(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-534500
(P2024-534500A)
(43)公表日　令和6年9月20日(2024.9.20)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
A61B	*18/12*	*(2006.01)*	A61B	18/12		4C084
A61B	*18/14*	*(2006.01)*	A61B	18/14		4C085
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61P	43/00	121	4C160
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P	*37/04*	*(2006.01)*	A61P	37/04		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全77頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-517428(P2024-517428)
(86)(22)出願日　令和4年9月19日(2022.9.19)
(85)翻訳文提出日　令和6年5月17日(2024.5.17)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/044021
(87)国際公開番号　WO2023/044124
(87)国際公開日　令和5年3月23日(2023.3.23)
(31)優先権主張番号　63/246,239
(32)優先日　令和3年9月20日(2021.9.20)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/290,529
(32)優先日　令和3年12月16日(2021.12.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/322,319
最終頁に続く

(71)出願人　522244964
ガルヴァナイズ セラピューティクス，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０６５， レッドウッド シティ， ブリッジパークウェイ ３２００
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田 貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川 大輔
(74)代理人　230113332
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　パルス電界療法に対する制御された病変および免疫応答

(57)【要約】
損傷組織、疾患組織、異常組織、閉塞組織、癌性組織または望ましくない組織（例えば、腫瘍、良性腫瘍、悪性腫瘍、嚢胞、または疾患組織のゾーンなど）の処置は、優れた成果を得るために、特殊なパルス電界（ＰＥＦ）エネルギーを特定の線量で標的組織エリアに送達することによって行われる。ＰＥＦエネルギーおよび送達は、望ましくない組織の破壊ならびに改善された炎症応答および免疫応答の生成を含む、標的組織エリアの高度な処置を提供するように最適化されている。これらの様々なタイプの処置は、電極形状、送達されるＰＥＦエネルギーの線量、エネルギーが送達される時間、およびＰＥＦエネルギー自体の波形を含む様々な要因によって制御される。ＰＥＦエネルギーは、特殊なエネルギーの一適用であると考えられる線量の形態で送達される。各線量は、標的組織エリアに病変を生み出す。

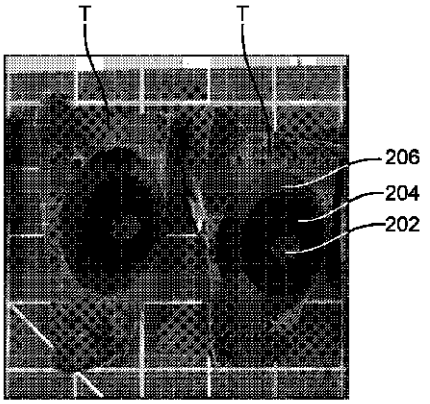

FIG. 11B

【特許請求の範囲】
【請求項１】
患者の体内の組織を処置するためのシステムであって、
病変を生み出す前記組織にパルス電界エネルギーを向けるように配置されるよう構成される少なくとも１つのエネルギー送達体を有する器具；および
前記少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、前記患者の適応免疫応答の増加を誘発する前記病変内の複数のゾーンを生み出す様式で前記パルス電界エネルギーを提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含む発生機、を含むシステム。
【請求項２】
前記複数のゾーンがブルズアイ配置を有する、請求項１に記載のシステム。
【請求項３】
前記複数のゾーンが少なくともパルス電界ゾーンを含む、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項４】
前記複数のゾーンが免疫応答ゾーンを含む、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項５】
前記複数のゾーンがサーマルゾーンを含む、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項６】
前記複数のゾーンが、炎症ゾーンを含む、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項７】
前記複数のゾーンが、少なくともパルス電界ゾーンおよびサーマルゾーンを含む、請求項１に記載のシステム。
【請求項８】
前記パルス電界ゾーンおよび前記サーマルゾーンが共に前記病変内のエリアを覆い、前記サーマルゾーンが前記エリアの５０％を超えない、請求項７に記載のシステム。
【請求項９】
前記サーマルゾーンが前記エリアの２５％を超えない、請求項８に記載のシステム。
【請求項１０】
前記サーマルゾーンが前記エリアの１０～２０％である、請求項９に記載のシステム。
【請求項１１】
前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、前記パルス電界エネルギーの波形におけるサイクル間遅延を含み、前記サイクル間遅延が、前記サーマルゾーンのサイズを制御するように構成される、請求項７～１０のいずれかに記載のシステム。
【請求項１２】
前記サイクル間遅延が少なくとも１０マイクロ秒である、請求項１１に記載のシステム。
【請求項１３】
前記サイクル間遅延が１０マイクロ秒～１０００マイクロ秒である、請求項１２に記載のシステム。
【請求項１４】
前記サイクル間遅延が、キャビテーションゾーンを最小化または排除するように構成される、請求項１１～１３のいずれかに記載のシステム。
【請求項１５】
前記サイクル間遅延が１０００マイクロ秒である、請求項１１～１４のいずれかに記載のシステム。
【請求項１６】

前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、前記パルス電界エネルギーの波形におけるパケット間遅延を含み、前記パケット間遅延が、前記サーマルゾーンのサイズを制御するように構成される、請求項１１に記載のシステム。
【請求項１７】
前記パケット間遅延が３～５秒である、請求項１６に記載のシステム。
【請求項１８】
前記病変が５～６分以内の単回線量によって生み出される、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項１９】
前記適応免疫応答が、ＣＤ８＋／ＣＤ４＋Ｔ細胞の比の増加を含む、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項２０】
前記適応免疫応答が、ＰＤＬ１発現の増加を含む、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項２１】
前記適応免疫応答が、リンパ経路の上方制御を含む、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項２２】
前記適応免疫応答が、腫瘍抗原放出の生成を含む、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項２３】
前記適応免疫応答が、制御性Ｔ細胞の下方制御を含む、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項２４】
前記適応免疫応答が、前記組織内の三次リンパ球構造の生成または生成の増加を含む、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項２５】
前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、前記パルス電界エネルギーが免疫チェックポイント阻害剤と組み合わされた場合に相乗効果を生み出す、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項２６】
前記免疫チェックポイント阻害剤が抗ＰＤ１療法を含む、請求項２５に記載のシステム。
【請求項２７】
前記相乗効果が、アブスコパル効果を増加させる、請求項２５～２６のいずれかに記載のシステム。
【請求項２８】
前記相乗効果がＰＤＬ－１発現を増加させる、請求項２５～２７のいずれかに記載のシステム。
【請求項２９】
前記組織が、腫瘍を抗ＰＤ１療法に応答性にするように、抗ＰＤ１療法に対して非応答性または応答性が低下している腫瘍を含む、請求項２５～２８のいずれかに記載のシステム。
【請求項３０】
前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、３０００Ｖの電圧を有する前記パルス電界エネルギーの波形を生成する、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項３１】
前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、４００ｋＨｚの基本周波数を有する前記パルス電界エネルギーの波形を生成する、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。

【請求項３２】
前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、二相性パルスサイクルのパケットを有する前記パルス電界エネルギーの波形を生成する、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項３３】
各パケットが、４０の二相性パルスサイクルを有する、請求項３２に記載のシステム。
【請求項３４】
１０００マイクロ秒のサイクル間遅延が、パケット内の各二相性パルスサイクルの間に配置される、請求項３２～３３のいずれかに記載のシステム。
【請求項３５】
前記波形が、単回線量中に１００パケットを含む、請求項３２～３４のいずれかに記載のシステム。
【請求項３６】
前記線量の各パケット間に３秒のパケット間遅延が配置される、請求項３２～３５のいずれかに記載のシステム。
【請求項３７】
前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、各パケットが１００マイクロ秒のアクティブタイムを有するパケットを有する前記パルス電界エネルギーの波形を生成する、先行する請求項のいずれかに記載のシステム。
【請求項３８】
各パケットが、４０サイクルを有する、請求項３７に記載のシステム。
【請求項３９】
前記波形が３０００Ｖの電圧を有する、請求項３７～３８のいずれかに記載のシステム。
【請求項４０】
患者の体内の標的組織を処置するためのシステムであって、
前記標的組織にパルス電界エネルギーを向けるように配置されるよう構成される少なくとも１つのエネルギー送達体を有する器具；および
前記少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、前記標的組織に病変を生み出すように前記パルス電界エネルギーを提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含み、前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせた場合に相乗効果を引き起こすように構成されたパラメーターの組み合わせを有する前記パルス電界エネルギーの波形を生成する発生機、を含むシステム。
【請求項４１】
前記相乗効果が、アブスコパル効果を増加させる、請求項４０に記載のシステム。
【請求項４２】
前記免疫チェックポイント阻害剤が抗ＰＤ１を含む、請求項４０に記載のシステム。
【請求項４３】
前記相乗効果がＰＤＬ－１発現を増加させる、請求項４２に記載のシステム。
【請求項４４】
前記組織が、腫瘍を抗ＰＤ１療法に応答性にするように、抗ＰＤ１療法に対して非応答性または応答性が低下している腫瘍を含む、請求項４０～４３のいずれかに記載のシステム。
【請求項４５】
前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、３０００Ｖの電圧を有する前記パルス電界エネルギーの波形を生成する、請求項４０～４４のいずれかに記載のシステム。
【請求項４６】
前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、４００ｋＨｚの基本周波数を有

する前記パルス電界エネルギーの波形を生成する、請求項４０～４５のいずれかに記載のシステム。
【請求項４７】
前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、二相性パルスサイクルのパケットを有する前記パルス電界エネルギーの波形を生成する、請求項４０～４６のいずれかに記載のシステム。
【請求項４８】
各パケットが、４０の二相性パルスサイクルを有する、請求項４７に記載のシステム。
【請求項４９】
１０００マイクロ秒のサイクル間遅延が、パケット内の各二相性パルスサイクルの間に配置される、請求項４７～４８のいずれかに記載のシステム。
【請求項５０】
前記波形が、単回線量中に１００パケットを含む、請求項４７～４９のいずれかに記載のシステム。
【請求項５１】
前記線量の各パケット間に３秒のパケット間遅延が配置される、請求項４７～５０のいずれかに記載のシステム。
【請求項５２】
前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、各パケットが１００マイクロ秒のアクティブタイムを有するパケットを有する前記パルス電界エネルギーの波形を生成する、請求項４７～５１のいずれかに記載のシステム。
【請求項５３】
療法に対して非応答性または応答性が低下している患者の体内の腫瘍を処置するためのシステムであって、
前記腫瘍にパルス電界エネルギーを向けるように配置されるよう構成される少なくとも１つのエネルギー送達体を有する器具；および
前記少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、前記腫瘍を療法に対して応答性にするように構成されたパラメーターの組み合わせを有する前記パルス電界エネルギーの波形を生成する少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含む発生機、を含むシステム。
【請求項５４】
前記療法が免疫チェックポイント阻害剤療法を含む、請求項５３に記載のシステム。
【請求項５５】
前記免疫チェックポイント阻害剤療法が抗ＰＤ１療法を含む、請求項５４に記載のシステム。
【請求項５６】
患者の体内の組織を処置するためのシステムであって、
近位端および遠位端を有するシャフトと、前記シャフトの前記遠位端の近傍に配置された少なくとも１つのエネルギー送達体とを含む器具であって、前記シャフトの前記遠位端が、病変を生み出す前記組織にパルス電界エネルギーを送達するように構成され、前記パルス電界エネルギーが、前記病変の少なくとも一部内の細胞外マトリックスを維持する、器具；および
前記少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、前記病変内のキャビテーションゾーンを低減または排除する様式で前記パルス電界エネルギーを提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含む発生機、を含むシステム。
【請求項５７】
前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、前記パルス電界エネルギーの波形におけるサイクル間遅延を含み、前記サイクル間遅延が、前記キャビテーションゾーンを低減または排除するように構成される、請求項５６に記載のシステム。

【請求項５８】
前記サイクル間遅延が少なくとも１０マイクロ秒である、請求項５７に記載のシステム。
【請求項５９】
前記サイクル間遅延が１０マイクロ秒～１０００マイクロ秒である、請求項５８に記載のシステム。
【請求項６０】
前記サイクル間遅延が１０００マイクロ秒である、請求項５９に記載のシステム。
【請求項６１】
患者の体内の標的組織を処置するためのシステムであって、
前記標的組織にパルス電界エネルギーを向けるように配置されるよう構成される少なくとも１つのエネルギー送達体を有する器具；および
前記少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、前記標的組織に病変を生み出すように前記パルス電界エネルギーを提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含み、前記少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、前記標的組織内に三次リンパ球構造の生成または生成の増加を引き起こすように構成されたパラメーターの組み合わせを有する前記パルス電界エネルギーの波形を生成する発生機、を含むシステム。
【請求項６２】
前記患者の適応免疫応答の増加を誘発する前記病変内の複数のゾーンを生み出す様式で前記パルス電界エネルギーを提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含む、請求項６１に記載のシステム。
【発明の詳細な説明】
【背景技術】
【０００１】
背景
本出願は、２０２１年９月２０日に出願された米国仮特許出願第６３／２４６，２３９号明細書、２０２１年１２月１６日に出願された米国仮特許出願第６３／２９０，５２９号明細書、２０２２年３月２２日に出願された米国仮特許出願第６３／３２２，３１９号明細書、および２０２２年６月１３日に出願された米国仮特許出願第６３／３５１，５６２号明細書に基づく利益を主張し、これらの内容は参照により本明細書に完全に組み込まれる。
【０００２】
異常組織は、損傷組織、疾患組織、閉塞組織、癌性組織または望ましくない組織などの様々な異なる形態をとることができる。場合によっては、異常組織は、良性腫瘍または悪性腫瘍などの腫瘍、嚢胞、または疾患組織のエリアである。異常組織の最も厄介なタイプの１つは、癌に関連している。
【０００３】
癌は、異常細胞の制御されない成長および拡散を特徴とする疾患の群である。拡散が制御されない場合、死に至る可能性がある。癌の原因は完全には理解されていないが、修正可能な多くの因子（例えば、タバコの使用および過剰な体重）および修正不可能な他の因子（例えば、遺伝性の遺伝子突然変異）を含む、疾患の発生を増加させる多くの因子が知られている。これらの危険因子は、同時にまたは順番に、癌成長を開始および／または促進するように作用し得る。癌は、米国で２番目に一般的な死因であり、心疾患のみがこれを上回っている。
【０００４】
肺癌、肝臓癌および膵臓癌は、生存率が最も低い癌の１つである。肺癌は、結腸直腸、乳房、および前立腺を合わせたものを超える、癌死の主な原因である。全病期を合わせた５年生存率の全体的な変化は、時代とともにわずかに改善しているにすぎない：１９７０年代（約１３％）、２０１０年代（約１７．２％）、２０１９（約２１．７％）。肝臓癌

の発生率は１９８０年以来３倍を超えているが、死亡率はこの間に２倍を超えている。肝癌患者の生存率にはある程度の進歩が見られるが、５年生存率は、限局期で診断された患者でさえ低いままである。膵臓癌は、２０２０年の癌関連死の２番目に多い原因であると予想される。全病期の５年生存率は９％であり、４０年にわたって実質的に改善していない。これらの成果は、従来の療法の進化にもかかわらず持続している。

【０００５】

多くのタイプの癌は、うまく治癒しないか、または後の時点で再発する。再発は、典型的には、元の処置がすべての癌細胞を首尾よく排除せず、残った癌細胞が増殖したために起こる。いくつかの例では、癌細胞は、検出不能な量で身体の他の部分に広がり、これは微小転移として知られている。これらの微小転移が身体によって克服されない場合、それらは検出可能なレベルまで成長し、さらなる処置を必要とする。そして、最終的には、多くの患者が癌との闘いに負けている。

【０００６】

結果として、癌をより首尾よく処置し、それらの再発を低減または防止する改善された療法が、すべてのタイプの異常組織に対する改善された療法と共に必要とされている。これらの目的の少なくともいくつかは、本発明によって満たされる。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００７】

要旨

標的組織、特に心臓組織を処置するための装置、システムおよび方法の実施形態が本明細書に記載される。同様に、本発明は、以下の番号が付けられた条項に関する。

【０００８】

１．患者の体内の組織を処置するためのシステムであって、

病変を生み出す組織にパルス電界エネルギーを向けるように配置されるよう構成される少なくとも１つのエネルギー送達体を有する器具；および

少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、患者の適応免疫応答の増加を誘発する病変内の複数のゾーンを生み出す様式でパルス電界エネルギーを提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含む発生機、を含むシステム。

【０００９】

２．複数のゾーンがブルズアイ配置を有する、条項１に記載のシステム。

【００１０】

３．複数のゾーンが少なくともパルス電界ゾーンを含む、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００１１】

４．複数のゾーンが免疫応答ゾーンを含む、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００１２】

５．複数のゾーンがサーマルゾーンを含む、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００１３】

６．複数のゾーンが、炎症ゾーンを含む、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００１４】

７．複数のゾーンが、少なくともパルス電界ゾーンおよびサーマルゾーンを含む、条項１に記載のシステム。

【００１５】

８．パルス電界ゾーンおよびサーマルゾーンが共に病変内のエリアを覆い、サーマルゾーンがエリアの５０％を超えない、条項７に記載のシステム。

【００１６】

９．サーマルゾーンがエリアの２５％を超えない、条項８に記載のシステム。

【００１７】

１０．サーマルゾーンがエリアの１０～２０％である、条項９に記載のシステム。

【００１８】

１１．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、パルス電界エネルギーの波形におけるサイクル間遅延を含み、サイクル間遅延が、サーマルゾーンのサイズを制御するように構成される、条項７～１０のいずれか一項に記載のシステム。

【００１９】

１２．サイクル間遅延が少なくとも１０マイクロ秒である、条項１１に記載のシステム。

【００２０】

１３．サイクル間遅延が１０マイクロ秒～１０００マイクロ秒である、条項１２に記載のシステム。

【００２１】

１４．サイクル間遅延が、キャビテーションゾーンを最小化または排除するように構成される、条項１１～１３のいずれか一項に記載のシステム。

【００２２】

１５．サイクル間遅延が１０００マイクロ秒である、条項１１～１４のいずれか一項に記載のシステム。

【００２３】

１６．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、パルス電界エネルギーの波形におけるパケット間遅延を含み、パケット間遅延が、サーマルゾーンのサイズを制御するように構成される、条項１１に記載のシステム。

【００２４】

１７．パケット間遅延が３～５秒である、条項１６に記載のシステム。

【００２５】

１８．病変が５～６分以内の単回線量によって生み出される、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００２６】

１９．適応免疫応答が、ＣＤ８＋／ＣＤ４＋Ｔ細胞の比の増加を含む、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００２７】

２０．適応免疫応答が、ＰＤＬ１発現の増加を含む、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００２８】

２１．適応免疫応答が、リンパ経路の上方制御を含む、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００２９】

２２．適応免疫応答が、腫瘍抗原放出の生成を含む、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００３０】

２３．適応免疫応答が、制御性Ｔ細胞の下方制御を含む、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００３１】

２４．適応免疫応答が、組織内の三次リンパ球構造の生成または生成の増加を含む、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００３２】

２５．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、パルス電界エネルギーが免疫チェックポイント阻害剤と組み合わされた場合に相乗効果を生み出す、上記条項のいずれかに記載のシステム。

【００３３】

２６．免疫チェックポイント阻害剤が抗ＰＤ１療法を含む、条項２５に記載のシステム

。
【００３４】
２７．相乗効果が、アブスコパル効果を増加させる、条項２５～２６のいずれか一項に記載のシステム。
【００３５】
２８．相乗効果がＰＤＬ－１発現を増加させる、条項２５～２７のいずれか一項に記載のシステム。
【００３６】
２９．組織が、腫瘍を抗ＰＤ１療法に応答性にするように、抗ＰＤ１療法に対して非応答性または応答性が低下している腫瘍を含む、条項２５～２８のいずれか一項に記載のシステム。
【００３７】
３０．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、３０００Ｖの電圧を有するパルス電界エネルギーの波形を生成する、上記条項のいずれかに記載のシステム。
【００３８】
３１．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、４００ｋＨｚの基本周波数を有するパルス電界エネルギーの波形を生成する、上記条項のいずれかに記載のシステム。
【００３９】
３２．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、二相性パルスサイクルのパケットを有するパルス電界エネルギーの波形を生成する、上記条項のいずれかに記載のシステム。
【００４０】
３３．各パケットが、４０の二相性パルスサイクルを有する、条項３２に記載のシステム。
【００４１】
３４．１０００マイクロ秒のサイクル間遅延が、パケット内の各二相性パルスサイクルの間に配置される、条項３２～３３のいずれか一項に記載のシステム。
【００４２】
３５．波形が、単回線量中に１００パケットを含む、条項３２～３４のいずれか一項に記載のシステム。
【００４３】
３６．線量の各パケット間に３秒のパケット間遅延が配置される、条項３２～３５のいずれか一項に記載のシステム。
【００４４】
３７．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、各パケットが１００マイクロ秒のアクティブタイムを有するパケットを有するパルス電界エネルギーの波形を生成する、上記条項のいずれかに記載のシステム。
【００４５】
３８．各パケットが、４０サイクルを有する、条項３７に記載のシステム。
【００４６】
３９．波形が３０００Ｖの電圧を有する、条項３７～３８のいずれか一項に記載のシステム。
【００４７】
４０．患者の体内の標的組織を処置するためのシステムであって、
標的組織にパルス電界エネルギーを向けるように配置されるよう構成される少なくとも１つのエネルギー送達体を有する器具；および
少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、標的組織に病変を生み出すようにパルス電界エネルギーを提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含み、少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせた場合に相乗効果を引き起こすように構成

されたパラメーターの組み合わせを有するパルス電界エネルギーの波形を生成する発生機、を含むシステム。

【００４８】

４１．相乗効果が、アブスコパル効果を増加させる、条項４０に記載のシステム。

【００４９】

４２．免疫チェックポイント阻害剤が抗ＰＤ１を含む、条項４０に記載のシステム。

【００５０】

４３．相乗効果がＰＤＬ－１発現を増加させる、条項４２に記載のシステム。

【００５１】

４４．組織が、腫瘍を抗ＰＤ１療法に応答性にするように、抗ＰＤ１療法に対して非応答性または応答性が低下している腫瘍を含む、条項４０～４３のいずれか一項に記載のシステム。

【００５２】

４５．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、３０００Ｖの電圧を有するパルス電界エネルギーの波形を生成する、条項４０～４４のいずれか一項に記載のシステム。

【００５３】

４６．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、４００ｋＨｚの基本周波数を有するパルス電界エネルギーの波形を生成する、条項４０～４５のいずれか一項に記載のシステム。

【００５４】

４７．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、二相性パルスサイクルのパケットを有するパルス電界エネルギーの波形を生成する、条項４０～４６のいずれか一項に記載のシステム。

【００５５】

４８．各パケットが、４０の二相性パルスサイクルを有する、条項４７に記載のシステム。

【００５６】

４９．１０００マイクロ秒のサイクル間遅延が、パケット内の各二相性パルスサイクルの間に配置される、条項４７～４８のいずれか一項に記載のシステム。

【００５７】

５０．波形が、単回線量中に１００パケットを含む、条項４７～４９のいずれか一項に記載のシステム。

【００５８】

５１．線量の各パケット間に３秒のパケット間遅延が配置される、条項４７～５０のいずれか一項に記載のシステム。

【００５９】

５２．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、各パケットが１００マイクロ秒のアクティブタイムを有するパケットを有するパルス電界エネルギーの波形を生成する、条項４７～５１のいずれか一項に記載のシステム。

【００６０】

５３．療法に対して非応答性または応答性が低下している患者の体内の腫瘍を処置するためのシステムであって、

腫瘍にパルス電界エネルギーを向けるように配置されるよう構成される少なくとも１つのエネルギー送達体を有する器具；および

少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、腫瘍を療法に対して応答性にするように構成されたパラメーターの組み合わせを有するパルス電界エネルギーの波形を生成する少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含む発生機、を含むシステム。

【００６１】

５４．療法が免疫チェックポイント阻害剤療法を含む、条項５３に記載のシステム。
【００６２】
５５．免疫チェックポイント阻害剤療法が抗ＰＤ１療法を含む、条項５４に記載のシステム。
【００６３】
５６．患者の体内の組織を処置するためのシステムであって、
近位端および遠位端を有するシャフトと、シャフトの遠位端の近傍に配置された少なくとも１つのエネルギー送達体とを含む器具であって、シャフトの遠位端が、病変を生み出す組織にパルス電界エネルギーを送達するように構成され、パルス電界エネルギーが、病変の少なくとも一部内の細胞外マトリックスを維持する、器具；および
少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、病変内のキャビテーションゾーンを低減または排除する様式でパルス電界エネルギーを提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含む、発生機、を含むシステム。
【００６４】
５７．少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、パルス電界エネルギーの波形におけるサイクル間遅延を含み、サイクル間遅延が、キャビテーションゾーンを低減または排除するように構成される、条項５６に記載のシステム。
【００６５】
５８．サイクル間遅延が少なくとも１０マイクロ秒である、条項５７に記載のシステム。
【００６６】
５９．サイクル間遅延が１０マイクロ秒～１０００マイクロ秒である、条項５８に記載のシステム。
【００６７】
６０．サイクル間遅延が１０００マイクロ秒である、条項５９に記載のシステム。
【００６８】
６１．患者の体内の組織を処置するためのシステムであって、
近位端および遠位端を有するシャフトと、シャフトの遠位端の近傍に配置された少なくとも１つのエネルギー送達体とを含む器具であって、シャフトの遠位端が、病変を生み出す組織にパルス電界エネルギーを送達するように構成され、パルス電界エネルギーが、病変の少なくとも一部内の細胞外マトリックスを維持する、器具；および
少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、病変内に少なくともサーマルゾーンおよびパルス電界ゾーンを生み出す様式でパルス電界エネルギーを提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含む、発生機、を含むシステム。
【００６９】
６２．患者の体内の標的組織を処置するためのシステムであって、
標的組織にパルス電界エネルギーを向けるように配置されるよう構成される少なくとも１つのエネルギー送達体を有する器具；および
少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、標的組織に病変を生み出すようにパルス電界エネルギーを提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含み、少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムが、標的組織内に三次リンパ球構造の生成または生成の増加を引き起こすように構成されたパラメーターの組み合わせを有するパルス電界エネルギーの波形を生成する発生機、を含むシステム。
【００７０】
６３．患者の適応免疫応答の増加を誘発する病変内の複数のゾーンを生み出す様式でパルス電界エネルギーを提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含む、条項６２に記載のシステム。

【００７１】
６４．複数のゾーンが少なくともパルス電界ゾーンを含む、条項６３に記載のシステム。
【００７２】
６５．複数のゾーンが免疫応答ゾーンを含む、条項６３～６４のいずれかに記載のシステム。
【００７３】
６６．複数のゾーンがサーマルゾーンを含む、条項６３～６５のいずれかに記載のシステム。
【００７４】
６７．複数のゾーンがキャビテーションゾーンを欠いている、条項６３～６６のいずれかに記載のシステム。
【００７５】
６８．複数のゾーンが、炎症ゾーンを含む、条項６３～６７のいずれかに記載のシステム。
【００７６】
６９．患者の体内の望ましくない組織細胞の塊を処置するためのシステムであって、
近位端および遠位端を有するシャフトと、シャフトの遠位端の近傍に配置された少なくとも１つのエネルギー送達体とを含む器具であって、シャフトの遠位端が、望ましくない組織細胞の塊に非熱エネルギーを送達するように構成される、器具；および
少なくとも１つのエネルギー送達体と電気的に連通している発生機であって、望ましくない組織の塊の少なくとも一部を破壊するように、望ましくない組織の塊に送達可能な非熱エネルギーの電気信号を提供するように構成された少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズムを含む発生機、を含むシステム。
【００７７】
これらおよび他の実施形態は、添付の図面に関連する以下の説明においてさらに詳細に説明される。
参照による組み込み
【００７８】
本明細書で言及されるすべての刊行物、特許、および特許出願は、あたかも各個々の刊行物、特許、または特許出願が具体的かつ個別に参照により組み込まれることが示されているのと同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。
図面の簡単な説明
【００７９】
本発明の新規な特徴は、添付の特許請求の範囲に詳細に記載されている。本発明の特徴および利点のより良い理解は、本発明の原理が利用される例示的な実施形態を説明する以下の詳細な説明、および添付の図面を参照することによって得ることができる。
【図面の簡単な説明】
【００８０】
【図１】図１Ａ～１Ｂは、特殊なＰＥＦエネルギーの送達に使用するための例示的な治療システムの概略図を提供する。
【００８１】
【図２】図２Ａ～２Ｃは、処置方法の一例を示す。
【００８２】
【図３】図３Ａ～３Ｂは、エネルギー波形内のサイクル間遅延およびパケット間遅延の追加が局所組織特性に及ぼす影響に焦点を当てた研究から得られた組織病変を示す。
【００８３】
【図４】図４は、エネルギー送達アルゴリズムによって規定される信号の波形の一実施形態を示す。
【００８４】

【図５】図５は、パラメーター変更の様々な例示的効果を示す表である。
【００８５】
【図６】図６Ａ～６Ｄは、サイクル間遅延または異なるサイクル間遅延を有さない波形によって生成された病変を有する組織試料を示す。
【００８６】
【図７】図７Ａ～７Ｂは、ブタ肺組織における前臨床試験からのインビボ組織試料を示す。
【００８７】
【図８】図８は、パケット間遅延を統合することがどのようにＰＥＦエネルギー送達の熱効果を緩和するのに役立ち得るかを示す。
【００８８】
【図９】図９は、ブタ肝臓組織における前臨床試験から捕捉されたインビボデータを示す。
【００８９】
【図１０】図１０Ａ～１０Ｂは、ブタ肝臓組織における前臨床試験から捕捉された追加のインビボデータを示す。
【００９０】
【図１１】図１１Ａ～１１Ｂは、ブタ肝臓組織における前臨床試験から捕捉されたインビボ試料を示す。
【００９１】
【図１２】図１２Ａ～１２Ｂは、フローサイトメトリーの結果を示す。
【００９２】
【図１３】図１３Ａ～１３Ｂは、ＰＥＦ送達前の３．４ｃｍの病変（図１３Ａ）および最長直径２．８ｃｍの手術前の同じ病変（図１３Ｂ）を有する胸部のＣＴ画像を提供する。
【００９３】
図１３Ｃ～１３Ｄは、ＰＥＦ送達の２０日後の切除腫瘍の肉眼的切片（図１３Ｃ）および対応するヘマトキシリン＆エオシン（Ｈ＆Ｅ）（図１３Ｄ）を提供する。
【００９４】
【図１４】図１４は、評価スケジュールを示す。
【００９５】
【図１５】図１５は、実施されたＨ＆Ｅおよび免疫組織化学（ＩＨＣ）の表を提供する。
【００９６】
【図１６】図１６は、Ｌｕｍｉｎｅｘ　Ｍｕｌｔｉｐｌｅｘ　７１プレックスパネルを示す。
【００９７】
【図１７】図１７は、ベースライン特性および処置の詳細を示す。
【００９８】
【図１８】図１８は、三次リンパ球構造を有する様々な組織試料を示す。
【００９９】
【図１９Ａ】図１９～１９Ｂは、予備的血清サイトカイン分析の結果を示す。
【図１９Ｂ】図１９～１９Ｂは、予備的血清サイトカイン分析の結果を示す。
【０１００】
【図２０】図２０は、ＰＥＦエネルギーで処置された腫瘍を示し、エネルギーは、免疫系にとって有意義な方法で細胞を死滅させる。
【０１０１】
【図２１】図２１は、腫瘍細胞によるＰＤ－Ｌ１の上方制御を促進する様式で、腫瘍を含むものなどの標的処置エリアに送達されるＰＥＦエネルギーを示す。
【０１０２】
【図２２】図２２は、様々な処置プロトコルを比較するＥＭＴ６腫瘍モデル研究における生存成果を示すＫａｐｌａｎ－Ｍｙｅｒプロットを提供する。

【０１０３】
【図２３】図２３は、ＥＭＴ６腫瘍モデル研究のための対照群の成果データを提供する。
【０１０４】
【図２４】図２４は、ＥＭＴ６腫瘍モデル再チャレンジ研究における３つの群（ＰＥＦ＋αＰＤ－１、ＰＥＦエネルギー単独およびαＰＤ－１単独）の結果を示す。
【０１０５】
【図２５】図２５Ａ～２５Ｄは、４Ｔ－１腫瘍モデル研究のためのサイトカイン分析の結果の例を示す。
【０１０６】
【図２６】図２６は、送達システムの一実施形態を示す。
【０１０７】
【図２７】図２７Ａは、針を介した標的組織への薬剤の直接注射を示す。
【０１０８】
図２７Ｂは、図２７Ａの針の適所に挿入されたエネルギー送達デバイスからのエネルギー送達を示す。
【０１０９】
【図２８】図２８Ａは、エネルギー送達体を介した標的組織への薬剤の直接注射を示す。
【０１１０】
図２８Ｂは、図２８Ａのエネルギー送達体からのエネルギーの送達を示す。
【０１１１】
【図２９】図２９は、エネルギーが局所的に送達される間に局部的に送達される薬剤を示し、必要に応じて薬剤も局所的に送達される。
【０１１２】
【図３０】図３０は、その遠位端の近傍にエネルギー送達体を有するシャフトを備えるエネルギー送達デバイスを示し、エネルギー送達体は複数のタインを備える。
【０１１３】
【図３１】図３１は、処置の１８日後の対側の全腫瘍溶解物からのサイトカイン発現を示すヒートマップを提供する。
【０１１４】
【図３２】図３２Ａ～３２Ｄは、続発性（未処置）腫瘍におけるサイトカインの存在を指す。
【０１１５】
【図３３】図３３Ａは、処置の１８日後の対側の全腫瘍溶解物からのサイトカイン発現を示すヒートマップを提供する。
【０１１６】
図３３Ｂは、肺組織からのサイトカイン発現が、Ｉｎｇｅｎｕｉｔｙ　Ｐａｔｈｗａｙ　Ａｎａｌｙｓｉｓ（ＩＰＡ）ソフトウェアによって決定されるように、癌に関連する経路にどのように影響するかの分析を示す。
【０１１７】
【図３４Ａ】図３４Ａ～３４Ｂは、処置の１８日後の全肺組織溶解物からのＫｉ－６７のＥＬＩＳＡ定量を提供する。図３４Ｃは、処置の１８日後の全肺組織溶解物からのＣＤ８のＥＬＩＳＡ定量を提供する。
【０１１８】
【図３４Ｂ－Ｃ】図３４Ａ～３４Ｂは、処置の１８日後の全肺組織溶解物からのＫｉ－６７のＥＬＩＳＡ定量を提供する。図３４Ｃは、処置の１８日後の全肺組織溶解物からのＣＤ８のＥＬＩＳＡ定量を提供する。
【０１１９】
【図３５】図３５は、ＥＭＴ－６マウス腫瘍モデルのＰＥＦの１４日後の原発性腫瘍成長曲線を示す。
【０１２０】

