

(19) 日本国特許庁 (JP)

## (12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-509505

(P2016-509505A)

(43) 公表日 平成28年3月31日 (2016. 3. 31)

| (51) Int.Cl.                    | F I                  | テーマコード (参考) |
|---------------------------------|----------------------|-------------|
| <b>A 6 1 B 5/026 (2006.01)</b>  | A 6 1 B 5/02 8 0 0 Z | 4 C 0 1 7   |
| <b>A 6 1 B 5/00 (2006.01)</b>   | A 6 1 B 5/00 G       | 4 C 0 3 8   |
| <b>A 6 1 B 5/1455 (2006.01)</b> | A 6 1 B 5/14 3 2 2   | 4 C 1 1 7   |
| <b>A 6 1 B 10/00 (2006.01)</b>  | A 6 1 B 10/00 K      |             |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 51 頁)

|               |                              |            |                                                                                     |
|---------------|------------------------------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) 出願番号     | 特願2015-554205 (P2015-554205) | (71) 出願人   | 515202863<br>オスロ ユニヴェルジテットサイケフス<br>ホーエフ<br>ノルウェー、エヌーO424 オスロ、ニ<br>ーダレン、ポストボックス 4950 |
| (86) (22) 出願日 | 平成26年1月28日 (2014. 1. 28)     | (74) 代理人   | 110000040<br>特許業務法人池内・佐藤アンドパートナ<br>ーズ                                               |
| (85) 翻訳文提出日   | 平成27年9月24日 (2015. 9. 24)     | (72) 発明者   | クヴェルネボ、クヌート<br>ノルウェー、エヌーO374 オスロ、レ<br>ンホーゲン アレ 3エー                                  |
| (86) 国際出願番号   | PCT/EP2014/051661            | F ターム (参考) | 4C017 AA11 AA12 AB10 AC26 EE15<br>4C038 KK01 KL05 KL07                              |
| (87) 国際公開番号   | W02014/114814                |            |                                                                                     |
| (87) 国際公開日    | 平成26年7月31日 (2014. 7. 31)     |            |                                                                                     |
| (31) 優先権主張番号  | 1301490.7                    |            |                                                                                     |
| (32) 優先日      | 平成25年1月28日 (2013. 1. 28)     |            |                                                                                     |
| (33) 優先権主張国   | 英国 (GB)                      |            |                                                                                     |
| (31) 優先権主張番号  | 1312796.4                    |            |                                                                                     |
| (32) 優先日      | 平成25年7月17日 (2013. 7. 17)     |            |                                                                                     |
| (33) 優先権主張国   | 英国 (GB)                      |            |                                                                                     |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 循環不全の評価

## (57) 【要約】

本発明は、対象における循環不全を識別または監視する方法であって、この方法が、以下のパラメータ：

- (a) 機能性毛細血管密度 (FCD)、
- (b) FCDの不均一性、
- (c) 毛細血管流速、
- (d) 毛細血管流速の不均一性、
- (e) 微小血管赤血球の酸素飽和度 ( $SmvO_2$ )、

及び

- (f)  $SmvO_2$ の不均一性、
- に関して対象の微小循環を評価することを含み、

パラメータ (a) ~ (d) が顕微鏡法によって視覚的に評価され、パラメータ (e) 及び (f) が拡散反射分光法 (DRS) によって評価される、方法、並びにこのような方法を実施するように設計された装置及びソフトウェアに関する。

【選択図】 図 8

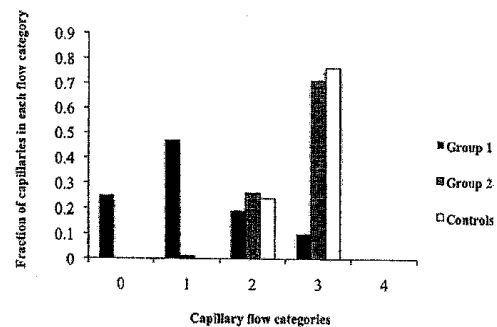


Fig. 8

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

対象における循環不全を識別または監視する方法であって、前記方法が、以下のパラメータ：

- (a) 機能性毛細血管密度 (FCD)、
- (b) FCD の不均一性、
- (c) 毛細血管流速、
- (d) 毛細血管流速の不均一性、
- (e) 微小血管赤血球の酸素飽和度 ( $SmvO_2$ )、及び
- (f)  $SmvO_2$  の不均一性、

に関して前記対象の微小循環を評価することを含み、  
パラメータ (a) ~ (d) が顕微鏡法によって視覚的に評価され、パラメータ (e) 及び (f) が拡散反射分光法 (DRS) によって評価される、前記方法。

**【請求項 2】**

皮膚、結膜、または口腔粘膜の微小循環が評価される、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

皮膚の微小循環が評価される、請求項 1 または 2 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 4】**

前記評価が、ビデオ光学顕微鏡、直交偏光スペクトル (OPSS) 画像化、もしくはサイドストリーム暗視野 (SDF) 画像化、及び / またはそれらから得られた画像の使用を含む、請求項 2 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記顕微鏡が無偏光光を用いる、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 6】**

パラメータ (a) ~ (d) のうちの 1 つ以上が、コンピュータ支援ビデオ顕微鏡法 (CAVM) 及び / またはそれから得られた画像を用いて評価される、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 7】**

前記方法が、前記評価の結果と基準値との比較を更に含む、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 8】**

循環不全を有する対象の予後を立てる方法であって、前記方法が、以下のパラメータ：

- (a) 機能性毛細血管密度 (FCD)、
- (b) FCD の不均一性、
- (c) 毛細血管流速、
- (d) 毛細血管流速の不均一性、
- (e) 微小血管赤血球の酸素飽和度 ( $SmvO_2$ )、及び
- (f)  $SmvO_2$  の不均一性、

に関して前記対象の微小循環を評価することを含み、  
パラメータ (a) ~ (d) が顕微鏡法によって視覚的に評価され、パラメータ (e) 及び (f) が拡散反射分光法 (DRS) によって評価される、前記方法。

**【請求項 9】**

循環不全を有する、またはそれを有する疑いのある対象についての臨床関連情報を提供する方法であって、前記方法が、以下のパラメータ：

- (a) 機能性毛細血管密度 (FCD)、
- (b) FCD の不均一性、
- (c) 毛細血管流速、
- (d) 毛細血管流速の不均一性、
- (e) 微小血管赤血球の酸素飽和度 ( $SmvO_2$ )、及び
- (f)  $SmvO_2$  の不均一性、

に関して前記対象の微小循環を評価することを含み、パラメータ ( a ) ~ ( d ) が顕微鏡法によって視覚的に評価され、パラメータ ( e ) 及び ( f ) が拡散反射分光法 ( D R S ) によって評価される、前記方法。

【請求項 1 0】

前記微小血管系による酸素抽出、及び任意に前記抽出の不均一性の測定を更に含む、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 1】

前記方法が、前記対象に対する治療介入の有効性を評価するために採用される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 1 2】

パラメータ ( a ) ~ ( f ) の前記評価がオフラインで行われる、請求項 1 ~ 1 1 のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 3】

顕微鏡、分光計、及びコンピュータを備える、対象の微小循環を評価するための装置であって、前記コンピュータが、前記顕微鏡を用いて得られた微小循環の画像 ( 複数可 ) 及び前記分光計からの  $S m v O_2$  に関するデータを受信するように、かつ任意に、前記画像 ( 複数可 ) 及びデータを処理して病態に関連した特性 / パラメータを識別及び / または決定するように配置され、前記画像 ( 複数可 ) 及びデータが、以下のパラメータ：

- ( a ) 機能性毛細血管密度 ( F C D )、
  - ( b ) F C D の不均一性、
  - ( c ) 毛細血管流速、
  - ( d ) 毛細血管流速の不均一性、
  - ( e ) 微小血管赤血球の酸素飽和度 (  $S m v O_2$  )、及び
  - ( f )  $S m v O_2$  の不均一性、
- に関する、前記装置。

【請求項 1 4】

顕微鏡を用いて得られた新生児の微小循環の画像 ( 複数可 ) 及び分光計からの  $S m v O_2$  に関するデータを受信するように、かつ前記画像 ( 複数可 ) 及びデータを処理して病態に関連した特性 / パラメータを識別及び / または決定するように配置されたコンピュータを備える、対象の微小循環を評価するための装置であって、前記画像 ( 複数可 ) 及びデータが、以下のパラメータ：

- ( a ) 機能性毛細血管密度 ( F C D )、
  - ( b ) F C D の不均一性、
  - ( c ) 毛細血管流速、
  - ( d ) 毛細血管流速の不均一性、
  - ( e ) 微小血管赤血球の酸素飽和度 (  $S m v O_2$  )、及び
  - ( f )  $S m v O_2$  の不均一性、
- に関する、前記装置。

【請求項 1 5】

加重合計または加重平均等の、前記パラメータに対応する値及び / またはそれらに基づく値を組み合わせて出力するための手段を更に備える、請求項 1 3 または 1 4 に記載の装置。

【請求項 1 6】

前記画像処理及び / または請求項 1 3 ~ 1 5 のいずれか 1 項に定義される出力ステップをコンピュータに実行させる命令を含む、ソフトウェア。

【請求項 1 7】

対象の微小循環の状態を測定し、その後、前記測定に基づいて予後を決するための請求項 1 3 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の装置または請求項 1 6 に記載のソフトウェアの使用。

【請求項 1 8】

10

20

30

40

50

対象における循環不全を識別または監視するコンピュータ実装方法であって、前記方法が、以下のパラメータ：

- (a) 機能性毛細血管密度 (FCD)、
- (b) 前記 FCD の不均一性、
- (c) 毛細血管流速 (FCV)、
- (d) FCV の不均一性、
- (e) 微小血管赤血球の酸素飽和度 ( $S_{mvO_2}$ )、及び
- (f)  $S_{mvO_2}$  の不均一性、

に関して前記対象の微小循環を評価することを含み、パラメータ (a) ~ (d) が顕微鏡法によって視覚的に評価され、パラメータ (e) 及び (f) が拡散反射分光法 (DRS) によって評価される、前記方法。 10

#### 【請求項 19】

前記対象が、

(i) 体外膜型酸素供給 (ECMO) 及び / または体外生命維持処置 (ECLS) 等の集中治療が検討されているか、またはそれを受けている、あるいは

- (ii) 子癇前症を患っている、あるいは
- (iii) 敗血症を患っている、あるいは
- (iv) 慢性または急性心不全を患っている、あるいは
- (v) 慢性皮膚創傷を有する、あるいは
- (vi) 窒息状態である、あるいは
- (vii) 急性または慢性呼吸不全を有する、あるいは
- (viii) 急性または慢性肢虚血を有する、
- (ix) 臓器移植を受けている、
- (x) 肢端紅痛症を有する、

20

請求項 1 ~ 18 のいずれかに記載の方法、装置、ソフトウェア、または使用。

#### 【発明の詳細な説明】

#### 【技術分野】

#### 【0001】

本発明は、対象の微小循環の分析に関し、具体的には、このような分析の方法及びそのための装置、並びにそれによって得られたデータの使用に関する。例えば、本発明の手段によって得られたデータは、循環不全の症状を示す対象の予後の評価、及び特許内の循環不全の治療の効果を評価するために用いられ得る。本発明の方法はまた、循環系の問題の早期の警報を、その臨床上の診断の前に提供し得る。 30

#### 【背景技術】

#### 【0002】

循環不全は、心血管系が身体の細胞の代謝性の要求に見合うだけの十分な量の酸素を供給できないこととして定義することができる。臨床医学においては、残念ながら、組織酸素付与を監視するための至適基準は存在しない (Arnaldo Dubin, Rev Bras Ter Intensiva, 2011; 23(3): 249 - 251)。

#### 【0003】

血液の循環は、心臓の左側から分岐する動脈を通り、身体の全ての部分における微視的な血管に至り、そこを通過し、静脈を介して心臓の右側へと戻り、肺を通して流れ続け左心に戻るといふ、その連続的な流れを指すので、心臓、肺、及び輸送血管、並びに微小循環における疾患プロセスは、循環不全を引き起こし得る。これらの状態は、急性的に、または少しずつ進展し得る。酸素運搬の欠乏は、細胞の機能障害、または死につながり得、臓器不全または個体の死へと進行し得る。循環不全は、局所的、または全身的であり得る。全身性 (すなわち全身的) かつ臨床的に明白な不全、すなわちショックは、中枢性 (例えば、心不全または多血症によって引き起こされる)、或いは末梢性 (例えば、敗血症によって引き起こされる分布不全) であり得る。

40

#### 【0004】

50

循環不全の経済的な重要性は大きいものの、算出は難しい。利用可能なリソースを、最高の全体的な生存の機会と共に患者に配分することができれば、非常に有益であろう。

【 0 0 0 5 】

例えば、急性心不全は、中枢の循環動態、及び結果的に身体全体の微小血管の灌流を損なう。死亡率は、50～80%の間で推移する。静動脈体外膜型酸素供給（va-ECMO）が、回復または他の最終治療への橋渡しとして使用され得る。しかしながら、心臓性ショックに対してECMOで治療される成人患者のうち、およそ3分の1しか助からない。ECMOの治療は資源の要求が高いものであり、その使用の根底にある、改善された技術的解決策及び中枢の循環動態、すなわち改善された血圧及び心拍出量が生存率を改善させる、という仮説は、完全に有効ではあり得ない。ECMOの患者の死は、多くの場合、敗血症、多臓器不全、または出血性合併症によってもたらされる。

10

【 0 0 0 6 】

生命を脅かし得る全身性循環不全と同様に、肢端紅痛症等の局所的な循環不全（例えば、冒された臓器が非常に重要である場合、または冒された部位が壊死し敗血症につながる場合、これ自体が命に関わり得る）が存在し得る。信頼できかつ容認されたパラメータ、またはパラメータの組で、微小循環を評価し、生み出されたデータに則り臨床的判断を下すために確立されたものは1つも無い。

【 0 0 0 7 】

動脈及び静脈循環の臨床検査は、貴重な情報をもたらし得るが、結論は多くの場合、微小血管機能の結論にとって有効であるように誤って外挿される。血液ガス分析、並びに血液試料内の代謝産物、血圧測定、及び心拍出量測定の評価、更に画像診断技術等の多くの技術が、循環不全の診断、及びその治療を手引きするために使用される。これらの技術はデータを収集し、心臓、静脈、及び動脈の機能、並びに身体の代謝機能の平均指数を評価する。しかしながら、臨床的評価と同様の問題が、これらの測定にも当てはまり、つまり基準スペクトル内の測定値は、重大な、全身性または局所性循環不全と共存し得る。

20

【 0 0 0 8 】

課題はしたがって、細胞への酸素運搬の評価に使用できる、再現性があり、かつ関連性のある微小血管のパラメータを測定するための技術を改善することであり、これはこの酸素運搬に障害が起これば細胞は機能せず最終的には死んでしまうためである。

【 0 0 0 9 】

循環不全の診断及び評価のための、無数の異なるパラメータ及び測定技術が、上に言及されたように存在する。これらは、例えば動脈血中の酸塩基平衡、または漿液中の乳酸濃度を決定するための、血液検査を含み得る。動脈及び静脈循環が測定され得、ここでの技術としては、造影剤を用いた画像診断（血管造影法、静脈撮影法、及び磁気共鳴（MR）測定）、血液流速のドップラー超音波測定、並びに観血式及び非観血式血圧測定が挙げられる。

30

【 0 0 1 0 】

組織灌流は、例えばアイソトープウォッシュアウト、ドップラー超音波、またはレーザードップラー（LD）を通して評価され得る。様々な、測定され得る代謝性のパラメータもまた存在し、例えば近赤外分光法、あるいは酸素またはCO<sub>2</sub>の経皮拡散を用いた、筋肉または脳内の酸素飽和度の測定等である。

40

【 0 0 1 1 】

微小循環を観察するための顕微鏡技術としては、直交偏光スペクトル（OPS）画像化、サイドストリーム暗視野（SDF）画像化、及びコンピュータ支援ビデオ顕微鏡法（CAVM）が挙げられる。OPS及びSDFは、成人の皮膚からは良質な画像を生成するために使用することができず、舌及び潜在的には結膜からのみであるため、汎用性に制限がある。CAVMは、微小血管の即時的な検査を可能にするため、その形態、毛細管構造、及び流動様式を調べることができる。

【 0 0 1 2 】

可能性のあるパラメータ及び測定技術のこの群の中で、Dubin（上記）は、好適な

50

取り組み方は、(i) 舌下 SDF 画像診断、(ii) 筋肉  $\Delta StO_2$  (閉塞試験後の筋肉酸素飽和度の回復の傾斜) 及び組織カプリオメトリー (capriometry) を使用することだろうと結論付けている。

【0013】

Westerらは、Clin. Physiol. Funct. Imaging (2011) 31, pp 151 - 158において、豚の敗血症で、微小循環の評価にCAVM及びLDの組合せを使用し、また毛細血管周囲の出血を分析することの価値を報告した。

【0014】

Klijnらは、Clin. Chest Med. (2008) 29, pp 643 - 654において、微小循環の重症疾患の研究の考察で、OPS及びSDFに注目している。

10

【0015】

Awanらは、Microvascular Research (2011) 81, pp 245 - 251において、微小血管内に位置する赤血球の酸素飽和度を測定可能にする、拡散反射分光法 (DRS) の使用を説明している。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0016】

当分野は循環不全を調査するためのパラメータまたはツールに不足しているわけではないが、全身性または局所的な循環不全を評価するための信頼性のある試験または枠組み、好ましくは多くの患者グループ及び臨床シナリオにとって好適であるものに欠けている。容認された基準は皆無であり、データは矛盾し得る。

20

【課題を解決するための手段】

【0017】

本発明者は、6つの主要パラメータに依存する、循環不全または起こり得る循環不全を評価及び評定する方法を開発した。これらのパラメータはまとめると、臨床成果の予想に驚くほど有効であり、具体的には対象が循環不全を有するかどうか、並びに深刻な場合には対象の生存の可能性が高いか低いかを決定することにおいて有効である。それはまた、局所的な循環不全の評価において汎用的である。

【0018】

30

したがって、一態様において、本発明は、対象における循環不全を識別または監視する方法を提供し、この方法は、以下のパラメータ：

- (a) 機能性毛細血管密度 (FCD)、
- (b) FCDの不均一性、
- (c) 毛細血管流速、
- (d) 毛細血管流速の不均一性、
- (e) 微小血管赤血球の酸素飽和度 ( $SmvO_2$ )、及び
- (f)  $SmvO_2$ の不均一性、

に関して対象の微小循環を評価することを含み、

パラメータ (a) ~ (d) は、顕微鏡法によって視覚的に評価され、パラメータ (e) 及び (f) は、拡散反射分光法 (DRS) によって評価される。

40

【0019】

「循環不全」は、完全なる不全ではなく、通常、動脈内の赤血球の十分な酸素飽和度にもかかわらず、身体の臓器及び細胞への酸素及び栄養分の運搬が不十分であることを意味する。循環不全は、心血管系が身体の細胞の代謝性の要求に見合うだけの十分な酸素を供給できないこととして定義することができる。

【0020】

「微小血管系」または「微小循環」は、毛細血管、メタ細動脈、洞様血管、及び細静脈を含む。

【0021】

50

循環不全は、全身性または局所的であり得、本発明は全身性循環不全を識別するために特に好適かつ有用である。局所的な不全は、身体 of 全て（または実質的に全て）に影響するわけではないことを意味する。局所的な不全または起こり得る不全の例としては、肢虚血、肢端紅痛症、創傷、レイノー症候群、乾癬、網膜のアレルギー性炎、臓器移植（心臓以外）に関連する不全が挙げられる。全身性不全は、とりわけ、敗血症、マラリア、心臓性ショック、または外傷の後の出血（血液量不足）によるものであり得る。長年にわたる糖尿病もまた、全身性循環不全を伴い得る。

【0022】

微小循環の評価には、微小血管の形態及び生理の分析が含まれ、具体的には、微小循環の、周辺の細胞へ酸素及び／または栄養を運搬する能力を評価することを含む。したがって、本発明は、病理上の微小血管の形態及び生理が、芳しくない予後、及び具体的には循環不全、とりわけ命に関わる循環不全と相互に関連があるという仮説に基づく。それ故に、これらの微小血管の試験の結果は、適切な治療の選択を改善するため、及び／または療法を手引きもしくは監視するために使用され得る。識別された循環不全のための特定の治療の開始前及び開始後に繰り返して行われる評価からの傾向分析を用いて、治療に対する応答者が識別され得、不応答者に関しては治療が中止され得る。このようにして、ECLS（体外生命維持装置（これはECMOを含む））から恩恵を受ける対象が識別され得る。

