



(21) 申請案號：111106374 (22) 申請日：中華民國 111 (2022) 年 02 月 22 日

(51) Int. Cl. : *A61M37/00 (2006.01)* *A61K48/00 (2006.01)*
C12N15/86 (2006.01) *A61P13/12 (2006.01)*

(30) 優先權：2021/02/22 美國 63/151,933
 2022/02/02 美國 63/305,960
 2022/02/20 美國 63/312,029

(71) 申請人：瑞士商迪納柯公司 (瑞士) DINAQOR AG (CH)
 瑞士

(72) 發明人：霍茲麥斯特 約翰納斯 HOLZMEISTER, JOHANNES (DE)；里科蒂 瓦萊利亞
 RICOTTI, VALERIA (IT)；德哈施天 馬克 DEHDASHTIAN, MARK (US)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：35 項 圖式數：24 共 91 頁

(54) 名稱

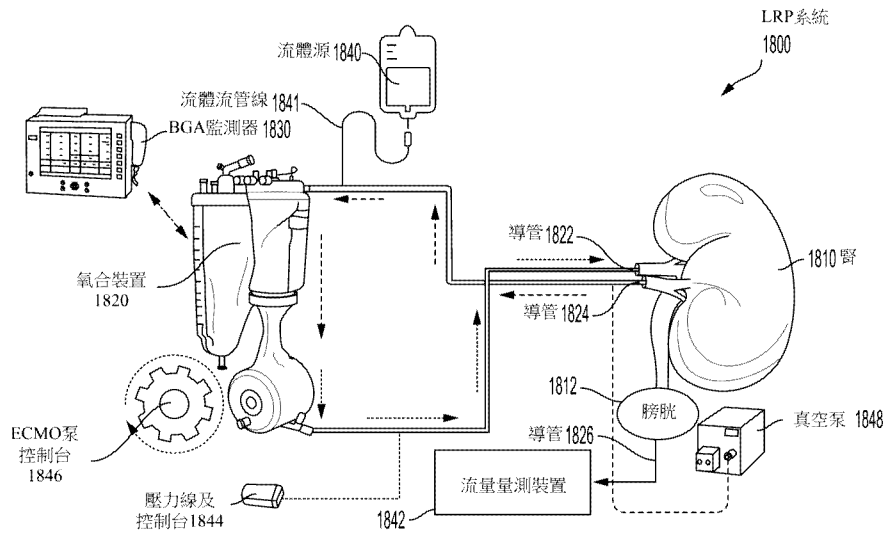
腎之局部區域(LOCO-REGIONAL)灌流

(57) 摘要

本發明揭示一種藉由患者之一個或兩個腎之局部區域(loco-regional)灌流來治療腎臟病況之方法。可用定位於該腎之腎動脈中的灌流導管、定位於該腎之腎靜脈中的回收導管及安置於其間之體外膜式氧合器形成閉合迴路。含有例如藥物之灌流液可經由該閉合迴路循環，同時將該閉合迴路自該患者之全身循環分離。

Disclosed is a method for treating a renal condition by loco-regional perfusion of one or both of a patient's kidneys. A closed circuit may be formed with a perfusion catheter positioned in the renal artery of the kidney, a recovery catheter positioned in the renal vein of the kidney, and an external membrane oxygenator disposed therebetween. A perfusate containing, for example, a drug may be circulated through the closed circuit while isolating the closed circuit from the patient's systemic circulation.

指定代表圖：



【圖18】

符號簡單說明：

1800:LRP 系統

1810:腎

1812:膀胱

1820:膜式氧合裝置

1822:第一導管

1824:第二導管

1826:第三導管

1830:血氣分析(BGA)
監測器

1840:流體源

1841:流體管線

1842:流量量測裝置

1844:壓力線及控制台

1846:ECMO 泵控制台

1848:真空泵

【發明摘要】

【中文發明名稱】

腎之局部區域(LOCO-REGIONAL)灌流

【英文發明名稱】

LOCO-REGIONAL PERFUSION OF A KIDNEY

【中文】

本發明揭示一種藉由患者之一個或兩個腎之局部區域(loco-regional)灌流來治療腎臟病況之方法。可用定位於該腎之腎動脈中的灌流導管、定位於該腎之腎靜脈中的回收導管及安置於其間之體外膜式氧合器形成閉合迴路。含有例如藥物之灌流液可經由該閉合迴路循環，同時將該閉合迴路自該患者之全身循環分離。

【英文】

Disclosed is a method for treating a renal condition by loco-regional perfusion of one or both of a patient's kidneys. A closed circuit may be formed with a perfusion catheter positioned in the renal artery of the kidney, a recovery catheter positioned in the renal vein of the kidney, and an external membrane oxygenator disposed therebetween. A perfusate containing, for example, a drug may be circulated through the closed circuit while isolating the closed circuit from the patient's systemic circulation.

【指定代表圖】

圖18

【代表圖之符號簡單說明】

- 1800:LRP系統
- 1810:腎
- 1812:膀胱
- 1820:膜式氧合裝置
- 1822:第一導管
- 1824:第二導管
- 1826:第三導管
- 1830:血氣分析(BGA)監測器
- 1840:流體源
- 1841:流體管線
- 1842:流量量測裝置
- 1844:壓力線及控制台
- 1846:ECMO泵控制台
- 1848:真空泵

【發明說明書】

【中文發明名稱】

腎之局部區域(LOCO-REGIONAL)灌流

【英文發明名稱】

LOCO-REGIONAL PERFUSION OF A KIDNEY

【技術領域】

【0001】 本發明係關於腎臟疾病之治療，且具體言之，關於將治療劑局部遞送至患者之腎。

【先前技術】

【0002】 基因療法及細胞療法技術由於可能唯一地定製且在解決各種腎臟病況之根本致病機制方面有效，而在諸如慢性腎病之類各種腎臟病況之治療中吸引了廣泛關注。儘管如此，仍存在與遞送相關之問題，包括載體效率、劑量、特異性及安全性。因此，需要進一步研究實現適於治療各種腎臟病況之藥物之較高靶向性、均勻遞送的方式，該等方式亦有效，具有良好耐受性且具有極小侵襲性。

【發明內容】

【0003】 本發明的一個目標係提供以最小侵襲性之方式將藥物灌流於患者之一個或兩個腎臟中的方法。

【0004】 本發明的一個目標係提供用於使灌流液(其可含有血液或藥物中之一或多者)循環穿過患者之一個或兩個腎以使得該灌流液自該患者之全身循環分離的方法。

【0005】 本發明的一個目標係提供醫藥-基因療法(pharmaco-gene therapy)之局部區域遞送。

【0006】 本發明的一個目標係減少遞送給患者以治療腎臟病況之藥物的總體劑量。

【0007】 本發明的一個目標係減小投與適於治療腎臟病況之藥物的風險及/或不良免疫反應。

【0008】 本發明的一個目標係允許將醫藥-基因療法藥物再給予及/或給予患者，該等患者具有例如針對基因療法載體之中和抗體，否則其將不適合作為接受此類藥物之候選者。

【0009】 本發明的一個目標係使灌流液循環穿過腎且將腎臟循環自患者之全身循環分離以便允許將可能有腎毒性之藥物引入全身循環中，同時防止或減少該藥物暴露於腎。

【0010】 本發明的一個目標係治療腎臟病況，諸如常染色體顯性多囊性腎病及腎消耗病。

【0011】 本發明的一個目標係提供局部區域遞送醫藥-基因療法以治療基因突變，諸如*PKD2*及*NPHP1*基因之突變。

【0012】 以上目標及其他目標係藉由本發明實現，在某些實施例中，本發明係關於一種將藥物灌流於患者之一個或兩個腎中的方法。在一個態樣中，一種方法包含：將灌流導管定位於腎之腎動脈中；將回收導管定位於腎之腎靜脈中，由此使得該灌流導管及該回收導管連同膜式氧合裝置一起形成穿過該腎之閉合灌流迴路；及使灌流液流過該閉合迴路。在一些實施例中，該閉合迴路將穿過該腎之灌流自該患者之全身循環分離。

【0013】 在一些實施例中，該方法進一步包含：將回收球囊導管定位於該患者之膀胱中以量測在灌流期間之尿液排泄量。

【0014】 在一些實施例中，該方法進一步包含：將額外回收導管定

位於該患者之兩個輸尿管中的每一個中以有差異地量測該患者之兩個腎的排泄量。

【0015】 在一些實施例中，將該灌流導管定位於該腎動脈中包含經由股動脈定位該灌流導管。

【0016】 在一些實施例中，將該回收導管定位於該腎靜脈中包含經由股靜脈定位該灌流導管。

【0017】 在一些實施例中，使灌流液流過閉合迴路包含：在灌流液經由灌流導管進入腎動脈之前，使灌流液通過膜式氧合裝置。在一些實施例中，該方法進一步包含將額外灌流液添加至該閉合迴路中或藉由約5%至約50% v/v之鹽水溶液稀釋灌流液以計算膀胱排泄體積。

【0018】 在一些實施例中，該閉合迴路將該灌流液之流動速率在每個腎約500 mL/min/1.73 m²體表面積至每個腎約650 mL/min/1.73 m²體表面積維持約15分鐘至約4小時。

【0019】 在一些實施例中，該方法進一步包含在該回收導管處施加負壓，使得該負壓在約-100 mmHg至0 mmHg範圍內。

【0020】 在一些實施例中，該灌流導管及該回收導管中之一或多者係經皮引入。

【0021】 在一些實施例中，該灌流液包含自體血液、來自供體之相配血液或其組合。

【0022】 在一些實施例中，血液組分係根據一或多個參數選擇，由此使該一或多個參數包含存在或不存在所選抗體。

【0023】 在一些實施例中，該灌流維持約15分鐘、30分鐘、45分鐘、1小時、2小時、3小時、4小時或在其間界定之任何範圍內的持續時

間。

【0024】 在一些實施例中，該灌流液包含治療性聚核苷酸序列。在一些實施例中，該治療性聚核苷酸序列係存在於一或多個病毒載體中。在一些實施例中，該一或多個病毒載體係選自由以下組成之群：腺相關病毒、腺病毒、反轉錄病毒、單純疱疹病毒、牛乳頭狀瘤病毒、慢病毒載體、牛痘病毒、多瘤病毒、仙台病毒(sendai virus)、正黏液病毒、副黏液病毒、乳多泡病毒、微小RNA病毒、痘病毒、 α 病毒、其變異體及其組合。在一些實施例中，該病毒載體係腺相關病毒(AAV)。在一些實施例中，該AAV係以下一或多種：AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、其變異體及其組合。在一些實施例中，該治療性聚核苷酸序列包含啟動子。

【0025】 在一些實施例中，經由該閉合迴路循環之血液中小於約20% v/v、小於約15% v/v、小於約10% v/v、小於約5% v/v、小於約4% v/v、小於約3% v/v、小於約2% v/v、小於約1% v/v、小於約0.5% v/v或實質上不會(0% v/v)漏出該閉合迴路之外。

【0026】 在一些實施例中，經由該閉合迴路循環之灌流液中小於約20% v/v、小於約15% v/v、小於約10% v/v、小於約5% v/v、小於約4% v/v、小於約3% v/v、小於約2% v/v、小於約1% v/v、小於約0.5% v/v或實質上不會(0% v/v)漏出該閉合迴路之外。

【0027】 在一些實施例中，該灌流導管或該回收導管中之一或多者係球囊導管。

【0028】 在另一態樣中，一種方法包含：將灌流導管定位於腎之腎動脈中；將回收導管定位於腎之腎靜脈中，由此使得該灌流導管及該回收

導管連同膜式氧合裝置一起形成穿過該腎之閉合灌流迴路；及使氧合血液流過該閉合迴路，由此使該閉合迴路將該腎自該患者之全身循環分離。在一些實施例中，該方法進一步包含將腎毒性藥物引入患者之全身循環中。在一些實施例中，腎毒性藥物對腎之暴露相較於在無閉合迴路下投與腎毒性藥物存在之情形得到防止或減少。

【0029】 在另一態樣中，當與患者之腎以流體方式耦合時執行該腎之局部區域灌流的系統包含：適合於插入該腎之腎動脈中的灌流導管；適合於插入該腎之腎靜脈中的回收導管；膜式氧合裝置，其以流體方式耦合至該灌流導管、該回收導管及氧氣源，由此使得當將該灌流導管插入該腎動脈中且將該回收導管插入該腎靜脈中時，該灌流導管、該回收導管及該膜式氧合裝置一起形成穿過該腎之閉合迴路，將該腎自該患者之全身循環分離；及經構形用於驅動流體流穿過該灌流導管及該回收導管之泵。

【0030】 在一些實施例中，該系統進一步包含適合於插入該患者之膀胱中以量測在灌流期間之尿液排泄量的回收球囊導管。

【0031】 在一些實施例中，該系統進一步包含適合於插入該患者之兩個輸尿管中的每一個中以有差異地量測該患者之兩個腎之排泄量的額外回收導管。

【0032】 在一些實施例中，該膜式氧合裝置包含經構形用於在灌流期間將藥物注入該閉合迴路中的儲槽。

【0033】 在一些實施例中，該系統適合於將穿過該閉合迴路之灌流液之流動速率在每個腎約500 mL/min/1.73 m²體表面積至每個腎約650 mL/min/1.73 m²體表面積維持約15分鐘至約4小時。

【0034】 在另一態樣中，用於執行患者之腎之局部區域灌流的系統

包含：插入腎之腎動脈中的灌流導管；插入腎之腎靜脈中的回收導管；及膜式氧合裝置，其以流體方式耦合至該灌流導管、該回收導管及氧氣源，由此使得該灌流導管、該回收導管及該膜式氧合裝置連同腎一起形成穿過該腎之閉合迴路，將該腎自該患者之全身循環分離；及經構形用於驅動流體流經由灌流導管進入腎中且經由該回收導管離開腎的泵。

【0035】 在一些實施例中，該系統進一步包含：插入該患者之膀胱中以量測在灌流期間之尿液排泄量的回收球囊導管。

【0036】 在一些實施例中，該系統進一步包含：插入該患者之兩個輸尿管中的每一個中以有差異地量測該患者之兩個腎之排泄量的額外回收導管。

【0037】 在一些實施例中，該膜式氧合裝置包含經構形用於在灌流期間將藥物注入該閉合迴路中的儲槽。

【0038】 在一些實施例中，該系統適合於將穿過該閉合迴路之灌流液之流動速率在每個腎約500 mL/min/1.73 m²體表面積至每個腎約650 mL/min/1.73 m²體表面積維持約15分鐘至約4小時。

【0039】 在另一態樣中，任何前述系統之系統經構形用於執行任何前述方法之方法。

【0040】 以上目標及其他目標進一步藉由本發明滿足，在某些實施例中，本發明係關於經構形用於執行任何前述方法的局部區域灌流系統。

【圖式簡單說明】

【0041】 在結合隨附圖式考慮以下實施方式後，本發明之以上及其他特徵、其性質及各種優勢將變得更顯而易見，其中：

【0042】 圖1示出根據至少一個實施例的具有單一球囊結構之第一

例示性回收導管的示意圖；

【0043】 圖2係根據該第一例示性回收導管之一個實施例製造的回收導管之像片；

【0044】 圖3示出根據至少一個實施例的第一例示性回收導管之佈置；

【0045】 圖4示出根據至少一個實施例的具有單一球囊結構之第二例示性回收導管的佈置；

【0046】 圖5示出根據至少一個實施例的各自具有單一球囊結構之第三例示性回收導管及第四例示性回收導管的佈置；

【0047】 圖6示出根據至少一個實施例的具有單一球囊結構之第五例示性回收導管及不具有球囊結構之第六例示性回收導管的佈置；

【0048】 圖7示出根據至少一個實施例的具有多個球囊結構之第七例示性回收導管的佈置；

【0049】 圖8示出根據至少一個實施例的具有經部分覆蓋且可收回之支架結構之第八例示性回收導管的佈置；

【0050】 圖9示出根據至少一個實施例的具有可展開且可回縮之支架結構以及球囊結構的第九例示性回收導管之佈置；

【0051】 圖10示出根據至少一個實施例的具有經覆蓋之盤狀支架結構之第十例示性回收導管的佈置；

【0052】 圖11A係根據至少一個實施例的具有單一球囊結構之第一例示性灌流導管的示意圖；

【0053】 圖11B係根據至少一個實施例的呈擴張狀態之第一例示性灌流導管之球囊結構的示意圖；

【0054】 圖11C係根據至少一個實施例的呈回縮狀態之第一例示性灌流導管之球囊結構的示意圖；

【0055】 圖12A係根據至少一個實施例的具有遠端管塞之第二例示性灌流導管的示意圖；

【0056】 圖12B係根據至少一個實施例的第二例示性灌流導管之管塞的示意圖；

【0057】 圖12C係根據至少一個實施例的呈延伸狀態之第二例示性灌流導管之管塞的示意圖；

【0058】 圖13A係根據至少一個實施例的具有遠端楔形件之第三例示性灌流導管的示意圖；

【0059】 圖13B係根據至少一個實施例的第三例示性灌流導管之楔形件的示意圖；

【0060】 圖13C係根據至少一個實施例的呈延伸狀態之第三例示性灌流導管之遠端的另一示意圖；

【0061】 圖14A示出根據至少一個實施例的具有經部分覆蓋且可收回之支架結構之第四例示性灌流導管的佈置；

【0062】 圖14B示出根據至少一個實施例的呈回縮狀態之第四例示性灌流導管之支架結構；

【0063】 圖14C示出根據至少一個實施例的呈展開狀態之第四例示性灌流導管的支架結構；

【0064】 圖15A示出根據至少一個實施例的具有可脫離之經覆蓋編織盤之第五例示性灌流導管的佈置；

【0065】 圖15B示出根據至少一個實施例的呈展開狀態之第五例示

性灌流導管的編織盤；

【0066】 圖16A係根據至少一個實施例的具有逐漸變細之管腔軸之第六例示性灌流導管的示意圖；

【0067】 圖16B示出根據至少一個實施例的第六例示性灌流導管之佈置；

【0068】 圖16C示出根據至少一個實施例的第六例示性灌流導管之預成形管腔軸；

【0069】 圖17示出根據各個實施例的例示性導管之例示性預成型管腔軸；

【0070】 圖18描繪根據本發明之實施例的例示性局部區域灌流系統；

【0071】 圖19係根據本發明之實施例的例示性局部區域灌流裝置之示意圖；

【0072】 圖20包括顯示豬腎之腎動脈及腎靜脈中動脈及靜脈導管各自之置放的放射線像片；

【0073】 圖21係顯示在根據本發明之實施例執行60分鐘之腎LRP之後之腎轉導及生物分佈情況的圖；

【0074】 圖22A顯示在用高載體基因體劑量進行60分鐘腎LRP程序期間之各個時間點量測的每毫升血漿之載體基因體數；

【0075】 圖22B顯示在用低載體基因體劑量進行45分鐘腎LRP程序期間之各個時間點量測的每毫升血漿之載體基因體數；

【0076】 圖23A係在腎LRP治療兩種不同動物後若干天之C3a含量的曲線圖；

【0077】 圖23B係在各種樣本稀釋度下之轉導抑制百分比的曲線圖；

【0078】 圖24A係在腎LRP期間之流動速率的圖；及

【0079】 圖24B係在腎LRP期間之泵速度的圖。

【實施方式】

相關申請案之交叉引用

【0080】 本申請案主張2022年2月20日申請之美國臨時專利申請案第63/312,029號、2022年2月2日申請之美國臨時專利申請案第63/305,960號及2021年2月22日申請之美國臨時專利申請案第63/151,933號的優先權，其揭示內容特此以全文引用的方式併入本文中。