【図３６】図３６は、ＥＭＴ－６マウス腫瘍モデルのＰＥＦの１４日後の続発性腫瘍成長曲線を示す。
【０１２１】
【図３７】図３７は、２４日間にわたる生存プロットを示す。
【０１２２】
【図３８】図３８Ａ～３８Ｂは、原発性腫瘍成長曲線（図３８Ａ）および続発性腫瘍成長曲線（図３８Ｂ）を示す。
【０１２３】
【図３９】図３９Ａは、原発性腫瘍接種時に開始された高頻度抗ＰＤ－１投薬スキームを示す。
【０１２４】
図３９Ｂは、ＣＰＢがＰＥＦ処置時に開始された低頻度後期抗ＰＤ－１投薬スキームを示す。
【０１２５】
【図４０】図４０は、処置６０日後の生存を示すＫａｐｌａｎ－Ｍｅｉｅｒ曲線である。
【０１２６】
【図４１】図４１Ａ～４１Ｂは、以前にＥＭＴ６腫瘍細胞注射でチャレンジされていない天然対照マウス、および以前に完全奏効を達成したＰＥＦとＣＰＢの組み合わせからの動物におけるＥＭＴ６腫瘍成長を示す。
【０１２７】
【図４２】図４２は、第５の乳房脂肪パッド（左右両側、両側性腫瘍モデル）に２００，０００個の細胞（４Ｔ－１）を同所性チャレンジしたＢａｌｂ／ｃマウスの投薬スケジュールである。
【０１２８】
【図４３】図４３は、原発性または直接処置された４Ｔ－１腫瘍の成長プロットである。
【０１２９】
【図４４】図４４は、ＰＥＦの１８日後または接種の１３日後の対側または未処置の４Ｔ－１腫瘍体積の生物学的群間の比較を示す。
【発明を実施するための形態】
【０１３０】
本発明の詳細な説明
ここで、開示されたデバイス、システム、および方法の特定の実施形態を、図面を参照して説明する。この詳細な説明のいずれも、任意の特定の構成要素、特徴、または工程が本発明に必須であることを暗示することを意図していない。
Ｉ．概要
【０１３１】
優れた成果を得るために、特殊なパルス電界（ＰＥＦ）エネルギーを特定の線量で標的組織エリアに送達することによって、損傷組織、疾患組織、異常組織、閉塞組織、癌性組織または望ましくない組織（例えば、腫瘍、良性腫瘍、悪性腫瘍、嚢胞、または疾患組織のゾーンなど）を処置するためのデバイス、システムおよび方法が提供される。ＰＥＦエネルギーおよび送達は、望ましくない組織の破壊ならびに改善された炎症応答および免疫応答の生成を含む、標的組織エリアの高度な処置を提供するように最適化されている。これらの様々なタイプの処置は、電極形状、送達されるＰＥＦエネルギーの線量、エネルギーが送達される時間、およびＰＥＦエネルギー自体の波形を含む様々な要因によって制御される。ＰＥＦエネルギーは、特殊なエネルギーの一適用であると考えられる線量の形態で送達される。各線量は、標的組織エリアに病変を生み出す。いくつかの実施形態では、所望の成果は、単回線量の送達によって達成される。この達成は、処置時間を低減させ、エネルギー送達デバイスの再配置または同じ組織エリアの再処置に関連するものなどの追加の線量を提供することによって生じ得る任意の合併症を低減する。エネルギーの波形を定義する特定のパラメーター値により、波形は、１回の線量で所望の効果を送達するよう

に構成される。所望であれば、追加の線量を標的組織に送達してもよく、またはエネルギーを、元の標的組織を含んでも含まなくてもよい追加の標的組織に送達してもよいことが理解されよう。

【０１３２】

従来のＰＥＦエネルギー送達システムは、単に組織の破壊に焦点を当ててきた。ＰＥＦエネルギーで癌を処置する場合、腫瘍の完全な破壊が望ましい。その結果、腫瘍のサイズをカバーする病変を生成することが望まれており、病変は腫瘍の細胞を破壊する。この技術は、比較的洗練されていないままであり、したがって、その約束を真に果たすには至っていない。具体的には、エネルギー自体は「非熱的」として概念化されているが、いくつかの研究は、様々な異なる要因の結果として熱的続発症に悩まされている。これらの研究は、より高い送達された電気エネルギーがより大きな処置ゾーンに関連し得る一方で、ジュール加熱効果に起因して、キャビテーションの増加、淡組織細胞内変化、および白色から黄褐色の組織細胞外凝固も引き起こすことを示している。従来のＰＥＦはまた、部分放電（すなわち、アーク放電）によってキャビテーションを引き起こす可能性もある。アーク放電は、いくつかの要因によって発生する可能性があり、そのうちの１つはより高い送達電気エネルギーである。これらの効果は、熱損傷の結果としての合併症の可能性を高めながら、免疫系に対する任意の潜在的な利益を制限する。したがって、処置に関連し得る潜在的な熱および空洞効果を管理しながら電界効果を最大化するために従来のＰＥＦエネルギーをどのように展開することができるかに関する形式化された理解が不足している。

【０１３３】

対照的に、本明細書に記載のデバイス、システムおよび方法は、特定の線量の特殊なＰＥＦエネルギーを利用して、様々なゾーンを有する病変を生成し、ゾーンの操作は、特に癌および他の疾患を処置する場合に、患者のより包括的で、したがって成功した処置をもたらす利益を提供する。典型的には、ゾーンは、キャビテーションゾーンを排除または低減し、サーマルゾーンを排除または低減し、潜在的な炎症ゾーンおよび免疫応答ゾーンと共にＰＥＦゾーンを最大化するように操作される。ゾーンのサイズまたは量は、それらの組み合わせが、Ｔｒｅｇ、ＣＤ４、ＣＤ８および他の適応免疫細胞型の動員増加のカスケードを促進することなどによって、患者の適応免疫応答の増加を誘発するように特に生成される。これらの病変分類（すなわち、ゾーン）は、肉眼的に測定することができるが、組織特性（すなわち、組織密度、インピーダンス変化など）に基づいて、およびおそらく最も重要なことには、ＣＴなどの撮像モダリティを介してリアルタイムで監視することもできる。

ＩＩ．送達システムの例

【０１３４】

特殊なＰＥＦエネルギーは、特に経皮的アプローチがアクセスできないと以前は考えられていた場所で、身体全体の標的組織への優れたアクセスのために有利に設計されたシステムおよびデバイスを使用して送達される。そのようなアクセスは、典型的には低侵襲性であり、管腔内アプローチに依存するが、必要に応じて、経皮的、腹腔鏡的または開放外科的アプローチなどの他のアプローチがいくつかの状況で使用され得ることが理解され得る。図１は、特殊なＰＥＦエネルギーの送達に使用するための例示的な治療システム１００の概略図を提供する。この実施形態では、システム１００は、遠位端１０３および近位端１０７を有するシャフト１０６を含む細長い器具１０２を含む。器具１０２は、シャフト１０６の遠位端１０３の近傍にエネルギー送達体１０８を含む。エネルギー送達体１０８は、様々な形態をとり得ることが理解されよう。エネルギー送達体１０８は、外部から見えるように、シャフト１０６の外部に取り付けられてもよく、またはそれと一体であってもよい。または、エネルギー送達体１０８は、シャフト１０６内に内部に収容され、シャフト１０６から前進するかまたはシャフト１０６自体を後退させることによって露出されてもよい。同様に、複数のエネルギー送達体１０８が存在してもよく、それらは外部、内部、またはその両方であってもよい。いくつかの実施形態では、シャフト１０６は、押出ポリマーなどのポリマーからなる。いくつかの実施形態では、シャフト１０６は、可撓

性および／または剛性を制御するために異なるデュロメータを有する材料の複数の層から構成されることが理解されよう。いくつかの実施形態では、シャフト１０６は、個々のワイヤまたはワイヤ編組などの様々な要素で補強される。いずれの場合も、そのようなワイヤは平角線または丸線であってもよい。ワイヤ編組は編組パターンを有し、いくつかの実施形態では、編組パターンは所望の可撓性および／または剛性に合わせて調整される。他の実施形態では、シャフト１０６を補強するワイヤ編組は、シャフトの長さに沿った可撓性および／または剛性の追加の制御を提供するために、異なるデュロメータを有する材料の複数の層と有利に組み合わせることができる。

【０１３５】

いずれの場合も、各エネルギー送達体１０８は、ＰＥＦエネルギーを送達するための少なくとも１つの電極を含む。典型的には、エネルギー送達体１０８は、単一の送達電極を備え、器具１０２の遠位端１０３の近傍に配置されたエネルギー送達体１０８と患者の皮膚上に配置された戻り電極１４０との間にエネルギーを供給することによって達成される単極配置で動作する。しかしながら、双極エネルギー送達および他の構成が代替的に使用されてもよいことが理解されよう。双極エネルギー送達を使用する場合、器具１０２は、双極様式で機能するように構成された複数のエネルギー送達体１０８を含んでもよく、または双極様式で機能するように構成された複数の電極を有する単一のエネルギー送達体１０８を含んでもよい。器具１０２は、典型的には、近位端１０７の近傍に配置されたハンドル１１０を含む。ハンドル１１０は、器具１０２を操作するために使用され、典型的には、エネルギー送達体１０８を操作するためのアクチュエータ７３２を含む。いくつかの実施形態では、エネルギー送達体１０８は、（アクセス中の）閉鎖位置または後退位置から、アクチュエータ７３２によって制御される（エネルギー送達のための）開放位置または露出位置に移行する。したがって、アクチュエータ７３２は、典型的には、ノブ、ボタン、レバー、スライド、または他の機構の形態を有する。いくつかの実施形態では、ハンドル１１０は、器具１０２を介して送達するための液体、薬剤、物質、ツールまたは他のデバイスを導入するためのポートを含むことが理解されよう。液体の例としては、いくつか例を挙げると、懸濁液、混合物、化学物質、流体、化学療法剤、免疫療法剤、ミセル、リポソーム、塞栓剤、ナノ粒子、薬物溶出粒子、遺伝子、プラスミド、およびタンパク質が挙げられる。

【０１３６】

器具１０２は、ＰＥＦエネルギーを生成するように構成された発生機１０４と電気的に連通している。この実施形態では、発生機１０４は、ユーザーインターフェース１５０、１またはそれを超えるエネルギー送達アルゴリズム１５２、プロセッサ１５４、データ記憶／検索ユニット１５６（メモリおよび／またはデータベースなど）、ならびに送達されるエネルギーを生成および記憶するエネルギー貯蔵サブシステム１５８とを含む。いくつかの実施形態では、発生機１０４のユーザーインターフェース１５０を使用して、所望の処置アルゴリズム１５２を選択する。他の実施形態では、アルゴリズム１５２は、１またはそれを超えるセンサーによって取得された情報に基づいて、発生機１０４によって自動的に選択される。様々なエネルギー送達アルゴリズムを使用してもよい。いくつかの実施形態では、１またはそれを超えるキャパシターがエネルギー貯蔵／送達のために使用されるが、任意の他の適切なエネルギー貯蔵要素が使用されてもよい。加えて、１またはそれを超える通信ポートが通常含まれる。

【０１３７】

器具１０２の遠位端１０３は、典型的には、内視鏡などの送達デバイスを通って前進可能である。内視鏡は、典型的には、遠位先端部を有する細長い挿入管に取り付けられた制御本体を備える。内視鏡は、器具１０２の遠位端１０３が通過するポートによってアクセス可能な内部管腔を有する。器具１０２のシャフト１０６は、内部管腔を通って前進可能であり、内視鏡の遠位先端部から出る。撮像は、光源およびエネルギー源に接続する内視鏡コネクタを有する光ガイドチューブを使用して内視鏡を通して達成される。内視鏡の遠位先端部は、ビデオ、超音波、レーザー走査などを含むがこれらに限定されない視覚化技

術を装備し得る。これらの視覚化技術は、それらの設計と一致する信号を収集し、信号を有線または無線でシャフトの長さを介してビデオ処理ユニットに送信する。そして、ビデオ処理ユニットは、ビデオ信号を処理して画面上に出力を表示する。内視鏡は、典型的には、胃鏡（胃、食道、および小腸（十二指腸）を含む上部ＧＩ内視鏡検査）、結腸鏡（大腸）、気管支鏡（肺）、喉頭鏡（喉頭）、膀胱鏡（尿路）、十二指腸鏡（小腸）、腸鏡（消化器系）、尿管鏡（尿管）、子宮鏡（子宮頸部）など、内視鏡が使用されている解剖学的位置に特有であることが理解されよう。他の実施形態では、器具１０２は、カテーテル、シース、イントロデューサ、針または他の送達システムを介して送達可能であることが理解されよう。

【０１３８】

管腔内アクセスは、体内の様々な管腔内からの標的組織の処置を可能にする。管腔は、体内の管状または中空構造の内側の空間であり、いくつか例を挙げると、通路、管路、ダクトおよび空洞を含む。管腔構造の例には、いくつか例を挙げると、血管、食道、胃、小腸および大腸、結腸、膀胱、尿道、尿路管、子宮、膣、卵管、尿管、腎臓、腎尿細管、脊柱管、脊髄、および他の体全体の構造、ならびに肺、心臓および腎臓などの器官内の構造およびそれらを含む構造が含まれる。いくつかの実施形態では、標的組織は、近傍の管腔構造を介してアクセスされる。場合によっては、処置器具１０２は、管腔システムの様々な管腔構造または分岐部を通って前進し、標的組織位置に到達する。例えば、血管を介して標的組織部位にアクセスする場合、処置器具１０２は、遠隔で挿入され、脈管構造の様々な分岐部を通って前進して標的部位に到達し得る。同様に、管腔構造が鼻、口、尿道または直腸などの天然の開口部に由来する場合、自然の開口部を通って進入することができ、次いで、処置器具１０２は管腔システムの分岐部を通って前進して標的組織位置に到達する。あるいは、管腔構造は、切開または他の方法を介して標的組織の近傍に入ることができる。これは、大きなシステムの一部ではない管腔構造または他の方法ではアクセスすることが困難な管腔構造にアクセスする場合に当てはまり得る。

【０１３９】

標的組織エリアが管腔内に接近すると、エネルギーを様々な方法で標的組織に送達することができる。１つの配置では、エネルギー送達体１０８は、体腔内に配置され、エネルギーは、管腔壁の少なくとも一部を通って、および／または管腔壁を少なくとも部分的に取り囲んで、管腔壁内の組織を標的化するために、または管腔壁を通って、管腔壁の外側および近傍の組織を標的化するために、体腔内に入った標的組織に送達される。別の配置では、エネルギー送達体１０８は、管腔壁を通って前進し、管腔壁の外側の標的組織内またはその近傍に挿入される。そのような配置は、少なくとも２つのエネルギー送達体１０８を含み、一方は体腔内に配置され、一方は体腔の壁を通って延在するように組み合わせられてもよいことが理解されよう。いくつかの実施形態では、各エネルギー送達体１０８は、単極様式で機能する（例えば、ある距離に配置された戻り電極を利用する）。他の実施形態では、エネルギー送達体１０８の少なくともいくつかは、双極様式で機能する。管腔自体が処置全体を通して保存されるため、これらの送達オプションが可能であり、管腔自体の中、上または近傍の組織の処置を可能にする。そのような療法の送達は、管腔壁に浸潤しているか、または体腔の周りに少なくとも部分的に巻き付いており、近すぎて外科的に除去することができないか、または従来の病巣療法（ｆｏｃａｌ　ｔｈｅｒａｐｙ）で処置することができない腫瘍または疾患組織などの、以前はアクセスできなかった組織へのアクセスを可能にする。多くの従来の病巣療法、例えば熱エネルギーによる処置は、熱タンパク質凝固などにより管腔壁の構造を損傷または破壊する。特に、高周波アブレーションによって引き起こされる腸損傷は、最も懸念される合併症の１つであり、敗血症および膿瘍形成による死亡に関連している。その結果、ほとんどの医師は、腸に隣接する腫瘍における高周波アブレーションを延期するであろう。他の従来の病巣療法は、特定の体腔の近傍では効果がない。例えば、凍結療法は、冷却効果を低減させる、脈管構造を通る血液などの体腔を通る流れによって損なわれる組織の十分な冷却に依存する。このような管腔内アクセスはまた、多数の針プローブを皮膚を通して組織および器官の深部に配置す

ることを含むエネルギーの経皮送達などの他のタイプの処置よりも侵襲性が低い。体内の天然の開口部が利用されるため、感染の可能性のあるポイントの低減と共に創傷治癒が少なくなる。同様に、体内の深部の位置は、他の器官の背後または大血管の近傍など、他の方法では外部からのアクセスが困難な位置と共にアクセスすることができる。様々な解剖学的位置が、本明細書に記載のシステムおよび方法で処置され得ることが理解されよう。例としては、管腔構造自体、管腔構造の近傍に位置する体全体の軟組織、および管腔構造からアクセス可能な固形器官（肝臓、膵臓、胆嚢、腎臓、前立腺、卵巣、リンパ節およびリンパ排出管、下層の筋肉組織、骨組織、脳、眼、甲状腺などを含むがこれらに限定されない）が挙げられる。様々な組織位置に経皮的にアクセスできることも理解されよう。

【０１４０】

内視鏡アプローチはまた、単極エネルギー送達にも役立つ。上述したように、単極送達は、電流回路を完成させるために、エネルギー送達体１０８（器具１０２の遠位端付近）から標的組織へ、および患者を通って患者の皮膚に対して配置されたリターンパッド１４０への電流の通過を含む。したがって、いくつかの実施形態では、器具１０２は、ただ１つのエネルギー送達体１０８または電極を含む。これにより、器具１０２は、より小さい体腔内に配置可能であるように薄型にすることができる。これはまた、エネルギー送達体１０８を取り囲む組織の深い貫通を可能にする。同様に、そのようなデバイスで管腔壁を貫通する場合、ただ１つのエネルギー送達体１０８の使用により、処置ごとにただ１つの貫通が必要とされる。様々なデバイス設計または処置プロトコルに起因して追加の貫通が起こり得るが、いくつかの実施形態では、単極送達設計は手順の侵襲性を低減し、デバイスおよび処置設計を単純化し、標的組織に優れた処置ゾーンを提供することが理解されよう。

【０１４１】

本明細書に記載のデバイス、システムおよび方法は、単独で、または他の処置と組み合わせて使用してもよい。そのような併用処置は、特に癌処置に適用可能であり得る。例えば、本明細書に記載のＰＥＦ処置は、いくつか例を挙げると、様々な非外科的療法、放射線療法、化学療法、標的療法／免疫療法、病巣療法、遺伝子療法、プラスミド療法などのネオアジュバント療法およびアジュバント療法と組み合わせて使用してもよい。病巣療法の例には、マイクロ波アブレーション、高周波アブレーション、凍結アブレーション、高強度集束超音波（ＨＩＦＵ）、および他のパルス電界アブレーション療法が含まれる。そのような組み合わせは、応答性の改善、および場合によっては療法単独のいずれよりも大きい相乗的応答のために組織を調整し得る。さらに、本明細書に記載のＰＥＦ処置は、療法の性質のためにアブスコパル効果をもたらし得る。

【０１４２】

図１Ａ～１Ｂは、発生機１０４と接続可能なエネルギー送達カテーテル１０２を含む治療システム１００を示す。図示のように、カテーテル１０２は、遠位端１０３、近位端１０７、および少なくとも部分的にそこを貫通して延在する少なくとも１つの管腔１０５を有するシャフト１０６を含む。同様に、カテーテル１０２はまた、少なくとも１つのエネルギー送達体１０８も含む。この実施形態では、エネルギー送達体１０８は、シャフト１０６の管腔１０５内に配置されたプローブ７００の形態を有する。プローブ７００は、管腔１０５を通って前進可能であり、シャフト１０６の遠位端１０３から伸長可能なプローブ先端部７０２を有する（詳細を示すために図１Ａにおいて拡大されている）。この実施形態では、先端部７０２は、針に似たように、組織を貫通するように構成された尖った形状を有する。したがって、この実施形態では、プローブ先端部７０２は、体腔の外部の標的組織に挿入され得るように、管腔壁Ｗおよび周囲組織を貫通するために利用される。したがって、プローブ７００は、管腔内に送達されるのに十分な可撓性を有するが、管腔壁Ｗおよび標的組織を貫通するのに十分なカラム強度を有する。いくつかの実施形態では、カテーテル１０２は、所望の配置を確実にするためにプローブ先端部７０２が前進した距離をユーザーに示すマーキングを有する。

【０１４３】

いくつかの実施形態では、プローブは、シャフト１０６の遠位端１０３からおよそ０．５ｃｍ未満、０．５ｃｍ、１ｃｍ、２ｃｍ、３ｃｍ、４ｃｍ、５ｃｍ、６ｃｍ、７ｃｍ、８ｃｍ、または８ｃｍ超延在する。いくつかの実施形態では、プローブは、シャフト１０６の遠位端から１～３ｃｍまたは２～３ｃｍ延在する。いくつかの実施形態では、プローブは、１８ゲージ、１９ゲージ、２０ゲージ、２１ゲージ、２２ゲージ、２３ゲージ、２４ゲージ、または２５ゲージである。いくつかの実施形態では、プローブ７００は、電極として機能するように導電性材料からなる。したがって、電極は、露出したプローブのサイズを有する。材料の例には、ステンレス鋼、ニチノール、コバルト－クロム合金、銅、および金が含まれる。いくつかの実施形態では、露出したプローブ導電性材料は、異なる材料でコーティングされ、その例は白金－イリジウム、金、白金ブラック、パラジウム、または他の材料を含む。導電性材料または導電性材料コーティングは、他の目的の中でも、組織の生物学的相互作用を低減し、ＰＥＦ処理からの電気化学的効果の生成を低減し、またはＰＥＦエネルギーを組織により効率的に分配するように設計され得る。材料は、滑らかであり、電解研磨され、様々なグリットでサンドブラストされ、または表面の粗さを変えるために他の機械的または化学的調製物で処理されてもよく、これは、他の目的の中でも、組織の生物学的相互作用を低減させ、電極のより容易な展開および後退を容易にし、ＰＥＦ処理からの電気化学的効果の生成を低減させ、またはＰＥＦエネルギーを組織により効率的に分配するために行われ得る。したがって、これらの実施形態では、ＰＥＦエネルギーは、プローブ７００を通ってプローブ先端部７０２に伝達可能である。その結果、シャフト１０６は、絶縁材料で構成されるか、または絶縁シースによって覆われる。絶縁材料の例には、ポリイミド、シリコーン、ポリテトラフルオロエチレン、およびポリエーテルブロックアミドが含まれる。絶縁材料は、シャフト１０６またはシースの長さに沿って一貫していても変化していてもよい。同様に、いずれの場合も、絶縁材料は通常、完全な電気絶縁を含む。しかしながら、いくつかの実施形態では、絶縁材料は、いくらかの漏れ電流が浸透することを可能にする。

【０１４４】

プローブ７００が通電されると、絶縁シャフト１０６は、周囲の組織を処置エネルギーから保護し、処置エネルギーを周囲の組織に送達することができるプローブ先端部７０２（およびプローブ７００の任意の露出部分）にエネルギーを導く。したがって、先端部７０２は送達電極として作用し、そのサイズはプローブ７００の露出量に基づいて選択することができる。より多くの量のプローブ７００を露光することによってより大きな電極を形成することができ、より少ない露光量によってより小さな電極を形成することができる。いくつかの実施形態では、エネルギー送達中の露出した先端部７０２（その遠位端から絶縁シャフトの遠位縁まで測定される）は、０．１ｃｍ、０．２ｃｍ、０．３ｃｍ、０．４ｃｍ、０．５ｃｍ、０．６ｃｍ，０．７ｃｍ、０．８ｃｍ、０．９ｃｍ、１ｃｍ、２ｃｍ、３ｃｍ、３ｃｍ超、最大８ｃｍ、０．１ｃｍ以下、０．３ｃｍ以下、０．５ｃｍ以下、１ｃｍ以下、０．２～０．３ｃｍ、０．１～０．５ｃｍ、０．１～１ｃｍ、およびそれらの間のすべての範囲および部分範囲の長さを有する。電極のサイズを変更することに加えて、先端部７０２は、非外傷性内視鏡送達を可能にするためにシャフト１０６内に後退可能であり、その後、標的組織に到達するために所望に応じて前進可能である。この実施形態では、前進および後退は、シャフト１０６の近位端１０７に取り付けられたハンドル１１０上のアクチュエータ７３２（例えば、ノブ、ボタン、レバー、スライド、または他の機構）によって制御される。シャフト１０６自体は、シャフト１０６の遠位端１０３からプローブを前進させてもさせなくても、標的組織に向かって前進させることができることが理解されよう。いくつかの実施形態では、シャフト１０６の遠位端は、管腔構造の外面から、または患者の身体の外面からなど、組織内に最大２０ｃｍ前進する。

【０１４５】

ハンドル１１０は、特殊なエネルギープラグ５１０を使用して発生機１０４に接続される。エネルギープラグ５１０は、ハンドル１１０に接続する第１の端部５１２と、発生機１０４に接続する第２の端部５１４とを有する。ハンドル１１０との第１の端部５１２の

接続は、図１Ｂに詳細に拡張されている。この実施形態では、第１の端部７１２は、そこから延在する接続ワイヤ７１８を含むアダプタ７１６を有する。接続ワイヤ７１８は、ハンドル１１０内のプローブ７００の近位端に挿入可能である。これにより、発生機１０４から接続ワイヤ７１８を介してプローブ７００にエネルギーを伝達することができる。したがって、プローブ７００は、その長さ全体にわたって通電することができるが、露出した先端部７０２のみが、絶縁シャフト１０６の存在に起因して組織にエネルギーを送達する。

【０１４６】

この実施形態では、発生機１０４は、ユーザーインターフェース１５０、１またはそれを超えるエネルギー送達アルゴリズム１５２、プロセッサ１５４、データ記憶／検索ユニット１５６（メモリおよび／またはデータベースなど）、ならびに送達されるエネルギーを生成および記憶するエネルギー貯蔵サブシステム１５８とを含む。いくつかの実施形態では、１またはそれを超えるキャパシターがエネルギー貯蔵／送達のために使用されるが、任意の他の適切なエネルギー貯蔵要素が使用されてもよい。さらに、１またはそれを超える通信ポートが含まれる。

【０１４７】

いくつかの実施形態では、発生機１０４は、３つのサブシステム：１）高エネルギー貯蔵システム、２）高電圧中周波スイッチング増幅器、および３）システムコントローラー、ファームウェア、およびユーザーインターフェースを含む。システムコントローラーは、パルスエネルギー出力を患者の心臓律動に同期させることを可能にする心臓同期トリガーモニタを含む。発生機は、複数の直流（ＤＣ）電源に電力供給するために交流（ＡＣ）電源を取り込む。発生機のコントローラーは、エネルギー送達が開始される前に、ＤＣ電源に高エネルギーキャパシター貯蔵バンクを充電させることができる。治療用エネルギー送達の開始時に、発生機のコントローラー、高エネルギー貯蔵バンクおよび二相パルス増幅器は、高電圧の中周波出力を生み出すように同時に動作することができる。

【０１４８】

エネルギー送達アルゴリズムを実行するために多数の発生機の電気的アーキテクチャを使用できることが理解されよう。特に、いくつかの実施形態では、同じエネルギー貯蔵および高電圧送達システムからパルス電界回路をエネルギー送達電極に別々に向けることができる高度なスイッチングシステムが使用される。さらに、急速に変化するパルスパラメーター（例えば、電圧、周波数など）または複数のエネルギー送達電極を使用する高度なエネルギー送達アルゴリズムに使用される発生機は、モジュール式エネルギー貯蔵および／または高電圧システムを利用して、高度にカスタマイズ可能な波形および地理的パルス送達パラダイムを容易にし得る。本明細書で上述した電気的アーキテクチャは例示目的のみであり、パルス電界を送達するシステムは、追加のスイッチング増幅器構成要素を含んでも含まなくてもよいことをさらに理解されたい。

【０１４９】

ユーザーインターフェース１５０は、オペレーターが患者データを入力し、処置アルゴリズムを選択し（例えば、エネルギー送達アルゴリズム１５２）、エネルギー送達を開始し、記憶／検索ユニット１５６に記憶された記録を表示し、および／または他の方法で発生機１０４と通信することを可能にするタッチスクリーンおよび／またはより伝統的なボタンを含むことができる。ユーザーインターフェース１５０は、患者データを入力するための音声起動機構を含むことができ、または発生機１０４の制御が二次的な別個のユーザーインターフェースを介するようにスイート内の追加の機器と通信することが可能であり得る。

【０１５０】

いくつかの実施形態では、ユーザーインターフェース１５０は、オペレーター定義の入力を受信するように構成される。オペレーター定義の入力は、エネルギー送達の持続時間、エネルギー送達パルスの１またはそれを超える他のタイミング態様、電力、および／または動作モード、またはそれらの組み合わせを含むことができる。例示的な動作モードは

、システム始動およびセルフ試験、オペレーター入力、アルゴリズム選択、処置前システム状態およびフィードバック、エネルギー送達、エネルギー送達後の表示またはフィードバック、処置データレビューおよび／またはダウンロード、ソフトウェア更新、またはそれらの任意の組み合わせまたは部分的組み合わせを含むことができる（ただし、これらに限定されない）。

【０１５１】

いくつかの実施形態では、システム１００はまた、外部心臓モニタ１７０などの心電図（ＥＣＧ）を取得するための機構を含む。例示的な心臓モニタは、ＡｃｃｕＳｙｎｃ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎから入手可能である。いくつかの実施形態では、外部心臓モニタ１７０は、発生機１０４に動作可能に接続される。心臓モニタ１７０は、ＥＣＧ信号を連続的に取得するために使用することができる。外部電極１７２は、ＥＣＧを取得するために患者Ｐに適用されてもよい。発生機１０４は、１またはそれを超える心周期を分析し、患者Ｐにエネルギーを印加することが安全な期間の開始を識別し、したがって、エネルギー送達を心周期と同期させる能力を提供する。いくつかの実施形態では、この期間は、エネルギーパルスがＴ波で送達される場合に起こり得る不整脈の誘導を回避するために、（ＥＣＧ ＱＲＳ複合体の）Ｒ波のミリ秒以内である。そのような心臓同期は、典型的には単極エネルギー送達を使用するときに利用されるが、他のエネルギー送達方法の一部として利用され得ることが理解されよう。

【０１５２】

いくつかの実施形態では、プロセッサ１５４は、他の活動の中でも、エネルギー送達アルゴリズム間を変更および／または切り替え、エネルギー送達および任意のセンサーデータを監視し、フィードバックループを介して監視されたデータに反応する。いくつかの実施形態では、プロセッサ１５４は、１またはそれを超える測定されたシステムパラメーター（例えば、電流）、１またはそれを超える測定された組織パラメーター（例えば、インピーダンス）、および／またはそれらの組み合わせに基づいて、フィードバック制御ループを実行するための１またはそれを超えるアルゴリズムを実行するように構成される。

【０１５３】

データ記憶／検索ユニット１５６は、送達された処置に関連するデータなどを記憶し、必要に応じて、デバイス（例えば、ラップトップまたはサムドライブ）を通信ポートに接続することによってダウンロードすることができる。いくつかの実施形態では、デバイスは、例えば、データ記憶／検索ユニット１５６に記憶され、プロセッサ１５４によって実行可能な命令などの情報のダウンロードを指示するために使用されるローカルソフトウェアを有する。いくつかの実施形態では、ユーザーインターフェース１５０は、オペレーターが、限定されないが、コンピューターデバイス、タブレット、モバイルデバイス、サーバー、ワークステーション、クラウドコンピューティング装置／システムなどのデバイスおよび／またはシステムにデータをダウンロードすることを選択することを可能にする。有線および／または無線接続を可能にすることができる通信ポートは、上述したようにデータダウンロードを可能にすることができるが、カスタムアルゴリズムのアップロードまたはソフトウェア更新の提供などのデータアップロードも可能にすることができる。

【０１５４】

データ記憶／検索ユニット１５６は、例えば、ランダムアクセスメモリ（ＲＡＭ）、メモリバッファ、ハードドライブ、データベース、消去可能プログラマブル読み出し専用メモリ（ＥＰＲＯＭ）、電気的消去可能読み出し専用メモリ（ＥＥＰＲＯＭ）、読み出し専用メモリ（ＲＯＭ）、フラッシュメモリなどであり得る。データ記憶／検索ユニット１５６は、システム１００に関連するモジュール、プロセス、および／または機能をプロセッサ１５４に実行させるための命令を記憶することができる。

【０１５５】

いくつかの実施形態では、データ記憶／検索ユニット１５６は、様々なコンピューター実装動作を実行するための命令またはコンピューターコードを有する非一時的コンピューター可読媒体（非一時的プロセッサ可読媒体とも呼ばれる）を有するコンピューター記憶

製品を含む。コンピューター可読媒体（またはプロセッサ可読媒体）は、一時的な伝播信号自体（例えば、空間またはケーブルなどの伝送媒体上で情報を搬送する伝搬電磁波）を含まないという意味で非一時的である。媒体およびコンピューターコード（コードとも呼ばれ得る）は、特定の単数または複数の目的のために設計および構築されたものであり得る。非一時的コンピューター可読媒体の例には、ハードディスク、フロッピー（登録商標）ディスク、および磁気テープなどの磁気記憶媒体；コンパクトディスク／デジタルビデオディスク（ＣＤ／ＤＶＤ）、コンパクトディスク読み出し専用メモリ（ＣＤ－ＲＯＭ）、およびホログラフィックデバイスなどの光記憶媒体；光ディスクなどの光磁気記憶媒体；搬送波信号処理モジュール；ならびに、ＡＳＩＣ、プログラマブルロジックデバイス（ＰＬＤ）、読み出し専用メモリ（ＲＯＭ）、およびランダムアクセスメモリ（ＲＡＭ）デバイスなどのプログラムコードを格納および実行するように特別に構成されたハードウェアデバイスが含まれるが、これらに限定されない。本明細書に記載の他の実施形態は、例えば、本明細書に記載の命令および／またはコンピューターコードを含むことができるコンピュータープログラム製品に関する。

【０１５６】

コンピューターコードの例には、マイクロコードまたはマイクロ命令、コンパイラによって生成されるような機械命令、ウェブサービスを生成するために使用されるコード、およびインタープリターを使用してコンピューターによって実行される上位レベルの命令を含むファイルが含まれるが、これらに限定されない。例えば、実施形態は、命令型プログラミング言語（例えば、Ｃ、Ｆｏｒｔｒａｎなど）、機能型プログラミング言語（Ｈａｓｋｅｌｌ、Ｅｒｌａｎｇなど）、論理型プログラミング言語（例えば、Ｐｒｏｌｏｇ）、オブジェクト指向プログラミング言語（例えば、Ｊａｖａ（登録商標）、Ｃ＋＋など）、または他の適切なプログラミング言語および／または開発ツールを使用して実施することができる。コンピューターコードのさらなる例には、制御信号、暗号化コード、および圧縮コードが含まれるが、これらに限定されない。

