる。隔膜の全幅の移植片を取り込むことにより、移植方法は均一な組織容量と形状寸法を確かにする隔膜手術の利点を利用する。移植カテーテルは組織移植片を取り入れるとき切断器具として働き、切断や組織損傷を生じることなしに組織をドナーの箇所から切除できる。一つの実施態様において、カテーテルの先端は手元端から操作され、例えば、親指のクリック(click)の動きによるスライド機構を所持して、これは埋め込みの間静止したスタイレットに対し

50

てチューブの動き導く（図1C参照）。

【0064】

移植カテーテルの他の実施態様は異なる外科手順に適用される。心筋組織移植のための開胸外科着手のために使用される実施態様において、チューブは曲がらなく約20から40cmの長さで、望ましくは約30cmである。胸部鏡利用の移植カテーテルは約45から65cmの長さ、望ましくは約55cmの長さの曲がないあるいは柔軟なチューブ状の本体をもっている。経皮的応用のために使用される実施態様において、カテーテルは曲がない手元端および先端を除いて柔軟で任意に方向を向けることができる。ドナーあるいはアクセプターの組織箇所への経皮的利用に対して、チューブは約80から100cmの長さであり、望ましくは約90cmの長さである。脳、網膜あるいは脊髄への脳組織の移植のため使用する実施態様においては、チューブは曲がらなくそして約1から10cmの長さである。ある実施態様で、同じ制御ハンドルが種々の型の、例えば異なったチューブとともに提供される。

10

【0065】

経皮的利用形態において、移植カテーテル器具はシースおよびガイドカテーテルを通して大腿骨動脈から大動脈弁を経て従来の方式で左心室に導入される。ガイドカテーテル、例えばホッケー棒状ガイドは、組織移植片標本を採取するために左心室中膜に対して移植カテーテルの位置決めをし、そしてそれから付随する蛍光鏡、電子放射線法、および/あるいは電磁気法のガイダンスを使用して処置箇所に向かって移動する。チューブはまた先端チップの切断刃をもちいて傷ついた部分に孔を開け、そしてスタイレットの助けにより移植片を注入することにより組織移植片を運ぶために使用される。スタイレットはハイポチューブが引き出されるよう内部ワイヤーとともに静止を保たれ、例えば、左心室壁の移植片を取り出す。ある実施態様で、移植カテーテルは蛍光鏡ガイドのための陰影剤の注入をする止血弁（側腕）を含んでいる。

20

【0066】

他の実施態様で、移植カテーテルはガイドカテーテルを要求しないが、先端チップの尖った切断刃を保護するため付加的に外側のシースをもっており、左心室の梗塞箇所のような移植目標の壁に対し装置の先端の曲がらない部分を曲げるようにする（片寄せることができるチップ）。この柔軟性をもたせる機構は曲がる気管支鏡に使用される“引っ張る”ワイヤー機構と同様かあるいは心臓学インターベンションにおけるVentureカテーテルと同様である（ウェブ参照）。Ventureカテーテルにおいて、先端のチップは外部ハンドルの親指の回転輪の時計方向の回転により90°の角度よりも大きく革新的に曲げられる。これはカテーテル軸内のカテーテルの片側への張力を他の側に伝える引っ張りワイヤーにより機械的に行われる。

30

【0067】

本発明の一つの観点において、単一の器具、これはバイオプトム（biptom）と埋め込み装置を一体化した器具は細胞あるいは組織を切除しそして埋め込むための両方に使用される。図1に関して、そこには本発明に関する器具10の図式的実施態様が表示される。望ましくは、器具10は中空のチューブあるいはカテーテル12、内部スタイレット20、および停止器具16からなる。

40

【0068】

望ましくは、中空チューブ12はステンレス鋼あるいはニチノールで作られそして先端の周囲にかみそり形状の切断刃11あるいはチューブ12のチップ13を含んでいる。中空チューブ12は曲がらなく、単独の外科用設備のような構造にされそして配置されるか、あるいは代わりに、経皮的に曲がる軸の先端に取り付けられる曲がらないチップのような構造にされそして配置される。

【0069】

効果的な試料採取および埋め込みは内径が約100と約1000μmの間で、望ましくは約200と約800μmの間のチューブ12で実行される。しかしながら、より大きなあるいはより小さい直径のチューブ12が、勿論、この開示の範囲および精神を犯すこと

50

なく利用できる。さらに、曲がらない外科用器具 10 は長さが約 30 センチメートル (cm) で曲がる軸に取り付けられた曲がらないチップは長さ約 2 cm である。

【0070】

停止器具あるいは部材 16、例えば、ゴムあるいはプラスチックの O-リングおよび中央の開口 19 を含む同様なものは分離した距離、例えば、チューブ 12 の先端チップ 13 から約 0.5 と 2.0 cm 間の距離に配置される。望ましくは、停止器具は、例えば接着して、固定して取り付けられるかあるいは中空チューブ 12 の内周に密着して提供される。停止器具 16 は取り込みストロークおよび埋め込みストロークの両方の間、スタイレット 20 の動きを止めるかあるいは制限しそして取り込まれそして埋め込まれる心筋生体組織の寸法あるいは容量を制御する。

10

【0071】

スタイレット 20 はチューブ 12 内の軸方向に動くような構造で配置される。望ましくは、スタイレット 20 は前面あるいは先端部分 15、後ろあるいは手元部分 17、ストローク軸 14、および軸 18 を含む。さらに望ましくは、スタイレット 20 は停止器具 16 が先端部分 15 と手元部分 17 の間にストローク軸 14 が中央開口 19 内で動けるように設置される構造にされそして配置される。

【0072】

器具のある実施態様は上述の先端部分と一般的に同じ特徴をもつ取り外し可能な先端部分 13 を、先端部分がカップリング 60 でチューブ 12 の中間部分と手前部分を結びつけられていることを除いて、提供する。このような実施態様で、スタイレット 20 と一緒に先端チップおよび停止器具 16 は先端からチューブの中央にスタイレット軸 18 を送り込むことにより、そしてそれからカップリング 60 でチューブ 12 に先端部分 13 を接続することによりチューブ 12 に合致させる。任意に、接着あるいは他の機構がカップリングを安定させるため採用される。

20

【0073】

図 1 B は二つの可動停止器具 120 および 122 がスタイレット 20 の移動の長さを調整するためお互いに関してスライドさせることができるよう組み立てる内側シース上にある器具の先端部分の交換部品 100 を示す。先端の停止器具の位置を変更することにより、シース 114 の動きを通して、スタイレットの位置は先端のスタイレット部分 15 と先端の停止器具との相互作用により引き抜きに対して制限される。同様に、手元の停止器具 122 の位置を変えることにより、シース 116 の動きを通して、スタイレットの位置は、手前のスタイレット部分 17 と手前の停止器具 122 との相互作用により試料の挿入を制限される。

30

【0074】

図 1 C は組織の取り戻しと埋め込み器具 214 を含み、上述のように曲がるハイポチューブ 212 とカップルし、言い換えれば、カップリング 211 を介して制御ハンドル 210 と接続するシステムの実施態様を図示する。このシステムで実施される多くの手順において、移植カテーテル器具はガイドカテーテル 216 を通して挿入される。制御ハンドルは器具の機能を制御するために利用される数多くの推進器を保有している。例として、この実施態様において、推進器 220、230、240、および 250 はそれぞれスタイレットの引き戻しおよび引き延ばし、スタイレットの停止位置、チューブの引き延ばしおよび引き戻し、および先端チップ部分 214 の角度の曲げを制御する。推進器 220 の拡大図は一つの可能な制御の典型を示す。推進器スライド 221 は全て長さ方向の軸 315 に沿って、中間位置 223 とともに、224 で完全なスタイレットの引き延ばしから、222 で完全なスタイレットの引き込みまでトラック内に位置づけられる。クリック停止は便宜性と再現性のための制御機構に含まれる。制御ハンドルと推進器の形状 (shape) と様式 (style) は図式的に描写される。多くの実際の設計の選択が利用されそして技術としてよく知られている。制御ハンドルの推進器は様式と機構においてお互いに同様かあるいは同様でない。利用できる推進器の型はスライド、ボタン、レバー、回転取っ手および同様品を含む。チューブは取り外しができそして廃棄できそして試料移送のための

40

50

埋め込み器具に再び取り付けられることに注目せよ。

【 0 0 7 5 】

図 1 D において、柔らかい組織移植片標本の取り戻しのためのシステム 3 0 0 の実施態様が図示される。脳のような柔らかい組織は吸引技術によりドナーの箇所から取り出される。先端チップ 3 1 4 は既に記述した実施態様と同様である；しかしながらある変形において、スタイレットあるいは停止器具をもたない。チップは 2 重の胴をもつ曲がらないチューブ 3 1 2 に接続され、言い換えればカップリング 3 1 1 を通して制御ハンドル 3 1 0 に接続される。推進器 3 1 6、3 1 7、3 1 8、および 3 1 9 はスタイレットの引き延ばしと引き込み、スタイレットの停止位置、チューブの引き延ばしと引き込み、そして先端チップ部分 3 1 4 の角度の曲がり制御する。制御ハンドルの任意の追加品は生体組織の吸入のための制御された口 3 2 1 を通してチューブ 3 1 2 の一つの胴にカップルされ、真空供給 3 2 0 として口 3 3 1 を通してチューブ 3 1 2 の第 2 の胴内に殺菌した生理食塩水の手動あるいはポンプ駆動注入のため、収集容器 3 4 0 に回収サイトから生体組織 3 4 1 を洗浄するために使用する殺菌した生理食塩水溜 3 3 0 を含んでいる。さらに任意のものは真空および生理食塩水供給の応用を制御するためハンドルに追加する付加的推進器を含んでいる。

10

【 0 0 7 6 】

図 1 E は真空補助先端チップ 4 0 0 を図示する。この実施様態において、緩やかな吸引がスタイレットの表面の穿孔 4 1 6 を通して先端スタイレット部分 4 1 5 に適用される。同様の穿孔 4 1 8 は真空源と手前のスタイレット部分 4 1 5 に留まっている組織の間の圧力が持続するよう手前のスタイレット部分 4 1 7 に存在する。陰圧が回収と埋め込みの間先端チップ内に組織移植片を留まらせるため使用される。真空は次のドナー組織へのチップの挿入および組織からチップの引き抜きの前に適用される。移植片がドナーの箇所のある後に、真空は組織を離すためハイポチューブを引き抜く前に開放される。

20

【 0 0 7 7 】

図 2 A から 2 D に関して、例えば、開胸手順のために、曲がらない器具 1 0 を使用して心筋あるいは心室隔膜から完全な心筋生体組織を切除する段階が記述される。典型的に、開胸手順のために、器具 1 0 は約 3 0 c m の長さである。

【 0 0 7 8 】

図 2 A は左心室 2 1、右心室 2 2、および心室隔膜 2 3 を含むヒト心筋 2 5 の図を提供する。図 2 B および 2 C に示すように、器具 1 0 は例えば、3 F r シースあるいは技術として良く知られた蛍光鏡可視化の技術を使用して、右心室 2 2 の壁 2 4 a を通して挿入される。中空チューブ 1 2 のかみそりの形状の刃 1 1、例えば、切断カニューレ (cannula) は中隔 2 3 に押し当てられる。かみそりの形状の刃 1 1 はさらに移植片 2 3 に進み、心筋生体組織 2 6 は中空チューブ 1 2 の先端 1 3 に浸入し、前面部分 1 5 に対して押しつけることによりスタイレット 2 0 を置き換える。

30

【 0 0 7 9 】

中空チューブ 1 2 の先端 1 3 から、前面部分 1 5 が離れた距離を移ると、例えば、約 1 c m、心筋生体組織を含む器具 1 0 は取り去られる。

【 0 0 8 0 】

図 2 D は器具 1 0 の試料採取ストロークの実例図を提供する。特に、スタイレット 2 0 は生体組織 2 6 が中空チューブ 1 2 に入るのでそれによって連続して後ろ方向に押される。停止器具 1 6 と前面部分 1 5 が接触すると、さらなるスタイレット 2 0 の動きは止まりそして希望容量の生体組織 2 6 が器具 1 0 に入る。

40

【 0 0 8 1 】

図 3 A から 3 F を参照して、曲がらない器具 1 0 を使用して哺乳類の器官の第 2 の部位に心筋生体組織 2 6 を埋め込む段階が記述される。望ましくは、器具 1 0 は心筋生体組織 2 6 を心臓表面の処理箇所 2 7 に移送する。さらに望ましくは、上述したように、実施態様の方法は中間の、例えば、細胞培養段階を不要にする。従って、第 1 段階で取り戻された心筋生体組織 2 6 は細胞培養なしに埋め込まれる。

