

(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2004-531311

(P2004-531311A)

(43) 公表日 平成16年10月14日(2004.10.14)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>A61B 5/145  
G01N 21/35

F I

A61B 5/14 310  
G01N 21/35 Z

テーマコード (参考)

2G059  
4C038

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 74 頁)

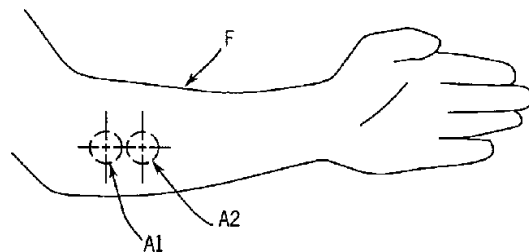
(21) 出願番号	特願2002-580799 (P2002-580799)	(71) 出願人	391008788
(86) (22) 出願日	平成14年3月7日 (2002.3.7)		アボット・ラボラトリーズ
(85) 翻訳文提出日	平成15年10月10日 (2003.10.10)		ABBOTT LABORATORIES
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/006831		アメリカ合衆国、イリノイ・60064-
(87) 国際公開番号	W02002/082989		6050、アボット・パーク、アボット・
(87) 国際公開日	平成14年10月24日 (2002.10.24)		パーク・ロード・100、チャド・037
(31) 優先権主張番号	09/834, 440		7/エイ・ピー・6・ディー2
(32) 優先日	平成13年4月13日 (2001.4.13)	(74) 代理人	100062007
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 川口 義雄
(81) 指定国	EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), CA, JP	(74) 代理人	100113332
			弁理士 一入 章夫
		(74) 代理人	100114188
			弁理士 小野 誠
		(74) 代理人	100103920
			弁理士 大崎 勝真

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 疾病状態または分析物の濃度を判定するために組織を光学的に測定する方法

## (57) 【要約】

組織の表面上の形態的に類似し、実質的にオーバーラップせず、かつ好ましくは隣接する2つの領域で光学データを収集するための方法であり、その間、各々の領域の温度が温度プログラムに従って維持もしくは変更される。得られた光学データは、(糖尿病の疾病状態のような) 疾病状態または物理的状況を示す(血中グルコースレベルのような) 分析物の濃度を予測するのに使用されることが可能な数学関係式、例えばアルゴリズムに挿入される。本発明は、例えば糖尿病と非糖尿病といった疾病状態の間の区別に使用されることが可能である。この方法は、異なる温度刺激の下で皮膚から発する光学信号と臨床的に確立された疾病状態、例えば糖尿病の状態の間の関係を利用する校正用(トレーニング用)のセットを作成するステップを含む。この校正用セットは、他の被検者の疾病状態を予測するのに使用されることが可能である。疾病状態に起因する構造的変化ならびに循環系の変化が、ヒト組織、例えば前腕の皮膚の表面上の形態的に類似しているが実質的にオーバーラップしない2つの領域で判定され、各々の領域は異なる温度変更プログラ



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ヒトの組織内の疾病状態を判定するための方法であって、

(a) 前記組織上の第 1 の領域で少なくとも 1 つの光学特性を測定し、データの第 1 のセットを得るステップを含み、前記第 1 の領域が第 1 の温度プログラムにかけられ、前記方法がさらに、

(b) 前記組織上の第 2 の領域で少なくとも 1 つの光学特性を測定し、データの第 2 のセットを得るステップを含み、前記第 2 の領域が第 2 の温度プログラムにかけられ、前記第 2 の温度プログラムが前記第 1 の温度プログラムと異なり、前記第 2 の領域が、前記第 1 の領域と形態的に類似しているが実質的にオーバーラップせず、前記方法がさらに

10

(c) 前記データの第 1 のセットおよび前記データの第 2 のセットを数学関係式に挿入し、数学出力を計算するステップと、

(d) 前記数学出力を部類セクタと比較し、前記ヒトの前記疾病状態を判定するステップとを含む方法。

## 【請求項 2】

前記光学特性が、約 400 nm から約 2000 nm の範囲の波長を有する光で測定される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記光学特性が拡散反射率技術によって測定される、請求項 1 に記載の方法。

20

## 【請求項 4】

測定ステップ (a) と (b) が同時に実行される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 5】

測定ステップ (a) と (b) が順次に行われる、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記温度プログラムが約 10 から約 45 の範囲の温度を使用する、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記疾病状態が、糖尿病の状態、皮膚病の状態、腫瘍性疾病状態、および血管の疾病状態で構成されるグループから選択される、請求項 1 の方法。

30

## 【請求項 8】

ステップ (c) の前記数学関係式が、

(a) 部類セクタを確立するために十分に多数の被検者を有する母集団を提供するステップと、

(b) 前記母集団の中の前記多数の被検者数の各々について、

(1) 第 1 の温度プログラムにかけられる前記組織上の第 1 の領域で少なくとも 1 つの光学特性を測定し、データの第 1 のセットを得るステップと、

(2) 前記組織上の第 2 の領域で少なくとも 1 つの光学特性を測定し、データの第 2 のセットを得るステップとを含み、前記第 2 の領域が第 2 の温度プログラムにかけられ、前記第 2 の温度プログラムが前記第 1 の温度プログラムと異なり、前記第 2 の領域が、前記第 1 の領域と形態的に類似しているが実質的にオーバーラップせず、さらに、

40

(c) (i) 前記データの第 1 のセットおよび前記データの第 2 のセットの光学特性と (i i) 前記疾病状態との間の数学関係式を確立するステップを含む、方法によって導き出される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 9】

ヒトの組織中の分析物の濃度を判定するための方法であって、

(a) 第 1 の温度プログラムにかけられる前記組織上の第 1 の領域で少なくとも 1 つの光学特性を測定し、データの第 1 のセットを得るステップと、

(b) 前記組織上の第 2 の領域で少なくとも 1 つの光学特性を測定し、データの第 2 のセットを得るステップとを含み、前記第 2 の領域が第 2 の温度プログラムにかけられ、前記

50

第 2 の温度プログラムが前記第 1 の温度プログラムと異なり、前記第 2 の領域が、前記第 1 の領域と形態的に類似しているが実質的にオーバーラップせず、さらに、

( c ) 前記データの第 1 のセットおよび前記データの第 2 のセットを数学関係式に挿入し、前記分析物の前記濃度を算出するステップを含む方法。

【請求項 10】

前記光学特性が、約 400 nm から約 2000 nm の範囲の波長を有する光で測定される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記光学特性が拡散反射率技術によって測定される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

測定ステップ ( a ) と ( b ) が同時に実行される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 13】

測定ステップ ( a ) と ( b ) が順次実行される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 14】

前記温度プログラムが約 10 から約 45 の範囲の温度を使用する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 15】

ステップ ( c ) の前記数学関係式が、

( a ) 統計学的に意味のある数学関係式を確立するために十分に多数の被検者を有する母集団を提供するステップと、

( b ) 前記母集団の中の前記多数の被検者数の各々について、

( 1 ) 第 1 の温度プログラムにかけられる前記組織上の第 1 の領域で少なくとも 1 つの光学特性を測定し、データの第 1 のセットを得るステップと、

( 2 ) 前記組織上の第 2 の領域で少なくとも 1 つの光学特性を測定し、データの第 2 のセットを得るステップとを含み、前記第 2 の領域が第 2 の温度プログラムにかけられ、前記第 2 の温度プログラムが前記第 1 の温度プログラムと異なり、前記第 2 の領域が、前記第 1 の領域と形態的に類似しているが実質的にオーバーラップせず、さらに、

( c ) ( i ) 前記データの第 1 のセットおよび前記データの第 2 のセットの光学特性と ( i i ) 前記分析物の濃度の間との数学関係式を確立するステップとを含む、方法によって導き出される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 16】

前記分析物が、グルコース、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、組織の水分含有量、尿素、およびビリルビンで構成されるグループから選択される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 17】

被検者の疾病状態、またはヒトの組織中の分析物の濃度を判定するための装置であって、

( a ) 組織の少なくとも 2 つの領域を光で照明するための手段と、

( b ) 前記組織の少なくとも 2 つの領域から再放射される光を収集するための手段と、

( c ) 前記組織の 2 つの領域で収集された前記再放射光の強度を測定するための手段と、

( d ) 温度プログラムによって前記組織の前記少なくとも 2 つの領域の温度を同時に制御するための手段とを含む装置。

【請求項 18】

前記少なくとも 2 つの領域が、形態的に類似していてかつ実質的にオーバーラップしないという条件で、さらに ( e ) 前記組織の前記少なくとも 2 つの領域で収集された前記再放射光の前記強度を、前記分析物濃度または前記疾病状態と相関付ける手段を含む、請求項 17 に記載の装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、疾病状態の非侵襲性診断または生体内分析物の濃度の非侵襲性判定のための装置および方法に関する。

10

20

30

40

50

## 【背景技術】

## 【0002】

糖尿病は、グルコースの代謝を調節するインスリンホルモンを生体が生成しなくなる、またはインスリンホルモンに反応しなくなる慢性の器官系疾病である。米国では1600万人の糖尿病患者がおり、全世界では1億人の糖尿病患者がいると見積もられる。糖尿病患者数の増加率は、毎年11.5%であるとは見積もられる。糖尿病患者数は、2000年に全世界で1億5400万人(H. King、R. E. AubertおよびW. H. Herman、「Global burden of diabetes, 1995-2025 prevalence, numerical estimates and projections」、Diabetes Care 1998年、第21巻、1414頁) 10  
ほどに上り、2010年に全世界で2億人を超えると見積もられる。多数の糖尿病患者が未診断のままである。糖尿病をスクリーニングするための方法は、早期診断および合併症が発症するかなり前に治療と管理を開始することによって有益であろう。

## 【0003】

糖尿病はしばしば細小血管障害を伴う。細小血管障害は、毛細管、小静脈、小動脈、およびシャントといった小血管を含む、細小循環系に及ぼす糖尿病の作用に起因する。細小血管障害は、神経障害(神経の損傷)、網膜障害(眼の損傷)、および腎障害(腎不全)といった細小血管の合併症につながる可能性がある。「糖尿病性細小血管障害」という表現は、動脈ならびに小静脈、静脈、およびリンパの部分系といった血管系のその他の要素に及ぼす糖尿病の影響を扱う。糖尿病と障害を生じた循環系との間の関係は、過去20年間、医療技術の中で知られてきた。糖尿病患者の抹消血管疾病および血管の合併症を診断するために、レーザドップラーフローメトリが使用されてきた。障害を生じた循環系は、皮下血流量の減少、および温度変化すなわち皮膚の冷却または加温に対する反応の低下によって明らかになる。 20

## 【0004】

細小循環系の欠陥を絶食時高血糖症、すなわち絶食時の被検者の高い血中グルコースレベルの検出よりもかなり前に検出可能であることが証明されつつある(N. Wiersperger、Diabetologia 2003年、第43巻、1439~1449頁)。レーザドップラーフローメトリおよび毛細管顕微鏡法の研究は、糖尿病に起因する細小循環系の障害を示し、かつ糖尿病検体と非糖尿病検体の間の皮下血流量の差異を示した 30  
(S. B. Wilson、「Detection of microvascular impairment in type 1 diabetes by laser Doppler flowmetry」、Clinical Physiology、1992年、第12巻、195頁)。糖尿病被検者では、レーザドップラーフローメトリによって測定すると、身体の一部の加温、または身体の一部の反対側冷却が、血流障害を引き起こした(M. Rendellら、「Microvascular blood flow, volume and velocity measurements by laser Doppler techniques in IDDM」、Diabetes、1989年、819~824頁)。しかしながら、毛細管血流量とレーザドップラーフローメトリのこれらの研究は、進行した段階の糖尿病について報告された(M. Rendellら、「Diabetic cutaneous microangiopathy」、American Journal of Medicine 1992年、第93巻、611頁)。さらに、X線結晶学の研究が、グリケーション(glycation)の結果から生じるコラーゲン繊維の架橋に起因する、糖尿病被検者の組織構造の違いを示した(V. J. Jamesら、「Use of X-ray Diffraction in Study of Human Diabetic and Aging Collagen」、Diabetes、第40巻(1991年)、391~394頁)。 40

## 【0005】

糖尿病およびある種の他の疾病は、皮膚に構造的変化を引き起こし、その光学的特性、グルコースもしくは他の分析物の濃度変化に対するこれら光学的特性の応答、および皮膚温 50

度変化に対するこれら光学的特性の応答に影響を与える可能性がある。R. G. Sibbaldら、「Skin and Diabetes」、Endocrinology and Metabolism Clinics of North America、第25巻、No. 2 (1996年)、463～472頁は、糖尿病に伴う皮膚の一連の構造的な作用を要約している。これらの作用の中に含まれるものは、厚くなった皮膚であり、それはコラーゲン繊維のグリコシル化から結果的に生じる弾力性繊維の摩滅および架橋の増加を伴う、コラーゲン老化の加速と病態生理学的に関係する可能性がある。糖尿病のまた別の影響は、「黄色皮膚」であり、それもやはり皮膚コラーゲンのグリコシル化から結果的に生じる。糖尿病患者の皮膚コラーゲン構造の変化は、V. M. Monnierら、「Skin Collagen Glycation, Glycoxidation, and Crosslinking Are Lower in Subjects With Long-Term Intensive Versus Conventional Therapy of Type 1 Diabetes」、Diabetes、第48巻 (1999年)、870～880頁によってもやはり報告された。さらに、V. J. Jamesら、「Use of X-ray Diffraction in Study of Human Diabetic and Aging Collagen」、Diabetes、第40巻 (1991年)、391～394頁は、糖尿病の結果として、コラーゲン皮膚繊維が構造的変化を受けることを示している。これらの知見の最終的な影響は、非糖尿病被検者の皮膚に比較すると、糖尿病被検者の皮膚で構造的な違い、すなわち架橋のサイズ、程度、およびコラーゲン繊維の分布の違いが存在することである。これらの違いは、糖尿病患者の皮膚の散乱特性の違いを生じる。

#### 【0006】

測定された光学信号での糖尿病の皮膚と非糖尿病の皮膚との間の構造的差異の作用を理解するために、ヒトの組織の光散乱を試験することが有用である。

#### 【0007】

ヒトの組織による光散乱は、組織もしくは濁った媒質について散乱係数  $\mu'_s$  の減少を表わす式、

#### 【数1】

$$\mu'_s = 3.28\pi a^2 \rho (2\pi n_{\text{medium}} / \lambda)^{0.37} (m-1)^{2.09} \quad (1)$$

によって近似することが可能であり、ここで「a」は平均の細胞直径を表わし、 $\rho$  は細胞の数濃度を表わし、「 $n_{\text{medium}}$ 」は間質液の屈折率を表わし、 $\lambda$  は波長を表わし、 $m$  は間質液の屈折率に対する細胞の屈折率の比 ( $m = n_{\text{cells}} / n_{\text{medium}}$ ) を表わす。細胞のサイズ「a」または屈折率「 $n_{\text{medium}}$ 」が変化すると、散乱係数が変化する。温度は、細胞直径「a」を変え、細胞の数密度  $\rho$  を変えること、または屈折率の不整合「m」を変え、散乱係数に影響を与える。糖尿病の状態は、グルコース濃度と無関係、すなわち糖尿病患者は、血中グルコースレベルが高いかまたは低いので、糖尿病の状態が「m」と無関係であると想定することが可能である。しかしながら、糖尿病に関するコラーゲンの架橋の違いは、糖尿病と非糖尿病グループの間の寸法パラメータ「a」の範囲の違いにつながる可能性がある。散乱係数が、式(1)の項「a」に影響を与えるので、変数「a」の違いは、糖尿病被験者の皮膚の散乱特性の違いにつながるであろう。こうして、グルコース濃度もしくは他の分析物の濃度の変化に対する散乱係数の応答、および皮膚温度変化に対する散乱係数の応答は、非糖尿病被検者について判定した同じパラメータのそれらの応答に比べると、糖尿病被検者で異なると予期される。

#### 【0008】

組織の散乱特性は、以下の変化のうちの1つまたは複数の結果として温度に伴って変わるであろう。すなわち、

(a) 温度の上昇が、間質液の屈折率を下げ、かつ組織の散乱係数を上げる可能性があり

、  
(b) 温度の上昇が、細胞膜の屈折率を変える可能性があり、  
(c) 温度の上昇が、細胞サイズを大きくする可能性があり、それにより、散乱係数を上げる可能性があり、  
(a) または (b) のケースでは、温度に伴って上昇する式 (1) の屈折率不整合「m」の上昇がやはり散乱係数を上げる可能性がある。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

糖尿病を診断する方法は、通常、例えば患者が絶食状態である間の連続的な血中グルコースレベルの測定、血清のグリケート化したヘモグロビン HbA1c の判定、および経口グルコース負荷（または食事負荷）試験といった多数の実験室試験を必要とする。これらの試験は、普通では、糖尿病の臨床的兆候の観察後に実施される。これらの兆候は、喉の渇き、倦怠感、および頻尿を含む (Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care, 1997 年、第 20 巻、117~135 頁)。時間を消費してかつ血液の引き抜きを必要とするにもかかわらず、グリケート化したヘモグロビンの試験を使用することは、糖尿病の診断に不正確であった。C. L. Rohlfing らの「Use of HbA1c in screening for undiagnosed diabetes in US population」、Diabetes Care、2000 年、第 23 巻、187~191 頁を参照されたい。

【0010】

糖尿病をスクリーニングするための非侵襲性の試験は、膨大な数の実験室試験を節約し、かつたとえ糖尿病の臨床的兆候が明確でなくても、さらに多くの人口をスクリーニングすることを可能にするであろう。非侵襲性の試験はまた、糖尿病の早期診断とそれに続く制御を可能にし、それが今度は逆に糖尿病の合併症の始まりを遅らせるであろう。もしも制御されない場合、糖尿病は、網膜障害、アテローム性動脈硬化、細小血管障害、腎障害、および神経障害を含む、様々な有害な臨床的徴候に結果的につながる可能性がある。進行した局面では、糖尿病は、失明、昏睡、および最終的に死亡の原因となる可能性がある。