【０１５７】

いくつかの実施形態では、システム１００は、有線ネットワークおよび／または無線ネットワークとして実装された、例えば、ローカルエリアネットワーク（ＬＡＮ）、ワイドエリアネットワーク（ＷＡＮ）、仮想ネットワーク、電気通信ネットワーク、データネットワーク、および／またはインターネットなどの任意のタイプのネットワークであり得るネットワークに通信可能に連結することができる。いくつかの実施形態では、セキュアな通信（例えば、セキュアソケットレイヤ（ＳＳＬ））および／または暗号化の任意の適切なタイプおよび／または方法を使用して、任意のまたはすべての通信を保護することができる。他の実施形態では、いずれかまたはすべての通信がセキュアでなくてもよい。

【０１５８】

本明細書で説明するように、様々なエネルギー送達アルゴリズム１５２は、メモリまたはデータ記憶／検索ユニット１５６に記憶されるなど、発生機１０４にプログラム可能であるか、または予めプログラムすることができる。あるいは、エネルギー送達アルゴリズムをデータ記憶／検索ユニットに追加して、プロセッサ１５４によって実行することができる。プロセッサ１５４は、例えば、汎用プロセッサ、フィールドプログラマブルゲートアレイ（ＦＰＧＡ）、特定用途向け集積回路（ＡＳＩＣ）、および／またはデジタル信号プロセッサ（ＤＳＰ）などであり得る。プロセッサ１５４は、システム１００に関連するアプリケーションプロセスおよび／または他のモジュール、プロセスおよび／または機能、および／またはシステム１００に関連するネットワークを実施および／または実行するように構成することができる。本明細書で使用される場合、「モジュール」という用語は、例えば、メモリ、プロセッサ、電気トレース、光コネクタ、ソフトウェア（ハードウェアで実行される）などを含むことができる動作可能に連結された電気部品の任意のアセンブリおよび／またはセットを指す。例えば、プロセッサで実行されるモジュールは、そのモジュールに関連する１またはそれを超える特定の機能を実行することができるハードウェアベースのモジュール（例えば、ＦＰＧＡ、ＡＳＩＣ、ＤＳＰ）および／またはソフト

ウェアベースのモジュール（例えば、メモリに記憶され、かつ／またはプロセッサで実行されるコンピューターコードのモジュール）の任意の組み合わせであり得る。

【０１５９】

これらのアルゴリズム１５２の各々は、プロセッサ１５４によって実行されてもよい。いくつかの実施形態では、器具１０２は、いくつか例を挙げると、温度、インピーダンス、抵抗、静電容量、導電率、ｐＨ、光学特性（コヒーレンス、エコー原性、蛍光）、電気または光の誘電率、および／またはコンダクタンスを決定するために使用することができる１またはそれを超えるセンサー１６０を含む。いくつかの実施形態では、１またはそれを超える電極は、１またはそれを超えるセンサーとして機能する。他の実施形態では、１またはそれを超えるセンサーは電極とは別個である。１またはそれを超えるセンサー１６０は、特に検知されるパラメーターに応じて、様々な位置に配置することができることが理解されよう。例えば、センサーの配置は、エネルギー送達体１０８に沿って、器具の内部に沿って、シャフト１０６に沿って、器具１２０から突出する要素に沿って、などであり得る。複数のセンサー１６０は、複数の場所で同じパラメーターを検知するため、異なる場所で異なるパラメーターを検知するため、または異なる場所でパラメーターをサンプリングして単一のメトリック値測定値（例えば、平均温度、平均電圧曝露、平均導電率など）をコンパイルするために存在してもよい。これに代え、あるいはこれに加えて、１またはそれを超えるセンサー１６０を別個のデバイス上に配置してもよい。センサーデータを使用して、療法を計画し、療法を監視し、および／またはプロセッサ１５４を介して直接フィードバックを提供することができ、その後、エネルギー送達アルゴリズム１５２を変更することができる。例えば、インピーダンス測定値は、印加される初期線量を決定するために使用することができるだけでなく、さらなる処置が必要であるか否かを決定するために使用することもできる。

【０１６０】

システム１００は、温度、様々な電圧またはＡＣ周波数でのインピーダンス、処置持続時間またはエネルギー送達パルスの他のタイミング態様、処置電力および／またはシステム状態などの入力に応じて、処置に動的に応答し、調整し、および／または終了することができる自動処置送達アルゴリズムを含むことができることが理解されよう。

【０１６１】

いくつかの実施形態では、別個の撮像スクリーンに接続された内視鏡などの市販のシステムを使用して撮像が達成される。撮像モダリティは、器具１０２に組み込むことができ、または器具１０２と一緒にまたはそれと併せて使用することができることが理解されよう。撮像モダリティは、任意の適切な機構を使用して器具１０２に機械的、動作的、および／または通信可能に連結することができる。

ＩＩＩ．管腔内配置およびエネルギー送達

【０１６２】

前述のように、１つの配置では、エネルギー送達体１０８は、体腔内に配置され、エネルギーは、管腔内、管腔壁内、管腔壁を少なくとも部分的に取り囲む、または管腔壁の外側のいずれかの組織を標的とするために、管腔壁に、または管腔壁を通って送達される。したがって、標的組織は、体腔内に配置されたエネルギー送達体１０８から処置することができる。

【０１６３】

いくつかの実施形態では、処置デバイスおよびシステムは、近傍の標的組織を処置するために、管腔にアクセスし、管腔壁に向かって治療エネルギーを送達するように構成される。治療エネルギーは、一般に、細胞外マトリックスのうちの組織レベルの構造タンパク質などの重要な解剖学的構造をほとんどまたは全く破壊せずに標的組織の除去を可能にする高電圧パルスを特徴とする。これは、いくつか例を挙げると、狭窄、血栓形成または瘻孔形成などの危険な付随的影響を防止し、また、手順の数日以内に健康な新しい管腔組織の再生を可能にする。このタイプの治療的処置を提供するシステムの例としては、米国仮特許出願第６２／３５５，１６４号および同第６２／４８９，７５３号の優先権を主張す

る「ＧＥＮＥＲＡＴＯＲ ＡＮＤ Ａ ＣＡＴＨＥＴＥＲ ＷＩＴＨ ＡＮ ＥＬＥＣＴＲＯＤＥ ＡＮＤ Ａ ＭＥＴＨＯＤ ＦＯＲ ＴＲＥＡＴＩＮＧ Ａ ＬＵＮＧ ＰＡＳＳＡＧＥＷＡＹ」と題する国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１７／０３９５２７号、米国仮特許出願第６２／６１０，４３０号の優先権を主張する「ＭＥＴＨＯＤＳ，ＡＰＰＡＲＡＴＵＳＥＳ，ＡＮＤ ＳＹＳＴＥＭＳ ＦＯＲ ＴＨＥ ＴＲＥＡＴＭＥＮＴ ＯＦ ＤＩＳＯＲＤＥＲＳ」と題する国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１８／０６７５０１号、ならびに２０１７年１２月２６日に出願された仮特許出願第６２／６１０，４３０号および２０１８年７月３日に出願された米国仮特許出願第６２／６９３，６２２号の優先権を主張する「ＯＰＴＩＭＩＺＡＴＩＯＮ ＯＦ ＥＮＥＲＧＹ ＤＥＬＩＶＥＲＹ ＦＯＲ ＶＡＲＩＯＵＳ ＡＰＰＬＩＣＡＴＩＯＮＳ」と題する国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１８／０６７５０４号を含む、共通して譲渡された特許出願に記載されている肺組織改変システム（例えば、エネルギー送達カテーテルシステム）が挙げられ、これらはすべて、あらゆる目的のために参照により本明細書に組み込まれる。

【０１６４】

前述のように、１またはそれを超えるエネルギー送達アルゴリズム１５２は、患者への送達のために発生機１０４内にプログラム可能であるか、または予めプログラムすることができる。１またはそれを超えるエネルギー送達アルゴリズム１５２は、非熱的（例えば、熱アブレーションの閾値未満；凝固熱損傷を誘導する閾値未満）である管腔壁に送達されるエネルギーを提供する電気信号を指定し、炎症を低減もしくは回避し、および／または管腔構造中の間質タンパク質の変性を防止する。一般に、アルゴリズム１５２は、所定の深さまで組織に影響を及ぼすように、および／または送達されるエネルギーに対する特定のタイプの細胞応答を標的とするように調整される。深さおよび／または標的化は、１またはそれを超えるエネルギー送達アルゴリズム１５２によって規定されるエネルギー信号のパラメーター、器具１０２（特に、１またはそれを超えるエネルギー送達体１０８）の設計、および／または単極もしくは双極エネルギー送達の選択によって影響を受け得ることが理解されよう。典型的には、いくつか例を挙げると、最大０．０１ｃｍ、最大０．０２ｃｍ、０．０１～０．０２ｃｍ、最大０．０３ｃｍ、０．０３～０．０５ｃｍ、最大０．０５ｃｍ、最大０．０８ｃｍ、最大０．０９ｃｍ、最大０．１ｃｍ、最大０．２ｃｍ、最大０．５ｃｍ、最大０．７ｃｍ、最大１．０ｃｍ、最大１．５ｃｍ、最大２．０ｃｍ、最大２．５ｃｍ、最大３．０ｃｍ、最大３．５ｃｍ、最大４．０ｃｍ、最大４．５ｃｍ、または最大５．０ｃｍの深さである。これらの深さは、円周方向の病巣標的に対してより大きくてもよく、または管腔および実質組織を通る円周方向の深さ全体にわたって存在してもよい。

【０１６５】

したがって、処置は侵襲性が最小限であり、迅速かつ容易に実行可能であり、電極配置に対する感度が比較的低く（例えば、単極配置に起因する）、したがって、様々な技能レベルの技術者が高レベルの一貫性ならびに成功した成果を達成することを可能にする。いくつかの実施形態では、単極配置は、使用されるエネルギーの波形特性のために筋麻痺薬を必要とせずに可能である。これにより、神経筋麻痺の有無にかかわらず、運動ニューロンおよび骨格筋の脱分極からの筋収縮を許容され得るレベルまで緩和することができる。したがって、管腔を通って離れたパッドに至る単極指向処置送達を実施することが可能になり、より予測可能で望ましい処置ゾーンを生成する。所望のエネルギーのタイプおよび浸透の深さに応じて、麻痺薬を必要に応じて使用してもよいことが理解されよう。

ＩＶ．管腔外配置およびエネルギー送達

【０１６６】

図２Ａ～２Ｃは、処置方法の一例を示す。図２Ａは、管腔構造ＬＳ付近の異常または疾患組織Ｄ、例えば腫瘍を示す。この例では、疾患組織Ｄは管腔構造ＬＳの近傍にあるが、管腔壁Ｗから距離を置いている。この管腔構造ＬＳは、疾患組織Ｄにアクセスして管腔構造ＬＳの近傍の疾患組織Ｄを管腔外処置するために使用される。この実施形態では、内視鏡１０の細長い挿入管１４は、管腔構造ＬＳ内に前進し、その遠位先端部１６は管腔壁Ｗ

に向かって操作され、これを越えて疾患組織Ｄが存在する。望ましく配置されると、処置カテーテル１０２は、図２Ｂに示すように、シャフト１０６の遠位端１０３が内視鏡１０の先端部１６を越えて延在するように、挿入管１４内の管腔を通って前進する。この実施形態では、プローブ先端部７０２は壁Ｗを貫通するのを助け、シャフト１０６は、プローブ先端部７０２が疾患組織Ｄ内に望ましく配置されるまで壁Ｗを横切って前進する。図２Ｃを参照すると、この実施形態では、次いで、プローブ先端部７０２をシャフト１０６から前進させて、所望の送達電極サイズを生み出す。次いで、エネルギーは、プローブ先端部７０２から半径方向外側に延びる波状の矢印によって図２Ｃに示されるように、１またはそれを超えるエネルギー送達アルゴリズム１５２に従ってプローブ７００を通って疾患組織Ｄに送達される。疾患組織内への距離は、いくつか例を挙げると、パラメーター値、処置時間および組織のタイプに基づいて変化し得ることが理解され得る。本明細書に示されているよりも大きいまたは小さい処置深さが達成され得ることも理解されよう。

送達されたエネルギーは、疾患組織Ｄを適宜処置する。癌の場合、癌性細胞は、破壊され、排除され、死滅され、除去されるなどである。例としては、いくつか例を挙げると、免疫原性細胞死（例えば、ネクロトーシス、パイロトーシスなど）およびプログラム細胞死（アポトーシス）が挙げられる。ＰＥＦゾーンでは、そのような細胞死は、コラーゲン、エラスチン、およびマトリックスタンパク質などの非癌性の非細胞要素を維持しながら起こる。これらの非細胞要素は、正常な細胞再生を可能にし促進する組織の構造を維持する。同様に、近傍の管腔構造ＬＳの壁Ｗに到達する任意のエネルギーは、管腔構造ＬＳの完全性および機械的特性を維持する。いくつかの例では、エネルギーは、蓄積した全身性細胞傷害および細胞恒常性の回復不能な破壊などを介して、疾患組織Ｄの細胞を直接死滅させることが理解され得る。他の例では、細胞は免疫系の作用または他の生物学的プロセスによって死滅する。いくつかの例では、残存する疾患組織を外科的に除去するか、または他の方法によって除去する。

Ａ．代替プローブ設計

【０１６７】

プローブ５００は、様々な形態および構造を有し得ることが理解されよう。いくつかの実施形態では、プローブ５００は中空であり、例えば管状形状を有する。そのような実施形態では、プローブ５００は、ハイポチューブまたは金属チューブから形成されてもよい。そのようなチューブは、標的処置部位に対する一貫した信頼性の高い操縦性を確保するために、所望の押し込みおよびトルク能力、キンク性能、圧縮耐性および可撓性のために最適化することができる。同様に、そのようなチューブは、生産性能を最適化するための必要に応じたコーティングと共に、レーザー切断およびスカイブ特徴などのカスタム設計された移行部を含むことができる。いくつかの実施形態では、チューブは、プローブ先端部５０２を形成するために複数の刃先を有する鋭い点を有する。他の実施形態では、チューブは鈍い非外傷性先端部を有する。いくつかの実施形態では、プローブ５００は、ロッド形状を有するなど、中実である。これらのプローブは、ハイポチューブと同様に最適化およびカスタマイズすることもできる。いくつかの実施形態では、中実プローブ５００は、プローブ先端部５０２を形成するための対称または非対称の切断を有する鋭い点を有する。他の実施形態では、中実プローブ５０２は、鈍い非外傷性先端部を有する。

【０１６８】

プローブ５００は、流体または薬剤を送達するための管腔を含み得ることが理解されよう。そのような管腔は、プローブの内部または外部にあってもよい。同様に、流体または薬剤は、内部の管腔またはシャフト１０６に沿って配置されたポートなどを介して、シャフト１０６から直接送達されてもよい。

【０１６９】

いくつかの実施形態では、プローブ５００は、複数のプローブ要素から構成され、各プローブ要素は、上述の個々のプローブ５００と同様の特徴および機能を有する。したがって、いくつかの実施形態では、それらは別個のプローブと見なされ得るが、簡単にするために、それらは器具１０２の同じシャフト１０６を通過するので、単一のプローブ５００

を構成するプローブ要素として説明される。１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、またはそれを超える数を含む任意の数のプローブ要素が存在してもよいことが理解されよう。同様に、プローブ要素は、シャフト１０６から同じまたは異なる距離だけ延在してもよく、同じまたは異なる曲率を有してもよい。別の実施形態では、プローブ要素はいかなる曲率も有さず、直線的にシャフト１０６から出る。典型的には、プローブ要素は、シャフト１０６からのプローブ先端部の前進が、プローブ要素がその予め湾曲した形状をとることを可能にするように予め湾曲している。したがって、いくつかの実施形態では、シャフト１０６から異なる量でプローブ先端部を前進させることによって、様々な曲率を利用することができる。

【０１７０】

エネルギーを伝達することができるプローブ先端部５０２のサイズは、プローブ上に少なくとも部分的に延びる絶縁シース５５２を使用してさらに調整することができることが理解されよう。前述のように、プローブ先端部５０２の活性部分のサイズは、シャフト１０６からのその伸長に基づいて調整することができる。しかしながら、これは、特に複数のプローブ要素が存在する場合、個々のプローブ要素の一部を覆う絶縁シース５５２を使用してさらに洗練され得る。

【０１７１】

本明細書に記載のプローブ要素のいずれも、本明細書に記載のプローブのいずれとも同じ構造および特徴を有し得ることが理解されよう。例えば、プローブ要素は、同じ材料で構成され、同じ機能を有し、鋭利なまたは非外傷性の先端部を有してもよい。同様に、プローブ要素のいずれも、独立してまたは同時に展開されてもよく、独立してまたは同時に通電されてもよいことが理解されよう。送達されるエネルギーは、同じエネルギー送達アルゴリズム１５２または異なるエネルギー送達アルゴリズム１５２によって提供されてもよく、したがって、同じまたは異なるエネルギーを送達する。プローブ要素のいずれも、プローブ要素の対の間で単極様式または双極様式で機能し得る。同様に、プローブ要素は、単極様式と双極様式との組み合わせで機能することができることが理解されよう。

【０１７２】

前述のように、これらの管腔外送達実施形態の多くでは、エネルギー送達体１０８は、シャフト１０６の管腔１０５内に配置されたプローブ５００の形態を有する。いくつかの実施形態では、プローブ５００は、複数のワイヤまたはリボン１２０を含み、電極として機能するバスケット５５５を形成する。あるいは、バスケット５５５は、チューブからレーザー切断することができることが理解されよう。様々な他の設計が使用されてもよいことが理解されよう。典型的には、バスケット５５５は、折り畳まれた構成で標的エリアに送達され、その後使用のために拡張される。

Ｖ．撮像

【０１７３】

有用であり得る撮像に関連する方法には、（ａ）疾患標的組織を検出すること、（ｂ）処置されるエリアを同定すること、（ｃ）処置されたエリアを評価してエネルギー送達がどれだけ効果的であったかを決定すること、（ｄ）標的エリアを評価してエリアが見逃されたかもしくは不十分に処置されたかを決定すること、（ｅ）手順前もしくは手順中の撮像を使用して標的処置深度を測定し、その深度を使用してその深度に対する組織効果を達成するための特定のエネルギー送達アルゴリズムを選択すること、（ｆ）手順前もしくは手順中の撮像を使用して標的細胞タイプもしくは細胞界面を同定し、その位置もしくは深度を使用してその標的細胞タイプもしくは細胞界面に対する組織効果を達成するための特定のエネルギー送達アルゴリズムを選択すること、および／または（ｇ）手順前、手順中もしくは手順後の撮像を使用して炎症組織が存在するもしくは存在しない病原体の存在もしくは非存在を同定することが含まれる。

【０１７４】

いくつかの実施形態では、共焦点レーザー内部顕微鏡法（ＣＬＥ）、光干渉断層法（ＯＣＴ）、超音波、静的もしくは動的ＣＴ撮像、Ｘ線、磁気共鳴撮像（ＭＲＩ）、および／

または他の撮像モダリティを、別個の装置／システムとして使用することができるか、または器具１０２もしくは別個のデバイスに組み込むことによって処置システム１００に（機能的および／または構造的に）組み込む／統合することができる。撮像モダリティ（または複数のモダリティ）は、標的組織の様々なセクションを位置特定および／またはアクセスするために使用することができる。いくつかの実施形態では、処置の標的深度を測定し、標的深度まで処置するのに十分な処置アルゴリズム１５２を選択するために使用することができる。次いで、少なくとも１つのエネルギー送達体を標的組織部位に展開し、エネルギーを送達して標的組織に影響を及ぼすことができる。撮像モダリティ（または複数のモダリティ）は、処置がどこに送達されたか、送達されなかったか、またはエネルギーが気道壁に適切に影響したかどうかを決定するために、処置前、処置中、処置間、および／または処置後に使用することができる。エリアが見落とされた、またはエリアが適切に影響を受けなかったと決定された場合、適切な処置が達成されるまで、エネルギー送達とそれに続く撮像モダリティ（または複数のモダリティ）を繰り返すことができる。さらに、撮像情報を利用して、特定の細胞型およびまたは所望の療法深度が適用されたかどうかを決定することができる。これにより、多種多様な患者の解剖学的構造を処置するためのエネルギー送達アルゴリズムのカスタマイズを可能にすることができる。

【０１７５】

いくつかの実施形態では、体腔を介したアクセスは、身体に挿入された１またはそれを超える器具で視覚化される。同様に、いくつかの実施形態では、様々な撮像モダリティ（例えば、ＣＬＥ、ＯＣＴ）の１またはそれを超えるものが、直接視覚化と共に、または直接視覚化の代わりに使用される。一例として、気管支鏡は、器具１０２の直接的な視覚化および送達を可能にするために口を介して送達され得るが、代替の撮像モダリティは、気管支鏡の別の作業チャネルを介して、鼻を介して、または口を介して気管支鏡に隣接して送達され得る。いくつかの実施形態では、撮像モダリティ（例えば、直接視覚化、ＣＬＥ、および／またはＯＣＴ）は、撮像モダリティをシステム発生機１０４または市販のコンソールのいずれかに接続するための適切な機構を有する器具１０２に組み込まれる。

ＶＩ．コンディショニング

【０１７６】

システム１００によって提供されるＰＥＦアブレーション処置は、他の処置のためのコンディショニングとして使用されてもよいが、標的組織細胞は、代替的に、システム１００によって提供されるＰＥＦアブレーション処置の前にコンディショニングされてもよいことが理解され得る。

【０１７７】

いくつかの実施形態では、処置のために標的化される細胞は、エネルギー信号の送達に応答して細胞の挙動を改変するようにコンディショニングされる。そのようなコンディショニングは、エネルギー信号の送達前、送達中、または送達後に行われ得る。いくつかの実施形態では、エネルギー送達前のコンディショニングは事前コンディショニングとみなされ、エネルギー送達後のコンディショニングは事後コンディショニングとみなされる。そのような区別は、コンディショニング処理が細胞にどのように影響するかではなく、単にタイミングに基づく。他の実施形態では、事前コンディショニングは、細胞がエネルギーをどのように取り込むかなど、エネルギー送達中に細胞に起こることに影響を及ぼすことに関し、事後コンディショニングは、細胞がエネルギーを受けた後にどのように挙動するかなど、エネルギー送達後に細胞に起こることに影響を及ぼすことに関する。一部の例では、コンディショニングはエネルギー送達前に起こり得るが、エネルギー送達後の細胞応答にのみ影響を及ぼすため、そのような区別はタイミングにあまり関連しない可能性がある。したがって、特に明記しない限り、「コンディショニング」は、これらの状況の各々に適用されると考えてもよいことが理解されよう。

【０１７８】

典型的には、コンディショニングは、コンディショニング溶液を送達することによって達成される。管腔内療法の場合、コンディショニング溶液は管腔構造を介して送達され得

る。コンディショニング溶液は、代替的または追加的に、管腔内または他のアプローチのいずれかから、コンディショニング溶液の標的領域への直接流体注射を介して送達されてもよい。いくつかの実施形態では、コンディショニング溶液は、パルスエネルギー送達が分配される方法に影響を及ぼすなどのために、標的細胞の電気的特性を選択的に変化させる。他の実施形態では、コンディショニング溶液は、標的細胞の活性に影響を及ぼす。例えば、肺において、そのようなコンディショニング溶液は、基底細胞の線毛細胞への分化を促進し、および／または杯細胞および粘膜下腺細胞を下方制御し得る。他の実施形態では、コンディショニング溶液は、パルスエネルギー送達後に標的細胞が死滅する可能性を高める。さらに他の実施形態では、コンディショニング溶液は、パルス電界に対する非標的細胞の応答を変化させる。代替の実施形態では、コンディショニングは、組織の非溶液系曝露によって行われる。これには、放射線の療法、放射線療法、陽子線療法などが含まれる。いくつかの実施形態では、コンディショニングは、細胞下部組織の酵素およびエネルギー産生構成要素に影響を及ぼす。

【０１７９】

コンディショニング溶液は、いくつか例を挙げると、薬物、遺伝物質、生物活性化合物、および抗菌剤などの様々な薬剤で構成され得る。コンディショニング溶液が、パルスエネルギー送達後に標的細胞が死滅する可能性を高める実施形態の場合、コンディショニング溶液は、いくつか例を挙げると、化学療法薬（例えば、シスプラチン、ドキソルビシン、パクリタキセル、ブレオマイシン、カルボプラチンなど）、カルシウム、抗生物質、または毒素を含み得る。コンディショニング溶液が非標的細胞からパルス電界への応答を変化させる実施形態の場合、コンディショニング溶液は、サイトカイン（例えば、インターロイキンなどの免疫刺激薬）、遺伝子、ＶＥＧＦ（例えば、エリア内へのより多くの血管成長を促進するため）、細胞分化因子（例えば、杯細胞の線毛細胞への変換を促進する分子）、および／または細胞と相互作用する他の小分子、例えばプログラム死（ＰＤ－１）もしくはプログラム死リガンド（ＰＤ－Ｌ１）などの受容体のアゴニストおよびアンタゴニストを含み得る。コンディショニング溶液を標的部位に送達して、ＰＥＦエネルギー送達部位で直接相互作用させてもよい。それらはまた、全身的に（例えば、静脈内、腹腔内）または局部的に（例えば、静脈内から標的領域への供給動脈供給、より高い供給気道生成、ＰＥＦ処置によって直接影響を受ける組織周囲の組織への実質内）送達され得る。

【０１８０】

いくつかの実施形態では、コンディショニング溶液は、幹細胞、自家移植細胞、同種移植細胞または他の細胞型などの細胞を含む。これらの実施形態では、細胞を使用して、パルス電界に対する組織応答を変化させ得る。他の実施形態では、細胞を使用して、影響を受けたエリアを健康な細胞または望ましい細胞で再増殖させ得る。例えば、送達されたパルスエネルギー処理によって標的細胞が弱化または死滅すると、コンディショニング溶液からの細胞は、脱細胞化された細胞外マトリックスなどの空孔に移動し得る。いくつかの実施形態では、そのエリアは、新しい細胞を含有するコンディショニング溶液の送達の前に、死んだ細胞を除去するために、例えば、穏やかな洗剤、界面活性剤または他の溶液で洗い流される。他の実施形態では、吸引、デブリディング、または超音波ハイドロディセクションなどの機械的刺激を使用して、新しい細胞を含有するコンディショニング溶液の送達前に死細胞を物理的に除去する。

【０１８１】

いくつかの実施形態では、提供されるコンディショニングは、標的免疫応答を呼び出し得る。免疫応答は、処置効果の成果を変化させるいくつかの因子をもたらし得る。これは、腫瘍または感染に関連する細菌もしくはウイルスなどのいくつかの標的組織に関連する特異的マーカーを使用して、全身免疫の上方制御の増加をもたらし得る。それはまた、局所的、局部的、または全身的に起こり得る、体内に存在する一般的な異常細胞、細菌、または他の感染性生物を検出するために免疫系機能に広く影響を及ぼす自然免疫の上方制御をもたらし得る。

【０１８２】

いくつかの実施形態では、コンディショニング溶液は、標的細胞がどのように応答するかを変化させるために加温または冷却される。一般に、加温溶液は処置効果の増加（例えば、細胞死に対する感受性の増加）を促進するが、冷却溶液は処置効果の程度を低減させるか、または可逆的に設計されたプロトコルへの曝露後の細胞生存を増加させる。いくつかの実施形態では、遺伝子および／または薬物で構成される冷却コンディショニング溶液を使用して、細胞をエネルギー送達処理に耐えるように予備調整し、処理に耐える細胞の数を増加させる。いくつかの実施形態では、加温／冷却コンディショニング溶液の効果は、溶液中の他の薬剤（例えば、加温カルシウム溶液、冷却遺伝子含有溶液）によって引き起こされる一般的な効果と組み合わされる。他の実施形態では、加温／冷却コンディショニング溶液は、温度変化以外の効果をもたらさない。そのような実施形態では、コンディショニング溶液は、典型的には、等張食塩水、リン酸緩衝溶液または他の良性溶液からなる。

【０１８３】

そのような加熱または冷却は、代わりに、コンディショニング溶液の送達を含まない他の方法によって達成されてもよいことが理解されよう。例えば、標的組織は、組織を加温／冷却されたデバイスと接触させること、パルス電界送達カテーテルを意図的に加温／冷却すること、穏やかな凍結療法を送達すること、または穏やかな高周波もしくはマイクロ波エネルギーを送達することによって加熱または冷却され得る。前述のように、これは、組織に対する致死性または透過性効果の増強を促進することができ、または、細胞が手順を生き延び、療法の結果として標的とした所望の変化を表わすことを可能にする保護的態様を細胞に提供することができる。

【０１８４】

いくつかの実施形態では、コンディショニング溶液は、静脈内注射、摂取または他の全身的方法などによって全身的に送達される。他の実施形態では、コンディショニング溶液は、送達デバイスまたは器具１０２自体などを介して、標的細胞のエリアに局所的に送達される。

ＶＩＩ．エネルギー送達アルゴリズムおよび病変最適化

【０１８５】

特殊なエネルギーは、１またはそれを超えるエネルギー送達アルゴリズム１５２によって提供される。いくつかの実施形態では、アルゴリズム１５２は、一連のエネルギーパケットを含む波形を有する信号を規定し、各エネルギーパケットは一連の高電圧パルスを含む。そのような実施形態では、アルゴリズム１５２は、いくつか例を挙げると、パケットの数、パケット内のパルスの数、パルスシーケンスの基本周波数、個々のパルスの持続時間、またはパケットを含むパルスのシーケンス（パケット自体の中で変化し得る）から構成される、エネルギー振幅（例えば、電圧）および印加エネルギーの持続時間などの信号のパラメーターを指定する。追加のパラメーターは、二相性パルスの極性間のスイッチタイム、二相性サイクル間のデッドタイムまたはサイクル間遅延、およびパケット間の休止時間またはパケット間遅延を含んでもよく、これについては後のセクションでより詳細に説明する。いくつかの実施形態では、パケット間に固定されたパケット間遅延がある。いくつかの実施形態では、パケットは心周期にゲートされ、したがって患者の心拍数によって可変であるか、または心周期に固定されて心周期と同期される。いくつかの実施形態では、意図的で変化するパケット間遅延アルゴリズムが存在するか、または休止期間がパケット間に適用されなくてもよい。パケット送達はまた、後続のパケット送達のタイミングを協調するために次のトリガー信号（例えば、心臓同期信号）が使用される最小パケット間遅延などの複数の要因と協調され得る。センサー情報および自動シャットオフ仕様などに基づくフィードバックループが含まれてもよいことが理解されよう。

【０１８６】

プローブ７０２または他のエネルギー送達体によって標的組織に送達される特殊なエネルギーは、複数のゾーンを有する病変を生み出す。ゾーンは、プローブ７０２から半径方向外側に、例えばリング状に発する。各ゾーンは、異なる細胞効果を有し、したがって、

処置の全体的な成果に対する異なる効果を有する。いくつかの例では、ゾーンは、キャビテーションゾーン、サーマルゾーン、ＰＥＦゾーン、炎症ゾーンおよび免疫応答ゾーンを含む。

【０１８７】

図３Ａは、機械灌流臓器保存モデルを用いて生存可能に維持されたブタ肝臓に特殊なエネルギーを送達することによって生み出された組織Ｔにおける実際の組織病変を示す。図３Ｂは、明確にするためにゾーンで画定された病変を示す。エネルギー波形は、非常に小さなキャビテーションゾーン２００（この例では、実際の空洞ではない可能性が高いが、エネルギー送達体（針）をその中に配置することによる針管であり、しかしながら、キャビテーションゾーン２００は通常ここに配置される）、サーマルゾーン２０２、およびＰＥＦゾーン２０４を生成した。炎症ゾーンおよび／または免疫応答ゾーンは、ＰＥＦゾーンの周囲に位置し、したがってＰＥＦゾーンの端部に続くことが理解され得る。ゾーンの存在およびサイズは、波形、特にパラメーター値によって操作することができる。これらの例では、病変は、エネルギーの単回線量または単回適用によって生成されることが理解されよう。この線量中のエネルギーのオン時間およびその適用は、波形、より具体的には波形パラメーターに依存する。

【０１８８】

エネルギー送達は、器具１０２上のアクチュエータ１３２または発生機１０４に動作可能に接続されたフットスイッチの使用など、様々な機構によって作動され得る。そのような作動は、典型的には、単一のエネルギー線量を提供する。エネルギー線量は、送達されるパケットの数およびパケットの電圧によって定義される。標的組織に送達される各エネルギー線量は、病変内に所望のゾーンを生成するように、標的組織の温度または標的組織内の温度を維持する。ＰＥＦゾーンなどのゾーンは、熱アブレーション、特に間質タンパク質の熱アブレーションまたは変性のための閾値未満に維持される。さらに、処置手順中の熱蓄積をさらに低減または排除するために、線量を経時的に滴定または緩和することができる。ＰＥＦゾーンにおいて熱損傷（療法に対する危険性のある部位でのタンパク質凝固として定義される）を誘導する代わりに、エネルギー線量は、感受性組織を損傷することなく、癌などの症状の処置を誘導するレベルのエネルギーを提供する。

【０１８９】

図４は、エネルギー送達アルゴリズム１５２によって規定される信号の波形４００の一実施形態を示す。ここでは、第１のパケット４０２と第２のパケット４０４の２つのパケットが示されており、パケット４０２、４０４は休止期間またはパケット間遅延４０６によって分離されている。この実施形態では、各パケット４０２、４０４は、第１の二相性サイクル（第１の正のパルスピーク４０８および第１の負のパルスピーク４１０を含む）および第２の二相性サイクル（第２の正のパルスピーク４０８’および第２の負のパルスピーク４１０’を含む）からなる。第１および第２の二相性パルスは、各パルス間のデッドタイムまたはサイクル間遅延４１２（すなわち、ポーズ）によって分離される。この実施形態では、二相性パルスは、設定電圧４１６が正ピークと負ピークとで同じになるように対称である。ここで、二相性の対称波は、正電圧波の大きさおよび時間が負電圧波の大きさおよび時間におよそ等しくなるような方形波でもある。

【０１９０】

様々なパラメーター（例えば、電圧、基本周波数、パケットあたりのパルス数、パケット数、および様々な遅延など）の操作は、結果として生じる病変および身体自体に様々な影響を及ぼすことが理解されよう。場合によっては、パラメーターの変化は互いにバランスをとることができ、１またはそれを超えるパラメーターの変化の影響は、同じまたは同様の結果をもたらす１またはそれを超える異なるパラメーター値の変化によってバランスをとることができる。他の例では、パラメーター値を調整して、異なる病変特性（例えば、異なるゾーンの存在、サイズおよび／または特性）および／または身体に対する異なる効果などの、異なる効果を生み出すか、または生成することができる。身体に対するこれらの効果は、筋肉刺激などの即時的であってもよく、または特定の免疫応答の生成などの