50

【 0 0 8 2 】

図 3 A において、心筋 2 5 は処置箇所 2 7、例えば、左心室 2 1 の壁 2 4 b 内の心筋梗塞の傷あるいは虚血性心筋組織を含んでいる。図 3 B から 3 D に示すように、器具 1 0 が処置箇所 2 7 に関して適切に位置決めされた後、器具 1 0 のかみそり形状の刃 1 1、例えば、切断カニューレが処置箇所 2 7 を切断し；そして中空チューブ 1 2 の先端チップ 1 3 は離れた深さに進む。

【 0 0 8 3 】

中空チューブ 1 2 の先端チップ 1 3 が希望する深さの位置になると、中空チューブ 1 2 は処置箇所から引き出される。中空チューブ 1 2 は引き出されると、
 スタilet 2 0 の軸 1 8 はスタilet 2 0 を維持するために制御され、さらに望ましくは、スタilet 2 0 の前面部分 1 5 は静止するかあるいは実質的に静止する。結果として、中空チューブ 1 2 は処置箇所 2 7 から続いて引き出され、スタilet 2 0 の前面部分 1 5 は続いて心筋組織試料 2 6 を突き出し、左心房 2 1 の壁 2 4 b の処置箇所 2 7 内の心筋組織 2 6 を残す。

10

【 0 0 8 4 】

図 3 E は器具 1 0 の埋め込みストロークの実例図を提供する。特に、処置箇所 2 7 内への挿入後、中空チューブ 1 2 は続いて処置箇所 2 7 から引き出されそしてスタilet 2 0 の前面部分 1 5 は静止するかあるいは実質的に静止する。結果として、心筋組織 2 6 はまた処置箇所 2 7 に押し出される。停止器具 1 6 と後部部分 1 7 が接触すると、スタilet 2 0 のさらなる動きが停止しそして希望する心筋組織 2 6 の容量が処置箇所 2 7 に埋込まれる。

20

【 0 0 8 5 】

曲がらない外科用器具を使用して心筋組織 2 6 を採取しそして埋め込む方法を記述してきたが、カテーテルを基本とするシステムを使用して心筋組織 2 6 を採取しそして埋め込む方法を記述する。図 4 B を参照して、望ましくは、カテーテルを基本とする器具 4 0 は小さい、曲がらないチューブ 4 8 からなり、チューブはプラスチックシースあるいはニチノールのような形状記憶材料を使用して作られたた経皮的に曲がる軸 4 2 の末端 4 3 で構成されそして配置される。

【 0 0 8 6 】

好ましい実施態様において、試料採取あるいは取り込の間、多目的カテーテルあるいは同様の器具が心臓隔膜にあるいは近くに位置される。例えば、蛍光鏡および/あるいはエコー心電図のガイドを使用して、多目的カテーテルが内部頸静脈に挿入され、心臓隔膜の適切な位置まで進む。これらの優れた技術は心臓隔膜に近づく他のポイントが可能であることを評価できそしておのおのはここに包含される。

30

【 0 0 8 7 】

多目的カテーテルは適切に位置付けられて、チューブ組立体 4 0 はその先端 4 3 で構造化され配置された経皮的に曲がる軸 4 2 と曲がらないチューブ 4 8 からなる。チューブ 4 8 の尖った刃 4 6 は完全な心筋組織試料 4 1 を得るために隔膜に力をつける。尖った刃 4 6 はさらに隔膜内に進むため、心筋組織 4 1 は中空チューブ 4 8 の先端 4 3 に入り、前面部分 4 5 に対して押しつけることによりスタilet 2 0 を置き変える。前面部分 4 5 が離れた距離、例えば、曲がらないチューブ 4 8 の先端 4 3 から 1 c m 場所を変えると、心筋組織 4 6 を含む曲がらないチューブ 4 8 は取り去られる。望ましくない実施態様において、隔膜壁の位置は壁の厚みが得られる試料の長さに一致して選ばれる。この場合において、試料採取チューブは壁を通して浸入し、それにより場所から試料の端を切断するかあるいは引き離す必要性をなくす。代わりに、試料採取器具は残っている組織から試料を取り入れるための切断道具あるいは刃を含んでいる。

40

【 0 0 8 8 】

図 4 A および 4 B を参照して、心筋組織 4 6 を曲がらないチューブ 4 8 を伴う経皮的に曲がる軸 4 2 を使用して哺乳類器官の第 2 の部位に心筋組織 4 6 を埋め込む段階が記述される。望ましくは、チューブ組立体 4 0 は心筋組織 4 6 を処置箇所 4 7、例えば、心筋梗

50

塞の傷あるいは虚血性心筋組織へ、心臓表面的に移送する。前述したように、実施態様の方法は中間段階の細胞の変質、すなわち細胞の培養段階をなくす。

【0089】

本実施態様において、図4Aにおいて、心筋49は自由な壁44内の処置箇所47を含んでいる。ガイドカテーテルは最初に心筋49、例えば、大腿骨動脈50を通して導入され、そして処置箇所47に位置づけられる。蛍光鏡および/あるいはエコー心電図のガイドは必需品として使用される。チューブ組立体40はそれからガイドカテーテルを通して左心室に進入される。

【0090】

曲がらないチューブ10の尖った刃41は処置箇所47を突き破り、中空チューブ48は処置箇所47に導入されそして希望する深さに進む。中空チューブ48は希望する深さに位置づけられ、中空チューブ48は処置箇所47から引き抜かれる。

10

【0091】

中空チューブ48は続いて引き抜かれるので、スタイレット20の軸51はスタイレット20を保持するため、そして特に、スタイレット20の前面部分45は静止あるいは実質的に静止を保持するため制御される。結果として、中空チューブ48は続いて引き抜かれるので、スタイレット20の前面部分45は引き続き心筋生体組織46を押し出し、左心室の自由な壁44の処置箇所47内に心筋組織46を残す。

【0092】

実施態様の移植方法はまた傷ついた哺乳類心筋組織の部位の細胞増殖を増加しあるいは強めるためおよび/あるいは傷ついた心筋をもつ哺乳類被検者の心臓機能を改善するため使用される。同様に、実施態様の移植器具は、傷ついた心筋部位を修復するために、組織試料を心筋の部分に埋め込むためドナーの箇所から試料細胞の変質なしに取り戻すために使用される。

20

【0093】

手順の効果を測定するために、13頭の30から40kgのヨークシャ豚が筋肉へのケタミン(ketamine)(10mg/kg)とイソフルラン(isoflurane)吸入麻酔で麻酔された。右大腿骨動脈が殺菌状態で外科的切除を経てさらされそして6Fr動脈シース(Cordis, Miami, Florida)が挿入された。ヘパリン(Heparine)が投与された(100IU/kg IV)。左冠状動脈のカテーテル化が実施されそして6Frホッケー棒状ガイドカテーテル(Cordis)が左大動脈に位置づけられた。0.014インチガイドワイヤーが左冠状動脈(LAD)に進められそして2.75mm×20mmの血管形成バルーン(Maverick balloon, Guidant)が第1体角枝(D1)を取った後の中央LADに置かれそして60分間、前壁心筋梗塞を発生するために膨らまされた。場所は右前斜め前壁(30%RAO)と左前斜め前壁(60%LAO)の両方に所見が認められた。心室細動は外部除細動で終息されそして持続した心室性期外収縮はリドカイン(lidocaine)(100mg IV)、アミオダロン(amiodarone)(75-150mg IV)および硫酸マグネシウム(2-4g IV)の丸薬と点滴で抑えられた。EKGがST上昇のため監視された。バルーンは60分で縮まされそして取り外された。

30

40

【0094】

心筋補助循環法が梗塞の緊急設定で実施された。第4肋間を通して右前壁開胸が実施され、心膜が開かれ、そして肺が引き込まれた。右心室の壁は切開されそして短い8Frシース(Cordis)が挿入され、そして巾着縫合で安全にされた。バイオプトム(bioptome)(Cook Inc, Bloomington, IN)が8Frシースを通してRVに挿入されそして蛍光鏡ガイドに従い隔壁を目標とした。6個と10個の間の試料(平均9個)が右心室隔膜から肝臓バイオプトム器具で得られた。本実施態様において、分離した挿入器具が使用される。試料はそれからマイクロピンセット挿入器具(引き込み可能なマイクロピンセットをもつ16-ゲージ針)内に移送された。7頭の動物が筋肉挿入のため分散されそして他の6頭製の制御体が偽挿入を受けた。動物はそれから4週間

50

回復されるようにした。

【0095】

動物は梗塞4週間の後、1.5T General Electric Twin Speed Scanner (GE Healthcare Technologies, Milwaukee, WI)でMRIを受けた。次の測定が実施された：1)薄くなり、壁の動きがなくそして灌流画像に陰影のないことを示す心筋の箇所と決められる心筋壊死の範囲、2)休止する左心室駆出率(EF)、および3)磁気共鳴第1通過灌流解析を使用する心筋評価をし、そして4)遅延増強画像により評価される心筋梗塞容量。

【0096】

動物は右肘前の位置に置かれそして整列の形をした心臓コイルが胸の周りに置かれた。機械的振動とガス麻酔が走査の間、継続された。偵察画像が心臓の短軸そして長軸の像を決定するため取得された。高速画像採用定常状態習得(FIESTA)を使用してパルス系列が全体のLV機能を評価した。短軸の映像が同期ECGでそして無呼吸で取得された。心臓は8から10のLV短軸スライスでベースから先端へ画像化された。画像の変数は次の通りである：TR/TM=3.8/1.7ms、フリップ角45°、224×224マトリックス、隙間のない8mmのスライス厚み、バンド幅125kHz、視野26cmそして1NEXであつた。

10

【0097】

MR灌流画像は短軸映像にそれぞれ適合される三つのスライスにおいて取得され、同期ECGおよび無呼吸の多相高速グラディエントエコー-エコー行列(EGPET-MP)パルス系列で心臓、心室中部、および心筋頂端断片を表す。ベースラインの画像として系列の3から5の心臓脈動開始の後、第1通過灌流画像が、0.1mmol/kg体重ガドリニウム-DTPA(Magnevist, Berlex Laboratories, NJ)の3.0mL/secの速度で注射の静脈注射の後、確保され、灌流ポンプで3.0mL/secで20mLの生理食塩水の流水が追加され、合計50相がそれぞれのスライドに確保された。画像の変数は次を含む：TR/TM=9.3/1.8ms、反転時間160ms、エコーの列の長さ4、128×128マトリックス、フリップ角25°、スライスの厚み8mm、視野26cm、区分の間隔2mm、バンド幅125kHzを含む。

20

【0098】

梗塞の寸法は遅延増強MRI技術を使用して解析された。画像は第1通過灌流画像の後15分確保された。同期ECG、無呼吸保持、2Dインターリーピング、反転回復法、高速リコイルエコー、パルスシーケンスを使用して。全部で8から10の連続する短軸スライスが全LVをカバーするため基礎から頂点まで処方された。画像変数は次のようであつた：TR/TM=6.7/3.2ms、反転回復時間180から220ms、フリップ角20°、256×1192マトリックス、スライスの厚み8mm/隙間なし、バンド幅31.25kHz、視野26cm、そして2NEX。反転回復時間は通常的心筋をゼロにするための要求されるように調節された。

30

【0099】

全ての測定は市販のソフトウェア(MASS Analysis, General Electric)でブラインドされた検査者によってオフラインで解析された。心筋灌流解析のため、短軸画像がスライス部分と獲得時間に従って分類され、LV心内膜床欠損および心臓表面打撲傷が手動で引き出され、そしてスライス当り6個の等角切片(前壁、前壁側壁、下壁、下壁中隔、前壁中隔)は参照点として右心室の前壁中隔挿入を自動的になされた。6個の切片心筋信号の上向き勾配は、入力機能の測定と見なされる左心室腔における信号の上向き勾配によって区分された。

40

【0100】

LV圧力は従来の方式でLV中に置かれた高い精度のマイクロマンメーターカテーテルで測定された。LV圧力の変化割合(dP/dt)は10ビートで測定されそして平均化された。全てのデータは数値的に記録されそしてオフライン分析のため保存された(Sonometric Corporation, Ontario CanadaからのSo

50

nosoft)。

【0101】

梗塞と処置の後4週間、動物はペントバルビタールの致死注射で犠牲にされた。実験の終了で、心臓は採取されそして5個の標準スライスに切断された。頂点と中央のスライスはリン酸塩緩衝液に1% TTCで染色された(Sigma Chemical)。心臓スライスは20分、38℃で培養された。染色されたスライスは綺麗なアセテートガラス上に置かれそして心筋部分は面積計で測定された。残った心臓筋肉組織はパラフィン取り込みおよびヘマトキシリンおよびエオシン染色のため緩衝された生理食塩水中10%ホルマリン中に置かれた。組織はまた続く蛋白質分析(VGEF、FGF-2、TGF-β、およびPECAM-1蛋白質発現のため)のため液化室素中-80℃で急速に凍結された。