10

【0023】

したがって、本発明はまた、ある特定の治療、具体的には生命維持処置の中止時期のための「停止基準」を提供し得る。

20

【0024】

全身的な循環の不全をもつ対象の場合、微小循環の局所状態は、全身の微小循環を良好に指し示すと考えられるため、微小循環の検査は、対象の局所的な領域（複数可）にのみ関すればよい。とはいえ、評価は複数の領域に関して下され得る。

【0025】

微小循環の評価はまた、毛細血管周囲の病理の分析、例えば毛細血管周囲の出血及び／または暗黒ハローが確認できるかどうかを決定すること等を含み得る。

【0026】

本発明は、皮膚の微小循環を分析することにより便宜的に実施され得る。しかしながらデータはまた、任意の利用しやすい微小血管床、例えば舌下の微小循環から、または結膜内の微小循環から獲得することができる。皮膚は爪郭を含み得るが、好ましくは含まない。

30

【0027】

ある特定の実施形態において、身体またはその部位は低酸素状態を経験しており、本発明の方法は、一時的な循環不全により引き起こされた低酸素状態が、例えば肢虚血の場合のように、不可逆的損傷に帰結したかどうかを調査するように働く。異なった組織は、異なった期間の低酸素状態に対処することができ、神経が最も敏感である。神経への損傷は限定要因であり得るものの、本発明によれば神経を監視することは必須ではなく、例えば皮膚等の微小血管系の分析は、損傷した手足の再灌流が成功したかどうかを含む、関連する臨床の、例えば予後の情報を提供し得る。

40

【0028】

微小循環の視覚的な評価は、画像を提供するための顕微鏡の使用、及び好ましくはビデオ顕微鏡の使用、及び／または（ビデオ）顕微鏡検査により得られた画像（静止及び／または動画）の使用を含む。顕微鏡は、好ましくはデジタルであり、好ましくはコンピュータ支援ビデオ顕微鏡法（CAVM）である。

【0029】

顕微鏡は好ましくは無偏光光を用いる。顕微鏡は、例えば従来型の顕微鏡用光源によって生成された、白色光等の多色光を好ましくは使用する。

【0030】

50

フィルム及び単一のフレーム（画像）は、必要であれば患者から離れて、オフラインで分析され得る。（ここで「オフライン」とは、例えば画像の採集が完了した後等、顕微鏡が対象と接触または接続されていないことを意味する。）したがってある特定の実施形態において、本発明の方法は、対象の微小循環を、その（ビデオ）顕微鏡検査画像の分析を通じて評価することを含む。

#### 【0031】

本発明はまた、対象における循環不全を識別または監視する方法を提供し、この方法は、対象の微小循環を、顕微鏡（本明細書において説明されるパラメータ（a）～（d））を用いて得られたその画像の分析によって、または対象の微小血管上で行われるDRSにより得られたスペクトルの分析によって、視覚的に評価することを含む。DRSスペクトルは、微小血管中の酸化または還元ヘモグロビンの量についての情報を提供する。この情報は、微小血管内の赤血球の酸素飽和度を推定するのに使用できる。

10

#### 【0032】

画像は好ましくは、皮膚（または舌、もしくは目の結膜等の他の組織）の表面へ、好ましくは液浸油を用いて、ビデオ顕微鏡を穏やかに適用することにより獲得され、画像は保存のためにコンピュータへ送られ、すなわち好ましくはコンピュータ支援ビデオ顕微鏡法（CAVM）が採用される。

#### 【0033】

本発明の方法は、循環不全の早期の指摘を提供し得る。あるいは、ある程度の循環不全をもっていると考えられる対象に対しては、本技術は予後的に使用され得る。

20

#### 【0034】

したがって、更なる態様から検討すると、本発明は循環不全を有する対象に関する予測を立てる方法を提供し、この方法は、以下のパラメータ：

- （a）機能性毛細血管密度（FCD）、
- （b）FCDの不均一性、
- （c）毛細血管流速、
- （d）毛細血管流速の不均一性、
- （e）微小血管赤血球の酸素飽和度（ $S_{m v O_2}$ ）、及び
- （f） $S_{m v O_2}$ の不均一性、

に関して対象の微小循環を評価することを含み、

30

パラメータ（a）～（d）は、顕微鏡法によって視覚的に評価され、パラメータ（e）及び（f）は、拡散反射分光法（DRS）によって評価される。

#### 【0035】

調査の結果が微小循環における重度の障害（すなわち、健常な微小循環からの大きな逸脱）を示す場合、対象は次いで集中治療の一部として全ての可能な介入を与えられ得る。治療反応は、本発明の方法により提供される予後と整合するように選択される。

#### 【0036】

病理上の微小血管の形態及び／または灌流は、芳しくない予後と相互に関連し、病理の程度が増加するにつれ予後は悪化する。所望されるならば、病理の程度は、健常者の微小循環との比較、及び逸脱の程度の決定によって定量化され得る。同様に循環不全も識別され得、その重症度は、病理上の微小循環及び健常な微小循環からの逸脱の程度を観察することにより立証される。

40

#### 【0037】

顕微鏡検査によって得られた画像の分析は、予め定められた基準（例えば、好適な質を確保すること）に基づいて1つ以上の画像を選択すること、及び任意に、分析を容易にするためグリッドを適用することを含み得る。

#### 【0038】

上述のように、分析の結果は、健常者の対応する検査から得られた値に基づいた基準値との比較によって定量化され得、それらの値からの著しい逸脱は、循環不全を示す。それらの基準値は、本明細書の実施例において説明されるように求められ得る。好ましくは、

50

試験結果は基準値のデータベース、またはデータベースから得られた閾値に対して比較され得る。このようなデータベースは、健常な基準値、及び循環不全をもっている、またはもっていたと決定された対象からの値を含み得る。

#### 【0039】

仮にパラメータ(a)～(f)のうちの1つまたは2つだけが基準値から外れる場合でも、循環不全は識別され得、あるいは芳しくない予後がもたらされる。一般的に、健常な基準値から外れるパラメータが多ければ多いほど、予後は悪化するか、あるいは循環不全はより重度となるか、あるいは低酸素状態の期間は長くなる。

#### 【0040】

毛細血管周囲の出血及びまたは暗黒ハローが存在する場合、冒された毛細血管の単位面積当たりの数、及び/または割合が計算され得る。

10

#### 【0041】

少なくとも皮膚に基づく測定に関すれば、FCDは、例えば平方ミリメートル当たり等の、単位面積当たりの可視の毛細血管係蹄の数、または毛細血管が組織の表面に対して平行に整列されている場合、mm線当たりの線のグリッドを横切る毛細血管の数として定義され得る。例えば、微小血管が組織の表面と平行である領域で測定がなされるとき、線のグリッド中8つの交差/mm線未満であるFCDをもつ対象は、循環不全を有すると考えられる。9つ超の交差/mmの値は、良好な予後を示す。

#### 【0042】

栄養性乳頭係蹄のみが確認される皮膚において評価がなされる場合、55未満の(50未満ではより不良)可視的な係蹄/mm<sup>3</sup>で予後は重症(循環不全を示す)であり、約60超の値(例えば、58～75)の係蹄/mm<sup>3</sup>は良好な予後を示す。これらの値は、全ての年齢及び臨床の条件に当てはまり、係蹄が皮膚の表面に対して垂直である皮膚の表面から確認される係蹄の数を指す。

20

#### 【0043】

毛細血管密度は、測定された毛細血管が赤血球を含むと観察されるという点で、「機能的」である。

#### 【0044】

FCDは好ましくは、例えば4～20回、より好ましくは5～10回の、最も好ましくは7～10回の繰り返される測定に基づく平均値として提供される。したがって、本発明の方法によれば、幾つかの画像またはビデオシーケンスが得られ、平均の計算前にそれぞれのFCDが決定される。

30

#### 【0045】

パラメータ(b)、(d)、及び(f)に従って決定される不均一性は、複数の値の間に確認されるばらつきの示度である。一般的により大きなばらつきは悪い兆候である。不均一性は、好ましくは、同一領域内の多数の異なる場所に対する変動係数を決定することによって確認される(変動係数Covは、標準偏差を平均で割ったものである)。これらは、無作為に選択された皮膚の領域の多数の画像を分析することによって、最も便宜的に提供される。

#### 【0046】

FCDに関するCovが0.35超である新生児は循環不全を有する可能性が高く、健常な値は0.35未満である。成人患者(例えば、集中治療を受けているか、またはそれが検討されている者)に関して、FCDのCovが0.38超である者は、芳しくない予後をもつ/循環不全を有する可能性が高く、理想的な値は0.15～0.3の範囲内である。

40

#### 【0047】

不均一性は好ましくは、少なくとも4枚の画像、好ましくは5～10枚の画像、例えば6～8枚の画像の分析に依存する。

#### 【0048】

Lineら(1992)は、Microvascular Research, 43,

50

p p 285 - 293において、信頼できる平均及び不均一性のスコアを提供するのに必要な試料の数がどのように導き出され得るのかについて（LD流速計測法の測定の文脈中で）説明している。

#### 【0049】

血液の毛細血管流速（CFV）は、多数の微小血管のそれぞれに関して測定され得る。速度に関して、多くの区分に基づいて推定することが十分である。例えば、0 = 流れが皆無、1 = 緩慢な流れ（非常に緩徐な細胞運動、時には逆流する）、2 = 継続的な低流量（細胞が、大部分がゆっくりと継続的に前へ動く）、3 = 継続的な高流量（細胞が、大部分が迅速に継続的に前へ動く）、4 = 活発な流れ（フィルムシーケンス全体を通して、細胞が迅速に動く）といった5つの区分が存在し得、視覚的に評価され得る。活発な流れは、通常より著しく高い流速に関し、これは、このような微小血管内で赤血球により運ばれる酸素が組織へ運搬されるために十分に長く微小血管内に留まらないため、貧弱な灌流をもたらす。このような微小血管は、生理学上の動静脈シャントとして振る舞う。

10

#### 【0050】

好ましくは、流れ分類別速度平均が決定される。平均流れ区分別速度（MFCV）は所与の画像のセット上の毛細血管に関して、以下の式、平均流れ区分別速度 =  $\{Fr(1) \times 1\} + \{Fr(2) \times 2\} + \{Fr(3) \times 3\} + \{Fr(4) \times 4\}$  によって決定され得、式中Frはそれぞれの流れの区分内の毛細血管の分率を表す。このような計算は、上記のWesterraによって説明される。

20

#### 【0051】

MFCVの値の代わりとして、毛細血管流速は、0もしくは1または0もしくは4（割合が高い場合良くない兆候）として分けられた毛細血管の数または割合、あるいは2もしくは3（割合が高い場合良い兆候）として分けられた数または割合に関して評価され得る。

#### 【0052】

毛細血管流速の最適な分布、及び毛細血管中の流速の低いばらつき（両方とも、健常な対照と比べて）は、良好な循環機能と一般的に相互に関連がある。理想的には、区分2中に20～30%、及び区分3中に70～80%が存在し、区分2及び3を合わせて95%が存在するべきである。数字が、区分2中に25%、及び区分3中に75%に最も近いとき、最適な予後が現れる。（図8の対照を参照されたい。）グループ0（＝流れが皆無）及びグループ4（＝活発な流れ）内の流速を備える毛細血管は、重度の循環不全及び重症な予後を示す。好ましくは、本発明の方法及び評価は、それぞれの流れの区分に当てはまる、サンプリングされた微小血管の割合の評価を含む。

30

#### 【0053】

新生児においては、区分2が20%未満及び区分3が70%未満で存在するとき、より低いパーセンテージによって循環不全が示され、毛細血管間のより大きい流れのばらつき、並びに区分0及び区分4の速度の毛細血管の存在は、より重症な不全を示す。

#### 【0054】

CFVまたは平均流れ区分別速度（MFCV）は好ましくは、例えば最大40～60の微小血管中の流動様式の分析に基づく平均値として提供され、より好ましくは3～5、もしくは可能であれば3～8個の、多数の異なる場所におけるビデオ録画映像から提供される。したがって、本発明の方法によれば、幾つかのビデオシーケンスが得られ、平均の計算前にそれぞれのCFVまたはMFCVが決定される。

40

#### 【0055】

CFVまたはMFCVの不均一性は、FCDの不均一性に関するものと同じ取り組み方を用いて評価される。

#### 【0056】

画像の分析は自動化され得、それによって、それぞれの画像は、例えば従来の認識技術を用いて、上述の特性を識別するためにスキャンされる。次いで、単位面積当たりのそれぞれの特性の値/数字が計算され得る。CAVMの場合、そのような処理は、画像がアッ

50

ブロードされたコンピュータと同じコンピュータによって実行されるか、またはそれらは、処理のためにコンピュータへ送られ得る。

【0057】

好ましくは、パラメータ(a)~(d)の全てが、同じ計器を用いて評価される。OPSまたはSDFが幾つかの実施形態において好適であり得る一方、特に皮膚の微小循環を評価することが所望されるとき、白色光顕微鏡、好ましくはCAVMが好まれる。

【0058】

拡散反射分光法(DRS)が、微小循環内の赤血球の酸素飽和度の測度を提供するために採用される。健常な対照対象と類似する飽和度の値は、循環不全が無いこと、及び/または良好な予後を示す。微小血管赤血球の酸素飽和度( $S_{mv}O_2$ )が測定され、好ましくは平均値が得られる。この技術は、上記のAwanにおいて説明される。

10

【0059】

好まれる実施形態において、微小血管による酸素抽出もまた決定され、これは以下のよう

に計算される：

動脈酸素飽和度( $S_{a}O_2$ ) -  $S_{mv}O_2$

動脈酸素飽和度はパルスオキシメトリを用いて好適に測定される。

【0060】

対象の皮膚における70%未満の%酸素飽和度( $S_{mv}O_2$ )は、循環不全または芳しくない予後を示し、75%未満の $S_{mv}O_2$ は、循環不全があり得ることを示唆し、更なる監視及び増加する介入が是認されるであろう。4~20個の示数に基づく $S_{mv}O_2$ の平均値、より通常には5~10または7~10個の示数に基づく平均値を得ることができる。

20

【0061】

本発明の方法はまた、 $S_{mv}O_2$ の不均一性、及び適切な場合、酸素抽出の不均一性の評価も含む。 $S_{mv}O_2$ の不均一性は、好ましくは多数の異なる場所に対する $S_{mv}O_2$ の変動係数、すなわち空間的な不均一性を決定することにより、確認される。約10回繰り返される、同じ皮膚領域におけるDRS評価に基づいて、20%超のCoVをもつ患者は循環不全を有すると考えられ、健常な値は9~18%の範囲内にある。衡量のそれぞれは、 $1\text{mm}^3$ の分画の体積を有するため、プローブを皮膚上に置き、プローブを外し、同一領域における2度目の評価のために再度皮膚上にプローブを置くことは、異なる衡量からデータを

30

【0062】

上記の分析の出力は、決定された特性(a)~(f)のそれぞれに関して別個の手段を含み得る。これらは、コンピュータに関連するモニター上に表示され、プリンタへ送られる等であり得る。あるいは、出力は微小循環の病理を示す1つ以上のスコアを提供するために組み合わせられ得る。例えば、個々の特性の加重合計または平均が、上述のように決定及び表示され得る。アルゴリズムが、それぞれのパラメータへ適用される加重に基づく単一の出力値をもたらすために使用され得、この加重は臨床の条件及び患者の特性に依存して変化し得る。

【0063】

本発明はまた、上で考察された他の測定方法に加えて、特に対象が新生児である場合、レーザードップラー灌流測定の使用を含み得る。レーザードップラー(LD)は、血液細胞(主に赤血球)の流量に関して灌流を定量化し、流量=血液細胞の数×小さな衡量( $1\text{mm}^3$ の範囲内)における平均速度であり、皮膚におけるレーザードップラー(LD)流量のより低い値は、芳しくない予後に対応するかもしれず、しないかもしれず、並びに成人における循環及び/または呼吸不全を示し得る。驚くべきことに、LD技術を用いて新生児を評価した際、成人の場合より、より信頼性のある診断及び予後の情報が得られることが確認された。理論に拘束されることを望むものではないが、これは新生児のより薄い上皮組織、及び血管構造の別個の層への不完全な分化によるものであり、それ故に成人の皮膚よりもLD信号が灌流の栄養能力とより良好に相互の関連を持ち得る。

40

50

## 【 0 0 6 4 】

より更なる態様から検討すると、本発明は循環不全を有する、またはそれを有する疑いのある対象についての臨床関連情報を提供する方法を提供し、この方法は、以下のパラメータ：

- ( a ) 機能性毛細血管密度 ( F C D )、
- ( b ) F C D の不均一性、
- ( c ) 毛細血管流速、
- ( d ) 毛細血管流速の不均一性、
- ( e ) 微小血管赤血球の酸素飽和度 ( S m v O<sub>2</sub> )、及び
- ( f ) S m v O<sub>2</sub> の不均一性、

10

に関して対象の微小循環を評価することを含み、

パラメータ ( a ) ~ ( d ) は、顕微鏡法によって視覚的に評価され、パラメータ ( e ) 及び ( f ) は、拡散反射分光法 ( D R S ) によって評価される。

## 【 0 0 6 5 】

顕微鏡検査及び D R S による全ての評価は即時的に、すなわち患者がその場にいながら実施され得、あるいは、かつ幾つかの場合好ましくは、本発明の方法は患者より得られたデータを元に実施され、患者は監視を更に受けず、あるいは行われる分析のためにその場にいることを必要とされない。これは本発明の全ての方法に当てはまる。

## 【 0 0 6 6 】

本発明は、対象のための支持療法の効果を監視する際有用となり得る情報を獲得することにまでわたる。例えば、それは、特定の患者における治療介入の、細胞への酸素運搬における効果を評価するために使用され得る。支持療法は、血管作動性または変力性の薬品、血液製剤及び循環血代用液による治療を含み得、並びに例えば体外膜型酸素供給 ( E C M O ) 等の体外生命維持処置 ( E C L S ) をも含み得る。新生児に関して、表面活性剤及び気管支拡張薬が投与され、酸素補充療法が実施され得る。

20

## 【 0 0 6 7 】

したがって、本発明はまた、循環不全を有する、またはその疑いがある対象への治療介入の有効性を評価する方法を提供し、この方法は対象の微小循環を、顕微鏡法によって、及び拡散反射分光法 ( D R S ) によって視覚的に評価し、微小血管内の赤血球の酸素飽和度を上で説明されたように決定することを含む。典型的には、この評価は、介入の前後で ( 任意に介入中も ) 評価すること、並びに得られた結果をそれぞれと、及び / または基準値と比較することを必要とするであろう。介入の有効性は一般的には、通常の微小循環をもたらす、あるいはそれを志向する能力と積極的に相互に関連するであろう。例えば循環または呼吸不全を改善することを目指す治療の開始の前後等、本発明に従う繰り返される評価によって、患者に対する特定の療法の効果が評定され得る。

30

## 【 0 0 6 8 】

今日、療法の選択に関する科学的根拠は、病気のメカニズム ( 発病学 ) の理解、並びに証拠に基づく研究からの結果に基づく。療法 A が療法 B よりも患者のコホートにおける二重盲検、無作為抽出、かつプラセボ対照の研究において有効であることを統計学的に証明するためには、療法 A で治療された患者の少数のみが療法 B で治療された患者と比べて良好な成果を示せばよい。しかし、療法 A はコホート内の患者の大部分には価値が無いが、あるいは一部の患者には有害ですらあり得る。本発明は、どの患者が療法の開始後に身体

の細胞への酸素運搬の改善を示したかを識別するために使用され得る ( 療法の開始前後に繰り返される測定

の傾向分析によって )。同様に、療法 A が有害であり、療法 B が有益である患者を識別することが可能であるだろう。本発明は、最適な特定個人向けの治療の設計を規定する。この、治療の有効性の評価の結果、すなわち患者によりもたらされる進歩として、その後臨床医は介入 ( 例えば、E C M O ) を継続する、中止する、または変更することを決定し得る。

40

## 【 0 0 6 9 】

本発明の全ての方法は、好都合なことに、1 時間以上、または 1 日以上間を空けて、数

50

時間、数日、または数週間にわたって繰り返され得る。例えば、個々の対象は、3、5、10、または20回より多く評価され得、傾向分析は、診断、予後を精密にするために、または具体的には、治療の有効性を評価するために実施される。