遅延的であってもよい。

【０１９１】

図５は、パラメーター変更の様々な例示的効果を示す表である。典型的には、電極スタイルは、双極ではなく単極である。単極配置では、１またはそれを超える送達電極が標的組織部位の近傍に配置され、少なくとも１つの遠隔戻り電極が患者の皮膚に対して配置される。単極電極構成を利用することにより、筋収縮強度が増加する。この効果を打ち消すために、一般に、二相性波形または波形は、筋収縮の程度を相殺するように、パルス間に適切な遅延を有するパケットを含む十分に短い個々のパルス持続時間からなる。この波形の多様性は処置効果の減少をもたらすが、その減少は筋収縮の低減よりも微妙であり、したがって依然として有効なＰＥＦ治療適用をもたらす。単極構成はまた、双極または多極構成と比較して電気アーク放電のリスクを低下させ、すべての影響電極は、それらの間の電気アーク放電を可能にし得る同様の領域内に配置される。典型的には、波形は、単相性パルスとは対照的に二相性パルスを利用する。二相性パルスの使用は、処置サイズを減少させ、筋収縮を減少させ、アーク放電リスクも減少させる。したがって、二相性パルスの使用は、単極電極スタイルによる筋収縮の増加に対抗する。単極電極スタイルおよび二相性パルスの両方が処置サイズを低減させるので、他の変数を変更することによって処置サイズを増加させることができる。例えば、電圧、パケット持続時間およびパケット数の増加は、処置サイズを増加させる。しかしながら、これらのパラメーターを増加させることは、様々な他の効果を有する。例えば、電圧を増加させ、パケット持続時間を増加させると、それぞれ筋収縮、温度上昇、および電気アーク放電のリスクが増加する。基本周波数を増加させると、筋収縮を低下させることができるが、処置サイズも低減する。同様に、パケット数を増加させると、処置サイズが増加するが、温度上昇および処置送達時間も増加する。処置送達時間は、パケット送達速度を増加させることによって低下させることができるが、これは温度上昇を増加させる。したがって、様々なパラメーター変化の影響を管理することは複雑な努力である。これは、これらの変更が行われる増分によってさらに複雑になる。ＰＥＦ波形と線量そのものに関連するパラメーターの数と変更可能な増分を考慮すると、組み合わせのセットは膨大な量になる。これは、特定の電圧を送達する大きな電極が、より小さい電極とは異なる特性を有する場合、または単極対双極および多極配置（およびこれらの配置における電極間の分離距離）など、電極形状の影響によってさらに悪化する。これらの特性には、温度上昇、処置効果サイズ、送達される電流、筋収縮、電気アーク放電リスク、および標的処置効果サイズのカバレッジを達成するのに必要な時間も含まれる。さらに、患者に提供される特定のコンディショニング溶液は、誘導された筋収縮を標的化して低減させるために特に使用され得る。例えば、臭化パンクロニウム、ベクロニウム、サクシニルコリン、および他の閉塞による神経筋遮断を使用してもよい。この筋収縮の低減は、許容可能な安全な筋収縮を維持しながら、より大きな処置効果を達成するために、より低い周波数、より長いパケット持続時間、またはより高い電圧で処置線量を促進するために使用され得る。

【０１９２】

したがって、特定の成果に対する適切なパラメーター値を決定することは、高レベルの操作および技能を伴う。さらに、どの特定の成果が望まれるかを決定することもまた、高レベルの技能を伴う。例えば、所望の臨床転帰に至る結果として生じる病変における様々なゾーンの存在、タイプおよびサイズは、これまで知られていない。本明細書に記載の方法、システムおよびデバイスは、特定のパラメーター値および所望の臨床転帰をもたらす所望の結果として生じる病変の特徴の両方を提供する。したがって、典型的には癌性またはそうでなければ望ましくない標的組織に送達される特殊なエネルギーは、これらのパラメーター値に従って波形を生成する発生機１０４のアルゴリズム１５２から生成される。

【０１９３】

一実施形態では、処置線量は、以下を含むパラメーター値の組み合わせから生成される波形によって提供される：電圧＝３０００Ｖ、基本周波数＝４００ｋＨｚ、パケットあたりの二相性パルス（すなわち、サイクル）の数＝４０サイクル、サイクル間遅延＝１００

０マイクロ秒、パケットの数＝１００パケットおよびパケット間遅延＝３秒。この組み合わせでは、線量送達時間はおよそ５～６分である。この処置時間は、マイクロ波（１０分）、ＲＦ（２０分）、または凍結切除（３０～４０分）などの従来のエネルギーを使用する処置時間よりも実質的に短い。場合によっては、この線量は、任意の方向におよそ１ｘ１ｘ１ｃｍ^3±０．３ｃｍの病変サイズを生じる。以下、得られた病変の特徴について説明する。

キャビテーション効果

【０１９４】

いくつかの例では、従来のＰＥＦエネルギーを送達する場合、キャビテーションはプローブ７０２に最も近いエリアで発生し、キャビテーションゾーンと見なされる。しかしながら、本明細書に記載の特殊なエネルギーは、キャビテーションの発生を最小化または排除するように構成されている。ここで、キャビテーションは、特に特定のサイクル間遅延を含めて操作することによって、パラメーター値の操作によって最小化または排除される。

【０１９５】

図６Ａ～６Ｄを参照すると、異なるサイクル間遅延を有する波形を有するエネルギーによって生成された病変を有する組織試料Ｔが示されている。灌流臓器保存モデルにおいて、肝臓組織の一部にエネルギー送達体１０８（例えば、針／プローブ７０２、図示せず）を配置して各病変を形成した。図５Ａは、サイクル間遅延なしの特定の波形を有するエネルギーから形成された病変を示す。ここで、エネルギー送達は、病変内に不規則な形状の空洞効果（すなわち、空洞／キャビテーションゾーン２００）をもたらす電気アーク放電を起こしやすい。これらの空洞効果は不規則であるが、空洞は処置病変のコアに十分に収容される。空洞形成に起因して、灌流液で満たされる組織の空隙（すなわち、空洞）に起因して、最小限の二次的な熱効果が見出される。図６Ｂ～６Ｄに示されるように、それぞれ１０μｓ、１００μｓ、１０００μｓのサイクル間遅延などのサイクル間遅延を追加することにより、空洞効果が完全に除去された。病変の中心の小さな穴は、空洞の形成ではなく、プローブ７０２の挿入によるものである。したがって、キャビテーションの完全な排除を含むキャビテーションの量は、波形自体の態様によって、特に特定のサイクル間遅延を含めることによって制御および操作することができる。したがって、ＰＥＦ波形が４００ｋＨｚの基本周波数を有し、パケットごとに４０サイクルが提供され、線量ごとに１００パケットが提供される場合など、ＰＥＦ波形における少なくとも１０μｓのサイクル間遅延がキャビテーションを排除するために望ましい。サイクル間遅延の長さが増加するにつれて、アーク放電および放電が減少し、それによってキャビテーションが減少することが理解されよう。しかしながら、そのような減少は、１０００μｓ付近のサイクル間遅延など、横ばい状態およびプラトー状態になり始める。したがって、いくつかの実施形態では、総処理時間の過度の延長を引き起こすことなくキャビテーションを最も効果的に最小化または排除するために、１０００μｓの遅延が好ましい。そのようなキャビテーションの低減は、病変を形成する標的組織により多くの意図されたエネルギーを送達することが理解されよう。したがって、この例では、サーマルゾーン２０２が増加し、ＰＥＦゾーンを生み出すために所望されるよりも多くのエネルギーが送達されたことを示している。

【０１９６】

同様に、図７Ａ～７Ｂは、ブタ肺組織における前臨床試験からのインビボ組織試料Ｔを示す。図７Ａは、サイクル間遅延を有する特定の波形を有するエネルギーを送達することによって形成された病変２１０を有する肉眼的肺組織を示す。示されるように、組織キャビテーションが肺実質内で防止された。いくつかの実施形態では、サイクル間遅延の代わりにまたは加えてパケット間遅延を含めることによって同様の効果を達成できることが理解されよう。図７Ｂは、サイクル間遅延なしの波形を有するエネルギーの送達から形成された病変を有する肺組織を示す。示されるように、コア処置エリアは、解剖学的小葉間隔壁内に十分に含まれる大きな出血（血液充填）領域２１２からほとんど構成される。サイクル間遅延なしの処置は、最大のキャビテーションエリアをもたらした。

熱効果

【０１９７】

いくつかの例では、ＰＥＦエネルギーは、いくつかの要因を挙げると、特定の波形および方法論を使用すると、熱的続発症のエリアを有する病変を生成することができることが理解されよう。これは、より大きな処置ゾーンを生成しようとするときに最も頻繁に起こる。より高いレベルのエネルギー送達を使用すると、より大きな処置ゾーンを達成することができるが、これはジュール加熱効果による白色組織凝固の増加も引き起こす可能性がある。これは、典型的には、送達電極により近いエリアで起こる。その結果、特殊なエネルギーは、生成された病変における熱効果の存在を縮小させるか、排除するか、または他の方法で制御する。場合によっては、少量の熱効果が患者において特定の免疫応答を引き起こすのに有益であり得ることが理解され得る。したがって、場合によっては、熱効果が望まれ得る。しかしながら、熱効果の量の制御は、利益と望ましくない効果との間のバランスを維持する。したがって、いくつかの実施形態では、効果の比または組み合わせ（例えば、熱効果対ＰＥＦ効果）は、患者の免疫応答を最大化および／またはカスタマイズするように最適化される。したがって、場合によっては、身体から特定の成果を引き出すように局所組織特性を調整する効果または波形パラメーターの組み合わせの「黄金比」がある。したがって、いくつかの実施形態では、結果として得られる改善された波形およびエネルギー送達アルゴリズムは、最終的に患者の免疫応答を最大化および／または有益に制御する。

【０１９８】

いくつかの実施形態では、熱効果は、特に特定のサイクル間遅延を含めて操作することによって、パラメーター値の操作によって最小化または制御される。例えば、いくつかの実施形態では、サイクル間遅延およびパケット間遅延の追加は、サーマルゾーンおよび空洞ゾーンを最小限に抑えながら、生成された病変のＰＥＦが影響する体積を最大化する能力を高める。特に、いくつかの実施形態では、特定のパケット間遅延を含めることにより、サーマルゾーンが最小化される。

【０１９９】

図８は、パケット間遅延をエネルギー波形に統合することがどのようにＰＥＦエネルギー送達の熱効果を緩和するのに役立ち得るかを示す。ここでは、２つの曲線が示されている。第１の曲線２２０は、波形に３秒のパケット間遅延４０６が含まれる場合の経時的な温度上昇を示す。また、第２の曲線２２２は、波形に５秒のパケット間遅延４０６が含まれる場合の経時的な温度上昇を示す。図示されるように、５秒のパケット間遅延４０６は、経時的により低い温度上昇をもたらす。これは、冷却剤の添加などではなく、単に波形の操作によって達成される。場合によっては、熱効果は６５℃以上で生じる。したがって、場合によっては、５秒のパケット間遅延４０６を有する波形は熱効果を排除し、３秒のパケット間遅延４０６は小さな熱効果をもたらし得る。パケット間遅延４０６は経時的に温度上昇を低下させるが、全体的な処置時間も増加させる。小さな熱効果は許容され、場合によっては有益であるため、要因のバランスをとるために、３秒のパケット間遅延４０６が特殊なエネルギーに含まれていた。しかしながら、３秒、３．５秒、４秒、４．５秒および５秒、ならびにそれらの間のすべての部分範囲を含む、３～５秒のパケット間遅延が許容され得ることが理解されよう。同様に、より長い処置時間が許容される場合、５秒を超えるパケット間遅延４０６を使用することができる。

【０２００】

心拍と同期するとき、３秒の遅延は３秒よりわずかに長くてもよいことが理解されよう。例えば、場合によっては、エネルギー送達アルゴリズムは、３秒のパケット間遅延を有し、次の心拍がエネルギー送達をトリガーするまで待機する。したがって、実際のパケット間遅延は、３．１秒、３．２秒、３．３秒などであり得る。場合によっては、遅延は４．４９秒にもなり得る（例えば、４０ｂｐｍの患者の場合、３秒のパケット間遅延で最大に位置ずれする）。全体的な病変サイズは、サイクル間遅延の導入によって有意に影響されないことが理解されよう。

【０２０１】
ＰＥＦゾーンでは、組織を非熱的に処置するようにエネルギーが送達される（すなわち、熱アブレーションを引き起こすための閾値を下回る）。その結果、細胞外マトリックスが存在する場合、細胞外マトリックスは保存され、標的組織は血管およびリンパ管を含むその構造的アーキテクチャを維持する。したがって、組織の完全性および機能性を維持するために重要な生物学的管腔、血管、神経などの感受性構造を保存することができる。これはいくつかの利点を提供する。まず、これにより、従来の方法では処置できないと考えられることが多い組織の処置が可能になる。感受性構造に近い標的組織は、典型的には、組織を感受性構造から完全かつ効果的に外科的に分離することができないため、外科的方法によって切除不可能である。同様に、多くの従来の非外科的療法は、療法による感受性構造への損傷の可能性に起因して、または療法が感受性構造の近接に起因して無効であると考えられるため、禁忌である。さらに、感受性構造の近傍の組織を処置する能力はまた、悪性マージンが感受性構造の近傍に残らないという点でより包括的な処置を提供する。組織が処置されると、構造的アーキテクチャの生存はまた、免疫系の構成要素などの生物学的要素の自然流入、または治療的処置をさらに行うための様々な薬剤の導入を可能にする。
【０２０２】
特定の処置部位内の組織ゾーン（キャビテーションゾーン２００、サーマルゾーン２０２、ＰＥＦゾーン２０４）の比の微調整および調整は、本明細書で以下により詳細に説明するように、送達されるエネルギーおよび結果として生じる病変ゾーンの比に固有の免疫学的要素、例えば制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）、ＣＤ４（Ｔヘルパー）、ＣＤ８（Ｔ細胞傷害性）、ＣＤ３（Ｔ細胞）、ＣＤ２０（Ｂ細胞）、ＦｏｘＰ３（Ｔｒｅｇ）、Ｐａｎ－ＣＫ（腫瘍）、ＰＤ－Ｌ１、Ｍ１Ｆ＆Ｍ２Ｆ、ＤＣ、ＮＫ、ＭＤＳＣ、ＮＦ、および他の適応免疫細胞型の増加した動員のカスケードを促進する。
【０２０３】
キャビテーションゾーン２００、サーマルゾーン２０２、ＰＥＦゾーン２０４などの病変分類は、肉眼的に測定することができるが、組織特性（すなわち、組織密度、インピーダンス変化など）およびコンピューター断層撮影などの撮像モダリティに基づいてリアルタイムで監視することもできる。さらに、いくつかの実施形態では、これらの比は、いくつか例を挙げると、局所温度、組織インピーダンス、および組織密度などの他の臨床的に関連し定量化可能なツールの測定を中心とする。
【０２０４】
所望の病変ゾーンを生成するためにパラメーター値を操作することに加えて、いくつか例を挙げると、患者の安全性、望ましい処置時間、電気アーク放電リスクの低減、筋収縮の低減、および温度上昇の低減を確保しながら病変サイズを最大化するためにパラメーター値をさらに操作した。所望の線量のパラメーターを決定するために広範な研究を行った。研究には、以下のパラメーターの組み合わせを評価することが含まれた：
【０２０５】

【表１】

表1.

番号	電圧(V)	基本周波数(kHz)	サイクル(カウント)	サイクル間遅延(μs)	パケット(カウント)	パケット間遅延(s)
1	2500V	400kHz	40サイクル	1000μs	100パケット	3秒
2	2500V	400kHz	60サイクル	1000μs	100パケット	3秒
3	3000V	400kHz	40サイクル	1000μs	100パケット	3秒
4	3000V	400kHz	60サイクル	1000μs	100パケット	3秒
5	3300V	400kHz	60サイクル	1000μs	100パケット	3秒
6	2500V	400kHz	40サイクル	500μs	100パケット	3秒
7	2500V	400kHz	60サイクル	500μs	100パケット	3秒
8	3000V	400kHz	40サイクル	500μs	100パケット	3秒
9	3000V	400kHz	60サイクル	500μs	100パケット	3秒
10	3300V	400kHz	60サイクル	500μs	100パケット	3秒

【０２０６】

処置は、病変サイズを正確に測定するための優れた組織であるため肝臓実質に送達された。１つの研究では、２匹の豚を利用した。両動物を術後３日目に安楽死させた。針電極を適用して、各３日生存動物の肝臓実質に処置を送達した。視認性を改善し、意図された標的内での針電極の所望の位置決めを確実にするために、開腹術を使用した。開腹術の後、２４の処置を各３日生存動物の肝臓実質に送達した。全ての処置部位を切除し、肉眼的アブレーション分析のために切片化した。

【０２０７】

表１に示すように、すべての処置を４００ｋＨｚの基本周波数で１００パケット送達した。処置は、Ｒトリガー心臓同期を用いて送達され、３秒間の休止期間が後続のパケット間に実施された（およそ２０パケット／分（ｐｋｔｓ／分）のリズム）。５００μｓまたは１０００μｓのサイクル間遅延を使用して、これらの値から病変サイズへの変化がないことを確認した。この研究では、図９に示すように、全体的な処置ゾーンサイズに統計的な差は見られず、５００μｓのサイクル遅延および１０００μｓのサイクル遅延を用いた処置間の処置特性も見られなかった。図９は、ブタ肝臓組織におけるこの前臨床試験から捕捉されたインビボデータを示す。カラムプロットは、サイクル間遅延が５つの変動するエネルギープロトコル（変動する電圧振幅およびパケットあたりのオン時間）にわたる全体的な処置サイズに及ぼす影響の欠如を示している。

【０２０８】

短軸測定に基づいて処置体積を計算した。この計算式は式１に見出すことができ、式中、ｒは短軸半径寸法である。

Ｖ＝４／３＊π＊（ｒ）＾２＊（ｒ＋アプリケーター露出長）［式１］

【０２０９】

図１０Ａ～１０Ｂは、両方の動物の固定後の体積処置ゾーンの測定値を示す。これらの計算された体積は短軸測定に基づいていたので、３３００Ｖ／６０サイクルプロトコルを除いて、電圧およびパケットオン時間の増加に伴う処置体積の増加を伴うショートアクセス測定分析と同じ傾向が生じた。この場合、これは処置部位での部分放電に起因する可能性がある。図１０Ａ～１０Ｂのカラムプロットは、全ての影響を受けた組織と熱効果を受けた組織の比における電圧振幅およびパケットあたりのオン時間の影響を示す。図１０Ａ

は、可変電圧振幅およびサイクルカウントの短軸処置体積計算を示し、図１０Ｂは、処置体積内の熱壊死およびＰＥＦのパーセンテージを示す。全体として、熱的に明らかな処置効果の許容され得る割合と相まって、最大の総ＰＥＦゾーン体積（したがって、免疫系に対する最大の細胞残屑および抗原バイオアベイラビリティ）の解釈により、３０００Ｖおよび４０サイクル（パケットのアクティブタイムが１００μｓ）のパラメーター値が、ヒト研究によって後に確認されるように、所望の成果を提供することが決定される。

【０２１０】

肝臓試料を、任意の所与の肝臓部位に送達された処置の知識なしに盲検様式で組織学的にレビューした。スライドガラス上の組織に基づいて、処置した肝臓実質のサイズの全体的な評価を提供した（例えば、０．７×０．７ｃｍ～１．５×１．２ｃｍ）。病変の定性的評価も提供した。全体として、病変は、損傷の再現可能なパターンと非常に類似していると判定された。組織病変の組織学的分析により、各病変内の追加のゾーンが明らかになった。追加のゾーンは、ＰＥＦエネルギー送達の効果であり、炎症ゾーンである。組織試料に対して行われた組織学的分析は、術後３日の末梢炎症反応を示す。図１１Ａ～１１Ｂは、ブタ肝臓組織における前臨床試験から捕捉されたインビボ試料を示す。図１１Ａは、組織試料Ｔの病変の写真である。図１１Ｂは、図１１Ａの病変に見られるゾーンを示す「ブルズアイ」（“bullseye”）画像を重ね合わせている。ゾーンは、内側から外側に、サーマルゾーン２０２、ＰＥＦゾーン２０４および炎症ゾーン２０６を含む。組織試料は、全ての影響を受けた組織と熱効果を受けた組織の比、および末梢炎症性バンドまたはゾーン２０６に対する周波数の影響を示す。いくつかの実施形態では、より低い周波数は、より大きな末梢炎症反応またはゾーン２０６およびより大きな領域のＰＥＦエネルギー効果またはゾーン２０４を生成する。処置間で幾分異なるように見える１つの変数は、中心の完全に切除された肝実質のサイズと比較した末梢炎症ゾーン２０６／部分的に失活した肝細胞の幅であった。切除された肝臓実質のサイズ、ならびに中央組織アブレーションの「ブルズアイ」の性質、部分的に生存可能な／炎症ゾーン、完全に正常な／関与していない隣接する実質の急速な脱落に関して再現性のあるパターンの損傷がある。

【０２１１】

したがって、本明細書に記載の特殊なエネルギーの洗練された線量は、特に従来のパルス電界技術によって生成される病変と比較して、最小の熱体積で処置病変（例えば、直径１０ｍｍ）を生成する。いくつかの実施形態では、処置持続時間は５分である。特殊な波形によって提供される洗練された線量は、熱効果を最小限に抑えながらＰＥＦ処置効果ゾーンを最大化する。この特別に調整された線量では、ＰＥＦエネルギーは腫瘍抗原の放出を引き起こし、ネオ抗原の放出の増強、刺激された免疫原性細胞死（例えば、ネクロトーシス、パイロトーシスなど）、ならびに処置エリアの限定されたカプセル化および瘢痕化による抗原に対する感受性の増強などにより、身体の自然免疫応答および適応免疫応答を刺激する。さらに、いくつかの実施形態では、特殊なエネルギーは、免疫抑制性腫瘍免疫微小環境（ＴＭＥ）を破壊する。したがって、処置システムの実施形態は、抗原放出を最大化し、免疫応答を増加させる。

ＶＩＩＩ．免疫応答

【０２１２】

特殊なエネルギーの洗練された線量は、従来のＰＥＦ処置よりも優れた免疫応答を誘導する処置病変を生成することが決定されている。エネルギーが癌性腫瘍を処置するために使用される場合、この免疫応答は身体を利用して、残留癌細胞、転移性癌細胞または後に発生する癌細胞などの癌性細胞をさらに排除する。これは、特殊なＰＥＦ処置が腫瘍特異的免疫応答を誘発する癌の複数のマウスモデルにおいて研究されている。例えば、トリプルネガティブ乳癌（ＥＭＴ６腫瘍）の同系同所性モデルおよびメラノーマ（Ｂ１６－Ｆ１０／Ｂ１６－ＯＶＡ腫瘍）の転移性モデルからデータを生成した。腫瘍抑制に対するこの特殊なＰＥＦ処置の影響を理解するために、ＥＭＴ６腫瘍担持マウスにおいて生存研究を行った。次に、ＥＭＴ６モデルで観察された腫瘍抑制をよりよく説明するためにＰＥＦによって媒介される抗腫瘍機構を同定した。さらに、ＰＥＦによって誘導される腫瘍抗原放

出が腫瘍特異的Ｔ細胞応答を推進するのに十分な能力を有することを決定するために研究を行った。

【０２１３】

さらに、固形腫瘍を処置するための本明細書に記載の特殊なＰＥＦエネルギーの洗練された線量の安全性および初期実現可能性を評価するために、前向き２アーム無作為化同時対照多施設非盲検の処置および切除研究を行った。ＰＥＦで腫瘍を処置した患者の血液中の免疫細胞集団に対する処置前から処置後の変化を分析した。

【実施例】

【０２１４】

研究

実施例１：

特殊なパルス電界による局所処置は腫瘍特異的応答を生成する

【０２１５】

目的：ＰＥＦは、腫瘍の細胞低減処置のために評価されている新興技術である。ＰＥＦエネルギーはタンパク質を熱変性させず、抗原提示細胞に対する無傷の腫瘍関連抗原の放出を可能にして腫瘍特異的応答を駆動する。これは、処置された腫瘍の改善された局所応答およびアブスコパル効果を促進し得る。特殊なＰＥＦエネルギーの洗練された線量は、ＰＥＦゾーンを最適化し、抗原特異的適応免疫応答に関連する増強された効果など、これらの応答を促進する追加のゾーンを誘導する。この試験の目的は、特殊なＰＥＦ療法で処置した前臨床腫瘍における抗原特異的細胞傷害性Ｔ細胞の存在を評価することであった。

【０２１６】

方法：Ｃ５７ＢＬ／６Ｊマウスの右側腹部に、ニワトリ卵白アルブミンタンパク質を発現するように遺伝子改変されたＢ１６－Ｆ１０腫瘍細胞株（Ｂ１６－ＯＶＡ）または陰性対照腫瘍（Ｂ１６－Ｆ１０）のいずれかを接種した（皮下注射、５０μＬマトリゲルあたり１×１０６細胞：ＰＢＳ－／－）。接種の９日後、マウスをＰＥＦを含む処置群および無処置対照（ＮＴＣ）に無作為化した。ＰＥＦエネルギーは、接地電気パッド構成を有する単一の針を使用して送達された。ＰＥＦで処置されたマウスについては、改変された２５ｇ電極を使用して、低減された臨床線量で特殊なＰＥＦ処置を送達した。処置の１０日後、腫瘍を採取し、フローサイトメトリーのために処理した（表２）。

【表２】

表2:四量体抗体パネル

マーカー	クローン	蛍光色素	希釈
Viakrome 638	-	APC	1:1000
CD45	30-F11	APC-Cy7	1:400
CD3	17A2	PE-Cy7	1:400
CD4	RM4-5	PerCP/Cy5.5	1:400
CD8	KT15	FITC	1:10
SIINFEKL 四量体	H2Kb	PE	1:10
Fcブロック (Cd16/32)	-	-	1:200

【０２１７】

結果：フローサイトメトリーは、ＣＤ８＋Ｔ細胞の頻度が、ＮＴＣと比較して、ＰＥＦで直接処置した腫瘍で有意に増加したことを実証した（図１２Ａ）。免疫浸潤物内の腫瘍特異的Ｔ細胞の割合を定量するために、ＯＶＡペプチドに結合したＨ２－Ｋｂ　ＭＨＣク

ラスＩ分子を含む四量体複合体、ＳＩＩＮＦＥＫＬを使用した。ＰＥＦで直接処置したＢ１６－ＯＶＡ腫瘍は、ＮＴＣ群におけるＢ１６－ＯＶＡ腫瘍と比較して、ＯＶＡ特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞が１２５％（ｐ＝０．０３）増加した（図１２Ｂ）。ＣＤ８＋四量体について陽性であったすべてのＣＤ４５＋細胞のパーセンテージは、ＰＥＦ処理およびＮＴＣ　Ｂ１６－Ｆ１０陰性対照と比較して増加した（ｐ＝０．０５）。

【０２１８】

結論：特殊なＰＥＦによる局所処置は、腫瘍特異的Ｔ細胞のクローン増殖を可能にする免疫適格様式で腫瘍抗原放出を生成する。さらに、特殊なＰＥＦ処置は、ＣＤ８Ｔ細胞浸潤を増加させて、コールド腫瘍の免疫原性を増強する。合わせて、特殊なＰＥＦによる局所処置は、病巣療法から全身転帰を提供する堅牢なアブスコパル効果をもたらす腫瘍特異的免疫応答を提供する。

実施例２：特殊なパルス電界を用いた初期ＮＳＣＬＣの病巣処置：ＩＮＣＩＴＥ　ＥＳ研究からの安全性および３０日間の結果

【０２１９】

目的：軟組織にエネルギーを送達するためにＰＥＦシステムを使用する外科的切除前の非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）腫瘍の特殊なパルス電界（ＰＥＦ）処置の安全性および初期実現可能性を評価すること。

【０２２０】

概要：初期段階のＮＳＣＬＣは、一般に、化学療法に対してあまり感受性がなく、可能であれば根治目的で外科的切除によって処置される。追加の処置は、細胞膜を不安定化し、細胞死を推進するために高周波電気パルスを使用する特殊な非熱的病巣アブレーション様式である。軟組織で使用される従来の切除モダリティ（例えば、高周波、マイクロ波、凍結療法）と比較して、ＰＥＦアブレーションは、血管、リンパ管および細胞外マトリックスを含む周囲アーキテクチャの保存に起因して、改善された安全性プロファイルおよび重要な構造付近の病変を処置する能力を含むいくつかの潜在的な利点を有する。さらに、特殊なＰＥＦ送達によって誘導される細胞死は、身体の自然免疫応答の刺激を介して効力の増強をもたらす。熱的アブレーション機構とは対照的に、特殊なＰＥＦによって誘導される非熱的細胞死は、免疫系の細胞がアクセス可能なより多くの抗原プールを腫瘍から放出する。さらに、処置エリアの限定的なカプセル化および瘢痕化は、免疫細胞にとって、これらの抗原および腫瘍自体へのより良好なアクセスを可能にする。

【０２２１】

方法：この処置および切除研究では、特殊なＰＥＦエネルギーは、外科的切除の前に、管腔内（気管支鏡）または経皮的アプローチのいずれかを介して、孤立性の手術可能なＮＳＣＬＣ病変に送達される。患者集団には、第８版のＮＳＣＬＣステージＩＡ２、ＩＡ３またはＩＢ（１ｃｍ超～４ｃｍ以下の孤立病変）、再発率がより高いことが注目される病変が疑われるかまたは確認された成人患者が含まれる。対象は外科的候補であり、過去２年間に腫瘍の処置を受けていない。コンピューター断層撮影（ＣＴ）は、ＰＥＦ送達前および外科的切除前に実施される。安全性は、外科的切除による初期ＰＥＦ送達からのデバイスおよび／または手順関連の重篤な有害事象（ＳＡＥ）の評価によって評価される。安全性はまた、任意の隣接する気管支および脈管構造に対する影響を含む切除検体の肉眼的および組織学的評価を通して評価される。腫瘍サイズの変化、ＰＥＦ手順の結果としての計画された外科的アプローチ、３０日間の外科的死亡率、およびＰＥＦ送達による外科的合併症のパーセンテージも評価する。臨床的有用性は、切除された検体からの処置ゾーンの評価によって評価される。ＰＥＦ手順の技術的成功は、臨床医が腫瘍にアクセスしてＰＥＦエネルギーを送達することができる頻度として定義および評価される。さらに、血液、ＢＡＬ液（手順が管腔内で行われた場合）および腫瘍組織からの処置前試料と処置後試料とを比較する免疫応答の評価も評価する。

【０２２２】

予備的結果：複数の表面に当接した１つの病変、および大きな亀裂に当接した既に行われた病変を含む、４人の対象（平均±標準偏差年齢６５．０±７．４歳、５０％男性）す

べてに対して特殊なＰＥＦ送達を首尾よく行った。４つの手順のうち３つが経皮的に完了した。各対象に単一のＰＥＦ処置を送達し、外科的切除前に測定して腫瘍の最長直径を０．７±３．６％低減させた。計画された外科的アプローチまたは外科的合併症への変化は観察されておらず、初期ＰＥＦ送達から外科的切除（１９～２１日後）まで、デバイスまたはＰＥＦ手順に関連する有害事象は観察されていない。予備的結果は、腫瘍細胞におけるＰＤ－Ｌ１発現の増加および処置エリアにおけるＣＤ８＋／ＣＤ４＋炎症細胞の増加を含む、処置前の腫瘍組織試料と比較した場合の切除時の腫瘍内の免疫応答の変化を示した。

【０２２３】

結果：現在の登録には、平均年齢６７歳（ＳＤ　５．７歳）の２６人の対象（２１－処置群および５－対照群）が含まれ、その８０％は男性である。胸膜表面に当接した１つの病変および大きな亀裂に当接した１つの病変を含む、２１人の対象すべてにおいて、単一のＰＥＦ処置（洗練された線量）が首尾よく行われた。最初の４人の対象の少なくともそれぞれに単一のＰＥＦ処置を送達し、外科的切除前に測定して腫瘍の直径を１４±７％低減させた。図１３Ａ～１３Ｄは、（１）ＰＥＦ送達前に３．４ｃｍの病変（図１３Ａ）、（２）最長直径２．８ｃｍの手術前の同じ病変（図１３Ｂ）；（３）ＰＥＦ送達の２０日後の切除腫瘍の肉眼的切片（図１３Ｃ）；および（４）対応するヘマトキシリン＆エオシン（Ｈ＆Ｅ）（図１３Ｄ）を有する胸部のＣＴ画像を提供する。免疫応答を、処置前および処置後の血液、ＢＡＬ試料を比較することによって、また、図１４に示されるスケジュールに従って腫瘍組織におけるトランスクリプトーム変化を介して評価した。図１６は、実施されたＨ＆Ｅおよび免疫組織化学（ＩＨＣ）の表を提供する。さらに、フローサイトメトリー、ｓｓＲＮＡｓｅｑ（Ｒｈａｐｓｏｄｙ（商標））およびＬｕｍｉｎｅｘ　Ｍｕｌｔｉｐｌｅｘ　７１プレックスパネル（図１６）を行った。図１７は、ベースライン特性および処置の詳細を示す。

【０２２４】

処置は２７人の対象全員で成功した（技術的成功＝１００％）。計画された外科的アプローチまたは外科的合併症への変化は観察されておらず、初期ＰＥＦ送達から外科的切除（１９～２１日後）まで、デバイスまたはＰＥＦ手順に関連する有害事象は観察されていない。予備的結果は、腫瘍細胞におけるＰＤ－Ｌ１発現および処置ゾーン付近のＣＤ８＋／ＣＤ４＋Ｔ細胞比の増加を含む、処置前の腫瘍組織試料と比較した場合の切除時の腫瘍内の免疫応答の変化を示し、より多数のＣＤ８＋Ｔ細胞が腫瘍細胞と相互作用する。細胞傷害性ＣＤ８＋Ｔ細胞の増加が腫瘍「島」において腫瘍細胞と相互作用することが見出され、ＣＤ４＋ヘルパーＴ細胞の増加が腫瘍「島」の外側で観察された。切除検体中の処置ゾーン（細胞枯渇ゾーン）および周囲の非処置組織を含む病変を評価した。細胞枯渇ゾーン（ＣＤＺ）は、主に癌性細胞を欠く領域である。ＣＤＺは肉眼的解剖で見ることができ、ＰａｎＣＫ染色で一貫して同定される。この試験では、２０±３日目の最小ＣＤＺ寸法±ＳＤ（ｎ＝８）は、Ｄ１（最長寸法）＝０．９±０．３ｃｍおよびＤ２（Ｄ１に垂直）＝０．６±０．３ｃｍであった。腫瘍サイズの変化を放射線評価によって評価した。

【０２２５】

１つの粘液性腺癌および対照を除いて、特殊なＰＥＦエネルギーで処置したすべての腫瘍が複数の三次リンパ球構造（ＴＬＳ）を有していたことが認識され得る。ＴＬＳは、出生後に非リンパ系組織を形成する免疫細胞の組織化凝集体である。ＴＬＳは生理学的条件下では見られないが、自己免疫疾患、慢性感染および癌などの慢性炎症の状況で生じる。腫瘍の状況では、ＴＬＳは、腫瘍部位への免疫細胞の流入を促進し、したがって、抗癌免疫および患者における免疫療法に対する好ましい処置応答を改善する手段である。腫瘍におけるＴＬＳの存在は、より良好な予後および臨床転帰と相関するようである。リンパ凝集体およびＴＬＳは、ＰＥＦ処置腫瘍の末梢付近で一貫して観察されている。図１８は、ＴＬＳ（ダークスポット）を有する様々な組織試料を示す。