10

【0102】

心筋細胞はRIPA溶液(Boston Bioproducts; Ashland, MA)によってホルマリン漬けされそして10% SDS-ポリアクリルアミドゲルで分割された。蛋白質抽出物はポリビニリデンジフルオリド膜(Millipore; Bedford, MA)に移された。VGEF、FGF-2、TGF-β、およびPECAM-1がこれらのそれぞれの特別の抗体(Santa Cruz Biotechnology, CA)で検出された。イムノプロット法が強調化学蛍光ウエスタンブロッティング試薬(Amersham Life Science; Arlington Heights, IL)により可視化された。画像濃度測定全ての値はImageQuantソフトウェアにより計量化されそして試料負荷により調整された。

20

【0103】

データ解析およびグラフ化はStatViewソフトウェアパッケージを使用して実施された。グループは0.05の統計的有意義検定のためp-値すそ切りでtwo-tailed student t検定を使用して比較された。データの標準分布はパラメータ的解析を実施する前に評価された。適当な補正が多重比較のためになされた。

【0104】

バルーン閉塞の心筋梗塞方法の最初の発生はバルーン閉塞の間の心室細動に続く死亡率20%以下と関連づけられた。埋め込み手順に伴う付加的な死亡はなかった。動物は低血圧あるいは持続した不整脈なしに右心室隔膜の試料切除および前壁の埋め込みの両方を許した。細胞の定着は埋め込み後4週間で次の経過的および形態測定評価によって示されるように生き残った。

30

【0105】

LV心筋はスライス当り6個の等角切片に分けられた。各スライスに対し、前壁、前壁中隔、および側壁は心筋信号強度増強対時間の最大上向き勾配に基づくMR第1通過灌流によって測定された。非処置の中隔壁に対する処置前壁の灌流比は処置動物の 1.2 ± 0.12 に対し制御されたものは 0.86 ± 0.05 であった($p < 0.01$)。すなわち、灌流は制御された動物におけるよりも処置動物の前壁において大きかったがしかし処置がされなかった隔壁箇所では相違はなかった。結果は図5Aに図示される。MRIにより評価された灌流の相違は梗塞容量の測定と同様に心筋機能の一般的な評価と相関した。

40

【0106】

MRIの遅延増強により測定された心筋梗塞の平均容量は、梗塞寸法を減少した心臓組織移植を示し、処置動物で 2.2 ± 1.5 mL対制御された動物の 5.42 ± 0.5 mL($p = 0.04$; 図5B)であった。測定は灌流を評価するために使用した心筋の同じスライスでなされた。

【0107】

%壁の肥厚は統計的有意義検定に達する結果($p = 0.069$)で非処理対照物よりも処理動物の前壁において6倍大きかった(図6Aおよび6B)。埋め込まれていない隔壁においてはそのような相違は見られなかった($p = 0.4$)。

同時に、壁運動の成績は制御体($p = 0.17$)に比べて埋め込まれた動物の前壁にお

50

いて隣接する前壁における改善された収縮性の転換により隔壁と全く同様に増加する傾向にあった(図7Aおよび7B)。二つのグループの間の総括駆出率(32%対37%、 $p = 0.35$)は統計的有意義検定に達しなかった(図8A)。

【0108】

最大の dP/dt によって測定した収縮性は処理したグループで 1295 ± 215 mmHg/sそして制御グループで 817 ± 91 mmHg/s ($p < 0.05$)であり、総括心臓収縮心筋機能が処置動物において改善され(図8B)、%前壁肥厚MRI結果と一致したことを示している。

【0109】

TTCによる心筋梗塞寸法の形態測定は梗塞寸法の心臓組織の移植の効果を決定するために行われた。梗塞寸法は中央LAD(ポストD1)に各手順の間バルーンを位置づけることおよび60分間膨脹を維持することにより制御された。手順を標準化したにもかかわらず梗塞寸法は解剖の変化により幾分変わった。人間は動物間の梗塞寸法を正確に制御できないため、前壁梗塞は隔壁がないところで処置されたので、前壁梗塞の寸法は中壁梗塞の寸法に対して標準化された。動物対動物の梗塞寸法の差を数えそして前壁の心臓組織移植の効果を分離するために我々は%前壁対隔壁梗塞寸法を比較した(図9Aおよび9B)。処置動物と非処置動物の間の梗塞寸法に顕著な差はなかった。処置動物の前壁の%梗塞寸法 $11 \pm 4.5\%$ に対し非処置動物において $29 \pm 5\%$ ($p = 0.03$)であった。隔壁箇所の%梗塞寸法に二つのグループ間の差はなかった(21%対22%; $p = 0.88$)。

【0110】

心臓補助循環法のための灌流および心筋機能における改善の基礎となる機構を説明するために、病理組織および蛋白質発現解析が梗塞した心筋に関して実施された。VEGF、FGF-2、およびPECAM-1蛋白質の水準は処置動物において著しく低かった。さらにTGF-betaの水準は非梗塞ゾーンに比較して処置動物の梗塞前壁において低くなる傾向であった。ウエスタンしみからの濃度測定は図10Aから10Dに示される。

【0111】

ここに記述することは安全で、効果的でそして全く完全な同種の心筋組織で、伝染の可能性のある合併症をもつ細胞の増殖および減少した細胞の生存のための必要性をなくす心臓補助循環法を実施する簡単な方法である。このアプローチは冠動脈バイパス移植片のような計画された再建術(CABG)間、相当容易に実行できる。

【0112】

さらに重要なことに、全生体組織の埋め込みは、細胞の切断を避けてそして自然のサイトカインおよび細胞外マトリックス足場内の成長因子と同様に完全な組織構成を保持する。心臓補助循環法で処置された前壁内に局所的に観察される灌流の改善は、埋め込みの細胞外マトリックスからの増殖因子の分泌作用によることが可能である。我々のウエスタンしみ解析は、しかしながら、LV機能が平準化したため梗塞ゾーン内の血管新生因子発現(VGGF, FGF-2)の減少した水準を示した。組織は埋め込み後4週間で採取された。かくして、水準は処置グループにおいて完全な修復過程と再建術を反映した。心臓の幹細胞は生体組織に含まれそして細動脈を分化し、そして梗塞ゾーンによる高い水準の血管新生の精密度のための必要性が部分的に減少されるに十分な再生能力を提供する。組織試料に含まれる内皮細胞は心外冠状血管に移動できそしてそれにより改善された灌流および改善された内皮機能に貢献できる内皮を修復することができる。

【0113】

幹細胞および心筋細胞の埋め込みは新しい心室心筋細胞に同調して鼓動する結果にはならないがしかし埋め込みサイトに付加的な隣接部位における再モデル化工程にプラスに影響することにより心筋機能を全般的にむしろ改善する。非処置動物に比べて処置動物の減少した梗塞容量は心筋再生が起きることを意味している。細胞外マトリックスを伴う心室心筋細胞および増殖因子の埋め込みは特有の細胞が好ましくない傷の中に挿入されるときよりも良い。この心臓補助循環法技術は、減少したフィリング圧力および壁の緊張から派

10

20

30

40

50

生するような血行力学的測定における増大したピークの伸縮性 (dP/dt) により証明されるように心筋機能における全般的な改善になった。現在のMRI測定は灌流および処置壁内の梗塞容積の減少の両方における改善を示している。付加すると、埋め込まれた前壁の%肥厚は、壁運動のスコアと同様に、非処置動物と比べ処置動物において改善された。これは前壁の収縮に埋め込みの直接的貢献を示している。非処置の隣接の隔壁における収縮性の改善は統計的に顕著でなく、そして心臓運動のスコアに僅かな改善傾向が前壁の伝わった運動によるようであった。駆出率の相違の大きさは動物の少ない数と個々の動物の変異性により、統計的に顕著ではなかった。機能的解析の結果はTTC染色の形態測定解析によりまた確認され、そして梗塞寸法は非処置の隔壁に比べて処置前壁において小さかった。経過的解析は埋め込み後4週間での移植組織の変異性を確認した。

10

【0114】

埋め込まれたグループと偽の手術をされたグループにおけるMRIによる梗塞容量を比較する。隔壁の梗塞寸法により標準化された梗塞の寸法は二つのグループで差はなかった。梗塞容量は処置動物で40%低かった。

【0115】

組織の切除および埋め込み手順の効果を梗塞後2週間組織で測定するために、12頭のヨークシャ豚が麻酔されそして6Frカテーテルシースが左前冠状動脈に血管新生バルーンを挿入する目的で大動脈に挿入された。

【0116】

心室細動は終息されそして外部除細動そして持続した心室性期外収縮はリドカイン、アミオダロンおよび硫酸マグネシウムの丸薬と点滴で抑えられた。バルーンは60分で縮まされそして取り外された。動物はここで記述するように心臓補助循環法が実施され、2週間回復させその後、述べるように、右心室壁は切開されそして短い8Frのシースが挿入された。バイオプトムが右心室に8Frシースを経て挿入され隔壁を目標とした。

20

【0117】

右心室隔壁から6個から10個の試料が取得されそして試料は左前冠状動脈から約0.5cmそしてD1/D2分裂で左心室冠状動脈内に埋め込まれた。

【0118】

心筋梗塞2週間後そして心臓補助循環法ベースライン時に電子放射線法が右心室駆出率の変化および部位壁運動、および左心室端心臓拡張寸法を評価するため実施された。2次元電子放射線法が仰向け位置の動物の左胸骨軸窓から実施された。

30

【0119】

端心臓収縮(ES)と端心臓拡張(ED)の左心室腔寸法がMモードで決定された。駆出率は次の式で計算された：

$$\frac{(ED_{容積} - ES_{容積})}{ED_{容積}} \times 100$$

壁の運動は短い胸骨左縁軸観察で評価された。梗塞よって影響された頂点を可視化するために、心外の電子放射線法が胸部手術のときにまた実施され、標準の心外観察が得られた。測定は梗塞後4週間に器官の採取のとき繰り返された。

【0120】

左心室圧力は従来の方式で左心室中に置かれた高い精度のマイクロマンメーターカテーテルで測定された。左心室圧力の変化割合(dP/dt)は10ビートで測定されそして平均化された。全てのデータは数値的に記録されそして前述したようにオフライン分析のため保存された

40

【0121】

左心室圧力は3.5JL5Fカテーテルで測定されそしてSonoSoftソフトウェアでまた記録された。これらの測定は、心筋梗塞後4週間の採取の時と同様に、最初の心筋梗塞の後埋込み2週間の時に取得された。

【0122】

実験の終わりに心臓は採取されそして五つの標準寸法のスライスに切断された。頂点と中央のスライスはリン酸塩緩衝液中1%トリフェニールテトラゾリウム塩化物(TTC)

50

で染色された。心臓スライスは20分、38 で培養された。染色されたスライスは綺麗なアセートガラス上に置かれそして梗塞面積は面積計で測定された。特に重要なこととして、独立した2人観察者が梗塞面積を測定しそして結果は統計的解析に従わされた。

【0123】

残った心臓筋肉組織はトリクローム染色と同様に、パラフィン取り込みおよびヘマトキシリン-エアシン染色のため緩衝された生理食塩水中10%ホルマリン中に置かれた。組織はまた続く蛋白質分析のため、例えば、VEGF、FGF-2、PECAM-1および反アポトーシス蛋白質IAP染色およびマトリックスメタロプロテアーゼ発現のため液化窒素で-80 で急速に凍結された。動物はペントバルビタールの致死注射で犠牲とされた。

10

【0124】

心筋細胞はRIPA溶液によってホルマリン漬けされそして10%SDS-ポリアクリルアミドゲルで分割された。蛋白質抽出物はポリビニリデンジフルオリド膜に移送された。VEGF、FGF-2、IAP-20およびPECAMがこれらのそれぞれの特別の抗体で検出された。イムノブロット法が強調化学蛍光ウエスタンブロッティング検査試薬により可視化された。

【0125】

画像濃度測定のための全ての値はImageQuantソフトウェアにより計量化されそしてRonceau Red染色による試料負荷比により調整され、そして梗塞寸法に標準化された。

20

【0126】

パラフィン組織は抗原回復技術、例えば、沸騰したクエン酸塩緩衝液への浸漬、を行った。免疫組織化学法がanti-sca-1を1:250希釈、mdr-1を1:40希釈、そしてc-kitを1:200希釈を使用して実施された。アンチイソタイプの二次抗体(1:250希釈)およびジアミノキシベンジジン発現システムをもつ抗原性賦活化システムが初生の幹細胞を可視化するため使用された。切断部はヘマトキシリンで対比染色されそしてカバー スリップされた。

【0127】

細胞は画像分析ソフトウェア、例えば、SpotAdvancedを使用して計算された。細胞は各動物においていくつかの代表的な10倍被写界で数えられた。データは10倍被写界当りの細胞の平均数で表される。

30

【0128】

データ解析およびグラフ化はStatViewソフトウェアパッケージを使用して実施された。グループは0.05の統計的有意義検定のためp-値すそ切りでtwo-tailed student t検定を使用して比較された。データの標準分布はパラメータ解析を実施する前に評価された。適当な補正が多重比較のためになされた。データはTTC染色データを除いて標準偏差をもつ平均値として表され、ここでは標準誤差は二つの別々の測定が動物当りでなされそして個々の試料として処理されたことを仮定して使用された。同様の分析が心筋梗塞の急性モデルにおいて実施された。