【0011】

グルコースの非侵襲性の判定は、いくつかの特許の主題であった。米国特許第 5,082,787 号、第 5,068,536 号、第 5,077,476 号、第 5,086,229 号、第 5,204,532 号、第 5,237,178 号、第 5,362,966 号は、指を通り抜ける透過の測定を述べている。米国特許第 5,321,265 号、および第 5,434,412 号は、グルコースの判定のための Kromoscopyc 法を述べている。米国特許第 5,492,118 号および第 5,551,422 号は、光散乱に基づいた測定を述べている。米国特許第 4,655,225 号、第 4,882,492 号、第 5,460,177 号、第 4,975,581 号は、おそらくグルコースが一層強い吸収帯を有する長波長 (>1100 nm) の光で、グルコースを検出するための方法を述べている。米国特許第 5,009,230 号、第 4,975,581 号、第 5,379,764 号、第 4,655,225 号、第 5,893,364 号、第 5,497,769 号、第 5,209,231 号、および第 5,348,003 号は、ヒトの身体で血中グルコースレベルを非侵襲で判定するための様々な光学的方法を述べている。

【0012】

米国特許第 5,362,966 号は、光学的測定領域から離れた指温度の測定を述べている。WO 95/04924 号は、近赤外の非侵襲性測定装置を述べており、そこでは指先のような先端部に光が導入されて測定され、その間に同じ先端部の温度が、光学測定領域の場所から離れた別の場所で測定される。測定された温度値が、光学的データと共に計算アルゴリズムに使用されることで、分析物の濃度が判定される。測定部位の温度が、プリ

セットプログラムによって制御もしくは変更されることはない。米国特許第5,551,422号は、特定の温度、好ましくは身体の定常温度よりもある程度高い温度に供される、サーモスタット制御の加熱システムを備えたグルコースセンサを述べている。米国特許第5,666,956号は、鼓膜の赤外放射からグルコースを判定するための方法を述べている。米国特許第5,978,691号は、血中の生理学的パラメータの測定を容易にするために、熱エネルギーの変化によって導入される分子挙動の変化を測定する方法を述べている。

#### 【0013】

米国特許第5,844,239号は、組織の浅い深度で光学特性を判定するための光ファイバに基づいた光学装置を述べている。センサは、いくつかのユニットのファイバ束を有する。各々のファイバ束ユニットは、光導入用ファイバおよび同軸の環に配列されたいくつかの光収集用ファイバを有する。信号対ノイズ比を強めるために、同じ距離でファイバの各グループから出る信号が検出される。さらに、複数の束ユニットから出る信号は、信号対ノイズ比をさらに向上させるために合算または平均化される。束ユニットが皮膚に接触する位置で、温度が制御されることはない。プリセットプログラムに従って温度が変えられることはない。

#### 【0014】

1998年5月18日に出願され、本出願の譲受人に与えられる米国特許出願番号第09/080,470号は、血中グルコースレベルの非侵襲の判定のための温度制御を使用するセンサを述べている。1998年11月23日に出願され、本出願の譲受人に与えられる米国特許出願番号第09/098,049号は、複数の層を有する組織の光学特性を非侵襲で判定するための方法を述べている。両方の出願が、皮膚に接触する温度制御可能な光学素子の使用を開示している。

#### 【0015】

皮膚の細小循環は、皮膚の上皮表面の1~2mm下の深さで生じる(I. M. Braverman, 「The Cutaneous Microcirculation: Ultrastructure and Microanatomical Organization」、Microcirculation(1997年)、第4巻、No. 3、329~340頁)。こうして、皮膚表面近くの皮膚の光学特性の測定は、皮膚表面近くの組織内の代謝物質の濃度を与える血液循環の影響に関する有用な情報を提供することができる。また、レーザドップラーフローメトリ(これ以降LDFと称する)による皮膚表面近くの血液循環の研究は、末梢循環系疾病の診断にとって、レーザドップラーフローメトリが優れた道具であることを示した。レーザドップラーフローメトリ(LDF)測定は、皮膚の最上層(約200ミクロン)に制限されるが、その理由は、散乱のせいでビームがそのコヒーレンスを失うからである。レーザドップラーフローメトリ研究の温度依存性は、糖尿病に起因する皮膚の構造的変化を取り入れていない。その結果、先行技術のLDFの欠陥は、糖尿病の合併症の分類と診断において、散乱の温度依存性を含めることを欠いていることである。

#### 【0016】

当該技術の中で様々な検出技術が開示されてきたけれども、血中グルコースレベルの信頼性のある非侵襲性測定を提供する市販入手可能な装置は未だ存在しない。結果として、グルコースのモニタといった非侵襲の代謝物質試験に対する現在の方法は、広く受容されるまでに至っていない。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0017】

本発明は、ヒト組織の表面上で形態的に類似し、実質的にオーバーラップせず、かつ好ましくは隣接する2つの領域で、光学データを収集し、その間に各々の領域の温度が、温度プログラムによって維持もしくは変更される方法を提供する。得られた光学データは、(糖尿病の疾病状態のような)疾病状態、または物理的条件を示すための(血中グルコースレベルのような)分析物の濃度を予測するのに使用することのできる、数学関係式、例え

10

20

30

40

50

ばアルゴリズムに挿入される。

【0018】

本発明は、例えば糖尿病のような疾病状態と非糖尿病の間で区別を行うのに使用することができる。本発明の方法の基礎を成す知見は、ヒト組織のある光学特性が、組織の温度変化にตอบสนองして変化することである。この方法は、異なる温度刺激の下で皮膚から発する光学信号と、臨床的に確定された疾病状態、例えば糖尿病の状態との間の関係を利用する、校正用（またはトレーニング用）セットの作成を含む。この校正用セットは、他の被検者の疾病状態を予測するのに使用することができる。熱的刺激は、毛細管ループ内の細小循環系の作用に影響を与えるので、この方法は、最大で2ミリメートルの深さまで組織の表面の異なる領域で組織の光学特性を、熱的刺激の関数として測定することに対応する。疾病状態に起因する構造的変化、ならびに循環系変化は、ヒト組織の表面の、例えば前腕の皮膚上の形態的に類似して実質的にオーバーラップしない2つの領域で判定され、各々の領域は異なる温度変更プログラムに支配される。疾病状態の判定に加えて、本発明はまた、ヒト組織中の分析物の濃度判定に使用されることができる。本発明はまた、本発明の方法による、糖尿病のような疾病状態の判定、あるいは血中グルコースレベルのようなヒト組織中の分析物の濃度を判定するための装置も提供する。

10

【0019】

一態様では、本発明は、被検者の疾病状態を判定するための方法を提供する。この方法は、

(a) ヒト組織上の第1の領域で少なくとも1つの光学特性を測定することで、データの第1のセットを得るステップを含み、第1の領域が第1の温度プログラムにかけられ、この方法がさらに、

20

(b) ヒト組織上の第2の領域で少なくとも1つの光学特性を測定することで、データの第2のセットを得るステップを含み、第2の領域が第2の温度プログラムにかけられ、第2の温度プログラムが第1の温度プログラムと異なり、第2の領域が、第1の領域と形態的に類似しているが実質的にオーバーラップせず、この方法がさらに、

(c) データの第1のセットおよびデータの第2のセットを数学関係式に挿入することで、数学出力を計算するステップ、および

(d) 数学出力を部類セクタと比較することで、ヒトの疾病状態を判定するステップを含む。

30

【0020】

数学関係式は、通常、パラメータを非侵襲性的方法によって判定される疾病状態と関連付けることによって確立される。本明細書で使用する「疾病状態」という表現は、異常な心臓血管状態、腫瘍状態、または組織に影響を与える他の疾病を有する被検者の状態を意味する。疾病状態の代表的な範例が糖尿病である。こうして確立された数学関係式は、被検者の疾病状態を判定するのに使用することができる。

【0021】

また別の態様では、本発明は、被検者の組織中の分析物の濃度を判定するための方法を提供する。この方法は、

(a) 組織上の第1の領域で少なくとも1つの光学特性を測定することで、データの第1のセットを得るステップを含み、第1の領域が第1の温度プログラムにかけられ、この方法はさらに、

40

(b) 組織上の第2の領域で少なくとも1つの光学特性を測定することで、データの第2のセットを得るステップを含み、第2の領域が第2の温度プログラムにかけられ、第2の温度プログラムが第1の温度プログラムと異なり、第2の領域が、第1の領域と形態的に類似しているが実質的にオーバーラップしておらず、この方法はさらに、

(c) データの第1のセットおよびデータの第2のセットを数学関係式に挿入することで、分析物の濃度を計算するステップを含む。

【0022】

数学関係式は、通常、パラメータを非侵襲性的方法によって判定される分析物の濃度と相

50



関付けることによって確立される。こうして得られた数学関係式は、被検者の組織中の分析物の濃度を判定するのに使用することができる。

【0023】

また別の態様では、本発明は、本発明の方法を実行するための装置を提供する。この装置は、

- (a) 組織の少なくとも2つの領域を光で照明するための手段、
- (b) 組織の少なくとも2つの領域から再放射される光を収集するための手段、
- (c) 組織の2つの領域で収集された再放射光の強度を測定するための手段、および
- (d) 温度プログラムによって組織の少なくとも2つの領域の温度を同時に制御するための手段を含む。

10

【0024】

本発明の一実施形態は、例えば糖尿病のような疾病状態、あるいは、例えば血中グルコースレベルのような分析物の濃度の非侵襲の診断のための方法を含む。

【0025】

第1の領域と第2の領域の測定は、同時になされることが可能である。場合によっては、第1の領域と第2の領域の測定は、順次なされることも可能である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0026】

本明細書で使用する「光学特性」という表現は、生物学的組織の吸収、散乱、放射、反射、および偏光解消特性を称する。「光学パラメータ」という表現は、媒質とその成分の光学特性を説明および定義するパラメータを称する。光学パラメータの範例には、限定はされないが、分析物の吸収係数、散乱係数、および吸光係数が含まれる。「散乱媒質」という表現は、光の散乱と光の吸収の両方を行う媒質を称する。「吸収係数」(すなわち  $\mu_a$ ) という表現は、単位経路長当たり光を吸収する確率を称し、 $2.303 \cdot C / \text{cm}$  に等しく、ここで  $C$  はモル濃度である。「減衰散乱係数」(すなわち  $\mu_s'$ ) という表現は、単位経路長当たりの同等に等方性(全方位で均一)の散乱の確率を称し、 $1 / \text{cm}$  に等しく、ここで  $1$  は散乱断面であり、 $1$  は散乱中心の数密度である。「光浸透深さ」(すなわち  $\delta$ ) という表現は、入射光と同じ方向で光がたどる経路に関する散乱媒質中の光強度の減衰率を称する。光浸透深さは、組織中で光強度がその元の値の  $1/e$  まで減衰される深さを表わし、 $\delta = 1 / (3 \mu_a (\mu_a + \mu_s'))$  として吸収係数および散乱係数と関係する。

20

30

【0027】

「拡散反射率」(特に規定しない限り反射率)という表現は、入射光の方向と異なるすべての角度で、かつ入射光がサンプルに導入される面積よりも広い面積にわたって、サンプルから再放射される光の測定に関する。「空間分解散乱」もしくは「空間分解拡散反射率」および「局所的反射」という表現は、サンプルから再放射され、光導入部位から特定の距離にあるいくつかの光収集部位で収集される光の測定に関する。場合によっては、これらの表現は、光収集部位から規定の距離のセットで、サンプル境界部上に位置する個別の光導入部位に光を導入する結果として、サンプル境界部上の所定の光収集部位で収集される光に関することがある。両方の例で、 $\mu_a$  と  $\mu_s'$  は、距離に関する再放射光の強度分布、すなわち多様なサンプリング距離における再放射光の強度から算出される。「再放射光」および「反射光」という表現は、本明細書では、他に示さない限り「反射率」および「再放射光の強度」の表現と同義的に使用される。

40

【0028】

「光導入部位」という表現は、例えば光ファイバによって光がサンプルに注入もしくは導入される、サンプル、例えば身体部分、組織などの表面上の場所を意味する。光源は、光導入部位に配置されることも可能であり、あるいは光導入部位から離れた場所に配置されることも可能である。もしも光源が光導入部位から離れた場所に配置されるならば、例えば光ファイバのような光伝送手段によって、光が光導入部位に伝送されなければならない。「光収集部位」という表現は、サンプルから再放射される光が測定のために収集される

50

、サンプル、例えば身体部分、組織などの表面上の場所を意味する。再放射光の強度を判定する検出器は、光収集部位に配置されることも可能であり、あるいは光収集部位から離れた場所に配置されることも可能である。もしも検出器が光収集部位から離れた場所に配置されるならば、例えば光ファイバのような光伝送手段によって、光が光収集部位に伝送されなければならない。サンプルの表面に沿って測定したときの光導入部位と光収集部位の間の距離が、「サンプリング距離」として定義される。所定のサンプルについて、サンプリング距離は、サンプルの表面から、散乱と吸収の事象が測定される再放射光に寄与するサンプルの内部までの平均距離を決定する。そのような平均距離は、これ以降「サンプリング深さ」と称され、サンプリング距離の関数である。本発明では、「組織の表面上の領域」は、少なくとも1つのサンプリング距離と少なくとも1つのサンプリング深さで、多数の光導入部位、多数の光収集部位を有する可能性があり、その光学特性は、独立して動作する温度プログラムによって影響される。「温度プログラム」という表現は、時間に応じる温度レベルのシーケンスに関する。限定はされないが、温度プログラムの範例には、(1)ある時間の期間にわたって一定の温度を維持すること、(2)ある時間の期間にわたって温度を下げること、(3)ある時間の期間にわたって温度を上げること、および(4)(1)と(2)と(3)との組み合わせが含まれる。「実質的にオーバーラップしない」という表現は、温度プログラムを受ける領域が、それらの領域が受ける温度プログラムが区別可能である限り、わずかにオーバーラップする可能性があることを意味する。しかしながら、温度プログラムにかけられる領域がオーバーラップしないことが好ましい。

10

20

#### 【0029】

「血流量」という表現は、血管内の赤血球の速度を意味する。普通では、血流量はレーザドップラフローメトリによって測定される。「血管拡張」という用語は、神経の作用による血管またはリンパ管の直径の増大を称する。インスリンのような化学的作用物質または組織温度の上昇は、血管拡張を誘発することが可能である。「微小循環」という用語は、血管壁の収縮と弛緩の結果による、毛細管、小動脈、および小静脈内の血液の移動を称する。「動脈」という用語は、心臓から組織および器官へと血液を導く血管を意味する。動脈は、平滑で平坦な細胞（内皮細胞）で整列されており、繊維組織を含む厚い筋肉の弾力性の壁で取り巻かれる。動脈は、直径が300ミクロンよりも細くなるまで繰り返して枝分かれする。これらの細く枝分かれした動脈は「小動脈」と呼ばれる。小動脈の壁は平滑筋から形成される。小動脈の機能は、毛細管への血液供給を制御することである。「毛細管」という用語は、平坦な細胞（内皮細胞）の単層から成る壁を有する微小な毛状の管（直径で5～20ミクロン）を称する。毛細管壁は、水、酸素、グルコース、アミノ酸、二酸化炭素、および無機イオンに対して透過性である。毛細管は、すべての組織内でネットワークを形成する。それらは、酸素付加された血液を小動脈によって供給され、脱酸素血液を小静脈へと送る。

30

#### 【0030】

「静脈」は、組織および器官から心臓へと戻して血液を導く血管である。静脈は、平滑で平坦な細胞（内皮細胞）で整列され、筋肉状で繊維状の組織によって取り巻かれる。静脈の壁は薄く、かつ静脈の直径は、動脈の直径と比較して大きい。静脈は、心臓に向かう血液の一方向の流れを可能にする弁を有する。「小静脈」は、毛細管から血液を集め、他の小静脈と結合して静脈を形成する細い静脈である。小静脈は、毛細管以上の結合組織であるが、しかし毛細管と同様の小分子透過性を有する。小動脈と小静脈は、毛細管ループまたはシャントを通じて接続される。「シャント」という用語は、2本の血管の間の通路もしくは接続（吻合）を称する。動静脈シャントは、毛細管ループを経由しない動脈（もしくは小動脈）から静脈（もしくは小静脈）への血液通路である。「叢」という用語は、血管の編み紐を称する。皮膚では、「上部叢」または「浅叢」は、真皮の上層で見受けられる小動脈と小静脈の編み紐を称する。「下部叢」または「深叢」は、真皮の下層で見受けられる小動脈と小静脈の編み紐を称する。編み紐の各々は、「脈管脈叢」と称され、双方は相互接続される。小動脈、小静脈、毛細管ループ、上部叢、および下部叢は、微小血管

40

50

系を有し、皮膚温度の制御、および皮膚への血液と栄養の流入、および皮膚からの代謝産物の廃棄を担っている。

#### 【0031】

図1は、ヒトの前腕「F」を示しており、形態的に類似し、実質的にオーバーラップしない2つの領域「A1」と「A2」の印が、組織の表面上に付けられている。2つの領域は、（毛、骨の存在、静脈の外観といった）類似した形態を有するように選択される。必要条件ではないが、これらの領域は隣接することが好ましい。各々の領域は、温度プログラムにかけられることで光学的変化を誘発し、光学的変化は、組織の吸収と散乱の特性の変化から結果的に生じる。温度プログラムは同一ではない。組織の吸収特性の変化は、細小循環の変化によって誘発されることが可能であり、それに対して組織の散乱特性の変化は、組織中の散乱中心とこれら散乱中心を取り巻く流体媒質の間の屈折率不整合の変化によって誘発されることが可能である。この不整合は、温度の変化によって引き起こされる。