【０２２６】

予備的血清サイトカイン分析（０日目～１８日目）は、ＰＥＦによって影響される経路

にはリンパ経路の上方制御（例えば、リンパ器官の形成および成長）および制御性Ｔリンパ球の下方制御が含まれることを示した。図１９Ａ～１９Ｂは、予備的な血清サイトカイン分析の結果、すなわち、３日目、１０日目および１８日目における様々なサイトカインの発現を示す。

【０２２７】

この最初の症例シリーズは、ＮＳＣＬＣ腫瘍において単一の電極で特殊なＰＥＦエネルギーを送達することの実現可能性を実証した。ＰＥＦ関連有害事象は観察されておらず、胸膜表面の病変および大きな亀裂を含む隣接する重要な構造の近傍の処置は、計画された外科的切除に影響を与えることなく実行可能であった。ＩＮＣＩＴＥ　ＥＳデータの予備的分析は、免疫系に対する特殊なＰＥＦエネルギーの影響（自然免疫応答および適応免疫応答）を例示する。

免疫療法との併用

【０２２８】

過去１０年間で、免疫系と癌発症とその後の疾患進行との間の関係の理解において、パラダイムの転換が起こっている。免疫系による検出から逃れる悪性細胞の免疫回避は、現在、腫瘍発生の基盤として認識されている。腫瘍は、免疫抑制または免疫学的圧力の複雑なネットワークを引き起こし、免疫エフェクターが有意義な抗腫瘍応答を開始することを困難にする。近年、膨大な量の研究が、腫瘍微小環境（ＴＭＥ）によって規定される免疫抑制ネットワークを調査している。腫瘍学における最も重要な発見の１つは、癌における免疫チェックポイントの役割の理解である。免疫チェックポイントは、Ｔ細胞および抗原提示細胞（ＡＰＣ）の表面に存在する阻害性または刺激性分子であり、その直接的な相互作用は、異物に対するＴ細胞の持続時間および応答を調節する。これは、Ｔ細胞が健康な組織を損傷し、自己免疫応答を生み出すのを防ぐので、自己寛容を維持するために特に重要である。

【０２２９】

癌との関連において、腫瘍細胞は免疫チェックポイントを上方制御してＴ細胞上のパートナー受容体に結合し、検出を回避し得る。そのような免疫チェックポイントの１つであるプログラム細胞死タンパク質１（ＰＤ－１）およびそのリガンドＰＤ－Ｌ１は、多数の癌における免疫回避の重要な調節因子として同定されている。ＰＤ１は、活性化Ｔ細胞、Ｂ細胞および骨髄細胞において転写的に上方制御される膜貫通タンパク質である。したがって、免疫系の炎症反応によって腫瘍に浸潤している活性化Ｔ細胞は、その表面にＰＤ－１を発現することが多い。ＰＤ－Ｌ１はそのリガンドであり、いくつか例を挙げると、種々の頭頸部癌腫、肺癌およびメラノーマなどのいくつかの腫瘍細胞上に見出される。ＰＤ－１がＰＤ－Ｌ１に結合すると、Ｔ細胞が腫瘍細胞を死滅させるのを防ぎ、それらの相互作用時にＴ細胞抑制を誘導する。具体的には、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１相互作用は、以下の機構を介してＴ細胞免疫抑制を媒介することが見出されている：活性化Ｔ細胞におけるアポトーシスを誘導し、Ｔ細胞アネルギーおよび疲弊を促進し、制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）の免疫抑制を増強し、Ｔ細胞増殖を制限し、Ｔ細胞活性化およびインターロイキン－２（ＩＬ－２）の産生を抑制する。

【０２３０】

最近、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１相互作用を標的とする抗体（ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、デュルバルマブ）がＦＤＡに承認された。例えば、ニボルマブは、ＰＤ－１受容体に結合し、ＰＤ－Ｌ１とのその相互作用を遮断し、免疫応答のＰＤ－１経路媒介阻害を放出するヒト免疫グロブリンＧ４（ＩｇＧ４）モノクローナル抗体である。これは、腫瘍成長の減少をもたらす。アテゾリズマブは、ＰＤ－Ｌ１に対するＩｇＧ１アイソタイプの完全ヒト化操作モノクローナル抗体である。したがって、アテゾリズマブは、ＰＤ－１とＰＤ－Ｌ１の相互作用を遮断する。有望ではあるが、これらの薬物は単独療法としての有効性が限られている。例えば、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、例えば、小細胞肺癌（ＳＣＬＣ）以外の任意のタイプの上皮肺癌では、患者の２０％のみがＰＤ－１遮断に対する客観的臨床応答を達成する。さらに、応答する患者については、腫瘍が薬物耐

性を発症するので、抗腫瘍応答は一過性である。この低い応答率は、ＰＤ－Ｌ１発現および腫瘍免疫細胞浸潤物の画分を含む因子の組み合わせに起因する。

【０２３１】

ＰＤ－Ｌ１陰性であり、低い腫瘍免疫細胞浸潤を有する腫瘍は、「コールド」腫瘍として公知である。ＰＤ－Ｌ１陽性であり、高い腫瘍免疫細胞浸潤を有する腫瘍は、「ホット」腫瘍として公知である。コールド腫瘍を有する患者は、阻害するように設計されているＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１相互作用が存在しないため、チェックポイント療法に対して非応答性である。後者で述べたように、ホット腫瘍を有する患者は、しばしば、経時的に療法に対する抵抗性を発症する。これは、ＰＤ－Ｌ１を発現する腫瘍細胞が、ＰＤ－１との相互作用の遮断により排除されるためである。残りの腫瘍細胞は、残っている、より耐性の高い癌クローン集団である。

【０２３２】

したがって、免疫療法に応答する患者の数を増加させ、そのような患者の臨床応答を増加させるなど、改善された処置が望ましい。そのような処置は、安全であり、有効であり、改善された成果をもたらすはずである。免疫療法を本明細書に記載の特殊なＰＥＦエネルギーと組み合わせることは、これらの目的を満たす。

【０２３３】

本明細書に記載のデバイス、システムおよび方法は、免疫チェックポイント系の態様などの免疫系の態様を利用する様式で患者を処置するために特殊なパルス電界エネルギーを利用する。いくつかの例では、癌免疫療法患者、特にいくつかの免疫療法処置に対する応答が限られているかまたは経時的に獲得耐性を有する患者において、成果の改善が達成される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１相互作用は処置のために標的化される。他の例では、免疫系の他の経路が、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１に加えてまたは独立して、処置に関与する。

【０２３４】

いくつかの実施形態では、特殊なパルス電界（ＰＥＦ）エネルギーを腫瘍または悪性組織などの標的処置エリアに送達して、組織の破壊を引き起こす。特殊なＰＥＦエネルギーは、細胞死、炎症シグナル伝達、および腫瘍微小環境内での生存可能な抗原提示の生成を含む局所事象のカスケードを最終的にもたらす短時間の高振幅パルスエネルギーの適用に依存するエネルギー指向性病巣療法である。具体的には、いくつかの例では、特殊なＰＥＦエネルギーは腫瘍抗原の放出を促進し、これは樹状細胞（ＤＣ）によってマクロピンサイトーシスによって取り込まれると、Ｔ細胞への交差提示のためにそれらをペプチド－ＭＨＣクラスＩ複合体にプロセシングすることができる。抗原が交差提示されると、図２０に示すように、ペプチド－ＭＨＣクラスＩ複合体のこのエピトープを認識するＴ細胞受容体を有する細胞傷害性Ｔ細胞は増殖して抗腫瘍応答を開始する（交差プライミング）。特に、図２０は、特殊なＰＥＦエネルギーで処置された腫瘍Ｔを示し、エネルギーは、免疫系にとって有意義な方法で細胞を死滅させる（例えば免疫原性細胞死）。ここで、特殊なＰＥＦエネルギーによる処置は、腫瘍Ｔからの腫瘍抗原ＴＡの放出を促進する。樹状細胞などの抗原提示細胞（ＡＰＣ）は、抗原を内在化し、Ｔ細胞（例えば、ＣＤ８＋Ｔ細胞）のＴ細胞受容体によって認識されるペプチド複合体ＰＣにそれをプロセシングする。Ｔ細胞は、単一のペプチドエピトープを認識する独特のＴ細胞受容体を有する。活性化されると、それらはクローン的に拡大して、その特異的標的に対する免疫応答を開始する（交差プライミング）。重要なことに、ＰＥＦ療法のこの特徴は、腫瘍免疫浸潤物中のＴ細胞の割合を増加させて、より有益な成果をもたらす。

【０２３５】

いくつかの実施形態では、特殊なＰＥＦエネルギーは、図２１に示されるように、腫瘍細胞によるＰＤ－Ｌ１の上方制御を促進する様式で、腫瘍を含むものなどの標的処置エリアに送達される。この実施形態では、腫瘍Ｔは、ＰＤ－Ｌ１を転写的に活性化するＰＥＦエネルギーによって誘導される炎症性傷害のためにストレスを受ける。ＰＤ－Ｌ１の活性化は、典型的には、ＰＤ－Ｌ１のそのような上方制御がＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１の免疫抑制

相互作用を増加させ、それによってＴ細胞（例えば、ＣＤ８＋Ｔ細胞）を阻害するという点で、腫瘍の処置において有害であると考えられ得ることが理解され得る。しかしながら、そのような上方制御は、コールド腫瘍（すなわち、ＰＤ－Ｌ１陰性であり、低い腫瘍免疫細胞浸潤を有する腫瘍）ＰＤ－Ｌ１を陽性にし、それによってホットにする能力を有する。ホット腫瘍はＰＤ－Ｌ１陽性であり、高い腫瘍免疫細胞浸潤を有する。ホット腫瘍を有する患者は、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１相互作用を標的とするチェックポイント療法に応答性であろう。したがって、コールド腫瘍を有する患者は、元々または抵抗性を発達させることによって、ＰＥＦエネルギーによる適切な処置によって、ホット腫瘍を有するように移行させることができる。

【０２３６】

したがって、いくつかの実施形態では、ＰＤ－１を標的とする抗体（αＰＤ－１）は、ＰＥＦエネルギーと組み合わせて、またはＰＥＦエネルギーに関連して所定の時間または複数の時間に患者に送達される。αＰＤ－１は、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１相互作用を妨害し、腫瘍細胞をＴ細胞によって同定および死滅させることを可能にする。したがって、形質転換患者は、αＰＤ－１療法などの免疫療法に現在応答性である。

【０２３７】

腫瘍成長速度、生存、および炎症促進性／抗炎症性サイトカインの発現に対するＰＥＦ療法およびチェックポイント阻害の効果を、乳癌腫の２つの同系モデル：ＥＭＴ６および４Ｔ－１腫瘍担持Ｂａｌｂ／ｃマウスで試験した。癌のマウスモデルは様々なレベルの免疫原性（すなわち、移植された癌が免疫応答を引き起こす能力）を有するので、免疫学的成果を正確に決定するために複数の腫瘍モデルにわたって療法を検証することが所望された。

【０２３８】

ＥＭＴ６腫瘍モデルにおいて、「ＰＥＦ＋αＰＤ－１」として知られる特殊なＰＥＦ療法とチェックポイント阻害（αＰＤ－１の送達）の両方を含む併用治療プロトコルを試みた。これを、ＰＥＦ送達単独およびαＰＤ－１単独と比較した。各コホートは１０～１２人の対象を有していた。この腫瘍モデルでは、各雌マウスに、４番目／５番目の乳房脂肪（動物の左側）においてＥＭＴ６細胞をチャレンジした。チャレンジの８日後、腫瘍（例えば長さ４～５ｍｍ）をＰＥＦエネルギーで直接処置した。一実施形態では、ＰＥＦエネルギー波形は、パケットにグループ化された複数の二相性パルスから構成され、各パケットは、それぞれ１０００マイクロ秒の遅延で区切られた４０サイクル（すなわち、二相性パルス）を有していた。この実施形態では、処置は１００個のパケットを含み、各パケットは３秒のパケット間遅延によって分離されている。この実施形態では、電圧は２５００Ｖであり、基本周波数は４００ｋＨｚであった。いくつかの例では、マウスに、ＥＭＴ６細胞による最初のチャレンジの日または特殊なＰＥＦエネルギー送達の日のいずれかに開始して、αＰＤ－１を週に１回投与した。他の例では、マウスに、ＥＭＴ６細胞による最初のチャレンジの日またはＰＥＦエネルギー送達の日に開始して、αＰＤ－１を週に複数回投与した。ＰＥＦ処置の３日後、全ての動物に対側（動物の右側の４番目／５番目の乳房脂肪）のＥＭＴ６細胞をチャレンジした。腫瘍サイズを週に複数回測定し、腫瘍が所定の最大許容体積に達するまで成長させた。

【０２３９】

ＰＥＦ＋αＰＤ－１コホートにおける直接処置された対側の腫瘍は、すべての群と比較して、処置後２４日までに腫瘍成長の有意な抑制を経験した。図２２に示されるように、ＰＥＦ＋αＰＤ－１で処置された動物の合計で４１％が完全奏効を達成した。（αＰＤ－１については１０％のマウスおよびＰＥＦ単独療法については１８％のマウスと比較）したがって、αＰＤ－１単独の送達は、従来の抗体免疫療法と類似性を有する最も低い応答を有した。特殊なＰＥＦエネルギー単独の送達は、本明細書において上記に記載したＰＥＦエネルギーの効果のために改善された応答を有した。ＰＥＦ＋αＰＤ－１の併用送達は、ＰＥＦまたはαＰＤ－１の単独療法と比較して有意に（Ｐ値＜０．００１）生存成果を改善しただけでなく、ＰＥＦエネルギーおよびαＰＤ－１が一緒に作用して相乗的に増強

された抗腫瘍応答を生み出した。この成果は、相加的応答を超えていた。

【０２４０】

次いで、完全奏効を達成したマウスを、新しいＥＭＴ６腫瘍を移植することによってＥＭＴ６腫瘍細胞で再チャレンジした。これは、初期処置が身体の他のエリアにおいてＥＭＴ６細胞に対するより長期の免疫応答を誘導するのに十分であるかどうかを決定するためであり、この現象はアブスコパル効果と呼ばれる。免疫系活性化の評価を、処置された原発性腫瘍、未処置の続発性腫瘍および末梢血中のリンパ球（ＣＤ８＋）の測定によって決定した。対照コホートとして、ナイーブマウスにＥＭＴ６細胞をチャレンジし、ＩｇＧを週に３回投与した。図２３は、全ての対照動物が腫瘍を成長させたことを示す。０日目は、ＥＭＴ６チャレンジの日である。

【０２４１】

図２４は、３つの群：ＰＥＦ＋αＰＤ－１、ＰＥＦエネルギー単独およびαＰＤ－１単独の結果を示す。αＰＤ－１のみを投与した再チャレンジマウスは腫瘍を成長させた。ＰＥＦエネルギーのみを受けた再チャレンジマウスのうち、１匹は腫瘍を発症し、１匹は腫瘍を発症しなかった。併用療法ＰＥＦ＋αＰＤ－１を受けた再チャレンジマウスのうち、１匹は腫瘍を成長させ、２匹は腫瘍を成長させなかった。このデータは、特殊なＰＥＦエネルギーが、特定の癌サブセットに対する長期免疫を促進するのに十分であることを実証している。

【０２４２】

より攻撃的な転移性腫瘍モデルである４Ｔ－１腫瘍モデルにおいて、併用治療プロトコル（ＰＥＦ＋αＰＤ－１）も利用した。ここでも、特殊なＰＥＦ送達単独、αＰＤ－１単独および対照群と比較した。ここで、対照群にはＩｇＧを投与した。このモデルでは、直接処置された疾患および離れた疾患に対する特殊なパルス電界（ＰＥＦ）およびチェックポイント阻害（αＰＤ－１）の影響を決定し、併用処置によって得られる増強された応答の機構を同定することが求められた。

【０２４３】

未処置腫瘍および転移性疾患を有する肺組織について、処置の１８日後にサイトカイン分析を行った。分析したサイトカインは以下の通りであった：Ａ）Ｔ細胞活性化因子、ＩＬ－２；Ｂ）好中球動員ケモカイン、ＣＸＣＬ１；Ｃ）腫瘍生存率のマーカーＫｉ６７；およびＤ）免疫細胞浸潤物中の細胞傷害性Ｔ細胞ＣＤ８。結果の例を図２５Ａ～２５Ｄに示す。図２５Ａに示すように、特殊なＰＥＦエネルギーおよびチェックポイント遮断（すなわち、ＰＥＦ＋αＰＤ－１）の送達は、未処置腫瘍においてＴ細胞活性化因子ＩＬ－２の発現を有意に上昇させたが、他のすべての生物学的コホート（すなわち、対照、特殊なＰＥＦエネルギーのみ、αＰＤ－１のみ）はそうではなかった。図２５Ｂに示すように、ＰＥＦ＋αＰＤ－１の送達は、ＩｇＧ対照群と比較して、腫瘍および肺の両方において好中球動員ケモカインＣＸＣＬ１を有意に減少させた。図２５Ｃに示されるように、腫瘍生存率についてのマーカー（Ｋｉ６７）を、処置された動物における転移負荷を特徴づけるためにＥＬＩＳＡによって肺組織全体において定量化した。重要なことに、ＰＥＦエネルギーおよび免疫療法コホート（すなわち、ＰＥＦ＋αＰＤ－１）のみが、ＩｇＧ対照群と比較して、肺におけるＫｉ６７の総発現を減少させた。図２５Ｄに示すように、免疫細胞浸潤物中の細胞傷害性Ｔ細胞（ＣＤ８）を、ＥＬＩＳＡによって肺組織全体で定量した。ＰＥＦエネルギー単独および免疫療法と組み合わせたＰＥＦエネルギー（すなわち、ＰＥＦ＋αＰＤ－１）の送達は、ＩｇＧ対照およびαＰＤ－１単独の両方と比較して、肺におけるＣＤ８の発現を増加させた。まとめると、これらのデータは、チェックポイント阻害剤を用いたプロトコルに特殊なＰＥＦを含めると（ＰＥＦ＋αＰＤ－１）、４Ｔ－１「コールド」腫瘍モデルにおいて強い全身性抗腫瘍応答が誘導されることを示唆している。したがって、併用処置は全身性免疫抑制を緩和した。

【０２４４】

デバイス、システムおよび方法は、典型的には、本明細書で上述したように、特殊なエネルギー送達デバイス、波形発生機および少なくとも１つの別個のエネルギー送達アルゴ

リズムを含むシステムを用いて、特殊なＰＥＦエネルギーを細胞に送達する。追加の付属品および機器を利用してもよい。エネルギー送達デバイスは、少なくとも１つの別個のエネルギー送達アルゴリズムに従って波形発生機によって提供されるエネルギーを送達する。いくつかの実施形態では、エネルギー送達デバイスはまた、抗体（例えば、αＰＤ－１）などの１またはそれを超える薬剤を送達することが理解されよう。しかし、他の実施形態では、薬剤は、ＩＶ、カテーテル、または針注射などの別個のデバイスによって送達される。必要に応じて、薬剤は、エネルギー送達デバイスと別個のデバイスの両方によって送達されてもよい。特殊なエネルギー送達デバイスの例示的な実施形態は、主に単極エネルギー送達に焦点を合わせて本明細書で提供されるが、双極または多極配置を使用してもよいことが理解されよう。

【０２４５】

図２６は、特殊なエネルギー送達デバイスまたは器具１０２と、戻り電極１４０と、波形発生機１０４とを備えるエネルギー送達システム１００の実施形態を示す。この実施形態では、標的組織は、患者Ｐの肝臓Ｌ内に位置する。標的組織細胞は、いくつか例を挙げると、消化器系の細胞（例えば、口、腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、腸、結腸、直腸、肝臓、胆嚢、膵臓、肛門管など）、呼吸器系の細胞（例えば、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、気管支、肺など）、泌尿器系の細胞（例えば、腎臓、尿管、膀胱、尿道など）、生殖器系の細胞（例えば、生殖器、卵巣、卵管、子宮、子宮頸部、膣、精巣、精巣上体、精管、精嚢、前立腺、腺、陰茎、陰嚢、乳房など）、内分泌系の細胞（例えば、脳下垂体、松果体、甲状腺、副甲状腺、副腎）、循環器系の細胞（例えば、心臓、動脈、静脈など）、リンパ系の細胞（例えば、リンパ節、骨髄、胸腺、脾臓など）、神経系の細胞（例えば、脳、脊髄、神経、神経節など）、筋系の細胞、および皮膚の細胞を含む、身体全体の任意の場所で処置され得ることが理解され得る。

【０２４６】

この実施形態では、器具１０２は、肝臓Ｌ内の標的組織まで管腔内に前進させることができる遠位端を有する可撓性の細長いシャフトを含む。図示のように、器具１０２の遠位端は、口Ｍを通って食道Ｅを下って胃Ｓ内に前進し、そこで胃壁を通過して肝臓Ｌ内に入る。いくつかの実施形態では、遠位端は、胃壁および／または肝臓Ｌを貫通するように構成された遠位端１０３を有する。他の実施形態では、別の器具を使用して胃壁を貫通する通路が形成され、この器具はその後、非外傷性先端部を有する器具１０２が通路を通過できるように取り外される。

【０２４７】

この実施形態では、薬剤１１１は、ＩＶバッグ１１２を使用して全身的に静脈内送達される。これは、典型的には、肝臓Ｌ内の標的組織を含む患者Ｐの身体全体に薬剤を分散させる。他の実施形態では、薬剤１１１は局部的に送達されることが理解されよう。そのような実施形態では、薬剤１１１は、標的器官または組織エリアにつながる動脈系の上流の脈管構造に送達され得る。次いで、薬剤１１１は、下流の動脈循環を通って標的領域に移動する。薬剤１１１のボーラス注射が提供される場合、薬剤１１１が標的組織に突然入る。しかし、注入ポンプの使用などによって薬剤１１１が経時的に送達される場合、薬剤１１１の安定した持続レベルが標的組織において達成され得る。他の実施形態では、薬剤１１１は、標的組織への直接注射によって送達されることが理解され得る。そのような実施形態では、注射デバイスは、標的器官領域の実質組織内などの標的組織内またはその近傍に挿入され、薬剤を含有する溶液が注射される。薬剤の溶液は、実質および間質腔を通るその分布が移動の標的となるエリアまたは体積に達するまでの期間を許容され得る。全身的、局部的および局所的送達の任意の組み合わせを代替的に使用してもよいことが理解されよう。

【０２４８】

特殊なパルス電界（ＰＥＦ）エネルギーは、送達デバイス１０２の遠位端を通って標的組織に送達される。送達デバイス１０２の近位端は、波形発生機１０４に電気的に接続されている。いくつかの実施形態では、発生機１０４はまた、外部心臓モニタ（図示せず）

と接続されて、患者Ｐから検知された心臓信号を用いてエネルギーの協調送達を可能にする。

【０２４９】

この実施形態では、エネルギー送達デバイス１０２は単極になるように設計されており、器具１０２の遠位端は送達電極を有し、戻り電極１４０は身体の外側の皮膚、典型的には大腿部（図示のように）、腰または背中に配置される。

【０２５０】

特殊なパルス電界（ＰＥＦ）は、発生機１０４によって提供され、標的組織エリア上、標的組織エリア内、または標的組織エリア付近に配置されたエネルギー送達体１０８を介して組織に送達される。いくつかの実施形態では、エネルギー送達体１０８は、同様に標的組織と接触する導電性物質と接触して配置されることが理解されよう。そのような溶液は、等張液または高張液を含み得る。次いで、電気パルスが、標的組織の近傍でエネルギー送達体１０８を通って送達される。これらの電気パルスは、少なくとも１つのエネルギー送達アルゴリズム１５２によって提供される。そのような実施形態では、アルゴリズム１５２は、いくつか例を挙げると、パルスの数、パルス幅、およびパルス間の遅延からなる、エネルギー振幅（例えば電圧）および印加エネルギーの持続時間などの信号のパラメーターを指定する。いくつかの実施形態では、エネルギー送達体のうちの１またはそれを超えるものは小さく、電極の周りに大量のエネルギーを散逸させる傾向がある。したがって、エネルギーの最適な送達が望まれる。

【０２５１】

いくつかの実施形態では、二相性パルスを使用してもよい。そのような実施形態では、追加のパラメーターは、二相性パルスの極性間のスイッチタイムおよび二相性サイクル間のデッドタイムを含んでもよい。センサー情報および自動シャットオフ仕様などに基づくフィードバックループが含まれてもよい。二相性波形は、患者の筋刺激を低減させるのに便利である。これは、エネルギー送達体のわずかな動きが非効果的な療法を容易にもたらし得る用途において特に重要である。二相性波形は、極性間の移行中の神経活性化を最小限に抑えるために、信号の位相／極性の急速な変化を伴う。

【０２５２】

特殊なＰＥＦエネルギーは、様々なエネルギー送達デバイスまたは器具１０２によって送達されてもよい。典型的には、器具１０２は、本体と共に標的組織まで前進させることができる遠位端を有する可撓性の細長いシャフトと、遠位端の近傍に配置された少なくとも１つのエネルギー送達体１０８とを備える。エネルギー送達体１０８は、ＰＥＦエネルギーを標的組織に送達する１またはそれを超える電極を含む。前述のように、いくつかの実施形態では、エネルギー送達デバイス１０２はＰＥＦエネルギーを送達し、薬剤１１１は、ＩＶ、カテーテル、または針注射などの別個のデバイスによって送達される。薬剤１１１のそのような送達は、ＰＥＦエネルギーの送達に関して前、間または後など様々な時点で起こり得る。ＰＥＦエネルギー送達とは別の時間に送達される場合、そのような送達は、数秒以下、数秒、数分、数時間、数日、数週間、または数ヶ月単位でＰＥＦエネルギー送達から分離され得る。

【０２５３】

図２７Ａは、針またはプローブ５００を介した標的組織への薬剤１１１の直接注射を示す。標的組織は、細胞Ｃとして示されている（縮尺通りではない）。針またはプローブ５００は、注射薬剤１１１が標的組織を浸すことができるように、標的組織内またはその近傍に挿入される。この実施形態では、次いで、プローブ５００が除去され、薬剤１１１が生体内分布のために滞留する。図２７Ｂを参照すると、次いで、器具１０２の遠位端を所望の時点で標的組織に挿入して、それにより、エネルギー送達体１０８が標的組織内またはその近傍に望ましく配置される。この実施形態では、エネルギー送達体１０８は、単一の電極からなる。次いで、特殊なＰＥＦエネルギーは、波線５０２によって示されるように、エネルギー送達体１０８から標的組織に送達される。この実施形態では、ＰＥＦエネルギーは、他の効果の中でも、細胞Ｃ中のＰＤ－Ｌ１を上方制御し、薬剤１１１は、ＰＤ

－１／ＰＤ－Ｌ１相互作用を妨害するαＰＤ－１を含む。これにより、患者Ｐ内のＴ細胞は、応答して標的細胞Ｃを同定して死滅させることができる。

【０２５４】

いくつかの実施形態では、薬剤１１１およびエネルギーは、薬剤１１１がエネルギー送達デバイスまたは器具１０２によって送達されるのに十分近い時間で送達される。図２８Ａ～２８Ｂは、針形状を有するエネルギー送達体１０８を有するエネルギー送達デバイスまたは器具１０２を示す。針形状の先端部は、針と同様に貫通し、その内部管腔を通して薬剤１１１を送達することができる。また、エネルギー送達体１０８は、電極として作用する針形状の先端部を除いて、絶縁層５０４によって電気的に絶縁されている。図２８Ａは、エネルギー送達体１０８を介した標的組織への薬剤１１１の直接注射を示す。ここでも、標的組織は、細胞Ｃとして示されている（縮尺通りではない）。先端部は、注射薬剤１１１が標的組織を浸すことができ、必要に応じて生体内分布のために滞留するように、標的組織内またはその近傍に挿入される。図２８Ｂを参照すると、次いで、ＰＥＦエネルギーは、波線５０１によって示されるように、エネルギー送達体１０８から標的組織に送達される。この実施形態では、ＰＥＦエネルギーは、他の効果の中でも、細胞Ｃ中のＰＤ－Ｌ１を上方制御し、薬剤１１１は、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１相互作用を妨害するαＰＤ－１を含む。これにより、患者Ｐ内のＴ細胞は、応答して標的細胞Ｃを同定して死滅させることができる。

【０２５５】

図２９は、エネルギーが局所的に送達される間に局部的に送達される薬剤１１１を示す（必要に応じて薬剤１１１は局所的にさらに送達される）。ここで、薬剤１１１は、標的組織エリアに供給する脈管構造Ｖ内に配置されたカテーテル５０３などの別個のデバイスによって送達される。したがって、薬剤１１１は、標的組織エリアに局部的に送達される。エネルギー送達デバイスまたは器具１０２は、異なるアプローチから標的組織エリアに挿入される。ここで、器具１０２は、針形状を有するエネルギー送達体１０８を備える。針状の先端部は、針と同様に貫通可能である。いくつかの実施形態では、薬剤１１１は、その内部管腔を通して送達することができる。この実施形態では、エネルギー送達体１０８は、電極として作用する針形状の先端部を除いて、絶縁層５０４によって電気的に絶縁されている。先端部は標的組織内またはその近傍に挿入され、次いで、ＰＥＦエネルギーは、波線５０１によって示されるように、エネルギー送達体１０８から標的組織に送達される。この実施形態では、ＰＥＦエネルギーは、他の効果の中でも、細胞Ｃ中のＰＤ－Ｌ１を上方制御し、薬剤１１１は、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１相互作用を妨害するαＰＤ－１を含む。これにより、患者Ｐ内のＴ細胞は、応答して標的細胞Ｃを同定して死滅させることができる。

【０２５６】

図３０は、その遠位端の近傍にエネルギー送達体１０８を有するシャフト１０６を備えるエネルギー送達デバイスまたは器具１０２を示し、エネルギー送達体１０８は複数のタイン６００を備える。典型的には、タイン６００は、組織を貫通するように尖った形状を有する。同様に、タイン６００は、典型的には、例えばシャフトに対して斜めの角度または垂直に、シャフト１０６から横方向外側に延びる。いくつかの実施形態では、タイン６００は、シャフト１０６の周りに円周方向に展開され、他の実施形態では、タイン６００は、一列に整列されるなどシャフト１０６の側面から展開される。いくつかの実施形態では、タイン６００はシャフト１０６から同じ距離だけ延び、他の実施形態では、タイン６００は様々な距離だけ延びる。いくつかの実施形態では、シャフト１０６からのタイン６００の少なくともいくつかの伸長は調整可能であることが理解されよう。いくつかの実施形態では、タイン６００は、シャフト１０６の遠位先端部から、例えば中央管腔を通って延在することも理解されよう。

【０２５７】

典型的には、各タイン６００は、薬剤１１１および／またはエネルギーをそこから送達する。いくつかの実施形態では、薬剤１１１は、タイン６００の先端部６０１から送達さ

れ、他の実施形態では、薬剤１１１は、タイン６００に沿って送達ポート６０２から送達される。いくつかの実施形態では、タイン６００は一緒に通電可能である（例えば、単一の電極として作用する）、またはタイン６００の少なくともいくつかは個別に通電可能である（例えば、双極対で作用する、またはグループで作用することを含む選択可能な単一電極として作用する）。いくつかの実施形態では、１またはそれを超えるタイン６００は、異なるエネルギー（例えば、異なるエネルギー送達アルゴリズム１５２から生成される）および／または異なるタイプの薬剤１１１を送達する。

【０２５８】

この実施形態では、シャフト１０６は、第１のセクション１０６ａ、第２のセクション１０６ｂ、および第３のセクション１０６ｃの３つのセクションを有する。図３０に示されるように、第１のセクション１０６ａは、第３のセクション１０６ｃに遠位である第２のセクション１０６ｂに遠位である。各セクション１０６ａ、１０６ｂ、１０６ｃは、様々な異なる電極の組み合わせを生み出すように絶縁または非絶縁であってもよい。これにより、様々な電界形状が可能になり、および／または電界を所望の方向に向けることができる。いくつかの実施形態では、少なくとも１つのタイン６００の少なくとも一部は、そこから発するエネルギーを導くように絶縁されていることも理解されよう。全体として、タイン６００は、多くの場合、単一の針を含むエネルギー送達デバイス１０８を有する器具１０２を用いた場合よりも、器具１０２の単一の配置で、より大きな体積の標的組織に薬剤１１１および／またはエネルギーを送達することができる。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、第１のセクション１０６ａはエネルギー送達体１０８として作用し、１またはそれを超えるタイン６００はエネルギー送達体１０８として作用する。異なるエネルギー送達体１０８の各々は、同じまたは異なるタイプのエネルギーを送達してもよい。同様に、エネルギー送達体１０８は、グループで作用してもよい。いくつかの実施形態では、タイン６００は、第１のセクション１０６ａを越えて延在する。いくつかの実施形態では、タイン６００はシャフト１０６から（第１のセクション１０６ａに対して）同じ距離だけ延び、他の実施形態では、タイン６００は（第１のセクション１０６ａに対して）様々な距離だけ延びる。いくつかの実施形態では、第１のセクション１０６ａはエネルギー送達体１０８として作用し、１またはそれを超えるタイン６００は薬剤１１１を送達するための導管として作用する。

【０２６０】

いくつかの実施形態では、ＰＥＦエネルギーは、標的組織と接触している導電性流体（例えば、血液、生理食塩水など）に送達されることが理解され得る。したがって、エネルギーは、本明細書で上述した効果のために、導電性流体を通って標的組織に通過することができる。

【０２６１】

要約すると、本明細書に記載の特殊なＰＥＦ処置は、処置成果に利益をもたらす適応免疫応答を引き起こす。チェックポイント遮断（ＣＰＢ）をＰＥＦ処置プロトコルに含めることがＰＥＦ単独を超える成果を改善することを検証するために、トリプルネガティブ乳癌の２つの同系同所性モデル（ＥＭＴ６および４Ｔ－１マウス腫瘍モデル）を研究で使用した。ＰＥＦ処置を伴うＰＥＦ治療プロトコルにチェックポイント遮断を含めることがＰＥＦ単独を超えて成果を改善することができることを検証するために、トリプルネガティブ乳癌の同系同所性モデル（ＥＭＴ６腫瘍モデル）を研究で使用した。次に、併用治療コホートが長期の腫瘍特異的免疫を提供することを検証するために、処置の６０日後にＥＭＴ６腫瘍細胞注射でＣＲを達成した動物を再チャレンジした。併用療法がどのように相乗作用して抗腫瘍免疫応答を生成するかを検証するために、処置前後の血液中のサイトカイン発現に対する全身変化に関する経路分析を行った。次に、転移性乳癌の同系モデルにおけるチェックポイント遮断と組み合わせたＰＥＦ処置によって媒介される腫瘍抑制を評価した。併用療法が肺転移における抗腫瘍免疫応答を改善したことを決定するために、サイトカイン分析を実施し、処置後１８日での４Ｔ－１肺組織における核増殖因子（Ｋｉ６７