【0129】

バルーン閉塞の心筋梗塞方法の最初の発生はバルーン閉塞の間、心室細動に次いで死亡率20から30%と関連づけられた。心臓補助循環法手順に伴う付加的な死亡はなかった。動物は低血圧あるいは持続した不整脈なしに右心室隔膜および前壁の生体組織埋込みの両方を許した。細胞の定着は埋め込み後4週間の次の経過的および形態測定評価によって示されるように100%に近づいた。

40

【0130】

心筋組織の処置動物は2および4週間梗塞後で同じ駆出率(49%±6.5%対46%±7.4%; p=0.52)を維持した。対照的に図11Aに示されるように非処置動物においては駆出率は(50%±10.4%対36%±8.7%; p=0.038)顕著に減少した。これは心筋組織の埋め込みは心筋梗塞の後続いておきる好ましくない変化を防

50

止したことを示した。

【0131】

血行力学的評価結果は収縮 (+ d P / d T) 機能および拡張 (- d P / d T) 機能の両方においてエコーの結果と並行し、同様にフィリング圧力は梗塞後2および4週間の間、処置動物に変化がなかった(それぞれ、図11B、11Cおよび11D)。左心房圧力は17対16 (p = NS)、d P / d Tは874対763 (p = NS) および - d P / d Tは716対676 (p = NS) であつた。

【0132】

他方、非処置制御動物は + d P / d T (906から609にダウン、p = 0.009) 10
そして - d P / d T (850から599にダウン、p = 0.0332) を顕著に減少した。
これらは左心房圧力をまた増加した(14から20に上昇、p = 0.0169)。これは再び心筋梗塞の後続いておきる左心室の機能の衰退を防止する心筋の役割を示している。

【0133】

TTCによる心筋梗塞寸法の形態計測は梗塞寸法の縮小についての心臓補助循環法の効果を確認するためになされた。前述したように、各手順および60分間梗塞を維持する間、梗塞寸法は中央左前冠状動脈(後第1対角枝)にバルーンを位置づけることにより制御された。これは、しかしながら、動物間のいくつかの差異によるものであつた。

【0134】

この差異および平均梗塞寸法は電子放射線法によって測定されたようにランダム化する 20
以前の梗塞2週間後の動物グループの間の差異はなく、例えば、駆出率は二つのグループで50%と49%であつた; p = NS。非処置制御のものと心臓補助循環法処置の動物の間の梗塞寸法において顕著な相違があつた。処置動物の前壁における%梗塞寸法は図12Aに示すように制御動物におけるよりも顕著に小さかつた(21.4% ± 3.3%対33.4% ± 2.2%; p = 0.006)。急性心筋梗塞モデルと同じではなく、心筋再生における心筋組織の全般的な効果を示す図12Bのように、非処置隔壁における梗塞寸法に顕著な相違がまたあつた(16.2% ± 3.3%対27.1% ± 3%; p値 = 0.024)。

【0135】

TTC染色評価は二人の独立した観察者の間に矛盾はなかつた(相関係数 = 0.82、 30
p = 0.0005)。

【0136】

H & E (ヘマトキシリン - エアシン) およびトリクローム染色による微視的解剖解析は梗塞の拡大した箇所が存在および前壁中隔箇所における繊維症を確認した。処置動物において生き残った埋め込みは多くの組織部分で存在することが分かつた。

【0137】

埋め込みに隣接しおよび梗塞部位の中で m d r - 1 に対して活性な初生幹細胞の注目すべき増加した数が見られた。これらの細胞は非処置の制御動物においては数多くなかつた(10倍被写界当り平均細胞数 9 + 6.2対17 + 3.9; p = 0.038)。s c a - 1細胞の数は二つのグループの間に顕著な差異はなかつた(13 + 13対16 + 25; p 40
= 0.84)。他方、c - k i H 幹細胞は制御(非処置)動物において数が多かつた(7.8 + 6対0.6 + 1.3; p = 0.034)。

【0138】

従つて、m d r - 1はプラスでそして多分 s c r - 1はプラスの成体の心筋幹細胞が潜在的に埋め込みから梗塞部位内に始まりそして転移したことがこの結果から推論される。これは対照的に梗塞の後、骨髓から心臓の前駆細胞の取引であり、これは非処置動物の c - k i H 前駆細胞の増加した数に原因があるかも知れない。P E C A M - 1染色は処置動物において毛細血管と新しい血管の数の増加を示した(図13)。

【0139】

心臓補助循環法よる心筋梗塞の改善が新しい血管新生蛋白質発現によって成立したかど 50

うか調査するために、梗塞した心筋の解析が実施された。VEGF-2(23kDa)蛋白質のレベルは処置動物のグループにおけるより2倍低い傾向があった(図14A)。同種の心室心筋細胞での処置は、梗塞ゾーン内の組織修復と同様に外因性の血管新生および増加した組織灌流の必要性を減少させることを示している。

【0140】

他方、PGF-2レベルは両方のグループにおいてベースラインより3から4倍等しく上昇する傾向であった。

【0141】

心筋機能障害および左心室肥大を防ぐ心筋組織の観察した結果を考えると、マトリックスメタロプロテアーゼMMP-2および-9の発現は、好ましくない梗塞後再モデリングに含まれると知られているマトリックスメタロプロテアーゼ-2(TIMP-2)と同様に評価された。処置動物における維持された心筋機能はMMP-2の2倍低いレベルの傾向(図15A)およびTIMP-2の2倍高いレベルの傾向(図15B)と相関した。MMP-9は心筋梗塞後のMMP-9の動力学から期待されるように両方の動物グループにおいて下向きに調整された。

10

【0142】

梗塞の潜在的な複雑性をもつ細胞の増殖および減少した細胞の生存の必要性をなくす実施態様の方法は冠状動脈バイパス移植片手術(CAGB)あるいは血行再建手術ができそうにない患者のためのビデオ援助による胸部鏡を介し計画した血行再建手術の手順の間実施できる。これらの結果は心臓細胞の埋め込みが拡大した前壁心筋梗塞後に観察される心筋機能の動かしえない退化を防ぐことを証明している。これは処置動物における血行動力学的パラメーターと同様に駆出率の保存の証拠となる。これは駆出率が急性心筋梗塞の設定において約3から7%増加する先の結果の効率を保っている。

20

【0143】

慢性虚血症の心臓補助循環法は、それぞれ雌のネズミの心筋梗塞後においてSPEC TおよびMRI画像により梗塞寸法および収縮性が減少されることを示し、そして新しい血管が形成されたことを示した。この機構は処置動物の埋め込みサイトの周囲の梗塞ゾーン内のmdr-1活性幹細胞の全体の増加数を与える活動である(図16)。mdr-1活性細胞は心筋細胞、内皮細胞、平滑筋細胞および繊維質に分化することが示される。

30

【0144】

sca-1は幹細胞に付加して内皮細胞に発現する。sca-1の活性細胞が呈する数は多分scs-1活性幹細胞の真の数を混乱する内皮染色の理由でグループ間で等しかった。

【0145】

c-kit活性細胞は多重の系統を再生できそしてmdr-1およびsca-1活性細胞よりもさらに多機能性がある。c-kit活性細胞の増加は非処置試料において見つめられた(図17)。未成熟のc-kit活性幹細胞はこの場合、骨髄から分岐されそして埋め込み-分岐したmdr-1およびsca-1心室心筋前駆細胞の欠落を与えられた梗塞箇所が高い数で回復された。

40

【0146】

成体のネズミに似た心筋において、sca-1活性c-kit非活性細胞は心原性転写要因を現すがしかし心臓前駆細胞になりそうな構造的遺伝子を現さない。事実、sca-1活性c-kit非活性細胞は梗塞境界ゾーンに生息しそしてこの部位の心筋細胞の数を15%上昇させる。

【0147】

肥大した心臓において、c-kit、mdr-1、およびsca-1活性細胞はまた制御されたものと比較して増大された。これらの細胞の数は、しかしながら、sca-1およびmdr-1細胞をこの桁で数が勝るc-kitと等しくはなく、心臓の前駆細胞は分化の異なる段階で、これらの指標を現すことを示唆している。mdr-1活性細胞はc-kit活性細胞よりもっと分化されそして、それ故、埋め込みの富化された環境により処

50

理動物における大きな生き残りと分化速度をもつことが可能である。

【0148】

処理動物の *mdr-1* 活性細胞におけるこの富化に対して異なった説明がある。埋め込みから梗塞および梗塞周辺ゾーンへの直接の移動よりもむしろこれらは、埋め込んだ組織により提供される生息信号に応じた心臓の心房および右心室の外側流れの器官系から、回復される。

【0149】

分娩後の心臓未分化細胞である *isl-1* 細胞は心臓のこれらの部位においてさらに優勢でそして心筋梗塞の間に回復される。

【0150】

成人の心臓幹細胞の分化能力はこれらの老境、すなわち、テロメラーゼ逆転写トランスクリプターの発現によってだけでなく、心筋中の低下した栄養上の因子によっても同様に制限される。過去にこの問題は *NOGA* カテーテル電気機械的マッピングガイダンスを使用して梗塞周辺の活動していないゾーンに心臓未分化細胞を埋め込むことによって部分的に回避された。しかしながら、隣接する梗塞分化された心室心筋細胞と一緒に幹細胞を埋め込むことによって、分化に必要な栄養因子をもつ幹細胞が提供された。

【0151】

幹細胞は他の細胞より耐久性があると言われるけれども、これらは梗塞されそして灌流のない環境ではまた乏しく生き残る。かくして、埋め込みによって作られた血管新生後微小環境は生存できる *mdr-1* 活性細胞の数を増加することにおいて他の装置的な因子であるかも知れない。

【0152】

急性心筋梗塞モデルにおけるこれらの測定と一致して、最初的心筋梗塞後4週間および心臓補助循環法処置後2週間において *VEGF-2* レベルは処置動物において低かった。心筋梗塞4週間後において、心筋機能の駆出率および他のパラメーターは心臓補助循環法での処置動物において回復したとき、*VEGF-2* 水準は既に下方調整されていたことに注目せよ。非処置でそして低い心筋灌流と心筋機能障害をもつことを続けられた動物はなお上昇した *VEGF-2* 水準を維持した。

【0153】

本発明に従う他の実施態様100において、試料は動物あるいはヒトの脳から採取されそして細胞の再生を提供するため損傷あるいは病気の組織に埋め込まれる。プローブあるいはカテーテルはまず身体に挿入され102、試料採取器が器官に挿入され104そして組織試料が切除される。採取器は試料の変質なしに埋め込みのため再位置付けされるかあるいは代わりに埋め込み110に先だって試料が測定されるか108あるいはその細胞の特性が変質される。器官の機能はそれから評価される120かあるいは監視される。

【0154】

本発明に従う一つの実施態様は同種の心筋組織移植のための開胸外科手術手順である。冠状動脈バイパス移植片 (*CABG*) のための開胸外科手術をうける最近の心筋梗塞を持つ患者が同じ手順で実施される心筋組織移植を受けることができる。患者は通常方式で2等分胸骨縦割法を受けそしてバイパスを設置することができる。心臓は完全に曝露され、心臓の壁は全て容易に評価される。生存する心筋区域に必要なバイパス移植片を縫い合わせた後 (例えば、左中乳房動脈 (*LIMA*) および潜在静脈移植片)、予備手術的タリウム核研究あるいは心臓の磁気共鳴遅延強化画像法により決定した生存しない傷つたい区域が同種の心筋組織移植により処置される。

【0155】

右心室自由壁が番号11の刃で切開される。巾着縫合治療が行われ、そして6 *French* 大腿骨大動脈シース (長さ5 *cm* に切断) が右心室に挿入される。縫合はシースを場所内に確保し手順の終わりに切開の容易な修復をさせる。シースの側端腔を通して血管造影法造影剤が基底隔壁の位置を描写するため挿入される。右心筋移植カテーテル器具が6 *French* シースを通して挿入されそして蛍光鏡あるいは経食道電子放射線ガイダンス

10

20

30

40

50

のもと基底隔壁に対して位置付けられる。心筋組織移植片が隔壁を完全に通したハイポチューブの尖った先端の挿入およびハイポチューブの引き込みにより得られる。器具は右心室から回収されそして心筋の傷跡に置かれる（例えば、前壁心筋梗塞の場合は前壁左心室壁）。尖った刃先は心筋壁に対して垂直（任意には45°の角度で）位置づけられそしてスタイレットによって決まる深さで壁に挿入される。スタイレットはスライドする機構がハイポチューブの引き込みをさせ、左心室内の埋め込む生体組織を残す間、位置に保たれる。カテーテル器具はそれから前壁から動かされる。