10

#### 【0032】

図2は、本発明で使用するのに適した装置の一実施形態を例示している。この装置は、ヒトの皮膚表面上の形態的に類似し、オーバーラップしない2つの領域を、異なる温度プログラムにかけ、その間にヒトの皮膚表面上の形態的に類似し、オーバーラップしないこれら2つの領域で、光学的測定を行うように使用されることが可能である。本装置は、本明細書に参照によって組み込まれるWO 99/59464に記述されている装置に類似している。図2に図式的に示したように、装置10は、光源モジュール12、ヒトとのインターフェースモジュール14、および信号検出モジュール16を含む。ヒトとのインターフェースモジュール14は、単一の光学ヘッドを有する。後述するように、異なる実施形態が複数の光学ヘッドを有することも可能である。これら3つのモジュールは、枝分かれした光ファイバ束18を通じて相互接続される。光源モジュール12は、4個の発光ダイオード(LED)20、22、24、および26を含み、それによって光の出力を変更することができる。LEDは、円形のホルダ28内に装着され、LEDから出る光は集められ、その後、レンズアセンブリ34、例えば焦点距離28mmのRKE精密接眼レンズ(Edmund Scientific、部品番号30787)によって、照明素子32の端部30に伝送される。各LEDは、異なる周波数で変調される。光の一部が、ビームスプリッタ36によって分けられ、シリコンフォトダイオード38(型名S-2386-44K6C、Hamamatsu、浜松市、日本)とプリアンプ40上に焦点集束されることで、基準信号を発生し、基準信号が光源の強度の変動を補正するのに使用される。残りの光ビームは、ファイバ束44の光源先端42に収納された照明素子32の端部30に進み続ける。

20

30

#### 【0033】

照明素子32の端部45と光収集素子46、48、50、および52の端部は、温度制御されたディスク56(直径2cm)の中央に位置する共通の先端54に装着される。共通の先端54および温度制御されたディスク56は、ヒトとのインターフェース14の部品である。素子32、46、48、50、および52のすべてが、低OHシリカで作製されたファイバであり、各々が400μmの直径を有する(Fiber guide Industries, Stirling, NJ)。皮膚から再放射された光は、光収集素子46、48、50、および52によって収集され、信号検出モジュール16へと伝送される。信号検出モジュール16内に配置された検出器60、例えばクオッドラントシリコンフォトダイオード検出器(Advanced Photonics、P/N SD225-2321-040)は、4個の光収集素子46、48、50、および52から伝送された光の強度を測定する。各光収集素子の遠位端は、検出先端62内に配置される。

40

#### 【0034】

装置10の身体とのインターフェースモジュール14は、クレードル(図示せず)に装着されることが可能であり、クレードルが、今度は標準的な臨床用リクライニングチェア(図示せず)のアームに装着される。被検者は、被検者の前腕がクレードルの上に乗るようにチェアに腰掛ける。身体とのインターフェースモジュール14に配置される装置の光学

50

ヘッドが、被検者の前腕の背面に向けて一定の力、例えば160グラム（約45グラム/cm<sup>2</sup>）で押し付けられる。被検者の前腕を、装置の光学ヘッドと接触させて配置する他の手段もやはり使用可能である。熱電冷却/加熱素子64（Model SP1507-01AC、Marlow Industries、Dallas、TX）、および制御器/電源ユニット66（Marlow Industries、SE-5000-02）が、ディスク56の温度の制御を行い、ディスク56が前腕の皮膚と接触して配置される。熱電対（またはサーミスタ）68は、アルミニウムのディスク56の温度を感知し、温度制御器66にフィードバックを供給する機能を有する。LabView（商標）（バージョン5.1、National Instruments、Austin、TX）ソフトウェアプログラムを使用するパーソナルコンピュータが、制御器66によってディスク56の温度を設定する。パーソナルコンピュータとそれに付随するソフトウェアはまた、データの取得も管理する。

10

#### 【0035】

照明素子32から出る光は、リクライニング臨床チェアのアームに取り付けられた身体とのインターフェースモジュール58を通じて皮膚に入る。4個の光収集素子46、48、50、および52からの信号は、検出器60（Advanced Photonics、P/N SD225-2321-040）へと伝送され、検出器60の各々のクォッドラントに1つの信号が伝送される。検出器60の各クォッドラントからの信号は、増幅器70によって別々に増幅され、マルチメータ（Model No. 3458A、Hewlett-Packard、Palo Alto、CA）によって測定される。マルチメータとパーソナルコンピュータとの間のデータ転送速度の制限が理由で、光学信号は、30秒毎に収集されて積分される。

20

#### 【0036】

LEDの強度とスペクトル、検出器のスペクトル応答、照明素子と各光収集素子の相対的な光スルーット、および検出システムの暗電流（すなわち光源がオフであるときの検出システムの電流）の変動を補正するために、校正アルゴリズムが使用される。したがって、こうして得られた反射率信号の大きさは、素子、検出器、およびランプのタイプの各セットで唯一である公倍数因子だけ、その真の値と異なる。

#### 【0037】

図2の装置は、単一の光学ヘッドを有しており、この装置は、その間で光学測定がなされている規定の温度プログラムを提供することができる。本発明の方法を実行するために、この装置の光学ヘッドは、組織（例えばヒトの皮膚）に、その第1の領域で接触することになる。光学測定がなされている間に、第1の規定の温度プログラムが実行される。装置が組織の第2の領域に接触することが可能となるようにアームが動かされ、そこで、光学測定がなされている間に、第2の規定の温度プログラムが実行される。言い換えると、2つの領域は順々に接触され、2つの光学測定が順々になされる。

30

#### 【0038】

図3は、2つの光学ヘッドを有する装置を例示しており、各々の光学ヘッドは、光学測定がなされている間に規定の温度プログラムを提供することができる。この装置の2つの光学ヘッドは、共通のブラケット（図示せず）に装着される。2つの光学ヘッドは、前述した単一光学ヘッドを有する装置と同じ方式で、被検者の前腕の皮膚に当てられる。光学ヘッドを前腕と接触させ続けるために、一定の力のバネが使用される。加えられるバネの力は、通常、200グラムであるが、力の正確な大きさは本発明の操作に対して重要ではない。

40

#### 【0039】

ここで図3を参照すると、装置100は、身体部分102上の2つの検査領域104、106で、身体部分102と接触させられることが可能である。本装置は、2つの光学ヘッドを有し、2つの光学ヘッドが、今度は温度が制御されることが可能なアルミニウムのディスク108、110、および熱電冷却/加熱素子112、114を有する。各々のヘッドの各々のディスク108、110の温度は、熱電冷却/加熱素子112、114によっ

50

て制御される。熱電冷却/加熱素子112, 114 (Model SP1507-01AC、Marlow Industries、Dallas、TX) および制御器/電源ユニット116、118 (Marlow Industries、SE-5000-02) は、温度制御器116、118からの電力入力を通じて、皮膚と接触して配置されたディスク108、110の温度を制御する。熱電対(またはサーミスタ)120、122は、各アルミニウムディスク108、110の温度を感知し、特定のディスクに結合された温度制御器にフィードバックを供給する機能を有する。

#### 【0040】

光学ヘッドはまた、照明用ファイバ124、126も有する。皮膚から放射された光は、ファイバグループ128、130によって収集され、第1の領域から集められた信号を増幅するための電子装置をやはり含む検出器132、および第2の領域から集められた信号を増幅するための電子装置をやはり含む検出器134に供給される。光源電子装置140は、第1の領域と接触している光学ヘッドの光源を動作させるための電力を供給する。同じ方式で、光源電子装置142が、第2の領域と接触している光学ヘッドの光源を動作させるための電力を供給する。マイクロプロセッサ/コンピュータ150は、ケーブル/コネクタ152、154、156、158、160、および162を通じて、温度制御器116、118、光源電子装置140、142、および信号増幅電子装置132、134を制御する。本装置が組織と接触することになると、2つの光学ヘッドが、2つの領域で同時に組織に接触する。2つの温度プログラムおよびそれらに伴う測定は、同時に実行されることが可能である。

10

20

#### 【0041】

こうして、本発明の方法は、形態的に類似しているがオーバーラップせず、好ましくは隣接する2つの領域で、光学信号が収集され、そのときの各領域の温度が、温度プログラムによって維持もしくは変更される方法として特徴付けることが可能である。得られた光学信号から導き出された測定値は、(糖尿病の疾病状態といった)疾病状態を予測するのに使用することが可能なアルゴリズム、または血中グルコースレベルといった体内の物質の濃度を判定するのに使用することが可能なアルゴリズムに挿入される。

#### 【0042】

光学測定装置が、皮膚もしくは他の組織と接触することになると、光学信号に関していくつかの現象が観察される。皮膚のケースで、皮膚と接触した光学測定装置によって光が皮膚に導入され、かつ皮膚から伝送されるまたは反射される光の強度が測定されるとき、測定される光学信号が、経時的に規定の経過をたどることが見出された。最初に、約1秒から約30秒の時間的期間にわたって、信号に急峻な変化が観察される。この変化は、時間に応じる反射率の減少として明確化される。この減少は信号変化の最大成分である。減少の大きさは、光学測定装置の幾何学形状、皮膚に加えられる圧力、および個々の皮膚の性質で変わる。時間に応じる光学信号の変化は、皮膚、特に角質層の整合性、測定装置の形状に帰する可能性がある。

30

#### 【0043】

2番目に、反射光または散乱光の減少が時間に応じて現れる。この減少は、さらに長い時間的期間、数分間以上に延びる時間にわたって生じ、初期の減少よりもなだらかな勾配を示す。皮膚のグルコース濃度の増大は、散乱測定における反射信号の減少につながる。グルコース濃度の増大はまた、皮膚の散乱係数の低下にもつながる。散乱係数の変化は、グルコースのmM当たり $1 \times 10^{-4}$ と見積もられる。装置の初期相互作用または組織の機械的圧縮に起因する光学信号の変化は、グルコース濃度の増大の影響と同じ方向であるが、グルコース濃度の変化に帰することが可能な増大よりも少なくとも10倍大きい。

40

#### 【0044】

3番目に、測定装置の温度と皮膚の温度の間の差異が、経時的に光学信号のドリフトを引き起こす。もしも測定装置が皮膚の温度よりも高い温度であるならば、装置から皮膚へと熱が流れ、それによって皮膚の温度の上昇につながり、したがって、1999年10月15日出願の米国特許出願番号第09/419,461号に述べられているように、散乱係

50

数と反射光強度の増大につながるであろう。他方で、もしも測定装置が皮膚の温度よりも低い温度であるならば、熱は皮膚から装置へと流れるであろう。この熱の流れは一時的な皮膚の温度の低下、散乱係数の低下、および付随する反射光強度の低下につながるであろう。

【 0 0 4 5 】

最後に、時間に応じる組織の表面と下部表面の構造の変化が、やはり光学信号に影響を与える。その結果、動静脈シャントの開閉、間質液の移動などが、測定光学信号の緩やかな変化につながるであろう。

【 0 0 4 6 】

本発明の方法は、皮膚の血管床の制御された温度変化と一緒にあった光学測定を提供し、それにより、微小血管の不具合および皮膚構造の違いの追跡を可能にする。この追跡は、毛細管ビデオ顕微鏡法のように、前腕の反対側の冷却または 44 への加温される可能性があるといった、被検者に不自由をかけることなく達成される。本発明の方法はまた、測定のための着座および起立といった、物理的な動作の必要性も除外することが可能である。

10

【 0 0 4 7 】

温度プログラミングに伴う 2 領域測定は、測定中のプローブと皮膚の間の相互作用から結果的に生じる光学信号の自然発生的な変化（ドリフト）を補正する。

【 0 0 4 8 】

本発明で必要とされる光学測定は、拡散反射率または空間分解された拡散反射率である可能性がある。光ビームによって調べられる容積にわたって温度が制御され、かつ変えられることが可能な薄い身体部分に対して、光学装置が適用されるとき、透過測定は、本発明の方法で使用されることが可能である。耳たぶまたは指の間の皮膜は、透過測定の可能性のある部位である。

20

【 0 0 4 9 】

本発明の一態様は、被検者の疾病状態、例えば糖尿病の状態の判定である。数学関数は、組織（例えば皮膚）の 2 つの領域で光学信号から導き出され、各々の領域で、温度プログラムによって温度が制御される。温度プログラムは、一定の温度値、降下する温度値のセット、上昇する温度値のセット、または所定の時間的期間にわたって上昇と降下をする温度値のセットを指定することが可能である。そのような関数の 1 つは、次の式（ 2 ）によって表わされ、

30

【 数 2 】

$$f(R_{A1T1}, R_{A1T2}, R_{A2T3}, R_{A2T4}) = [\ln(R_{A1T1} / R_{A1T2})] - [\ln(R_{A2T3} R_{A2T4})] \quad (2)$$

ここで、

$R_{A1T1}$  は皮膚の第 1 の領域で温度  $T_1$  で測定された光の強度を表わし、  
 $R_{A1T2}$  は皮膚の同じ第 1 の領域で温度  $T_2$  で測定された光の強度を表わし、  
 $R_{A2T3}$  は皮膚の第 2 の領域で温度  $T_3$  で測定された光の強度を表わし、  
 $R_{A2T4}$  は皮膚の同じ第 2 の領域で温度  $T_4$  で測定された光の強度を表わす。

40

【 0 0 5 0 】

$T_1$  と  $T_2$  は、第 1 の温度プログラムの限界を表わす。 $T_3$  と  $T_4$  は、第 2 の温度プログラムの限界を表わす。第 1 の領域の温度プログラムは、第 2 の領域の温度プログラムと異なるべきである。そうでなければ、これらの測定は単なる繰り返しである。

【 0 0 5 1 】

複数のサンプリング距離および複数の波長と、被検者のセット（すなわち校正用セット）の各々の判っている疾病状態、例えば糖尿病および非糖尿病とで判定されて導き出された関数（群） $f(R_{A1T1}, R_{A1T2}, R_{A2T3}, R_{A2T4})$  は、判別関数  $D$  を生じるように処理されることが可能である。判別関数は、パターン識別の技術で使用される。例えば Duda と Hart の「Pattern Classification an

50

d Scene Analysis」、John Wiley & Sons (1973年)、17～20頁および130～138頁を参照されたい。それらの頁は、本明細書に参照によって組み込まれる。判別関数は、対象を分類するための、このケースでは糖尿病の被検者と非糖尿病の被検者をそれらのそれぞれの部類に配置するための決定基準である。被検者は、 $D > 0$ である場合に糖尿病であると類別され、 $D < 0$ の場合に非糖尿病であると類別される。本明細書で使用するとき、対象を分類するための決定基準を、「部類セクタ」と称する。

#### 【0052】

もちろん、校正用セットについて光学測定を利用するために、真の疾病状態が知られるべきである。通常では、 $D$ は、 $f(R_{A1T1}, R_{A1T2}, R_{A2T3}, R_{A2T4})$ のタイプの複数の関数を含むクォッドラントの表現である。 10

#### 【0053】

判別関数の範例は、次の形式のクォッドラント表現であり、

#### 【数3】

$$D = \sum_i \sum_j a_{ij} (\delta_i f_i) (\delta_j f_j) + \sum_i a_i \delta_i f_i + a_0 \quad (3)$$

ここで、

#### 【数4】

$$\delta_i = 1 \text{ または } 0; \quad \text{および} \quad \sum_i \delta_i = K \quad (4a)$$

20

$$\delta_j = 1 \text{ または } 0; \quad \text{および} \quad \sum_j \delta_j = K \quad (4b)$$

$a_{ij}$ 、 $a_i$ 、および $a_0$ は、校正用セットから決定される定数であり、下付き文字 $i$ または $j$ は、波長とサンプリング距離の特定の組み合わせに対する指数である。数 $K$ は、判別関数に使用される個々の波長とサンプリング距離との組み合わせの合計数を制限する。同様の分類を達成するために、当業者は、他の形式の判別関数を導き出すことおよび使用すること、あるいはニューラルネットワークを使用することが可能である。当業者は、上述した2種類分類が、多種類分類のうちの単なる特定のケースであること、および多種類の状況のための判別関数を生じることが可能であることを認識するであろう。 30

#### 【0054】

被検者の糖尿病の状態は $S_i$ で表わされ、ここで

糖尿病の被検者については、 $S_i = +1$

非糖尿病の被検者については、 $S_i = -1$

である。

#### 【0055】

関数 $D$ の値が、各々の被検者 $i$ について算出され、 $D_i$ として表わされることは可能である。 $D_i$ と $S_i$ が同じ符号を有する場合、被検者は合致していると類別される（すなわち被検者は正しく分類されている）。 $D_i$ と $S_i$ が異なる符号を有する場合、被検者は合致していないと類別される（すなわち被検者は正しく分類されていない）。各々の部類で被検者の数（合致または非合致）が判定される。 40

#### 【0056】

校正用（トレーニング用）セットの二次関数 $D$ の係数は、予測セットのための関数 $D_i$ の値を算出するのに使用される。予測セットの所定の被検者に関して算出された $D_i$ の値が、正（ $D_i > 0$ ）であるならば、被検者は糖尿病であると類別される。予測セットの所定の被検者に関して算出された $D_i$ の値が、負（ $D_i < 0$ ）であるならば、被検者は非糖尿病であると類別される。その後、表1に示したタイプの $2 \times 2$ 予測マトリックスが、各々の領域で試験された各々の実験条件（例えば初期温度、最終温度、および冷却速度）につ 50

いて確立される。糖尿病であると識別された真の糖尿病被検者の数は、「a」で示され、非糖尿病であると識別された真の非糖尿病被検者の数は、「d」で示され、非糖尿病であると識別された糖尿病被検者（誤りの陰性）の数は、「c」で示され、糖尿病であると識別された非糖尿病被検者（誤りの陽性の分類）の数は、「b」で示される。合致した被検者（aとd）の数は、糖尿病および非糖尿病の合致を表わす対角線に沿って配置される。合致しなかった被検者（bとc）の数は、表1に示したように、他方の対角線に沿って配置される。上述した分類法は、被検者で糖尿病をスクリーニングするのに使用されることが可能である。