）を定量した。

【０２６２】

本明細書に記載されるいくつかの実施形態では、ＰＥＦエネルギー送達およびＣＰＢが相乗して、いくつか例を挙げると、免疫原性細胞死、腫瘍抗原およびＤＡＭＰの放出、先天性アームによる炎症誘発性ＴＭＥ駆動、Ｓｋｅｗ　Ｔｈ１／Ｔｈ１７、ＤＣ活性化、ＮＫ活性化、ＴＬＲシグナル伝達、細胞傷害性Ｔ細胞活性化、および創傷治癒応答を達成することが理解され得る。

実施例３

【０２６３】

チェックポイント阻害剤療法を含めることにより、特殊なパルス電界の免疫原性が増強される

【０２６４】

背景：チェックポイント阻害単独療法は、いくつかの癌サブセットにわたって印象的な臨床結果をもたらした；しかしながら、応答は、腫瘍が堅牢なＴ細胞浸潤物を欠く患者において限定的なままである。さらに、臨床的に有意義な応答を達成する患者では、これらの抗腫瘍効果は、腫瘍がより免疫抑制性の表現型に移行するにつれて一般に一過性である。したがって、チェックポイント遮断を局所療法と組み合わせることによって疾患転帰を改善することに対する関心が高まっている。局所療法は、免疫原性細胞死およびその後の腫瘍抗原の放出を迅速に促進して、全身性抗腫瘍応答を推進する可能性を有する。ＰＥＦ処置は、細胞膜を不安定化し、細胞死を推進するために高周波二相性電気パルスを使用する非熱的、針誘導、局所領域療法である。重要なことに、ＰＥＦは細胞外マトリックス（ＥＣＭ）を保存し、血管およびリンパ管の再生を可能にする。ここで、本発明者らは、ＰＥＦとプログラム細胞死受容体－１（抗ＰＤ－１）遮断の組み合わせがトリプルネガティブ乳癌のマウスモデルにおいて全身性抗腫瘍応答を強化するかどうかを決定することに着手した。

【０２６５】

目的：この前臨床試験では、αＰＤ－１によるチェックポイント阻害を含めた特殊なパルス電界（ＰＥＦ）腫瘍処置に対する免疫応答を評価した。適切なＰＥＦ処置線量がタンパク質を変性させない場合、腫瘍特異的および腫瘍関連抗原は無傷のままであり、アブスコパル効果を含む処置解決および修復プロセスにおいて抗原提示細胞がそれらと相互作用することが利用可能である。この研究は、併用処置によって得られたアブスコパル効果および増強された応答の根底にある免疫原性機構を同定した。

【０２６６】

方法：免疫適格雌Ｂａｌｂ／ｃマウスに、１２００，０００個の４Ｔ１乳癌細胞（「コールド」腫瘍微小環境を表す）を第５の乳房脂肪パッド（原発性腫瘍）において同所性接種した。マウスを４つの群に分けた：ＩｇＧ対照、抗ＰＤ１単独、ＰＥＦ単独、および抗ＰＤ１＋ＰＥＦ。抗ＰＤ１投与は、腫瘍接種の日から週に３回投与される２００μｇであった。直径５ｍｍに達したら（８～１０日）、ＰＥＦ群の腫瘍を、腫瘍の中心に配置された単一の針を通して送達される特殊なＰＥＦの単回適用で処置した。ＰＥＦ線量は、腫瘍体積のおよそ８０％を標的とするように確立された。特殊なＰＥＦ線量は、２５００Ｖ、４００ｋＨｚ、４０サイクル、１００パケットであった。ＰＥＦ処置送達日の３日後、第２の４Ｔ－１腫瘍を第５の乳房脂肪パッドの対側にチャレンジした（続発性腫瘍）。処置の１８日後、対側の腫瘍および肺を分析のために採取した。酵素結合免疫吸着分析（ＥＬＩＳＡ）を使用して、異なる処置コホートに対する生物学的免疫応答を同定および特徴づけた。

【０２６７】

結果：未処置腫瘍および転移性疾患を有する肺組織において処置後１８日で行われたサイトカイン分析により、併用処置が全身性免疫抑制を緩和したことが確認された。サイトカインパネルには、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１ａ、ＩＬ－１β、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、ＣＸＣ

Ｌ１、ＣＸＣＬ２、ＣＸＣＬ５、ＣＣＬ２、ＴＧＦ－ａが含まれた。ＰＥＦおよびチェックポイント遮断は、続発性未処置腫瘍におけるＴ細胞活性化因子ＩＬ－２の発現を有意に上昇させたが、他のすべての試験コホートは、処置の１８日後の対側の全腫瘍溶解物からのサイトカイン発現を示すヒートマップを提供しなかった（図３１）。生物学的群には、以下が含まれた：対照（ＩｇＧ、ｎ＝４）抗ＰＤ－１チェックポイント単独療法（αＰＤ－１、ｎ＝４）、パルス照射野による直接処置（ＰＥＦ、ｎ＝３）、および併用療法（ＰＥＦ＋αＰＤ－１、ｎ＝４）。ヒートマップは、各生物学的群に対するサイトカインの平均濃度（ｐｇ／ｍＬ）を表す。図３１のヒートマップを構築するために、ＩＬ－ａ（図３２Ａ）、ＩＬ－β（図３２Ｂ）、ＩＬ－２（図３２Ｃ）、ＩＬ－１３（図３２Ｄ）についての多重サイトカイン定量化を使用した。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１（フィッシャー検定によるＡＮＯＶＡ）。全てのデータを平均±標準偏差でプロットする。図３２Ａ～３２Ｄは、続発性（未処置）腫瘍におけるサイトカインの存在を指す。

【０２６８】

さらに、ＰＥＦおよび免疫療法による処置は、ＩｇＧ対照群と比較して、続発性未処置腫瘍および肺の両方において好中球動員ケモカインＣＸＣＬ１を有意に減少させた。したがって、ＰＥＦと組み合わせた免疫療法は、肺転移において抗腫瘍免疫応答を誘導した。図３３Ａは、処置の１８日後の対側の全腫瘍溶解物からのサイトカイン発現を示すヒートマップを提供する。図３３Ｂは、肺組織からのサイトカイン発現が、Ｉｎｇｅｎｕｉｔｙ Ｐａｔｈｗａｙ Ａｎａｌｙｓｉｓ（ＩＰＡ）ソフトウェアによって決定されるように、癌に関連する経路にどのように影響するかの分析を示す。

【０２６９】

処置動物における転移負荷を特徴付けるために、腫瘍生存率（Ｋｉ６７）および免疫細胞浸潤物中の細胞傷害性Ｔ細胞（ＣＤ８）のマーカーを、ＥＬＩＳＡによって肺組織全体で定量した。ＰＥＦ単独療法および免疫療法と組み合わせたＰＥＦは、ＩｇＧ対照単独療法コホートおよびチェックポイント単独療法コホートの両方と比較して、肺におけるＣＤ８の発現を増加させた。図３４Ａ～３４Ｂは、処置の１８日後の全肺組織溶解物からのＫｉ－６７のＥＬＩＳＡ定量を提供する。生物学的群には、以下が含まれた：対照（ＩｇＧ、ｎ＝７）、抗ＰＤ－１チェックポイント単独療法（αＰＤ－１、ｎ＝８）、パルス照射野による直接処置（ＰＥＦ　ｎ＝３）、および併用療法（ＰＥＦ＋αＰＤ－１、ｎ＝７）＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１（フィッシャー検定によるＡＮＯＶＡ）。全てのデータを平均±標準偏差でプロットする。重要なことに、ＰＥＦおよび免疫療法コホートのみが、ＩｇＧ対照群と比較して、肺におけるＫｉ６７の総発現を減少させた。図３４Ｃは、処置の１８日後の全肺組織溶解物からのＣＤ８のＥＬＩＳＡ定量を提供する。生物学的群には、以下が含まれた：対照（ＩｇＧ、ｎ＝７）、抗ＰＤ－１チェックポイント単独療法（αＰＤ－１、ｎ＝８）、パルス照射野による直接処置（ＰＥＦ　ｎ＝３）、および併用療法（ＰＥＦ＋αＰＤ－１、ｎ＝７）＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１（フィッシャー検定によるＡＮＯＶＡ）。全てのデータを平均±標準偏差でプロットする。

【０２７０】

要約：未処置腫瘍および処置後１８日の転移性疾患を有する肺組織において行われたサイトカイン分析により、併用処置が全身性免疫抑制を緩和したことが確認された。ＰＥＦおよびチェックポイント遮断は、続発性未処置腫瘍においてＴ細胞活性化因子ＩＬ－２の発現を有意に上昇させたが、他の研究コホートはいずれも上昇させなかった。さらに、ＰＥＦおよび免疫療法による処置は、ＩｇＧ対照群と比較して、続発性未処置腫瘍および肺の両方において好中球動員ケモカインＣＳＣＬ－１を有意に減少させた。肺における転移負荷に対するＰＥＦ媒介変化を特徴づけるために、本発明者らはまず、処置によって影響を受ける生物学的機能および遺伝子ネットワークを同定するために、Ｉｎｇｅｎｕｉｔｙ Ｐａｔｈｗａｙ Ａｎａｌｙｓｉｓ（ＩＰＡ）ソフトウェアを使用した。併用療法は、腫瘍の成長および転移を含む癌に関連する経路の有意な減少をもたらした。次に、本発明者らは、腫瘍生存率（Ｋ１６７）および免疫細胞浸潤物中の細胞傷害性Ｔ細胞（ＣＤ８）の

マーカーを、ＥＬＩＳＡによって肺組織全体で定量した。ＰＥＦ単独療法は、ＩｇＧ対照単独療法コホートおよびチェックポイント単独療法コホートの両方と比較して、肺におけるＣＤ８の発現を増加させた。重要なことに、ＰＥＦおよび免疫療法コホートのみが、ＩｇＧ対照群と比較して、肺におけるＫ１６７の総発現を減少させた。

【０２７１】

結論：ＰＥＦをαＰＤ－１チェックポイント阻害と組み合わせると、免疫抑制性４Ｔ－１腫瘍モデルにおいて強い局所および全身性抗腫瘍免疫応答が誘導される。

実施例４

【０２７２】

４Ｔ－１およびＥＭＴ－６同所性腫瘍モデル内の特殊なＰＥＦおよびαＰＤ－１の併用送達に対する原発性および続発性腫瘍応答

【０２７３】

背景：癌患者の処置選択肢は多くの形態の癌に対して改善されているが、後天性薬剤耐性の発生、高い腫瘍再発の発生率、および全身拡散は絶え間ない負の転帰である。しかしながら、最近の努力は、パルス電界（ＰＥＦ）と協調する免疫処置（すなわち、αＰＤ－１などのチェックポイント阻害剤）の組み合わせが全体的な転帰を改善し得ることを実証している。ＰＥＦは、測定可能な全身性応答をもたらす、細胞死、炎症シグナル伝達、および腫瘍微小環境内での生存可能な抗原提示の生成を含む局所事象のカスケードを誘発するための短時間の高振幅パルスエネルギーの適用に依存するエネルギー指向性病巣療法である。

【０２７４】

目的：この前臨床試験の目的は、特殊なＰＥＦをチェックポイント遮断（ＣＰＢ）と組み合わせる全体的な相乗効果を評価することであった。

【０２７５】

方法：免疫適格雌Ｂａｌｂｃマウスを麻酔し、第５の乳房脂肪パッド（原発性腫瘍）に２００，０００個の細胞（それぞれ免疫「ホット」および「コールド」腫瘍微小環境を表すＥＭＴ－６または４Ｔ－１）を同所性接種した。マウスを４つの群に分けた：ＩｇＧ対照、αＰＤ１単独療法、ＰＥＦ単独療法、およびαＰＤ－１＋ＰＥＦ。αＰＤ－１投与は、腫瘍接種の日から週に３回投与される２００μｇであった。直径５ｍｍに達したら（８～１０日）、ＰＥＦ群の腫瘍を、腫瘍の中心に配置された単一の針を通して送達されるＰＥＦの単回適用で処置した。ＰＥＦ線量は、腫瘍体積のおよそ８０％を標的とするように確立された。ＰＥＦ処置送達日の３日後、対側の脂肪パッド（続発性腫瘍）に２回目の接種を行った。マウスの健康状態および腫瘍サイズを週に３回モニタリングした。マウスを実験時点または研究終了時に、または臨床的に瀕死であると考えられる場合に安楽死させた。

【０２７６】

結果：ＰＥＦ＋αＰＤ－１コホートにおける直接処置された対側の腫瘍は、ＥＭＴ－６マウス腫瘍モデル内のすべての群と比較して、処置後２４日までに腫瘍成長の有意な抑制を経験した（図３５）。さらに、ＰＥＦ＋αＰＤ－１コホートの５８％は、対側の腫瘍を成長させなかった（図３５）。全体として、併用治療プロトコルは、ＰＥＦまたはαＰＤ－１単独治療と比較して、生存転帰を有意に改善した（Ｐ値＜０．００１）。より具体的には、ＰＥＦ＋αＰＤ－１で処置した動物の４１％が完全奏効を達成したのに対して、動物αＰＤ－１およびＰＥＦ単独療法ではそれぞれ１０％および１８％であった（図３６）。図３５は、未処置腫瘍（ＩｇＧ）と比較した、ＰＥＦ、抗ＰＤ１および両方の療法で処置したＥＭＴ６腫瘍の腫瘍成長曲線を示す。ＰＥＦ処置群は、ＩｇＧおよびａＰＤ１と比較して有意な増殖遅延を示した。ＰＥＦと抗ＰＤ１との組み合わせは、腫瘍成長をさらに阻害する。図３５は、対側の未処置腫瘍の腫瘍成長を示す。原発性腫瘍上に全身性抗ＰＤ１および局所ＰＥＦを受けたマウスの対側腫瘍は、７／１２のマウスにおいてサテライト腫瘍を成長させることができなかった。図３６は、原発性腫瘍に対するＰＥＦおよび全身性抗ＰＤ１療法で処置したマウスが、ＰＥＦ単独（１８％）、抗ＰＤ１単独（１０％）お

よび処置なし（０％）と比較して４１％の生存率を有したことを示す。したがって、図３４～３６には、ＥＭＴ－６マウス腫瘍モデルについてのＰＥＦ後１４日での原発性腫瘍成長曲線（図３５）および続発性腫瘍成長曲線（図３６）を、２４日間にわたる生存プロット（図３７）と共に示す。

【０２７７】

同様に、４Ｔ－１腫瘍モデルは、ＰＥＦ後１９日でのＩｇＧおよびαＰＤ－１単独療法と比較して、ＰＥＦ単独療法およびＰＥＦ＋αＰＤ－１群の両方について、原発性および対側の腫瘍成長の有意な低減（Ｐ値＜０．０５）を示した（図３８Ａ）。図３８Ａ～３８Ｂには、原発性腫瘍成長曲線（図３８Ａ）および続発性腫瘍成長曲線（図３８Ｂ）を、４Ｔ－１マウス腫瘍モデルについてＰＥＦ後１９日を示す。併用療法を受けたマウスの２９％およびＰＥＦ単独療法を受けたマウスの１３％において、対側の腫瘍成長は達成されなかった。

【０２７８】

結論：このデータは、チェックポイント阻害（αＰＤ－１）および病巣ＰＥＦ療法が相乗的に作用して、免疫原性（ＥＭＴ－６）マウス腫瘍モデルおよび免疫抑制性（４Ｔ－１）マウス腫瘍モデルの両方において、増強された抗腫瘍応答を生み出すことを示唆している。

実施例５

【０２７９】

２つの異なる投薬スケジュールを比較する同様の研究を行った。ＣＰＢ単独と比較してＣＰＢをＰＥＦ療法と組み合わせる改善を最適化するために、２つの個別のＣＰＢ投薬スキームを生存の影響によって評価した。これ投薬スキームには、原発性腫瘍接種時に開始される高頻度抗ＰＤ－１投薬スケジュール（図３９Ａ）、およびＣＰＢがＰＥＦ処置時に開始される低頻度後期抗ＰＤ－１投薬スケジュール（図３９Ｂ）が含まれた。併用治療投薬スキームの各々は、ＰＥＦまたは抗ＰＤ１単独療法と比較して有意に（ｐ＜０．００１）生存転帰を改善した。完全奏効（ＣＲ）が、高頻度および低頻度の後期状態の抗ＰＤ－１用量群における併用ＰＥＦ＋抗ＰＤ－１マウスの３６％および８５％においてそれぞれ得られた。これは、動物の抗ＰＤ１およびＰＥＦ単独療法のそれぞれ１０％および１８％と比較される（図４０）。図４０は、処置６０日後の生存を示すＫａｐｌａｎ－Ｍｅｉｅｒ曲線である。生物学的群には、対照（ＩｇＧ、ｎ＝１１）、抗ＰＤ－１チェックポイント単独療法（αＰＤ－１、ｎ＝１１）、パルス照射野による直接処置（ＰＥＦ、ｎ＝１１）、高頻度ＣＰＢ＋ＰＥＦ（ＰＥＦ＋αＰＤ－１）（ＨＦ）、ｎ＝２２）、低頻度後期ＣＰＢ＋ＰＥＦ（ＰＥＦ＋αＰＤ－１）（ＬＦＬＳ）、ｎ＝７が含まれた。

【０２８０】

次に、長期の腫瘍特異的免疫を提供する併用療法コホートを特定するために、本発明者らは、処置の６０日後にＥＭＴ６腫瘍細胞注射によってＣＲを達成した動物を、天然の腫瘍部位である第２の乳房脂肪パッドに再チャレンジした（図４１Ａ～４１Ｂ）。図４１Ａは、ＥＭＴ６腫瘍細胞注射で以前にチャレンジされていない天然対照マウスを示す。図４１Ｂは、以前に完全奏効を達成していたＰＥＦおよびＣＰＢの組み合わせ群からの動物を示す。天然対照マウスについては、腫瘍を第５の乳房パッド（左側および右側）および第２の乳房脂肪パッド（左側のみ）に接種した。ＰＥＦ＋抗ＰＤ－１マウスについては、腫瘍を第２の乳房脂肪パッドのみにチャレンジした。全ての腫瘍は、対照コホートで容易に成長した。まとめると、併用療法で処置した動物の９４％（１７／１８）が、接種後２０日までに腫瘍を示さなかった。

【０２８１】

図４２に関して、Ｂａｌｂ／ｃマウスに、第５の乳房脂肪パッド（左右両側、両側性腫瘍モデル）において２００，０００個の細胞（４Ｔ－１）を同所性チャレンジした。マウスを４つの群に分けた：対照（ＩｇＧ、ｎ＝８）、抗ＰＤ－１チェックポイント単独療法（αＰＤ－１、ｎ＝８）、パルス照射野による直接処置（ＰＥＦ、ｎ＝８）、および併用療法（ＰＥＦ＋αＰＤ－１、ｎ＝７）。ＰＥＦ群の腫瘍が直径５ｍｍに達したら（１０日

間）、腫瘍の中心に配置された単一の針を通して送達されたＰＥＦの単回適用で処置した。

【０２８２】

同様に、４Ｔ１腫瘍モデルは、ＰＥＦ後１９日でのＩｇＧおよびＰＤ－１単独療法と比較して、ＰＥＦ単独療法およびＰＥＦ＋抗ＰＤ－１群の両方について、原発性および対側の腫瘍成長の有意な低減（ｐ＜０．０５）を示した。対側腫瘍は、ＰＥＦ＋抗ＰＤ－１群において有意により小さかった（図４３）。併用療法を受けたマウスの４３％および単独療法（ＰＥＦ単独）を受けたマウスの１２％において、対側の腫瘍成長は達成されなかった。

【０２８３】

図４３は、原発性または直接処置された４Ｔ－１腫瘍の成長プロットである。生物学的群には、以下が含まれた：対照（ＩｇＧ、ｎ＝８）、抗ＰＤ－１チェックポイント単独療法（αＰＤ－１、ｎ＝８）、パルス照射野による直接処置（ＰＥＦ、ｎ＝８）、および併用療法（ＰＥＦ＋αＰＤ－１）（ＬＦＬＳ）、ｎ＝７。＊ｐ＜０．０５（テューキー検定による反復測定ＡＮＯＶＡ）。全てのデータは平均±ＳＥＭをプロットした。

【０２８４】

図４４は、ＰＥＦの１８日後または接種の１３日後の対側または未処置の４Ｔ－１腫瘍体積の生物学的群間の比較である。全てのデータを平均±標準偏差でプロットする。

【０２８５】

結論：このデータは、チェックポイント阻害（αＰＤ－１）および病巣ＰＥＦ療法が相乗的に作用して、免疫原性（ＥＭＴ－６）マウス腫瘍モデルおよび免疫抑制性（４Ｔ－１）マウス腫瘍モデルの両方において増強された永続的な抗腫瘍応答を生み出すことを示唆している。

ＰＥＦ線量の変更

【０２８６】

前述のように、特殊な処置線量は、以下を含むパラメーター値の組み合わせから生成される波形によって提供される：電圧＝３０００Ｖ、基本周波数＝４００ｋＨｚ、パケットあたりの二相性パルス（すなわち、サイクル）の数＝４０サイクル、サイクル間遅延＝１０００マイクロ秒、パケットの数＝１００パケットおよびパケット間遅延＝３秒。この特殊な線量からの逸脱は、典型的には異なる結果を生成することが理解されよう。

【０２８７】

図１８に戻って参照すると、腫瘍におけるＴＬＳの存在がより良好な予後および臨床転帰と相関する、三次リンパ球構造（ＴＬＳ）を有する様々な組織試料が示されている。特殊な処置線量で処置した場合、リンパ凝集体およびＴＬＳは、ＰＥＦ処置腫瘍の末梢付近で一貫して観察されている。しかしながら、線量を変更すると（図１８の組織試料Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３）、ＴＬＳの数は劇的に低減するか、または存在しなくなる。組織試料Ｔ１中の腫瘍は特殊な線量を受けたが、エネルギー送達は心拍と非同期であり、エネルギー送達は短時間中断した。組織試料Ｔ２中の腫瘍は、１００パケットを有する単回線量ではなく、各々が５０パケットを有する２回線量でエネルギーを受けた。組織試料Ｔ３中の腫瘍はまた、針の配置およびパケット送達を評価するためのＣＴスキャンを生成するために、１００パケットを有する単回線量ではなく、各々が５０パケットを有する２回線量でエネルギーを受け取った。これらの場合、エネルギー送達は途中で中断されたが、処置効果のさらなる蓄積を防ぐのに十分な長さの休止を伴い、したがって後の試料とは機能的に異なる線量を有した。図１８の組織（Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３、Ｔ４、Ｔ５、Ｔ６、Ｔ７、Ｔ８、Ｔ９、Ｔ１０、Ｔ１１、Ｔ１２）におけるＴＬＳの平均数は５４．８であるが、変更された線量を受けた組織（Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３）におけるＴＬＳの平均数はわずか４である。ＴＬＳの数は、成熟したＴＬＳ（増殖性中心芽細胞の特徴的な形態を示す成熟ＣＤ２０－Ｂ細胞を含有する胚中心を有し、多くの場合、胚中心内に色素性体マクロファージおよび濾胞性樹状細胞を有する）および未成熟なＴＬＳ（胚中心を有しない）から構成される。図１８の組織（Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３、Ｔ４、Ｔ５、Ｔ６、Ｔ７、Ｔ８、Ｔ９、Ｔ１０、Ｔ１１、Ｔ

１２）における成熟ＴＬＳの平均は５．６であるが、変更された線量を受けた組織（Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３）におけるＴＬＳの平均数は０である。図１８の組織（Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３、Ｔ４、Ｔ５、Ｔ６、Ｔ７、Ｔ８、Ｔ９、Ｔ１０、Ｔ１１、Ｔ１２）における未熟なＴＬＳの平均は４９．２であるが、変更された線量を受けた組織（Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３）におけるＴＬＳの平均数は４である。図１８の組織の平均は、Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３を含み、したがって、これらの３つの腫瘍を除外した場合の平均はさらに高いことが理解され得る。したがって、変更された線量の効果の差は、計算されたものよりも大きい。これは、特殊な線量における変化が、より低い免疫学的応答、低下した有効性およびあまり望ましくない臨床転帰をもたらし得ることを示している。

【０２８８】

それにもかかわらず、典型的には異なる成果を伴う異なるパラメーターが使用され得ることが理解され得る。異なる成果は、いくつかの態様では異なり、他の態様では同様であり得る。同様に、いくつかの状況によっては異なる成果が好ましく、他の状況では好ましくない場合がある。以下では、エネルギー波形のパラメーターについてさらに説明する。

Ａ．電圧

【０２８９】

使用され考慮される電圧は、方形波形の最上部であってもよく、正弦波もしくは鋸歯状の波形のピークであってもよく、または正弦波もしくは鋸歯状の波形のＲＭＳ電圧であってもよい。いくつかの実施形態では、エネルギーは単極様式で送達され、各高電圧パルスまたは設定電圧４１６は、約５００Ｖ～１０，０００Ｖ、特に約３０００Ｖ～３３００Ｖ、３０００Ｖ～３５００Ｖ、３３００～３５００Ｖ、３５００Ｖ～４０００Ｖ、約３５００Ｖ～５０００Ｖ、約３５００Ｖ～６０００Ｖであり、いくつか例を挙げると、約３０００Ｖ、３３００Ｖ、３５００Ｖ、４０００Ｖ、４５００Ｖ、５０００Ｖ、５５００Ｖ、６０００Ｖを含むその間のすべての値および部分範囲を含む。組織に送達される電圧は、器具１０２の固有インピーダンスに起因する器具１０２の長さに沿った電気的損失を考慮に入れながら、または長さに沿った損失を考慮に入れずに、発生機１０４の設定点に基づくことができ、すなわち、送達される電圧は、発生機または器具の先端部で測定することができる。

【０２９０】

設定電圧４１６は、エネルギーが単極様式で送達されるかまたは双極様式で送達されるかに応じて変化し得ることが理解されよう。双極送達では、より小さく、より指向性のある電界のために、より低い電圧が使用され得る。療法に使用するために選択される双極電圧は、電極の分離距離に依存するが、１またはそれを超える遠隔分散パッド電極を使用する単極電極構成は、身体上に配置されたカテーテル電極および分散電極の正確な配置をあまり考慮せずに送達され得る。単極電極の実施形態では、１０ｃｍ～１００ｃｍ程度の有効分離距離で、分散電極に到達するための本体を通る送達エネルギーの分散挙動のために、より大きな電圧が通常使用される。逆に、双極電極構成では、１ｍｍ～１ｃｍを含む０．５ｍｍ～１０ｃｍ程度の電極の比較的近い活性領域は、分離距離から組織に送達される電気エネルギー濃度および有効線量に対してより大きな影響をもたらす。例えば、所望の組織深さ（１．３ｍｍ）で所望の臨床効果を誘発するために目標とする電圧対距離比が３０００Ｖ／ｃｍである場合、分離距離が１ｍｍから１．２ｍｍに変更される場合、これは３００から約３６０Ｖへの処置電圧の必要な増加、つまり２０％の変更をもたらす。

Ｂ．周波数

【０２９１】

１秒あたりの二相性サイクルの数は、信号が連続的であるときの基本周波数であることが理解され得る。特殊なＰＥＦ波形は線量全体にわたって連続していないので（例えば、波形はパケットおよび遅延を含む）、基本周波数は、特殊なＰＥＦ波形の二相性パルスのパルス幅を記述する方法として使用される。パルス幅は、単一の二相性サイクルの前縁と後縁との間の経過時間の尺度であり、基本周波数の値から導出することができることが理解されよう。例えば、基本周波数が４００Ｈｚの波形は、２．５マイクロ秒の二相性パル

ス幅を有する。

【０２９２】

いくつかの実施形態では、二相性パルスを利用して、望ましくない筋刺激、特に心筋刺激を低減する。他の実施形態では、パルス波形は単相性であり、明確な固有の周波数はない。代わりに、周波数を導出するために単相性パルス長を２倍にすることによって基本周波数が考慮され得る。いくつかの実施形態では、信号は、１００ｋＨｚ、２００ｋＨｚ、３００ｋＨｚ、４００ｋＨｚ、５００ｋＨｚ、１００～５００ｋＨｚなどを含む、１００ｋＨｚ～１ＭＨｚ、より具体的には１００ｋＨｚ～１０００ｋＨｚの範囲の周波数を有する。いくつかの実施形態では、信号は、粘膜下細胞または平滑筋細胞など、ある程度深く位置する特定の細胞を処置または影響を及ぼすために、典型的には管腔壁を貫通するおよそ１００～６００ｋＨｚの範囲の周波数を有する。いくつかの実施形態では、信号は、上皮細胞または内皮細胞などのある程度浅い特定の細胞を処置または影響を及ぼすために、典型的には管腔壁を貫通するおよそ６００ｋＨｚ～１０００ｋＨｚまたは６００ｋＨｚ～１ＭＨｚの範囲の周波数を有する。いくつかの電圧では、１００～２５０ｋＨｚを下回る周波数が望ましくない筋刺激を引き起こす可能性があることが理解されよう。したがって、いくつかの実施形態では、信号は、４００ｋＨｚ、４５０ｋＨｚ、５００ｋＨｚ、５５０ｋＨｚ、６００ｋＨｚ、６５０ｋＨｚ、７００ｋＨｚ、７５０ｋＨｚ、８００ｋＨｚなど、４００～８００ｋＨｚまたは５００～８００ｋＨｚの範囲の周波数を有する。特に、いくつかの実施形態では、信号は６００ｋＨｚの周波数を有する。さらに、心臓同期は、通常、感受性の律動期間中の望ましくない心筋刺激を低減または回避するために利用される。信号アーチファクトを最小限に抑える構成要素では、さらにより高い周波数を使用できることが理解されよう。

Ｃ．電圧－周波数の平衡化

【０２９３】

送達される波形の周波数は、適切な処置効果を維持するために同期して処置電圧に対して変化し得る。このような相乗的変化には、より強い効果を引き起こす周波数の減少を、より弱い効果を引き起こす電圧の減少と組み合わせて含む。例えば、場合によっては、処置は、８００ｋＨｚの波形周波数で単極様式で３０００Ｖを使用して送達され得るが、他の場合では、処置は、４００ｋＨｚの波形周波数で２０００Ｖを使用して送達され得る。

【０２９４】

反対方向で使用される場合、処置パラメーターは、それを非常に効果的にするように操作され得、それは、気道処置のための軟骨などの望ましくない組織に対する筋収縮の可能性またはリスク効果を増加させ得る。例えば、８００ｋＨｚで２０００Ｖを使用するなど、周波数を上げて電圧を下げると、処置は十分な臨床治療上の利益を有さない可能性がある。反対に、電圧を３０００Ｖに増加させ、周波数を４００ｋＨｚに減少させた場合、側枝感受性組織に望ましくない処置効果が及ぶ可能性がある。場合によっては、これらの望ましくない組織の過剰処置は、気道虚脱を引き起こすのに十分な気道内の軟骨組織の破壊、または正常な蠕動運動の中断を引き起こすのに十分なＧＩ管内の平滑筋の破壊など、患者の罹患率または安全性の懸念をもたらす可能性がある。他の場合では、標的化されていない組織または望ましくない組織の過剰処置は、良性の臨床転帰を有し、過剰処置された場合に患者の応答または罹患率に影響を及ぼさない可能性がある。

Ｄ．サイクルおよびパケット

【０２９５】

上述したように、アルゴリズム１５２は、一連のエネルギーパケットを含む波形を有する信号を規定し、各エネルギーパケットは一連の高電圧パルスを含む。典型的には、パルスは二相性であるので、それらはサイクルと呼ばれる。図４を参照すると、最初のパケット４０２は、サイクルカウント４２０が２である。いくつかの実施形態では、サイクルカウント４２０は１パケットあたり１～１００に設定され、５サイクル、１０サイクル、２０サイクル、３０サイクル、４０サイクル、５０サイクル、６０サイクル、７０サイクル、８０サイクル、９０サイクル、１００サイクルなど、その間のすべての値および部分範

囲を含む。いくつかの実施形態では、サイクルカウント４２０は、１～５サイクル、１～１０サイクル、１～２５サイクル、１０～２０サイクル、１～４０サイクル、４０～５０サイクル、１～６０サイクル、５０～６０サイクル、１～８０サイクル、１～１００サイクル、５０～１００サイクル、１～１，０００サイクルまたは１～２，０００サイクルであり、その間のすべての値および部分範囲を含む。

【０２９６】

パケット持続時間は、他の要因の中でも、サイクルカウントによって決定される。典型的には、サイクルカウントが高いほど、パケット持続時間が長くなり、送達されるエネルギー量が大きくなる。いくつかの実施形態では、パケット持続時間は、いくつか例を挙げると、およそ５０～１０００マイクロ秒の範囲内、例えば５０μｓ、６０μｓ、７０μｓ、８０μｓ、９０μｓ、１００μｓ、１２５μｓ、１５０μｓ、１７５μｓ、２００μｓ、２５０μｓ、１００～２５０μｓ、１５０～２５０μｓ、２００～２５０μｓ、５００～１０００μｓである。他の実施形態では、パケット持続時間は、１５０μｓ、２００μｓ、２５０μｓ、５００μｓ、または１０００μｓなど、およそ１００～１０００マイクロ秒の範囲内である。

【０２９７】

いくつかの実施形態では、処置中に送達されるパケットの数、またはパケットカウントは、５０～２８０パケットを含んでもよく、５０、６０、７０、８０、９０、１００、５０～１００、８０～１００、１００～１１０、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１００～１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、２００、２１０、２２０、２３０、２４０、２５０、２６０、２７０、および２８０パケットなど、その間のすべての値および部分範囲を含む。

【０２９８】

【表３】

表3：例示的なパラメーターの組み合わせは以下を含む：

電圧	周波数	パケット持続時間	パケットの最小数	浸透
3500 V	500 kHz	250 µs	200	0.1～1 cm
5000 V	5 kHz	200 µs	10-20	0.5～2 cm
6000 V	300 kHz	500 µs	100	3～5 cm
3000 V	500 kHz	250 µs	25-50	0.5～2 cm
2500 V	300 kHz	150 µs	100	0.5～2 cm
2500 V	500 kHz	100 µs	50	0.5 cm
2500 V	600 kHz	100 µs	20	0.05　～0.1 cm

Ｅ．休止期間／パケット間遅延

【０２９９】

いくつかの実施形態では、休止期間またはパケット間遅延４０６と呼ばれるパケット間の時間は、約０．１秒～約５秒の間に設定され、その間のすべての値および部分範囲を含む。他の実施形態では、休止期間４０６は、約０．００１秒～約１０秒の範囲であり、１秒、２秒、３秒、４秒、５秒、６秒、７秒、８秒、９秒、１０秒など、その間のすべての値および部分範囲を含む。いくつかの実施形態では、休止期間４０６は、およそ３～５秒である。特に、いくつかの実施形態では、各パケットが心拍に関して指定された期間内に同期して送達されるように、信号は心臓律動と同期され、したがって休止期間は心拍と一致する。心臓同期が利用される他の実施形態では、後のセクションで説明するように、パ