【0156】

ハイポチューブは先端で切断刃先を曝すために前に進められそしてカテーテル器具はシースを通して右心室に再挿入される。心筋移植片切除および移植の過程はそれから梗塞ゾーンの寸法に依存して6から10回繰り返される。

10

【0157】

本発明に従って心筋組織移植は開胸技術（すなわち開胸手術）により実施され、その間心臓は心拍停止にありそして循環が心肺バイパスによって維持される。しかしながら、心臓の停止の必要性はそのような手順に伴う危険性を高め、心臓の筋肉に虚血の損傷を起こしそして大動脈遮断やカニューレ挿入から起きる循環の栓塞による心拍あるいは他の傷害を起こす危険性を含んでいる。付加すると、全体の開胸手術は顕著な疾病率および死亡率を発生しそして回復を長引かせる。それ故、いくつかの実施態様で、本発明に従う心筋組織移植は心臓が脈を打っている間に、心臓の内部への胸部鏡の接近を使用して実施される。

20

【0158】

開胸鏡による試みにおいて、肋骨および胸骨は無傷に残りそして手順の間顕著に縮まらない。作業空間が患者の肺の一つを潰すことによるかあるいはジェット換気技術を使用して患者の胸腔に作られる。腹腔鏡あるいは腹腔外科手術顕微鏡のような観察鏡はそれから肋間隙を通して心臓の外側に作業空間を観察するため導入され、一方、貫通が形成されそして接近器具が導入される。観察鏡は手順の間観察することができるモニターに表示するため心臓のビデオ画像を提供するビデオカメラを含んでいる。代わりに、心臓は観察鏡のレンズを通してあるいは肋間隙に位置する套管針スリーブを通して直接観察される。胸腔内への接近は肋間の肋骨隙の小さい経皮的切開あるいは穴を通して得られる。套管針スリーブ、口、あるいは他の型の経皮的接近カニューレは胸腔への機器の導入を促進するために取り巻く組織を保護しそして収縮するようにこれらの切開あるいは穴に置かれる。小さい切開および/あるいは接近口は、胸の後部側の例えば、第3、第4、第5、あるいは第6肋骨間隙に置かれる。少なくともこのような三つの口は通常要求され、移植カテーテル器具導入のための一つ、内視鏡のような可視化装置導入のための一つ、縫合、回収、および他の目的の他の装置の導入のための一つである。代わりに、移植チューブあるいはカテーテル器具が腹腔鏡の生体組織検査チャンネルを通して挿入されるかあるいは可視化のためのファイバー光ケーブルを含んでいる。

30

【0159】

患者は従来の方法で心筋外科手術のため準備され、そして一般的な麻酔がされる。患者は胸の右後部側が上向きに配置するよう患者の左側に位置付けされる。2から3cm長さの二つから三つの小さい切開が通常第3、第4、あるいは第5肋骨間隙内の肋骨の間で行われる。胸部鏡接近口（例えば、套管針スリーブあるいは他のカニューレ）は各切開に隣接する組織を取り戻し、機器が胸腔内に導入されるので組織を外傷から保護するよう位置付けられる。接近口は肋骨の取り戻し、切断あるいは切除を要求されない外径で、望ましくは1.4mm以下で、約1.2mm以下の径の軸通路をもっている。接近口はまた断面が円形でなくあるいは二つの肋骨の間に導入されるとき円形を損なう柔軟な材料で作られる。右肺は右肺内に患者の気管を通してチューブを導入しそして肺を収縮するためのチューブを通して真空にすることによる従来技術で収縮される。ビデオモニターに接続された胸部鏡のような腹腔可視化器具が胸腔の内部を可視化するために接近口の一つを通して導入される。

40

50

【 0 1 6 0 】

心臓の前内部の可視化は心臓の内部を超音波的に画像化するために、患者の食道内、患者の胸の表面、あるいは心臓の外側と隣接するか接触する心臓腔に位置づけられる超音波プローブによって提供される。代わりに先端に半透明なバルブ (b u l b) あるいはバルーンをもつ腹腔鏡が心臓の内部をビデオベースあるいは直接の可視化のため、接近器具を通してあるいは心臓の壁の別の切開を通して導入される。末梢血管を通して心臓の血管内に導入される咽喉鏡は心臓内の可視化のため使用される。蛍光鏡は可視化のための付加的技術である。

【 0 1 6 1 】

それから巾着縫合治療は接近器具が導入されることが望ましいサイト周りの心臓の壁になされる。これは胸腔内に縫合系に取り付けられた曲がった縫合針を導入し、そして心臓の壁を通して円形のおおよそ12から14mmの直径に心臓の壁を通して縫合の縫い目を形成する針をドライブするために、胸部鏡針ドライバーを使用して完遂される。二重の腕の縫合がまた使用され、ここでは縫合系110が両端に針をもち、それぞれの針は巾着縫合の一つの半円部分を形成するため使用される。縫合系は巾着縫合治療が行われる胸腔の外側に引き出すことを縫合の両端にさせる十分な長さであるかあるいは短くそして胸部鏡装置を使用して胸腔内で操縦される。縫合針はそれから胸部鏡用はさみを使用して糸から切り離なされる。

10

【 0 1 6 2 】

約10cmの長さで約5mmの内径のチューブ状接近器具は巾着縫合手術で取り囲まれる箇所から導入される。接近器具は筋肉の心臓壁の貫通箇所周囲をシールするための手段等を含んでいる。シールをする手段は一つあるいは対をなす膨脹するバルーン、チューブ状本体の半径方向に膨脹する部分あるいは本体の先端にフランジを含んでいる。接近器具はチューブ状接近器具の内腔に位置決めできる閉鎖管をさらに含んでいる。閉鎖管は心臓の筋肉壁を貫通するための先端に刃のような手段をもっている。内腔を通じての心臓の血液の流出を防ぎ、内腔における止血を維持する間内腔を通して装置が導入されるようにするため、接近器具は内腔内の止血弁を含んでいる。

20

【 0 1 6 3 】

隔壁生体組織が取り戻されそして梗塞ゾーンに移植されると、接近器具は心臓の壁の貫通から引き抜かれる。バルーンあるいは接近器具の半径方向に広がった部分は止血のため利用されているならば、まず萎むか半径方向に縮まる。接近器具の先端は引き込まれるので、接近器具を取り巻く心臓壁の巾着縫合は密に引っ張られ貫通を閉じる。それから結び目は腹腔鏡機器を使用して体腔内的かあるいは体腔外的のいずれかで巾着縫合内に形成され、その後結び目は身体腔内にそして心臓壁に対して、腹腔鏡結び目押し込み器を使用して押し込まれる。代わりとして、心臓壁内の貫通は接近器具が引き抜かれた後、腹腔鏡による縫合あるいは器械吻合技術を使用して閉じられる。全ての接近口はそれから引き抜かれ、経皮的切開そして貫通孔は閉じられ、そして患者は麻酔から回復される。

30

【 0 1 6 4 】

首が準備されそして右内部頸部静脈は中央線挿入に対してなされたような同じ方式で、針で経皮的に穿刺される。6 Frenchシースがワイヤーを越して内部頸部静脈に置かれる。このシースはIJからのバルーンチップSwan-Ganzカテーテルを上大静脈および右心房を経て右心室内へ挿入するために使用される。これはそれから55cmの多目的のガイドのあるカテーテルに交換される。55cmの長さの曲がらないハイポチューブを伴う心筋組織移植カテーテル器具はそれから器具の尖った刃先から構造を保護するため多目的ガイド内に置かれる。ガイドは、肺の流出気管系を傷つけないよう注意して蛍光鏡のガイダンスのもと隔壁に対する右心室に器具を位置づけられる。心筋組織が得られそしてハイポチューブ内に保護された後、移植カテーテル器具はガイドカテーテルおよびシースを通して取り去られそして5mm口を経て挿入される。胸部鏡カメラの直接の可視化のもと、埋め込まれる左心室の壁は適切に曝露される。脈打つ心臓はグラスパーで安定化される。手順は6から10の移植片が移植されるまで繰り返される。口サイトは2層の

40

50

縫合で閉じられ、そして患者は抜管される。

【0165】

なお本発明に従う他の多の実施態様は同種の心筋組織移植のための血管内手順である。経皮的血管内手順は付随する経皮的冠動脈形成術になりそうあるいは開胸外科手術に対する高い危険性を禁止したい患者に適している。このカテーテルを基本とする試みは重篤な大動脈狭窄症および大動脈弁切開沈着症の患者には適当でない。

【0166】

患者は標準的な方法で、6Frシースで大腿骨動脈穿刺を受ける。標準的な0.035インチのガイドワイヤーは大動脈に進められそしてピッグテイル(pig tail)カテーテルが非浸襲的方式で左心室まで侵入するために使用される。ピッグテイルカテーテルはそれからホッケー棒状ガイドカテーテル、あるいは代わりに片寄らせることのできるチップの付いたシースをもつ移植カテーテル器具と交換される。ガイドカテーテル(あるいは片寄らせることのできるシース)はそれから蛍光鏡ガイダンスおよびLBBBの傷に対するEKG監視で中壁に対して位置づけされる。90cm移植カテーテル器具はそれからガイドカテーテルを通して左室隔壁から心筋生体組織を得るため前に進められる。移植カテーテル器具はそれからガイドカテーテル内に引き抜かれ、そしてガイドカテーテルは処置箇所(左心室梗塞箇所)に対して位置づけされる。移植カテーテル器具は埋め込みのため心室壁内に進められる。ハイポチューブは梗塞箇所の後ろに埋め込み片を残している静止したスタイレット上に引き戻される。移植カテーテルはそれからガイドカテーテル内に引き戻される。生体組織取り戻しおよび埋め込みの過程は6から10回繰り返される。

10

20

【0167】

いくつかの実施態様において、心筋生体組織は脱細胞され、梗塞箇所に埋め込まれる細胞外足場を残す。種々な方法が使用され、アルカリあるいは酸、洗浄剤および酵素で採取した組織を処置することを含んでいる。このような実施態様に対し、生体組織標本は容器内に吸引することにより集められる。容器から、これらは集められそして細胞を崩壊する薬剤を含む溶液に移送される。実施例として、組織標本は50mLの円錐形チューブ内に置かれそして1.0M水酸化ナトリウムに60分間浸漬される。その後、これらは15分間、2回脱イオン水で洗浄される。組織はそれから0.2M炭酸塩緩衝液の5%プロピレン酸化物溶液に浸漬され室温で72時間振盪しながら培養される。組織はそれから脱イオン水で20分間、2回洗浄されそしてそれから70で48時間オープン内で乾燥される。H&E染色後、目に見える核小体の欠如は脱細胞過程を確認するために使用される。この型の脱細胞の組織足場は埋め込む前に再細胞化されるように心筋梗塞箇所に埋め込まれるか、あるいは埋め込む前に再細胞化される。再細胞化のため、足場は、培養地に希望する細胞の懸濁液に足場を添加しそして数時間から数日間バイオリアクターあるいは培養器内に懸濁液を置くことにより患者からの細胞(例えば、心室心筋細胞、線維母細胞、幹細胞、前駆細胞、あるいはこれらの混合物)で、部分的あるいは完全に細胞を足場に再び住むように、種付けされる。

30

【0168】

なお他の実施態様は同種の脳組織移植手順である。脳の生体組織を集めそして埋め込むための移植カテーテル器具は上述した足場負荷器具と同様である。脳組織移植カテーテル器具は器具に付属し、そして器具ハンドル内に任意に取り付けられた容器に脳生体組織標本の緩やかな吸引と収集を使用する。カテーテルの先端の内径はドナー側の被害を制限する150μmである。採取されると、組織標本は無菌の生理食塩水に懸架され、例えば、再生因子あるいは他の薬剤で処置されるか、あるいはポリマー足場に組み込まれる。処置および/あるいは組み込みの次に、組織移植片は目標とする組織内に埋め込むため使用する移送カテーテル器具に受けとられる。

40

【0169】

定位置手術枠が患者の頭蓋骨に置かれる。切開は影響を受けない半球の前頭葉の予め決めた位置にされそして他の切開が梗塞位置上になされる。それからこれらの位置にドリル穴が開けられる。Freed等、N. Engl. J. Med. 334:710(2001)

50

)が参照され、この方法で脳内に細胞を埋め込む説明のためここに引用された。曲がらない脳組織収集カテーテル器具はドナーの箇所のみり穴を通して挿入される。収集カテーテルは2重穴チューブを利用し、一つのチャンネルは組織移植片の吸引のためで、そして第2のチャンネルはドナーの箇所へ無菌の生理食塩水の流れを作り組織移植片を流体の流れの吸引チャンネル内に滑り込ませるためである。器具の横の口は組織の吸引チャンネルのためにカテーテル内を緩やかで、制御された陰圧にする真空器具に取り付けられ、組織はドナーの箇所から吸引された流体と一緒に標本容器内に集められる。患者は手順の間および神経学的状態を評価するためのEEG監視の元では眠っている。