#### 【0070】

本明細書において説明される本発明の方法、つまり循環不全を識別または監視する方法、予測を立てる、並びに臨床関連情報を提供する方法は、評価ステップを含み、顕微鏡及び分光計が、例えば光及びプローブを対象の皮膚に適用することによって、対象の微小循環を分析するために用いられる。これらの評価の結果として、任意に基準値との比較を活用して、循環不全に関する情報及び起こり得る臨床の成果が得られる。そのような情報は対象に関する診断または予後をもたらすか、あるいはそれに寄与し得る。結果として、具体的には例えばECMO等の生命維持処置等の治療介入または養生法を中止する、継続する、あるいは変更するために、治療ステップが取られ得る。情報を得ること、診断または予後を立てること、及び結果としての治療ステップが、本発明の方法の更なる実施形態を構成するステップである。

10

#### 【0071】

したがって、例えば更なる態様において、本発明は、対象における循環不全を識別または監視する方法を提供し、この方法は、以下のパラメータ：

- (a) 機能性毛細血管密度 (FCD)、
- (b) FCDの不均一性、
- (c) 毛細血管流速、
- (d) 毛細血管流速の不均一性、
- (e) 微小血管赤血球の酸素飽和度 ( $S m v O_2$ )、及び
- (f)  $S m v O_2$ の不均一性、

20

に関して対象の微小循環を評価することを含み、

パラメータ(a)～(d)は、顕微鏡法によって視覚的に評価され、パラメータ(e)及び(f)は、拡散反射分光法(DRS)によって評価され、

該評価の後に、具体的には対象が受けている治療介入または養生法を中止する、継続する、あるいは変更するために、治療ステップが取られ得る。

#### 【0072】

患者は非ヒト動物またはヒトであり得るが、好ましくはヒトである。

30

#### 【0073】

驚くべきことに、本発明者は、顕微鏡法及びDRSが、新生児の健康に関する有意義なデータを生み出すために、彼らの微小循環の分析を介して、一緒になって使用され得ることを示した。皮膚が完全には発達していない新生児が、彼らの微小循環において成人とのこのような類似性を示すこと、並びに新生の微小血管系/微小循環についての再現性があり、かつ信頼性のある情報が、弱く、おそらくは非常に加減の悪い赤ん坊の世話と相性の良い、非観血式の技術を用いて獲得し得ることは、予期されていなかった。そのような情報が、具体的には循環または呼吸不全に関する、診断及び予後の結論を可能にする。

#### 【0074】

本発明者は、新生児の微小循環の状態は、病気の、かつ/または早産の新生児にとって最適な療法を求める際、貴重な洞察を提供することを認識した。循環の不全の兆候が臨床的に認識された時点では、不全は既に重症となっている。循環が不十分になり始めた際、身体は一部の組織及び細胞を他に対して優先するという調節機構を有し、例えば脳及び心臓(冠)循環は、皮膚細胞及び体温調節用の皮膚灌流に対して優先される。本発明は、皮膚上の細胞への灌流の質を検査し得る。不全が進むにつれ、脳及び心臓等の生命維持に必要な臓器への不十分な酸素運搬が死につながるまで、より多くの細胞が冒され、臓器不全へとつながる。一部の皮膚細胞が冒されるところから、生命維持に必要な臓器が冒され死につながるところまでの、循環不全のこの連続性において、鍵となる疑問は、担当医がどの程度の重症度において不全の問題を認識するか、である。本発明による循環不全の識別/診断が今日の事例よりも早い段階で下され得ること、並びに有病正診率のこの上昇及び

40

50

循環不全のより早い認識が、より早い治療介入及び今日達成されるよりもより良好な臨床成果へつながるであろうことが考えられる。

【0075】

したがって、更なる態様において、本発明は、新生児における循環または呼吸不全を識別する方法を提供し、この方法は、微小血管内の赤血球の酸素飽和度を決定するために、顕微鏡法によって、及び拡散反射分光法(DRS)によって新生児の微小循環を評価することを含む。

【0076】

「呼吸不全」は、完全なる不全ではなく、酸素の不十分な取り込みを意味する。

【0077】

呼吸または循環不全を引き起こすいかなる病気も、発育遅滞、疾病、恒常的な臓器障害、または新生児の死にすらつながり得る。呼吸または循環不全につながり得る多くの病気及び合併症は、子宮内から子宮外での生存への移行、具体的には胎児から新生児の循環への移行において起こる変化に関連し、これらは全て未熟児において悪化し得る。呼吸または循環不全を引き起こし得る病気としては、呼吸窮迫症候群(RDS)、遷延性肺高血圧症(PPHN)、貧血症、血液量減少症、伝染性の病気(敗血症)、並びに呼吸または循環系における先天性奇形が挙げられる。

【0078】

本発明は、未熟新生児、すなわち(最後の月経期の1日目から)妊娠37週間未満で生まれた、より具体的には妊娠32週間未満で生まれた新生児に対して特に適用可能である。これらの患者集団においては特に、循環または呼吸不全を示唆する症状が存在しないときでも、本明細書において説明される評価方法を実施することが望ましいだろう。このような環境において、微小循環の質が健常なレベルより下であるとき、本評価により得られたスコアは、循環及び/または呼吸不全に対する早期の警報を提供し得る。したがって、このような早期の兆候もまた、本明細書で定義される循環または呼吸不全を構成する。

【0079】

本発明はまた、本明細書で論じられた方法を実行するための装置にまで及ぶ。したがって、更なる態様の観点から、顕微鏡、分光計、及びコンピュータを備える、対象の微小循環を評価するための装置であって、コンピュータは、顕微鏡を用いて得られた微小循環の画像(複数可)及び分光計からの $SmvO_2$ に関するデータを受信するように、かつ任意に、画像(複数可)及びデータを処理して病態に関連した特性/パラメータを識別及び/または決定するように配置され、画像(複数可)及びデータが、以下のパラメータ:

- (a) 機能性毛細血管密度(FCD)、
  - (b) FCDの不均一性、
  - (c) 毛細血管流速、
  - (d) 毛細血管流速の不均一性、
  - (e) 微小血管赤血球の酸素飽和度( $SmvO_2$ )、及び
  - (f)  $SmvO_2$ の不均一性、
- に関する、装置が提供される。

【0080】

収集されたフレーム/フィルム及び分光計曲線の分析に関するソフトウェアは、同一のコンピュータ上にインストールされ得るが、分析はまた別のコンピュータ上で、収集されたファイルがこの他のコンピュータへ転送された後に実施されてもよい。第1のコンピュータ(受信コンピュータ)は、DRS及びCAVMファイルの両方に関する、即時的な分析のためのソフトウェアをインストールし得る。好ましくは、(一般開業医)GPから血液試料を受け取る専門の生化学研究室のように、オフライン分析が別のコンピュータ(処理コンピュータ)上で実施される。

【0081】

典型的には、画像及びデータの分析は、幾らかのコンピュータ処理、及び画像/データの解読に熟練した人間による幾らかの分析を必要とするであろう。

10

20

30

40

50

## 【0082】

顕微鏡は好ましくは対象の身体の皮膚または他の部分から画像（複数可）を得るために使用され、次いで、処理ステップの前にそこから取り外される。同様に、分光計に取り付けられたプローブは、好ましくは身体上で使用され、次いで処理ステップの前に取り外される。実際に、本発明の更なる態様は、前もって得られたデータを処理するための装置に関する。したがって、より更なる態様の観点から、顕微鏡を用いて得られた新生児の微小循環の画像（複数可）及び分光計からの  $S m v O_2$  に関するデータを受信するように、かつ画像（複数可）及びデータを処理して病態に関連した特性／パラメータを識別及び／または決定するように配置されたコンピュータを備える、対象の微小循環を評価するための装置であって、画像（複数可）及びデータが、以下のパラメータ：

10

- （a）機能性毛細血管密度（FCD）、
  - （b）FCDの不均一性、
  - （c）毛細血管流速、
  - （d）毛細血管流速の不均一性、
  - （e）微小血管赤血球の酸素飽和度（ $S m v O_2$ ）、及び
  - （f） $S m v O_2$ の不均一性、
- に関する、装置が提供される。

## 【0083】

本装置は、好ましくは、加重合計または加重平均等の、特性／パラメータに相当する値及び／またはそれらに基づく値を組み合わせて出力するための手段を更に備える。そのような値は、微小血管病理スコアとして認識され得る。本明細書で定義されるパラメータのそれぞれが加重値を与えられるように、アルゴリズムが生データを処理するために使用され得、加重値は異なる患者のコホート、例えば未熟児または正期産児に関して最適化され得る。アルゴリズムの出力値は、典型的に加重合計または加重平均に対応する。

20

## 【0084】

本発明はまた、データ担体上の実体的な形状であるか、あるいはネットワークを介してダウンロード可能であるかに関わらず、上述の処理及び／または出力ステップをコンピュータに実行させる命令を含むソフトウェアにわたる。

## 【0085】

本発明は更に、対象の微小循環を評価し、循環不全を識別して、予後を提供する、及び／またはその測定／それらの測定に基づいて治療計画または介入の効率性を監視するための、このような装置及び／またはこのようなソフトウェアの使用にまでわたる。

30

## 【0086】

更なる態様において本発明は、対象における循環不全を識別または監視するコンピュータ実装方法を提供し、この方法は、以下のパラメータ：

- （a）機能性毛細血管密度（FCD）、
  - （b）FCDの不均一性、
  - （c）毛細血管流速（FCV）、
  - （d）FCVの不均一性、
  - （e）微小血管赤血球の酸素飽和度（ $S m v O_2$ ）、及び
  - （f） $S m v O_2$ の不均一性、
- に関して対象の微小循環を評価することを含み、

40

パラメータ（a）～（d）は、顕微鏡法によって視覚的に評価され、パラメータ（e）及び（f）は、拡散反射分光法（DRS）によって評価される。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0087】

【図1】図1は、顕微鏡法による、新生児の微小循環を評価するための装置の概略図である。

【図2】図2は、DRSによる、新生児の微小循環を評価するための装置の概略図である。

50

【図 3】図 3 ( a ) 及び ( b ) は、機能性毛細血管密度測定、観察者間 ( a ) 及び観察者内 ( b ) 信頼性を示す、B l a n d - A l t m a n プロットである。

【図 4】図 4 ( a ) 及び ( b ) は、胸部 ( a ) 及び頭部 ( b ) における毛細血管の流れ区分を示すグラフである。

【図 5】図 5 は、8 人の E C M O 患者の概観である。

【図 6】図 6 ( a ) 及び ( b ) は、毛細血管周囲の出血及び暗黒ハローをそれぞれ示す顕微鏡画像である。

【図 7】図 7 ( a ) 及び ( b ) は、E C M O 患者の 3 つのグループ及び健常な対照の機能性毛細血管密度を示すグラフである。

【図 8】図 8 は、E C M O 患者の 3 つのグループに関する様々な血液の流れ区分における毛細血管の割合を示す柱状図である。

【図 9】図 9 ( a ) 及び ( b ) は、( a ) D R S により測定され、実施例 5 において説明される、経時的な平均 % 値としての酸素飽和度、及び ( b ) ( a ) において提示された酸素飽和度に関する値の C o V を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0088】

本発明の実施形態を、例としてのみ、付随する図への参照と共にこれより説明する。

【0089】

図 1 は、顕微鏡法による、新生児の微小循環を評価するための装置の概略図である。

【0090】

図 2 は、D R S による、新生児の微小循環を評価するための装置の概略図である。

【0091】

図 3 ( a ) 及び ( b ) は、機能性毛細血管密度測定、観察者間 ( a ) 及び観察者内 ( b ) 信頼性を示す、B l a n d - A l t m a n プロットである。

【0092】

図 4 ( a ) 及び ( b ) は、胸部 ( a ) 及び頭部 ( b ) における毛細血管の流れ区分を示すグラフである。

【0093】

図 1 を参照すると、患者の身体の一部 1、携帯式ビデオ顕微鏡ヘッド 2、ビデオ顕微鏡用コントローラ 3、コンピュータ 4、キーボード 5、及びディスプレイ装置 6 が示される。

【0094】

顕微鏡ヘッド 2 は、患者の身体 1 と、顕微鏡用コントローラ 3 の制御下でそこから画像を得るときのように、接触して示される。画像が得られたら、顕微鏡ヘッド 2 は患者の身体 1 から取り外される。

【0095】

画像は、顕微鏡用コントローラ 3 を介して、処理のためにコンピュータ 4 へ回送される。これは、以下の：

- ( a ) 任意に、毛細血管周囲の出血及び / または暗黒ハロー ( 単位面積当たりの数 )、
- ( b ) 機能性毛細血管密度 ( F C D ) ( 単位面積当たりの数 )、
- ( c ) F C D の不均一性 ( 変動係数 )、
- ( d ) C F V または M F C V、
- ( e ) C F V の不均一性、

を識別及び測定 / 定量化するための画像の分析を伴う。

【0096】

この実施形態の一変形において、これらの特性は、人間オペレータによる識別 / 分析のために、スクリーン上に表示され、この人間オペレータは次いでキーボード 5 を介し代表値の適切な入力を行う。別の変形において、画像認識ソフトウェアが毛細血管 ( 並びに関連する出血及びハロー ) と、その中の血液の流れの速度とを識別し、自動的に値を割り当てる。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 9 7 】

コンピュータは次いで、これらの値の加重合計を計算し、それが基づく値と共に、この加重合計をディスプレイ 6 へ出力する。このスコアは、 $S m v O_2$ に関するスコアと一緒に、新生児の微小循環の病理の程度を示す。

## 【 0 0 9 8 】

図 2 を参照すると、患者の身体の一部 1、光源 7、プローブ 8、分光計 9、コンピュータ 4、キーボード 5、及びディスプレイ装置 6 が示される。

## 【 0 0 9 9 】

プローブ 8 は、それが光源 7 から光ファイバーにより受け取った光を放射し、身体からの反射光を受信するときのように、患者の身体 1 と接触して示され、この反射光は分光計 9 へ光ファイバーを介して送られる。反射光が分光計 9 によって処理されると、プローブ 8 は患者の身体 1 から取り外される。

10

## 【 0 1 0 0 】

分光計 9 からのデータは、記録及び処理のためにコンピュータ 4 へ回送される。分光計 9 は分光反射率の形態でデータを生成し、スペクトルの分解が、 $S m v O_2$ 及び $S m v O_2$ の不均一性を推定するために、コンピュータ 4 によって実行される。コンピュータは次いで、これらの値の加重合計を計算し、それが基づく値と一緒に、この加重合計をディスプレイ 6 へ出力する。このスコアは、視覚分析に基づくスコアと一緒に、新生児の微小循環の病理の程度を示す。

20

## 【 0 1 0 1 】

一実施形態において、分光計 9 及び顕微鏡用コントローラ 3 は、同一のコンピュータ 4 へ接続される。コンピュータ 4 は、収集されたフレーム / フィルム及びスペクトルを分析し得る。別の実施形態において、フレーム / フィルム及びスペクトルは、分析のために別のコンピュータへ転送され得、コンピュータ (複数可) 4 は、顕微鏡用コントローラ 3 及び分光計 9 からデータを受け取るためにのみ作動する。

## 【 0 1 0 2 】

新生児のレーザードップラー灌流測定の使用を更に含む、更なる実施形態に基づく臨床研究が、実施例 2 において実施され、及び論じられる。

## 【 0 1 0 3 】

本発明者は、ICU 患者の微小循環の分析の予後の汎用性を認識した最初の者であった。したがって、更なる態様において、本発明は、循環不全を有し、集中治療が検討されているか、またはそれを受けている患者に関する予後を立てる方法を提供し、この方法は、患者の微小循環の状態を評価することを含む。

30

## 【 0 1 0 4 】

本発明のこの態様は、例えば急性心ポンプ不全、血液量減少症、または敗血症に続く全身性循環不全を有する患者に対して特に適用可能であり、支持療法は、例えば体外膜型酸素供給 (ECMO) 等の体外生命維持処置 (ECLS) を含み得る。本発明は、同方法による該患者のための支持療法の効果を監視することにまでわたる。

## 【 0 1 0 5 】

本発明に従う検査は、予後を立てて、それ故に ECMO / ECLS 等の生命維持処置に関する患者の選択性を改善するために、並びに / または追加的な支持療法の効果の示度、及び治療の継続の有益性を提供することに加えて、このような療法を手引きする、すなわち生命維持処置に関する停止基準を提供するために、使用され得る。

40

## 【 0 1 0 6 】

本態様の発明の実施形態を、例としてのみ、付随する更なる図への参照と共にこれより説明する。

## 【 0 1 0 7 】

図 5 は、8 人の ECMO 患者の概観である。

## 【 0 1 0 8 】

図 6 (a) 及び (b) は、毛細血管周囲の出血及び暗黒ハローをそれぞれ示す顕微鏡画

50

像である。

【0109】

図7(a)及び(b)は、ECMO患者の3つのグループ及び健常な対照の機能性毛細血管密度を示すグラフである。

【0110】

図8は、ECMO患者の3つのグループに関する様々な血液の流れ区分における毛細血管の割合を示す柱状図である。

【0111】

図1を参照すると、患者の身体の一部1、携帯式ビデオ顕微鏡ヘッド2、ビデオ顕微鏡用コントローラ3、コンピュータ4、キーボード5、及びディスプレイ装置6が示される。

10

【0112】

顕微鏡ヘッド2は、患者の身体1と、顕微鏡用コントローラ3の制御下でそこから画像を得るときのように、接触して示される。画像が得られた後、顕微鏡ヘッド2は患者の身体1から取り外される。

【0113】

画像は、顕微鏡用コントローラ3を介して、処理のためにコンピュータ4へ回送される。これは、以下の：

- (a) 毛細血管周囲の出血及び/または暗黒ハロー(単位面積当たりの数)、
  - (b) 機能性毛細血管密度(FCD)(単位面積当たりの数)、
  - (c) FCDの不均一性(変動係数)、
  - (d) 毛細血管流れ分類別速度プロファイル、
  - (e) 流れ分類別速度平均(すなわち、毛細血管内の流れの速度)、
- を識別及び測定/定量化するための画像の分析を伴う。

20

【0114】

この実施形態の一変形において、人間オペレータによる識別/分析のために、これらの特性はスクリーン上に表示され、この人間オペレータは次いでキーボード5を介し代表値の適切な入力を行う。別の変形において、画像認識ソフトウェアが毛細血管(並びに関連する出血及びハロー)と、その中の血液の流れの速度とを識別し、自動的に値を指定する。

30

【0115】

コンピュータは次いで、これらの値の加重合計を計算し、それが基づく値と共に、この加重合計をディスプレイ6へ出力する。このスコアは、微小循環の病理の程度を示す。

【0116】

本発明は、以下の実施例において更に例証され、以下の実施例では、

図9(a)及び(b)は、(a)DRSにより測定され、実施例5において説明される、経時的な平均%値としての酸素飽和度、及び(b)(a)において提示された酸素飽和度に関する値のCoVを示すグラフである。

【実施例1】

【0117】

40

<1 患者及び方法>

[1.1 患者]

2年間にわたり、中規模の心臓外科部門(年当たりおよそ550回の心臓切開手術)の、心臓性ショックによりECMOで治療を受けた患者が包含の候補者であった。2人の女性と6人の男性、中位年齢59歳(27~78の範囲)である、8人の継続患者(E1~E8)が含まれた。研究から排除された患者はいなかった。4人の患者(E4~E7)は、手術室に到着する前に心臓性ショックの状態にあり、広範囲の肺塞栓症に次いで、継続中の機械的心マッサージを受ける者(E4)、広範囲の心筋梗塞(MI)をもつ者(E5)、急性MIをもち、経皮的冠動脈形成(PCI)を合併する者(E6)、及び最後に心内膜炎を持つ者(E7)であった。残りの4人の患者は、心臓切開後心臓性ショックを患

50

っていた。8人の、健常な非喫煙者である男子学生（21～29歳）が対照として働いた。

#### 【0118】

##### [1.2 体外膜型酸素供給（ECMO）]

動脈カニューレ挿入を、7人の患者の鼠径部において実施し、内2人には端側吻合したダクロングラフトを用いた。1人の患者は右鎖骨下動脈を介した動脈カニューレ挿入を有した。7名は大腿静脈を介した静脈ドレナージを、1名は右心房を介した静脈ドレナージを有した。ECMO回路は、遠心ポンプ（Medtronic Incorporated、米国ミネソタ州、ミネアポリス）、ヘパリン被覆膜酸素供給器、及びチューブ（Maquet Cardiovascular 72145、ドイツ、Hirrlingen）からなった。ECMOを設置した後、全ての患者を少なくとも4.0l/分の流れで治療した。ECMO上の維持療法を、装置[38]に関する標準プロトコルによって手引きした。ECMOからの離脱を、臨床のパラメータに加えて経食道エコードップラーにより手引きした。