定義

【0081】 除非上下文另外明確指出，否則如本文所使用，單數形式「一(a/an)」及「該(the)」包括複數個參考物。因此，舉例而言，提及「藥物」包括單一藥物以及兩種或多於兩種不同藥物之混合物；且提及「病毒載體」包括單一病毒載體以及兩種或多於兩種不同病毒載體之混合物，及其類似情形。

【0082】 又，如本文所使用，當結合量測之量使用時，「約」係指如一般熟習此項技術者所預期的使量測及操作與量測之目標及量測設備之精確度在所關心之水準上相稱的該量測之量的正常變化。在某些實施例中，術語「約」包括所述數值 $\pm 10\%$ ，由此「約10」將包括9至11。

【0083】 又，如本文所使用，「聚核苷酸」具有其在此項技術中之普通且慣用之含義且包括任何聚合核酸，諸如DNA或RNA分子，以及熟習此項技術者已知之化學衍生物。聚核苷酸不僅包括編碼治療蛋白之聚核

苷酸，且亦包括可用於使用此項技術中已知之技術減少目標核酸序列之表現的序列(例如反義、干擾或小干擾核酸)。聚核苷酸亦可用於起始或增加心血管系統之細胞內目標核酸序列之表現或目標蛋白質之產生。目標核酸及蛋白質包括但不限於通常見於目標組織中之核酸及蛋白質、此類天然存在之核酸或蛋白質的衍生物、並非通常見於目標組織中的天然存在之核酸或蛋白質、或合成核酸或蛋白質。一或多種聚核苷酸可組合使用，同時及/或依次投與，以增加及/或減少一或多種目標核酸序列或蛋白質。

【0084】 又，如本文所使用，「灌流(perfusion/perfused/perfusing)」具有其在此項技術中之普通且慣用的含義，且係指實質上長於技術公認之術語「注射」或「推注注射」(通常小於一分鐘)之時間段(通常為一分鐘或更長時間)的投與。灌流之流動速率將至少部分取決於所投與之體積。

【0085】 又，如本文所使用，「外源」核酸或基因係自然界中不存在於用於核酸轉移之載體中的核酸；例如非天然存在於病毒載體中的核酸，但該術語不意欲排除編碼天然存在於患者或宿主中之蛋白質或多肽的核酸。

【0086】 又，如本文所使用，「腎臟細胞」包括參與維持腎結構或提供腎功能之任何腎細胞。

【0087】 又，如本文所使用，「分離」、「實質上分離」、「在很大程度上分離」及其變化形式係不需要腎臟或全身循環之完全或絕對分離的術語；實際上，其欲意謂指定循環之大部分、較佳地主要部分或甚至是實質上全部經分離。又，如本文所使用，「部分地分離」係指指定循環之任何重要部分經分離。

【0088】 又，如本文所使用，「非天然限制」包括限制穿過血管之流體流動的任何方法，例如球囊導管、縫合等，但不包括天然存在之限制，例如斑塊堆積(狹窄)。非天然限制包括例如腎臟循環之實質性或完全分離。

【0089】 又，如本文所使用，「最小侵襲性」意欲包括不需要開放腎或與腎緊密相連之血管之手術通路的任何程序。此類程序包括使用內窺鏡檢方式進入腎，以及使用依賴於經由大動脈及靜脈進入的基於導管之方式。

【0090】 又，如本文所使用，「腺相關病毒」或「AAV」涵蓋所有亞型、血清型及假型，以及天然存在之形式及重組形式。多種AAV血清型及病毒株係此項技術中已知的且可公開得自多種來源，諸如ATCC，及學術或商業來源。或者，可使用已知技術合成公開及/或得自多種資料庫的來自AAV血清型及病毒株之序列。

【0091】 又，如本文所使用，「血清型」係指基於與確定之抗血清具反應性之衣殼蛋白鑑別並與其他AAV相區別的AAV。存在至少十二種已知血清型之人類AAV，包括AAV1至AAV12，但仍不斷發現另外的血清型，且考慮使用新發現之血清型。

【0092】 又，如本文所使用，「假型」AAV係指含有來自一種血清型之衣殼蛋白及病毒基因體的AAV，該病毒基因體包括不同或異源血清型之5'及3'反向末端重複序列(ITR)。預期假型重組AAV (rAAV)將具有衣殼血清型之細胞表面結合特性及與ITR血清型一致之遺傳特性。假型rAAV可包含AAV衣殼蛋白，包括VP1、VP2及VP3衣殼蛋白；及來自任何血清型AAV，包括來自AAV1至AAV12之任何靈長類動物AAV血清型之ITR，

只要衣殼蛋白為與ITR之血清型異源的血清型即可。在假型rAAV中，5'及3' ITR可為相同或異源的。假型rAAV係使用此項技術中所描述之標準技術產生。

【0093】 又，如本文所使用，「嵌合」rAAV載體涵蓋包含異源衣殼蛋白之AAV載體；亦即，rAAV載體關於其衣殼蛋白VP1、VP2及VP3可為嵌合的，由此使得VP1、VP2及VP3並非皆屬於相同血清型AAV。如本文所使用，嵌合AAV涵蓋這樣的AAV，其中衣殼蛋白VP1、VP2及VP3在血清型方面不同，包括例如但不限於來自AAV1及AAV2之衣殼蛋白；為其他細小病毒衣殼蛋白之混合物或包含其他病毒蛋白或其他蛋白質，諸如將AAV靶向遞送至所希望細胞或組織之蛋白質。如本文所使用，嵌合rAAV亦涵蓋包含嵌合5'及3' ITR之rAAV。

【0094】 又，如本文所使用，「醫藥學上可接受之賦形劑或載劑」係指組合物中與調配物中之活性劑組合的任何惰性成分。醫藥學上可接受之賦形劑可包括但不限於碳水化合物(諸如葡萄糖、蔗糖或聚葡萄糖)、抗氧化劑(諸如抗壞血酸或麩胱甘肽)、螯合劑、低分子量蛋白質、高分子量聚合物、膠凝劑或其他穩定劑及添加劑。其他醫藥學上可接受之載劑的實例包括潤濕劑、乳化劑、分散劑或特別適用於防止微生物生長或作用之防腐劑。各種防腐劑係熟知的且包括例如苯酚及抗壞血酸。載劑、穩定劑或佐劑之實例可見於 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 第17版. (1985)。

【0095】 又，如本文所使用，「患者」係指呈現一或多種提示治療需求之特定症狀之臨床表現、經歷針對病況之預防性治療、或已診斷患有待治療之病況的個體，特別是人類(但亦可涵蓋非人類)。

【0096】 又，如本文所使用，「個體」涵蓋術語「患者」之定義且不排除在其他方面健康之個體。

【0097】 又，如本文所使用，「治療(treatment of/treating)」包括投與藥物以旨在降低病況，例如腎臟病況或腎臟疾病之嚴重程度；或預防病況，例如腎臟病況或腎臟疾病。

【0098】 又，如本文所使用，「預防(prevention of/preventing)」包括避免病況，例如腎臟病況或腎臟疾病之發生。

【0099】 又，如本文所使用，「病況(condition/conditions)」係指可藉由向個體投與有效量之藥物治療、減輕或預防的醫學病況，諸如腎臟疾病。

【0100】 又，如本文所使用，「有效量」係指足以產生可藉由常用於偵測有益或所希望效果之方法容易地偵測的水準之此類效果的藥物之量。在一些實施例中，此類效果引起相對於未投與藥物之基礎水準之值至少10%之變化。在其他實施例中，該變化係相對於基礎水準之至少20%、50%、80%或甚至更高百分比。如下文將描述，藥物之有效量可取決於個體之年齡、一般狀況、所治療病況之嚴重程度、所投與之特定藥物及其類似因素，隨各個體而變化。在任何個別情況下適當之「有效」量可由一般熟習此項技術者參考相關文本及文獻及/或藉由使用常規實驗來確定。

【0101】 又，如本文所使用，「活性劑」係指預期會產生治療、預防或其他預期效果之任何物質，無論其是否被政府機構批准用於該目的。

【0102】 除非本文另外指示，否則本文中之值之範圍的敘述僅意欲充當個別地提及在該範圍內之每一單獨值的簡寫方法，且每一單獨值併入本說明書中，如同在本文中個別地敘述一般。除非本文另外指明或與上下

文明顯矛盾，否則本文所描述之所有方法可以任何適合之順序進行。本文所提供之任何及所有實例或例示性語言(例如「諸如」)之使用僅意欲說明某些物質及方法且不對範圍造成限制。本說明書之語言均不應解釋為指示任何非主張之要素對於所揭示之物質及方法之實踐為必不可少的。

【0103】 本發明之某些實施例係關於以最小侵襲性方式治療腎臟病況之系統及方法。本發明之某些其他實施例係關於使用最小侵襲性經皮遞送系統將AAV器官選擇性遞送至腎。一種例示性方法方法可包含將患者之腎臟循環自患者之全身循環分離並將流體，諸如含藥物流體灌流至患者的經分離或實質上分離之腎臟循環中。該灌流可在一個或兩個腎中執行，且可用於遞送一或多種藥物，包括但不限於基因療法載體、胞外體、奈米顆粒、抗體、化學療法等，同時不會使全身循環且因此其他器官暴露於一或多種所選藥物。該等方法亦可用於分離腎臟循環以允許將例如腎毒性藥物投與患者之全身循環，以便保護腎免受不良作用影響。下文將參照圖18及圖19更詳細地描述患者腎臟循環之分離。

【0104】 可藉由本文所揭示之方法治療的腎臟病況或疾病可包括但不限於腎消耗病，特別是由*NPHP1*基因之常染色體隱性突變引起的腎消耗病；以及常染色體顯性多囊性腎病，特別是由*PKD2*基因之單倍劑量不足引起的常染色體顯性多囊性腎病。腎消耗病係一種常染色體隱性腎病，會導致末期腎衰竭。最常見形式係由*NPHP1*之突變，最常見地雙對偶基因缺失引起(Hildebrandt, F.等人, *Nature Genetics*, 第17卷, 149-153, 1997; Saunier, S.等人, *Human Molecular Genetics*, 第6卷, 第13號, 2317-2323, 1997)。*NPHP1*基因產生有733個胺基酸之蛋白質，即腎囊腫素(nephrocystin)-1(2199個鹼基長的cDNA)，其位於腎上皮細胞之黏附連

接及黏著斑處，可用AAV載體化。經審慎考慮，將腎囊腫素-1取代至目標組織可緩解或醫治1型腎消耗病。

【0105】 常染色體顯性多囊性腎病(ADPKD)的發病率為每1000名個體中有1名，且此等患病個體中有約15%係由PKD2蛋白質突變引起。PKD2係有968個胺基酸之多肽，且為侷限於纖毛之整合膜蛋白質。主要致病機制係單倍劑量不足(Veldhuisen, B.等人, *American Journal of Human Genetics*, 第61頁, 547-555, 1997)。經審慎考慮，藉由AAV介導之基因療法補充PKD2蛋白質含量可緩解ADPKD。

【0106】 藉由全身投與重組AAV載體轉導實體器官具有挑戰性，因為其需要高劑量且導致嚴重不良事件(SAE)，特別是肝毒性及血栓性微血管病。某些實施例係關於能夠進行實體器官之選擇性灌流的局部區域遞送及灌流系統。該等實施例展示，在不涉及排出至全身循環中的情況下，將AAV載體靶向遞送至一個或兩個腎係可能的。

【0107】 為展示本文所描述之實施例的功效，呈AAV血清反應陰性之成年家豬(約90 kg)之左腎動脈及靜脈經由頸內靜脈及股動脈通路經皮插管。為了將腎自全身循環分離，使用每隻動物自身之肝素化血液填裝(灌流液)來建立閉環，且使用體外膜式氧合(ECMO)系統起始局部區域灌流(LRP)。將具有CMV-EGFP轉殖基因卡匣之AAV載體注入閉環LRP系統中並執行腎之局部區域灌流至多2小時。縱向收集血液樣本進行安全評估，並在該程序之前、期間及之後執行載體滴定及免疫評定(例如補體活化、抗AAV抗體)。在該程序完成後，將含載體灌流液抽出，並移除導管。將動物評定2週，隨後對其實施安樂死並收集用於組織處理。使用定量PCR (qPCR)偵測載體基因體之存在，且藉由qPCR、西方墨點法

(Western blot)及免疫組織化學評定轉殖基因表現。該程序在所有動物中均取得成功且未出現圍手術期併發症。動物迅速恢復，且無腎臟損傷或損害之任何臨床徵象。載體濃度在整個程序中的閉環灌流液中始終較高且穩定，且無與全身循環或尿液相關之漏出。AAV顆粒均勻分佈於經治療之腎臟組織中。綠色螢光蛋白(GFP)在經灌流之腎中均勻地表現。在未治療的對側腎、肝或其他器官中未偵測到載體。抗AAV中和抗體相較於基線僅略有增加且未偵測到補體活化。下文將更詳細地論述其他測試。

【0108】 在一些實施例中，該系統包括動脈通路導管，其可例如經由股動脈插入且以適於對腎進行灌流及氧合之流動速率密封於腎動脈內，保持該程序之持續時間，對於70成年人通常為每個腎500-600 mL/min (或1000-1200 mL/1.73 m²)。在一些實施例中，該系統包括靜脈回收導管，其可例如經由股靜脈插入且以適於靜脈流回收之流動速率密封於腎靜脈內。在一些實施例中，該系統包括體外膜式氧合器系統，其將來自腎之靜脈血流以流體方式連接至腎之動脈血流，且能夠使靜脈血氧合。

【0109】 在一些實施例中，該系統包括一或多個額外接取管線，以允許藥物投與或流體添加。在一些實施例中，可將球囊導管插入患者之膀胱中以量測在該程序期間之尿液排泄量。在其他實施例中，將個別輸尿管導管置放於兩個輸尿管中之每一個中以有差異地量測兩個腎之排泄量。在一些實施例中，該系統適合於替代由於膀胱排泄而損失的灌流液之流體體積。舉例而言，在一些實施例中，可使用額外灌流液(例如血液)及/或其他生理上可接受溶液(例如血漿或鹽水溶液)替代約5% v/v至約50% v/v的損失之灌流液體積以計算膀胱排泄量。

【0110】 在一些實施例中，該系統及方法允許用目標藥物進行一個

腎之局部區域灌流，持續諸如15分鐘、30分鐘、45分鐘、一小時、2小時、3小時、4小時或其間界定之任何範圍。在一些實施例中，該系統及方法允許在使全身循環及其他器官不暴露或極少暴露於藥物之情況下，使藥物選擇性靶向一個腎或兩個腎。在一些實施例中，可使用基因療法藥物治療腎臟病況，該基因療法藥物可利用病毒載體(例如腺相關病毒)、裸或經囊封DNA或RNA分子、合成DNA或RNA類似物(例如反義)。在一些實施例中，可使用化學療法靶向腎臟腫瘤。在一些實施例中，可使用其他藥物或生物製劑/抗體。在一些實施例中，可使用前述藥物之組合。

【0111】 當治療腎臟病況時，將患者之腎臟循環自患者之全身循環分離有許多優點。此等優點包括但不限於：(1)藥物之局部區域遞送、藥物極少漏出至其他器官及總體藥物劑量減少；(2)目標藥物劑量增加；(3)風險及副作用減少；及(4)對選定患者再給藥或對並非某些療法之適合療法候選者之患者群(諸如將利用病毒載體之基因療法用於具有針對該等病毒載體之抗體的患者)給藥的可能性。

例示性導管實施例

【0112】 現描述例示性回收導管及灌流導管。一般熟習此項技術者應瞭解，該等導管可經構形用於欲執行LRP之任何目標器官(例如腎)的解剖結構。另外，應理解，描述為「回收導管」之導管中的任一者亦可用作「灌流導管」，且反之亦然。本文所描述之實施例不限於腎之LRP，而且亦可用於將腎循環自全身循環分離，例如以減少或防止腎暴露於引入全身循環中的可能對腎具有害影響之藥物或其他藥劑。一般熟習此項技術者應瞭解本文所描述之導管實施例的其他用途，例如用於希望密封血管之應用中。

【0113】 現描述在LRP系統中用作回收導管之例示性導管的實施例。在至少一個實施例中，回收導管係設計成支持約400 mL/min或更高(例如約700 mL/min或更高)之液體抽吸流動速率。舉例而言，在某些實施例中，例示性導管在約-80 mmHg下可支持約800 mL/min之活體外抽吸流動速率。

【0114】 圖1至圖10描繪LRP系統中適於流體回收之各種導管實施例。圖1至圖10中所描繪之導管中的任一者可經構形用於支持至少約400 mL/min、至少約450 mL/min、至少約500 mL/min、至少約550 mL/min、至少約600 mL/min、至少約650 mL/min、至少約700 mL/min、至少約750 mL/min、至少約800 mL/min、至少約850 mL/min、至少約900 mL/min、至少約950 mL/min或至少約1000 mL/min之液體流動速率(抽吸或灌流)。每個導管皆可與可控式導引鞘相容，該導引鞘提供穩定性且引導該導管之遠端，並允許該導管產生定向推力。每個導管亦可具有整合至其軸總成中之牽引線，以允許在閉塞結構近端之區段彎曲至多120°之角度且實現閉塞結構之較佳追蹤及定中心。

【0115】 在某些實施例中，一或多個導管可為多管腔導管，諸如雙管腔導管。在某些實施例中，該等多管腔導管允許液體流動(例如灌流液)且能夠使一或多個球囊膨脹。在某些實施例中，一或多個導管可為具有兩個或多於兩個球囊之多球囊導管。在某些實施例中，一或多個球囊可獨立地展開或收縮。

【0116】 圖1示出具有管腔軸104/106之例示性導管100，該導管具有近端101及遠端102。管腔軸104/106可由外部管腔軸104形成，該外部管腔軸至少部分地包圍內部管腔軸106而暴露內部管腔軸106接近遠端102

之遠端部分。近端101包括出口結構，其可以流體方式耦合至LRP系統。外部管腔軸104或內部管腔軸106中之一或多者可由耐用聚合物材料，諸如聚醚嵌段醯胺(PEBA)材料(例如可以PEBAX®商購)形成。在至少一個實施例中，內部管腔軸106之最內部直徑(「內徑」)係至少約4 mm，以提供液體流動路徑。在至少一個實施例中，導管100可設計成包括額外管腔軸。

【0117】 導管100包括在遠端102處之頂端部分108及沿內部管腔軸106之一部分112安置的可擴張球囊結構110。在至少一個實施例中，頂端部分108包括自球囊結構110延伸至遠端102之細長軸。在至少一個實施例中，該頂端部分之細長軸的長度係約2 mm至約35 mm、約5 mm至約30 mm、約10 mm至約25 mm、約15 mm至25 mm或在其間界定之任何子範圍(例如約2 mm至約5 mm)內。在至少一個實施例中，頂端部分108包括在遠端102處之開口及沿該細長軸之一或多個穿孔。在至少一個實施例中，頂端部分係由柔性材料形成，該柔性材料之可撓性要高於內部管腔軸106之材料。