【0170】

収集の後、組織移植片は37℃培養器に置かれる。移植片はポリ乳酸ポリグリコール酸共重合体(PLGA)/ポリ-L-乳酸(PLLA)ポリマーを含むポリマーゲルに包まれ、実体顕微鏡およびマイクロ操縦機の助けで埋め込みのために準備される。製品説明およびPLLA/PLGAポリマー置換体の利用に対してここに参照されたTomita等、Stem Cells 23:1570(2005)を見よ。代わりに、移植片は培養皿内のPLLA/PLGAポリマー層の上に置かれ梗塞箇所へ挿入する前に少なくとも数時間増殖のため培養される。被覆された移植片は搬送カテーテルに取り込まれる。搬送カテーテルは開胸外科手術応用に使用された心筋移植カテーテルと同様である。それは引き込み可能なスタイレットを含む曲がらないハイポチューブをもっているが、しかし心臓用カテーテルよりも短く、長さ5cmのハイポチューブをもっている。ハイポチューブの内径はポリマー足場被覆の付加した容積を許容するために、組織採集カテーテルの直径よりも大きくあるべきである；この場合において、搬送カテーテル内のハイポチューブの内径は300μmである。移植片を含む搬送カテーテルは梗塞サイト上のきり穴内に置かれる。脳埋め込みはそれからハイポチューブの孔を通してスタイレットを前に進ませることににより梗塞ゾーン内に穏やかに流し込まれる。最終的に、搬送カテーテルは梗塞サイトのきり穴から取り去られ、そしてドナーおよびレセプターの開口は閉じられる。

【0171】

本発明に従う他の実施態様は同種の脳組織移植のための血管内手順である。上述で提案された手順のこの変型において、ドナーの脳組織への接近は脳の静脈洞構造を経て得られる。内頸への接近は脳卒中の反対側で得られる。5Frenchカテーテルは前頭葉を覆う層の静脈洞に進められる。この手順のための移植カテーテル器具は長さ30cmの曲げられる2重のチューブを含んでいる。このチューブは前頭葉内に静脈洞の壁を通して前に進められ、そして脳組織移植片は吸引チャンネルに真空を適用し、そして第2チャンネル内に殺菌した生理食塩水を導入することにより標本容器に穏やかに吸引される。脳卒中と同側の内頸静脈は埋め込みのためカニューレされる。5Frenchガイドカテーテルは梗塞部位を覆う層の構造内に位置づけられそして搬送カテーテルはガイドカテーテルを通して挿入される。移植片は搬送カテーテルのスタイレットを前進することにより梗塞箇所へ埋め込まれる。

【0172】

なお他の実施態様は網膜への同種の脳組織の移植のための手順である。脳生体組織は上述の方法により得られる。生体組織の網膜下への埋め込みは双眼外科手術顕微鏡を使用した直接観察のもとで実施されそして1%トロピカミドの局所的適用の後、瞳孔の散大を通して観察される。埋め込みの実施のため、結膜の切開および小さい強膜切開が特別精細な使い捨て外科用メスを使用して行われる。埋め込み片は直径150μmでそしてfine #5Dumont鉗子(Fine Science Tools, North Vancouver, British Columbia, Canada)を使用してあるいは上述のような脳移送移植器具を使用して網膜下スペースに強膜切開を通して挿入される。埋め込みは標準の照明を使用して瞳孔を通じて可視化される。全ての外科手術の結論で、眼底試験は成功する移植片設置を確認するため外科用顕微鏡を介して実施される。

【0173】

本発明は特別な方法および装置と関連づけて記述してきたが、技術的に優れたこれらは

10

20

30

40

50

ここにある特別な実施態様は他の同等なものを認める。説明はいずれも実施例でありそして本発明の範囲を制限することはなくそしてこれらの同等物は以下に発表する特許請求項に包含されることは理解されることである。

【図面の簡単な説明】

【0174】

【図1A】本発明に従う取り戻しおよび埋め込み器具の図示的实施態様を示す。

【図1B】シース (sheath) に取り付けられた可動停止器具をもつ取り戻しおよび埋め込み器具の図示的实施態様を示す。

【図1C】取り戻しおよび埋め込み器具、曲げられるカテーテルおよび制御ハンドルを含むシステムの図示的实施態様を示す。

【図1D】吸引による柔らかい組織試料の取り戻しのためのシステムの図示的实施態様を示す。

【図1E】真空補助取り戻しおよび埋め込み器具の図示的实施態様を示す。

【図2A】ヒト筋肉のダイアグラムを示す。

【図2B】本発明に従う曲がらない器具を使用する完全な筋肉組織を取り戻す方法の図示的实施態様を示す。

【図2C】本発明に従う曲がらない器具を使用する完全な筋肉組織を取り戻す方法の図示的实施態様を示す。

【図2D】取込みストロークの間の取り戻しおよび埋め込み器具の図示的实施態様を示す。

【図3A】処置箇所とともにヒト筋肉のダイアグラムを示す。

【図3B】心筋組織を本発明に従う曲がらない器具を使用して処置箇所内に埋め込む方法の説明図である。

【図3C】心筋組織を本発明に従う曲がらない器具を使用して処置箇所内に埋め込む方法の説明図である。

【図3D】心筋組織を本発明に従う曲がらない器具を使用して処置箇所内に埋め込む方法の説明図である。

【図3E】埋め込みストロークの間の取り戻しおよび埋め込み器具の図示的实施態様を示す。

【図4A】処置箇所とともにヒト心筋のダイアグラムを示す。

【図4B】本発明に従うカテーテルを基本とする器具を使用して処置箇所内に心筋組織を埋め込む方法の説明図である。

【図5A】MRIにより測定した前壁と中隔壁心筋の灌流の比を図示する説明図である。

【図5B】MRIにより測定した処置動物の梗塞容量における改善を図示する説明図である。

【図6A】MRIにより測定した前壁と中隔壁の壁の肥厚をそれぞれ図示する説明図である。

【図6B】MRIにより測定した前壁と中隔壁の壁の肥厚をそれぞれ図示する説明図である。

【図7A】MRIにより測定した前壁と中隔壁の壁の動作を図示する説明図である。

【図7B】MRIにより測定した前壁と中隔壁の壁の動作を図示する説明図である。

【図8A】MRIにより測定した駆出率の改善を図示する説明図である。

【図8B】マイクロマノメーターカテーテルにより測定した処置動物における収縮性の改善を図示する説明図である。

【図9A】TTC染色により測定した前壁と中隔壁の梗塞寸法の変化をそれぞれ図示する説明図である。

【図9B】TTC染色により測定した前壁と中隔壁の梗塞寸法の変化をそれぞれ図示する説明図である。

【図10A】非処置および処置動物の血管新生と抗アポトーシスの蛋白質発現の変化を示す説明図である。

10

20

30

40

50

【図 1 0 B】非処置および処置動物の血管新生と抗アポトーシスの蛋白質発現の変化を示す説明図である。

【図 1 0 C】非処置および処置動物の血管新生と抗アポトーシスの蛋白質発現の変化を示す説明図である。

【図 1 0 D】非処置および処置動物の血管新生と抗アポトーシスの蛋白質発現の変化を示す説明図である。

【図 1 1 A】心筋梗塞に続く 2 および 4 週間で処置被検者の駆出率における劣化の防止を図示する説明図である。

【図 1 1 B】収縮性および拡張性の血行力学的評価を示す説明図である。

【図 1 1 C】収縮性および拡張性の血行力学的評価を示す説明図である。

【図 1 1 D】左心房圧力が処置被検者において通常に保たれそして非処置被験者において 4 週で上昇することを示す説明図である。

【図 1 2 A】内部壁と中隔壁における処置動物の梗塞部位の改善を示す説明図である。

【図 1 2 B】内部壁と中隔壁における処置動物の梗塞部位の改善を示す説明図である。

【図 1 3】処置被験者の血管の数における 3 倍の増加を図示する説明図である。

【図 1 4 A】VEGF と GDF - 2 の血管新生の水準を示す説明図である。

【図 1 4 B】VEGF と GDF - 2 の血管新生の水準を示す説明図である。

【図 1 5 A】MMP - 2 と TIMP - 2 に対するマトリックス分解酵素発現の水準を示す説明図である。

【図 1 5 B】MMP - 2 と TIMP - 2 に対するマトリックス分解酵素発現の水準を示す説明図である。

【図 1 6】処置動物に対する m d r - 1 の増加を示す説明図である。

【図 1 7】処置動物に対する c - k i t 陽性の減少を示す説明図である。

【図 1 8】本発明の望ましい実施態様に従った器官の部分の切除および埋め込みの方法を図示する説明図である。

【符号の説明】

【 0 1 7 5 】

- 1 0 器具
- 1 1 切断刃
- 1 2 カテーテル、チューブ
- 1 3 チップ、先端部分
- 1 4 ストローク軸
- 1 5 先端のスタイレット部分、先端部分
- 1 6 停止器具、部材
- 1 7 後部部分、手元部分
- 1 8、4 2、5 1、3 1 5 軸
- 1 9 開口
- 2 0 スタイレット
- 2 1 左心室
- 2 2 右心室
- 2 3 心室隔膜
- 2 5 ヒト心筋
- 2 4 a、2 4 b、4 4 壁
- 2 5、4 9 心筋
- 2 6 心筋生体組織
- 2 7 処理箇所
- 4 0 器具、チューブ組立体
- 4 1 心筋組織試料
- 4 3 末端、先端
- 4 5 前面部分

10

20

30

40

50

- 46 刃、心筋組織
- 48、312 チューブ
- 50 大腿骨動脈
- 60、211、311 カップリング
- 100 交換部品
- 114、116 シース
- 120、122 可動停止器具
- 210、310 制御ハンドル
- 212 ハイポチューブ
- 214 埋め込み器具、先端チップ部分
- 216 ガイドカテーテル
- 220、230、240、250、316、317、318、319 推進器
- 221 推進器スライド
- 223 中間位置
- 300 システム
- 314 先端チップ
- 320 真空供給
- 321、331 口
- 330 生理食塩水溜
- 340 収集容器
- 341 生体組織
- 400 真空補助先端チップ
- 415、417 スタイレット部分
- 416、418 穿孔

10

20

【図1A】

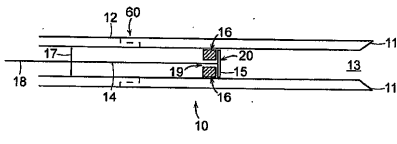


FIG. 1A

【図1B】

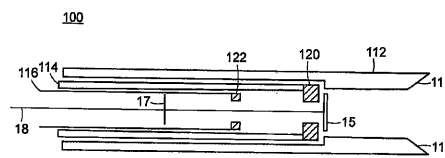


FIG. 1B

【図1C】

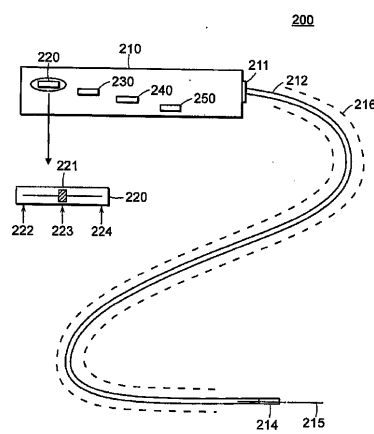


FIG. 1C

【図1D】

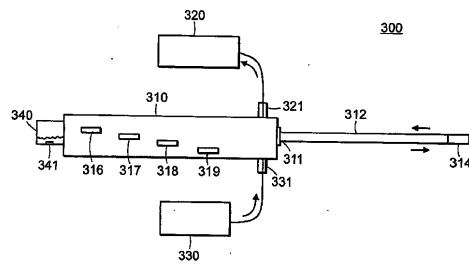


FIG. 1D

【 図 1 E 】

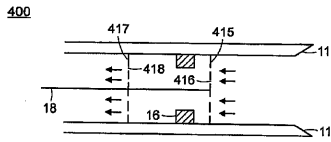
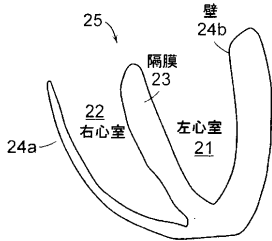