【表1】

表1

光学試験結果	真の状態	
	糖尿病	非糖尿病
糖尿病	a	b
非糖尿病	c	d

10

【0057】

糖尿病と非糖尿病の被検者の区別の質は、感度、特異度、陽性予測値（PPV）、および陰性予測値（NPV）によって判定される。「感度」という用語は、真に陽性の個体を識別する検査の性能を称する。感度の指標は、試験対象の方法によって陽性と識別された被検者の数を、基準方法によって判定された（すなわち真の状態）真の陽性のサンプルの合計数で除した比率である。「特異度」という用語は、真に陰性の個体を識別する検査の性能を称する。特異度の指標は、試験対象の方法によって陰性と識別された被検者の数を、基準方法によって判定された真の陰性の被検者の合計数で除した比率である。「陽性予測値」すなわち「PPV」という表現は、与えられた陽性の試験結果が真に陽性である確率である。それは、試験対象の方法によって陽性と識別された真に陽性の被検者の数を、試験対象の方法（本発明の光学的方法）によって判定された陽性の被検者の合計数で除した比率である。「陰性予測値」すなわち「NPV」という表現は、与えられた陰性の試験結果が真に陰性である確率である。それは、試験対象の方法によって識別された真に陰性の被検者の数を、試験対象の方法によって判定された陰性の被検者の合計数で除した比率である。「p値」という表現は、<sup>2</sup>テストを使用して、2つの部分的にオーバーラップする母集団を分離する性能に関するパラメータである。pの値が小さくなるほど、2つの母集団間の分離が優れたものになる。

20

30

【0058】

方法の性能パラメータ、すなわち感度、特異度、陽性予測値（PPV）、および陰性予測値（NPV）は、母集団の数a、b、c、およびdから算出され、ここで

感度 =  $a / (a + c)$ 、

特異度 =  $d / (d + b)$ 、

陽性予測値（PPV） =  $a / (a + b)$ 、および

陰性予測値（NPV） =  $d / (c + d)$

40

である。

【0059】

本発明の方法の別の適切な用途は、ヒト組織中の分析物、例えばグルコースの濃度の非侵襲の判定のための方法である。この方法は、2つの領域で皮膚を光学ヘッドと接触させるステップを含み、これらの領域は、形態的に類似しているがオーバーラップせず、これらの領域は、異なる温度プログラムにかけられる。

【0060】

例えば2つの領域の光学測定値の差異を使用する直線回帰の関係式が、各被検者について導き出されることで、組織中のグルコース濃度を、第1と第2の領域でこれらの領域が異

50



なる温度プログラムにかけられている間に観察された光学信号と関係付ける校正用関係式が発生する。分析物、例えばグルコースの濃度は、以下のような式から決定することが可能であり、

【数 5】

$$[G] = b_0 + \sum_i \sum_j c_{ij} [\ln(R(\lambda_i, r_j, t_1, A_1)) - \ln(R(\lambda_i, r_j, t_1, A_2))] + \sum_i \sum_j d_{ij} [\ln(R(\lambda_i, r_j, t_2, A_1)) - \ln(R(\lambda_i, r_j, t_2, A_2))] \quad (5)$$

ここで  $[G]$  は、分析物（例えばグルコース）の濃度を表わし、 $R(\lambda_i, r_j, t_1, A_1)$  は、 $\lambda_i$ 、 $r_j$ 、 $t_1$ 、 $A_1$  における反射光の量を表わし、 $R(\lambda_i, r_j, t_1, A_2)$  は、 $\lambda_i$ 、 $r_j$ 、 $t_1$ 、 $A_2$  における反射光の量を表わし、 $R(\lambda_i, r_j, t_2, A_1)$  は、 $\lambda_i$ 、 $r_j$ 、 $t_2$ 、 $A_1$  における反射光の量を表わし、 $R(\lambda_i, r_j, t_2, A_2)$  は、 $\lambda_i$ 、 $r_j$ 、 $t_2$ 、 $A_2$  における反射光の量を表わし、 $\lambda_i$  は光の波長を表わし、 $r_j$  はサンプリング距離を表わし、 $t_1$  は、光学装置と組織、例えば皮膚の接触時点から経過した第 1 の時間点を表わし、 $t_2$  は、光学装置と組織、例えば皮膚の接触時点から経過した第 2 の時間点を表わし、 $A_1$  は第 1 の領域に関し、 $A_2$  は第 2 の領域に関する。量  $b_0$ 、 $c_{ij}$ 、 $d_{ij}$  は、校正によって決定される一定の係数である。

【0061】

温度プログラムおよび光学ヘッドを組織に当てている間の時間経過が、皮膚の温度を決定するので、式(5)は実際には、式(6)によって示されるように、各々の測定領域の温度の関数として分析物の濃度値を表わしており、

【数 6】

$$[G] = b_0 + \sum_i \sum_j c_{ij} [\ln(R(\lambda_i, r_j, T_1, A_1)) - \ln(R(\lambda_i, r_j, T_2, A_2))] + \sum_i \sum_j d_{ij} [\ln(R(\lambda_i, r_j, T_3, A_1)) - \ln(R(\lambda_i, r_j, T_4, A_2))] \quad (6)$$

ここで  $[G]$  は、分析物（例えばグルコース）の濃度を表わし、 $R(\lambda_i, r_j, T_1, A_1)$  は、 $\lambda_i$ 、 $r_j$ 、 $T_1$ 、 $A_1$  における反射光の量を表わし、 $R(\lambda_i, r_j, T_2, A_2)$  は、 $\lambda_i$ 、 $r_j$ 、 $T_2$ 、 $A_2$  における反射光の量を表わし、 $R(\lambda_i, r_j, T_3, A_1)$  は、 $\lambda_i$ 、 $r_j$ 、 $T_3$ 、 $A_1$  における反射光の量を表わし、 $R(\lambda_i, r_j, T_4, A_2)$  は、 $\lambda_i$ 、 $r_j$ 、 $T_4$ 、 $A_2$  における反射光の量を表わし、 $\lambda_i$  は光の波長を表わし、 $r_j$  はサンプリング距離を表わし、 $T_1$  は時間  $t_1$  の第 1 の領域の温度を表わし、 $T_2$  は時間  $t_2$  の第 1 の領域の温度を表わし、 $T_3$  は時間  $t_1$  の第 2 の領域の温度を表わし、 $T_4$  は時間  $t_2$  の第 2 の領域の温度を表わす。温度プログラムの他の範例が、当業者によって開発され、本発明の範囲と精神から逸脱することなく、分析物の濃度を表わすために式(5)と(6)に類似した式が展開されることは可能である。第 1 の領域に適用される温度プログラムは、第 2 の領域に適用される温度プログラムと異なるべきである。量  $b_0$ 、 $c_{ij}$ 、 $d_{ij}$  は、校正によって決定される一定の係数である。

【0062】

本発明の方法は、約 0 から約 45 の温度範囲にわたって使用されることが可能である。好ましい温度範囲は、約 10 から約 42 であり、さらに好ましい温度範囲は、約 20 から約 40 である。概して、この温度範囲は、組織に対して温度に関係したいかなる傷害も生じないで、あるいは被検者に対するいかなる不快感も与えずに、組織中の光浸透深さの検出可能な変化を供給するのに充分である。

【0063】

本発明の実施形態の 1 つは、糖尿病および糖尿病の合併症の診断時に、皮膚の循環系の温度依存性と皮膚の構造パラメータの温度依存性との両方を含む。皮膚の境界を横切るヒト皮膚の光学特性の測定は、皮膚の様々な層の不均一性によって悪影響を受ける。毛細管内

の血液中のホルモン、薬剤、および代謝物質は、測定される光学信号の変化に寄与する。光学測定装置と皮膚の相互作用は、皮膚の灌流の状態に応じて様々な光学的影響を有する可能性がある。したがって、毛細管中に高い血液含有量を有して高度に灌流された皮膚は、毛細管中に低い血液含有量を有する軽度に還流された皮膚と異なる方式で、装置と皮膚の相互作用および装置と皮膚との間の温度平衡によって影響されるであろう。これらの影響は先行技術で記述されなかった。本発明の様々な実施形態は、これらの影響に対処し、光学信号に対するそれらの寄与を補償する。そのような補償は、さらに優れた糖尿病状態の評価、および例えばヒト皮膚といったヒト組織中のグルコースのような分析物の濃度の判定につながるであろう。

#### 【0064】

先行技術で開示された非侵襲性の光学測定は、身体部分の表面上の単一の領域で光を照明および収集することを含む。複数の測定領域にわたる信号の空間的平均化でいくつかの試みが、LDFに使用され、かつビリルビンの判定に適用される。空間的平均化のケースでは、身体部分の表面上のいくつかの領域で測定が繰り返され、各々の領域で光学パラメータが判定され、光学パラメータの平均値が算出される。場合によっては、身体部分の表面上のいくつかの領域で信号が測定され、平均化され、個々の測定信号の平均から分析物の濃度が算出されることも可能である。複数の領域を使用することは事実上、組織の異質性および組織中の分析物の分布を平均化する。しかしながら、複数の領域の測定では、温度が制御されないか、または温度プログラムに従って温度が変えられないかのいずれかである。信号の空間的平均化を使用する当該技術の装置の範例は、BiliCheck（登録商標）の商標を有してSpectRX Inc, (Norcross Georgia) によって製造されているビリルビン測定装置である。空間的平均化を使用するまた別の市販入手可能な装置は、Perimid AB (Jarfalla, Sweden) によって製造されている、Peri Flux 4041測定装置である。先行技術の装置はいずれも、複数の検出領域で規定の温度プログラムの条件下で光学信号の測定を使用することを開示していない。

#### 【0065】

先行技術は、光学測定装置と皮膚の間の相互作用の影響に関して述べていない。先行技術はまた、試験取付け具もしくは身体部分ホルダと身体部分の間の相互作用が、測定される光学信号に与える影響、およびそれによって分析物に関する判定された濃度値に与える影響についても述べていない。

#### 【0066】

本発明は、例えば身体部分のような生物学的サンプルの少なくとも1つの臨床的診断パラメータを、非侵襲で測定するための方法と装置を提供する。パラメータは、例えば、疾病状態の存在、疾病状態の進行といったものから選択されることが可能である。

#### 【0067】

本発明は、以下の影響、すなわち

- (a) 光学測定装置と組織の間の相互作用の影響、
  - (b) 身体部分と身体部分のホルダの間の相互作用、すなわち組織の機械的圧縮が測定される光学信号に与える影響、
  - (c) 身体部分と測定装置の間の熱平衡が皮膚内の光の伝播および測定される光学信号に与える影響、および
  - (d) 組織の表面および下部表面の構造的差異が測定される光学信号に与える影響、
- を補償もしくは軽減する方法を提供することによって、先行技術の欠陥を解決する。

#### 【0068】

米国特許第5,057,695号、第5,551,422号、第5,676,143号、第5,492,118号、第5,419,321号、第5,632,273号、第5,513,642号、および第5,935,062号は、皮膚上の複数の領域で、各々の領域で温度を独立して変えながら光学信号測定することに関して述べていない。当該技術で知られている他の方法は、頭部、太腿部、または太い腕の筋肉といった大きな身体の塊で動

10

20

30

40

50

作する。先行技術の方法でサンプリングされる皮膚の容積は、これらの大きな塊にわたって、効果的な温度制御または効果的な温度変更を可能にするには大き過ぎる。

【 0 0 6 9 】

本発明の方法は、レーザドップラー流量測定単独に利点を提供するが、その理由は、レーザドップラー流量測定が、皮膚の上部 2 0 0 ミクロンの皮膚血流量を扱うからである。レーザドップラー流量測定は、いかなる構造パラメータもしくはスペクトルの影響の原因にもならないが、その理由は、レーザドップラー流量測定が、単一波長でドップラー変移を測定するに過ぎないからである。

【 0 0 7 0 】

本発明の方法を使用して診断することが可能な疾病状態には、限定はされないが、糖尿病の状態、末梢血管の疾病、皮膚疾病状態、および腫瘍性疾病状態が含まれる。 10

【 0 0 7 1 】

本発明の方法は、光が組織の境界に導入され、かつ再放射された光の強度が、同じかもしくは別の組織境界を横切って測定され、その間で同時に組織中の光の浸透深さの変化に影響を与えるように温度が変更され得る、いかなる組織の表面でも使用されることが可能である。したがって、温度制御された内視鏡プローブが、食道の表面あるいは子宮頸部の表面の障害、潰瘍を診断するのに使用されることが可能である。

【 0 0 7 2 】

例

以下の、限定されない例は、本発明をさらに具体的に示す。 20

例 1

図 2 に示したタイプの装置を作製した。この装置は、所定の時間に皮膚表面上の単一の領域で、光学測定を実施することができる。したがってこの装置は、形態的に類似して隣接し、実質的にオーバーラップしない皮膚上の 2 つの領域で皮膚表面に 2 回適用されることが必要であった。

【 0 0 7 3 】

LED の波長および各 LED を変調した周波数は、表 2 に示される。

【表 2】

表 2

LED番号	波長 (nm)	変調周波数 (Hz)	半帯域幅 (nm)
1	660	1024	15
2	590	819	15
3	935	585	25
4	890	455	25

30

【 0 0 7 4 】

各光収集素子 4 6、4 8、5 0、および 5 2 の中心から照明素子 3 2 の中心までの距離が、この装置のサンプリング距離  $r_1$ 、 $r_3$ 、 $r_4$ 、および  $r_5$  を規定した。それらは表 3 に記述されている。 40

【表 3】

表 3

要素	$r_1$	$r_3$	$r_4$	$r_6$
サンプリング距離 (mm)	0.44	0.92	1.21	1.84

【 0 0 7 5 】

例 2

例 1 で説明した装置をこの例で使用した。プログラムした温度変更および光学測定が、図 1 に例示したような前腕の表面上の 2 つの領域の各々で実行された。装置 1 0 の身体との 50

インターフェースモジュール 14 が、クレードル（図示せず）上に装着され、クレードルが、今度は標準的な臨床用リクライニングチェア（図示せず）の左のアーム上に装着された。被検者の前腕がクレードル上に置かれるように、被検者はチェアに腰掛けた。身体とのインターフェースモジュール 14 内に配置された光学装置のヘッドが、被検者の前腕の背面側に向かって押し当てられ、光学装置のヘッドが皮膚に接触した時間からデータが収集された。各々の領域が異なる温度プログラムにかけられている間に、データが 2 つの領域で順々に収集された。2 つの領域からのデータは、校正関係式を作成するために使用された。皮膚の一方の領域で、温度は 30 秒間、34 に維持された。その後、温度は、毎分 4 の速度で 22 に下げられた。4 分間にわたって 5 秒毎に光学読み取り値が収集された。前腕の表面上の第 2 の領域は、4.5 分間、34 に維持された。4 分間にわたって 5 秒毎に光学読み取り値が収集された。

10

【0076】

光学データは、2 つの部類、すなわち糖尿病の部類と非糖尿病の部類とに分割された。被検者の疾病状態を光学信号と関係付ける 2 × 2 表が作成された。被検者の疾病状態は、被検者が前もって糖尿病または非糖尿病のいずれかに判定された基準の方法によって判定された。4 人の糖尿病と 4 人の非糖尿病が 6 回試験されて、48 のデータポイントが作成され、それらは校正関係式を作成するために使用された。この校正関係式は、新たなグループである予測グループの一部となる被検者の糖尿病状態を予測するのに使用された。このグループは、6 人の糖尿病と 6 人の非糖尿病を有した。予測グループの各メンバーは 2 回試験された。糖尿病状態の 120 秒の予測を表 4 に示す。

20

【表 4】

表 4

光学試験結果	真の状態	
	糖尿病	非糖尿病
糖尿病	11	3
非糖尿病	1	9

【0077】

様々な温度の組み合わせで、感度、特異度、陽性予測値（PPV）、および陰性予測値（NPV）によって判定したときの糖尿病被検者と非糖尿病被検者の間の区別の質は、表 5 に示される。

30

【表 5】

表 5

時間 (秒)	温度(°C)		p	感度	特異度	陽性 予測値	陰性 予測値
	領域1	領域2					
120	34	28	0.0038	92	75	79	90
150	34	26	0.0011	92	83	85	91
180	34	24	0.0007	100	75	80	100
210	34	22	0.0011	83	92	91	85

40

【0078】

表 5 に例示した温度プログラムは、2 つの領域の温度差に応じて、85% から 100% の感度、および 75% から 92% の特異度で、糖尿病を予測するのに使用されることが可能であった。PPV は 80% よりも高く、NPV は 85% よりも高かった。

【0079】

例 3

例 2 で説明した方法がこの例で繰り返された。この例では、前腕の表面上の一方の領域が

50

、30秒間、38の温度に維持された。その後、この領域の温度は、毎分5.33の速度で22の温度に下げられた。4分間にわたって5秒毎に光学読み取り値が収集された。前腕の表面上の第2の領域、は30秒間、22の温度に維持された。その後、この領域の温度は、毎分5.33の速度で38の温度に上げられた。4分間にわたって5秒毎に光学読み取り値が収集された。

#### 【0080】

光学データは、2つの部類、すなわち糖尿病の部類と非糖尿病の部類とに分割された。被検者の疾病状態を光学信号と関係付ける2×2表が作成された。被検者の疾病状態は、被検者が前もって糖尿病または非糖尿病のいずれかに判定された基準の方法によって判定された。4人の糖尿病と4人の非糖尿病が、6回試験されて48のデータポイントが作成され、それらは校正関係式を作成するために使用された。この校正関係式は、新たなグループである予測グループの一部となる被検者の糖尿病状態を予測するのに使用された。このグループは、6人の糖尿病と6人の非糖尿病を有した。予測グループの各メンバーは2回試験された。糖尿病状態の120秒の予測を表6に示す。

10

#### 【表6】

表6

光学試験結果	真の状態	
	糖尿病 *	非糖尿病 *
糖尿病	11	1
非糖尿病	0	9

20

\* 範囲外の信号を示す被検者を棄却したので合計数は12に等しくない。

#### 【0081】

やはり、2つの領域の様々な温度の組み合わせで、感度、特異度、陽性予測値（PPV）、および陰性予測値（NPV）によって判定したときの糖尿病被検者と非糖尿病被検者の間の区別の質は表7に示される。

#### 【表7】

表7

時間 (秒)	温度(°C)		p	感度	特異度	陽性 予測値	陰性 予測値
	領域1	領域2					
120	30	30	0.0001	92	90	92	100
150	27.3	32.7	0.0016	73	100	100	77
180	24.7	35.3	0.0004	90	90	90	90
210	22	38	0.0004	82	92	100	83