【0118】 在至少一個實施例中，內部管腔軸106包括在液體流動路徑周圍之同心內部流動路徑。該同心內部流動路徑提供氣體自球囊結構110流至孔口114之路徑，其可根據在孔口114處施加之壓力而用於使球囊膨脹或收縮。在至少一個實施例中，在部分112處的內部管腔軸106之最外表面經移除以使得該部分112被球囊結構110密封以分離自同心內部流動路徑至球囊結構110之氣體流動。在至少一個實施例中，球囊結構之擴張直徑係約15 mm至約30 mm、約15 mm至約20 mm、約20 mm至約25 mm、約24 mm至約28 mm或約25 mm至約30 mm。

【0119】圖2係結構類似於導管100的具有呈展開狀態之球囊之導管的圖像。該導管之尺寸包括：19 Fr (6.3 mm)之通過外徑(crossing profile)；12 Fr (4.0 mm)之最內部直徑；80 cm之可用長度；25 mm之球囊直徑(當展開時)；及20 mm之頂端部分長度。管腔軸可由聚合物材料諸如PEBAX® 63形成，其係由強不鏽鋼編織物支撐。球囊可由柔性熱塑性/彈性材料，諸如ChronoPrene™ 25A形成。頂端部分可由聚合物材料諸如PEBAX® 35形成且可裝載有放射性標記物或不透射線之填充劑組合物，諸如BaSO₄。

【0120】圖3示出根據至少一個實施例，例示性導管300經由較大血管或腔室350 (在本文中稱為「血管」)插入血管352中。在所描繪之解剖結構中，來自血管352及354之血流排出至血管350中。導管300可與導管100相同或類似，具有近端301、遠端302、內部管腔軸304、外部管腔軸306、頂端部分308及安置於內部管腔軸304之一部分312上的球囊結構310。球囊結構310當展開時，具有足夠柔性以適合血管352之解剖結構並閉塞穿過血管352進入血管350中之血流，同時不會對組織產生過量力。如圖3中所示，導管300被插入越過血管354，以避免自血管354流至血管350中之流動閉塞。

【0121】應注意，血管或腔室350、血管352及血管354分別說明心臟之右心房、冠狀竇及中心臟靜脈之解剖結構，以說明可利用例示性導管的各種類型之閉塞技術。然而，其在本文中被稱為普通血管，應理解，本文所描述之任何導管的佈置可適合於待執行LRP或閉塞之目標器官(例如腎)之具體解剖結構。舉例而言，血管350及血管352可分別對應於腎之下腔靜脈及腎靜脈(不存在血管354)。

【0122】圖4至圖10示出根據本發明之各個實施例的其他閉塞技術。圖4至圖10中所描繪之導管在某些態樣中可與圖1至圖3中所描繪之導管類似，例如尺寸、材料或結構。

【0123】圖4示出根據至少一個實施例之導管400，該導管僅部分插入血管352中，以使得其鄰接血管352之孔。導管400包括近端401、遠端402、內部管腔軸404、外部管腔軸406、頂端部分408及安置於內部管腔軸404之一部分412上的球囊結構410。在至少一個實施例中，當展開時，球囊結構410之直徑大於約15 mm、大於約20 mm、大於約25 mm或大於約30 mm。頂端部分408除包括在遠端402處之開口外，亦可包括一或多個穿孔，以便於血液自血管352及血管354流至導管400中。

【0124】在至少一個實施例中，在展開期間，外部管腔軸406可向遠端移動以鄰接展開之球囊結構410，使得球囊結構410對血管352之孔產生附加壓力，以使導管400之位置進一步穩定。在至少另一個實施例中，可利用線結構對球囊結構410施加壓力。線結構例如可具有正弦曲線形狀，其可佈置成自外部管腔軸406或內部管腔軸404徑向延伸的擴張之花狀結構。當與球囊結構410接觸時，線結構可在球囊結構410之整個表面上產生較均勻的壓力分佈。在佈置之前，線結構可經外部管腔軸406覆蓋，或可經在外部管腔軸406之外的額外管腔覆蓋。

【0125】圖5示出根據至少一個實施例，使用第一導管500及第二導管550分別單獨地閉塞及排空血管352及血管354。第一導管500包括近端501、遠端502、管腔軸504、頂端部分508及安置於管腔軸504之一部分512上的球囊結構510。類似地，第二導管550包括近端551、遠端552、管腔軸554、頂端部分558及安置於管腔軸554之一部分562上的球囊結構

560。在此構形中，第一導管500被插入血管352中以使得球囊結構510不閉塞血管354，而第二導管550直接插入血管354中。選擇的第一導管500及第二導管550之尺寸可分別提供血管352及血管354之安全且有效的閉塞。

【0126】圖6示出圖5之變化形式，其使用兩個導管，其中僅一個具有根據至少一個實施例的球囊結構。第一導管600包括近端601、遠端602、管腔軸604、頂端部分608及安置於管腔軸604之一部分612上的球囊結構610。第二導管650包括近端651、遠端652、管腔軸654及頂端部分658，且不包括球囊結構。第一導管600被插入血管352中，以使得球囊結構610之一部分閉塞血管354且部分地在血管350及血管352內。第二導管650直接插入血管354中且安置於血管壁與球囊結構610之間，至少部分地閉塞血管354。

【0127】圖7示出根據至少一個實施例使用單個導管700，該導管包括多個球囊。導管700包括近端701、遠端702、管腔軸704、頂端部分708、安置於管腔軸704之第一部分712上的第一球囊結構710及安置於管腔軸704之第二部分722上的第二球囊結構720。在至少一個實施例中，導管700係設計用於插入血管352中，以使得第一球囊結構710閉塞血管352，且第二球囊結構720鄰接血管352之孔以閉塞血管354（且進一步閉塞血管352）。在第一球囊結構710與第二球囊結構720之間的管腔軸704之中間部分724包括允許血管354排空之一或多個穿孔。在至少一個實施例中，第二球囊結構720之擴張直徑大於第一球囊結構710之擴張直徑。在至少一個實施例中，導管700係設計成允許各球囊彼此獨立地展開及收縮的多管腔導管。

【0128】圖8示出根據至少一個實施例的導管800，該導管包括經部分覆蓋且可收回之支架結構810。導管800包括近端801及遠端802、耦合至支架結構810之內部管腔軸804、及外部管腔軸806。外部管腔軸806之部分係以剖視圖描繪以示出其內之內部管腔軸804。支架結構810係以其展開狀態描繪，但在展開之前可包含在外部管腔軸806內。支架結構810進一步描繪為具有可由可撓性且耐用之聚合物材料形成的近端經覆蓋部分810A，及遠端未覆蓋部分810B。當插入血管352中時，如所示，經覆蓋部分810A閉塞自血管352流出之血流，而未覆蓋部分810B在血管352內提供結構支撐，同時允許來自血管352及血管354之血流直接流入導管800中。在至少一個實施例中，導管800可用作連接至供給管線之灌流導管。

【0129】圖9示出根據至少一個實施例之導管900，其包括可展開且可回縮之支架結構920。導管900進一步包括近端901、遠端902、管腔軸906、頂端部分908及安置於管腔軸906之一部分912上的球囊結構910。導管900可進一步包括外部管腔軸(未示出)，其在展開之前實質上包封支架結構920及球囊結構910。支架結構920之展開可藉由在近端方向上移動外部管腔軸執行，且支架結構920之回縮可藉由在遠端方向上移動外部管腔軸執行。支架結構920可由例如不鏽鋼形成，且安置在球囊結構910與頂端部分908之間。在至少一個實施例中，管腔軸906沿在球囊結構910與支架結構920之間的部分922包含至少一個穿孔以允許血管354排出至導管900中。當插入血管352中時，球囊結構910鄰接血管352之孔。

【0130】圖10示出根據至少一個實施例的導管1000，其包括經覆蓋的盤狀支架結構1010。導管1000進一步包括近端1001、遠端1002、外部管腔軸1006、內部管腔軸1004及頂端部分1008。支架結構1010可由例如

具有耐用聚合物覆蓋物之不鏽鋼支架形成。在支架結構1010展開之前，外部管腔軸1006可覆蓋該支架結構。在導管1000正確地定位後，外部管腔軸1006即可在近端方向上移動以便能展開支架結構1010。在至少一個實施例中，支架結構1010耦合至頂端部分1008，其可部分包含在內部管腔軸1004內，且可為可致動的(使用線)以在近端方向上移動時展開支架結構1010，且在遠端方向上移動時回縮支架結構1010。在至少一個實施例中，支架結構1010當展開時足夠大以在鄰接血管352之孔時閉塞血管352及血管354。在至少一個實施例中，支架結構1010之直徑係約10 mm至約30 mm。

【0131】 現描述在LRP系統中用作灌流導管之例示性導管的實施例。在至少一個實施例中，灌流導管係設計成支持約400 mL/min或更高(例如約700 mL/min或更高)之液體灌流流動速率。在利用多個灌流導管之實施例中，其可支持700 mL/min或更高之組合流量容量。

【0132】 圖11至圖16描繪LRP系統中適於流體灌流之各種導管實施例。圖11至圖16中所描繪之導管中的任一個可經構形用於支持至少約400 mL/min、至少約450 mL/min、至少約500 mL/min、至少約550 mL/min、至少約600 mL/min、至少約650 mL/min、至少約700 mL/min、至少約750 mL/min、至少約800 mL/min、至少約850 mL/min、至少約900 mL/min、至少約950 mL/min或至少約1000 mL/min之液體流動速率(抽吸或灌流)。每個導管均可設計成具有自近端導管體至下部遠端型態的平滑型態，例如使用一或多個同心管腔軸。此外，導管可設計成具有管腔軸，該等管腔軸根據待執行LRP程序之解剖結構而預成形，此可改善在使用期間的總體穩定性。

【0133】 在某些實施例中，一或多個導管可為多管腔導管，諸如雙管腔導管。在某些實施例中，該等多管腔導管允許液體流動(例如灌流液)且能夠使一或多個球囊膨脹。在某些實施例中，一或多個導管可為具有兩個或多於兩個球囊之多球囊導管。在某些實施例中，一或多個球囊可獨立地展開或收縮。

【0134】 圖11A至圖11C示出具有管腔軸1104/1106之例示性導管1100，該導管具有近端1101及遠端1102，該遠端具有開口，灌流液可自該開口流出。管腔軸1104/1106可由外部管腔軸1104形成，該外部管腔軸至少部分地包圍內部管腔軸1106而暴露內部管腔軸1106接近遠端1102之遠端部分。近端1101包括出口結構，其可以流體方式耦合至LRP系統。外部管腔軸1104或內部管腔軸1106中之一或多者可由耐用聚合物材料，諸如聚醚嵌段醯胺(PEBA)材料(例如可以PEBAX®商購)形成。在至少一個實施例中，內部管腔軸1106之最內部直徑係至少約2 mm、至少約2.5 mm、至少約3 mm、至少約3.5 mm、至少約4 mm、至少約4.5 mm或至少約5 mm，以提供液體流動路徑。

【0135】 導管1100包括沿對應於內部管腔軸1106之一部分1112安置的可擴張球囊結構1110及由額外管腔形成之頂端部分。在至少一個實施例中，內部管腔軸1106包括在液體流動路徑周圍之同心內部流動路徑。該同心內部流動路徑提供氣體自球囊結構1110流至孔口1114之路徑，其可根據在該孔口1114處施加之壓力而用於使球囊結構1110膨脹或收縮。在至少一個實施例中，在部分1112處的內部管腔軸1106之最外表面經移除以使得該部分1112被球囊結構1110密封以分離自同心內部流動路徑至球囊結構1110之氣體流動。在至少一個實施例中，球囊結構1110之擴張直徑

係約15 mm至約30 mm、約15 mm至約20 mm、約20 mm至約25 mm、約24 mm至約28 mm、約25 mm至約30 mm或在其間界定之任何子範圍(例如約20 mm至約28 mm)內。圖11B及圖11C示出呈展開及收縮狀態之球囊結構1110。

【0136】 圖12及圖13分別示出包括管塞及楔形件閉塞結構之導管，該等閉塞結構有利地使其形狀適合血管或孔，由高度可壓縮且非創傷性材料形成以便安全引入及佈置，具有比球囊結構要短的長度，且不像球囊結構一般需要額外管腔進行膨脹。

【0137】 圖12A至圖12C示出具有管腔軸1204/1206之例示性導管1200，該導管具有近端1201及遠端1202，該遠端具有開口，灌流液可自該開口流出。管腔軸1204/1206可由外部管腔軸1204形成，該外部管腔軸至少部分地包圍內部管腔軸1206而暴露內部管腔軸1206接近遠端1202之遠端部分。近端1201包括出口結構，其可以流體方式耦合至LRP系統。外部管腔軸1204或內部管腔軸1206中之一或多者可由耐用聚合物材料，諸如聚醚嵌段醯胺(PEBA)材料(例如可以PEBAX®商購)形成。在至少一個實施例中，內部管腔軸1206之最內部直徑係至少約2 mm、至少約2.5 mm、至少約3 mm、至少約3.5 mm、至少約4 mm、至少約4.5 mm或至少約5 mm，以提供液體流動路徑。

【0138】 導管1200進一步包括接近遠端1202之管塞1210。在至少一個實施例中，管塞1210係由可撓性材料，諸如聚矽氧或發泡材料形成。在至少一個實施例中，管塞1210包括配合至內部管腔軸1206上之內部部分1210A及成形為可在回縮狀態(圖12A)與延伸狀態(圖12C)之間構形的可撓性外部部分1210B，對於該延伸狀態，外部部分1210B自遠端1202向遠

端延伸。圖12A中之管塞1210示為在遠端方向上逐漸變細。在至少一個實施例中，管塞1210可反向以使其在近端方向上逐漸變細。在至少一個實施例中，在管塞1210展開之前，外部管腔軸1204可經構形以覆蓋該管塞。當用作灌流導管時，流入在管塞1210的內部部分1210A與外部部分1210B之間之中空空隙中的動脈血流之壓力可幫助改善展開該管塞之血管內導管1200之密封。

【0139】 圖13A至圖13C示出具有管腔軸1304/1306之例示性導管1300，該導管具有近端1301及遠端1302，該遠端具有開口，灌流液可自該開口流出。管腔軸1304/1306可由外部管腔軸1304形成，該外部管腔軸至少部分地包圍內部管腔軸1306而暴露內部管腔軸1306接近遠端1302之遠端部分。近端1301包括出口結構，其可以流體方式耦合至LRP系統。外部管腔軸1304或內部管腔軸1306中之一或多者可由耐用聚合物材料，諸如聚醚嵌段醯胺(PEBA)材料(例如可以PEBAX®商購)形成。在至少一個實施例中，內部管腔軸1306之最內部直徑係至少約2 mm、至少約2.5 mm、至少約3 mm、至少約3.5 mm、至少約4 mm、至少約4.5 mm或至少約5 mm，以提供液體流動路徑。

【0140】 導管1300進一步包括接近遠端1302之楔形件1310，其可成形為適合血管或孔。在至少一個實施例中，楔形件1310係由可撓性材料，諸如聚矽氧或發泡材料形成。在至少一個實施例中，在楔形件1310展開之前，外部管腔軸1304可經構形以覆蓋該楔形件。當在血管中展開時，楔形件之形狀可利用來自血管壁之回衝力以進一步增強在血管閉塞及灌流期間的穩定性。

【0141】 圖14A至圖14C示出與關於圖8所描述之導管800類似的根

據至少一個實施例之例示性導管1400，其包括經部分覆蓋且可收回之支架結構1406。導管1400係示出為經由血管或腔室1450插入動脈血管1452中。在某些實施例中，導管1400包括外部管腔軸1402及與支架結構1406耦合之內部管腔軸1404。支架結構1406進一步描繪為具有可由可撓性且耐用之聚合物材料形成的近端經覆蓋部分，及遠端未覆蓋部分。圖14B及圖14C分別示出當插入血管1452中時支架結構1406之置放及展開。支架結構1406之展開係藉由在近端方向上移動外部管腔軸1402來執行。

【0142】 圖15A及圖15B示出根據至少一個實施例之例示性導管1500，其包括可脫離之經覆蓋編織盤1510。導管1500包括外部管腔軸1506及內部管腔軸1504。編織盤1510在導管1500置放期間被包含在外部管腔軸1506內，且可藉由在近端方向上移動外部管腔軸1506而展開。在某些實施例中，當展開時，編織盤1510未擴張越過遠端1502，且用於使抵靠血管1452之孔的導管1500穩定，以減小在血管1452閉塞期間狹窄之風險，同時使遠端1502延伸至血管1452中。

【0143】 圖16A至圖16C示出具有管腔軸1606之例示性導管1600，該導管具有近端1601及遠端1602，該遠端具有開口，灌流液可自該開口流出。近端1601包括出口結構，其可以流體方式耦合至LRP系統。管腔軸1606可由耐用聚合物材料，諸如聚醚嵌段醯胺(PEBA)材料(例如可以PEBAX®商購)形成。在至少一個實施例中，管腔軸1606之最內部直徑係至少約2 mm、至少約2.5 mm、至少約3 mm、至少約3.5 mm、至少約4 mm、至少約4.5 mm或至少約5 mm，以提供液體流動路徑。在至少一個實施例中，管腔軸1606之近端部分1606A可具有比管腔軸1606之遠端部分1606B要大的直徑，且可在管腔軸1606之長度上逐漸變細。圖16C示出

呈預成形之形式以便引入且置放於目標器官之血管中的管腔軸。

【0144】 預成形之導管管腔之實例示於圖17中。導管管腔可成形為當展開時鄰接解剖結構之區域，利用來自血管壁之回衝力進一步增強在目標器官閉塞及灌流期間之穩定性。

例示性LRP系統實施例

【0145】 圖18描繪根據本發明之實施例的例示性LRP系統1800。LRP系統1800顯示與腎1810呈閉合迴路構形。LRP系統1800包括膜式氧合裝置1820、血氣分析(BGA)監測器1830、流體源1840、流量量測裝置1842、用於監測及控制流體流量之ECMO泵控制台1846以及用於量測閉合迴路內之壓力的壓力線及控制台1844。在某些實施例中，亦可利用真空泵1848。LRP系統1800可藉由以下方式組裝：將第一導管1822(在本文中可稱為「灌流導管」)定位於腎1810之腎動脈中，及將第二導管1824(在本文中可稱為「回收導管」、「收集導管」或「抽吸導管」)定位於腎1810之腎靜脈中。第一導管1822及第二導管1824連同腎1810之血管結構、膜式氧合裝置1820及一或多個視情況選用之額外組件一起形成閉合迴路。此閉合迴路可將患者之腎臟循環自患者之全身循環分離或實質上分離。

【0146】 第一導管1822及第二導管1824可以最小侵襲性方式經皮引入。在一些實施例中，第一導管1822及/或第二導管1824可經由順行性插管引入。在其他實施例中，第一導管1822及/或第二導管1824可經由逆行性插管引入。當使用導管將藥物遞送至一或多個腎時，第一導管1822在本文中可稱為「藥物遞送導管」且第二導管1824在本文中可稱為「藥物收集導管」。