FIG. 1E

【 図 2 A 】



【 図 2 B 】

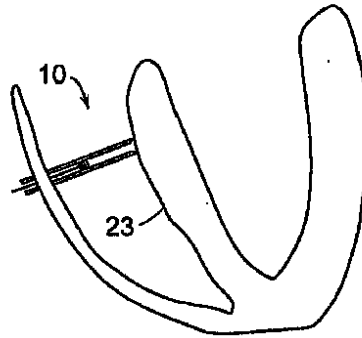


FIG. 2B

【 図 2 C 】

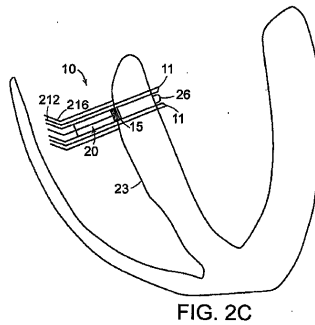


FIG. 2C

【 図 2 D 】

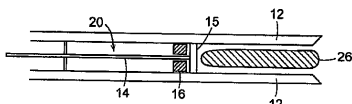


FIG. 2D

【 図 3 B 】

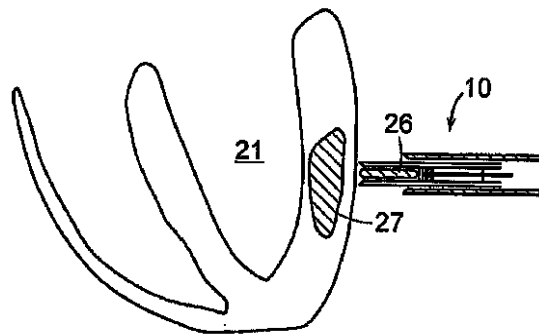


FIG. 3B

【 図 3 A 】

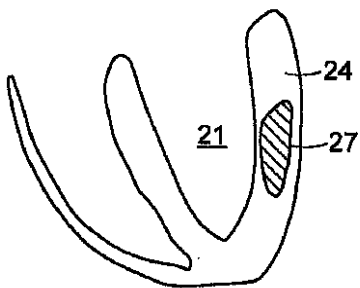


FIG. 3A

【図3C】

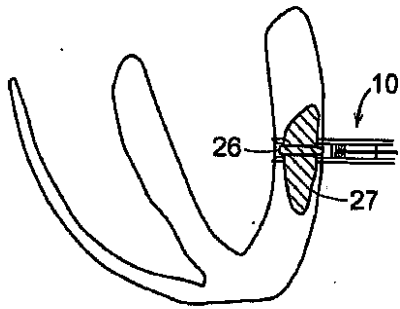


FIG. 3C

【図3D】

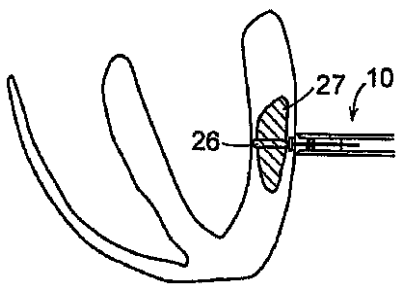


FIG. 3D

【図4B】

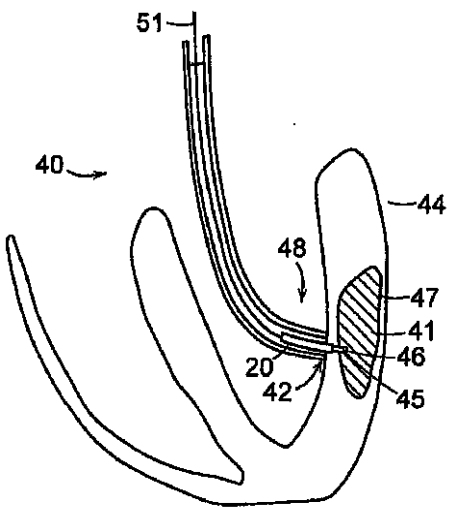


FIG. 4B

【図3E】

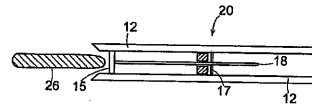


FIG. 3E

【図4A】

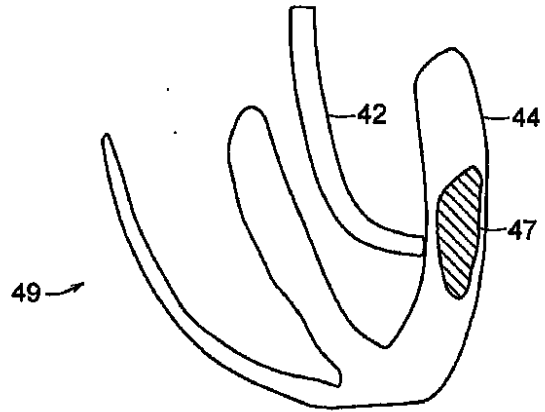
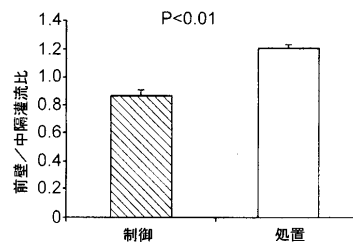
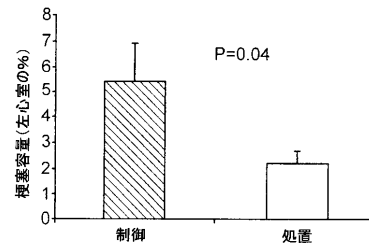


FIG. 4A

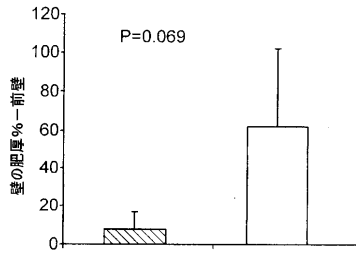
【図5A】



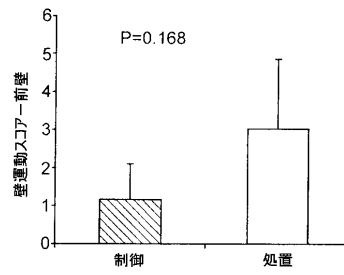
【図5B】



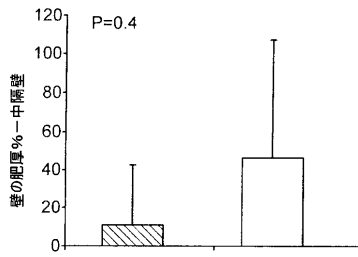
【 図 6 A 】



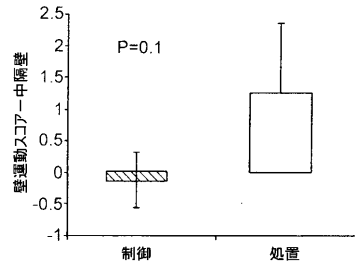
【 図 7 A 】



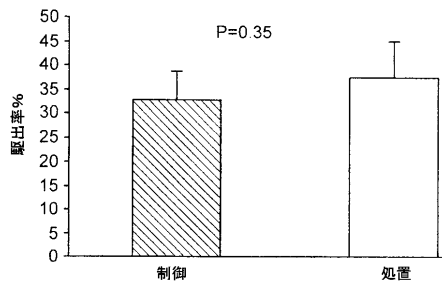
【 図 6 B 】



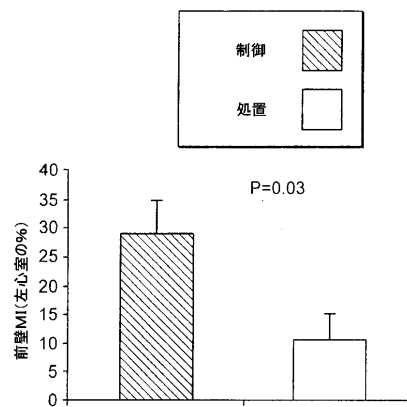
【 図 7 B 】



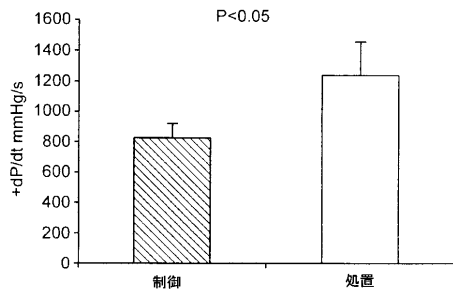
【 図 8 A 】



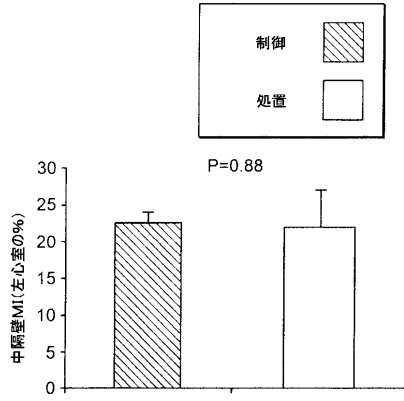
【 図 9 A 】



【 図 8 B 】



【 図 9 B 】



【 図 10 A 】

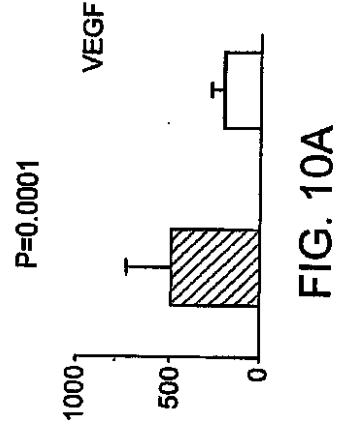


FIG. 10A

【 図 10 B 】

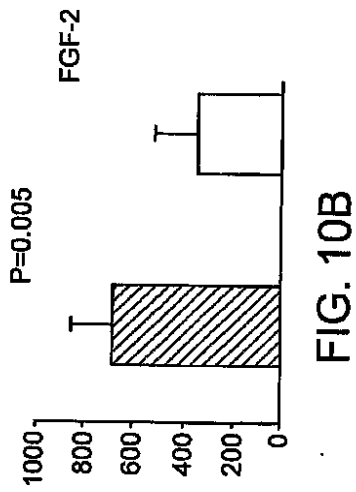


FIG. 10B

【 図 10 C 】

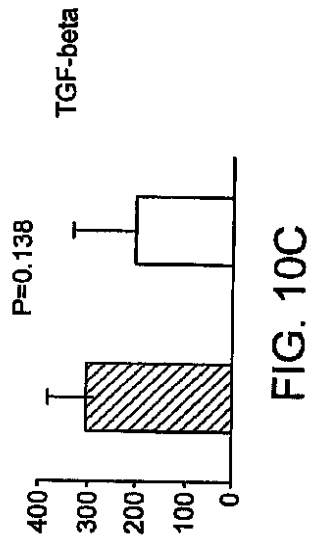
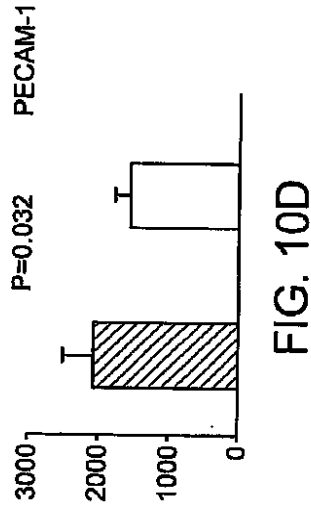
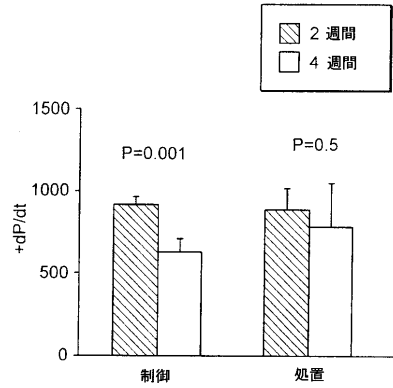