10

#### 【0119】

##### [1.3 微小血管技術]

皮膚の微小循環を、ビデオ顕微鏡的測定で8人の患者において、レーザードップラー測定で6人において評価した。

#### 【0120】

##### [1.3.1 コンピュータ支援ビデオ顕微鏡法（CAVM）]

本技術は、関心領域（ROI）の表面上へ穏やかに適用される携帯式ビデオ顕微鏡を伴う。液浸油を使用する。写真またはフィルムシーケンスをコンピュータ上に投影し、保存する。第1の患者E1には、1.3メガピクセルのCCDを備える、より後進の顕微鏡（ProScan、Bodelin technologies、米国オレゴン州）を200倍に拡大して使用した。この顕微鏡で、毛細血管周囲の病理、機能性毛細血管密度（FCD）、及び不均一性を評価できたものの、毛細血管流動様式は評価できなかった。残りの患者（E2～E8）を、高解像度及び500倍拡大レンズを備える別の顕微鏡（Microvision 2100、Finlay Microvision Co. Ltd., Warwickshire、UK）で検査した。アナログデジタル変換器（Canopus、日本、神戸）を使用して、フィルムシーケンスを、Mac Book pro上にソフトウェアiMovie（両方ともApple、Apple、米国、Cupertino）を使用して投影及び保存した。

20

30

#### 【0121】

毛細血管周囲の病理を調べ、機能性毛細血管密度（FCD）、FCDの不均一性、及びROI内の微小血管の流動様式を計算するため、適切な質をもつ、最初の5つの録画されたフィルムシーケンスを使用した。4つの同じ大きさの長方形をもつグリッドを、視覚分析を容易にするために作製した。ソフトウェアXscope（the Iconfactory、米国ノースカロライナ州、Greensboro）を、グリッドを製作するために使用した。

#### 【0122】

適切なフィルムの質は、フレームの4つの象限内全てにおいて焦点が合った毛細血管、及び少なくとも10秒間のシーケンスの時間として定義される。FCDは、平方ミリメートル当たりの可視的な毛細血管の平均数として定義される。FCDの不均一性は、5つのフィルムシーケンス内の4つの長方形のそれぞれにおける、毛細血管の密度の変動係数（ $CoV = SD / 平均$ ）（ $n = 20$ ）として表される。

40

#### 【0123】

流速の分析に関して、5つのフィルムシーケンスのそれぞれの毛細血管を、「流れが皆無」（区分0）から「活発な流れ」（区分4）までの5つのグループのうちの1つに視覚的にスコア化し、分率で表した（ $Fr = \text{それぞれの区分内の毛細血管の数} / \text{毛細血管の合計数}$ ）。それぞれの流れの区分内の毛細血管の分率に基づき、平均流れ区分別速度を、以

50

下のように計算した：

平均流れ区別速度 =  $\{Fr(1) \times 1\} + \{Fr(2) \times 2\} + \{Fr(3) \times 3\} + \{Fr(4) \times 4\}$ 。

【0124】

[1.3.2 レーザードップラー灌流測定(LDPM)]

LDPMは、微小血管の灌流の定量化のための技術である。この技術の出力は、流動の半定量尺度として与えられ、動いている血液細胞の数及び測定量( $< 1 \text{ mm}^3$ )内のそれらの平均速度の積として定義される。

【0125】

灌流測定のためにMoor Blood Flow Monitor(MBF 3D)を、Moorsoft(両方ともMoor instruments、Axminster、英国、Devon)と共に、記録及び分析のために使用した。ROIにおける流動は、10秒間の7つの連続した測定の平均値として与えられた。

10

【0126】

[1.2.4. 測定手順]

図6は、2人のECMO患者のタバチエル窩における皮膚の微小循環を示す。左の(a)において、幾つかの毛細血管周囲の出血が確認され、点状でない毛細血管はほとんど存在しない(患者E1、Proscan( $\times 200$ ))。右の(b)において、円形の暗黒ハローが流れの無い毛細血管を囲んでいるか、あるいは極端に緩徐な緩慢な流れが確認される(患者E2 Microvision 2100( $\times 500$ ))。

20

【0127】

最初の微小血管の検査は、可及的速やかに、通常ECMOの設置後24時間以内に実施された。2回目の測定は可能であれば3日目に実施された。E4は、停止した脳血流量により、ECMOの停止前に僅か2時間の間隔で2回検査された。4人の生存者(集団2)は、ECMOの離脱後18~65日間管理された。E3は7回検査された。第1及び第2の中手骨の間の手の背側の皮膚(タバチエル窩)を全ての患者でCAVMによって検査した。患者3以降から、内側のくるぶしと第1の中足骨とを結ぶ想像上の線上の3分の1の距離に位置するROIで、右足の内側の皮膚の灌流もまた評価した。毛細血管周囲の出血をもつ患者(E1)において、上腕、太腿、胸部、及び顔面等の追加的な皮膚の領域をまた検査した。6名の患者をLDPMで測定した。患者E1はタバチエル窩においてのみ測定した。患者4以降から、LDPMを足でも測定した。CAVM及びレーザードップラー測定を、両方の場所において、全ての対照において実施した。微小血管測定の際に、対応する中枢の循環動態のパラメータ、血液検査の結果、及び臨床のパラメータを記録した。

30

【0128】

[1.5 倫理規定]

ECMOを設置するという判断は、担当外科医によって、もっぱら臨床背景の上で下された。全ての微小血管測定は非侵襲性であり、担当外科医及び麻酔科医の承認後にのみ実施した。いかなる微小血管の所見の結果もECMO上の維持療法に影響しなかった。

40

【0129】

ECMO上の患者はインフォームドコンセントを提出することは不可能であったため、可能な場合は近親者が微小血管の評価に同意した。長期生存者( $n = 3$ )は、追跡測定及び彼らのデータの公開に対して同意した。倫理委員会は、8名の患者全てからのデータの公開を承認した。

【0130】

[1.6 統計]

データは範囲を伴う平均として提示される。変動係数(CoV)を、機能性毛細血管密度の不均一性に関するパラメータとして使用した。成果のグループの間で結果を比較するために、独立t検定を使用した。

【0131】

50

## &lt; 2 結果 &gt;

## [ 2 . 1 臨床の情報及び成果 ]

個々の患者の臨床の情報、研究室データ、及び行われた検査の概要が、表 1、2 ( 本実施例の最後の添付資料を参照されたい )、及び図 5 において与えられる。図 5 は、ECMO 治療の開始から死または最後の対照測定までの、8 人の ECMO 患者に関する概観である。測定期間は、測定技術に従って記録される。

## 【 0 1 3 2 】

患者は、臨床成果に従って、2 つのグループ、すなわち ECMO 上で亡くなった患者 ( グループ 1 ) 及び ECMO を生き抜いた患者 ( グループ 2 ) に分類された。グループ 1 の平均年齢は 44 歳であり、グループ 2 のそれは 58 歳であった。両方の性が、それぞれのグループ内に存在した。グループ 2 において、1 人の患者は心機能の回復及び維持された脳機能を有したが、集中治療室において出血合併症で亡くなった。

10

## 【 0 1 3 3 】

グループ 2 内の残りの患者のうち、1 人の患者 ( E 3 ) は別の病院へ転院され、そこで ECMO の設置後 51 日目に多臓器不全で亡くなった。残りの 3 人はまだ存命であり、ECMO 治療の 2 年後に退院した。

## 【 0 1 3 4 】

## [ 2 . 2 臨床の測定 ]

表 2 のように、最初の微小血管の測定の間、白血球数は、非生存者に比べて生存者内でより低かった。

20

## 【 0 1 3 5 】

## [ 2 . 3 微小血管の測定 ]

## [ 2 . 3 . 1 . コンピュータ支援ビデオ顕微鏡法 ( C A V M ) ]

## 2 . 3 . 1 . 1 毛細血管周囲の病理 :

E 1 は図 3 ( a ) のように、両方の検査で、幾つかの皮膚の部位 ( タバチエール窩、前腕の掌側、足、及び顔面 ) において多数の毛細血管周囲の出血を有した。他の患者は、可視的な毛細血管周囲の出血を全く有しなかった。患者 E 2 及び E 4 は、一部の皮膚毛細血管 ( E 2 は 65 %、及び E 4 は 14 % ) の周辺で、円形の暗黒ハローを  $12 \pm 1$  ミクロンの間隔で有した。図 3 ( b ) を参照されたい。

## 【 0 1 3 6 】

## 2 . 3 . 1 . 2 機能性毛細血管密度 ( F C D ) :

図 4 は、ECMO 患者の 3 つのグループ、及び 8 人の健常な対照に関する機能性毛細血管密度 ( 毛細血管 /  $\text{mm}^2$  ) ( b )、並びに同じ患者に関する毛細血管密度の変動係数 ( a ) を示す。1 回より多く測定された患者に関しては、1 回目、2 回目、及び追跡測定が示される。追跡測定は、患者が ECMO を成功裡に離脱した後 18 ~ 65 日目に行われた (  $n = 4$  )。

30

## 【 0 1 3 7 】

図 4 ( b ) のように、ECMO で亡くなった 3 人の患者は、ECMO を生き延びた患者と比べ、タバチエール窩において著しく低い FCD (  $p = 0.002$  ) を有した。グループ 2 の患者及び対照間で、FCD における差異は確認されなかった (  $p = 0.24$  )。

40

## 【 0 1 3 8 】

患者 E 3 以降から、測定を足の内側でも実施した (  $n = 6$  )。この部位では、患者は  $66.2$  本 (  $55.6 \sim 75.8$  の範囲 ) の毛細血管 /  $\text{mm}^2$  の FCD を有し、これは ECMO を生き延びた患者の手の平均 FCD (  $70.8$  本の毛細血管 /  $\text{mm}^2$  ) 及び対照の手の平均 FCD (  $65.5$  本の毛細血管 /  $\text{mm}^2$  )、並びに対照の足の平均 FCD (  $66.2$  本の毛細血管 /  $\text{mm}^2$  ) と類似した。グループ 1 では 1 人の患者 ( E 4 ) のみ足の測定を行ったため、この部位からのデータに対する更なる分析はなされなかった。それでも、この部位を測定された患者の中で、E 4 は最も低い FCD 及び最も高い FCD の CoV を有した。

## 【 0 1 3 9 】

50

タバチエール窩における F C D の 2 回目の測定は、1 回目の測定と類似する値をもたらした。

#### 【0140】

図 5 及び 7 の、グループ 2 の 4 人の患者の最後の追跡測定（患者 E 5 は既に亡くなっていた）は、E C M O から離脱後 18 ~ 65 日目に行われた。1 人の患者は最終評価で減少した F C D を示したが（E 3、後を参照）、残りの生存者は最終評価で 65 . 5 の平均 F C D（56 . 9 ~ 76 . 5 の範囲）を有し、この値は彼らの 1 回目の測定及びこの部位における対照の値と同じ範囲内であった。

#### 【0141】

2 . 3 . 1 . 3 F C D の不均一性

10

図 7（a）のように、E C M O で亡くなった患者（グループ 1）は、グループ 2 の患者と比べ、著しく高い皮膚毛細血管の C o V を有した（ $p < 0 . 005$ ）。後者のグループ及び対照間で、差異は確認されなかった（ $p = 0 . 74$ ）。

#### 【0142】

2 . 3 . 1 . 4 毛細血管流動様式：

1 回目の測定の間の、タバチエール窩における平均流れ区分別速度は、E C M O を生き延びた患者の 2 . 67（2 . 53 ~ 2 . 87 の範囲）と、対照の 2 . 76（2 . 65 ~ 2 . 88 の範囲）との間で差異を示さなかった（ $p = 0 . 17$ ）。E C M O で亡くなった 2 人の患者は、0 . 5 及び 1 . 76 の平均流速を有し、これは E C M O を生き延びた患者より著しく低かった（ $p = 0 . 007$ ）。毛細血管周囲の暗黒ハローを有するこれらの患者のうちの 1 人（E 2）において、E C M O 回路が 4 . 5 リットル / 分の出力を提供しているにもかかわらず、毛細血管内の赤血球の動きはどのフィルムシーケンスにおいてもほとんど認められなかった。

20

#### 【0143】

図 8 のように、健常な対照の全ての毛細血管は、流動様式 2 または 3 を有した。グループ 2 の患者は、対照と類似の流れ区分の分布を有した。毛細血管流の評価を行ったグループ 1 の 2 人の患者（E 2、E 4）において、毛細血管は広がった、または左にずれたスペクトルを有した。流れ区分 0（流れが皆無）及び 1（緩慢な流れ）は、E C M O を生き延びた患者ではほとんど確認されず、対照においては一度も確認されなかった。

30

#### 【0144】

E 3 は、E C M O 治療の後、肺感染症、敗血症発症、及び進行性腎不全のため、I C U に長期間かつ併発を伴い滞在した。患者は E C M O 設置後 51 日目に多臓器不全のため亡くなった。44 日目の、患者の最後の顕微鏡法の評価により、F C D が 30 % 減少し、C o V が 64 % 増加し、平均流れ区分別速度が、最初の測定と比べて 34 % 減少した、1 . 75 へ減少したことが示された。あるとき、グラム陰性敗血症の発症中に患者を検査したが（24 日目）、そのとき F C D は 49 本の毛細血管 / mm<sup>2</sup> へと顕著に減少し（- 29 %）、C o V は 0 . 17（- 23 %）であり、皮膚毛細血管の 22 % が活発な流れ（区分 4）を有した。この流れ区分の毛細血管は、他のどの患者に関して、いついかなる時にも観察されなかった。

40

#### 【0145】

[ 2 . 3 . 2 レーザードップラー灌流測定（L D P M） ]

対照は、タバチエール窩において 48 A u の平均流動値（22 ~ 96 の範囲）を有し、一方、足の内側での対応する値は 31 . 5（17 . 4 ~ 60 . 1 の範囲）であった。平均変動係数は、タバチエール窩において 0 . 20（0 . 13 ~ 0 . 35 の範囲）であり、足の内側では 0 . 25（0 . 12 ~ 0 . 34 の範囲）であった。

#### 【0146】

患者に関するレーザードップラーのデータセットは不完全である。E C M O で亡くなった患者（E 1 及び E 4）は、生存した患者のうちの誰よりも、両方の場所及び両方の測定機会において、より低い流動値を有したが（表 3）、おそらく少ない数及び大きな変動性により、その差異は有意性をもつには至らなかった。

50

## 【0147】

タバチエール窩における流動に関する変動係数は、1回目の測定では対照と比較すると生存者において著しく高かったが ( $p = 0.03$ )、同じ部位での2回目及び3回目の測定ではそうではなかった (それぞれ、 $p = 0.17$  及び  $0.74$ )。足の内側において、変動係数は、生存者及び対照の間で著しい変化を示さなかった (それぞれ  $p = 0.22$ 、 $0.44$ 、及び  $0.82$ )。

## 【0148】

## &lt; 3 考察 &gt;

この研究は、年間およそ550回の心臓切開手術を行う中規模の心臓外科部門で行われた。ECMOを要する患者の発生率 ( $0.6\%$ )、及びECMOで治療された患者の生存率 ( $28\%$ )の両方が、文献からのデータと同等である。白血球数を除いて、生存者及び非生存者間の有意な差異を示す臨床のパラメータは皆無である。CAVMの全てのパラメータに関して、著しい変化が確認された。皮膚微小血管の解剖学的構造は、上皮性増殖のための栄養を主に供給する乳頭下毛細血管の複合であり、より深い血管叢は体温調節のために主に働く。成人の皮膚において、本研究で使用された顕微鏡装置により、大部分の部位で乳頭下毛細血管のみが確認された。レーザードップラー技術は、表面上の、及びより深い叢の灌流の両方を測定する。

10

## 【0149】

## [ 3.1 コンピュータ支援ビデオ顕微鏡法 (CAVM) により行われた観察 ]

## [ 3.1.1 機能性毛細血管密度及び毛細血管分布の不均一性 : ]

20

1920年、デンマーク人生理学者であるAugust Kroghは、ノーベル生理学・医学賞を受賞した。彼の主な業績の1つは、全ての細胞は生存のために灌流された毛細血管の臨界半径中に配置されねばならないと想定する、「クローグシリンドー」の確認であった。この半径の外の細胞は、最も近接の毛細血管内の流量及び赤血球の酸素飽和度から独立して、不十分な酸素付与を経るであろう。灌流された毛細血管の不均等な分布は、標準の $SO_2$ にも関わらず、一部の細胞へ低い酸素圧をもたらし得る。

## 【0150】

ECMOで亡くなった患者は、ECMOを生き延びた患者及び健常な対照と比べて、減少したFCD及び増加したFCDのCOVを有した。ECMOを生き延びた患者は、対照に関する基準レベル内の、安定したFCD及びCOVを有した (図7)。例外は、ECMO後に幾つかの敗血症の発症を伴う複雑な経過を有したE3であった。多臓器不全で亡くなる7日前の最後の評価は、ECMOで亡くなった患者の値と同等の値を示した。図7を参照されたい。

30

## 【0151】

1922年、Freedlanderは、顕微鏡を使って、敗血症の患者の皮膚における、減少した毛細血管密度を示した。後の研究により、Freedlanderの発見が確認され、異なる組織及び全身性の病気を有する哺乳類において、FCDの不均一性が増加することが実証された。敗血症の、及び心臓性ショックを有する患者において、舌下の領域における24時間の持続的な重度に減少したFCDは、死亡率の増加と関連する。直腸粘膜における減少したFCDは、重度のマラリアを有する患者の芳しくない予後に関連する。

40

## 【0152】

## [ 3.1.2 毛細血管流動様式 : ]

図7は、ECMOで亡くなった患者 (グループ1) 及びECMOを成功裡に離脱した患者 (グループ2) に関する、5つの流れ区分のそれぞれにおける毛細血管の分布を、8人の健常な対照と比較して示す。流れ区分は、0 = 流れが皆無、1 = 緩慢な流れ (非常に緩徐な細胞運動、時には逆流する)、2 = 継続的な低流量 (細胞が、大部分がゆっくりと継続的に前へ動く)、3 = 継続的な高流量 (細胞が、大部分が迅速に継続的に前へ動く)、4 = 活発な流れ (フィルムシーケンス全体を通して、細胞が迅速に動く) として定義された。

50

## 【 0 1 5 3 】

毛細血管流が分析されてきた、グループ 1 の 2 人の患者において、「流れが皆無」または「緩慢な流れ」の毛細血管が、著しい数で確認された。これらの区分は、対照または生存者において、ほとんど確認されなかった。グループ 2 の患者は、対照と類似する毛細血管流動様式を有した。流れが皆無の毛細血管の増加した数について、異なる病気において説明されており、流れが皆無の毛細血管と、高い死亡率との間の正の相関関係が示されてきた。患者 E 2 の全ての毛細血管は、流れ区分 0 または 1 を、それぞれの区分で 50 % ずつ有していた。興味深いことに、その時点での患者は、播種性血管内凝固症候群 ( D I C ) を示す生化学的マーカーを有した。

## 【 0 1 5 4 】

10

## [ 3 . 1 . 3 円形の暗黒ハロー ]

暗黒ハローが、ECMO で亡くなった患者のうちの 2 人 ( E 2 及び E 4 ) において確認され、ハローの端部は毛細血管から  $12 \pm 1$  ミクロンであった。E 2 において多数のハローが、「流れが皆無」の毛細血管の周囲に顕著に存在した。E 4 はより少ないハローを有し、それらは灌流された毛細血管の周囲でも確認された。これらのハローの原因は不確かだが、1 つの可能性は、ハローは傷ついた毛細血管から漏出する沈澱タンパク質または赤血球の分解生成物を表す、というものである。別の可能性は、ハローは毛細血管周囲の浮腫によって引き起こされる、というものである。

## 【 0 1 5 5 】

20

## [ 3 . 1 . 4 毛細血管周囲の出血 ]

出血する毛細血管は、フォンウィルブランド病を有する患者、重度の下肢虚血を有する患者、結合組織疾患を有する患者、及び抗凝血薬を服用する患者において説明されている。髄膜炎菌抗原の注射後 4 時間での、敗血症のブタの舌における毛細血管周囲の出血を報告した。毛細血管周囲の出血は、患者 E 1 ( ECMO で死亡 ) の幾つかの皮膚の部位で確認された。患者は、全身性紅斑性狼瘡を患っていた。患者は抗凝血薬による治療は受けていなかった。顕微鏡的出血は検知できなかった。毛細血管の赤血球の漏出は、毛細血管の壁への重度の損傷の結果であり、増加する液漏れ及び浮腫が見込まれる。患者 E 1 は ECMO 上の最初の 24 時間で 30 キロ体重が増加し、最初の測定と 2 回目の測定の間に更に 12 キロ増加した。