【0147】 第一導管1822可為標準輸注導管，其可視情況包括標準導

絲及輸注泵，且能夠將灌流液遞送至腎1810，該灌流液可含有例如欲在局部區域灌流期間遞送至腎1810的藥物。在一些實施例中，第一導管1822係經由股動脈定位於腎動脈中。在一些實施例中，第二導管1824係經由股靜脈定位於腎靜脈中。在一些實施例中，第二導管1824係球囊導管，由此使得球囊可在腎靜脈內膨脹以確保經由閉合迴路循環之所有血液流過第二導管1824。一般熟習此項技術者應瞭解，球囊導管可為Fogarty®導管，或適於本文所論述之目的之任何其他導管。在一些實施例中，第一導管1822及第二導管1824可各自為球囊導管以幫助減少漏出。在一些實施例中，該等導管中之任一個可選自關於圖1至圖17所描述之導管中的一或多者。

【0148】 LRP系統1800可進一步包含一或多個額外組件，諸如但不限於一或多個泵(例如真空泵1848)、一或多個抽吸機構、一或多種灌流液及其組合。舉例而言，LRP系統1800可包括壓力線及控制台1844，在一些實施例中，其以操作性方式耦合至膜式氧合裝置1820或為該膜式氧合裝置之一部分。壓力線及控制台1844以及ECMO泵控制台1846可一起使用，藉由連續地監測腎動脈壓力來控制灌流速率(亦即，流動速率)且確保安全性。第一壓力感測器及第二壓力感測器例如可分別與第一導管1822及第二導管1824共同插入，以分別量測腎動脈及腎靜脈內之壓力。LRP系統1800進一步描繪為包括BGA監測器1830，其以操作性方式耦合至膜式氧合裝置1820以量測例如在經由第一導管1822灌流之前及/或在藉由第二導管1824收集灌流液之後灌流液(例如當灌流液含有血液時)中的氣體濃度。膜式氧合裝置1820及一或多個額外組件可置放於第一導管1822與第二導管1824之間。

【0149】 在一些實施例中，LRP系統1800包括用於排空膀胱1812之第三導管1826。在一些實施例中，第三導管1826係用於阻止流體自膀胱1812漏出之球囊導管。流量量測裝置1842可用於量測在LRP程序期間自膀胱1812排泄之尿液體積。在一些實施例中，可使用流體源1840，藉由將流體經由流體管線1841注入閉合迴路中來替代灌流液中損失的排泄之流體的體積。在一些實施例中，流體與灌流液相同，或具有少於灌流液之全部組分(例如無額外藥物)。在一些實施例中，流體係生理上可接受之溶液(例如鹽水溶液)。

【0150】 在一些實施例中，LRP系統1800可經改良以便同時建立每一個患者腎內之閉合迴路。在一些實施例中，可對患者的每個腎使用兩個獨立的LRP系統。

【0151】 在一些實施例中，在建立閉合迴路時，可經由患者之全身循環灌流一或多種藥物。舉例而言，若藥物具有腎毒性或潛在地對腎有害，但又需要全身遞送，則建立穿過腎之閉合迴路以將腎臟灌流自全身灌流分離將有利於防止或減少藥物暴露於腎。

【0152】 圖19係膜式氧合裝置1820之示意圖，該膜式氧合裝置可用於氧合灌流液，將灌流液與其他組分(例如藥物)混合，自灌流液移除二氧化碳及/或將灌流液推入第一導管1822中。膜式氧合裝置1820可為用氧氣交換血液中所包含之二氧化碳的任何可商購之ECMO裝置。

【0153】 如圖19中所示，膜式氧合裝置1820包括各種組件，包括熱交換器1856(灌流液在離開出口1852並進入第一導管1822之前通過熱交換器)、遞送泵1858、儲槽1860(用於將諸如血液及/或藥物之類組分添加至經由進口1854經第二導管1824傳回之灌流液中)、在閉合迴路各個階段處

之感測器1862及1864 (例如用於量測壓力及/或血氣含量)以及膜式氧合器1866。在一些實施例中，去氧合血液進入膜式氧合器1866並與富氧氣體混合。富氧氣體可由氣體摻混機1868供應，該氣體摻混機可將氧氣與二氧化碳及氮氣以各種比率混合，並藉由氣體調節器1870調節。

【0154】 灌流液可包含一或多種血液(或其組分，諸如血漿或血清)及/或適於治療腎臟病況之藥物及/或諸如鹽水或右旋糖溶液之類媒劑。遞送泵1858可將灌流液遞送至第一導管1822中。在一些實施例中，灌流液可包含在IV袋或注射器中且可在遞送泵1858存在或不存在下直接投與第一導管1822。

【0155】 可使用抽吸機構對第二導管1824施加負抽吸壓力以最大限度地減少閉合迴路外血液及/或藥物之漏出。負抽吸壓力可為約-150 mmHg、約-100 mmHg、約-50 mmHg、約-20 mmHg、約-15 mmHg、約-10 mmHg、約-5 mmHg、0 mmHg或在此等點中之任一者界定的子範圍內。

【0156】 經由閉合迴路循環之血液可為自體血液、來自供體之相配血液或其組合。在一些實施例中，血液組分，諸如血清或血漿，係根據一或多個參數選擇。一個參數可為存在或不存在所選抗體。舉例而言，當藥物係一或多個包含治療性核酸序列之病毒載體時，可對患者之自體血液進行篩選以確定是否存在針對該一或多個病毒載體之抗體。患者之自體血液中抗體的存在可減小及/或完全抵消治療效用及/或可能引起不合需要的免疫反應。因此，可用來自供體的呈血清反應陰性之相配血液稀釋或置換患者之自體血液，由此減少患者對藥物之免疫反應並增強藥物之效用。

【0157】 儘管圖19中所示之各個組件顯示出作為膜式氧合裝置1820之部分或與該膜式氧合裝置分開之組件，但應理解，此示意圖僅為示例性

的，因為一或多個組件可包括在膜式氧合裝置1820中或與該膜式氧合裝置分開(在其外部)。

【0158】 LRP系統1800可設置及操作如下：(1)將回收導管(例如第二導管1824)小心地置放且緊密地密封於腎靜脈中以便能收集去氧合之靜脈血；(2)將灌流導管(例如第一導管1822)以密封方式置放於腎動脈中；(3)將額外回收導管(例如第三導管1826)以密封方式插入膀胱中、輸尿管中或兩者中；(4)接著，使用標準管將灌流及回收導管連接至膜式氧合裝置1820之動脈及靜脈管線；(5)起始LRP系統1800之操作，且對腎動脈順行性灌流氧合血液，同時使用平緩負壓經由回收導管自腎靜脈收集傳回的去氧合血液；(6)接著，將血液引導至儲槽1860中且隨後藉由膜式氧合器1866氧合，並經由第一導管1822順行性再輸注(由遞送泵1858驅動)至腎中；及(7)接著，使用流量量測裝置1842量測經由膀胱排泄之流體體積，並藉由流體源1840以灌流液置換。若投與藥物(例如載體)，則此可經由儲槽1860在填裝血液或血漿之後添加至灌流液中，且可獲取血液樣本，或可在整個灌流程序期間經由儲槽1860施加藥物。

【0159】 在一些實施例中，用來自供體的呈血清反應陰性之相配血液稀釋或置換患者的含抗體自體血液(例如藉由移出靜脈血並以無抗體血液沖洗來交換系統中循環之體積，以減少對所用病毒載體具有特異性的循環抗體之量)可減少不良免疫反應及/或改善藥物功效。舉例而言，相較於未經歷自體血液稀釋或置換的患者之免疫反應，在用來自供體的呈血清反應陰性之相配血液稀釋或置換自體血液後，患者免疫反應之不幸可減少約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%，或完全緩解。相較於藥物在未經歷自體血液稀釋或置換之患者體內

的功效，在用來自供體的呈血清反應陰性之相配血液稀釋或置換自體血液後，投與的藥物之功效可增加約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約100%、約150%、約200%、約300%、約400%或約500%。

【0160】 在一些實施例中，灌流液之血液部分可在以下範圍內：約5 mL至約5000 mL、約50 mL至約2500 mL、約100 mL至約1000 mL、約150 mL至約500 mL、約50 mL、約75 mL、約100 mL、約125 mL、約150 mL、約175 mL、約200 mL、約225 mL、約250 mL、約275 mL、約300 mL、約325 mL、約350 mL、約375 mL、約400 mL、約425 mL、約450 mL、約475 mL、約500 mL、約550 mL、約600 mL、約650 mL、約700 mL、約750 mL、約800 mL、約850 mL、約900 mL、約950 mL或約1000 mL。

【0161】 經由閉合迴路循環之血液中自體血液與來自供體之相配血液的比率可視需要經調整以獲得對於藥物最易於接受且在引入藥物後會產生最少免疫反應的血液混合物。在一些實施例中，該比率可在以下範圍內：約1:100至約100:1、約1:80至約80:1、約1:50至約50:1、約1:30至約30:1、約1:20至約20:1、約1:10至約10:1、約1:8至約8:1、約1:5 至約5:1、約1:3至約3:1、或約1:2至約2:1的(自體血液體積):(來自供體之相配血液的體積)。

【0162】 穿過閉合迴路之灌流液的流動速率可調整成匹配患者之血液流動速率。一般熟習此項技術者應瞭解，血液流動速率隨不同患者而變化，且對於任何給定患者，在整日內變化。因此，經由閉合迴路循環之灌流液的流動速率可原位調整。流動速率可在閉合迴路內量測。在某些實施

例中，流動速率可用穿音速探針(諸如在管路上之夾鉗)量測。在一些實施例中，在灌流期間之任何給定時間，灌流液之流動速率以mL/min為單位計可在患者之血液流動速率的約20%範圍內、約15%範圍內、約10%範圍內、約8%範圍內、約5%範圍內、約3%範圍內、約2%範圍內、約1%範圍內或約0.5%範圍內。重要的是，經由閉合迴路循環之灌流液的流動速率不明顯偏離患者自身的血液流動速率，以避免局部缺血及/或灌流不足。

【0163】 經由閉合迴路循環之灌流液的例示性流動速率可在但不限於以下範圍內：約75 mL/min至約750 mL/min、約100 mL/min至約650 mL/min、約125 mL/min至約600 mL/min、約150 mL/min至約500 mL/min、約175 mL/min至約400 mL/min、約200 mL/min至約300 mL/min、約150 mL/min、約175 mL/min、約200 mL/min、約225 mL/min、約250 mL/min、約275 mL/min、約300 mL/min、約325 mL/min或約350 mL/min。在一些實施例中，系統將閉合迴路中灌流液之流動速率在每個腎約500 mL/min/1.73 m²體表面積至每個腎約650 mL/min/1.73 m²體表面積維持約15分鐘至約4小時。

【0164】 灌流液可經由閉合迴路循環，持續在不限於約5分鐘至約5小時、約15分鐘至約4小時、約30分鐘至約3小時或約1小時至約2小時範圍內的時間。在一些實施例中，治療持續時間可在數天內發生，例如1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天等。

【0165】 利用本文所揭示之系統，在一些實施例中，可將比可經由全身遞送以其他方式安全投與之劑量要高之劑量的藥物直接且僅投與一或多個腎。在一些實施例中，由於灌流液實質上未漏出該一或多個腎外，故可能需要較低的總體藥物劑量來達到相同的治療作用(與經歷全身循環或

僅經歷腎臟循環之部分分離之較大劑量所達到的治療作用相同)。

【0166】 在一些實施例中，經由閉合迴路循環之灌流液(例如血液及/或藥物)中小於約50% v/v、小於約40% v/v、小於約30% v/v、小於約20% v/v、小於約15% v/v、小於約10% v/v、小於約5% v/v、小於約4% v/v、小於約3% v/v、小於約2% v/v、小於約1% v/v、小於約0.5% v/v或實質上不會(0% v/v)在灌流程序期間漏出閉合迴路之外。

【0167】 漏出閉合迴路之外的灌流液減少(相較於此項技術中所揭示之其他方法)可歸因於在閉合迴路內形成之緊密封及閉合迴路中所利用的每一個別組件。

【0168】 在某些實施例中，仍有一些灌流液自閉合迴路漏出。舉例而言，經由閉合迴路循環之灌流液中至多約0.5% v/v、約1% v/v、約2% v/v、約3% v/v、約4% v/v、約5% v/v、約10% v/v、約15% v/v、約20% v/v、約30% v/v、約40% v/v或約50% v/v可漏出閉合迴路之外。經由灌流液漏出而損失的任何藥物量可在灌流液中置換，以便在計算的暴露時間內保持藥物始終暴露於腎。在某些實施例中，計算的暴露時間範圍可為約5分鐘至約5小時、約15分鐘至約4小時、約30分鐘至約3小時、約1小時至約2小時或在其間任何子範圍內。

治療性組合物

【0169】 適於治療腎臟病況(亦即，灌流液中所包括之藥物)之藥物可包括治療性聚核苷酸序列。在一些實施例中，治療性聚核苷酸序列可編碼用於治療腎臟病況之蛋白質。用於治療腎臟病況之蛋白質可為人類來源的或可來源於不同物種(例如不限於小鼠、貓、豬或猴)。在一些實施例中，由該治療性聚核苷酸序列編碼之蛋白質可對應於人腎中表現之基因。

【0170】 例示性蛋白質可包括但不限於NPHP1、PKD2、其變異體或其組合。所用一或多種蛋白質亦可為本文中所提及之蛋白質的功能變異體且可與原始蛋白質展現相當大的胺基酸序列一致性。舉例而言，胺基酸一致性可合計為至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%。在此情形下，術語「功能變異體」意謂蛋白質之變異體能夠部分或完全實現天然存在之相應蛋白質之功能。蛋白質之功能變異體可包括例如因一或多個胺基酸取代、缺失或添加而與其天然存在之對應物不同的蛋白質。

【0171】 胺基酸取代可為保守性或非保守性的。較佳地，取代係保守性取代，亦即，胺基酸殘基經充當功能等效物的具有類似極性之胺基酸取代。較佳地，用作取代物之胺基酸殘基係選自與待取代之胺基酸殘基相同的胺基酸群組。舉例而言，疏水性殘基可經另一疏水性殘基取代，或極性殘基可經具有相同電荷之另一極性殘基取代。可用於保守性取代的功能同源之胺基酸包含例如非極性胺基酸，諸如甘胺酸、纈胺酸、丙胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸及色胺酸。不帶電極性胺基酸之實例包含絲胺酸、蘇胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、酪胺酸及半胱胺酸。帶電極性(鹼性)胺基酸之實例包含組胺酸、精胺酸及離胺酸。帶電極性(酸性)胺基酸之實例包含天冬胺酸及麩胺酸。

【0172】 因一或多個(例如2、3、4、5、10或15個)額外胺基酸而不同於其天然存在之對應物的蛋白質亦視為變異體。此等額外胺基酸可存在於原始蛋白質之胺基酸序列內(亦即，作為插入)，或其可添加至蛋白質之

一個或兩個末端中。基本上，若添加胺基酸不會削弱多肽在所治療之個體中實現天然存在之蛋白質之功能的能力，則插入可在任何位置進行。此外，蛋白質之變異體亦包含與原始多肽相比缺乏一或多個胺基酸之蛋白質。此類缺失可影響任何胺基酸位置，其限制條件為其不會削弱實現蛋白質之正常功能的能力。

【0173】 最後，目標蛋白質之變異體亦係指因結構修飾，諸如經修飾之胺基酸而不同於天然存在之蛋白質的蛋白質。經修飾之胺基酸係藉由天然方法，諸如處理或轉譯後修飾或藉由此項技術中已知之化學修飾方法修飾的胺基酸。典型胺基酸修飾包含磷酸化；糖基化；乙醯化；O連接之N-乙醯基葡萄糖胺化；麩胱甘肽化；醯化；分支化；ADP核糖基化；交聯；二硫橋形成；甲醯化；羥基化；羧化；甲基化；去甲基化；醯胺化；環化；及/或與磷脂醯肌醇、黃素衍生物、脂壁酸、脂肪酸或脂質共價或非共價鍵結。

【0174】 編碼目標蛋白質之治療性聚核苷酸序列可以基因療法載體，亦即核酸構築體形式投與待治療之個體，該核酸構築體包含緊鄰提供外源核酸之表現所需的其他序列，諸如啟動子、kozak序列、聚腺苷酸信號及其類似序列之編碼序列，包括轉譯及終止密碼子。

【0175】 舉例而言，基因療法載體可為哺乳動物表現系統之一部分。有用的哺乳動物表現系統及表現構築體係可商購的。另外，若干哺乳動物表現系統係由不同製造商經銷且可用於本發明中，諸如基於質體或病毒載體之系統，例如 LENTI-Smart™ (InvivoGen)、GenScript™ 表現載體、pAdVantage™ (Promega)、ViraPower™ 慢病毒、腺病毒表現系統 (Invitrogen) 及腺相關病毒表現系統 (Cell Biolabs)。

【0176】用於表現本發明之外源治療性聚核苷酸序列的基因療法載體可為例如病毒或非病毒表現載體，其適於將外源治療性聚核苷酸序列引入細胞中以供後續表現由該核酸編碼之蛋白質。表現載體可為游離型載體，亦即能夠自主地在宿主細胞內自我複製之載體；或整合載體，亦即穩定併入細胞基因體中之載體。宿主細胞中之表現可為組成型或調節型(例如誘導型)的。

【0177】在某一實施例中，基因療法載體為病毒表現載體。用於本發明之病毒載體可包含病毒基因體，其中一部分天然序列已缺失以便引入異源聚核苷酸，而不會破壞病毒之感染性。歸因於病毒組分與宿主細胞受體之間的特異性相互作用，病毒載體特別適於將基因有效轉移至目標細胞中。適於促進基因轉移至哺乳動物細胞中之病毒載體可來源於不同類型之病毒，例如AAV、腺病毒、反轉錄病毒、單純疱疹病毒、牛乳頭狀瘤病毒、慢病毒、牛痘病毒、多瘤病毒、仙台病毒、正黏液病毒、副黏液病毒、乳多泡病毒、微小RNA病毒、痘病毒、 α 病毒或適於基因療法之任何其他病毒穿梭體、其變異體及其組合。

【0178】「腺病毒表現載體」或「腺病毒」意欲包括含腺病毒序列之構築體，該等腺病毒序列足以(a)支持治療性聚核苷酸序列構築體之包裝，及/或(b)最終表現其中選殖之組織及/或細胞特異性構築體。在本發明之一個實施例中，表現載體包含經基因工程改造之形式的腺病毒。瞭解腺病毒(一種36千鹼基(kb)的線性雙股DNA病毒)之遺傳組織允許用至多7 kb之外來序列取代大片段腺病毒DNA。

【0179】腺病毒生長及操作係熟習此項技術者已知的，且在活體外及活體內展現較寬宿主範圍。此組病毒可以高效價，例如 10^9 至 10^{11} 個蝕

斑形成單位/毫升獲得，且其具有高度感染性。腺病毒之生命週期不需要整合至宿主細胞基因體中。藉由腺病毒載體遞送之外來基因係游離型的且因此，對宿主細胞具有較低基因毒性。在用野生型腺病毒進行疫苗接種之研究中未報導副作用，表明其作為活體內基因轉移載體之安全及/或治療潛力。