30

#### 【0082】

表7の温度プログラムは、2つの領域の温度差に応じて、73%から92%の感度、および90%から100%の特異度で糖尿病を予測するのに使用されることが可能であった。PPVは90%よりも高く、NPVは77%よりも高かった。

40

#### 【0083】

##### 例4

例2で説明した方法がこの例で繰り返された。この例では、前腕の表面上の一方の領域が、30秒間、30の温度に維持された。その後、この領域の温度は、毎分2.67の速度で22の温度に下げられた。最長で4分間にわたって5秒毎に光学読み取り値が収集された。前腕の表面上の第2の領域は、30秒間、30の温度に維持された。その後、この領域の温度は、毎分2.67の速度で38の温度に上げられた。最長で4分間にわたって5秒毎に光学読み取り値が収集された。

50

## 【 0 0 8 4 】

光学データは、2つの部類、すなわち糖尿病の部類と非糖尿病の部類とに分割された。被検者の疾病状態を光学信号と関係付ける  $2 \times 2$  表が作成された。被検者の疾病状態は、被検者が前もって糖尿病または非糖尿病のいずれかに判定された基準の方法によって判定された。4人の糖尿病と4人の非糖尿病が、6回試験されて48のデータポイントが作成され、それらは校正関係式を作成するために使用された。この校正関係式は、新たなグループである予測グループの一部となる被検者の糖尿病状態を予測するのに使用された。このグループは、6人の糖尿病と6人の非糖尿病を有した。予測グループの各メンバーは2回試験された。糖尿病状態の120秒の予測を表8に示す。

【表8】

10

表8

光学試験結果	真の状態	
	糖尿病	非糖尿病
糖尿病	10	0
非糖尿病	2	12

## 【 0 0 8 5 】

2つの領域の様々な温度の組み合わせで、感度、特異度、陽性予測値（PPV）、および陰性予測値（NPV）によって判定したときの糖尿病被検者と非糖尿病被検者の間の区別の質が評価された。その結果は表9に示される。

20

【表9】

表9

時間 (秒)	温度(°C)		p	感度	特異度	陽性 予測値	陰性 予測値
	領域1	領域2					
120	26	34	0.0002	83	100	100	86
150	24.7	35.3	0.0011	92	83	85	91
180	23.3	36.7	0.0007	75	100	100	80
210	22	38	0.0002	100	83	86	100

30

## 【 0 0 8 6 】

表9の温度プログラムは、2つの領域の温度差に応じて、75%から100%の感度、および83%から100%の特異度で糖尿病を予測するのに使用されることが可能であった。PPVは85%よりも高く、NPVは80%よりも高かった。

## 【 0 0 8 7 】

例5

例1で説明したものと類似した装置を使用した。この装置は、図4に具体的に示される。図4に示した装置は、以下の変更点を除いて図2に示した装置と同様である。レンズアセンブリ34（図2参照）が、Fiber guide Industriesによって製造された4本1束のファイバ束200で置き換えられた。ファイバ束200には、参照符号202、204、206、208で示される4本のファイバが含まれた。4本のファイバ202、204、206、208の各々は、400マイクロメートルの直径を有し、前に述べた照明素子32および光収集素子46、48、50、および52と同じ材料で作製された。LED20、22、24、および26の各々からの光はL端部がフェルール（図示せず）内に束ねられた4本のファイバ202、204、206、208の各々にそれぞれ供給され、照明素子32へ導くビームスプリッタ36でレンズグループ210によって集束された。4本のファイバ46、48、50、および52からの光をそれぞれ検出するために、クォドラント検出器60（図2参照）の代わりに4個の個別のフォトダイオード

40

50

212、214、216、および218が使用された。電子装置と光学装置は、アルミニウム製のブリーフケースに詰められ、ファイバ束44は、身体とのインターフェースモジュール14へと向けられた。図4に示した装置では、図2の参照符号と一致する参照符号は、同じ参照符号を使用する図2の部品と一致する図2の部品と同じかまたは実質的に同じ部品を表わす。身体とのインターフェースモジュール14は、テーブル（図示せず）上に設置した。被検者は、身体とのインターフェースモジュール14の前のチェアに腰掛け、被検者の腕は、テーブル上に設置されたクレードル（図示せず）の上に置かれた。被検者の前腕がクレードルの上に静止するように、被検者はチェアに腰掛けた。身体とのインターフェースモジュール14内に配置された光学装置のヘッドが、被検者の前腕の背面に向かって押し当てられ、光学装置のヘッドが皮膚に接触した時間からデータが収集された。温度プログラムは、例4で使用したものと同一であった（第1の領域で30 から22へ、および第2の領域で30 から38 へ）。2つの領域で順々に、データが3分間にわたって収集された。

10

#### 【0088】

試験は地方病院で実行され、病院の院内審議会で認可されたプロトコルが使用された。被検者は、試験の前夜に病院に入ることを許可され、2日間閉じ込められた。各々の日に、10回の非侵襲性試験、および非侵襲性測定と同時に行われる10回のフィンガースティック測定が実施された。被検者は標準食を与えられ、医師によって定められた糖尿病の投薬療法を使用した。2つの領域から得られたデータは、校正関係式を作成するのに使用された。1つ抜き出しの相互検証法を使用して、予測の標準誤差および係数の相関を評価した。

20

#### 【0089】

式(5)と(6)によって各々の被検者に関して、光学測定値の微分を使用する直線回帰の関係式を導き出すことができる。この例では、使用した測定値は、光学ヘッドが皮膚の一領域に最初に接触して30秒後と180秒後にとられた。

#### 【0090】

データの概要は表10に示されている。この表で、1つ抜き出しの相互検証法を使用して、2乗平均平方根で算出された予測誤差である予測の標準誤差は、「SEP」である。1つ抜き出しの相互検証法は、本明細書に参照によって組み込まれる、Wuらの「Noninvasive Determination of Hemoglobin and Hematocrit Using a Temperature-Controlled Localized Reflectance Tissue Photometer」、Analytical Biochemistry、2000年、第287巻、284～293頁に述べられている。相互検証予測の相関係数は「r」であり、2日間にわたって非侵襲で判定された20個のグルコース値の標準偏差は「SDP」である。性能指数は、(SEP/SDP)の値に対する相関係数「r」の比として定義される。性能指数が高いほど相関が良い。

30

#### 【0091】

(SEP/SDP)の値は、校正セットの血中グルコースレベルのある標準偏差に関する予測された血中グルコースレベルの指標である。成功した相互検証は、(SEP/SDP)比が1.0よりも小さいことを必要とする。この例では、血中グルコースレベルの成功した相互検証に関するカットオフ値は、0.9の(SEP/SDP)比に設定された。SEP、r、およびSEP/SDPの値は、表10にまとめられている。下線付きのSEP/SDPは、血中グルコースレベルの成功予測を表わす。

40

#### 【表10】

表10

被検者	標準誤差 (mg/dL)	相関係数r	標準偏差 (mg/dL)	標準誤差／ 標準偏差	性能指数
1	78.0	0.63	99.2	0.79	0.80
2	57.3	0.53	66.6	0.86	0.62
3	44.5	0.66	59.6	0.75	0.88
4	52.6	0.25	53.6	0.98	0.25
5	39.7	0.62	50.6	0.78	0.79
6	50.6	0.65	66.1	0.77	0.85
7	41.7	0.74	63.0	0.66	1.12
8	31.0	0.71	44.3	0.70	1.01
9	38.5	0.80	64.4	0.60	1.33
10	51.7	0.38	54.3	0.95	0.40
11	38.8	0.49	44.0	0.88	0.55
12	40.5	0.83	74.2	0.55	1.52
13	63.7	0.52	71.5	0.89	0.59
14	109	0.40	117	0.93	0.43
15	42.0	0.50	48.6	0.86	0.58
16	62.9	0.51	72.5	0.87	0.59
17	76.5	0.62	96.2	0.80	0.78
18	46.1	0.45	50.9	0.91	0.50
19	47.0	0.52	53.6	0.88	0.59
20	45.7	0.45	50.3	0.91	0.49

10

20

30

40

50

## 【0092】

「r」の値は、性能指数を算出することによって成功率の判定に含まれることが可能であり、性能指数は、 $r / (SEP / SDP)$  に等しい。成功予測は、0.70の性能指数のカットオフ値に任意に固定される。この性能指数のカットオフ値は、 $(SEP / SDP)$  が0.90に等しく、かつrが0.63に等しいときの限界と同等である。下線付きの性能指数値は、調査した20件の糖尿病被検者の血中グルコースレベルのさらに厳密な予測を表わす。このさらに厳密な予測の性能指数のカットオフ値を使用したとき、20例の被検者のうちの9例が、血中グルコースレベルの成功予測を示した。こうして、この例で述べた単一の光学ヘッドと温度プログラムを使用した順次の方法は、血中グルコースレベルの成功予測につながった。

## 【0093】

## 例6

図3に記載した装置がこの例で使用された。プログラムされた温度変更と光学測定は、図1に例示したように前腕の表面上の2つの領域の各々で実行された。身体とのインターフェースモジュール14は、テーブル（図示せず）の上に設置された。被検者は、身体とのインターフェースモジュールの前に腰掛け、被検者の腕は、テーブル上に設置されたクレードル（図示せず）の上に置かれた。光学装置の2つのヘッドが、被検者の他方の手によって引き込まれた。その後、光学装置の2つのヘッドが、皮膚に接触した状態に置かれ、ヘッドが皮膚に接触したときからデータが収集された。2つの領域で同時にデータが収集された。各々の領域は、別々の温度プログラムにかけられた。2つの領域から得られたデータは、校正関係式を導き出すために使用された。第1の領域（肘に最も近い領域）の温度プログラムは、30で開始され、その温度に30秒間保たれた。その後、温度は、毎分2.67の速度で22に下げられた。第2の領域（肘から最も遠い領域）の温度プ



プログラムは、30 で開始され、その温度に30秒間保たれた。その後、温度は、毎分2.67 の速度で38 に上げられた。データ(4つの波長および4つの距離での反射率)は、210秒にわたって収集された。2つの領域における各反射率の自然対数が判定された。 $\ln R(i, r_j, t)$ の値が、フィンガースティック法によって判定された毛細管の血中グルコースレベル値に当てはめられて、各被検者に関する校正関係式を生じた。線形適合に使用される値は、2つの光学ヘッドが皮膚の2つの領域に接触して30秒後と210秒後に測定された。各被検者について4項線形モデルが算出された。データの概要は、表11に示されている。この例で試験された20例の被検者のうちの19例は、表10にデータが示されている20例の被検者と異なっていた。表11の被検者番号40は、表10の被検者番号1と同じである。表11で、1つ抜き出しの相互検証法を使用して、2乗平均平方根で算出された予測誤差である予測の標準誤差は、「SEP」である。1つ抜き出しの相互検証法は、本明細書に参照によって組み込まれる、Wuらの「Noninvasive Determination of Hemoglobin and Hematocrit Using a Temperature-Controlled Localized Reflectance Tissue Photometer」、Analytical Biochemistry、2000年、第287巻、284~293頁に述べられている。相互検証予測の相関係数は「r」であり、2日間にわたって非侵襲で判定された20個のグルコース値の標準偏差は「SDP」である。例5で定義したように、性能指数は、 $r / (SEP / SDP)$  に等しい。

10

20

30

40

50

【表11】

表11

被検者	標準誤差 (mg/dL)	相関係数r	標準偏差 (mg/dL)	標準誤差/ 標準偏差	性能指数
21	54.4	0.60	67.9	<u>0.80</u>	<u>0.75</u>
22	76.50	0.55	92.1	<u>0.83</u>	<u>0.67</u>
23	60.4	0.66	80.6	<u>0.75</u>	<u>0.89</u>
24	52.0	0.75	78.3	<u>0.66</u>	<u>1.13</u>
25	21.6	0.72	31.8	<u>0.68</u>	<u>1.06</u>
26	76.50	0.76	118.7	<u>0.64</u>	<u>1.17</u>
27	59.1	0.58	72.1	<u>0.82</u>	<u>0.71</u>
28	36.6	0.65	47.3	<u>0.77</u>	<u>0.84</u>
29	60.1	0.66	78.9	<u>0.76</u>	<u>0.86</u>
30	70.3	0.68	96.4	<u>0.73</u>	<u>0.93</u>
31	64.8	0.53	75.3	<u>0.86</u>	0.61
32	40.3	0.55	47.8	<u>0.84</u>	0.65
33	43.3	0.38	46.4	0.93	0.41
34	26.7	0.80	44.5	<u>0.60</u>	<u>1.33</u>
35	29.9	0.58	35.9	<u>0.83</u>	0.70
36	21.9	0.47	24.2	0.91	0.52
37	42.3	0.69	57.9	<u>0.73</u>	<u>0.94</u>
38	62.0	0.63	78.6	<u>0.79</u>	<u>0.80</u>
39	52.4	0.72	76.4	<u>0.69</u>	<u>1.06</u>
40	56.7	0.48	61.7	0.92	0.52

【0094】

非侵襲性測定の成功率の判定に関して、例5で使用したものと同一判定基準を使用することが可能である。0.9の( $SEP / SDP$ )比を使用することで、20例の被検者から

17例の血中グルコースレベルの成功予測を生じた。成功予測は、下線で表わされている。さらに厳密な性能指数のカットオフ値、すなわち性能指数のカットオフ値0.7を使用することで、20例の被検者から13例の血中グルコースレベルの成功予測が達成された。

【0095】

当業者にとって、本発明の範囲と精神から逸脱することなく、本発明の様々な修正および変形は明白であり、本発明が、本明細書に述べた具体的説明のための実施形態に不当に限定されるものでないことは理解されるべきである。

【図面の簡単な説明】

【0096】

【図1】ヒトの前腕上で測定領域を例示する図である。

【図2】本発明で使用するのに適した装置を例示する概略図である。この装置は、1つの光学ヘッドを使用し、順次の測定に適している。身体部分に接触する装置部分が断面で示されている。

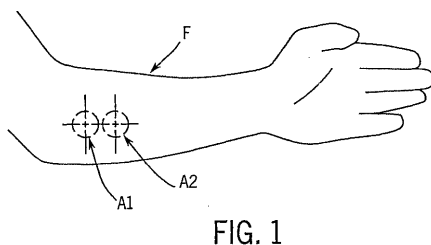
【図3】本発明で使用するのに適した装置を例示する概略図である。この装置は、2つの光学ヘッドを使用し、同時の測定に適している。身体部分に接触する装置部分が、断面で示されている。

【図4】本発明で使用するのに適した装置を例示する概略図である。この装置は、1つの光学ヘッドを使用し、順次の測定に適している。身体部分に接触する装置部分が、断面で示されている。図4の装置は図2に示した装置の変形例である。

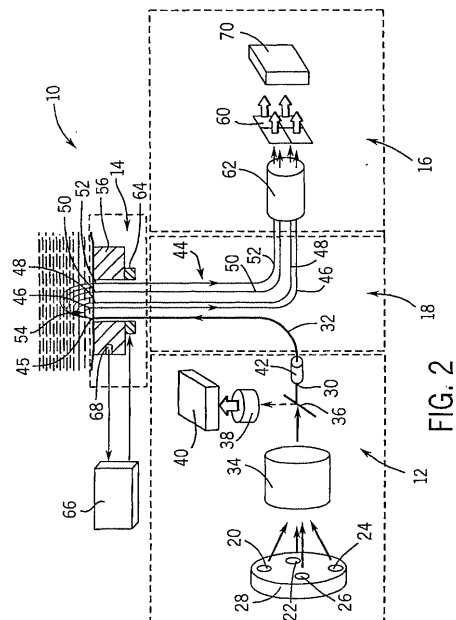
10

20

【図1】



【図2】



【図 3】

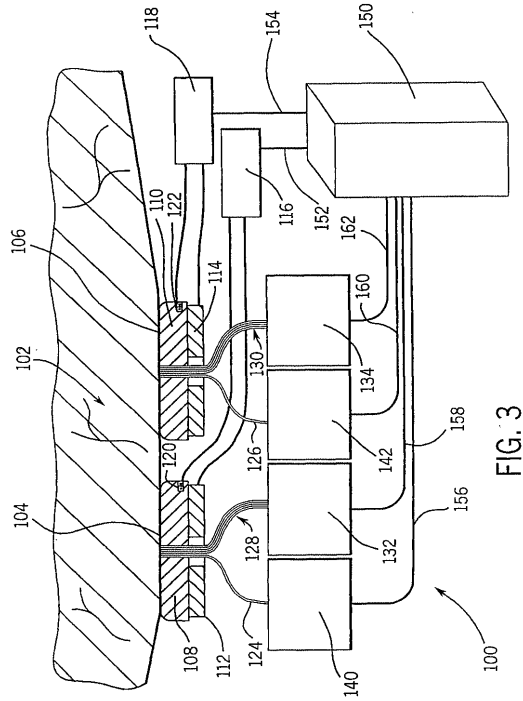


FIG. 3

【図 4】

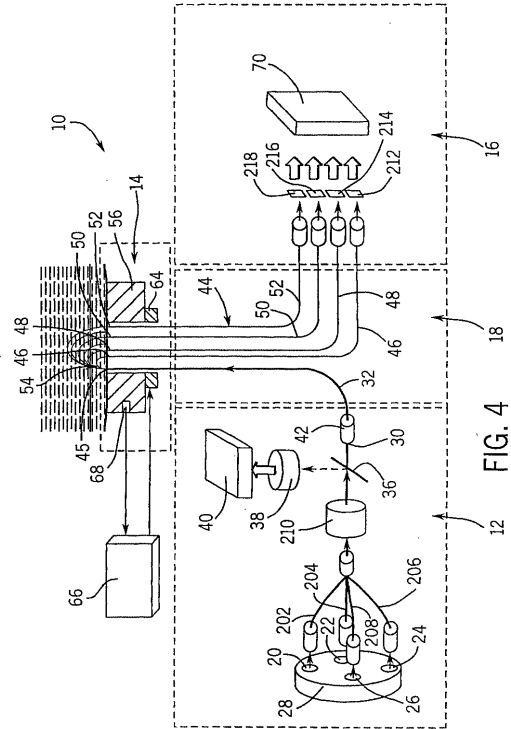


FIG. 4

## 【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

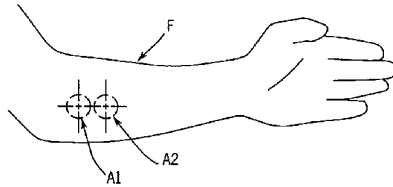
(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
24 October 2002 (24.10.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 02/082989 A1

- (51) International Patent Classification: **A61B 5/00** Charles, F.; 410 W Lincoln, Libertyville, IL 60048 (US).  
SHAIN, Eric, B.; 459 Grove Street, Glencoe, IL 60022 (US).
- (21) International Application Number: PCT/US02/06831
- (22) International Filing Date: 7 March 2002 (07.03.2002) (74) Agents: WEINSTEIN, David, L. et al.; D-377 AP6D, 100  
Abbott Park Road, Abbott Park, IL 60064-6050 (US).
- (25) Filing Language: English (81) Designated States (national): CA, JP.
- (26) Publication Language: English (84) Designated States (regional): European patent (AT, BE,  
CH, CY, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE, TR).
- (30) Priority Data: 09/834,440 13 April 2001 (13.04.2001) US  
Published:  
— with international search report  
before the expiration of the time limit for amending the  
claims and to be republished in the event of receipt of  
amendments
- (71) Applicant: ABBOTT LABORATORIES [US/US];  
D-377 AP6D, 100 Abbott Park Road, Abbott Park, IL  
60064-6050 (US).