## 【 0 1 5 6 】

30

## [ 3 . 2 レーザードップラー灌流測定 ]

皮膚灌流の大部分は、灌流が交感神経作用によって主に調節される、より深い体温調節用の叢において起こる。これらの叢における灌流は、体温調節機能の働きを主にするため、皮膚栄養は L D P M 技術によって評価できない。ECMO で亡くなった 2 人の患者 ( E 1 及び E 4 ) は、場所及び測定期間の両方において、全員の中で最も低い灌流の値を有したが、少ない数及び大きなデータのばらつきにより、有意な差異は実証されなかった。

## 【 0 1 5 7 】

## [ 3 . 3 制限 ]

含まれる患者の数は少なく、急性心不全を有する不均一なグループを表し、一方で基準データは健常な若い男性の学生から収集された。健常な対象の毛細血管赤血球速度は年齢に依存しないため、我々の、若い学生の対照グループを使用できると推断する。

40

## 【 0 1 5 8 】

## [ 3 . 4 発見の可能な示唆 ]

米国では、死亡前 1 ヶ月、及び入院の費用において発生するメディケア支出の 40 % が、故人にかかった総費用の 70 % 超を占めた。これは、患者の生命の終わりが近づく際に、大した余命の改善を得ること無しに、先端技術集中治療設備の使用が増加していることを指す。ECMO 及び他の循環支援装置は、使用上高価である。このような治療に関する、患者の選択に対する一般的に容認された基準が欠けている。支援装置は中枢の循環動態を改善するが、余命の改善は多くの場合伴わない。それ故に、高価な体外生命維持技術向きの患者を選択するため、このような処置を確立した後すぐの予後の推定のため、並びに

50

支援装置を使用する間、支持療法の効果を評価するために使用し得る診断技術に対する強い必要性が存在する。

【 0 1 5 9 】

舌下微小循環の顕微鏡的検査が、敗血症または心臓性ショックを有する重篤患者の、予後の指標としての働きをし得る、という考えは容認されているようである。心臓性ショックを有する68人の患者に対する研究において、舌下の機能性毛細血管密度の減少は、臓器不全の進行と関連した。

【 0 1 6 0 】

顕微鏡法 ( O P S ) により舌下を検査された、1人のECMO患者の症例報告は、毛細血管流速が、変化するECMO流と共に変化したことを示した。変化は、最も小さい毛細血管において最も顕著であった。小さな舌下の毛細血管は、我々の研究において検査した栄養性の皮膚乳頭毛細血管の大きさに対応する。

10

【 0 1 6 1 】

我々の研究は、皮膚微小循環の臨床評価に関する技術は、支援装置上の患者への対処の改善のための有益な臨床ツールへと発展し得ることを示す。

【 0 1 6 2 】

< 4 結論 >

ECMO患者における皮膚栄養性毛細血管の微小循環検査は、ECMOで亡くなった患者における主要な構造的かつ機能的病理を示し、一方でECMOを生き延びた患者は健常な対照と類似の結果を有する。ECMOの設置のすぐ後の生存者における、無傷の皮膚微小循環の形態及び機能の発見は、良好な予後を示唆する、堅調かつ臨床上有益な発見である。毛細血管周囲の出血または暗黒ハロー、微小血栓 / 「流れが皆無」の毛細血管、低い毛細血管流速、及び低い機能性毛細血管密度は、芳しくない予後と関連する。

20

【 0 1 6 3 】

[ 添付資料 - 表 ]

【 0 1 6 4 】

【表 1】

全ての研究患者に関する臨床の情報及び成果

| 患者  | 性別 | 危険因子                   | 兆候及び手術の形式                | ECMOの適応症 | ECMOの期間 | 成果          |    |
|-----|----|------------------------|--------------------------|----------|---------|-------------|----|
| E 1 | 男性 | SLE慢性腎臓移植片拒絶           | 大動脈及び僧帽弁狭窄。AVR及びMVR      | 開心術後ショック | 11日間    | ECMO上で死亡    | 10 |
| E 2 | 男性 | NYHA III<br>EF: 15~20% | A型大動脈解離大動脈移植片            | 開心術後ショック | 2.5日間   | ECMO上で死亡    |    |
| E 3 | 男性 | 以前AMI及び肺塞栓再手術          | A型大動脈解離大動脈移植片            | 開心術後ショック | 4日間     | 手術後51日目に死亡  |    |
| E 4 | 女性 | ライデン突然変異<br>経口避妊薬      | 広範囲の肺塞栓によるショック           | 心臓性ショック  | 5時間     | ECMO上で死亡    | 20 |
| E 5 | 男性 | 最近のAMIによる術前心臓性ショック     | 僧帽弁閉鎖不全及びCAD<br>MVR+CABG | 開心術後ショック | 3日間     | ECMO後8時間で死亡 | 30 |
| E 6 | 男性 | 減少したEF<br>重度喫煙者        | PCIの失敗に続く心臓性ショック<br>CABG | 開心術後ショック | 7日間     | 長期生存者       |    |
| E 7 | 女性 | 以前に脳卒中。3年前のAVR後の再手術。   | 僧帽弁心内膜炎<br>開心術及び付着物除去    | 開心術後ショック | 4日間     | 長期生存者       |    |
| E 8 | 男性 | II型DM<br>脳卒中<br>肺高血圧症  | A型大動脈解離大動脈移植片            | 開心術後ショック | 4日間     | 長期生存者       | 40 |

【0165】

【表 2】

1 回目の微小血管測定時の ECMO 患者の臨床及び研究室データ

|                               | グループ 1 (N=3)       | グループ 2 (N=5)    |        |
|-------------------------------|--------------------|-----------------|--------|
| ヘモグロビン (g/dl)                 | 9.3(7.8~10)        | 10.1(9.5~11.2)  | NS     |
| 赤血球輸血<br>(ユニット数)              | 21(10.0~37)        | 16.4(10.0~20)   | NS     |
| 心拍数 (脈拍/分)                    | 74(68~80)          | 82(55~107)      | NS     |
| MAP (mm Hg)                   | 53(45~63)          | 53(45~60)       | NS     |
| CVP (mm Hg)                   | 19(13.0~28)        | 10(8~18)        | NS     |
| ECMO (リットル/分<br>で)            | 3.5(3~4)           | 4.1(3.5~4.5)    | NS     |
| 大動脈内バルーンポンプ?                  | 3人中2人              | 5人中4人           | NS     |
| 血管作動性薬品?                      | 3人中3人              | 5人中3人           | NS     |
| FiO <sub>2</sub>              | 0.68(0.45~1.00)    | 0.60(0.5~0.7)   | NS     |
| SaO <sub>2</sub> (パーセントで)     | 86(61~99)          | 98(98~99)       | NS     |
| SvO <sub>2</sub> (パーセントで)     | 70(70 及び 70)       | 65.4(55~72)     | NS     |
| 乳酸 (ミリモル/l)                   | 5.5(1.2~12.5)      | 3(1.3~3.6)      | NS     |
| pH                            | 7.34(7.23~7.41)    | 7.42(7.36~7.45) | NS     |
| pCO <sub>2</sub> (kPa で)      | 5.0(4.7~5.4)       | 4.8(4.4~5.5)    | NS     |
| 塩基過剰                          | -4.3(-12.2~(+0.3)) | -0.6(-3~(3.5))  | NS     |
| 温度 (°C)                       | 36.8(36.5~37)      | 37.1(36.9~37.5) | NS     |
| CRP (mg/l)                    | 77.3(22.0~140.0)   | 86.5(22.0~173)  | NS     |
| WBC (10 <sup>9</sup> 細胞/リットル) | 14(12.0~16.0)      | 7.2(5.0~12.5)   | P=0.02 |
| 尿量 (ml/時)                     | 3(0~10)            | 48(0~100)       | NS     |
| 透析 (患者の数)                     | 3人中2人              | 5人中1人           | NS     |
| 蓄積的陽の体液平衡 (リットルで)             | 21(8~30)           | 16.6(10~26)     | NS     |

10

20

30

## 【実施例 2】

## 【0166】

&lt; 1. 材料及び方法 &gt;

[ 1. 1. 研究対象集団 ]

6 ヶ月間、健常な母親をもつ、25 人の白色人種の健常な正期産児を、分娩後最初の 24 時間内に登録した (表 3)。

## 【0167】

【表 3】

研究対象集団の個体群統計データ (n = 25)

| 値              | 平均 (範囲)          |
|----------------|------------------|
| 在胎期間 (週)       | 40.3 (38.3~42.6) |
| 出生長 (cm)       | 50.0 (48.0~56.0) |
| 頭囲 (cm)        | 35.0 (32.0~38.0) |
| 出生体重 (グラム)     | 3425 (2946~4536) |
| 1分後のアプガースコア    | 9 (7~10)         |
| 5分後のアプガースコア    | 9 (8~10)         |
| 男性 (%)         | 48               |
| 最初の測定時の年齢 (時間) | 15 (4~23)        |
| 母親の年齢 (年)      | 31.8 (20.0~40.0) |

10

## 【0168】

## [1.2. 微小血管技術]

## [1.2.1. コンピュータ支援ビデオ顕微鏡法 (CAVM)]

微小血管の形態及び生理の生体内研究を、拡大機能250倍、分解能640×480ピクセル、及び毎秒15フレームのフレーム速度を有する、携帯式デジタルビデオ顕微鏡 (Optilia、D1、スウェーデン、Sundbyberg) を用いて実施した。フィルムシーケンスはコンピュータ (Mac OS X、Quick Time Player) 上に投影及び保存した。5~7つのフィルムシーケンスを、生後3日間の間にそれぞれの皮膚領域から撮影した。それぞれのフィルムシーケンスからの良質なフレームを、関心領域 (ROI) 内の毛細血管密度及び毛細血管の分布の不均一性の分析のために使用した。フレームはオフラインで定量的に分析され、3本の等距離の水平線及び3本の等距離の垂直線が引かれた。

20

## 【0169】

ソフトウェア Xscope (the Iconfactory、米国ノースカロライナ州、Greensboro) を、グリッドを製作するために使用した。機能性毛細血管密度 (FCD) を、mm線当たりの線のグリッドを横切る微小血管の数 (c/mm) として計算した (De Backer ら Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2002, 166 (1) pp. 98 - 104)。

30

## 【0170】

FCD評価の観察者間信頼性の分析のために、8人の幼児の、視覚的に良質と判断されたフィルムを、盲検的に評価した2人の独立した研究者 (SF、TW) が結果を比較した。観察者内信頼性の検査のために、1人の研究者 (SF) は、同じ分析を数ヶ月間隔を空けて2度行った。

## 【0171】

個々の毛細血管流動様式を、特に良好であると検証されたフィルムシーケンスで、8人の幼児において分析した。限られた動きの人為結果を伴う、または皆無の、5つの最上の10秒間のシーケンスを選択した。1名の熟練の研究者が分析を行った (TW)。個々の毛細血管における流速を、半定量5区分尺度においてスコア化した (表4)。

40

## 【0172】

【表 4】

それぞれの区分における流れの説明を伴う流れ区分

| 流れ区分      | 流れの説明                    |
|-----------|--------------------------|
| 0－流れが皆無   | 赤血球を視認可能、動き無し            |
| 1－緩慢な流れ   | 緩徐な細胞運動、時には逆流する          |
| 2－継続的な低流量 | 大部分がゆっくりと継続的に前へ動く        |
| 3－継続的な高流量 | 大部分が迅速に継続的に前へ動く          |
| 4－活発な流れ   | フィルムシーケンス全体を通して、細胞が迅速に動く |

## 【0173】

10

データは特定の流れ区分における毛細血管の分率 (Fr) (この区分内の毛細血管の数 / 数えられた毛細血管の合計数) として表された。平均毛細血管流れ区分別速度 (MFCV) は、以下の式、 $Fr(1) \times 1 + Fr(2) \times 2 + Fr(3) \times 3 + Fr(4) \times 4$  (Wester ら Clin Physiol Funct Imaging 31, 2011, pp 151 - 8) に従って計算された。

## 【0174】

## [1.2.2. レーザードップラー灌流測定 (LDPM)]

微小血管灌流を、Moor Blood Flow Monitor (MBF 3D) と、Moorsoftとによって (両方とも Moor instruments、Axminster、英国、Devon)、記録及び分析のために評価した。出力は流動の半定量尺度として与えられ (任意単位、AU)、動いている血液細胞の数及び測定量 (およそ  $1 \text{ mm}^3$ ) 内のそれらの平均速度の積として定義された。限られた動きの人為結果を伴う、または皆無の、7つの10秒間のシーケンスを、それぞれのROIから選択した。

20

## 【0175】

## [1.2.3. 拡散反射分光法 (DRS)]

微小血管酸素飽和度の測定のために、可視波長領域内で運転する分光計 (S2000、Avantes、オランダ)、及び450~800nmの有効なスペクトル範囲を有するタングステンハロゲン光源 (Avalight-HAL、オランダ) からなる装置を使用した。黒いプラスチック筐体内に封入されたポリテトラフルオレチレンのタイル (WS-2、Avantes、オランダ) を基準として使用した。3本の隣接する照明ファイバー (ファイバー直径400 $\mu\text{m}$ ) 及び1本の受光ファイバー (ファイバー直径400 $\mu\text{m}$ ) のファイバー組成を有し、結果的におよそ800 $\mu\text{m}$ のプロープにとっての受発光距離を有する、特製の光ファイバープロープ (Meglinsky ら Med Biol Eng Comput, 2001.39(1): pp. 44 - 50) を、測定のために使用した。20人の新生児におけるそれぞれのROIから、12のスペクトルを収集した。

30

## 【0176】

スペクトルの分析は、拡散近似法に基づいて組織モデルを適合させることによって行われた (Farrell ら Med Phys, 1992.19(4): pp. 879 - 88、Jacques, IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering, 1989.36(12): pp. 1155 - 1161)。モデルは、メラニン発色団、ヘモグロビン誘導体、水、及びMie及びRayleigh散乱因子を含んだ。スペクトルシグネチャの分解は、測定されたスペクトルに対する、モデルの最小二乗適合によってなされた。次いで、反射光スペクトルの分解を、酸化及び還元ヘモグロビンの見かけ含有量を推定するために使用した。微小血管酸素飽和度を、酸素抽出を推定するために、動脈酸素飽和度と比較した。

40

## 【0177】

## [1.2.4. パルスオキシメトリ]

動脈酸素飽和度を、パルスオキシメータ (Masimo Set、Rad-5v、米国、Irvine) を用いて、プロープを右手の上に配置し、測定した。

## 【0178】

50

## [ 1 . 2 . 5 . 皮膚温度の測定 ]

皮膚温度は、表面温度スキャナー ( Omega Medical Model no . S T S - 1 0 1 - C 、米国 ) を用いて、R O I へ測定直前に微小血管技術で付着させ、測定した。腋窩温は、通常の温度計 ( D i g i t e m p 、M i c r o l i f e A s i a 、M t 1 6 7 1 、台湾 ) で測定した。

【 0 1 7 9 】

## [ 1 . 2 . 6 . ビリルビン測定 ]

経皮的ビルメーター ( D r a g e r 、J M 1 0 3 、D r a g e r m e d i c a l 、L u b e c k 、日本製 ) を、D R S 分析アルゴリズムの因子であるビリルビン値を推定するために使用した。

10

【 0 1 8 0 】

## [ 1 . 3 . 測定手順 ]

記録を可能にするため、静かで、満たされた赤ん坊を用意することが重要であった。記録は、約 2 1 の一定の温度、及び薄暗い光の部屋で行われた。赤ん坊は、ベッドに横たわっていた。C A V M 、L D F 、及び D R S は全て、出生後 1 日目、2 日目、及び 3 日目に記録された。2 人の同じ研究者 ( S F 、E H ) が、全ての測定を実施した。左手の背側の中心の皮膚 ( H ) 、並びに喉及び左の乳頭の間の中央面における胸部の皮膚 ( C ) という、2 つの皮膚範囲を定義した ( R O I ) 。検査中、記録のシーケンスはいつも C A V M 、その後 L D F 、及び最後に D R S 測定であった。胸部が最初に検査された。それぞれの新技術を適用する前に、酸素飽和度及び皮膚温度を記録した。最後に、腋窩温及び経皮的ビルブリンを測定した。ベビーオイル ( N a t u s a n ) を、ビデオ顕微鏡のための液浸油として使用した。全ての機器は、皮膚表面上に穏やかに適用された。

20

【 0 1 8 1 】

## [ 1 . 4 . 倫理 ]

書面による父母の同意を得た。南東ノルウェーの、医学及び健康に関する研究倫理委員会、並びに病院の科学委員会によって研究が承認された。

【 0 1 8 2 】

## [ 1 . 5 . 統計 ]

個体群統計データは範囲を伴う平均として提示される。全ての他の変数は、標準偏差 ( S D ) を伴う平均として報告される。連続的な変数に関しては、平均を比較するために対応 t 検定を実施した。P 値 0 . 0 5 が有意であるとみなされた。クラス内相関係数 ( I C C ) 及び B l a n d - A l t m a n プロットを、連続的な変数の試験 - 再試験信頼度を分析するために使用した。不均一性は、変動係数 ( C o V = S D / 平均 ) として表された。統計的分析を、W i n d o w s の S P S S ( 社会科学のための統計パッケージ、v e r s i o n 1 8 . 0 S P S S I n c . 、米国イリノイ州、シカゴ ) を用いて行った。

30

【 0 1 8 3 】

## &lt; 2 . 結果 &gt;

標準的な病室内で、両親の同席する中、3 0 ~ 4 5 分間の時間で、非外傷性の方法の 3 つの非侵襲性技術によってデータを得ることが可能であった。3 つの方法全ての、1 7 の完全なデータセットが得られた。分光法の検査は、研究の開始時の技術的問題により、最初の 5 人の幼児に対しては行われなかった。産科病棟からの早期退院により、2 日目及び / または 3 日目に 3 人の幼児の追跡検査ができなかった。

40

【 0 1 8 4 】

## [ 2 . 1 . コンピュータ支援ビデオ顕微鏡法 ]

機能性毛細血管密度 ( F C D ) は、3 日間全てで、胸部と比べて手の方が著しく高かった ( 表 5 ) 。

【 0 1 8 5 】

【表 5】

機能性毛細血管密度 (mm線当たりの横切る毛細血管) (n = 25)

| 日      | 1         | 2         | 3         | p 値 (1 日目対<br>3 日目) |
|--------|-----------|-----------|-----------|---------------------|
| 胸部 (C) | 11.3(1.5) | 11.0(1.7) | 10.7(1.6) | p=0.14              |
| 手 (H)  | 13.2(2.0) | 13.2(1.9) | 12.4(1.6) | p=0.05              |
| p 値    | p<0.001   | p<0.001   | p<0.001   |                     |

与えられたデータは、平均 (SD) である

## 【0186】

10

1 日目から 3 日目にかけて、胸部及び手の両方で FCD の数が減少する傾向が僅かに存在する。5 回繰り返された測定のコエフとして表される FCD の不均一性は、11 ~ 13 %であった。

## 【0187】

[2.1.1. FCD の試験 - 再試験信頼度]

平均スコアにおいて差異が存在したものの (11.5 対 10.7 c/mm、 $p < 0.001$ )、主要な調査員 (SF) の観察者内信頼性は高かった (ICC 0.72 (0.54 ~ 0.83))。SF からの FCD 値の第 2 のセットを、より熟練の研究者 (TW) からのデータと比較すると、平均 FCD スコアは類似していた (10.7 対 10.8 c/mm、 $p = 0.70$ )。観察者間信頼性もまた、良好であった (ICC 0.54 (0.31 ~ 0.72))。観察者間及び観察者内試験の両方に関して、Bland-Altman プロットは、2 つのデータセット間での差異が、毛細血管密度の増加と共に増加することを示した (図 3 a 及び b)。

20

## 【0188】

[2.1.2. 毛細血管流動様式]

支配的な毛細血管の流れ区分は、区分 3 (継続的な高流量) であったが、流れ区分 2 (継続的な低流量) もまた現れていた (表 2、図 4 a 及び b)。流れ区分 0 (流れが皆無) 及び 4 (活発な流れ) は確認されなかった。平均流れ区分別速度 (MFCV) は、3 日間全てで、胸部及び手の両方において同様であり、2.57 (0.10) 及び 2.71 (0.11) の間で変化した。