【0180】 反轉錄病毒(又稱為「反轉錄病毒載體」)可因其能夠將其基因整合至宿主基因體中、轉移大量外來遺傳物質、感染廣譜物種及細胞類型及用於包裝於特殊細胞株中而被選擇作為基因遞送載體。

【0181】 反轉錄病毒基因體含有三個基因，即gag、pol及env，分別編碼衣殼蛋白、聚合酶及包膜組分。在gag基因上游發現之序列含有用於將基因體包裝至病毒粒子中之信號。兩個長末端重複(LTR)序列存在於病毒基因體之5'及3'端。此等序列含有強啟動子及強化子序列且亦為整合於宿主細胞基因體中所需的。

【0182】 為了構築反轉錄病毒載體，將編碼所關注基因之核酸代替某些病毒序列插入至病毒基因體中，以產生複製缺陷型病毒。為了產生病毒粒子，構築含有gag、pol及/或env基因但無LTR及/或包裝組分之包裝細胞株。當將含有cDNA以及反轉錄病毒LTR及包裝序列之重組質體引入此細胞株中(例如藉由磷酸鈣沈澱)時，包裝序列允許將重組質體之RNA轉錄物包裝於病毒顆粒中，該等病毒顆粒接著分泌於培養基中。接著，收集含有重組反轉錄病毒之培養基，視情況濃縮且用於基因轉移。反轉錄病毒載體能夠感染廣泛多種細胞類型。然而，整合及穩定表現需要宿主細胞分裂。

【0183】 反轉錄病毒可來源於任何亞科。舉例而言，可使用來自鼠

肉瘤病毒、牛白血病、病毒勞氏肉瘤病毒(Rous Sarcoma Virus)、鼠白血病病毒、貂細胞灶誘導病毒(Mink-Cell Focus-Inducing Virus)、網狀內皮細胞增生病病毒或禽類白血病性病毒之載體。熟習此項技術者將能夠組合來源於不同反轉錄病毒之部分，諸如LTR、tRNA結合位點及包裝信號，以提供重組反轉錄病毒。此等反轉錄病毒接著通常用於產生轉導勝任性反轉錄病毒載體顆粒。出於此目的，將載體引入適合的包裝細胞株中。亦可藉由將嵌合整合酶併入反轉錄病毒顆粒中來構築反轉錄病毒以便位點特異性整合至宿主細胞之DNA中。

【0184】 因為單純疱疹病毒(HSV)係親神經性的，所以其已在治療神經系統病症中引起大量關注。此外，HSV在非分裂神經元細胞中產生潛伏感染而不整合至宿主細胞染色體中或以其他方式改變宿主細胞之代謝的能力，以及在潛伏期期間具有活性之啟動子的存在使得HSV成為有吸引力的載體。此外，儘管許多關注皆集中於HSV之親神經性應用，但考慮到其較寬的宿主範圍，此載體亦可用於其他組織。

【0185】 使HSV成為有吸引力載體的另一因素係基因體之大小及組織。因為HSV很大，所以與其他較小病毒系統相比，併入多個基因或表現卡匣更不成問題。另外，與其他系統相比，具有不同效能(時間、強度等)之不同病毒控制序列之可獲得性使得有可能在較大程度上控制表現。其亦具有以下優勢：該病毒具有相對較少的剪接訊息，進一步便利進行遺傳操作。

【0186】 HSV亦相對易於操作且可生長達到高效價。因此，就獲得足夠感染倍率(MOI)所需之體積及減少重複給藥之需求兩方面而言，遞送不成問題。已研發出HSV之無毒變異體且該等變異體可容易地用於基因療

法情形中。

【0187】 慢病毒係複雜的反轉錄病毒，除含有共有的反轉錄病毒基因gag、pol及env以外，慢病毒亦含有其他具有調節或結構功能之基因。較高的複雜度使得病毒能夠調節其生命週期，如在潛伏感染過程中。慢病毒之一些實例包括人類免疫缺陷病毒(HIV-1、HIV-2)及猿猴免疫缺陷病毒(SIV)。慢病毒載體已藉由多次減弱HIV致病性基因產生，例如基因env、vif、vpr、vpu及nef缺失使得載體在生物學上為安全的。

【0188】 慢病毒載體係基於質體或基於病毒的，且經構形以攜帶用於併入外來核酸、用於選擇及用於將核酸轉移至宿主細胞中之必需序列。所關注載體之gag、pol及env基因亦為此項技術中已知的。因此，將相關基因選殖至所選載體中且接著用於轉型所關注之目標細胞。

【0189】 牛痘病毒載體由於其構築容易、獲得的表現量相對較高、較寬的宿主範圍及有較大容量用於攜帶DNA而被廣泛使用。牛痘含有約186 kb之線性雙股DNA基因體，其展現明顯的「A-T」偏好。約10.5 kb之反向末端重複序列側接該基因體。大部分必需基因看來在中心區域內定位，其在痘病毒中具有極高保守性。估計牛痘病毒之開放閱讀框架數目為150至200個。儘管編碼兩個股，但閱讀框架之大量重疊並不常見。

【0190】 可以將至少25 kb插入牛痘病毒基因體中。原型牛痘載體含有經由同源重組插入至病毒胸苷激酶基因中之轉殖基因。載體係基於tk表型選擇。包括腦心肌炎病毒之非轉譯前導序列產生比習知載體高之表現量，其中轉殖基因在24小時內積累10%或更多的經感染細胞之蛋白質。

【0191】 乳多泡病毒(諸如小鼠多瘤病毒)的空衣殼已作為用於基因轉移之可能載體而引起關注。空多瘤病毒之使用最先係在無細胞系統中培

育多瘤病毒DNA及經純化空衣殼時描述。新顆粒之DNA受到保護而免於胰臟去氧核糖核酸酶之作用。使用經重構顆粒將轉型多瘤病毒DNA片段轉移至大鼠FIII細胞。空衣殼及經重構顆粒由全部三種多瘤病毒衣殼抗原VP1、VP2及VP3組成。

【0192】 AAV係屬於依賴病毒(Dependovirus)屬之小病毒。其為無包膜的小單股DNA病毒，其需要輔助病毒來進行複製。需要與輔助病毒(例如腺病毒、疱疹病毒或牛痘病毒)共感染以形成功能完整之AAV病毒粒子。在活體外，在不存在與輔助病毒共感染的情况下，AAV產生病毒基因體以游離型形式存在，但不產生感染性病毒粒子之潛伏狀態。隨後藉由輔助病毒之感染「拯救」基因體，允許其複製且包裝於病毒衣殼中，由此重構感染性病毒粒子。最新資料指示，活體內野生型AAV及重組AAV皆主要以較大游離型串聯體形式存在。在一個實施例中，本文中所使用之基因療法載體為AAV載體。AAV載體可為經純化的複製非勝任型假型rAAV顆粒。

【0193】 AAV不與任何已知人類疾病相關，一般不被視為致病性的，且看來在整合後不會改變宿主細胞之生理特性。AAV可感染廣泛範圍之宿主細胞，包括非分裂細胞，且可感染來自不同物種之細胞。相比於藉由細胞及體液反應兩者快速清除或不活化的一些載體，已顯示AAV載體在活體內在各種組織中誘導持久轉殖基因表現。重組AAV介導之轉殖基因在活體內在非分裂細胞中之續存可歸因於缺乏天然AAV病毒基因及載體的與ITR關聯之形成游離型串聯體之能力。

【0194】 AAV係用於本發明之細胞轉導的有吸引力之載體系統，因為其作為游離型串聯體具有高頻續存性且其可感染非分裂細胞，包括心肌

細胞，由此使其可用於將基因遞送至哺乳動物細胞中，例如在組織培養物中及在活體內。

【0195】 通常，rAAV係藉由共轉染含有側接兩個AAV末端重複序列之所關注基因的質體及/或含有野生型AAV編碼序列且無末端重複序列之表現質體(例如pIM45)來製造。細胞亦經腺病毒及/或攜帶AAV輔助功能所需之腺病毒基因的質體感染及/或轉染。以此類方式製造的rAAV之儲備液混雜有腺病毒，其必須與rAAV顆粒以物理方式分離(例如藉由氯化銣密度離心或管柱層析)。或者，可使用含有AAV編碼區之腺病毒載體及/或含有AAV編碼區及/或一些或全部腺病毒輔助基因之細胞株。亦可使用攜帶rAAV DNA作為經整合之原病毒的細胞株。

【0196】 自然界中存在多種AAV血清型，具有至少十二種血清型(AAV1-AAV12)。儘管具有高度同源性，但不同血清型對不同組織具有趨向性。在轉染後，AAV僅在宿主中引發次要免疫反應(若存在)。因此，AAV特別適合於基因療法方法。

【0197】 在一些實施例中，本發明可針對一種藥物，其包含AAV載體，該AAV載體為以下中之一或多者：AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、ANC AAV、來源於其之嵌合AAV、其變異體及其組合，其將甚至更佳地適於所關注組織中之高效轉導。在某些實施例中，基因療法載體係AAV血清型1載體。在某些實施例中，基因療法載體係AAV血清型2載體。在某些實施例中，基因療法載體係AAV血清型3載體。在某些實施例中，基因療法載體係AAV血清型4載體。在某些實施例中，基因療法載體係AAV血清型5載體。在某些實施例中，基因療法載體係AAV血清型6載體。在某

些實施例中，基因療法載體係AAV血清型7載體。在某些實施例中，基因療法載體係AAV血清型8載體。在某些實施例中，基因療法載體係AAV血清型9載體。在某些實施例中，基因療法載體係AAV血清型10載體。在某些實施例中，基因療法載體係AAV血清型11載體。在某些實施例中，基因療法載體係AAV血清型12載體。

【0198】 適用於人類之AAV之劑量可在以下範圍內：約 1×10^8 vg/kg 至約 3×10^{14} vg/kg、約 1×10^8 vg/kg、約 1×10^9 vg/kg、約 1×10^{10} vg/kg、約 1×10^{11} vg/kg、約 1×10^{12} vg/kg、約 1×10^{13} vg/kg 或約 1×10^{14} vg/kg。病毒顆粒或DRP之總量為、為約、為至少、為至少約、不超過或不超過約 5×10^{15} vg/kg、 4×10^{15} vg/kg、 3×10^{15} vg/kg、 2×10^{15} vg/kg、 1×10^{15} vg/kg、 9×10^{14} vg/kg、 8×10^{14} vg/kg、 7×10^{14} vg/kg、 6×10^{14} vg/kg、 5×10^{14} vg/kg、 4×10^{14} vg/kg、 3×10^{14} vg/kg、 2×10^{14} vg/kg、 1×10^{14} vg/kg、 9×10^{13} vg/kg、 8×10^{13} vg/kg、 7×10^{13} vg/kg、 6×10^{13} vg/kg、 5×10^{13} vg/kg、 4×10^{13} vg/kg、 3×10^{13} vg/kg、 2×10^{13} vg/kg、 1×10^{13} vg/kg、 9×10^{12} vg/kg、 8×10^{12} vg/kg、 7×10^{12} vg/kg、 6×10^{12} vg/kg、 5×10^{12} vg/kg、 4×10^{12} vg/kg、 3×10^{12} vg/kg、 2×10^{12} vg/kg、 1×10^{12} vg/kg、 9×10^{11} vg/kg、 8×10^{11} vg/kg、 7×10^{11} vg/kg、 6×10^{11} vg/kg、 5×10^{11} vg/kg、 4×10^{11} vg/kg、 3×10^{11} vg/kg、 2×10^{11} vg/kg、 1×10^{11} vg/kg、 9×10^{10} vg/kg、 8×10^{10} vg/kg、 7×10^{10} vg/kg、 6×10^{10} vg/kg、 5×10^{10} vg/kg、 4×10^{10} vg/kg、 3×10^{10} vg/kg、 2×10^{10} vg/kg、 1×10^{10} vg/kg、 9×10^9 vg/kg、 8×10^9 vg/kg、 7×10^9 vg/kg、 6×10^9 vg/kg、 5×10^9 vg/kg、 4×10^9 vg/kg、 3×10^9 vg/kg、 2×10^9 vg/kg、 1×10^9 vg/kg、 9×10^8 vg/kg、 8×10^8 vg/kg、 7×10^8 vg/kg、 6×10^8 vg/kg、 5×10^8

vg/kg、 4×10^8 vg/kg、 3×10^8 vg/kg、 2×10^8 vg/kg或 1×10^8 vg/kg，或在由此等值中之任何兩個界定之範圍內。以上所列劑量係以vg/kg腎臟組織為單位。

【0199】 利用本文所揭示之系統及方法，在一些實施例中，可將比可經由全身遞送以其他方式安全投與之劑量要高之劑量的藥物直接且僅投與腎，因為灌流液實質上不會漏出腎之外。在不解釋為限制性的情況下，咸信AAV毒性可歸因於全身作用，諸如肝毒性、血小板活化及損失以及補體活化及損失。所有此等毒性及其他影響可經由本文所揭示之方法及系統中所描述的局部區域灌流液施加而減少、減到最少或完全避免。因此，至多約 5×10^{15} vg/kg腎臟組織之劑量可具有良好耐受性。在某些實施例中，以vg/kg腎臟組織表示的投與腎之AAV劑量可比最高全身性投與劑量高出約2至約200倍、約5至約150倍、約10至約100倍或其中任何子範圍。

【0200】 除病毒載體之外，亦可使用非病毒表現構築體將編碼目標蛋白質或其功能變異體或片段之基因引入患者細胞中。允許目標細胞中蛋白質之活體內表現的非病毒表現載體包括例如質體、經修飾之RNA、mRNA、cDNA、反義寡聚物、DNA-脂質複合物、奈米顆粒、胞外體、適用於基因療法之任何其他非病毒穿梭體、其變異體及其組合。

【0201】 除病毒載體及非病毒表現載體之外，核酸酶系統亦可與載體及/或電穿孔系統結合使用以進入患者之細胞中且在其中引入編碼目標蛋白質或其功能變異體或片段之基因。例示性核酸酶系統可包括但不限於成簇規律間隔短回文重複序列(CRISPR)、DNA切割酶(例如Cas9)、大範圍核酸酶、TALEN、鋅指核酸酶、適於基因療法之任何其他核酸酶系統、其變異體及其組合。舉例而言，在一個實施例中，一個病毒載體(例

如AAV)可用於核酸酶(例如CRISPR)且另一病毒載體(例如AAV)可用於DNA切割酶(例如Cas9)，以將(核酸酶及DNA切割酶)兩者引入目標細胞中。

【0202】 可用於將編碼治療性基因之治療性聚核苷酸序列遞送至細胞中的其他載體遞送系統為受體介導之遞送媒劑。此等利用藉由受體介導之內飲作用在幾乎所有真核細胞中進行的大分子之選擇性吸收。由於各種受體之細胞類型特異性分佈，遞送可具有高度特異性。受體介導之基因靶向媒劑可包括兩種組分：細胞受體特異性配體及DNA結合劑。

【0203】 適用於將非病毒載體轉移至目標細胞中之方法係例如脂質轉染法、磷酸鈣共沈澱法、DEAE-聚葡萄糖法及使用微玻璃管、超音波、電穿孔及其類似方法之直接DNA引入法。在引入載體之前，可用滲透劑處理腎臟細胞，該滲透劑諸如磷脂醯膽鹼、鏈球菌溶血素、癸酸鈉、癸醯肉鹼、酒石酸、溶血卵磷脂、Triton X-100及其類似物。亦可使用胞外體轉移裸DNA或AAV衣殼化DNA。

【0204】 本發明之基因療法載體可包含與編碼目標蛋白質之核酸序列功能性連接的啟動子。啟動子序列應為緊密的且確保較強表現。較佳地，啟動子提供已經基因療法載體治療之患者之腎中目標蛋白質之表現。在一些實施例中，基因療法載體包含可操作地連接至編碼目標蛋白質之核酸序列的腎元特異性啟動子。如本文所使用，「腎元特異性啟動子」係指在腎臟細胞中之活性比任何其他非腎臟細胞類型中之活性高至少2倍的啟動子。較佳地，適合用於本發明之載體中的腎元特異性啟動子在腎臟細胞中之活性比其在非腎臟細胞類型中之活性要高至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍或至少50倍。此外，腎元特異性啟動子可對

腎元之特定次單元(例如近端小管、遠端小管、腎小球等)具有特異性以在該特定次單元中提供較高或唯一的表現。

【0205】 腎元特異性啟動子可為所選人類啟動子，或包含與所選人類啟動子具有至少約80%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%序列一致性之功能等效序列的啟動子。例示性非限制性啟動子可包括腎特異性鈣黏素(KSPC)、Na⁺/葡萄糖共轉運蛋白2 (SGLT2)、鈉鉀氯共轉運蛋白2 (NKCC2)及E-鈣黏素(ECAD)。

【0206】 可用於本發明之載體可具有不同轉導效率。因此，病毒載體或非病毒載體轉導超過、等於或至少約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%或100%的目標血管部位之細胞。可同時或依序使用超過一種載體(病毒或非病毒載體，或其組合)。此可用於轉移超過一個聚核苷酸，及/或靶向超過一種細胞類型。當使用多種載體或多種試劑時，可產生超過一種轉導/轉染效率。

【0207】 含有基因療法載體之醫藥組合物可製備為液體溶液或懸浮液形式。本發明之醫藥組合物可包括常用的醫藥學上可接受之賦形劑，諸如稀釋劑及載劑。具體言之，該組合物包含醫藥學上可接受之載劑，例如水、鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)或右旋糖溶液。除載劑以外，醫藥組合物亦可含有乳化劑、pH緩衝劑、穩定劑、染料及其類似物。

【0208】 在某些實施例中，醫藥組合物將包含治療有效的基因劑量，該劑量係能夠預防或治療個體之腎臟病況，而對個體無毒之劑量。腎臟病況之預防或治療可以與腎臟病況相關聯之表型特徵之變化評定，其中此類變化可有效預防或治療腎臟病況。因此，治療有效的基因劑量通常為

當以生理上可耐受之組合物形式投與時足以改善或預防所治療個體之致病性腎臟表型的基因劑量。

示例性實例

【0209】 闡述以下實例以幫助理解本發明，且其當然不應視為特定地限制本文中所描述及主張之實施例。實施例之此類變化，包括將在熟習此項技術者之能力範圍內的目前已知或後續研發之所有等效物的替代，及調配物之變化或實驗設計之微小變化，將被認為在併入本文中之實施例的範圍內。

【0210】 下文論述之LRP系統包括以下組件：用於閉塞腎動脈之順行性灌流(經由股動脈進入)之經皮動脈導管；用於閉塞腎靜脈並將靜脈血返回至LRP系統(經由頸靜脈進入)之經皮靜脈導管；及用於在LRP系統中提供氧氣並將二氧化碳自血液移除的具有儲槽及相連管路之ECMO裝置。當對動脈順行性灌流氧合血液，同時經由靜脈導管自靜脈系統收集返回之去氧合血液時，LRP程序開始。接著，將血液收集於儲槽中，氧合併經由動脈導管順行性再輸注至器官中。在完程個序期間，經由儲槽可獲取血液樣本，或可引入藥物。

實例1：LRP程序

【0211】 利用圖18中所示且關於該圖所描述的系統1800，對豬執行LRP。在此等實例中使用的附件裝置列於表1中，包括其預定用途及在根據本發明之實施例之LRP系統中的用途。