- (72) Inventors: KHALIL, Omar, S.; 1506 Portwine Ct, Lib-  
ertyville, IL 60048 (US). YEH, Shu-Jen; 920 Strafford  
Ct, Grayslake, IL 60030 (US). KANTOR, Stanislaw; 485  
Satinwood Terr, Buffalo Grove, IL 60089 (US). HANNA,  
For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-  
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-  
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: METHOD FOR OPTICAL MEASUREMENTS OF TISSUE TO DETERMINE DISEASE STATE OR CONCENTRA-  
TION OF AN ANALYTE

WO 02/082989 A1

(57) Abstract: A method for collecting optical data at two morphologically similar, substantially non-overlapping, and preferably adjacent, areas on the surface of a tissue, while the temperature in each area is being maintained or modulated according to a temperature program. The optical data obtained are inserted into a mathematical relationship, e.g., an algorithm, that can be used to predict a disease state (such as the diabetes mellitus disease state) or the concentration of an analyte for indicating a physical condition (such as blood glucose level). This invention can be used to differentiate between disease status, such as, for example, diabetic and non-diabetic. The method involves the generation of a calibration (or training) set that utilizes the relationship between optical signals emanating from the skin under different thermal stimuli and disease status, e.g., diabetic status, established clinically. This calibration set can be used to predict the disease state of other subjects. Structural changes, as well as circulatory changes, due to a disease state are determined at two morphologically similar, but substantially non-overlapping areas on the surface of human tissue, e.g., the skin of a forearm, with each area being subjected to different temperature modulation programs. In addition to determination of a disease state, this invention can also be used to determine the concentration of an analyte in the tissues. This invention also provides an apparatus for the determination of a disease state, such as diabetes, or concentration of an analyte, such as blood glucose level, by the method of this invention.

## BACKGROUND OF THE INVENTION

This invention relates to an apparatus and method for the non-invasive diagnosis  
10 of a disease state or the non-invasive determination of concentrations of analytes *in vivo*.

Diabetes mellitus is a chronic systemic disease in which the body either fails to produce or fails to respond to the hormone insulin, which regulates the metabolism of glucose. It is estimated that there are 16 million diabetics in the United States and 100 million diabetics worldwide. The growth rate in the number of diabetics is estimated at 11.5% annually. The number of diabetics is estimated to be as high as 154 million worldwide by the year 2000 (H. King, R. E. Aubert, and W. H. Herman, "Global burden of diabetes, 1995 – 2025 prevalence, numerical estimates and projections" Diabetes Care 1998;21:1414), and to exceed 200 million worldwide by the year 2010. A large number of diabetics remain undiagnosed. A method for screening for diabetes would be beneficial for early diagnosis and for starting treatment and management well before the onset of complications.

Diabetes is frequently associated with microangiopathy. Microangiopathy results from the effect of diabetes on microcirculation, which involves the small blood vessels such as capillaries, venules, arterioles, and shunts. Microangiopathy can lead to microvessel complications such as neuropathy (nerve damage), retinopathy (eye damage), and nephropathy (kidney failure). The expression "diabetic angiopathy" deals with effect of diabetes on the arterial as well as the other elements of the vascular system such as venules, veins, and lymph subsystem. The relationship between diabetes and impaired circulation has been known in the medical art for the past two decades. Laser Doppler flowmetry has been used to diagnose peripheral vascular disease and vascular complications in diabetic patients. Impaired circulation is manifested by a decrease in

WO 02/082989

PCT/US02/06831

cutaneous blood flow and a decrease in response to temperature changes, i.e., cooling or warming of the skin.

There is growing evidence that microcirculatory defects can be detected well before detection of fasting hyperglycemia, i.e. high blood glucose level for a fasting subject (N. Wiernsperger, *Diabetologia* 2000; 43: 1439-1449). Laser Doppler flowmetry and capillary microscopy studies have indicated microcirculation disturbances due to diabetes and have shown differences in cutaneous blood flow between diabetics and non-diabetics (S. B. Wilson, "Detection of microvascular impairment in type 1 diabetes by laser Doppler flowmetry, *Clinical Physiology*, 1992; 12: 195). In diabetic subjects, heating of a body part, or contralateral cooling of a body part, resulted in impaired blood flow, as measured by laser Doppler flowmetry (M. Rendell et al, "Microvascular blood flow, volume and velocity measurements by laser Doppler techniques in IDDM" *Diabetes*; 1989: 819-824). However, these studies of capillary blood flow and laser Doppler flowmetry were reported for advanced stages of diabetes (M Rendell et al, "Diabetic cutaneous microangiopathy" *American Journal of Medicine* 1992; 93: 611). Additionally, X-ray crystallographic studies showed differences in structure of tissues of diabetic subjects, due to cross-linking of collagen fibers resulting from glycation (V. J. James et al., "Use of X-ray Diffraction in Study of Human Diabetic and Aging Collagen", *Diabetes*, Vol. 40 (1991) 391-394).

Diabetes and certain other diseases cause structural changes to the skin that can affect the optical properties thereof, the response of these optical properties to changes in concentration of glucose or other analytes, and the response of these optical properties to cutaneous temperature changes. R. G. Sibbald et al., "Skin and Diabetes", *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, Vol. 25, No. 2 (1996) 463-472, summarize a set of structural effects of the skin that are associated with diabetes. Included among these effects is thickened skin, which may relate pathophysiologically to accelerated collagen aging, with elastic fiber fraying and increased crosslinking, resulting from glycosylation of collagen fibers. Another effect of diabetes is "yellow skin", which also results from glycosylation of dermal collagen. Change in dermal collagen structure in diabetic patients has been also reported by V. M. Monnier et al., "Skin Collagen Glycation, Glycoxidation, and Crosslinking Are Lower in Subjects With Long-Term Intensive Versus Conventional Therapy of Type 1 Diabetes", *Diabetes*, Vol. 48 (1999) 870-880. Further, V. J. James et al., "Use of X-ray Diffraction in Study of Human Diabetic and Aging Collagen", *Diabetes*, Vol. 40 (1991) 391-394, shows that collagen skin fiber undergoes a structural change as a result of diabetes. The net effect of these

WO 02/082989

PCT/US02/06831

findings is that there are structural differences, i.e., size, level of crosslinking, and distribution of collagen fibers, in the skin of diabetic subjects as compared with the skin of non-diabetic subjects. These differences result in a difference in the scattering characteristics of the skin of diabetic subjects.

5 In order to understand the effect of the structural differences between the skin of diabetics and that of non-diabetics on the measured optical signals, it is useful to examine the scattering of light in human tissue.

The scattering of light by human tissue can be approximated by an equation that expresses the reduced scattering coefficient  $\mu'_s$  for a tissue or a turbid medium as:

$$10 \quad \mu'_s = 3.28\pi a^2 \rho (2\pi a n_{\text{medium}}/\lambda)^{0.37} (m-1)^{2.09} \quad (1)$$

where "a" represents the average cell diameter,  $\rho$  represents the number concentration of cells, " $n_{\text{medium}}$ " represents the refractive index of interstitial fluid,  $\lambda$  represents the wavelength, and m represents the ratio of the refractive index of the cells to that of the interstitial fluid ( $m = n_{\text{cells}}/n_{\text{medium}}$ ). The scattering coefficient changes as cell size "a" or refractive index " $n_{\text{medium}}$ " change. Temperature can affect the scattering coefficient by a change in cell diameter "a", a change in the number concentration of cells  $\rho$ , or a change in the refractive index mismatch "m". Because the diabetic status is independent of glucose concentration, i.e., a diabetic patient can have high or low blood glucose level, it is possible to assume that the diabetic status is independent of "m". However, differences in crosslinking of collagen for diabetics may lead to a different range for the dimensional parameter "a" between the diabetic and the non-diabetic groups. Differences in the variable "a" will lead to a difference in the scattering characteristics of the skin of diabetic subjects, because the scattering characteristics affect the term "a" in Equation (1). Thus, the response of the scattering coefficient to changes in glucose concentration, or other concentrations of analytes, and the response of the scattering coefficient to cutaneous temperature changes are expected to be different for diabetic subjects as compared to those responses of the same parameters determined for non-diabetic subjects.

Scattering properties of tissue can vary with temperature as a result of one or more of the following changes:

- (a) an increase in temperature can decrease the refractive index of interstitial fluid and increase the scattering coefficient of tissue;

WO 02/082989

PCT/US02/06831

(b) an increase in temperature can change the refractive index of cell membranes;

(c) an increase in temperature can increase cell size, and hence, can increase the scattering coefficient.

5 In the case of (a) or (b), an increase in the refractive index mismatch "m" in Equation (1), which increases as the temperature increases, can also increase the scattering coefficient.

10 Methods of diagnosing diabetes typically require a large number of laboratory tests, such as, for example, successive blood glucose level measurements while the patient is in a fasting state, determination of serum glycosylated hemoglobin HbA<sub>1c</sub>, and oral glucose tolerance (or meal tolerance) tests. These tests are usually performed after clinical symptoms of diabetes are observed. These symptoms include thirst, fatigue, and frequent urination (Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care 1997; 20:117-135). The use of a glycosylated  
15 hemoglobin test has been equivocal in diagnosing diabetes, even though it is time-consuming and requires drawing of blood. See C. L. Rohlfing et al., "Use of HbA<sub>1c</sub> in screening for undiagnosed diabetes in US population", Diabetes Care 2000; 23: 187-191.

20 A non-invasive test for screening diabetics will save a great number of laboratory tests and will allow screening larger populations, even if clinical symptoms of diabetes are not evident. A non-invasive test will also allow early diagnosis and subsequent control of diabetes, which in turn will delay the onset of complications from diabetes. If uncontrolled, diabetes can result in a variety of adverse clinical manifestations, including retinopathy, atherosclerosis, microangiopathy, nephropathy, and neuropathy. In its  
25 advanced stages, diabetes can cause blindness, coma, and ultimately death.

Non-invasive determination of glucose has been the subject of several patents. U. S. Patent Nos. 5, 082,787; 5,068,536; 5,077,476; 5,086,229; 5,204,532; 5,237,178; 5,362,966 describe transmission measurements through the finger. U. S. Patent Nos. 5,321,265; and, US 5,434,412 describe Kromoscopic methods for the determination of  
30 glucose. U. S. Patent Nos. 5,492,118 and 5,551,422 describe measurements based on light scattering. United States Patent Nos. 4,655,225; 4,882,492; 5,460,177; 4,975,581 describe methods for the detection of glucose with light of long wavelength (> 1100 nm) where glucose does, presumably, have stronger absorption bands. United States Patent Nos. 5,009,230; 4,975,581; 5,379,764; 4,655,225; 5,893,364; 5,497,769; 5,209,231; and



WO 02/082989

PCT/US02/06831

5,348,003 describe a variety of optical methods for the non-invasive determination of blood glucose level in the human body.

U. S. Patent No. 5,362,966 describes measurement of finger temperature away from the optical measurement area. WO 95/04924 describes a near infrared non-invasive measurement instrument, where light is introduced and measured at an extremity, such as a finger tip, while the temperature of the same extremity is measured at another location remote from the location of the optical measurement area. The temperature value measured is used in the calculation algorithm together with the optical data to determine the concentration of an analyte. The temperature at the measurement site is not controlled or varied according to a preset program. U. S. Patent No. 5,551,422 describes a glucose sensor that is brought to a specified temperature, preferably somewhat above the body normal temperature, with a thermostatically controlled heating system. U. S. Patent No. 5,666,956 describes a method for the determination of glucose from the infrared emission of the tympanic membrane. U. S. Patent No. 5,978,691 describes a method of measuring changes in molecular behavior, induced by a change in thermal energy, to facilitate the measurement of physiological parameters in blood.

U. S. Patent No. 5,844,239 describes a fiber-optics-based optical device for determination of the optical properties at a shallow depth in a tissue. The sensor comprises several unit fiber bundles. Each unit fiber bundle has a light introduction fiber and several light collection fibers arranged in concentric rings. Signals from each group of fibers at the same distance are detected to enhance the signal to noise ratio. Further, signals from the plurality of unit bundles are added up, or averaged, to further improve the signal to noise ratio. The temperature is not controlled at the positions where the unit bundles contact the skin. The temperature is not varied according to a preset program.

U. S. Application Serial No. 09/080,470, filed May 18, 1998, assigned to the assignee of this application, describes a sensor employing a temperature control for non-invasive determination of blood glucose level. U. S. Application Serial No. 09/098,049, filed November 23, 1998, assigned to the assignee of this application, describes methods for determining optical properties of tissue having a plurality of layers non-invasively. Both applications disclose the use of a temperature controllable optical element that contacts the skin.

Cutaneous microcirculation occurs at depths of 1 to 2 mm below the epidermal surface of the skin (I. M. Braverman, "The Cutaneous Microcirculation: Ultrastructure and

WO 02/082989

PCT/US02/06831

Microanatomical Organization", Microcirculation (1997) Vol. 4, No. 3, 329-340). Thus, measurement of optical properties of skin close to the surface thereof can provide useful information on the effect of blood circulation on the concentration of metabolites in tissues that are close to the surface of the skin. Also, studies of blood circulation close to the surface of the skin by means of laser Doppler flowmetry (referred to as LDF herein) have shown that laser Doppler flowmetry is a good tool for diagnosing peripheral circulatory disease. Laser Doppler flowmetry (LDF) measurements are restricted to the top-most layer of the skin ( $\approx 200$  microns) because the beam loses its coherence due to scattering. Temperature dependence of laser Doppler flowmetry studies does not incorporate structural changes in the skin due to diabetes. Thus, a deficiency in the LDF prior art is the lack of inclusion of temperature dependence of scattering in the classification and diagnosis of diabetes complications.

Although a variety of detection techniques have been disclosed in the art, there is still no commercially available device that provides reliable non-invasive measurements of blood glucose level. As a result, current approaches to non-invasive metabolite testing, such as glucose monitoring, have not achieved wide acceptance.

#### **SUMMARY OF THE INVENTION**

This invention provides a method for collecting optical data at two morphologically similar, substantially non-overlapping, and preferably adjacent, areas on the surface of a human tissue, while the temperature in each area is being maintained or modulated according to a temperature program. The optical data obtained are inserted into a mathematical relationship, e.g., an algorithm, that can be used to predict a disease state (such as the diabetes mellitus disease state) or the concentration of an analyte for indicating a physical condition (such as blood glucose level).

This invention can be used to differentiate between disease status, such as, for example, diabetic and non-diabetic. The discovery underlying the method of this invention is that certain optical properties of human tissue change in response to changes in temperature of the tissue. The method involves the generation of a calibration (or training) set that utilizes the relationship between optical signals emanating from the skin under different thermal stimuli and disease status, e.g., diabetic status, established clinically. This calibration set can be used to predict the disease state of other subjects. Because thermal stimuli affect microcirculatory action within the

WO 02/082989

PCT/US02/06831

capillary loops, the method depends upon measuring the optical properties of the tissue at different areas on the surface of the tissue, to a depth of up to two millimeters, as a function of thermal stimuli. Structural changes, as well as circulatory changes, due to a disease state are determined at two morphologically similar, but substantially non-overlapping areas on the surface of human tissue, e.g., the skin of a forearm, with each area being subjected to different temperature modulation programs. In addition to determination of a disease state, this invention can also be used to determine the concentration of an analyte in a human tissue. This invention also provides an apparatus for the determination of a disease state, such as diabetes, or concentration of an analyte in a human tissue, such as blood glucose level, by the method of this invention.

In one aspect, this invention provides a method for determining a disease state of a subject. The method comprises the steps of:

- (a) measuring at least one optical property at a first area on a human tissue to obtain a first set of data, the first area being subjected to a first temperature program;
- (b) measuring at least one optical property at a second area on the human tissue to obtain a second set of data, the second area being subjected to a second temperature program, the second temperature program being different from the first temperature program, the second area being morphologically similar to but not substantially overlapping with the first area;
- (c) inserting the first set of data and the second set of data into a mathematical relationship to calculate a mathematical output; and
- (d) comparing the mathematical output to a category selector to determine the disease state of the human.

The mathematical relationship is typically established by correlating the parameter with the disease state, which is determined by invasive methods. As used herein, the expression "disease state" means the status of a subject having an abnormal cardiovascular condition, a neoplastic condition, or other disease that affects the tissues. A representative example of a disease state is diabetes. The thus-established mathematical relationship can be used to determine the disease state of a subject.