30

## 【0189】

[2.2. レーザードップラー灌流測定]

皮膚レーザードップラー灌流は、手と比べて胸部の方が著しく高かった (表 6)。

## 【0190】

【表 6】

レーザードップラー灌流 (AU) (n = 25)

| 日      | 1           | 2           | 3           | p 値 (1 日目対<br>3 日目) |
|--------|-------------|-------------|-------------|---------------------|
| 胸部 (C) | 109.1(26.0) | 101.4(24.6) | 100.8(25.3) | p=0.62              |
| 手 (H)  | 58.9(17.5)  | 54.3(15.8)  | 46.9(14.8)  | p=0.09              |
| p 値    | p<0.001     | p<0.001     | p<0.001     |                     |

与えられたデータは、平均 (SD) である

40

## 【0191】

1 日目から 3 日目にかけて、胸部及び手の両方で、皮膚レーザードップラー灌流の減少へ向かう非有意の傾向が存在した。3 日間続けて 7 回繰り返された測定のコエフとして表される灌流の不均一性は、24 ~ 32 %であった。

## 【0192】

[2.3. 拡散反射分光法]

微小血管赤血球の酸素飽和度 (SmvO<sub>2</sub>) は、3 日間全てで経時的な変化無しに、手

50

と比べて胸部の方が著しく高かった（表 7）。

【 0 1 9 3 】

【 表 7 】

| 微小血管酸素飽和度（ $S_{mv}O_2$ ）（%）（ $n = 20$ ） |            |            |            |                    |
|-----------------------------------------|------------|------------|------------|--------------------|
| 日                                       | 1          | 2          | 3          | p 値（1 日目対<br>3 日目） |
| 胸部（C）                                   | 88.1(5.2)  | 87.8(10.0) | 86.7(9.0)  | P=0.07             |
| 手（H）                                    | 79.9(15.2) | 82.7(11.8) | 82.2(12.1) | P=0.77             |
| p 値                                     | p<0.05     | p<0.05     | p<0.05     |                    |

与えられたデータは、平均（SD）である

10

【 0 1 9 4 】

1 2 回繰り返された DRS 測定の、COV として表される不均一性は、9 ~ 18 %であった。

【 0 1 9 5 】

$SaO_2 - S_{mv}O_2$  として定義される酸素抽出は、胸部及び手の間で著しい差異を示し、3 日間全てで手においてより高い酸素抽出を有し（平均（SD））：胸部 1 日目 ~ 3 日目：14.5（1.6）、14.1（3.1）、11.7（2.7）、手 1 日目 ~ 3 日目：23.5（3.4）、20.2（2.8）、24.3（3.5）、時間による変化は存在しなかった。

20

【 0 1 9 6 】

[ 2.4. 他の結果 ]

予期されたように、1 日目から 3 日目にかけてビリルビンのレベルが増加した。温度、脈拍、動脈酸素飽和度は 3 日間全てで安定しており、性別間での差異は存在しなかった（データは示さず）。

【 0 1 9 7 】

< 3. 考察 >

非外傷性的な方法で、コンピュータ支援ビデオ顕微鏡法、レーザードップラー灌流測定、及び拡散反射分光法を用いて、健常な正期産児の、再現性があり非侵襲性の皮膚微小血管データを得ることが可能であった。

30

【 0 1 9 8 】

[ 3.1. モデル ]

新生児における、胎児のシャントの閉鎖を伴う心肺の適合は、生まれて最初の 1 時間の間に主に起こるが、生後数日から数ヶ月まで完了しない。4 ~ 7 %の体重の損失を伴う全身の水分の減少、胎児赤血球の溶血、及び成人ヘモグロビンを有する赤血球の生成等の、他の適応性の反応は、最初の数日から数週間の間にかかる。ヘマトクリット値は 2 時間齢で最高になり、その後数週間にわたって徐々に減少する。我々は新生児を、中枢の循環動態及び血液レオロジーに影響し、それにより微小血管灌流に影響を与える、これらの適応性のプロセスの多くが起こる時である、生後 1 日目、2 日目、及び 3 日目に検査した。

40

【 0 1 9 9 】

[ 3.2. CAVM ]

[ 3.2.1. 微小血管の解剖学的構造 ]

我々の新生児は鎮静されておらず、時によって自発性の動きが記録の質を落とした。良質なフィルムシーケンスを記録するには訓練が必要とされた。成人の皮膚において、微小血管は、上皮性増殖のための代謝性の必要物を確保する表層乳頭栄養毛細血管、並びに体温を主に司る深層及び表層水平叢へ配置される。最も分化した構造を有する部位である成人の手足において、表層栄養毛細血管は、顕微鏡内で「点」または「コンマ型」として確認される。新生児の上皮組織は、成人よりも薄く、血管構造は完全には分化していない。顕微鏡によって、水平微小血管を有する無秩序な網状組織が確認された。それ故に、機能性毛細血管密度の評価は、mm 線当たりの線のグリッドを横切る微小血管の数（c/mm

50

）として評価された。

#### 【 0 2 0 0 】

##### [ 3 . 2 . 2 . 機能性毛細血管密度 ( F C D ) ]

酸素は、 $\text{CO}_2$ の拡散能力と対照的に、生体組織内で限られた拡散能力を有する。1920年のノーベル生理学・医学賞受賞者であるAugust Kroghは、全ての細胞は、十分な酸素供給を得るために、灌流された毛細血管の臨界シリンダー中に配置されねばならないと想定した。このシリンダー中で、酸素の利用性は、毛細血管の中心から距離が開くほど指数関数的に減少する。このようなシリンダーの外の細胞は、最も近接の毛細血管内の赤血球の酸素飽和度から独立して、酸素運搬の欠乏を経るであろう。これは、FCD及び微小血管の不均一性は、組織内の全ての細胞への栄養及び酸素の利用性を確保するために、規定の制限内でなければならないことを意味する。

10

#### 【 0 2 0 1 】

##### [ 3 . 2 . 3 . F C D 値 ]

胸部においてFCDは10.7～11.3 c/mmの間で変化し、手においては12.7～13.2 c/mmの間であり、3日間全てで、胸部と比べて手の方が著しく高かった(表3)。また、両方の部位に関して、1日目から3日目にかけて、FCDの減少へ向かう明確な傾向も存在した。

#### 【 0 2 0 2 】

##### [ 3 . 2 . 4 . 微小血管の不均一性 ]

灌流された毛細血管の不均等な分布は、標準の $\text{SaO}_2$ にも関わらず、一部の細胞へ低い酸素圧をもたらし得る。5回繰り返された測定におけるCoVとして表されるFCDの不均一性は、11～13%であった。タバチエール窩において測定された健常な成人(CoV: 15～30%)は、同じ範囲内の値を有した。

20

#### 【 0 2 0 3 】

##### [ 3 . 2 . 5 . 毛細血管流動様式 ]

我々の健常な新生児において、支配的な微小血管の流れ区分は、流れ区分3(60～70%)及び流れ区分2(25～35%)であった(表2、図4)。流れ区分0及び4は確認されなかった。速度は、3日間全てで、胸部及び手において同様であった。我々は以前に、若い成人の対照の皮膚(タバチエール窩)における類似の流れ区分を(皮膚微小血管の75%が流れ区分3内であり、25%が区分2内である)、同じ設備及び同じ検査員を用いて確認していた。

30

#### 【 0 2 0 4 】

平均毛細血管流れ区分別速度(MFCV)は、連日ほとんどばらつきがなく、胸部及び手において同様であった(2.57～2.71の間で変化した)。新生児のMFCVもまた、健常な若い成人のタバチエール窩の皮膚で我々が以前確認したもの(2.56～2.88)と同様であった。

#### 【 0 2 0 5 】

##### [ 3 . 2 . 6 . 再現性 ]

再現性の分析は、1人の熟練の調査員(TW)及び本研究の開始時ではTWより経験の劣った1人(SF)によって行われた。FCDにおける観察者間のばらつきは、SFからの結果の第2のセットをTWの結果と比べたとき、小さかった(図2a)。SFの観察者内信頼性試験は、数ヶ月間隔を空けて行われた第1の分析から第2の分析において、平均FCD値における統計学的に有意の低下を示し、これはおそらくは学習曲線の影響によるものであり(図2b)、再現性のある結果を得るための、フレーム及びフィルム分析に関する訓練プログラムの必要性を示した。

40

#### 【 0 2 0 6 】

##### [ 3 . 2 . 7 . OPS / SDF 対 CAVM ]

ヒト生体内微小血管顕微鏡検査は、長年にわたって行われている。10年超にわたって、OPS(直交偏光スペクトル画像化)及びSDF(サイドストリーム暗視野画像化)が使用されている。これらのシステムは、微小循環を可視化するために、偏光された緑色光

50

(波長 550 nm) 及びフィルトレーションシステムからなる。光はヘモグロビンにより吸収され、赤血球はそれ故に黒く見える。しかしながらこのシステムは、ヒトの新生児において、粘膜(舌)上、並びにこの外皮を有する一部の領域上でしか使用できない。対照的に、CAVMは白色光を使用し、これはカラーの画像及び異なる皮膚の形式を検査できる可能性を提供する。

#### 【0207】

##### [3.3.LDPM]

1 mm<sup>3</sup>の範囲内の組織の体積における、微小血管灌流を定量化するためのレーザードップラー原理は、ほぼ40年近くにわたり商業的に利用可能であるが、この技術は臨床医学においてほぼ全く日常的な用途を有さない。これは、この方法が、栄養性灌流を主に司る表層乳頭毛細血管と、体温調節機能を主に司るより深層の叢との両方を、混成して評価するという事実によって、部分的には説明される。

10

#### 【0208】

本研究において、胸部の皮膚における灌流は、手と比べて著しく高く、これは胸部のより高い温度(+2.8)に対応する(表4)。CoVとして表される、繰り返される測定の不均一性は、24~32%であり、CAVM及びDRSのデータの不均一性より相当に高かった。

#### 【0209】

##### [3.4.DRS]

##### [3.4.1.DRS法]

拡散反射分光法を、微小循環内の赤血球の酸素飽和度( $S_{mv}O_2$ )を評価するために用いた。DRSの衡量は、放射光スペクトル、組織の光学特性、及び測定プローブの設計に依存する。本研究において使用される設備は、皮膚内およそ0.8 mmの測定深度に対応して、<1 mm<sup>3</sup>の衡量を有すると推定される(上記のMeglinskyら)。

20

#### 【0210】

##### [3.4.2.DRSの結果]

微小血管酸素飽和度( $S_{mv}O_2$ )は、衡量内の酸素供給及び消費の平衡を表す。供給はここでも灌流及び動脈酸素飽和度の積に依存し、一方で消費は組織の代謝速度に依存する。我々の新生児における $S_{a}O_2$ は、100%に近いので、我々の $S_{vm}O_2$ のデータは12~20%の間の抽出を示した。新生児においては、乳頭栄養性灌流のみが評価される成人の皮膚とは対照的に、体温調節用及び栄養性灌流の両方がDRS衡量内で起こる。新生児における衡量内の灌流の一部はまた、輸送機能を有し得る(成人の皮膚のDRS衡量内の垂直な乳頭系蹄と対比される、新生児における水平構造)。

30

#### 【0211】

胸部における $S_{mv}O_2$ (86~88%)は手(76~80%)と比較してより高く、これは微小血管構造の差異を反映するものかもしれないが、またLDPMによって実証されたような、手におけるより低い灌流を反映するものかもしれない。手におけるより低い灌流と、それに伴う代償的なより高い酸素抽出とは、不必要な熱の損失を防ぐための方法でもあるのかもしれない。

#### 【0212】

##### <4.結論>

顕微鏡法及び分光法は共に、新生児の皮膚微小循環を評価するための最も有用な技術であると考えられる。両方とも1 mm<sup>3</sup>の分画の衡量を有し、個々の微小血管に対応する分解能を有する。小さい衡量は高い分解能をもたらすが、代償として測定された値におけるより大きいばらつき、すなわち繰り返される測定のより大きな広がりを生む。この問題は、組織からの平均値を表すために繰り返される測定の平均を用いることで対処でき、繰り返される測定の広がりや微小循環の不均一性を説明するために使用され得る。

40

#### 【0213】

全ての細胞は微小循環からの栄養分及び酸素の運搬に依存するが、微小血管機能の評価は日常的な臨床診療においてなされない。本研究において、新生児の皮膚微小血管系から

50

再現性がある情報を得ることが実現可能であることを示した。本研究において用いられる技術は、成長及び発育のために必要である代謝プロセスのための酸素運搬の量についての情報をもたらす。

### 【実施例 3】

#### 【0214】

##### 肢端紅痛症及び微小循環

肢端紅痛症 (EM) は、紅斑、上昇した皮膚温度、及び四肢における灼熱痛により特徴付けられる、臨床症候群である。痛みは、冷却によって緩和され、加温によって悪化する。EM は通常、基礎疾患の存在の有無によって、一次性及び二次性の症例に分けられる。症状は、軽い不快感から手足を脅かす低酸素症及び切断に至るまで多岐にわたる。

10

#### 【0215】

EM の発病機序については議論されている。本発明者及び他の者は、この発病機序の一般的な最終経路の仮説を提案し、その仮説とは、冒された皮膚における、増加した体温調節用灌流及び栄養毛細血管灌流の相対的な欠如を伴う、解剖学的または機能的な微小血管の動静脈シャントによる、皮膚微小血管灌流の不均衡分布というものである。組織は結果的に低酸素になり、供給細動脈の膨張を引き起こし、充血及び低酸素状態の共存という逆説的な状況へとつながる。この仮説は、なぜ冷却が例外なく痛みを和らげるのかについての説明を提供する。冷却は代謝を低減し、それにより低酸素状態を緩和し、組織酸素付与の改善が細動脈の膨張を低減し、充血の発生が抑えられ、悪循環が逆転する。

#### 【0216】

20

下に説明される研究は、本明細書において説明される本発明の 6 つのパラメータを活用して、局所的な循環不全の例である、肢端紅痛症を調査する。

#### 【0217】

##### [材料及び方法]

##### [材料]

我々のグループは、1 つのグループまたは組織によるものとして確認される上では西側世界で最大の、207 人の患者のグループを集めた。

#### 【0218】

##### [方法]

##### コンピュータ支援ビデオ顕微鏡法 (CAVM)

30

本技術は、関心領域の表面上へ穏やかに適用される携帯式ビデオ顕微鏡を伴う。写真またはフィルムシーケンスをコンピュータ上に投影し、保存する。拡大機能 250 倍、分解能  $640 \times 480$ 、及びフレーム速度 15 fps (フレーム毎秒) を有する、デジタルビデオ顕微鏡 (Optilia、D1、スウェーデン、Sundbyberg) を使用する。アナログデジタル変換器 (Canopus、日本、神戸) を使用して、フィルムシーケンスを、Mac Book pro 上にソフトウェア iMovie (全て Apple、米国、Cupertino) を使用して投影及び保存する。

#### 【0219】

5 ~ 7 つのフィルムシーケンスを、それぞれの部位から撮影する。動きのアーチファクト伴わない、または限定されたアーチファクトを伴う、5 つの最上の 10 秒間のシーケンスを選択する。これらのシーケンスは半定量的に分析されており、3 本の等距離の水平線及び 3 本の等距離の垂直線が引かれた。ソフトウェア Xscope (the Iconfactory、米国ノースカロライナ州、Greensboro) を、グリッドを製作するために使用する。血管密度 (FCD) をこれらの線を横切る血管の数を線の長さの合計で割ったものとして計算する。それぞれの患者において、5 つの最上の記録からのデータを平均する。FCD の不均一性は、5 つのフィルムシーケンス内の毛細血管の密度の変動係数 ( $CoV = SD / \text{平均}$ ) として表される。

40

#### 【0220】

毛細血管内の赤血球の流動様式は経時的に変化する。分析のために、5 つのフィルムシーケンスのそれぞれの毛細血管の流速を、「流れが皆無」から「活発な流れ」までの 5 つ

50

のグループのうちの1つに視覚的にスコア化し、それぞれの流れ区分内の平均流速及び毛細血管の分率として表す ( $n = 10$ )。平均の流れの値の不均一性は、 $CoV$ として表される (上記のWesterra)。

#### 【0221】

##### [ 拡散反射分光法 (DRS) ]

分光測定装置を、可視波長領域内で運転する分光計 (S2000、Avantes、オランダ)、及び450~800nmの有効なスペクトル範囲を有するタングステンハロゲン光源 (Avalight-HAL、オランダ) と共に使用する。黒いプラスチック筐体内に封入されたポリテトラフルオレチレンのタイル (WS-2、Avantes、オランダ) を基準として使用した。3本の隣接する照明ファイバー (AE400  $\mu\text{m}$ ) 及び1本の受光ファイバー (AE400  $\mu\text{m}$ ) のファイバー組成を有し、結果的におよそ800  $\mu\text{m}$  のプローブにとっての受発光距離を有する、特製の光ファイバープローブ (上記のMeglinskyら) を、測定のために使用する。12の記録を、それぞれの部位から得る。スペクトルの分析は、拡散近似法に基づいて組織モデルを適合させることによって行われる (上記のFarrell Jら)。モデルは、メラニン発色団、ヘモグロビン誘導体 (Zijlstra WGら, Visible and Near Infrared Absorption Spectra of Human and Animal Haemoglobin: Determination and Application: Brill Academic Publishers; 2000)、水 (Hale GMら Appl Opt. 1973; 12: 555-63)、及びMie及びRayleigh成分の両方を説明する散乱因子を含んだ。スペクトルシグネチャの分解は、測定されたスペクトルに対する、モデルの最小二乗適合によってなされる。次いで、反射光スペクトルの分解を、酸化及び還元ヘモグロビンの見かけ含有量を推定するために使用する。

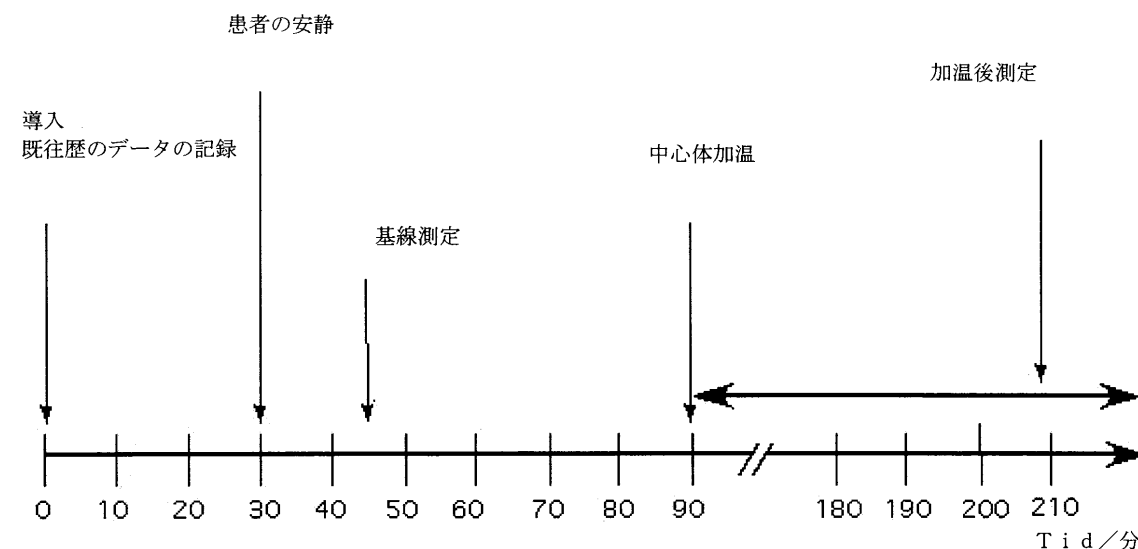
#### 【0222】

##### [ 患者のプロトコル ]

以下のフローチャートが適用されるであろう。

#### 【0223】

##### [ 表 8 ]



#### 【0224】

通常の薬物治療が容認される。アセチルサリチル酸は検査の1週間前に中断され、ミソプロストールは最適には4週間中断される。

#### 【0225】

最長で225分間、検査を完了するために容認される、

1. 患者を迎え入れ、既往歴のデータを再確認する：
  - 前週及び前月の間の重症度のスコアが評定される
  - 月経周期が血管機能に影響を与え得るため、記録する
  - 妊娠可能な患者が経口避妊剤を使用しているかどうかを留意される
  - 外部温度を記録する
2. 対象は、身体的及び心理的ストレスから守られた、 $23 \pm 1$  の周囲温度の部屋で、15分間、仰臥位で安静にする。試験される手足を、全身運動の人為結果を避けるために、柔らかい枕で安定化する：
3. 臨床的評価を記録する：
  - VAS（視覚的アナログ尺度）スコア
  - 皮膚色 / 写真の証拠資料
4. 基線パラメータを記録する：
  - 皮膚温度を、左足の第1趾の指腹上で測定する。