表1：用於LRP程序之裝置

項目	商標
FlowGate ² 球囊導引導管	Stryker
Fogarty導管	Fogarty
血泵泵頭	Medtronic
股動脈通路鞘：12-Fr，長度25 cm	Boston Scientific
導絲(=GW) V18	Boston Scientific
導管發射器7-Fr AL1.0	Medtronic
標準J型導絲頭GW(0.035 cm，260 mm長度)	Cordis
Rosen重載芯導絲(0.035 cm，180 mm長度)	Cordis
頸靜脈通路鞘Dryseal24-Fr 33 cm	Gore
Endo-Vent導管	Edwards
Lunderquist超硬金屬絲導引器0.035, 260cm (REF: TSMG-35-260-LES)	Cook
D100氧合器套件	Dideco-Livanova
Bio-Medicus 550 Bio-Console(ECMO泵控制台)	Medtronic
PressureWire X	Saint Jude Medical / Abbott
Quantien量測系統	Saint Jude Medical / Abbott
定製導管	-

【0212】 使用定製導管作為靜脈回收導管，且其包括以下尺寸：19 Fr(6.3 mm)之通過外徑(crossing profile)；12 Fr(4.0 mm)之內徑；80 cm之可用長度；25 mm之球囊直徑；及20 mm之頂端長度(與圖1至圖3中所示及關於該等圖所描述之例示性定製導管類似)。材料包括：以強不鏽鋼編織物作為軸來支撐的Pebax 63；作為球囊的柔性Chronoprene 25A；及頂端中裝載有BaSO₄以用於放射不透性的Pebax 35。定製導管係設計成在-80 mmHg下支持約800 mL/min之抽吸流動速率。

【0213】 圖20包括顯示豬腎之腎動脈及腎靜脈中動脈及靜脈導管各自之置放的放射像片。在底部圖像中，經靜脈注射造影劑，顯露出腎血管結構及密閉系統之整體密閉性。

【0214】 現描述本實例中遵循之LRP程序的詳細方案：

- (1)將研究動物以背臥位置放；
- (2)準備研究動物以進行血管內導管插入術；

(3)藉由血管造影術，利用最小銳角評定腎臟靜脈與頸靜脈通路及腹股溝通路之角度；

(4)利用Stryker FlowGate²導管自股動脈進入腎(基於角度確定之側部)之動脈循環；

(5)使用以上描述之定製靜脈導管進入靜脈循環(側部及進入點：基於個別動物確定)；

(6)以敞開式構形(亦即，球囊向下)將導管置放於其最終位置，以便注射一些造影劑流體並觀測腎循環；

(7)將導管置放於主動脈及腔靜脈中，直至程序開始；

(8)將PressureWire X經由Flowgate²導管置放並置放入一條腎臟動脈中；

(9)藉由除氣並填裝鹽水來準備ECMO系統；將靜脈及動脈管線連接至ECMO，同時夾緊以避免引入空氣；

(10) 打開ECMO泵；

(11) 鬆開靜脈管線；

(12) 開始用鹽水交換血液；若所有事物皆穩定，則鬆開動脈管線且建立LRP環；在靜脈側之抽吸力係可變的且根據需要調適(例如自-50 mmHg至0)；

(13) 將靜脈導管置放於腎臟靜脈中之適當位置；

(14) 使球囊膨脹；

(15) 檢查含造影劑注射液之導管的密閉性及定位；

(16) 若動物穩定，則：

a. 用Flowgate²導管密封腎臟動脈；

b. 檢查：含造影劑注射液之導管的密閉性及位置；腎中之壓力；腎比全身壓力比率(目標大於1)；儲槽體積；ECMO泵之RPM；及導管之流量；

(17) 若所有事物皆穩定5分鐘，則：

a. 經由動脈管線以2微克/公斤體重/分鐘之速率開始三硝酸甘油酯輸注；

b. 檢查：腎中之壓力；腎比全身壓力比(目標大於1)；儲槽體積；ECMO泵之RPM；及導管之流量；

(18) 若所有事物皆穩定5分鐘，則：

a. 藉由將基因療法藥物注入儲槽中來開始治療；

b. 對於第一個動物組(B1組)：投與 $5.0E+13$ vg劑量(藉由用2.2 mL媒劑稀釋1.8 mL效價為 $2.8E+13$ vg/mL之載體溶液來製備)；

c. 對於第二個動物組(B2組)：投與 $6.0E+14$ vg劑量(相當於21.4 mL效價為 $2.8E+13$ vg/mL之載體溶液)；

(19) 繼續腎LRP達60分鐘；

(20) 每5分鐘，檢查：腎中之壓力；腎比全身壓力比率(目標大於1)；儲槽體積；ECMO泵之RPM；導管之流量；所有血液動力學及心血管參數(壓力、HR)；

(21) 檢查在程序開始之後 $t=0$ 、15、30、45及60分鐘的尿液排出量；

(22) 注意LRP儲槽體積，因為可能存在由膈、性腺及腎上腺靜脈引起之裝填過量或由尿液產生引起之體積損失；可動態管理此等體積偏差；

(23) 在 $t=0$ 、5、15、30、45及60分鐘時：收集血液樣本；

- a. 對於脫落分析，自周邊血液收集；
- b. 對於載體感染性分析，自LRP系統收集；及
- c. 對於脫落分析，自LRP系統收集；

(24) 在60分鐘之腎LRP結束時：

- a. 停止三硝酸甘油酯；
- b. 緊縮球囊；及
- c. 使導管脫離；

(25) 將整個LRP迴路、儲槽、血泵及導管丟棄於適當生物安全櫃中；

(26) 立即執行手術後護理，包括但不限於壓迫及投與魚精蛋白；

【0215】 以上程序展示，用密封的閉合迴路進行腎LRP可能要持續至少60分鐘。未觀察到急性後遺症，且在LRP程序之後立即進行之靛紅測試顯示，腎功能正常/不受該程序影響。

實例2：生物分佈研究

【0216】 圖21係顯示在用 $6.2E+14$ vg/kg之較高劑量進行LRP 60分鐘之後0.05-0.25 vg/dg(每個二倍體基因體之載體基因體複本數)的腎轉導及生物分佈情況之圖。未偵測到未治療腎、肝或其他器官之顯著污染，展示LRP閉合迴路之密閉性。

【0217】 亦測試靜脈內對照動物。已發現，腎LRP在所量測之不同區段中引起比較均勻的轉導型態，而IV對照顯示在腎皮質區中優先轉導。相對於IV對照，在腎LRP中肝中之轉導不太明顯，其中對於IV對照，在肝中偵測到17.2 vg/dg，而對於腎LRP，在肝中可觀察到實際上無轉導。

實例3：載體定量

【0218】 圖22A及圖22B顯示在高劑量($6.2E+14$ VG/kg, 圖22A)及低劑量($5.6E+13$ VG/kg, 圖22B)腎LRP期間之各個時間點量測的每毫升血漿之載體基因體數。結果披露在LRP迴路內保持60分鐘的高保留率(較低載體脫落)、載體較少暴露於全身循環及尿液中載體之極少漏出(圖22A)。載體暴露於腎看來在整個程序中最大。

【0219】 圖23A係在腎LRP治療兩種不同動物(LRP-1及LRP2)後若干天之C3a含量的圖。圖23B係在各種樣本稀釋度下之轉導抑制百分比的曲線圖。兩者均披露, 抗AAV中和因子在兩種動物中均較低, 且在腎LRP之後不存在補體活化。

【0220】 圖24A及圖24B分別為在腎LRP期間之流動速率及泵速度的圖, 披露在整個程序中約310 mL/min的實質上恆定之流動速率。

【0221】 此等實例展示使用臨床上相關之動物模型, AAV靶向遞送至腎, 產生均勻的轉殖基因生物分佈。本文中描述及例示之實施例能夠藉由最大限度地減少全身不良作用, 明顯降低所需載體劑量, 克服免疫限制及具有重複治療之潛力來研發新一代先進腎療法。經考慮, 使用LRP系統及方法可用於其他治療劑及策略。

【0222】 在前述描述中, 闡述諸如特定材料、尺寸、製程參數等之眾多具體細節, 以提供對本發明之透徹理解。在一或多個實施例中, 特定特徵、結構、材料或特性可以任何適合方式組合。「實例」或「例示性」一詞在本文用以意謂充當實例、例子或說明。不必將本文中描述為「實例」或「例示性」之任何態樣或設計理解為比其他態樣或設計更佳或有利。實際上, 使用詞「實例」或「例示性」僅意欲以具體方式呈現概念。如本申請案中所使用, 術語「或」欲意謂包容性的「或」, 而非排他性的

「或」。亦即，除非另外說明，或根據上下文顯而易見，否則「X包括A或B」意欲意謂天然包容性置換中之任一者。亦即，若X包括A；X包括B；或X包括A及B二者，則「X包括A或B」在前述情形中之任一者下滿足。本說明書通篇提及「一實施例」、「某些實施例」或「一個實施例」意謂結合實施例所描述之特定特徵、結構或特性包括於至少一個實施例中。因此，在本說明書通篇各處出現的片語「一實施例」、「某些實施例」或「一個實施例」未必均指代同一實施例。

【0223】 已參考本發明之特定例示性實施例描述本發明。因此，應在說明性意義上而非限制性意義上看待說明書及圖式。除本文所顯示及描述之修改外的本發明之各種修改對於熟習此項技術者將變得顯而易見，且其意欲落在所附申請專利範圍之範圍內。

【符號說明】

【0224】

100:例示性導管

101:近端

102:遠端

104:外部管腔軸

106:內部管腔軸

108:頂端部分

110:球囊結構

112:內部管腔軸106之一部分

114:孔口

300:例示性導管

- 301:近端
- 302:遠端
- 304:內部管腔軸
- 306:外部管腔軸
- 308:頂端部分
- 310:球囊結構
- 312:內部管腔軸304之一部分
- 350:血管/腔室
- 352:血管
- 354:血管
- 400:導管
- 401:近端
- 402:遠端
- 404:內部管腔軸
- 406:外部管腔軸
- 408:頂端部分
- 410:球囊結構
- 412:內部管腔軸404之一部分
- 500:第一導管
- 501:近端
- 502:遠端
- 504:管腔軸
- 508:頂端部分

- 510:球囊結構
- 512:管腔軸504之一部分
- 550:第二導管
- 551:近端
- 552:遠端
- 554:管腔軸
- 558:頂端部分
- 560:球囊結構
- 562:管腔軸554之一部分
- 600:第一導管
- 601:近端
- 602:遠端
- 604:管腔軸
- 608:頂端部分
- 610:球囊結構
- 612:管腔軸604之一部分
- 650:第二導管
- 651:近端
- 652:遠端
- 654:管腔軸
- 658:頂端部分
- 700:導管
- 701:近端

- 702:遠端
- 704:管腔軸
- 708:頂端部分
- 710:第一球囊結構
- 712:管腔軸704之第一部分
- 720:第二球囊結構
- 722:管腔軸704之第二部分
- 724:管腔軸704之中間部分
- 800:導管
- 801:近端
- 802:遠端
- 804:內部管腔軸
- 806:外部管腔軸
- 810:支架結構
- 810A:近端經覆蓋部分
- 810B:遠端未覆蓋部分
- 900:導管
- 901:近端
- 902:遠端
- 906:管腔軸
- 908:頂端部分
- 910:球囊結構
- 912:管腔軸906之一部分

- 920: 支架結構
- 922: 在球囊結構910與支架結構920之間的部分
- 1000: 導管
- 1001: 近端
- 1002: 遠端
- 1004: 內部管腔軸
- 1006: 外部管腔軸
- 1008: 頂端部分
- 1010: 支架結構
- 1100: 例示性導管
- 1101: 近端
- 1102: 遠端
- 1104: 外部管腔軸
- 1106: 內部管腔軸
- 1110: 球囊結構
- 1112: 內部管腔軸1106之一部分
- 1114: 孔口
- 1200: 例示性導管
- 1201: 近端
- 1202: 遠端
- 1204: 外部管腔軸
- 1206: 內部管腔軸
- 1210: 管塞

1210A:內部部分
1210B:可撓性外部部分
1300:例示性導管
1301:近端
1302:遠端
1304:外部管腔軸
1306:內部管腔軸
1310:楔形件
1400:例示性導管
1402:外部管腔軸
1404:內部管腔軸
1406:支架結構
1450:血管或腔室
1452:動脈血管
1500:例示性導管
1502:遠端
1504:內部管腔軸
1506:外部管腔軸
1510:編織盤
1600:例示性導管
1601:近端
1602:遠端
1606:管腔軸

- 1606A:近端部分
- 1606B:遠端部分
- 1800:LRP系統
- 1810:腎
- 1812:膀胱
- 1820:膜式氧合裝置
- 1822:第一導管
- 1824:第二導管
- 1826:第三導管
- 1830:血氣分析(BGA)監測器
- 1840:流體源
- 1841:流體管線
- 1842:流量量測裝置
- 1844:壓力線及控制台
- 1846:ECMO泵控制台
- 1848:真空泵
- 1852:出口
- 1854:進口
- 1856:熱交換器
- 1858:遞送泵
- 1860:儲槽
- 1862:感測器
- 1864:感測器

1866:膜式氧合器

1868:氣體摻混機

1870:氣體調節器

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種灌流患者之腎的方法，該方法包含：

將灌流導管定位於該腎之腎動脈中；

將回收導管定位於該腎之腎靜脈中，其中該灌流導管及該回收導管連同膜式氧合裝置一起形成穿過該腎之閉合灌流迴路；及

使灌流液流過該閉合迴路，其中該閉合迴路將穿過該腎之灌流自該患者之全身循環分離。

【請求項2】

如請求項1之方法，其進一步包含：

將回收球囊導管定位於該患者之膀胱中以量測在該灌流期間之尿液排泄量。

【請求項3】

如請求項1之方法，其進一步包含：

將額外回收導管定位於該患者之兩個輸尿管中之每一個中，以有差異地量測該患者之兩個腎的排泄量。

【請求項4】

如請求項1之方法，其中將該灌流導管定位於該腎動脈中包含經由股動脈定位該灌流導管。

【請求項5】

如請求項1之方法，其中將該回收導管定位於該腎靜脈中包含經由股靜脈定位該灌流導管。

【請求項6】

如請求項1之方法，其中使該灌流液流過該閉合迴路包含：

在該灌流液經由該灌流導管進入該腎動脈之前，使該灌流液通過該膜式氧合裝置。

【請求項7】

如請求項6之方法，其進一步包含：

將額外灌流液添加至該閉合迴路中或藉由約5%至約50% v/v鹽水溶液稀釋該灌流液以計算膀胱排泄體積。

【請求項8】

如請求項1之方法，其中該閉合迴路將該灌流液之流動速率在每個腎約500 mL/min/1.73 m²體表面積至每個腎約650 mL/min/1.73 m²體表面積維持約15分鐘至約4小時。

【請求項9】

如前述請求項中任一項之方法，其進一步包含在該回收導管處施加負壓，其中該負壓在約-100 mmHg至0 mmHg範圍內。

【請求項10】

如前述請求項中任一項之方法，其中該灌流導管及該回收導管中之一或多者係經皮引入。

【請求項11】

如前述請求項中任一項之方法，其中該灌流液包含自體血液、來自供體之相配血液或其組合。

【請求項12】

如請求項11之方法，其中血液組分係根據一或多個參數選擇，其中該一或多個參數包含存在或不存在所選抗體。

【請求項13】

如前述請求項中任一項之方法，其中該灌流維持約15分鐘、30分鐘、45分鐘、1小時、2小時、3小時、4小時或在其間界定之任何範圍內的持續時間。

【請求項14】

如前述請求項中任一項之方法，其中該灌流液包含治療性聚核苷酸序列。

【請求項15】

如請求項14之方法，其中該治療性聚核苷酸序列係存在於一或多個病毒載體中。

【請求項16】

如請求項15之方法，其中該一或多個病毒載體係選自由以下組成之群：腺相關病毒、腺病毒、反轉錄病毒、單純疱疹病毒、牛乳頭狀瘤病毒、慢病毒載體、牛痘病毒、多瘤病毒、仙台病毒(sendai virus)、正黏液病毒、副黏液病毒、乳多泡病毒、微小RNA病毒、痘病毒、 α 病毒、其變異體及其組合。

【請求項17】

如請求項15之方法，其中該病毒載體係腺相關病毒(AAV)。

【請求項18】

如請求項17之方法，其中該AAV係以下一或多種：AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、其變異體及其組合。

【請求項19】

如請求項14至17中任一項之方法，其中該治療性聚核苷酸序列包含啟動子。

【請求項20】

如前述請求項中任一項之方法，其中經由該閉合迴路循環之血液中小於約20% v/v、小於約15% v/v、小於約10% v/v、小於約5% v/v、小於約4% v/v、小於約3% v/v、小於約2% v/v、小於約1% v/v、小於約0.5% v/v或實質上不會(0% v/v)漏出該閉合迴路之外。

【請求項21】

如前述請求項中任一項之方法，其中經由該閉合迴路循環之灌流液中小於約20% v/v、小於約15% v/v、小於約10% v/v、小於約5% v/v、小於約4% v/v、小於約3% v/v、小於約2% v/v、小於約1% v/v、小於約0.5% v/v或實質上不會(0% v/v)漏出該閉合迴路之外。

【請求項22】

如前述請求項中任一項之方法，其中該灌流導管或該回收導管中之一或多者係球囊導管。

【請求項23】

一種將患者之腎自該患者之全身循環分離的方法，該方法包含：

將灌流導管定位於該腎之腎動脈中；

將回收導管定位於該腎之腎靜脈中，其中灌流導管及該回收導管連同膜式氧合裝置一起形成穿過該腎之閉合灌流迴路；及

使氧合血液流過該閉合迴路，其中該閉合迴路將該腎自該患者之全身循環分離。

【請求項24】

如請求項23之方法，其進一步包含：

將腎毒性藥物引入該患者之全身循環中，其中該腎毒性藥物對該腎之暴露相較於在無該閉合迴路存在下投與該腎毒性藥物之情形得到防止或減少。

【請求項25】

一種在與患者之腎以流體方式耦合時執行該腎之局部區域灌流的系統，該系統包含：

適合於插入該腎之腎動脈中的灌流導管；

適合於插入該腎之腎靜脈中的回收導管；

以流體方式耦合至該灌流導管、該回收導管及氧氣源之膜式氧合裝置，其中當將該灌流導管插入該腎動脈中且將該回收導管插入該腎靜脈中時，該灌流導管、該回收導管及該膜式氧合裝置一起形成穿過該腎之閉合迴路，將該腎自該患者之全身循環分離；及

經構形用於驅動流體流穿過該灌流導管及該回收導管之泵。

【請求項26】

如請求項25之系統，其進一步包含：

適合於插入該患者之膀胱中以量測在該灌流期間之尿液排泄量的回收球囊導管。

【請求項27】

如請求項25之系統，其進一步包含：

適合於插入該患者之兩個輸尿管中的每一個中以有差異地量測該患者之兩個腎之排泄量的額外回收導管。

【請求項28】

如請求項25之系統，其中該膜式氧合裝置包含經構形用於在灌流期間將藥物注入該閉合迴路中的儲槽。

【請求項29】

如請求項25之系統，其中該系統適合於將穿過該閉合迴路之灌流液的流動速率在每個腎約500 mL/min/1.73 m²體表面積至每個腎約650 mL/min/1.73 m²體表面積維持約15分鐘至約4小時。