In another aspect, this invention provides a method for determining the concentration of an analyte in a tissue of a subject. The method comprises the steps of:

WO 02/082989

PCT/US02/06831

- (a) measuring at least one optical property at a first area on the tissue to obtain a first set of data, the first area being subjected to a first temperature program;
- (b) measuring at least one optical property at a second area on the tissue to obtain a second set of data, the second area being subjected to a second temperature program, the second temperature program being different from the first temperature program, the second area being morphologically similar to but not substantially overlapping with the first area; and
- (c) inserting the first set of data and the second set of data into a mathematical relationship to calculate the concentration of the analyte.

The mathematical relationship is typically established by correlating the parameter with the concentration of the analyte, which is determined by invasive methods. The thus-established mathematical relationship can be used to determine the concentration of the analyte in the tissue of a subject.

In another aspect, this invention provides an apparatus for carrying out the method of this invention. The apparatus comprises:

- (a) means for illuminating at least two areas of tissue with light;
- (b) means for collecting light re-emitted from the at least two areas of tissue;
- (c) means for measuring the intensity of the re-emitted light collected at the two areas of tissue; and
- (d) means for controlling the temperature of the at least two areas of the tissue simultaneously by means of temperature programs.

One embodiment of this invention involves a method for non-invasive diagnosis of a disease state, such as, for example, diabetes, or the concentration of an analyte, such as, for example, blood glucose level.

The measurements at the first area and at the second area can be made simultaneously. Alternatively, the measurements at the first area and at the second area can be made sequentially.

#### **BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS**

FIG. 1 illustrates measurement areas on a human forearm.

WO 02/082989

PCT/US02/06831

FIG. 2 is a schematic diagram illustrating a device suitable for use in this invention. The device employs one optical head and is suitable for sequential measurements. The portion of the device that contacts a body part is shown as a cross-section.

5 FIG. 3 is a schematic diagram illustrating a device suitable for use in this invention. The device employs two optical heads and is suitable for simultaneous measurements. The portion of the device that contacts a body part is shown as a cross-section.

10 FIG. 4 is a schematic diagram illustrating a device suitable for use in this invention. The device employs one optical head and is suitable for sequential measurements. The portion of the device that contacts a body part is shown as a cross-section. The device of FIG. 4 is a variation of the device shown in FIG. 2.

#### 15 DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

As used herein, the expression "optical properties" refers to the absorption, scattering, emission, reflectance, and depolarization properties of biological tissues. The expression "optical parameter" refers to a parameter that describes and defines an optical property of a medium and its components. Examples of optical parameters include, but are not limited to, absorption coefficient, scattering coefficient, and extinction coefficient of analytes. The expression "scattering media" refers to media that both scatter light and absorb light. The expression "absorption coefficient" (i.e.  $\mu_a$ ) refers to the probability of light absorption per unit path length, which is equal to  $2.303 \epsilon C$  in  $\text{cm}^{-1}$ , where,  $\epsilon$  is molar extinction coefficient and  $C$  is the molar concentration. The expression "reduced scattering coefficient" (i.e.  $\mu_s'$ ) refers to the probability of equivalently isotropic (uniform in all directions) scattering per unit path length, which is equal to  $\sigma \rho$  in  $\text{cm}^{-1}$ , where,  $\sigma$  is scattering cross section and  $\rho$  is the number density of scattering centers. The expression "light penetration depth" (i.e.  $\delta$ ) refers to the rate of decay of intensity of light in scattering media with respect to the path traveled by the light in the same direction as the incident light. Light penetration depth represents the depth at which light intensity in the tissue is attenuated to  $1/e$  of its original value and is related to the absorption and scattering coefficients as  $\delta = 1/\sqrt{3 \mu_a(\mu_a + \mu_s')}$ .

WO 02/082989

PCT/US02/06831

The expression "diffuse reflectance" (reflectance therein unless specified otherwise) refers to measurement of light that is re-emitted from a sample at all angles different from the direction of the incident light, and over an area wider than the area where the incident light is introduced into the sample. The expressions "spatially resolved scattering" or "spatially resolved diffuse reflectance" and "localized reflection" refer to a measurement of light that is re-emitted from a sample and collected at several light collection sites at specific distances from a light introduction site. Alternatively, these expressions can refer to the light collected at a given light collection site on the sample boundary as a result of introducing light at discrete light introduction sites located on the same boundary at a set of defined distances from the light collection site. In both instances,  $\mu_a$  and  $\mu'_a$  are calculated from the intensity distribution of the re-emitted light with respect to distances, i.e., the re-emitted light intensity at a multiplicity of sampling distances. The expressions "re-emitted light" and "reflected light" are used synonymously herein, as are the expressions "reflectance" and the "intensity of re-emitted light", unless otherwise indicated.

The expression "light introduction site" means a location on the surface of a sample, e.g., a body part, tissue, or the like, at which light is injected or introduced into the sample, by means of, for example, an optical fiber. The source of the light can be located at the light introduction site or can be located remote from the light introduction site. If the source of light is located remote from the light introduction site, the light must be transmitted to the light introduction site by light transmitting means, such as, for example, optical fibers. The expression "light collection site" means a location on the surface of a sample, e.g., a body part, tissue, or the like, at which light that is re-emitted from the sample is collected for measurement. The detector, which determines the intensity of the re-emitted light, can be located at the light collection site or can be located remote from the light collection site. If the detector is located remote from the light collection site, the light must be transmitted to the detector by light transmitting means, such as, for example, optical fibers. The distance between a light introduction site and a light collection site, as measured along the surface of a sample, is defined as the "sampling distance". For a given sample, the sampling distance determines the mean distance from the surface of the sample into the interior of the sample at which the scattering and absorption events contribute to the measured re-emitted light. Such mean distance is hereinafter referred to as the "sampling depth", which is a function of the sampling distance. In this invention an "area on the surface of the tissue" may have

WO 02/082989

PCT/US02/06831

multiple light introduction sites, multiple light collection sites, at least one sampling distance and at least one sampling depth and its optical properties are affected an independently-run temperature program. The expression "temperature program" refers to a sequence of temperature levels as a function of time. Examples of temperature programs include, but are not limited to, (1) maintaining a constant temperature over a period of time; (2) decreasing temperature over a period of time; (3) increasing temperature over a period of time; and (4) combinations of (1), (2), and (3). The expression "not substantially overlapping" means that the areas subjected to temperature programs can overlap slightly so long as the temperature programs to which the areas are subjected are distinguishable. However, it is preferred that the areas that are subjected to the temperature programs not overlap.

The expression "blood flow" means the velocity of red blood cells in blood vessels. Blood flow is usually measured by laser Doppler flowmetry. The term "vasodilatation" refers to the increase in diameter of a blood or lymph vessel by the action of a nerve. A chemical agent such as insulin or increasing tissue temperature can induce vasodilatation. The term "microcirculation" refers to the movement of blood in capillaries, arterioles, and venules as a result of constriction and relaxation of vessel walls. The term "artery" means a blood vessel that conducts blood from the heart to tissues and organs. Arteries are lined up with smooth flat cells (endothelium) and are surrounded by thick muscular elastic walls containing fibrous tissue. Arteries branch repeatedly until their diameter is less than 300 microns; these small-branched arteries are called "arterioles." Walls of arterioles are formed from smooth muscle. The function of arterioles is to control blood supply to the capillaries. The term "capillary" refers to a minute hair-like tube (5-20 microns in diameter) having a wall consisting of a single layer of flattened cells (endothelium). Capillary walls are permeable to water, oxygen, glucose, amino acids, carbon dioxide and inorganic ions. The capillaries form a network in all tissues. They are supplied by oxygenated blood by the arterioles and pass deoxygenated blood to the venules.

A "vein" is a blood vessel that conducts blood from the tissues and organs back to the heart; the vein is lined with smooth flat cells (endothelium) and is surrounded by muscular and fibrous tissue. Walls of veins are thin and the diameter of veins is large compared with the diameter of arteries. The vein contains valves that allow unidirectional flow of blood to the heart. A "venule" is a small vein that collects blood from capillaries and joins other venules to form a vein. A venule has more connective tissue than a capillary, but has similar small molecules permeability as a capillary.

WO 02/082989

PCT/US02/06831

Arterioles and venules are connected through the capillary loop or through shunts. The term "shunt" refers to a passage or a connection (anastomosis) between two blood vessels. An arteriovenous shunt is a passage of blood from an artery (or arteriole) to a vein (or venule) that does not go through the capillary loop. The term "plexus" refers to a braid of blood vessels. In the skin, the "upper plexus" or the "superficial plexus" refers to the braid of arterioles and venules found at the top layer of the dermis. The "lower plexus" or deep plexus" refers to the braid of arterioles and venules that found at the lower layer of the dermis. Each of the braids is referred to as a "vascular plexus" and both are interconnected. Arterioles, venules, capillary loops, the upper plexus and the lower plexus comprise the microvasculature system and are responsible for controlling skin temperature and the flow of blood and nutrients to the skin and disposal of metabolic products from the skin.

FIG. 1 shows a human forearm "F", on which are marked of two morphologically similar, substantially non-overlapping areas "A1" and "A2" on the surface of the tissue. The two areas are selected to have similar morphology (such as the presence of hair, bone, appearance of veins). While not required, it is preferred that the areas be adjacent. Each area is subjected to a temperature program to induce optical changes, which result from changes in absorption and scattering properties of the tissue. The temperature programs are not identical. Changes in absorption properties of the tissue can be induced by changes in microcirculation, while changes in scattering properties of the tissue can be induced by changes in the refractive index mismatch between the scattering centers in the tissue and the fluid medium surrounding these centers. This mismatch is caused by changes in temperature.

FIG. 2 illustrates an embodiment of a device suitable for use in this invention. This device can be used to subject two morphologically similar, non-overlapping areas on the surface of human skin to different temperature programs while optical measurements are made at these two morphologically similar, non-overlapping area on the surface of human skin. The device is similar to that described in WO 99/59464, which is incorporated herein by reference. As shown schematically in FIG. 2, the device 10 comprises a light source module 12, a human interface module 14, and a signal detection module 16. The human interface module 14 has a single optical head. As will be described later, different embodiments may have a plurality of optical heads. These three modules are interconnected through a branched optical fiber bundle 18. The light source module 12 comprises four light emitting diodes (LED's) 20, 22, 24, and 26, by means of which the output of light can be modulated. The LED's are mounted in a



WO 02/082989

PCT/US02/06831

circular holder 28 and the light from the LED's is collected and then transferred onto an end 30 of an illuminating element 32 by means of a lens assembly 34, e.g., a 28 mm focal length RKE precision eyepiece (Edmund Scientific part No 30787). Each LED is modulated at a different frequency. A portion of the light is diverted by a beam splitter 36 and focused onto a silicon photodiode 38 (Model S-2386-44K 6C, Hamamatsu, Hamamatsu City, Japan) and a pre-amplifier 40 to generate a reference signal, which is used to correct for fluctuations in intensity of the source of light. The remainder of the light beam continues onto the end 30 of the illuminating element 32 housed at the source tip 42 of a fiber bundle 44.

An end 45 of the illuminating element 32 and the ends of the light collecting elements 46, 48, 50, and 52 are mounted in a common tip 54, which is situated at the center of a temperature-controlled disc 56 (2-cm diameter). The common tip 54 and the temperature-controlled disc 56 are parts of the human interface module 14. All of the elements 32, 46, 48, 50, and 52 are fibers made of low OH silica, and each has a diameter of 400  $\mu\text{m}$  (Fiberguide Industries, Stirling, NJ). The light re-emitted from the skin is collected by the light collecting elements 46, 48, 50, and 52 and transmitted to the signal detection module 16. A detector 60, e.g., a quadrant silicon photodiode detector (Advanced Photonics, P/N SD225-2321-040), located in the signal detection module 16 measures the intensity of light transmitted from the four light collecting elements 46, 48, 50, and 52. The distal end of each light collecting element is located in a detection tip 62.

The body interface module 14 of the device 10 can be mounted on a cradle (not shown) that is, in turn, mounted on an arm of a standard clinical reclining chair (not shown). The subject sits in the chair so that the forearm of the subject rests on the cradle. The optical head of the device, which is located in the body interface module 14, is pressed against the dorsal side of the subject's forearm at a constant force of, for example, 160 grams (approximately 45 grams per  $\text{cm}^2$ ). Other means of placing the forearm of the subject in contact with the optical head of the device can also be used. A thermoelectric cooling/heating element 64 (Model SP1507-01AC, Marlow Industries, Dallas, TX) and a controller/power supply unit 66 (Marlow Industries, SE5000-02) controls the temperature of the disc 56, which is placed in contact with the skin of the forearm. A thermocouple (or thermistor) 68 has the function of sensing the temperature in the aluminum disc 56 and providing a feedback to the temperature controller 66. A personal computer employing LabView™ (version 5.1, National Instruments, Austin, TX)

WO 02/082989

PCT/US02/06831

software program sets the temperature of the disc 56 by means of the controller 66. The personal computer and its accompanying software also manage the acquisition of data.

Light from the illuminating element 32 enters the skin through a body interface module 58 attached on the arm of the reclining clinical chair. The signals from four of the light collecting elements 46, 48, 50, and 52 are transmitted to the detector 60 (Advanced Photonics, P/N SD225-2321-040), one signal to each quadrant of the detector 60. The signal from each quadrant of the detector 60 is amplified separately by an amplifier 70 and measured by means of a multimeter (Model No. 3458A, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA). The optical signals are collected and integrated every 30 seconds, because of the limitations of the data transfer rate between the multimeter and the personal computer.

A calibration algorithm is used to correct for fluctuation in the intensity and spectral output of the LED's, spectral response of the detector, relative light throughput of the illuminating element and each light collecting element, and dark current of the detection system (i.e., the current of the detection system when the light source is turned off). Accordingly, the magnitude of the reflectance signal thus obtained differs from its true value only by a common multiplicative factor that is unique for each set of elements, detector, and type of lamp.

The device in FIG. 2 has a single optical head; the device is capable of providing a defined temperature program while optical measurements are being made. In order to carry out the method of this invention, the optical head of the device is brought in contact with the tissue (e.g., human skin) at a first area thereof. A first defined temperature program is run while optical measurements are being made. The arm is moved to allow the device to contact the second area of the tissue, whereat a second defined temperature program is run while optical measurements are being made. In other words, the two areas are contacted sequentially, and the two optical measurements are made sequentially.

FIG. 3 illustrates a device having two optical heads, each optical head capable of providing a defined temperature program while optical measurements are being made. The two optical heads of the device are mounted on a common bracket (not shown). The two optical heads are applied to the skin of the forearm of the subject in the same way as is the device having the single optical head described previously. A constant force spring is used to maintain the optical heads in contact with the forearm. The spring force applied is typically about 200 grams, although the precise amount of force is not critical to the operation of the invention.

WO 02/082989

PCT/US02/06831

Referring now to FIG. 3, a device 100 can be brought into contact with a body part 102 at two test areas 104, 106 on the body part 102. The device comprises two optical heads, which in turn comprise aluminum discs 108, 110, the temperatures of which can be controlled, and thermoelectric cooling/heating elements 112, 114. The temperature of each disc 108, 110 at each head is controlled by thermoelectric cooling/heating elements 112, 114. The thermoelectric cooling/heating elements 112, 114 (Model SP1507-01AC, Marlow Industries, Dallas, TX) and controller/power supply units 116, 118 (Marlow Industries, SE5000-02) control the temperature of the discs 108, 110, which are placed in contact with the skin, through power inputs from temperature controllers 116, 118. A thermocouple (or thermistor) 120, 122 has the function of sensing the temperature in each aluminum disc 108, 110 and providing a feedback to the temperature controller associated with the particular disc.

The optical heads also include illuminating fibers 124, 126. Light emitted from the skin is collected by fiber groups 128, 130 and fed into detector 132, which also contains electronics to amplify the signal collected from the first area, and detector 134, which also contains electronics to amplify the signal collected from the second area. Light source electronics 140 provide power to operate the light sources of the optical head that is in contact with the first area. In the same manner, light source electronics 142 provide power to operate the light sources of the optical head that is in contact with the second area. A microprocessor/computer 150 controls the temperature controllers 116, 118, light source electronics 140, 142, and signal amplification electronics 132, 134 through cables/connectors 152, 154, 156, 158, 160, and 162. When this device is brought in contact with the tissue, the two optical heads contact the tissue at the two areas simultaneously. The two temperature programs and the measurements accompanying them can be run simultaneously.

Thus, the method of this invention can be characterized as a method in which optical signals are collected at two morphologically similar, non-overlapping, preferably adjacent, areas as the temperature in each area is being maintained or modulated according to a temperature program. The measured values derived from the optical signals obtained are inserted into an algorithm that can be used for predicting a disease state (such as the diabetes mellitus disease state) or into an algorithm that can be used for determining the concentration of a substance in the body, such as blood glucose level.

WO 02/082989

PCT/US02/06831

When the optical measuring device is brought in contact with the skin or another tissue, several phenomena are observed with respect to the optical signal. In the case of skin, we have discovered that when light is introduced into the skin by an optical measuring device in contact with the skin and the intensity of light transmitted or reflected from the skin is measured, the optical signal measured follows a definite course over time. First, a sharp change in signal is observed over a time period of from about 1 to about 30 seconds. This change is manifested as a decrease in reflectance as a function of time. This decrease is the largest component of the signal change. The magnitude of the decrease varies with the geometry of the optical measuring device, the pressure imparted on the skin, and the nature of the skin of the individual. The change in optical signal as a function of time can be attributed to conformance of the skin, especially the stratum corneum, to the shape of the measuring device.

Second, a decrease in the intensity of reflected light or scattered light appears as a function of time. This decrease takes place over a longer time period, extending over minutes, and exhibits a more gradual slope than does the initial decrease. An increase in glucose concentration in the skin leads to a decrease in the reflected signal in a scattering measurement. An increase in glucose concentration also leads to a decrease in the scattering coefficient of skin. The change in the scattering coefficient is estimated to be  $1 \times 10^{-4}$  per mM of glucose. The change in optical signal due to the initial interaction of the device or the mechanical compression of tissue is in the same direction as the effect of increasing glucose concentration, but is at least ten times greater than the increase that can be attributed to a change in glucose concentration.