ケット間の休止期間が心臓同期の影響を受ける可能性があるため、休止期間４０６は変化してもよい。

Ｆ．スイッチタイムおよびデッドタイム／サイクル間遅延

【０３００】

スイッチタイムは、二相性パルスの正ピークと負ピークとの間に送達されるエネルギーのない遅延または期間である。いくつかの実施形態では、スイッチタイムは、約０～約１マイクロ秒の範囲であり、その間のすべての値および部分範囲を含む。他の実施形態では、スイッチタイムは、１～２０マイクロ秒の範囲であり、その間のすべての値および部分範囲を含む。他の実施形態では、スイッチタイムは、約２～約８マイクロ秒の範囲であり、その間のすべての値および部分範囲を含む。

【０３０１】

遅延はまた、「デッドタイム」またはサイクル間遅延と呼ばれる二相性パルスの各サイクル間に挿入され得る。サイクル間遅延はパケット内で発生するが、サイクル間または二相性パルス間で発生する。これは、パケット間で発生する休止期間またはパケット間遅延とは対照的である。他の実施形態では、サイクル間遅延４１２は、０．０１～０．５マイクロ秒、１～１０マイクロ秒、２～５マイクロ秒、１０～２０マイクロ秒、５０～１００マイクロ秒、１０００マイクロ秒、１０００～１５００マイクロ秒、または１０００マイクロ秒～１００ミリ秒の範囲内であり、その間のすべての値および部分範囲を含む。いくつかの実施形態では、サイクル間遅延４１２は、０．２～０．３マイクロ秒の範囲内である。サイクル間遅延はまた、パケット内の別個の単相性パルス間の期間を定義するために使用され得る。

【０３０２】

この種の遅延は、典型的には、波形内の二相性キャンセルの影響を低減するためにパケットに導入される。二相性キャンセルは、二相性波形対単相性波形に応答した細胞調節の誘導の低減を指すために使用される用語であり、特にスイッチタイムおよびデッドタイムが小さい場合（例えば１０μｓ未満）である。いくつかの実施形態では、二相性キャンセルの影響は、スイッチタイム遅延およびデッドタイムを導入することによって低減される。場合によっては、スイッチタイムとデッドタイムの両方を一緒に増加させて効果を強化する。他の例では、この効果を誘導するために、スイッチタイムのみまたはデッドタイムのみを増加させる。

【０３０３】

いくつかの実施形態では、スイッチタイム持続時間は、離れた細胞の効果に対する療法効果の程度が療法の標的に対して最適化されるように調整される。いくつかの実施形態では、スイッチタイム持続時間またはデッドタイム持続時間は、離れた筋細胞収縮を減少させるために最小化され、局所療法効果はより低い。他の実施形態では、スイッチタイム持続時間は、局所療法効果を増大させるために延長され、さらなる離れた筋細胞収縮が起こり得る。いくつかの実施形態では、スイッチタイムまたはデッドタイムの持続時間を延長して局所療法効果を高め、神経筋麻痺薬を使用して、結果として生じる筋収縮の増加を制御する。いくつかの実施形態では、スイッチタイム持続時間は１０ｎｓ～２μｓであるが、他の実施形態では、スイッチタイム持続時間は２μｓ～２０μｓである。いくつかの例では、膜貫通電位操作が標的処置効果を誘発するのに必要な主要な機構ではない方法で細胞調節が標的とされる場合、スイッチタイム遅延およびデッドタイム遅延は、０．１μｓ未満または０μｓに最小化される。この遅延の排除は、骨格筋収縮または心筋活動電位および収縮などの末梢の非標的処置効果を最小限に抑える。

【０３０４】

二相性波形の処置効果を高めるためにスイッチタイム遅延およびデッドタイム遅延を利用することの別の利点は、発生機需要の低減であり、それによって休止の導入は、非対称／不平衡パルス波形を必要とせずにより強い処置効果を可能にする。この場合、不平衡波形は、単相性であるか、または一方の極性が他方に対して不平衡な持続時間もしくは電圧もしくは組み合わせを有するものとして説明される。場合によっては、不均衡とは、波形

の正の部分の積分が波形の負の部分の積分と等しくないことを意味する。不均衡な波形を送達することができる発生機は、それによって潜在的な発生機の複雑さを増大させることが考慮される設計上の考慮事項の別個のセットを有する。

Ｇ．波形

【０３０５】

いくつかの実施形態では、波形は対称パルスを有し、それにより、一方の方向（すなわち、正または負）におけるパルスの電圧および持続時間は、他方の方向におけるパルスの電圧および持続時間に等しい。いくつかの実施形態では、波形は不平衡電圧のパルスを有する。支配的な正または負の振幅は同じ電荷細胞膜充電電位のより長い持続時間をもたらすので、不均衡な波形はより顕著な処置効果をもたらし得る。いくつかの実施形態では、不均衡は、等しくない持続時間のパルス幅を有するパルスを含む。いくつかの実施形態では、二相性波形は不平衡であり、その結果、一方の方向の電圧は他方の方向の電圧に等しくなるが、一方の方向の持続時間（すなわち、正または負）は他方の方向の持続時間よりも長くなり、その結果、波形の正の部分の曲線下面積は、波形の負の部分の下の面積に等しくならない。いくつかの実施形態では、不平衡波形は、反対の極性の不等数のパルスに反転する前に１つの極性において１つよりも多いパルスを送達することによって達成される。

Ｈ．波形の形状

【０３０６】

いくつかの実施形態では、パルスは方形波ではなく正弦波の形状である。正弦波形状の１つの利点は、それが平衡または対称であり、それによって各位相の形状が等しいことである。平衡化は、望ましくない筋刺激を低減するのに役立ち得る。他の実施形態では、パルスは、減衰形状の波形を有することが理解されよう。

【０３０７】

より大きな病変（例えば、およそ１×１×１ｃｍ^{3}より大きい）の生成は、同じまたは類似の病変特性および／または免疫応答を得るために異なるパラメーター値を含み得ることが理解されよう。いくつかの実施形態では、およそ１．８×１．８×２．４ｃｍ^{3}のサイズを有する病変は、以下を含むパラメーター値の組み合わせから生成される波形によって達成され得る：電圧＝３３００Ｖ、基本周波数＝１００ｋＨｚ、パケットあたりの二相性パルス（すなわち、サイクル）の数＝１０サイクル、サイクル間遅延＝１０００マイクロ秒、パケットの数＝１００パケットおよびパケット間遅延＝３秒。いくつかの実施形態では、およそ３ｘ３ｘ４ｃｍ^{3}のサイズを有する病変は、以下を含むパラメーター値の組み合わせから生成される波形によって達成され得る：電圧＝６０００Ｖ、基本周波数＝１００ｋＨｚ、パケットあたりの二相性パルス（すなわち、サイクル）の数＝１０サイクル、サイクル間遅延＝１０００または２０００マイクロ秒、パケットの数＝１００パケットおよびパケット間遅延＝１、３、５または１０秒。

【０３０８】

いくつかの実施形態では、波形は電圧ではなく電流の関数として生成されることが理解されよう。例えば、３０００Ｖまたは３３００Ｖを使用して生成された線量は、１５０～３００オームの環境に送達される（３０００Ｖでは１０～２０Ａ、３３００Ｖでは１１～２２Ａを生成する）。いくつかの実施形態では、電流は、１０Ａ、１５Ａ、２０Ａ、２５Ａ、３０Ａ、３５Ａ、４０Ａ、４５Ａ、５０Ａ、５５Ａ、６０Ａ、６５Ａ、７０Ａなど、およびその間のすべての範囲である。いくつかの例では、例えば、麻痺を伴い送達され得る１００ｋＨｚ処置を使用する場合、７０Ａが上限であり得ることが理解され得る。

【０３０９】

エネルギー送達は、器具１０２上のアクチュエータ１３２または発生機１０４に動作可能に接続されたフットスイッチの使用など、様々な機構によって作動され得る。そのような作動は、典型的には、単一のエネルギー線量を提供する。エネルギー線量は、送達されるパケットの数およびパケットの電圧によって定義される。標的組織に送達される各エネルギー線量は、標的組織またはその中の温度を、熱アブレーション、特に基底膜またはよ

り深い粘膜下細胞外タンパク質マトリックス中の間質タンパク質の熱アブレーションまたは変性のための閾値未満に維持する。さらに、処置手順中の熱蓄積をさらに低減または排除するために、線量を経時的に滴定または緩和することができる。療法に対する危険性のある部位でのタンパク質凝固として定義される熱損傷を誘導する代わりに、エネルギー線量は、感受性組織を損傷することなく、癌などの症状の処置を誘導するレベルのエネルギーを提供する。

【０３１０】

本明細書に記載の例は、癌の処置などの腫瘍に関連しているが、デバイス、システムおよび方法はそのように限定されないことが理解されよう。例えば、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ経路によって調節されるシグナル伝達はまた、自己免疫応答、慢性感染および敗血症におけるものに類似し得る実質的な炎症効果に関連し、これは、防御免疫と免疫病理学とのバランス、ならびに恒常性および寛容におけるこの経路の役割と一致する。したがって、デバイス、システムおよび方法は、自己免疫障害および炎症性障害、慢性感染症、ならびに敗血症においてこの経路を標的とするために使用され得る。処置され得る他の症状および障害には、虚血再灌流傷害（ＩＲＩ）、脳卒中、アルツハイマー病（ＡＤ）、およびこれらの障害におけるＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ経路の免疫調節的役割による疼痛が含まれる。同様に、脳卒中後の炎症は、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌの関与のために処置され得る。

【０３１１】

本明細書で使用される場合、「約」および／または「およそ」という用語は、数値および／または範囲と共に使用される場合、一般に、列挙された数値および／または範囲に近い数値および／または範囲を指す。場合によっては、「約」および「およそ」という用語は、列挙された値の±１０％以内を意味することができる。例えば、場合によっては、「約１００［単位］」は、１００の±１０％以内（例えば、９０～１１０）を意味することができる。「約」および「およそ」という用語は、互換的に使用することができる。

【０３１２】

本発明の好ましい実施形態を本明細書に示し説明してきたが、そのような実施形態が例としてのみ提供されることは当業者には明らかであろう。本発明から逸脱することなく、当業者には多数の変形、変更、および置換が思い浮かぶであろう。本明細書に記載の本発明の実施形態に対する様々な代替形態が、本発明を実施する際に使用され得ることを理解されたい。以下の特許請求の範囲が本発明の範囲を定義し、これらの特許請求の範囲内の方法および構造ならびにそれらの均等物がそれによって包含されることが意図される。

【図面】

【図１Ａ－１Ｂ】

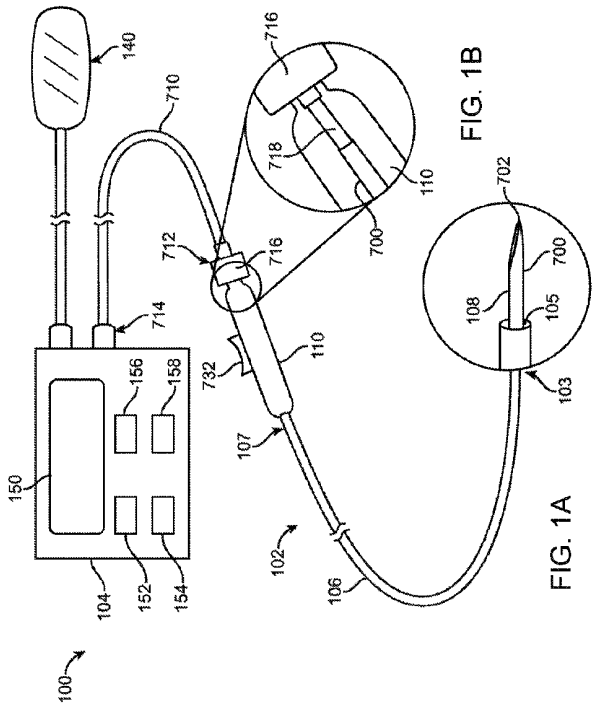

FIG. 1B

FIG. 1A

【図２Ａ】

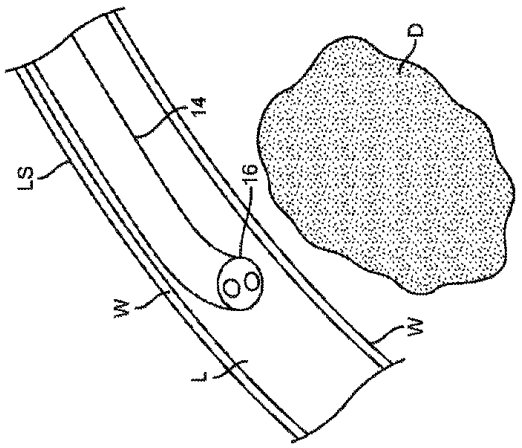

FIG. 2A

【図２Ｂ】

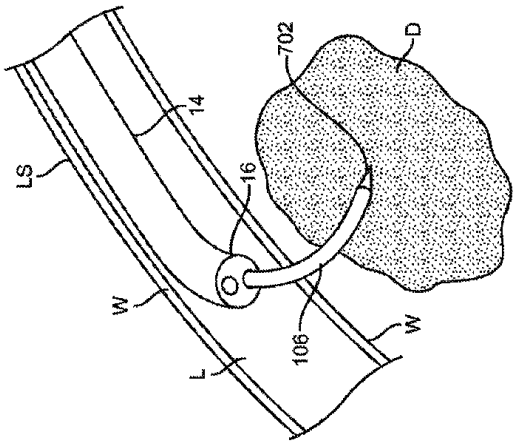

FIG. 2B

【図２Ｃ】

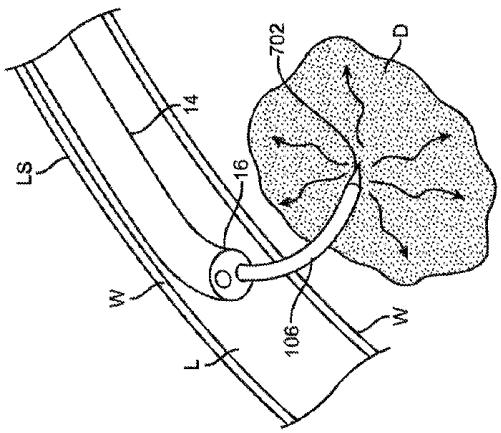

FIG. 2C

【図３】

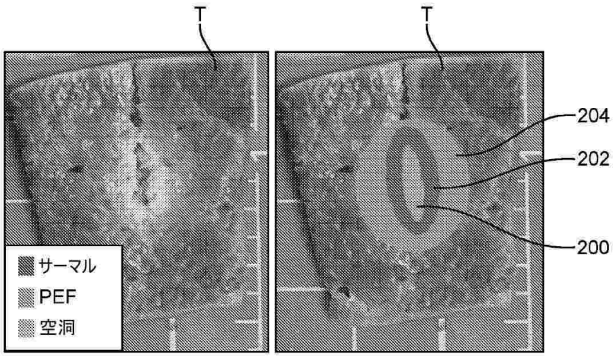

FIG. 3A FIG. 3B

【図４】

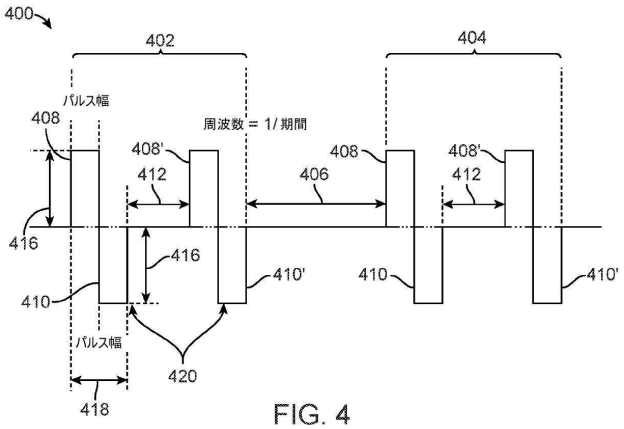

FIG. 4

【図５】

パラメーター	相対的変化	処置サイズ	筋収縮	温度上昇	処置送達時間	電気アーク放電リスク
電極スタイル	単極	⇧	⇦	⇧	⇔	⇧
電圧	⇧	⇧	⇦	⇧	⇔	⇦
波形	双極	⇧	⇧	⇔	⇔	⇧
基本周波数	⇧	⇧	⇧	⇔	⇔	⇔
パケット持続時間	⇧	⇧	⇦	⇧	⇔	⇦
パケットの数	⇧	⇧	⇔	⇧	⇦	⇔
パケット送達速度	⇧	⇔	⇔	⇧	⇧	⇔

FIG. 5

【図６】

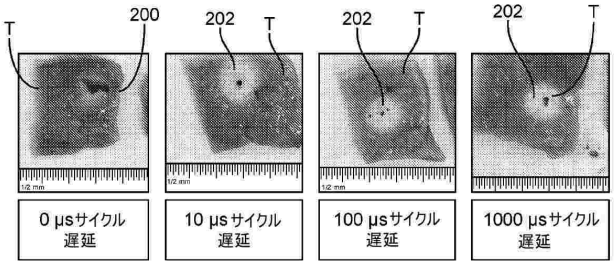

FIG. 6A FIG. 6B FIG. 6C FIG. 6D

【図７Ａ－７Ｂ】

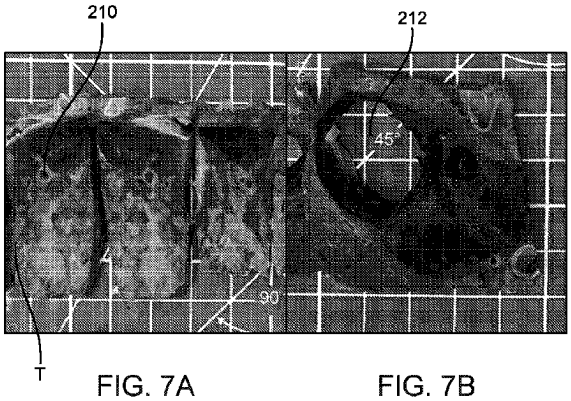

FIG. 7A FIG. 7B

【図８】

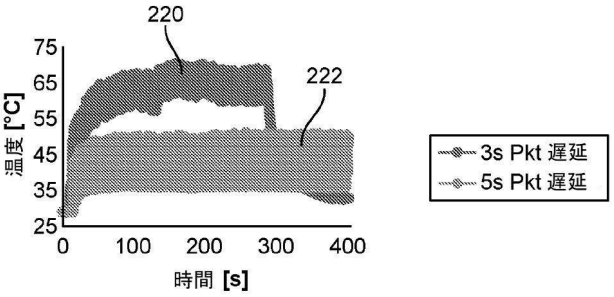

FIG. 8

【図９】

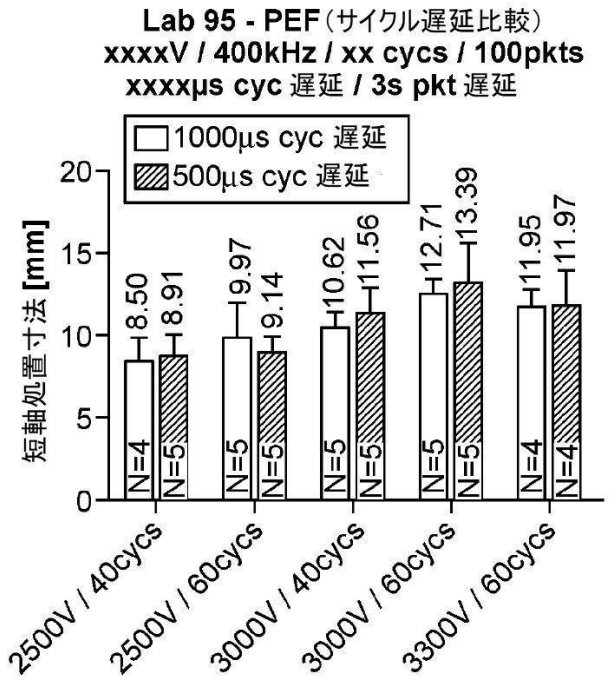

FIG. 9

【図１０】

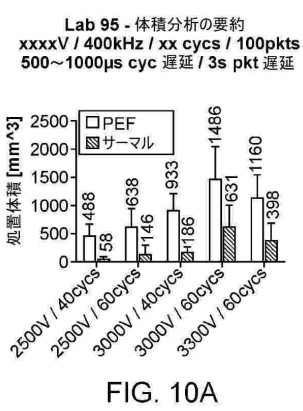

FIG. 10A

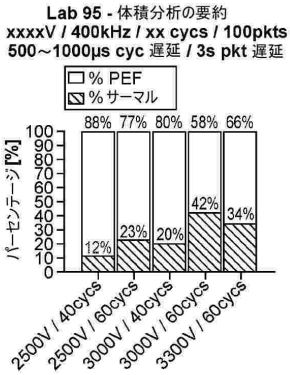

FIG. 10B

【図１１】

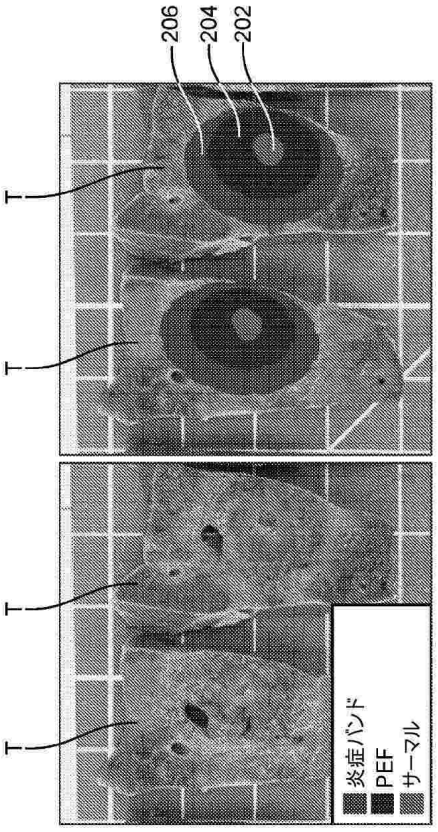

FIG. 11B

FIG. 11A

【図１２】

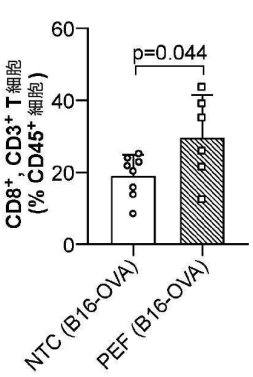

FIG. 12A

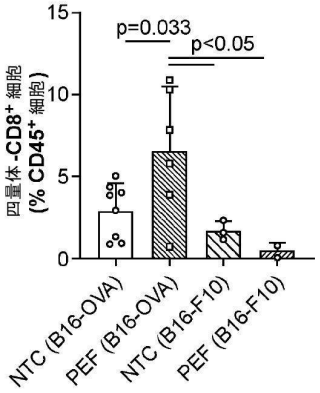

FIG. 12B

【図１３Ａ】

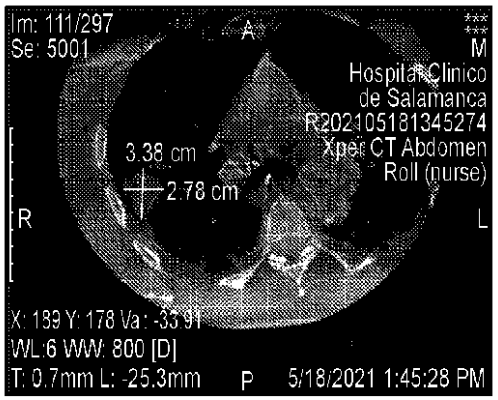

FIG. 13A

【図１３Ｂ】

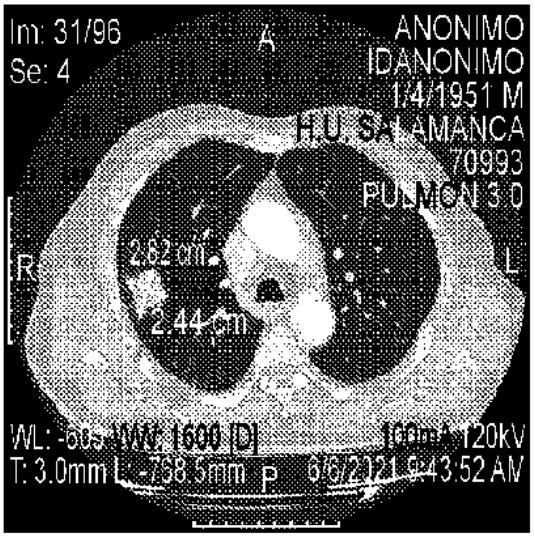

FIG. 13B

【図１３Ｃ】

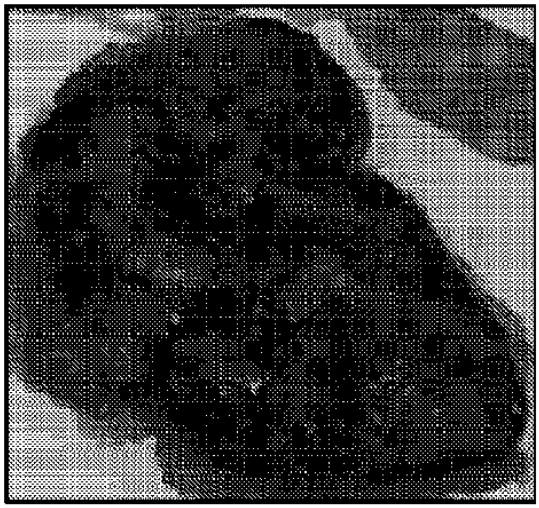

FIG. 13C

【図１３Ｄ】

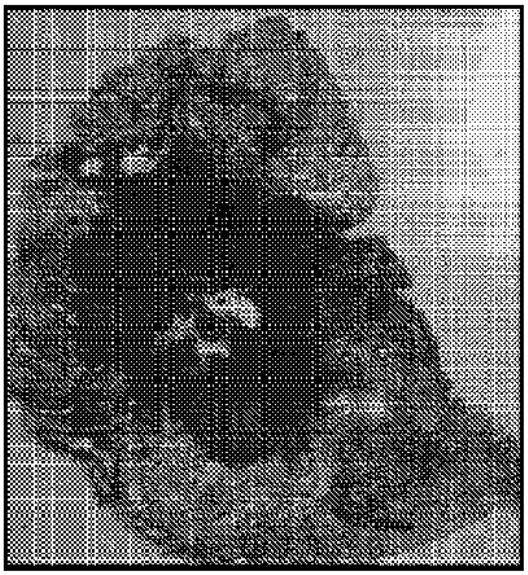

FIG. 13D

【図１４】

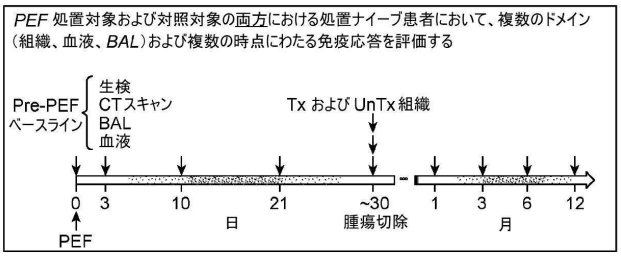

FIG. 14

【図１５】

スライド番号	株	主な細胞の反応性	予想される細胞位置	色	
1	HE-1			H&E	
2	CD3 FoxP3	T細胞 Treg	膜 核	レッド・ブラウン	
3	PD-L1 (22c3)		膜	ブラウン	
4	CD4 CD8α	Tヘルパー T細胞傷害性	膜 膜	レッド・ブラウン	
5	PanCK CD20	上皮 B細胞	細胞質 膜	レッド・ブラウン	
6	HE-2			H&E	

FIG. 15

【図１６】

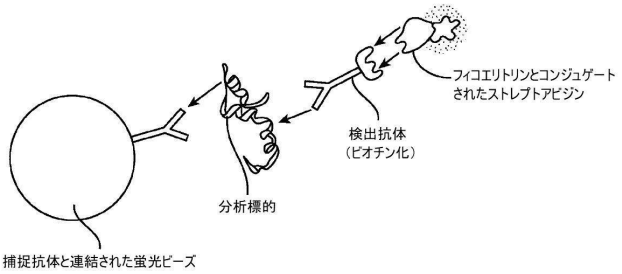

FIG. 16

【図１７】

	PEF (n=27[1])	対照 (n=6[1])
同意時の年齢の中央値 ± SD（範囲）	66 ± 6 (53-78)	68 ± 8 (55-79)
性別 (%)		
男性	21(78)	3(50)
女性	6(22)	3(50)
腫瘍の位置 (%)		
右肺	17(63)	5(83)
左肺	10(37)	1(17)
平均腫瘍サイズ[2] ± SD cm	2.6 ± 1.0 (n=22)	2.1 ± 0.8 (n=4)
PEF 送達／生検[3] アプローチ (%)		
経皮的	8(30)	0
管腔内	19(70)	4(67)[4]
PEF/生検[5] と手術の間の平均日数 ± SD（範囲）	21 ± 5 (14-42)	43 ± 13 (28-62)[4]
組織学 (%)		
腺癌	15(56)	2(33)
扁平上皮癌	4(15)	1(17)
その他[6]	2(7)	0(0)
未提供	6(22)	3(50)