【請求項30】

一種用於執行患者之腎之局部區域灌流的系統，其包含：

插入該腎之腎動脈中的灌流導管；

插入該腎之腎靜脈中的回收導管；及

以流體方式耦合至該灌流導管、該回收導管及氧氣源之膜式氧合裝置，其中該灌流導管、該回收導管及該膜式氧合裝置連同該腎一起形成穿過該腎之閉合迴路，使該腎自該患者之全身循環分離；及

經構形用於驅動流體流經由該灌流導管進入該腎中且經由該回收導管離開該腎之泵。

【請求項31】

如請求項30之系統，其進一步包含：

插入該患者之膀胱中以量測在該灌流期間之尿液排泄量的回收球囊導管。

【請求項32】

如請求項30之系統，其進一步包含：

插入該患者之兩個輸尿管中的每一個中以有差異地量測該患者之兩個腎之排泄量的額外回收導管。

【請求項33】

如請求項30之系統，其中該膜式氧合裝置包含經構形用於在灌流期間將藥物注入該閉合迴路中的儲槽。

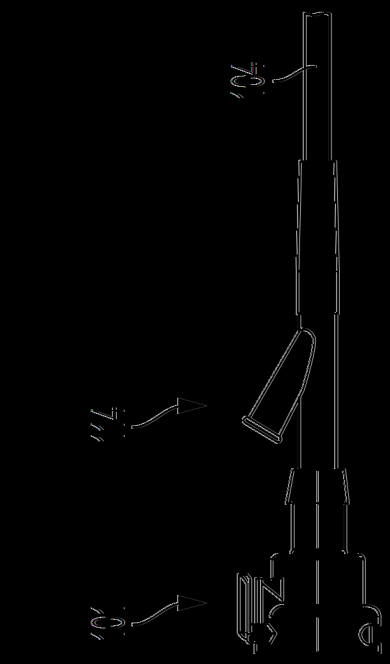
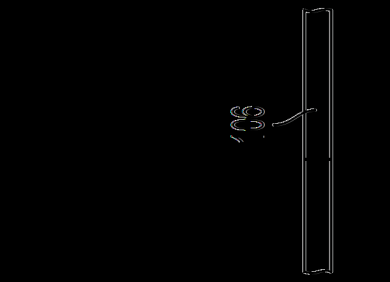
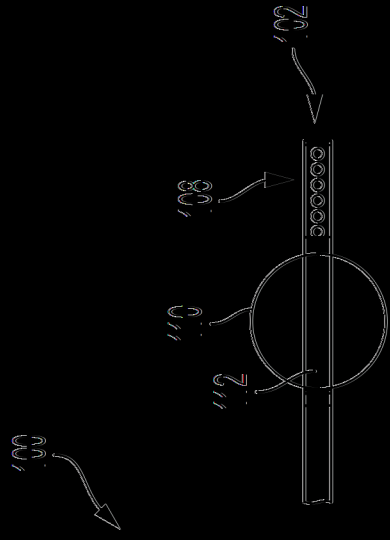
【請求項34】

如請求項30之系統，其中該系統適合於將穿過該閉合迴路之灌流液的流動速率在每個腎約500 mL/min/1.73 m²體表面積至每個腎約650 mL/min/1.73 m²體表面積維持約15分鐘至約4小時。

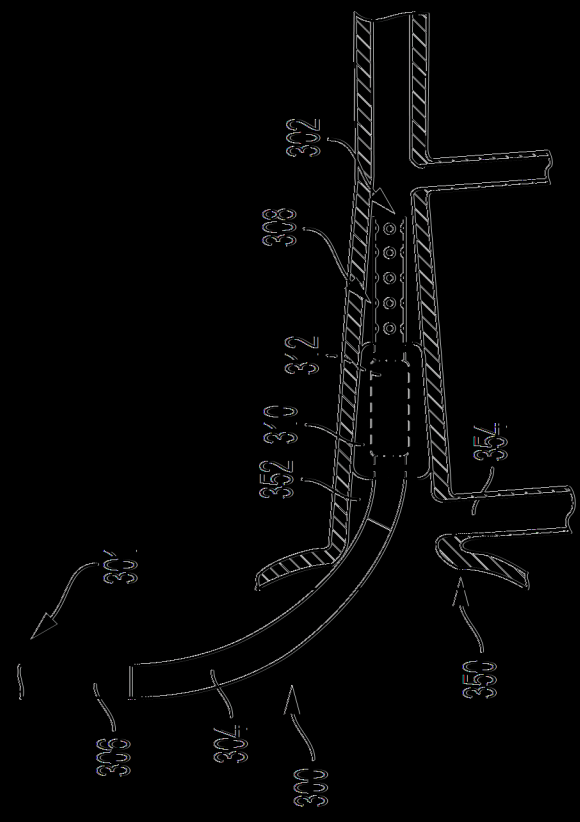
【請求項35】

如請求項25至34中任一項之系統，其經構形用於執行如請求項1至24之方法中之任一者。

(發明圖式)



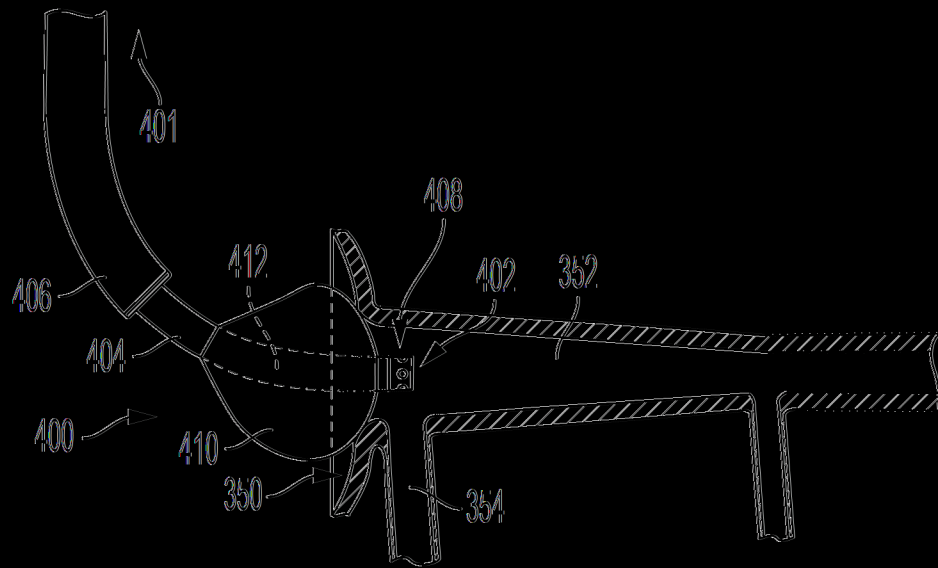
【圖1】



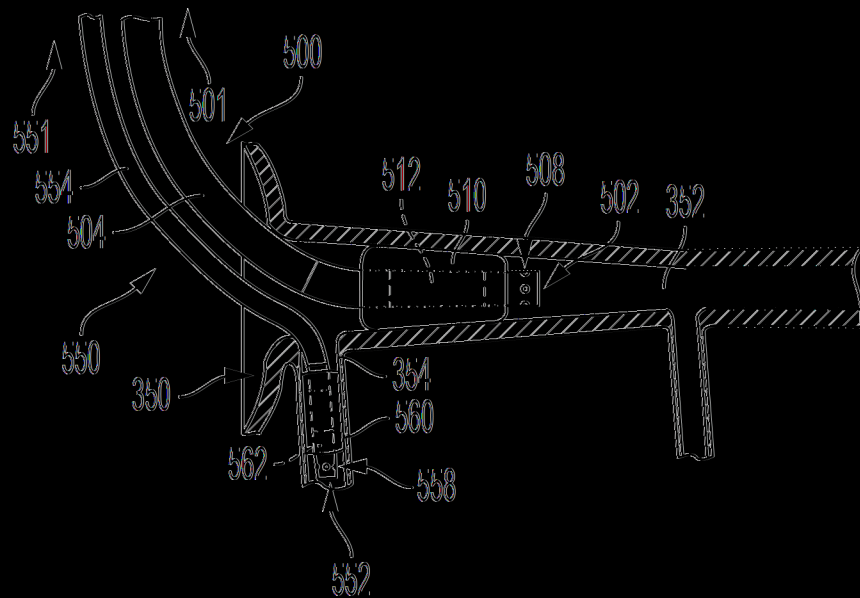
【圖4】



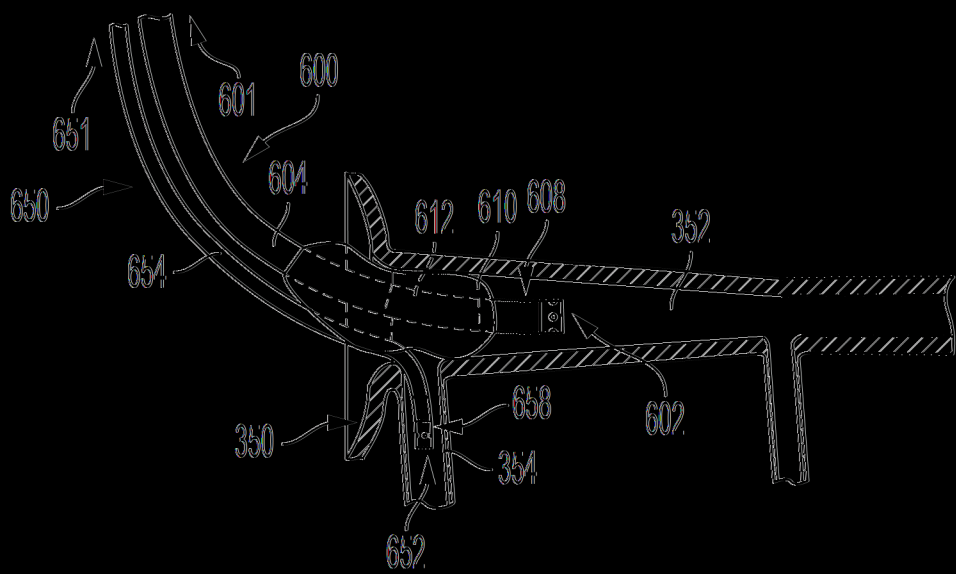
【圖5】



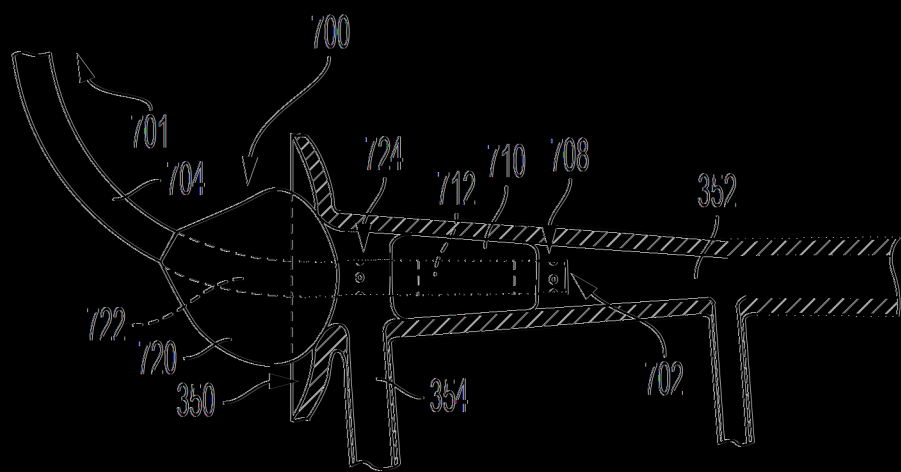
(圖4)



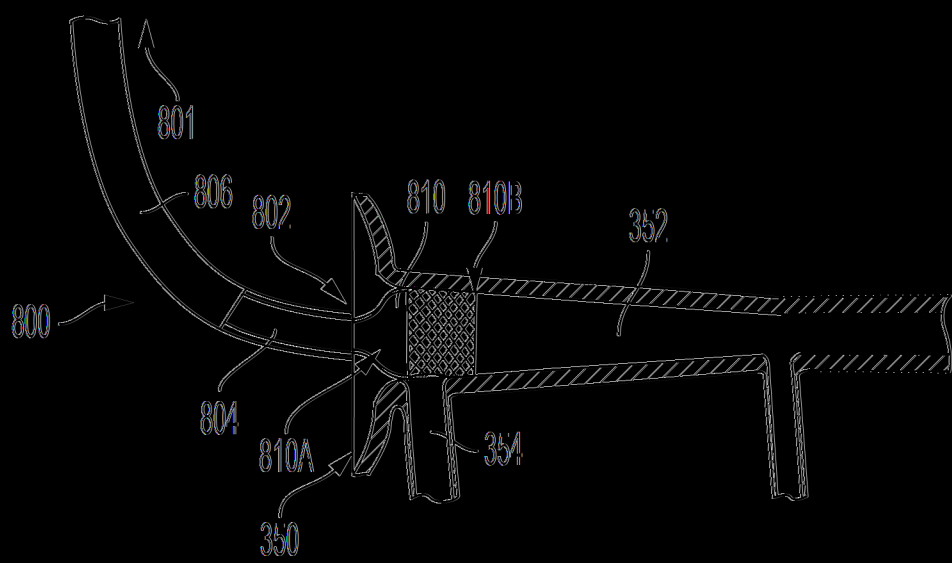
(圖5)



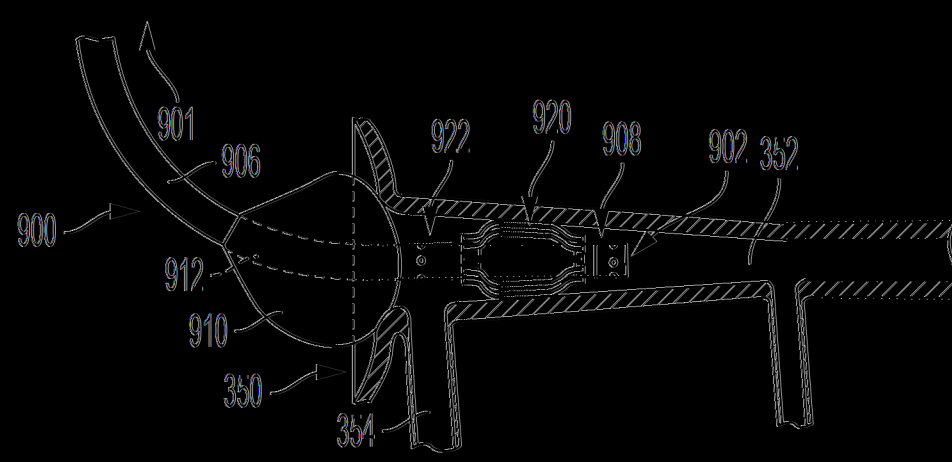
|(圖6)|



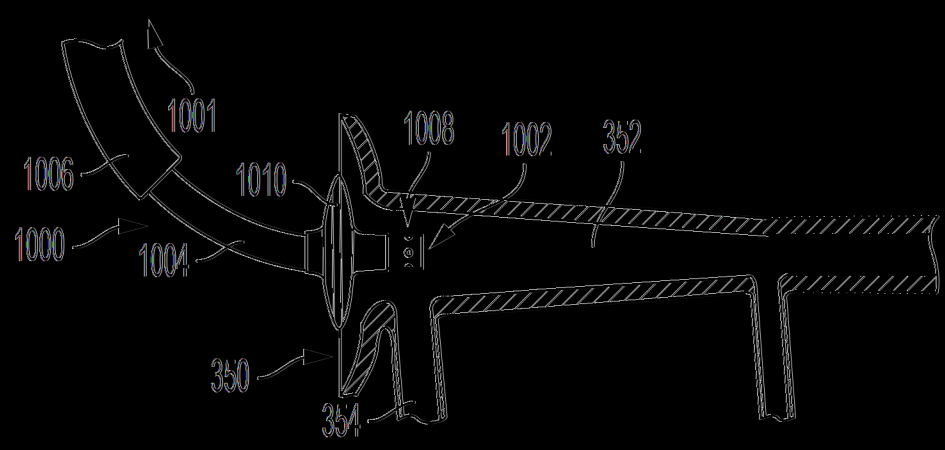
|(圖7)|



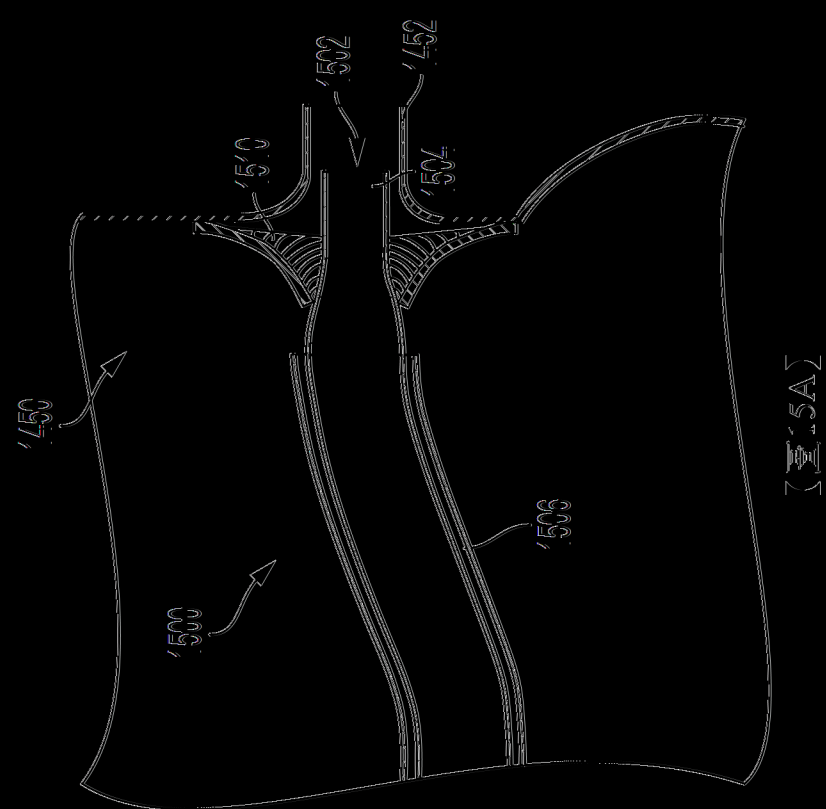
(圖8)



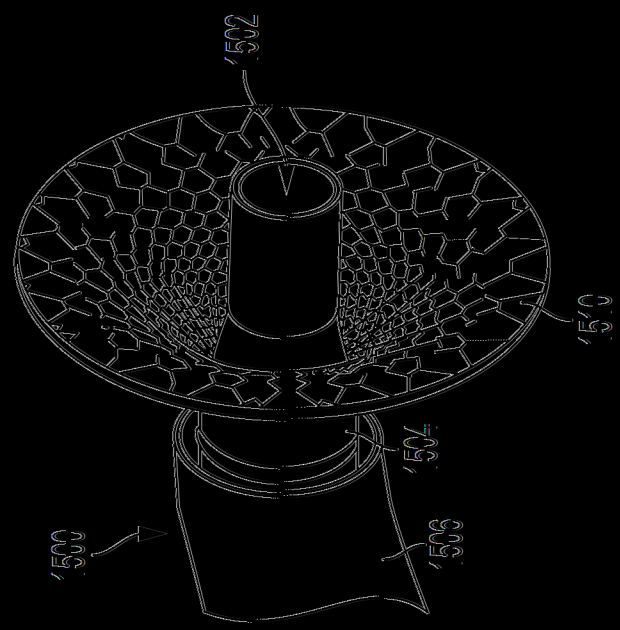
(圖9)