FIG. 10C

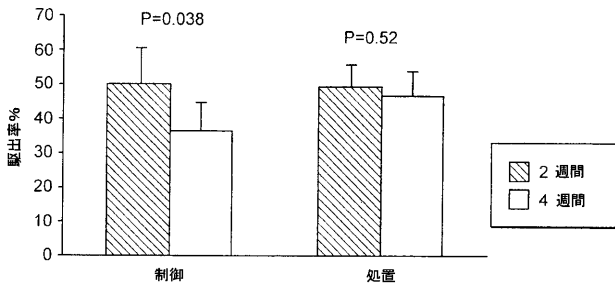
【 図 1 0 D 】



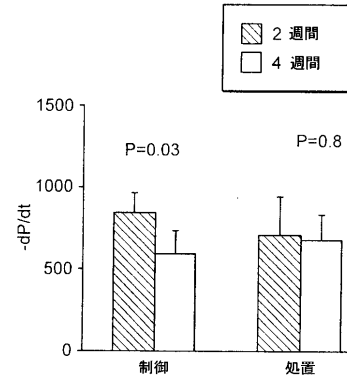
【 図 1 1 B 】



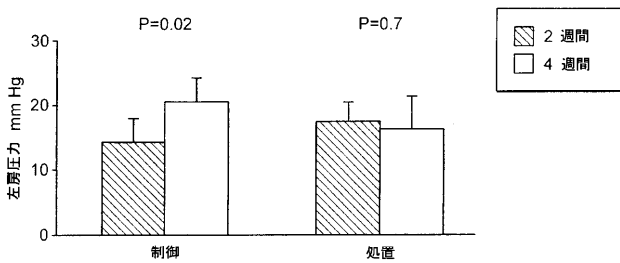
【 図 1 1 A 】



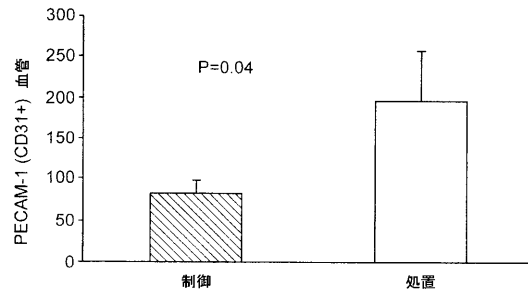
【 図 1 1 C 】



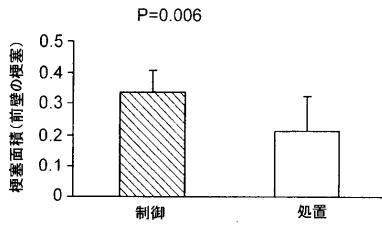
【 図 1 1 D 】



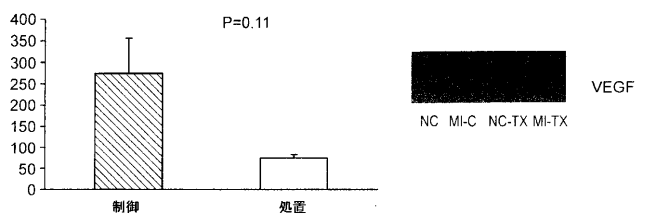
【 図 1 3 】



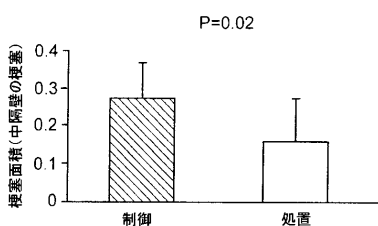
【 図 1 2 A 】



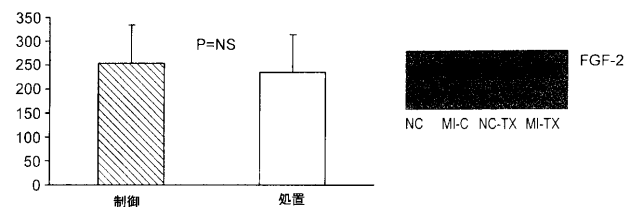
【 図 1 4 A 】



【 図 1 2 B 】



【 図 1 4 B 】



【 図 1 5 A 】

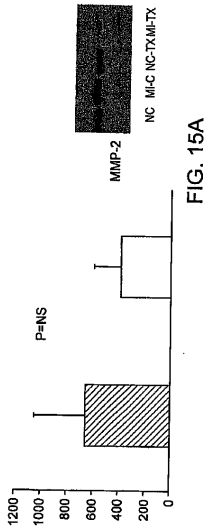
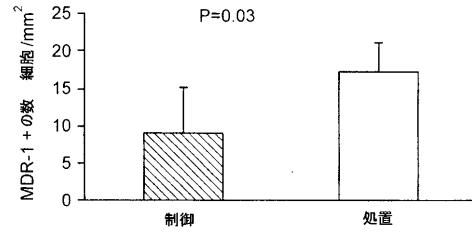
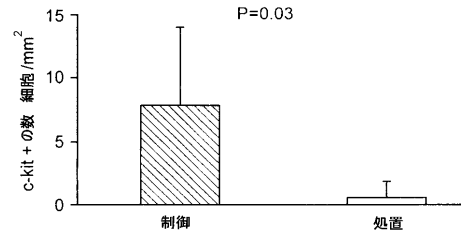


FIG. 15A

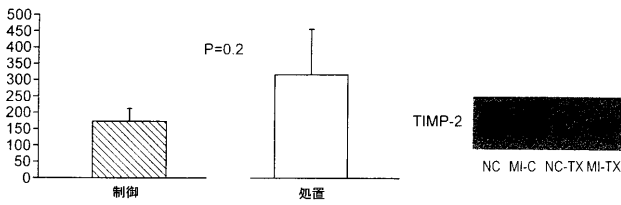
【 図 1 6 】



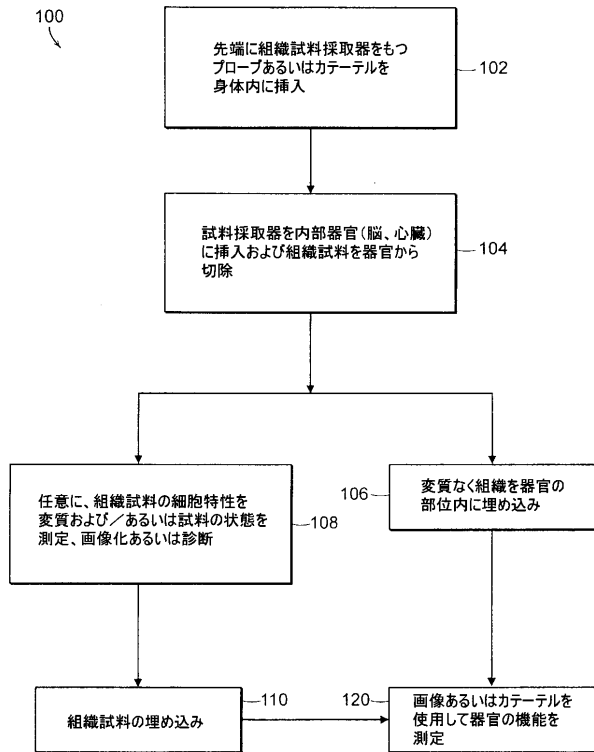
【 図 1 7 】



【 図 1 5 B 】



【 図 1 8 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/US2007/001913
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61B17/32 A61B10/04 A61B10/02		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61B		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 3 342 175 A (BULLOCH ROBERT T) 19 September 1967 (1967-09-19)	1-3,5,6, 8,11,13, 16,22, 26, 40-42, 45,47, 49,54,59
Y	the whole document	14,15, 20,21, 27,28, 50,57,58
A	----- -/--	7,44
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
E earlier document but published on or after the international filing date		*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 10 September 2007	Date of mailing of the international search report 19/09/2007	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Kakoullis, Marios	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No
 PCT/US2007/001913

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005/112817 A (SARSTEDT AG & CO. [DE]; SARSTEDT WALTER [DE]) 1 December 2005 (2005-12-01)	1-3, 5, 8, 11, 13, 22, 26, 40-42, 45, 49, 53, 56, 59
A	the whole document	6, 14, 50
X	US 5 006 122 A (WYATT RICHARD J [US] ET AL) 9 April 1991 (1991-04-09)	1, 2, 4, 5, 8, 11, 26, 40, 43, 45, 47, 53, 54, 59
X	US 2005/288618 A1 (JENSON MARK L [US] ET AL) 29 December 2005 (2005-12-29)	1-3, 5, 11-16, 23, 24, 26
Y	page 1, paragraphs 1, 4 page 2, paragraph 21 page 3, paragraph 33-36 figures 6A-6H	32
A		4, 40, 42, 45, 58, 59
Y	US 2004/097973 A1 (LOSHAKOVE AMIR [IL] ET AL) 20 May 2004 (2004-05-20)	14, 15, 32, 50
A	page 5, paragraph 108-111 page 7, paragraph 134 page 8, paragraph 149-157 figures 17, 24A-24F	1, 11, 13, 27, 28, 40, 49
Y	US 2002/183740 A1 (EDWARDS STUART D [US] ET AL) 5 December 2002 (2002-12-05)	20, 21
A	page 4, paragraphs 71, 72 page 9, paragraph 113 - page 10, paragraph 119 figures 25, 31-37	1, 11-15
Y	WO 98/22026 A (DAIG CORP [US]) 28 May 1998 (1998-05-28)	27, 28
A	page 6, line 23 - page 13, line 6 figures 2-4	1, 11, 26, 40
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2007/001913

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2006/005342 A (SONION ROSKILDE AS [DK]; DANBORG INNOVATION [DK]; VIDEBAEK KARSTEN [DK]) 19 January 2006 (2006-01-19) page 8, line 29 - page 9, line 20 page 24, line 18 - page 25, line 13 page 35, line 13 - page 37, line 7 figures 1,36	57,58
A		1,13,40, 49

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2007/001913**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 60-80
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by surgery
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
1-8, 11-17, 20-24, 26-28, 32, 34-36, 38-45, 47-50, 53-59
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2007/001913

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-8, 17, 22, 34-36, 38-45, 47, 48, 53-56, 59

The sleeve comprising a stop element.

2. claims: 9, 10, 25, 46

The stylet comprising stopping portions.

3. claims: 11, 12, 16, 23, 24, 26-28, 32

The sleeve attached to the distal end of a catheter.

4. claims: 13-15, 20, 21, 49, 50, 57, 58

A handle attached to the catheter.

5. claims: 18, 51

The sleeve attached to a suction device.

6. claims: 19, 37, 52

The sleeve attached to a fluid source.

7. claims: 29-31

Detachable sleeve.

8. claim: 33

Sample container.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2007/001913

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 3342175	A	19-09-1967	NONE
WO 2005112817	A	01-12-2005	DE 102004025275 A1 08-12-2005
US 5006122	A	09-04-1991	NONE
US 2005288618	A1	29-12-2005	WO 2006011969 A1 02-02-2006
US 2004097973	A1	20-05-2004	AU 4449601 A 03-10-2001 AU 4449701 A 03-10-2001 CA 2403289 A1 27-09-2001 JP 2004500209 T 08-01-2004
US 2002183740	A1	05-12-2002	AT 132046 T 15-01-1996 AU 671405 B2 22-08-1996 AU 2047595 A 10-08-1995 AU 657235 B2 02-03-1995 AU 4999893 A 15-03-1994 BR 9306893 A 08-12-1998 CA 2121032 A1 03-03-1994 DE 4305663 A1 17-02-1994 DE 69301143 D1 08-02-1996 DE 69325164 D1 08-07-1999 DE 69325164 T2 25-05-2000 DE 69333480 D1 13-05-2004 DE 69333480 T2 14-04-2005 EP 0611314 A1 24-08-1994 EP 0629382 A1 21-12-1994 ES 2084510 T3 01-05-1996 ES 2134295 T3 01-10-1999 FI 950584 A 04-04-1995 IL 104647 A 31-12-1995 JP 7503645 T 20-04-1995 JP 3128242 B2 29-01-2001 MX 9304905 A1 29-04-1994 NZ 255687 A 20-12-1996 US 2001031941 A1 18-10-2001 WO 9404220 A1 03-03-1994 US 6129726 A 10-10-2000 US 5531676 A 02-07-1996 US 5536240 A 16-07-1996 US 6814712 B1 09-11-2004 US 6610054 B1 26-08-2003 US 2005010203 A1 13-01-2005 US 5964727 A 12-10-1999
WO 9822026	A	28-05-1998	US 5810746 A 22-09-1998
WO 2006005342	A	19-01-2006	WO 2006005343 A1 19-01-2006 WO 2006005344 A1 19-01-2006 WO 2006005345 A1 19-01-2006 EP 1776047 A1 25-04-2007 EP 1768571 A1 04-04-2007 EP 1768572 A1 04-04-2007

フロントページの続き

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

(72)発明者 ラハム, ロジャー, ジェイ.

アメリカ合衆国 02445 マサチューセッツ州 ブルックライン, ナンバー4, ケント ストリート 39

(72)発明者 ワイクリコフスカ, ジョアンナ, ジェイ.

アメリカ合衆国 02215 マサチューセッツ州 ボストン, アpartment 6ディー, ブルックライン アベニュー 400

Fターム(参考) 4C160 MM33 NN09

专利名称(译)	用于组织移植和再生的装置和方法		
公开(公告)号	JP2009524484A	公开(公告)日	2009-07-02
申请号	JP2008552387	申请日	2007-01-25
申请(专利权)人(译)	贝丝以色列医疗中心Diakonesu		
[标]发明人	ラハムロジャージェイ ワイクリコフスカジョアンナジェイ		
发明人	ラハム,ロジャー,ジェイ. ワイクリコフスカ,ジョアンナ,ジェイ.		
IPC分类号	A61B17/00		
CPC分类号	A61B17/3468 A61B10/02 A61B10/0266 A61B17/00234 A61B17/3478 A61B2017/00243 A61B2017/00247 A61B2017/00292 A61B2017/00323 A61B2017/00969 A61B2018/00392 A61K35/22 A61K35/30 A61K35/34 A61K35/407 A61M25/0102 A61M25/0662 A61M2025/0042		
FI分类号	A61B17/00.320		
F-TERM分类号	4C160/MM33 4C160/NN09		
代理人(译)	秋本照雄		
优先权	11/339320 2006-01-25 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

为了治疗患有受损肌肉细胞组织的患者而移植组织和/或通过改善细胞再增殖来改善肌肉功能的装置和方法。尤其是仪器和方法消除了细胞退化的困难。该仪器具有尖锐尖端的中空管，连接在中空管中的活动探针以及用于抑制探针移动的停止器具。该方法包括从哺乳动物器官的第一部位切除完整组织并将其植入同一器官的第二部分 背景技术