FIG. 17

【図１８】

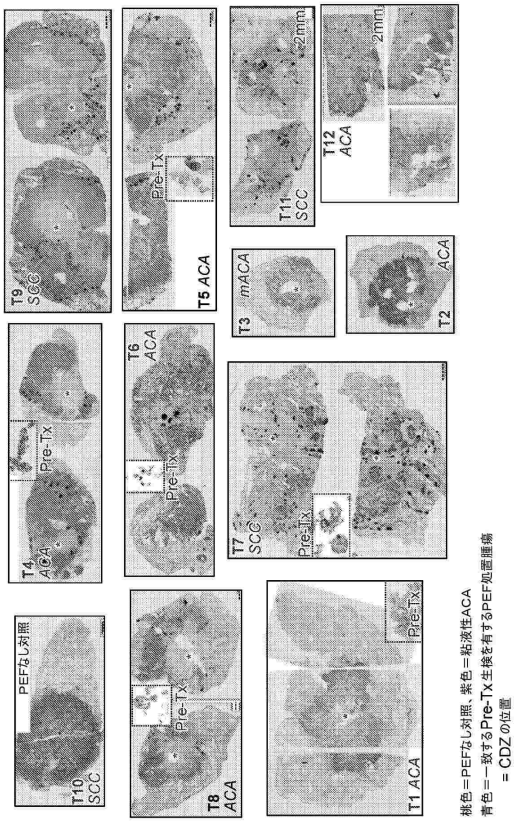

FIG. 18

【図１９Ａ】

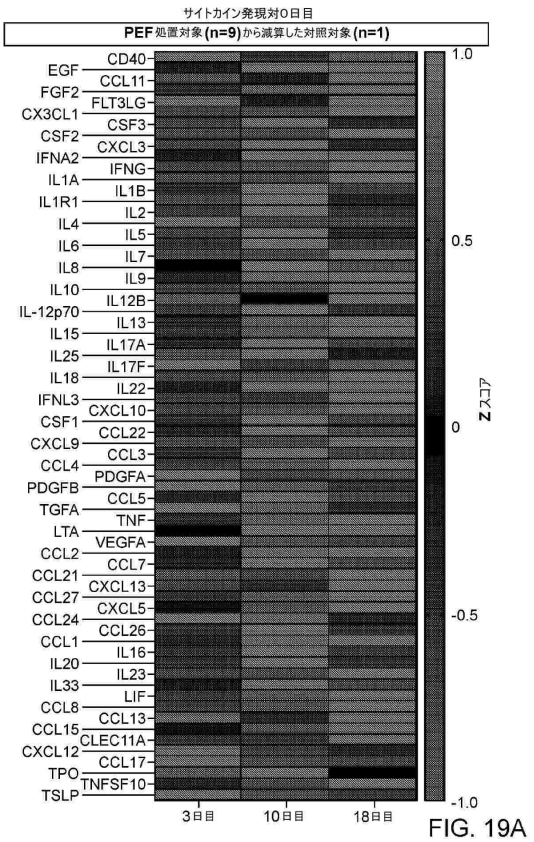

FIG. 19A

【図１９Ｂ】

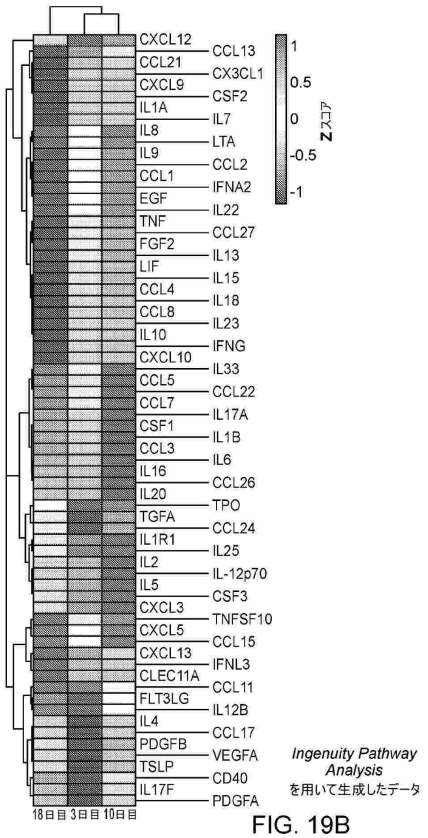

FIG. 19B

【図２０】

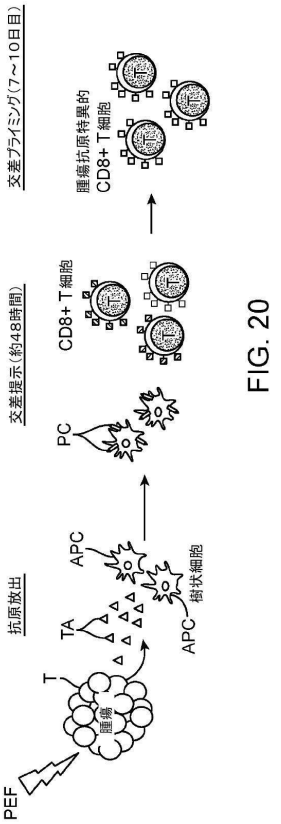

FIG. 20

【図２１】

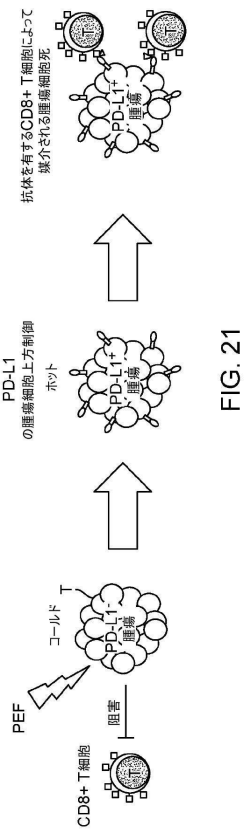

FIG. 21

【図２２】

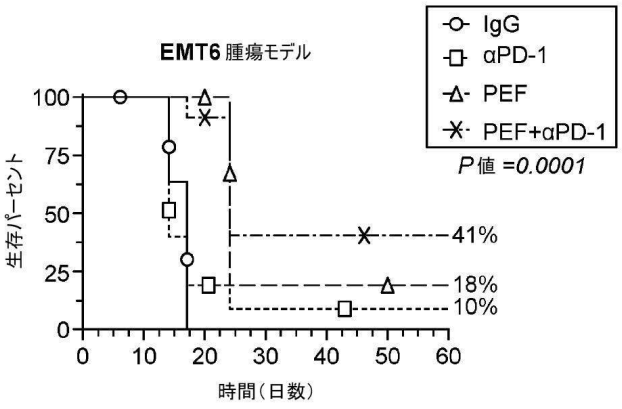

FIG. 22

【図２３】

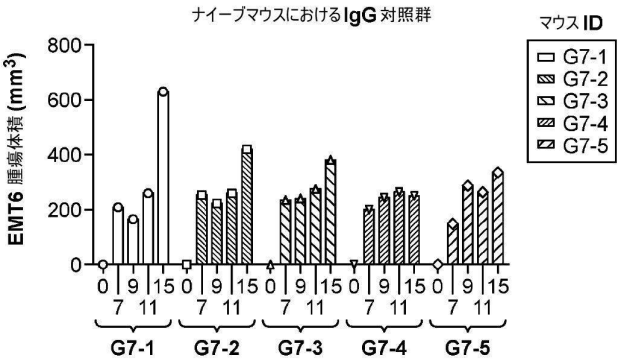

FIG. 23

【図２４】

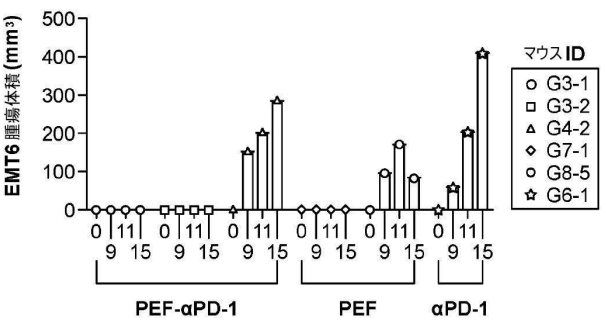

FIG. 24

【図２５Ａ】

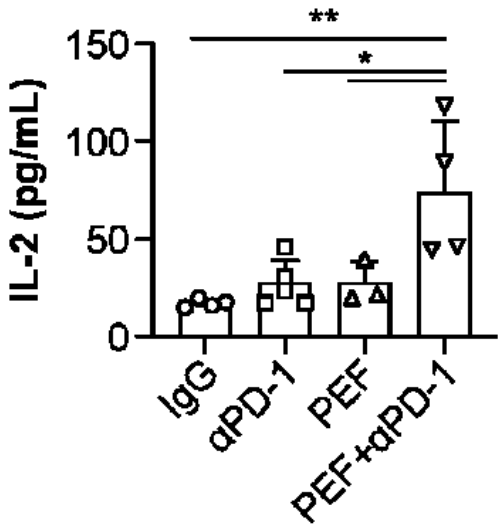

FIG. 25A

【図２５Ｂ】

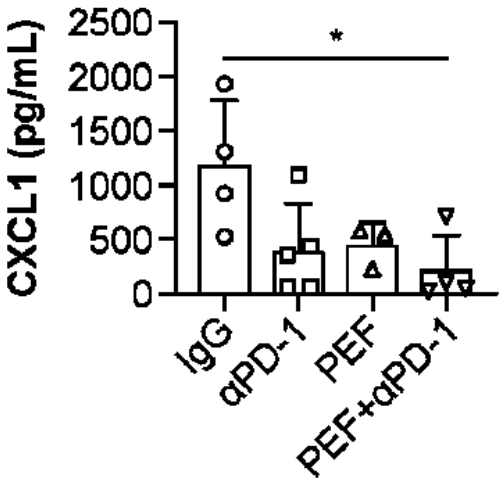

FIG. 25B

【図２５Ｃ】

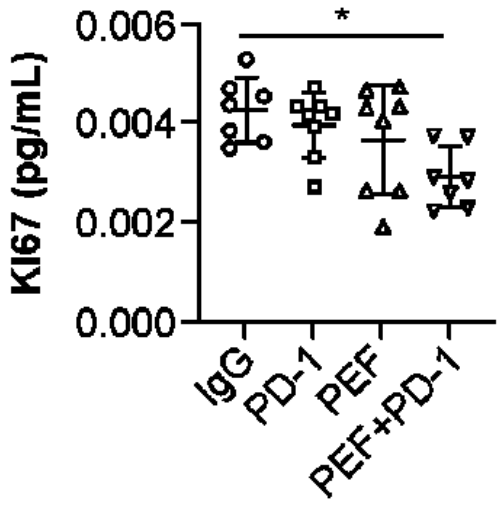

FIG. 25C

【図２５Ｄ】

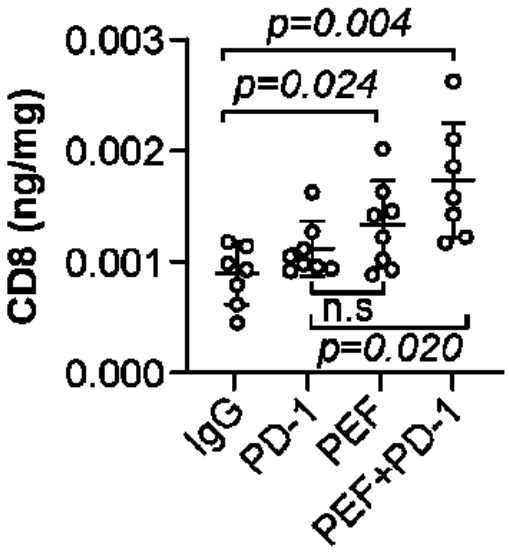

FIG. 25D

【図２６】

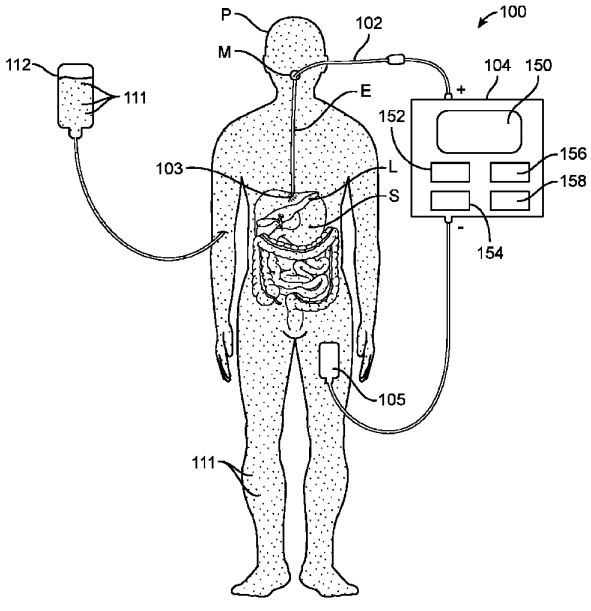

FIG. 26

【図２７Ａ】

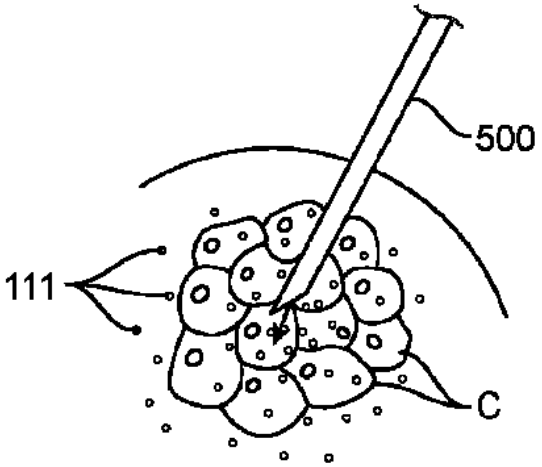

FIG. 27A

【図２７Ｂ】

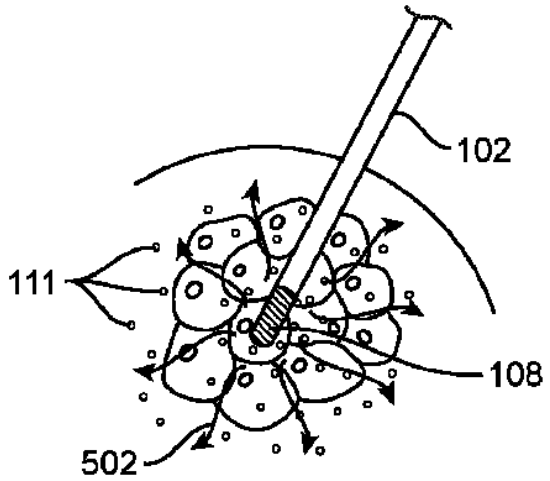

FIG. 27B

【図２８Ａ】

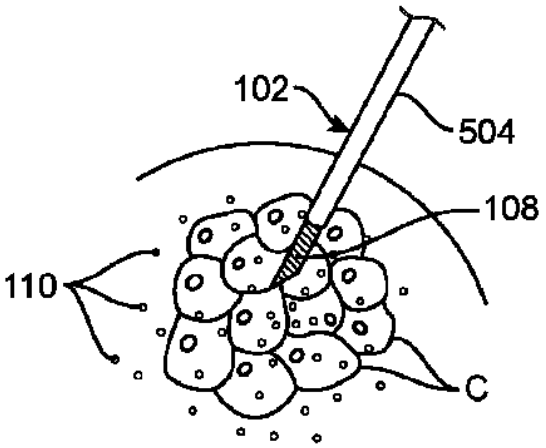

FIG. 28A

【図２８Ｂ】

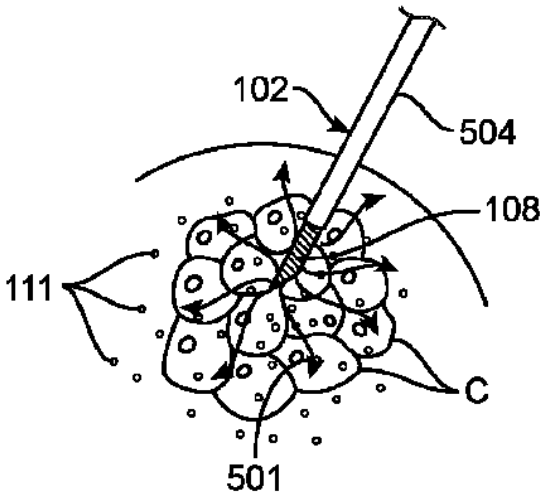

FIG. 28B

【図２９】

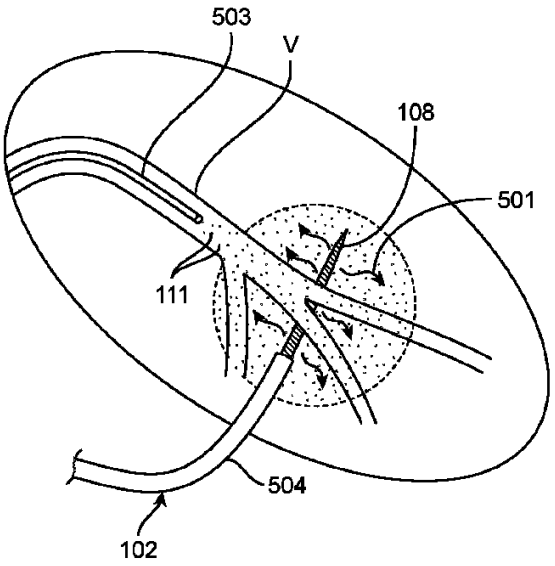

FIG. 29

【図３０】

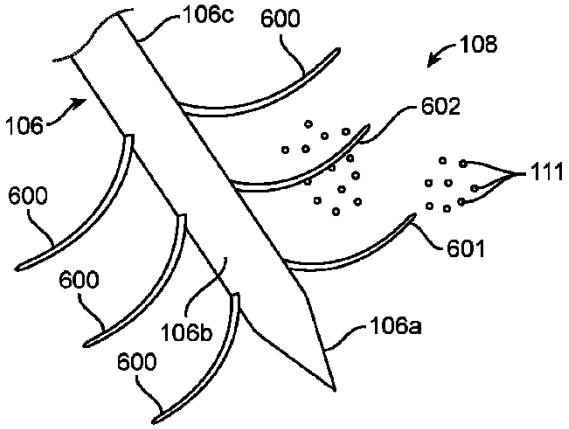

FIG. 30

【図３１】

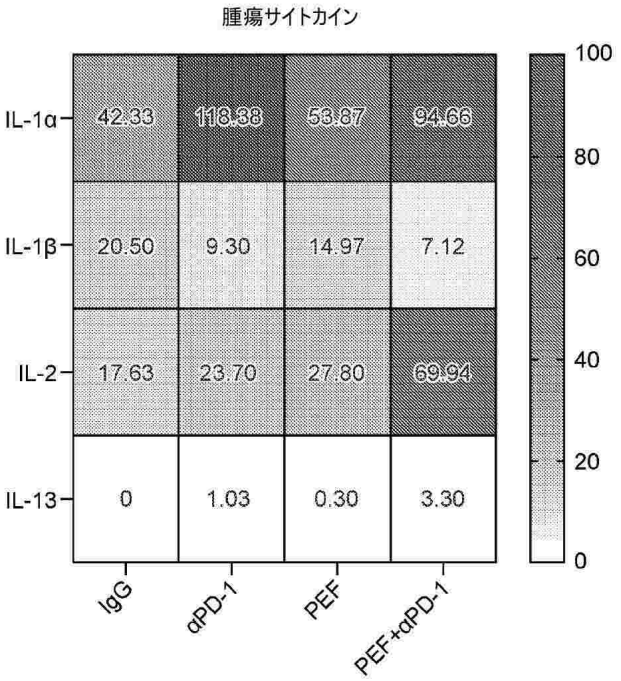

FIG. 31

【図３２Ａ】

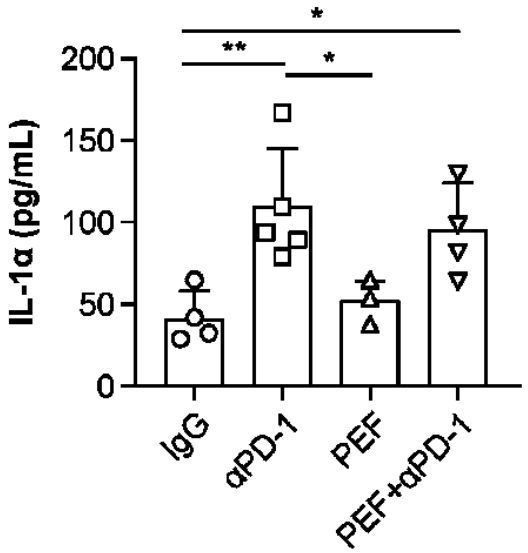

FIG. 32A

【図３２Ｂ】

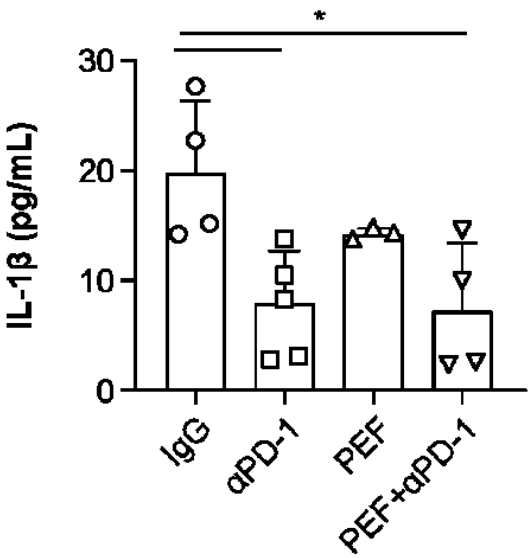

FIG. 32B

【図３２Ｃ】

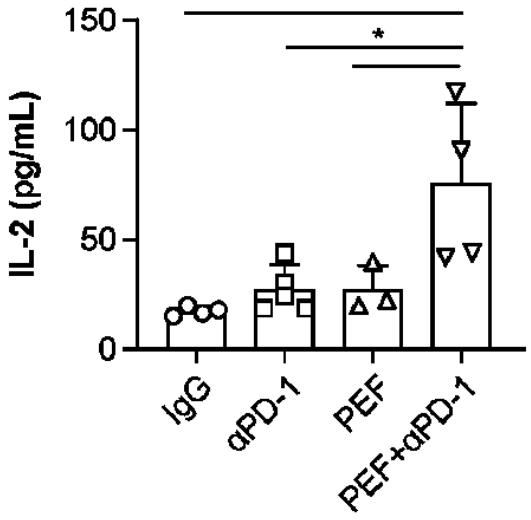

FIG. 32C

【図３２Ｄ】

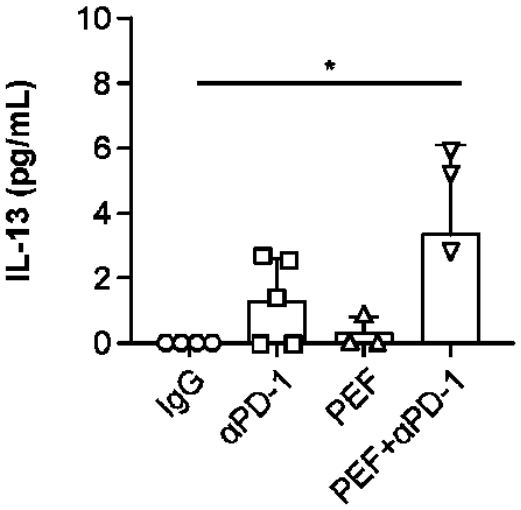

FIG. 32D

【図３３】

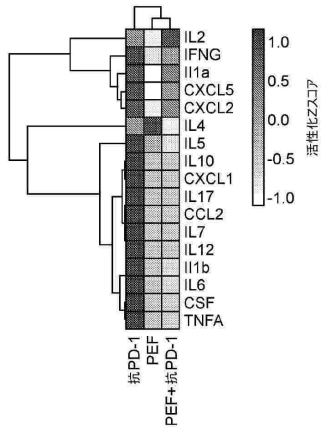

FIG. 33A

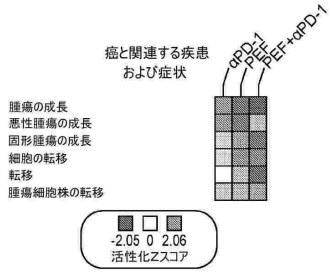

FIG. 33B

【図３４Ａ】

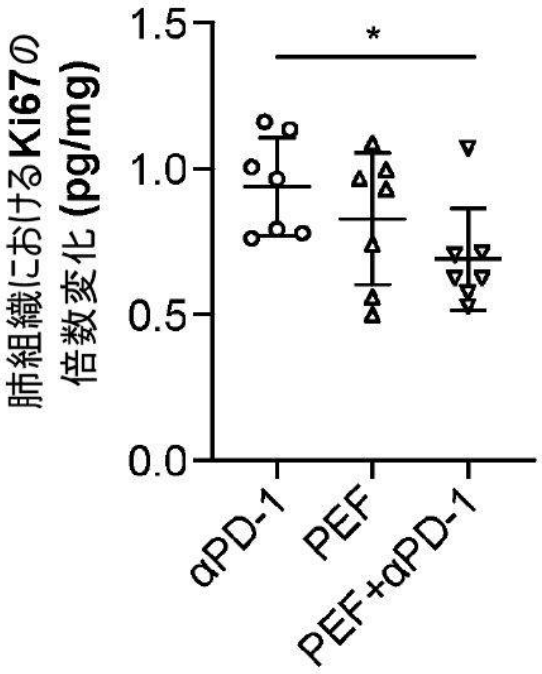

FIG. 34A

【図３４Ｂ】

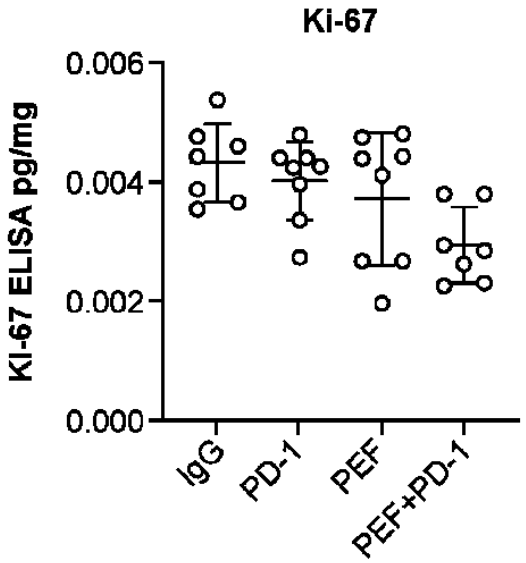

FIG. 34B

【図３４Ｃ】

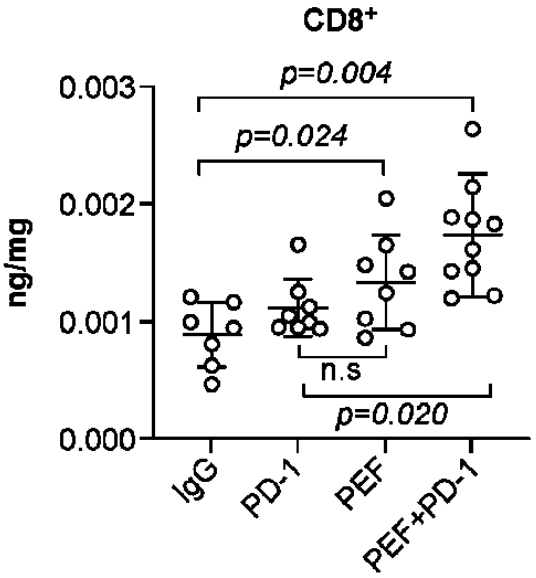

FIG. 34C

【図３５】

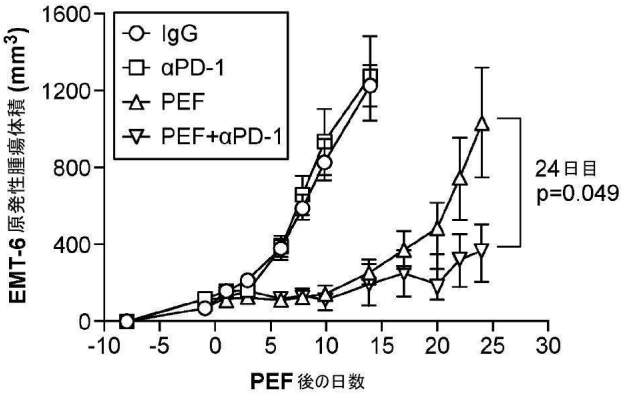

FIG. 35

【図３６】

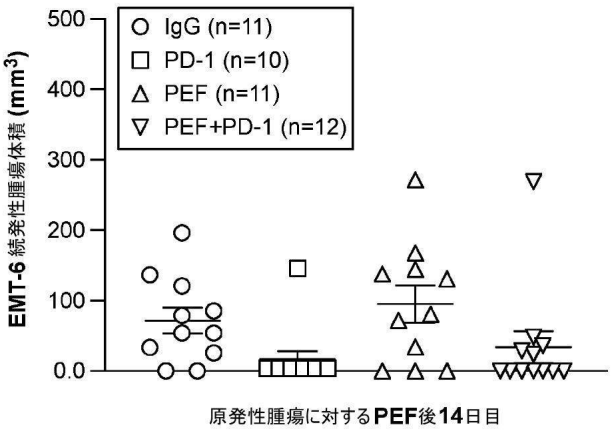

FIG. 36

【図３７】

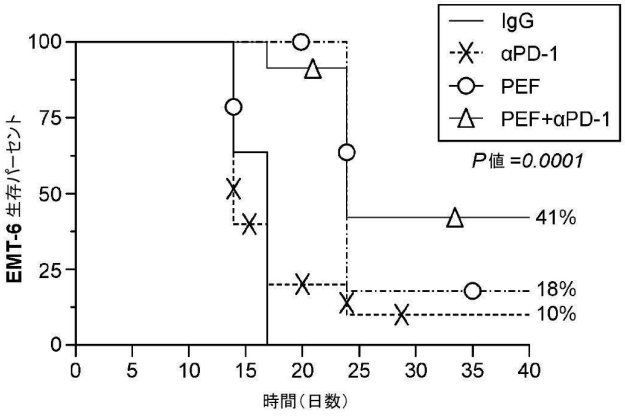

FIG. 37

【図３８】

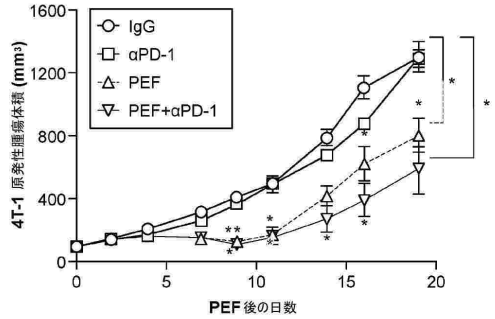

FIG. 38A

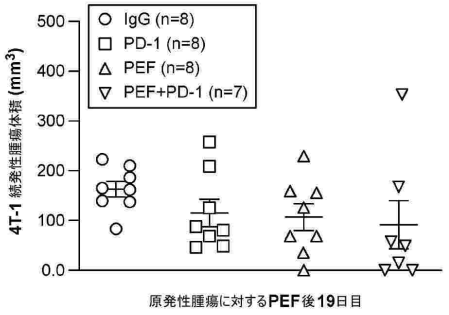

FIG. 38B

【図３９】

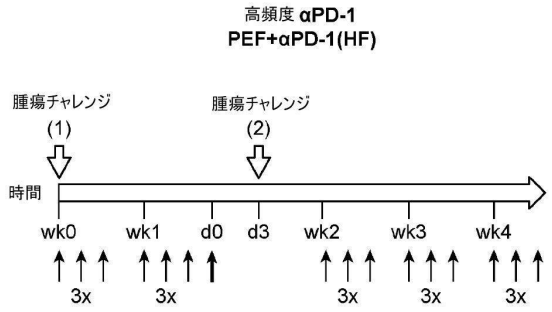

FIG. 39A

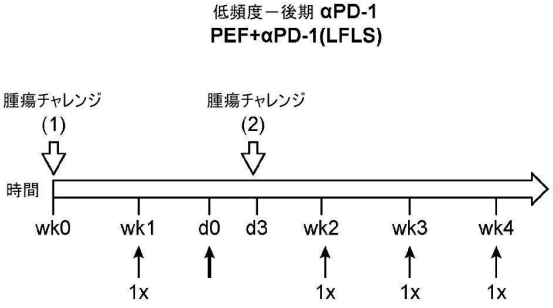

FIG. 39B

【図４０】

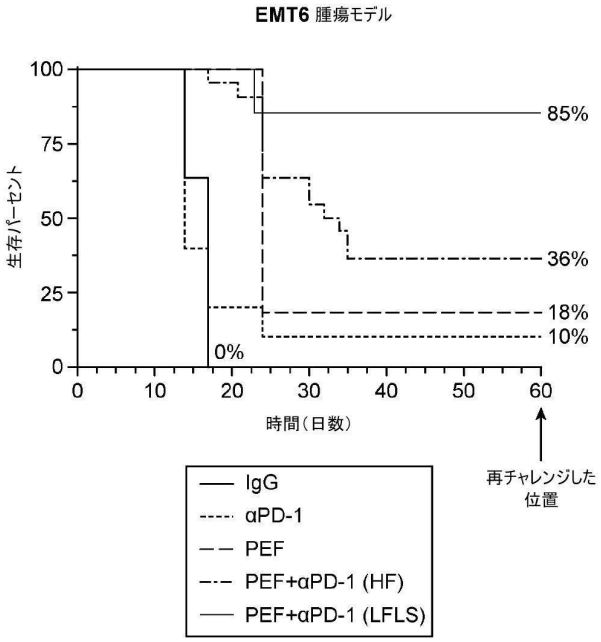

FIG. 40

【図４１】

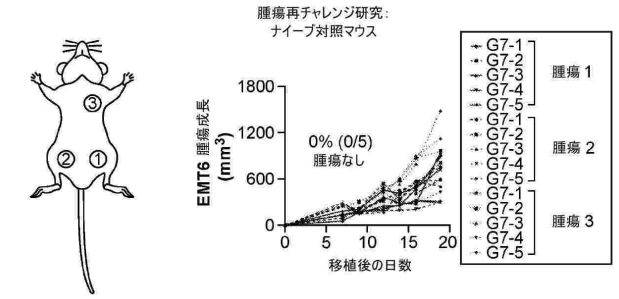

FIG. 41A

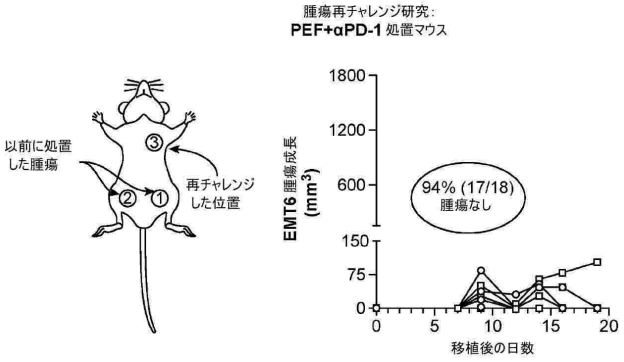

FIG. 41B

【図４２】

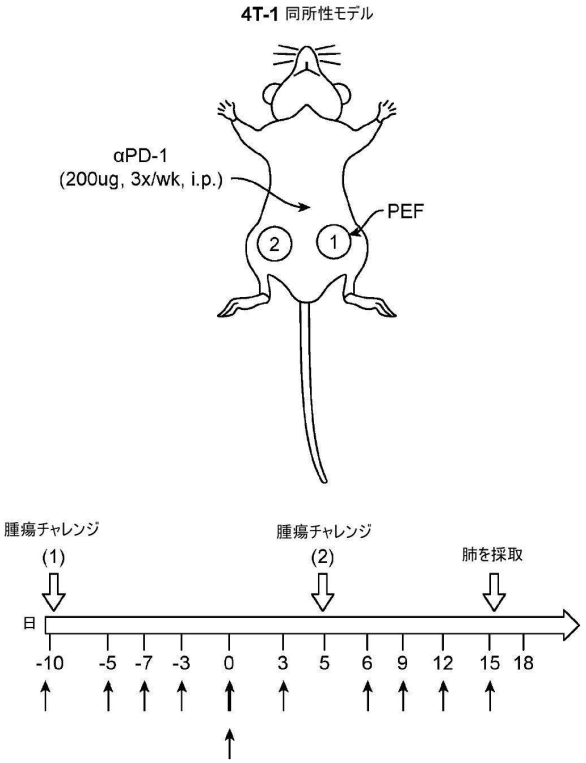

FIG. 42

【図４３】

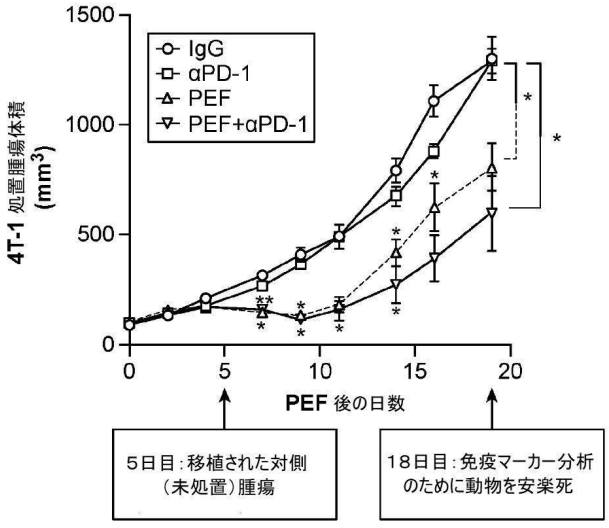

FIG. 43

【図４４】

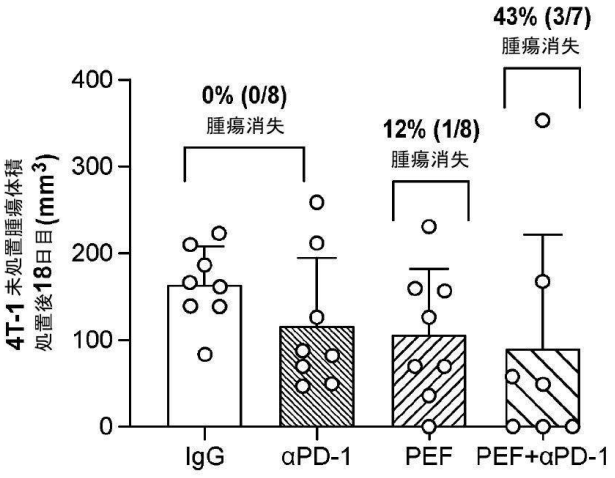

FIG. 44

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/044021

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - INV. - A61B 18/14 (2022.01)
ADD. - A61K 39/395 (2022.01)

CPC - INV. - A61B 18/1477 (2022.08)
ADD. - A61B 2018/00577; A61B 2018/00642; A61B 2018/00732 (2022.08)

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)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2021/108292 A1 (NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY) 03 June 2021 (03.06.2021) entire document	1-3, 7-13, 16, 17, 56-62
X	AU 2020200688 B2 (RFEMB HOLDINGS, LLC) 01 July 2021 (01.07.2021) entire document	40, 42-44, 53-55
Y		41
Y	WO 2020/215007 A1 (GALARY INC.) 22 October 2020 (22.10.2020) entire document	41
A	US 2019/0282294 A1 (DAVALOS et al) 19 September 2019 (19.09.2019) entire document	1-3, 7-13, 16, 17, 40-44, 53-62
A	US 2020/0398048 A1 (GALARY INC.) 24 December 2020 (24.12.2020) entire document	1-3, 7-13, 16, 17, 40-44, 53-62
A	US 10,779,887 B2 (MIRADRY, INC.) 22 September 2020 (22.09.2020) entire document	1-3, 7-13, 16, 17, 40-44, 53-62

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
03 December 2022	JAN 11 2023
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Taina Matos Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/044021

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

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.: 4-6, 14, 15, 18-39, 45-52
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*45/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		
Ａ６１Ｐ	*35/04 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/04		
Ａ６１Ｋ	*39/395 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｕ	

(32)優先日　令和4年3月22日(2022.3.22)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/351,562
(32)優先日　令和4年6月13日(2022.6.13)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁護士　山本 健策
(72)発明者　オブライエン， ティモシー ジェイ．
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０６５， レッドウッド シティ， ブリッジ パークウェイ ３２００
(72)発明者　クリムスキー， ウィリアム エス．
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０６５， レッドウッド シティ， ブリッジ パークウェイ ３２００
(72)発明者　シルヴェストリーニ， マシュー ティー．
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０６５， レッドウッド シティ， ブリッジ パークウェイ ３２００
(72)発明者　パストーリ， キアラ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０６５， レッドウッド シティ， ブリッジ パークウェイ ３２００
(72)発明者　ニール， ロバート イー． ザ セカンド
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０６５， レッドウッド シティ， ブリッジ パークウェイ ３２００
(72)発明者　ワルドストライカー， ジョナサン アール．
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０６５， レッドウッド シティ， ブリッジ パークウェイ ３２００

Ｆターム（参考）　4C084　AA17 NA05 ZB021 ZB022 ZB091 ZB092 ZB261 ZC751
4C085　AA14 BB11 EE01
4C160　KK03 KK20 MM32