10

## 【0226】

- 基線DRSを、第1及び第2趾 / 指の腹で記録するであろう。8つの10秒間のシーケンスが記録される
  - 基線CAVMが、爪床に近接した、毛細血管係蹄が皮膚表面に対して垂直である、第1趾の末端趾骨上で記録されるであろう。代替的な部位は、AV吻合をほぼ含まない、足底弓である。およそ20秒のフィルムシーケンス及び8つのフレームを、（毛細血管密度及び不均一性を決定するために）記録する
5. 対象を、胴体の加温手順に従って加温する（Mork C ら J Invest Dermatol. 2004 Mar; 122(3): 587-93）：
  6. ステップ4を繰り返す：
  7. 皮膚針生検を、足裏から採取し、超低温冷凍庫内に保存する：
  8. 血液学的な検査及び遺伝子検査のための血液試料が収集される。

20

## 【0227】

冒された皮膚の、微小血管の動静脈シャントが、組織の低酸素状態及び副次的な代償的過灌流へとつながると考える。

## 【実施例4】

## 【0228】

外傷性肢虚血を有する患者の予後を提供するための皮膚微小血管の評価  
 急性外傷性肢虚血は、外傷外科医にとって難題である。手足の活性及び機能は回復可能か、あるいは虚血の期間が不可逆な組織損傷を与えたか？外科医は、誤った決断が、救えるはずの肢の切断、またはサルベージ作業を試した救うことのできない肢における壊死及び敗血症の進展のどちらかを引き起こし得ることを考慮しつつ、速やかに決断しなければならない場合がある。最悪の場合、後者は、多外傷性の患者における致死の転帰へ寄与し得る。目下のところ、外科医は肢の予後に関する予測因子を欠く。それ故に、再灌流された肢の循環を監視する方法が、大変重要である。

30

## 【0229】

これらの患者を監視するために、毛細血管再充填時間、皮膚温度、及び皮膚色等の臨床試験 / 兆候が、動脈血圧測定と共に、冒された肢の循環を評定するために主に使用される。乳酸、クレアチンキナーゼ（CK）、白血球数（WBC）、及びC反応性タンパク質等の血液検査もまた役立つが、これらの試験 / 兆候のいずれもが、再灌流された肢における転帰を予測する際に特に信頼性があるわけではない。

40

## 【0230】

[材料及び方法:]

[患者]

33歳の女性患者が、自動車大破事故に巻き込まれた。負傷部位で、患者は負傷した腕の指を動かすことができ、感覚機能は無傷で維持していた。最初の負傷から60分後、患者は、グラスゴー昏睡尺度12に相当する中重度の脳震盪を有した。患者は我々の病院（

50

レベルⅠ外傷センター)へ、事故後およそ120分後に到着し、外傷初期診療(ATLS)のためのガイドラインに従って検査された。

#### 【0231】

病院への搬入時、左上肢は冷たく青ざめており、触知可能な脈拍を有さなかった。レントゲン検査で、上腕の骨幹部骨折、脱臼を伴う肘骨折、近位尺骨の骨折、及び前腕末端骨折が示された。加えて、CTにより左鎖骨下動脈の閉塞が示された。下行胸部大動脈への損傷もまた示されたが、この損傷は修復の必要は無かった。

#### 【0232】

腕を再灌流するために、自己由来の静脈による腋窩-上腕バイパス手術、及び塞栓摘出術がなされた。負傷から250分後、腕への動脈流が復旧した。骨折を、創外固定器によって最初に固定した。予防筋膜切開をこの肢の全長において行った。手術室で、尺骨及び正中神経は、負傷の兆候無しで可視化された。塞栓摘出術及びバイパス手順の後に、上腕動脈内の流れは分当たり180ミリリットルであり、左手は温かく、2秒間の毛細血管再充填時間を有した。

#### 【0233】

##### [微小血管の測定]

コンピュータ支援ビデオ顕微鏡法(CAVM)及び拡散反射分光法(DRS)を使用した。最初の微小血管検査を、入院日(0日目)の再灌流手術から僅か数時間後に行い、1、2、5、及び9日目に繰り返した。第1及び第2の中手骨の間の手の背側の皮膚(タバチエール窩)をCAVM及びDRSによって検査した。そして、それぞれの回において、測定を繰り返し行った。無傷の手の測定が、対照として働いた。2つの手における、同一の監視様式の検査間の時間遅延は、僅かに数分であった。

#### 【0234】

##### [コンピュータ支援ビデオ顕微鏡法(CAVM)]

200倍の拡大レンズ、分解能 $640 \times 480$ 、及び每秒15フレームのフレーム速度を有する、携帯式デジタル顕微鏡(Mediscopes、OP-120 011)、(Optilia Instruments AB Sollentuna、スウェーデン)を使用する。顕微鏡の使用、及びパラメータの分析は、他で説明される。

#### 【0235】

目的のCAVMパラメータは、機能性毛細血管密度(FCD)、FCDの不均一性、微小血管の流動様式、及び毛細血管周囲の病理である。CAVMフィルムを、熟練の調査員により、及びまたソフトウェアJava Cap(Eyecatcher technologies、スウェーデン、Linköping)により、盲検的に分析した。ベビーオイル(Natusan)を、ビデオ顕微鏡のための液浸油として使用した。全ての機器は、皮膚表面上に穏やかに適用された。

#### 【0236】

##### [拡散反射分光法(DRS)]

微小血管酸素飽和度の測定のために、可視波長領域内で運転する分光計(S2000、Avantes、オランダ)、及びタングステンハロゲン光源(Avalight-HAL、オランダ)からなる分光測定装置を使用した。この装置は、 $450 \sim 800 \text{ nm}$ の有効スペクトル範囲を有する。黒いプラスチック筐体内に封入されたポリテトラフルオレチレンのタイル(Ws-2、Avantes、オランダ)を基準として使用した。3本の隣接する照明ファイバー(ファイバー直径 $400 \mu\text{m}$ )及び1本の受光ファイバー(ファイバー直径 $400 \mu\text{m}$ )のファイバー組成を有し、結果的におよそ $800 \mu\text{m}$ のプロープにとっての受発光距離を有する、特製の光ファイバープロープを、測定のために使用した。装置の推定される衡量は、 $0.1 \text{ mm}^3$ の範囲内であると推定された。各測定で、それぞれの手から7つのスペクトルを収集した。

#### 【0237】

スペクトルの分析を、実施例3において説明したように行った。微小血管酸素飽和度を、酸素抽出を推定するために、動脈酸素飽和度と比較した。

## 【0238】

## [データ発表]

1つの手からの結果を、同じ日に得た他方の手からの結果と比較した。また、1つの手からの結果を、別の日に得た同一の手からの結果とも比較した。8人の健常な男子学生のグループが、対照グループとして働いた。

## 【0239】

## [結果]

入院日から13日目(切断日)までの臨床経過

患者は集中治療室で治療された。患者の前額部及び膝の傷を除けば、手術を必要とする損傷は、患者の左腕のみであった。患者は全経過を通して循環動態的に安定していたが、70 mmHgを上回る平均動脈圧を維持するために、当初はノルエピネフリンを与えられた。患者は肺換気の問題を患わなかった。患者は腎不全または他の臓器不全を進行しなかった。3日目に患者を起こす試みがとられたが、意識障害及び誇張により、再度眠らされた。5日目に、患者は熱を発症した(最大温度39.2)が、感染症の他の兆候は有さなかった。

10

## 【0240】

9日目に、患者は熱(最大温度39.5)、頻脈(125拍/分)を有し、患者の白血球数は $16.6 \times 10^9$ の細胞/lまで増加した。しかしながら、C反応性タンパク質の濃度は減少し、感染症の他の兆候は確認されなかった。この日行われた血液及び傷からの細菌学的試験は、全て陰性であった。患者は、中間層皮膚移植(片)の計画検査が行われた、13日目まで安定した。この術式が、前腕の壊死筋肉、及び肘から遠位において脈拍が無いことを示した。この時点で、手または指の随意運動について確認された情報は皆無であった。感覚機能は試験されていなかった。患者は上腕切断のために手術室へ戻された。ここから、12日後の退院まで、患者が更なる合併症を進行させることは無かった。

20

## 【0241】

退院後3ヶ月の追跡調査で、患者の全ての傷は治癒していた。患者は、肩鎖関節下20センチメートルの切断レベルである左腕を有する。

## 【0242】

## [コンピュータ支援ビデオ顕微鏡法(CAVM)の結果]

機能性毛細血管密度：再灌流手順の僅かに数時間後の最初の測定の際、機能性毛細血管密度は、左手において、反対側と比べて33パーセント低かった。翌日、この差異は42%へ増加した。5日目には、2本の手の間でFCDにおける差異は確認されず、9日目にも同様に差異は存在しなかった。5日目以降の両方の手のFCD値は、実施例1の健常なボランティアと同じ範囲であった。

30

## 【0243】

FCDの不均一性：変動係数は右腕において0.20~0.36の間で、左側では0.15~0.35の間で変化し、両方の手に関して最高値は事故及び再灌流の次の日であった。

## 【0244】

毛細血管流動様式：9日目の左腕における測定を除く全ての測定に関して、毛細血管の圧倒的多数は区分2及び3(継続的な流れ)内であった。流動様式及び平均区分別流れ指数は、我々の健常な対照と同じ範囲内であった。

40

## 【0245】

毛細血管周囲の病理または暗黒ハローは、いかなる測定でも確認されなかった。

## 【0246】

全てのCAVMパラメータが、下の表に要約される。

## 【0247】

【表 9】

| 日 | 右手  |             |        | 左手     |             |          |
|---|-----|-------------|--------|--------|-------------|----------|
|   | FCD | FCDのC<br>oV | MCFV   | FCD    | FCDのC<br>oV | MCFV     |
| 0 | 1   | 0. 2 6      | 2. 5 0 | 0. 6 7 | 0. 2 9      | 2. 6 2 * |
| 1 | 1   | 0. 3 5      | 2. 8 6 | 0. 5 8 | 0. 3 6      | 2. 5 8   |
| 5 | 1   | 0. 2 1      | 2. 9 0 | 1. 0 5 | 0. 2 0      | 2. 7 1   |
| 9 | 1   | 0. 2 2      | 2. 7 3 | 0. 9 6 | 0. 1 5      | 3. 6 4   |

10

観察期間内のCAVMパラメータFCDに関して、右手からの測定値は1であり、  
一方で左手はFCD（左）／FCD（右）の指数である。

## 【0248】

DRSの結果 - 示さず。

## 【0249】

## 〔考察〕

手には主に5種類の組織、骨、脂肪、皮膚、筋肉、及び神経組織が存在する。低酸素状態に対する耐性は、異なる組織の細胞間で異なり、変化する代謝速度に関する。虚血性外傷後に肢が生き延び、機能するためには、全ての種類の組織からの最低限の細胞が生き延びねばならない。

20

## 【0250】

外傷性虚血の場合、切断するか、あるいは患肢温存手術を試みるかという決断は困難であり得、虚血から再灌流までの時間に関係する。再建手術後は、異なる組織内の細胞の残存性に関わる最終的な機能性転帰を、臨床検査に基づいて、あるいは経皮性酸素圧測定による評価によって、またはレーザードップラー灌流評価によって予測することは難しい。

## 【0251】

この患者の皮膚において、骨及び脂肪組織は生き延び、筋肉組織は一部が壊死し、一方で神経組織は全ての機能を失った。早期の切断が患者にとってはより安全であったであろうし、最初の手術（血管の再建及び創外固定）に続いた12時間の手術時間を含むリソースが省かれたであろう。

30

## 【0252】

我々の皮膚微小血管検査は、基準データ及び無傷の腕からのデータを比較することで、血管再建後の負傷した腕における循環不全を定量化することが可能であった。それ故に、我々のシステムの診断鋭敏度は、栄養性の問題を発見するには十分である。この事例は、診断された循環不全が、神経組織が生き延びるためには重度であり過ぎ（神経組織は最も高い代謝要求及び最も低い低酸素状態への耐性を有する）、循環不全が筋肉組織の残存にとっては限界レベルであったが、皮膚の残存にとっては限界レベル未満であったことを示す。我々の技術革新は、早期の切断を実施するか、あるいは複雑な再建に関連して、時間及びリソースを使用し、命に関わる合併症（敗血症等）のリスクを加えるかという困難な問題への臨床的判断を下すことを手引きするために使用され得る。

40

## 【実施例5】

## 【0253】

事例研究及びECMOを受ける患者の予後

ある54歳の女性は、悪性腫瘍のために16歳のとき胸部に対して照射治療を受けていた。患者は成功裏に治療されたが、近年、緩やかに減少する肺機能に加えて、大動脈弁狭窄、僧帽弁狭窄及び閉鎖不全、中から重度の左室拡張機能障害といった、以前の照射からの合併症による進行性慢性心不全を経験してきた。患者は2つの弁の人工弁置換手術を受けた。初回手術の間に、患者は人工心肺装置から外れ、術後装置へと移された。術後期において、患者は、不十分な心機能に関して、変力物質及び大動脈内バルーンパンピングで

50

、並びに腎不全に従たる血液透析で治療された。術後2日目に、心不全が重篤となり、患者はECMOシステムにつながれた。

【0254】

ECMOの設置後、臨床的評価、並びに標準監視パラメータ、(中枢循環動態パラメータ(圧力及び心拍出量))、動脈酸素飽和度、血中乳酸、酸塩基平衡、及びNIRS(近赤外分光法)で評価される脳酸素付加は基準レベル内であり、患者は心臓移植の候補者(HTx)とみなされた。

【0255】

ECMOの設置後、及びそれ以降毎日、患者は本発明に従って、本明細書において論じられる6つの微小血管のパラメータ、すなわち：

- (a) 機能性毛細血管密度(FCD)、
  - (b) FCDの不均一性、
  - (c) 毛細血管流速、
  - (d) 毛細血管流速の不均一性、
  - (e) 微小血管赤血球の酸素飽和度( $SmvO_2$ )、及び
  - (f)  $SmvO_2$ の不均一性、
- の評価によって、検査された。

【0256】

臨床経過：患者は、静動脈ECMOで、10日間治療された。ECMOは次いで、静静脈ECMOへ転換され、患者はこの循環補助中11日目に亡くなった。この経過中、出血傾向によって患者は複数の再手術を受け、この出血傾向は、2つの機械心臓弁のために必要とされる抗凝固療法に一部関連し、付随する凝固障害による複数の輸血症候群に一部関連した。標準監視技術は許容可能な値を示し、10日目になって初めて、患者は臨床上の前進の欠如、並びに臀部及び背部上の広範囲の潰瘍形成、皮膚壊死の進行によって、移植リストから外された。10日目の静動脈ECMOから静静脈ECMOへの転換は、臨床上の前進の欠如により決定され、心臓はまだ鼓動していたものの、背部の皮膚壊死の進行及び中枢循環動態示数の悪化、並びに不可逆的な脳損傷を示す危機的なNIRS値のために、ECMOは11日目に停止された。患者はその後程なくして亡くなった。

【0257】

微小血管のデータは収集直後から継続的に再吟味された。CAVMで収集されたフレーム及びフィルムは、2人の独立し、かつ熟練の検査員により、FCD(パラメータ(a))、FCDの不均一性(パラメータ(b))、CFV(パラメータ(c))、及びFCVの不均一性(パラメータ(d))の所見に従ってスコア化され、書面の報告書が作成された。全ての検査での全てのフィルム及びフレームに関して、2人の検査員間で、全てのパラメータが基準値の外の値を示していたという完全な合意が存在し、栄養性皮膚灌流において重度の循環不全が存在したことが結論付けられた。

【0258】

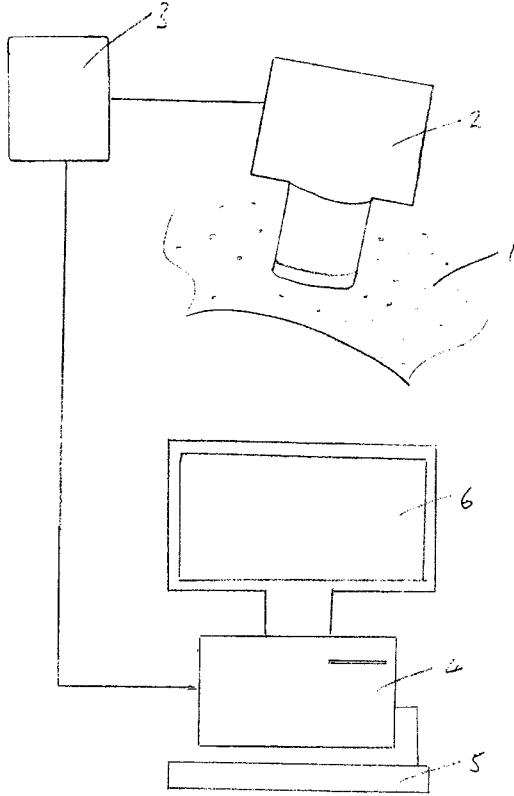
DRSデータ、つまりパラメータ(e)及び(f)は図9(a)及び(b)において示される。

10

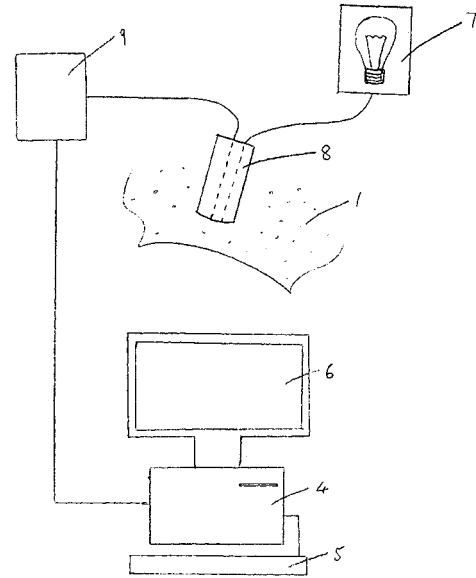
20

30

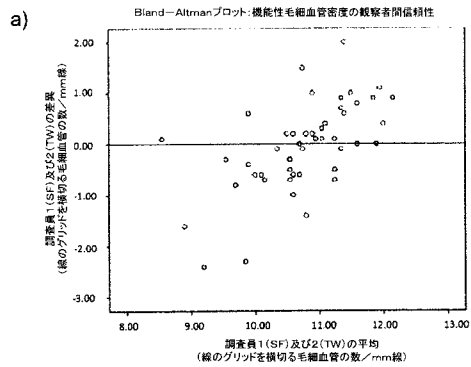
【図 1】



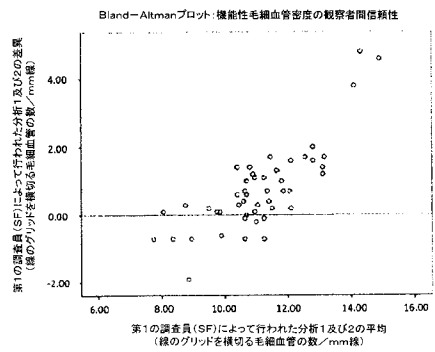
【図 2】



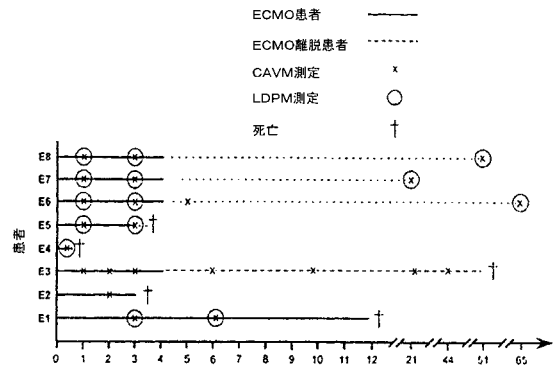
【図 3】



b)