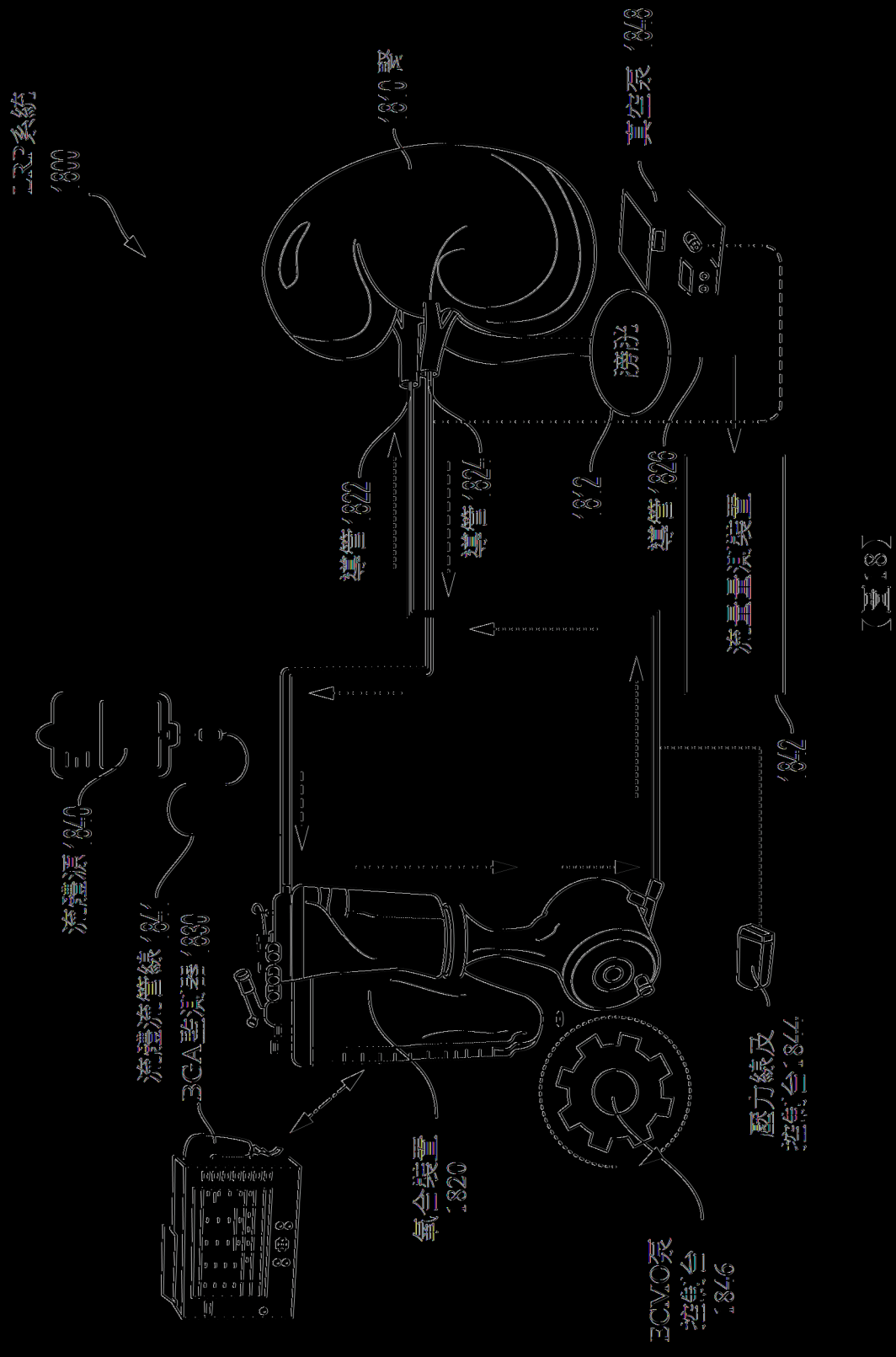
(圖10)



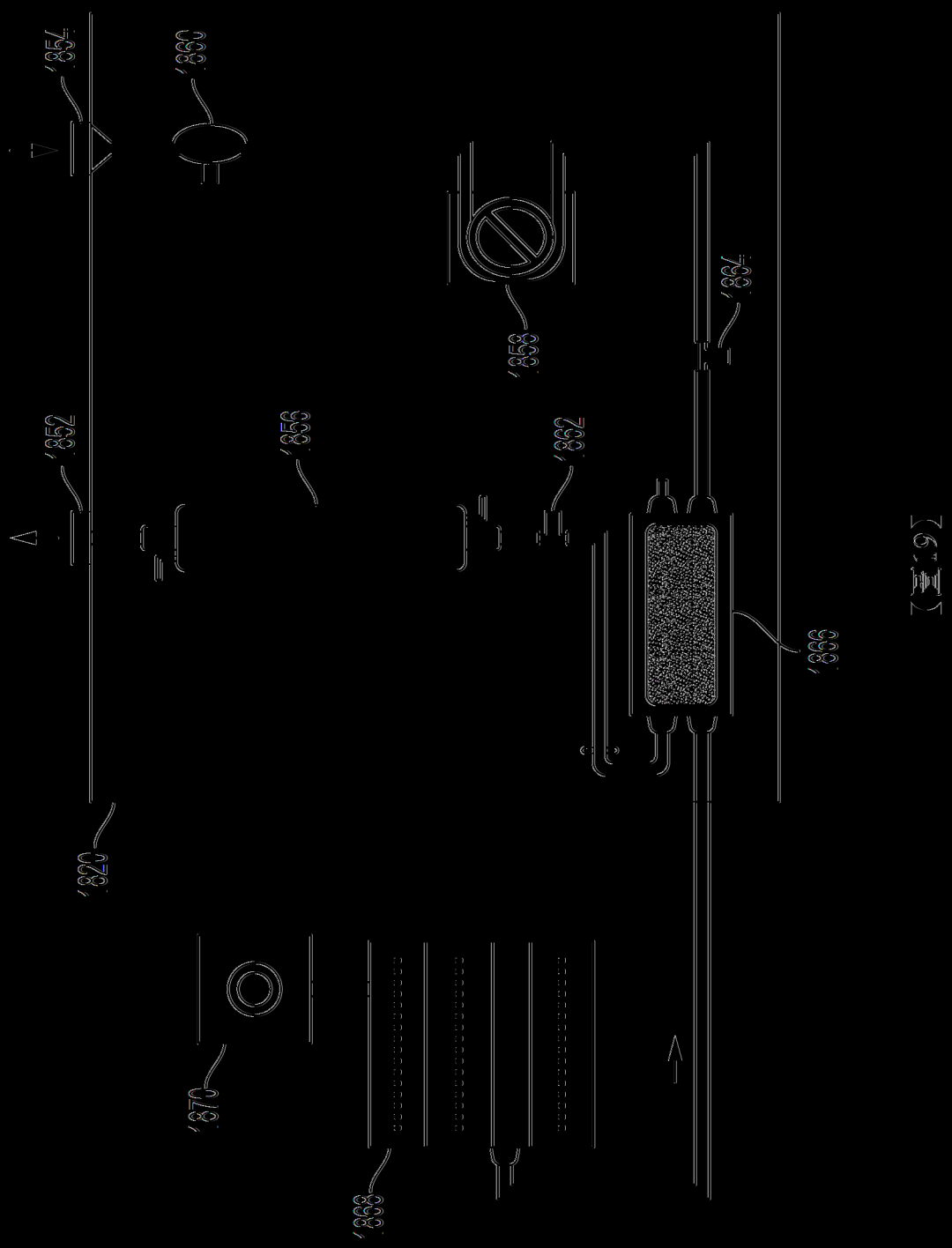
[圖 5A]



[圖 5B]



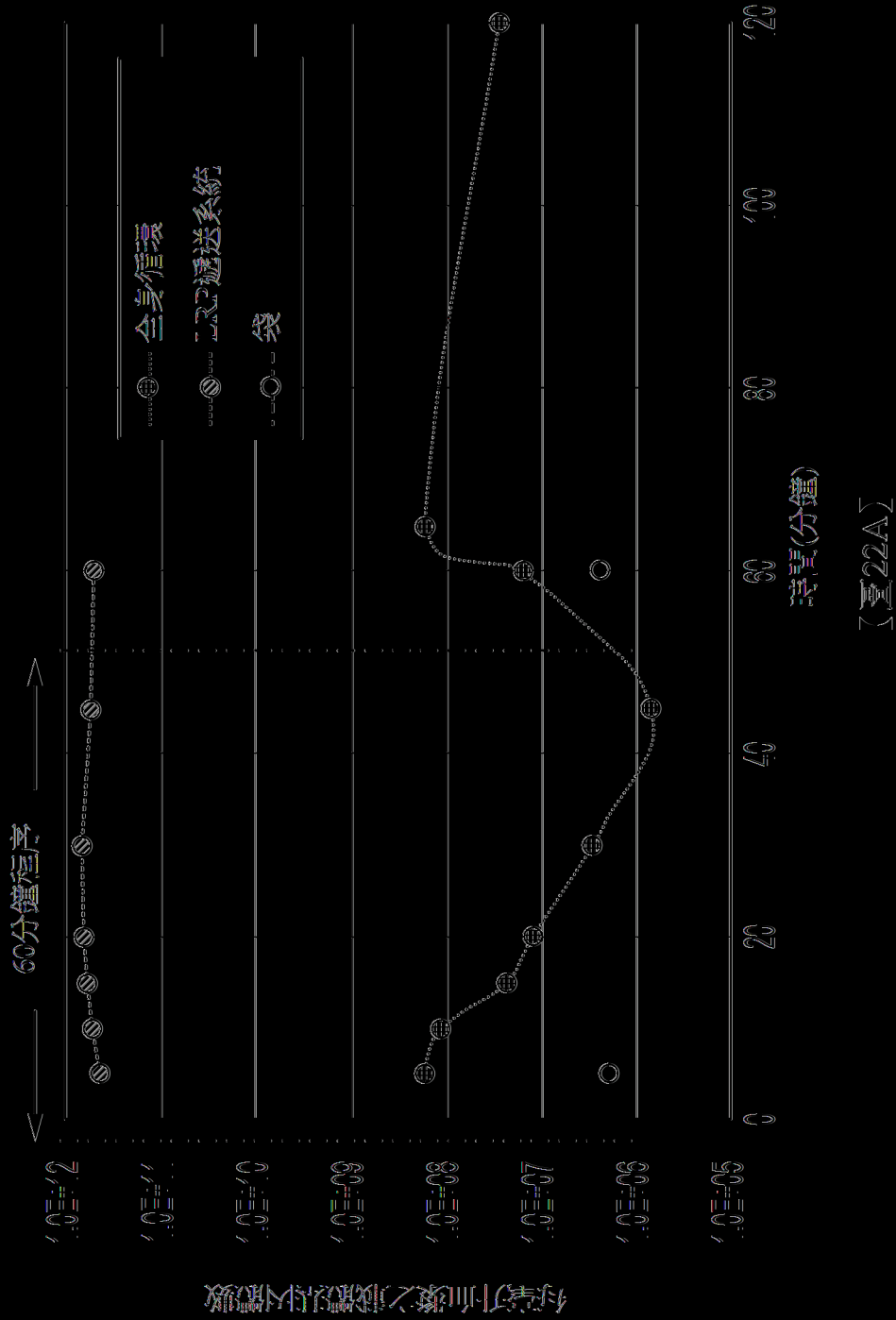
[圖 8]

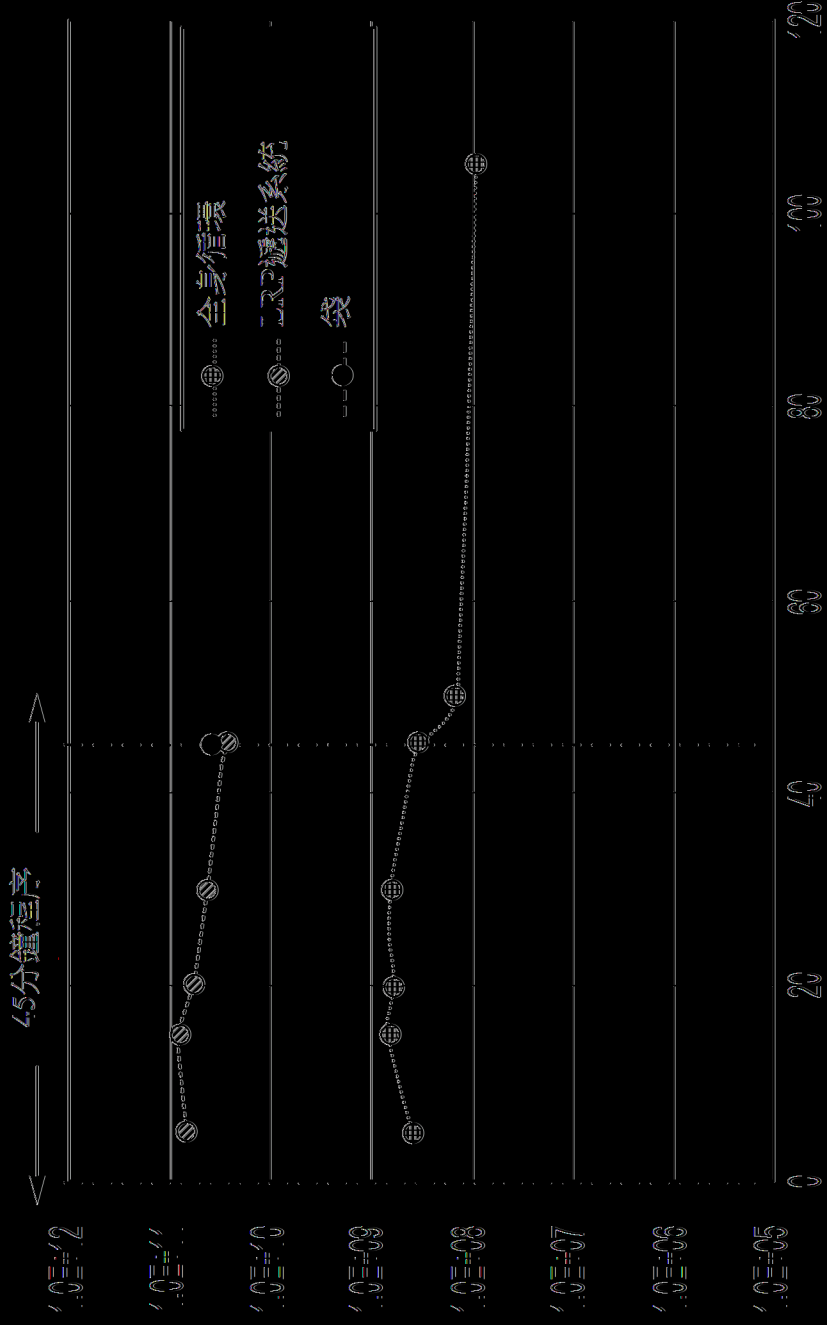


【6】



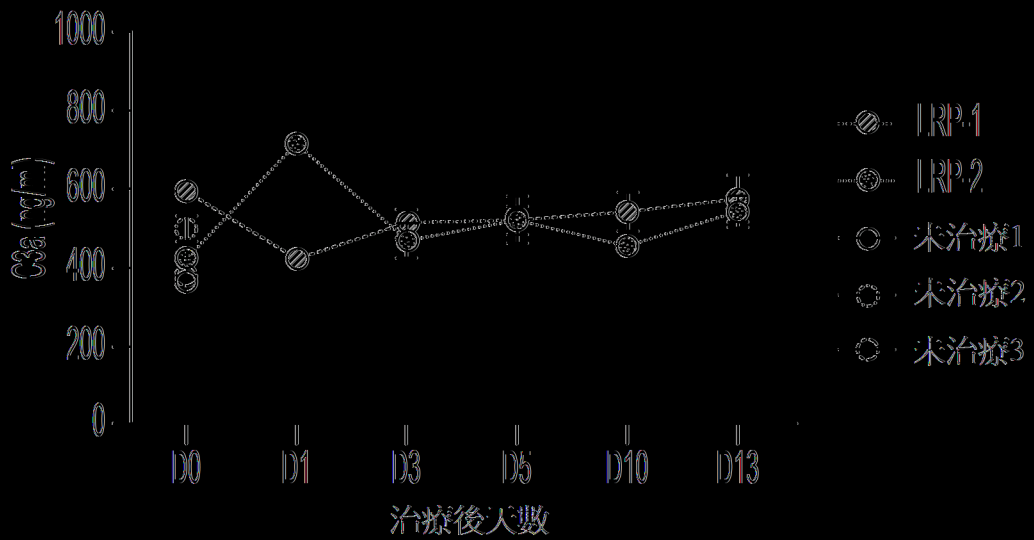
(圖20)



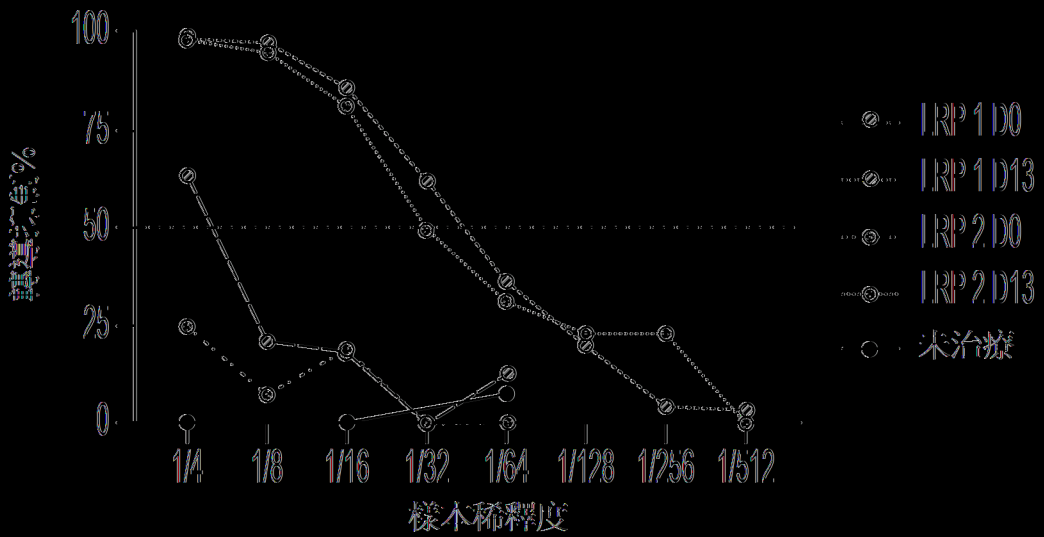


時間(分鐘)

[圖22B]



[(圖)23A]



[(圖)23B]