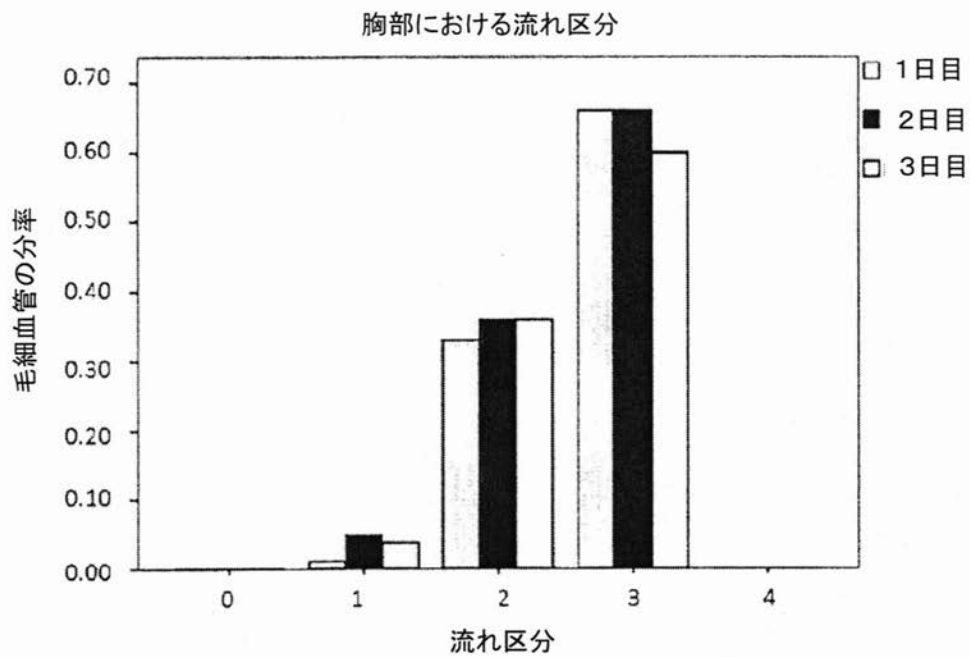


【図 5】

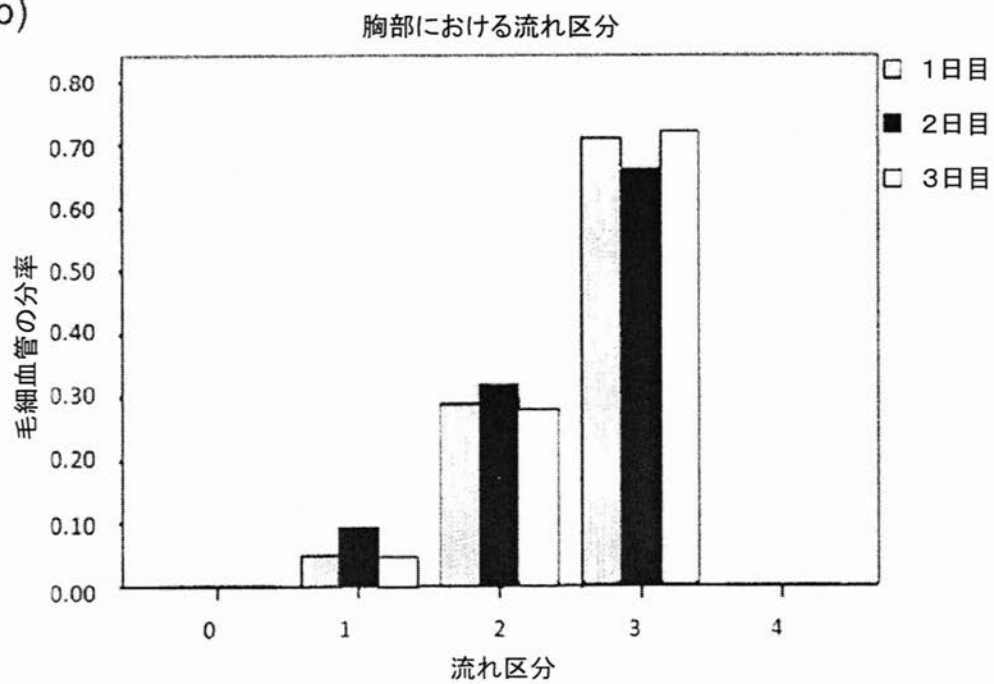


【図 4】

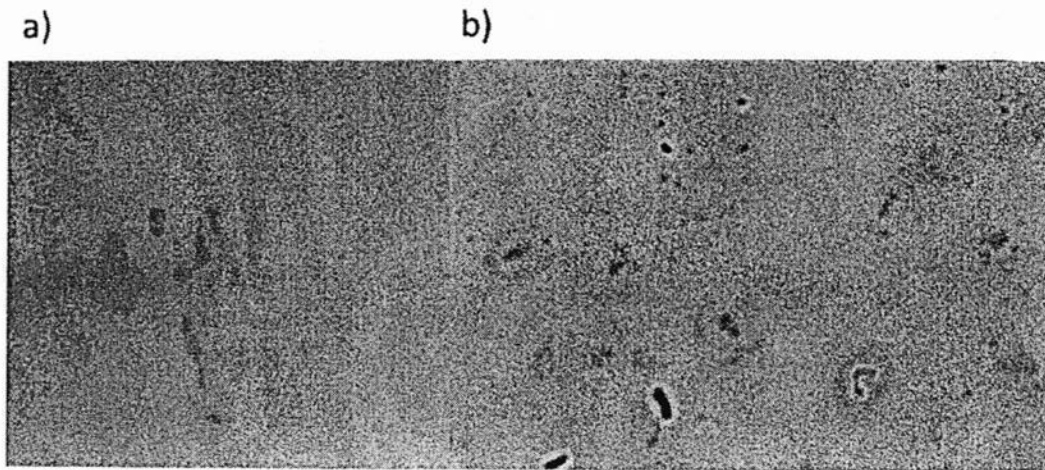
a)



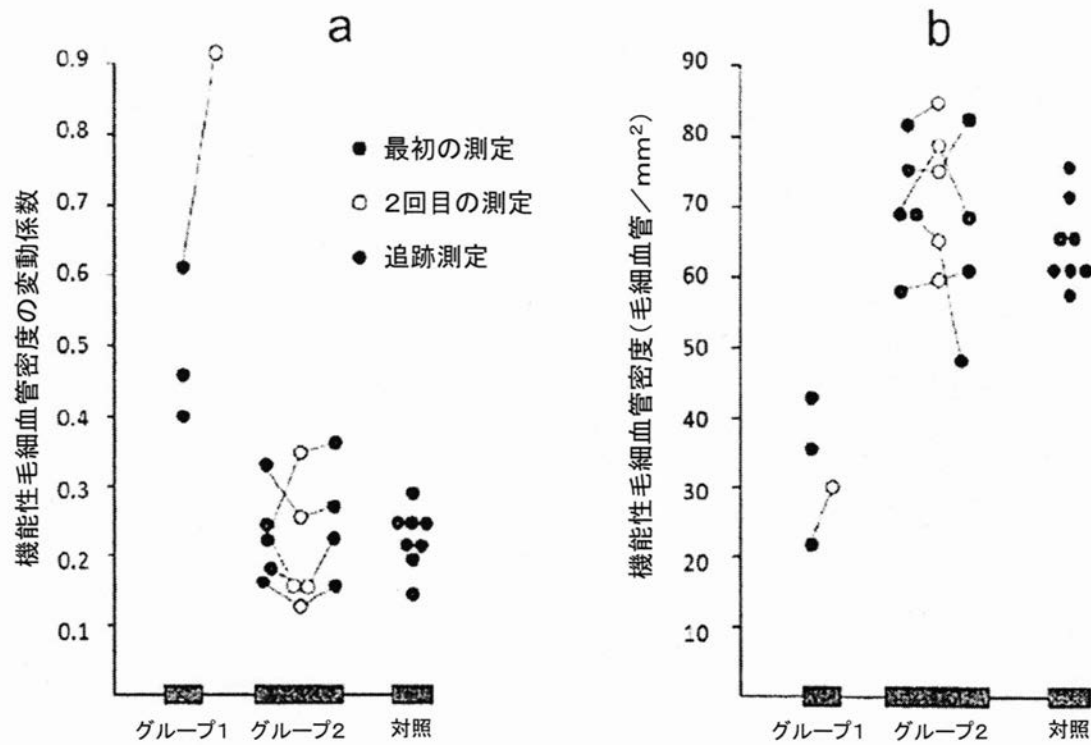
b)



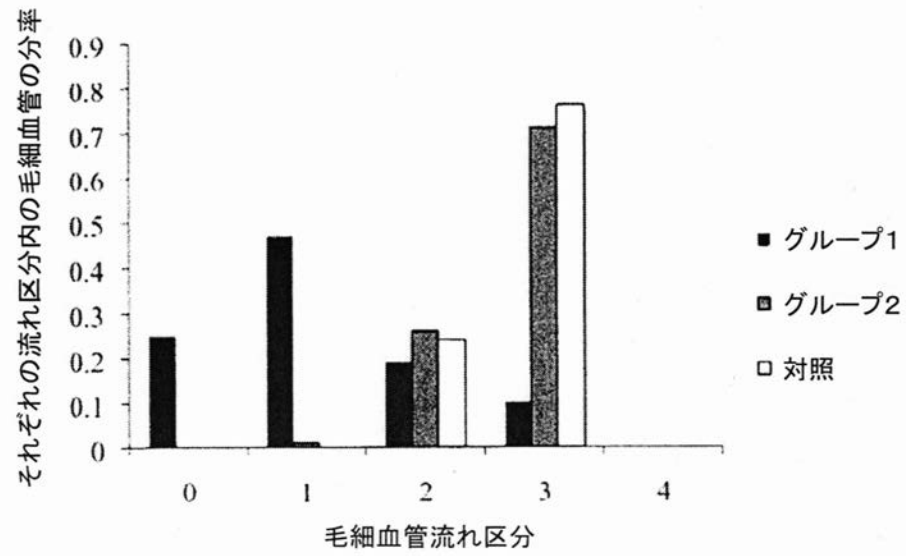
【図 6】



【図 7】

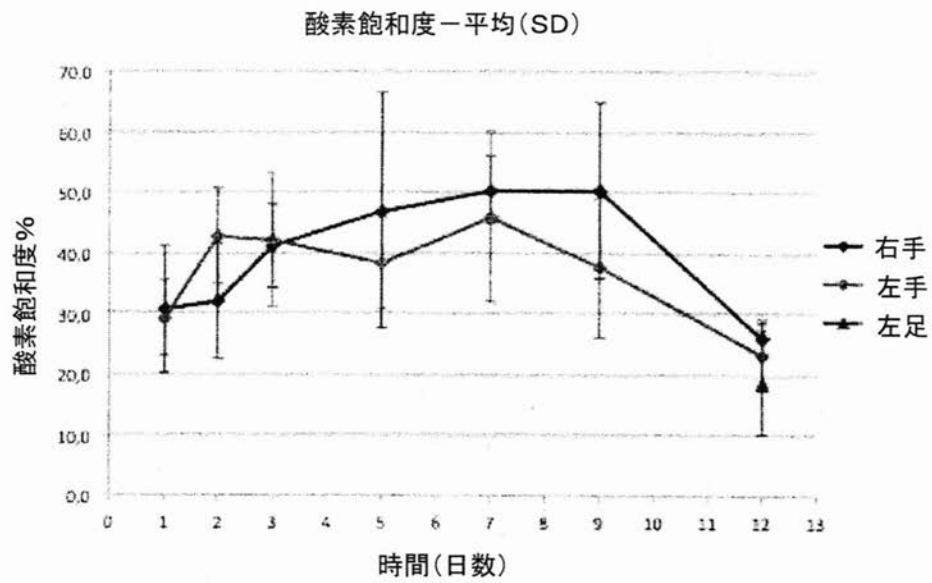


【 図 8 】

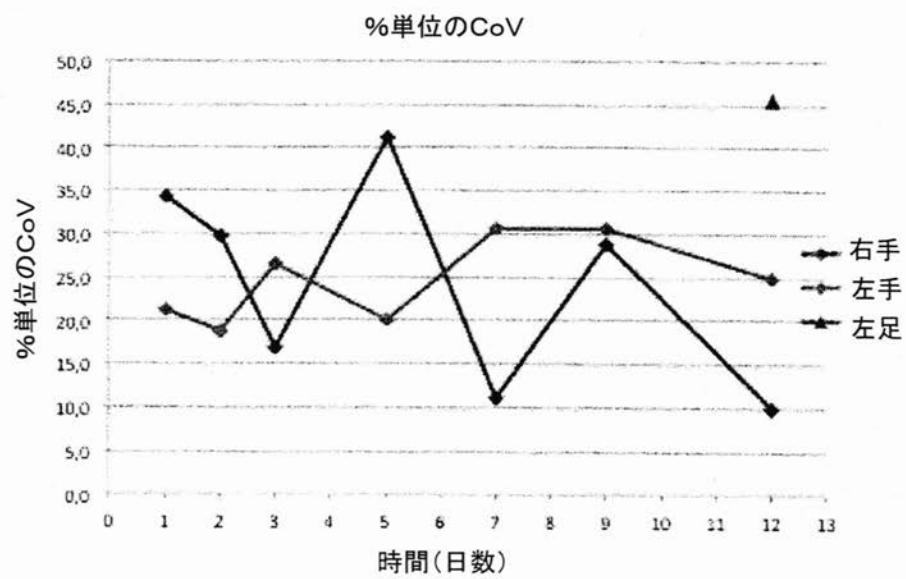


【図 9】

(a)



(b)



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP2014/051661**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.: **1-8, 17, 18(completely); 9-12, 19(partially)**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
**see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210**
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

**Remark on Protest**

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/051661

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61B5/00 A61B5/026 A61B5/1455 G01N21/49  
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61B G01N

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                              | Relevant to claim No. |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X         | US 2006/241364 A1 (INCE CAN [NL])<br>26 October 2006 (2006-10-26)<br>paragraphs [0013] - [0015], [0019],<br>[0023] - [0025], [0044] - [0045],<br>[0056], [0098], [0100] - [0102], [0142]<br>- [0143]<br>figure 2                                                                                                                                | 9-16, 19              |
| X         | -----<br>DANIEL DE BACKER ET AL: "Monitoring the<br>microcirculation in the critically ill<br>patient: current methods and future<br>approaches",<br>INTENSIVE CARE MEDICINE, SPRINGER, BERLIN,<br>DE,<br>vol. 36, no. 11,<br>6 August 2010 (2010-08-06), pages<br>1813-1825, XP019836896,<br>ISSN: 1432-1238<br>page 1814 - page 1820<br>----- | 9-16, 19              |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 March 2014

Date of mailing of the international search report

03/04/2014

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Faymann, Juan

### Information on patent family members

PCT/EP2014/051661

|               |    |            |      |
|---------------|----|------------|------|
| US 2006241364 | A1 | 26-10-2006 | NONE |
|---------------|----|------------|------|

International Application No. PCT/ EP2014/ 051661

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

Continuation of Box II.1

Claims Nos.: 1-8, 17, 18(completely); 9-12, 19(partially)

Claims 1-12 and 17-19 relate to subject-matter considered by this authority to be covered by the provisions of Rule 39.1(iv) PCT. Claims 1 and 18 refer to a method of identifying circulatory failure in a subject, or monitoring circulatory failure in a subject which amounts to determining if circulatory failure persists or not. In either case, the method performed constitutes a diagnostic method as it involves an assessment of physiological parameters performed on the body in order to establish a diagnosis or clinical picture. Claim 8 refers to a method of making a prognosis for a subject with circulatory failure. Given that making a prognosis involves making a diagnosis and predicting how the disease will evolve, i.e. at least one future diagnosis, the method of claim 8 constitutes a diagnostic method. Claim 9 refers to a method of providing clinically relevant information. Given that said "clinically relevant information", as defined in the description of the present application, consists mainly in making a diagnosis or establishing a clinical picture, the method of claim 9 constitutes a diagnostic method. The claim, however, has been partially searched insofar as said clinically relevant information exclusively relates to measured parameters and excludes any steps which constitute a diagnosis or the attribution of a clinical picture to the measured parameters. Claim 17 refers to a method of use of a claimed apparatus comprising a step of making a prognosis based on measurements. As indicated above, this constitutes a diagnosis or the attribution of a clinical picture to the measured parameters, therefore claim 17 is a diagnostic method. As dependents of claim 1, claims 2-7 also fall under the provisions of Rule 39.1(iv) PCT. As dependents of claim 9, claims 10-12 have also been partially searched, for the same reasons mentioned for claim 9. Dependent claim 19 has also been partially searched insofar as it is dependent on allowable apparatus claims or partially searched method claims.

---

フロントページの続き

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

Fターム(参考) 4C117 XA01 XB09 XB17 XD16 XD22 XE42 XE43 XG18 XG19 XJ01  
XJ34 XJ48

|             |                                                                                                                                                                                                                             |         |            |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译)     | 评估循环衰竭                                                                                                                                                                                                                      |         |            |
| 公开(公告)号     | <a href="#">JP2016509505A</a>                                                                                                                                                                                               | 公开(公告)日 | 2016-03-31 |
| 申请号         | JP2015554205                                                                                                                                                                                                                | 申请日     | 2014-01-28 |
| 申请(专利权)人(译) | 奥斯陆统一韦利济太特迷幻胡斯Hoefu                                                                                                                                                                                                         |         |            |
| [标]发明人      | クヴェルネボクヌート                                                                                                                                                                                                                  |         |            |
| 发明人         | クヴェルネボ、クヌート                                                                                                                                                                                                                 |         |            |
| IPC分类号      | A61B5/026 A61B5/00 A61B5/1455 A61B10/00                                                                                                                                                                                     |         |            |
| CPC分类号      | A61B5/0075 A61B5/0077 A61B5/0261 A61B5/14551 A61B5/1464 A61B5/4848 A61B2503/045 A61B3/13 A61B5/02007 A61B5/0205 A61B5/14552 A61B5/14558 A61B5/445 A61B5/489 A61B2505/03 A61B2576/00                                         |         |            |
| FI分类号       | A61B5/02.800.Z A61B5/00.G A61B5/14.322 A61B10/00.K                                                                                                                                                                          |         |            |
| F-TERM分类号   | 4C017/AA11 4C017/AA12 4C017/AB10 4C017/AC26 4C017/EE15 4C038/KK01 4C038/KL05 4C038/KL07 4C117/XA01 4C117/XB09 4C117/XB17 4C117/XD16 4C117/XD22 4C117/XE42 4C117/XE43 4C117/XG18 4C117/XG19 4C117/XJ01 4C117/XJ34 4C117/XJ48 |         |            |
| 优先权         | 2013001490 2013-01-28 GB<br>2013012796 2013-07-17 GB                                                                                                                                                                        |         |            |
| 其他公开文献      | JP2016509505A5<br>JP6542130B2                                                                                                                                                                                               |         |            |
| 外部链接        | <a href="#">Espacenet</a>                                                                                                                                                                                                   |         |            |

|                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 摘要(译)                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 本发明是一种识别或监测受试者循环衰竭的方法，该方法包括以下参数：（a）功能性毛细血管密度（FCD），（b）FCD不均匀性，（c）毛细管流速，（d）毛细管流速不均匀，（e）微血管红细胞的氧饱和度（SmvO2），以及（f）SmvO2异质性，评估受试者的微循环 通过显微镜在视觉上评估参数（a）-（d）并且通过漫反射光谱法（DRS）评估参数（e）和（f）的方法，并实施这种方法。设计的设备和软件。[选择图]图8 | (21) 出願番号<br>(86) (22) 出願日<br>(85) 翻訳文提出日<br>(86) 国際出願番号<br>(87) 国際公開番号<br>(87) 国際公開日<br>(31) 優先権主張番号<br>(32) 優先日<br>(33) 優先権主張国<br>(31) 優先権主張番号<br>(32) 優先日<br>(33) 優先権主張国 | 特願2015-554205 (P2015-554205)<br>平成26年1月28日 (2014.1.28)<br>平成27年9月24日 (2015.9.24)<br>PCT/EP2014/051661<br>WO2014/114814<br>平成26年7月31日 (2014.7.31)<br>1301490.7<br>平成25年1月28日 (2013.1.28)<br>英国 (GB)<br>1312796.4<br>平成25年7月17日 (2013.7.17)<br>英国 (GB)                         |
|                                                                                                                                                                                                            | (71) 出願人                                                                                                                                                                    | 515202863<br>オスロ ユニヴェルジテットサイケフス<br>ホーエフ<br>ノルウェー、エヌー0424 オスロ、ニ<br>ーダレン、ポストボックス 4950<br>(74) 代理人<br>110000040<br>特許業務法人池内・佐藤アンドパートナーズ<br>(72) 発明者<br>クヴェルネボ、クヌート<br>ノルウェー、エヌー0374 オスロ、レ<br>ンホーゲン アレ 3エー<br>Fターム(参考)<br>4C017 AA11 AA12 AB10 AC26 EE15<br>4C038 KK01 KL05 KL07 |
|                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                             | 最終頁に続く                                                                                                                                                                                                                                                                       |