Third, the difference between the temperature of the measuring device and the temperature of the skin causes a drift in the optical signal over time. If the measuring device is at a temperature higher than that of the skin, heat will flow from the device to the skin, thereby leading to an increase in temperature of the skin and, hence, an increase in scattering coefficient and the intensity of reflected light, as described in U. S. Serial No. 09/419,461, filed October 15, 1999. On the other hand, if the measuring device is at a temperature lower than that of the skin, heat will flow from the skin to the device. This flow of heat will lead to a temporary decrease in the temperature of the skin, a decrease in the scattering coefficient, and a concomitant decrease in intensity of reflected light.

Finally, changes in the surface and subsurface structure of the tissue as a function of time will also affect the optical signal. Thus, opening and closing of arterio-

WO 02/082989

PCT/US02/06831

venous shunts, movement of interstitial fluid, etc., will lead to a slow change in the measured optical signal.

The method of this invention provides optical measurements along with controlled temperature changes of the cutaneous vascular bed, thereby allowing tracking of microvascular defects and cutaneous structural differences. This tracking is achieved without inconvenience to the subject, such as may be encountered in contralateral cooling of the arm or heating to 44 °C, as in capillary video microscopy. The method of this invention can also eliminate the need for physical movement, such as sitting and standing, during the measurement.

The two-area measurement accompanied by temperature programming corrects for the spontaneous change in optical signal (drift) resulting from the interaction between the probe and skin, during the measurement.

The optical measurements required in this invention can be measurements of diffuse reflectance or spatially resolved diffuse reflectance. Transmission measurements can be used with the method of this invention, when the optical device is applied to a thin body part where temperature can be controlled and varied over the volume interrogated by the light beam. The ear lobe or the webs between the fingers are potential sites for transmission measurements.

One aspect of this invention is the determination of the disease state, e.g., diabetic status, of a subject. A mathematical function can be derived from optical signals at two areas of the tissue (e.g., skin), wherein the temperature is controlled at each area by means of temperature programs. A temperature program can specify a constant temperature value, a set of decreasing temperature values, a set of increasing temperature values, or a set of temperature values that increase and decrease over the given period of time. One such function is expressed by Equation (2) as:

$$f(R_{A1T1}, R_{A1T2}, R_{A2T3}, R_{A2T4}) = [\ln(R_{A1T1}/R_{A1T2})] - [\ln(R_{A2T3}/R_{A2T4})] \quad (2)$$

where

$R_{A1T1}$  represents the measured light intensity at temperature  $T_1$  at the first area of skin,

$R_{A1T2}$  represents the measured light intensity at temperature  $T_2$  at the same first area of the skin,

$R_{A2T3}$  represents the measured light intensity at temperature  $T_3$  at a second area of the skin, and

WO 02/082989

PCT/US02/06831

$R_{A2T4}$  represents the measured light intensity at temperature  $T_4$  at the same second area of the skin.

$T_1$  and  $T_2$  represent the limits of the first temperature program.  $T_3$  and  $T_4$  represent the limits of the second temperature program. The temperature program in the first area should differ from the temperature program in the second area. Otherwise, the measurements are merely repetitive.

The derived function(s)  $f(R_{A1T1}, R_{A1T2}, R_{A2T3}, R_{A2T4})$ , determined at a plurality of sampling distances and at a plurality of wavelengths, and the known disease states, e.g., diabetic or non-diabetic, of each of a set of subjects (i.e., the calibration set) can be processed to generate a discriminant function  $D$ . Discriminant functions are used in the art of pattern recognition. See for example Duda and Hart, Pattern Classification and Scene Analysis, John Wiley & Sons (1973), pages 17 to 20, and pages 130 to 138, which pages are incorporated herein by reference. The discriminant function is a decision rule for categorizing objects, in this case placing diabetic subjects and non-diabetic subjects in their respective categories. A subject is classified as diabetic if  $D > 0$ , and non-diabetic if  $D < 0$ . As used herein, the decision rule for categorizing objects has been referred to as a "category selector."

The true disease state must, of course, be known in order to utilize optical measurements for the calibration set.  $D$  is typically a quadratic expression comprising a plurality of the functions of the type  $f(R_{A1T1}, R_{A1T2}, R_{A2T3}, R_{A2T4})$ .

An example of a discriminant function is a quadratic expression of the form

$$D = \sum_i \sum_j a_{ij} (\delta_i f_i) (\delta_j f_j) + \sum_i a_i \delta_i f_i + a_0 \quad (3)$$

where

$$\delta_i = 1 \text{ or } 0; \text{ and } \sum_i \delta_i = K \quad (4a)$$

$$\delta_j = 1 \text{ or } 0; \text{ and } \sum_j \delta_j = K \quad (4b)$$

$a_{ij}$ ,  $a_i$ , and  $a_0$  are constants determined from the calibration set, and subscripts  $i$  or  $j$  are indices to specific combinations of wavelength and sampling distance. The number  $K$  limits the total number of individual wavelength-sampling distance combinations used in the discriminant function. Those skilled in the art can derive and use discriminant functions of other forms, or use neural networks

WO 02/082989

PCT/US02/06831

to achieve similar classifications. Those skilled in the art will recognize that the two-category classification mentioned above is merely a special case of a multi-category classification and that discriminant functions for multi-category situations can be generated.

5 The diabetic status of a subject is represented by  $S_i$  where

$S_i = +1$  for a diabetic subject

$S_i = -1$  for a non-diabetic subject

10 The value of the function  $D$  can be calculated for each subject  $i$  and expressed as  $D_i$ . If  $D_i$  and  $S_i$  have the same sign, the subject is categorized as concordant (i.e., the subject is classified properly). If  $D_i$  and  $S_i$  have different signs, the subject is categorized as discordant (i.e., the subject is classified improperly). The number of subjects in each category (concordant or discordant) is determined.

15 The coefficients of the quadratic function  $D$  of the calibration (training) set are used to calculate the value of the function  $D_i$  for the prediction set. If the calculated value of  $D_i$  for a given subject in the prediction set is positive ( $D_i > 0$ ), the subject is classified as diabetic. If the calculated value of  $D_i$  for a given subject in the prediction set is negative ( $D_i < 0$ ), the subject is classified as non-diabetic. A 2x2 prediction matrix of the type shown in Table 1 is then established for each experimental condition examined (e.g., initial temperature, final temperature, and cooling rate) at each area. The number of true diabetic subjects identified as diabetic is designated "a", the number of true non-diabetic subjects identified as non-diabetic is designated "d", the number of diabetic subjects identified as non-diabetic (false negative) is designated "c", and the number of non-diabetic designated as diabetic (false positive classification) is designated "b". The number of concordant subjects (a and d) are placed along a diagonal that represents the concordant diabetics and non-diabetics. The numbers of discordant subjects (b and c) are placed on the other diagonal, as indicated in Table 1. The above-described classification method can be used for screening for diabetes in human subjects.

**Table 1**

30

Optical Test Result	True Status	
	Diabetic	Non-diabetic
Diabetic	a	b
Non-diabetic	c	d

WO 02/082989

PCT/US02/06831

The quality of the differentiation between diabetic and non-diabetic subjects is judged by sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predicted value (NPV). The term "sensitivity" refers to the ability of a test to identify individuals who are truly positive. The measure of sensitivity is ratio of the number of subjects identified as positive by the test method divided by the total number of truly positive samples as determined by the reference method (i.e., the true status). The term "specificity" refers to the ability of a test to identify individuals who are truly negative. The measure of specificity is the ratio of the number of subjects identified as negative by the test method divided by the total number of truly negative subjects as determined by the reference method. The expression "positive predictive value" or "PPV" is the probability of being truly positive given a positive test result. It is the ratio of the number of truly positive subjects identified as positive by the test method divided by the total number of positive subjects as determined by the test method (In this invention, an optical method). The expression "negative predictive value" or "NPV" is the probability of being truly negative given a negative test result. It is the ratio of the number of truly negative subjects identified by the test method divided by the total number of negative subjects as determined by the test method. The expression "p value" is a parameter that refers to the ability to separate two partially overlapping populations using the  $\chi^2$  test. The smaller the value of p, the better is the separation between the two populations.

The performance parameters of the method, namely, sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) are calculated from the population number a, b, c, and d, where

Sensitivity =  $a/(a+c)$ ,  
 Specificity =  $d/(d+b)$ ,  
 Positive predictive value (PPV) =  $a/(a+b)$ , and  
 Negative predictive value (NPV) =  $d/(c+d)$ .

Another suitable application for the method of this invention is a method for the non-invasive determination of the concentration of an analyte, e.g., glucose, in human tissue. The method involves contacting the skin with an optical head at two areas, the areas being morphologically similar but non-overlapping, the areas being subject to different temperature programs.



WO 02/082989

PCT/US02/06831

A linear regression relationship utilizing, for example, differences of optical measurements at the two areas can be derived for each subject to generate a calibration relationship that relates the concentration of glucose in tissue and the optical signals observed at the first and second areas while these areas are subject to different temperature programs. The concentration of an analyte, e.g., glucose, can be determined from an equation such as the following:

$$[G] = b_0 + \sum_i \sum_j c_{ij} [\ln(R(\lambda_i, r_j, t_1, A_1)) - \ln(R(\lambda_i, r_j, t_1, A_2))] + \sum_i \sum_j d_{ij} [\ln(R(\lambda_i, r_j, t_2, A_1)) - \ln(R(\lambda_i, r_j, t_2, A_2))] \quad (5)$$

where [G] represents the concentration of analyte (e.g., glucose);  $R(\lambda_i, r_j, t_1, A_1)$  represents the quantity of reflected light at  $\lambda_i, r_j, t_1, A_1$ ;  $R(\lambda_i, r_j, t_1, A_2)$  represents the quantity of reflected light at  $\lambda_i, r_j, t_1, A_2$ ;  $R(\lambda_i, r_j, t_2, A_1)$  represents the quantity of reflected light at  $\lambda_i, r_j, t_2, A_1$ ;  $R(\lambda_i, r_j, t_2, A_2)$  represents the quantity of reflected light at  $\lambda_i, r_j, t_2, A_2$ ;  $\lambda_i$  represents the wavelength of light;  $r_j$  represents the sampling distance;  $t_1$  represents a first point in time from the time of contact of the optical device with the tissue, e.g., skin;  $t_2$  represents a second point in time from the time of contact of the optical device with the tissue, e.g., skin;  $A_1$  refers to the first area; and  $A_2$  refers to the second area. The quantities  $b_0, c_{ij}, d_{ij}$  are constant coefficients that are determined by means of calibration.

Because the temperature program and the time elapsing between applying the optical head to the tissue determines the subcutaneous temperature, Equation (5) is actually an expression of the value of concentration of the analyte as a function of temperature at each measurement area as shown by equation (6):

$$[G] = b_0 + \sum_i \sum_j c_{ij} [\ln(R(\lambda_i, r_j, T_1, A_1)) - \ln(R(\lambda_i, r_j, T_2, A_2))] + \sum_i \sum_j d_{ij} [\ln(R(\lambda_i, r_j, T_3, A_1)) - \ln(R(\lambda_i, r_j, T_4, A_2))] \quad (6)$$

where [G] represents the concentration of analyte (e.g., glucose);  $R(\lambda_i, r_j, T_1, A_1)$  represents the quantity of reflected light at  $\lambda_i, r_j, T_1, A_1$ ;  $R(\lambda_i, r_j, T_2, A_2)$  represents the quantity of reflected light at  $\lambda_i, r_j, T_2, A_2$ ;  $R(\lambda_i, r_j, T_3, A_1)$  represents the quantity of reflected light at  $\lambda_i, r_j, T_3, A_1$ ;  $R(\lambda_i, r_j, T_4, A_2)$  represents the quantity of reflected light at  $\lambda_i, r_j, T_4, A_2$ ;  $\lambda_i$  represents the wavelength of light;  $r_j$  represents the sampling distance;  $T_1$  represents the temperature at the first area at time  $t_1$ ;  $T_2$  represents the temperature in

WO 02/082989

PCT/US02/06831

the first area at time  $t_2$ ,  $T_3$  represents the temperature in the second area at time  $t_1$ , and  $T_4$  represents the temperature in the second area at time  $t_2$ . Other examples of temperature programs can be developed by those skilled in the art and equations similar to equations (5) and (6) can be developed to express the concentration of an analyte without deviating from the scope and spirit of this invention. The temperature program applied to the first area must be different from the temperature program applied to the second area. The quantities  $b_0$ ,  $c_j$ , and  $d_3$  are constant coefficients that are determined by means of calibration.

The method of this invention can be used over a temperature range of from about 0 °C to about 45 °C. A preferred temperature range is from about 10 °C to about 42 °C, and a more preferred temperature range is from about 20 °C to about 40 °C. Generally, the temperature range should be sufficient to provide a detectable change in light penetration depth in tissue without any temperature related injury to the tissue or any significant discomfort to the subject.

One of the embodiments of this invention includes both the temperature dependence of cutaneous circulation and the temperature dependence of structural parameters of the skin in the diagnosis of diabetes and diabetes complications. The measurement of optical properties of human skin across a boundary of the skin is adversely affected by the non-homogeneity of the different layers of the skin. Hormones, drugs, and metabolites in the blood in capillaries contribute to changes in the optical signals measured. The interaction of the optical measuring device and the skin may have different optical effects depending on the state of perfusion of the skin. Thus, highly perfused skin, with high blood content in the capillaries, will be affected by the interaction of the device with the skin and the temperature equilibration between the device and the skin in a different manner than will be a lightly perfused skin, with low blood content in the capillaries. These effects were not mentioned in the prior art. The various embodiments of this invention address these effects and compensate for their contribution to the optical signals. Such compensation will lead to better assessment of the diabetic status and determination of concentration of analytes, such as glucose, in human tissue, such as, for example, human skin.

Non-invasive optical measurements disclosed in the prior art involve illumination and collection of light at a single area on the surface of a body part. Several attempts at spatial averaging of signal over more than one measurement area are used for LDF and applied for the determination of bilirubin. In the case of spatial averaging, the measurement is repeated at several areas on the surface of the body part, the optical

WO 02/082989

PCT/US02/06831

parameter is determined at each area, and an average value of the optical parameter is calculated. Alternatively, the signal can be measured at several areas on the surface of the body part, averaged, and the concentration of the analyte calculated from the mean of the individually measured signals. The use of a plurality of areas in effect averages out tissue heterogeneity and analyte distribution in tissue. However, in measurements in a plurality of areas, either the temperature is not controlled or the temperature is not varied according to a temperature program. An example of a device in the art that uses spatial averaging of the signal is the bilirubin measurement device having the trademark BiliCheck® and manufactured by SpectRx Inc, (Norcross, Georgia). Another commercially available device that uses spatial averaging is the Peri Flux 4041 measurement device, manufactured by Perimed AB (Jarfalla, Sweden). None of the devices in the prior art discloses the use of measurements of optical parameters under conditions of defined temperature programs at a plurality of detection areas.

The prior art is silent as to the effect of the interaction between the optical measuring device and the skin. The prior art is also silent as to the effect of the interaction between the test fixture or the body part holder and the body part on the measured optical signal, and hence on the value of concentration determined for the analyte.

This invention provides methods and devices for non-invasively measuring at least one clinical diagnostic parameter of a biological sample, such as, for example, a body part. The parameter can be selected, for example, from those such as the presence of a disease condition, progression of a disease state.

This invention addresses the deficiency in the prior art by providing a method to compensate for or alleviate the following effects:

- (a) effect of the interaction between the optical measuring device and the tissue;
- (b) effect of the interaction between the body part and the body part holder on the measured optical signal, i.e. mechanical compression of the tissue;
- (c) effect of thermal equilibration between the body part and the measuring device on light propagation in skin and the measured optical signal; and
- (d) effect of surface and subsurface structural differences of the tissue on the measured optical signal.

U. S. Patent Nos. 5,057,695; 5,551,422; 5,676,143; 5,492,118; 5,419,321; 5,632,273; 5,513,642; and 5,935,062 are silent as to measuring optical signals at more than one area on the skin, wherein temperature is varied independently at each area.

WO 02/082989

PCT/US02/06831

Other methods known in the art operate on large body masses, such as the skull, thigh, or large arm muscles. The cutaneous volumes sampled in the methods in the prior art are too large to allow effective temperature control or effective temperature modulation over these large masses.

5 The method of this invention offers an advantage over laser Doppler flow measurements alone, because laser Doppler flow measurements deal with cutaneous blood flow in the upper 200 micrometers of the skin. Laser Doppler flow measurements do not account for any structural parameters or spectral effects, because laser Doppler flow measurements only measure the Doppler shift at a single wavelength.

10 Disease states that can be diagnosed using the method of this invention include, but are not limited to, diabetic status, peripheral vascular disease, a dermal disease state, or a neoplastic disease state.

The method of this invention can be used on the surface of any tissue wherein light can be introduced into a tissue boundary and intensity of re-emitted light can be measured across the same or another tissue boundary, while at the same time  
15 temperature can be modulated to affect a change in light penetration depth in tissue. Accordingly, a temperature-controlled endoscopic probe can be used to diagnose lesions ulcers on the surface of the esophagus or the surface of the cervix.

20

### **EXAMPLES**

The following non-limiting examples further illustrate the present invention.

25

#### **EXAMPLE 1**

A device of the type shown in FIG. 2 was constructed. The device was capable of performing optical measurements at a single area on the surface of the skin at a given time. Thus, the device was required to be applied twice to the surface of the skin at two  
30 morphologically similar, adjacent, substantially non-overlapping areas on the skin.

The wavelengths of the LED's and the frequency at which each one was modulated are shown in Table 2.

WO 02/082989

PCT/US02/06831

**Table 2**

LED Number	Wavelength (nm)	Modulation frequency (Hz)	Half band width (nm)
1	660	1024	15
2	590	819	15
3	935	585	25
4	890	455	25

The distance from the center of each light collecting element 46, 48, 50, and 52 to the center of the illuminating element 32 defined the sampling distances  $r_1$ ,  $r_3$ ,  $r_4$ , and  $r_6$  of this device, which are set forth in Table 3.

**Table 3**

Element	$r_1$	$r_3$	$r_4$	$r_6$
Sampling distance (mm)	0.44	0.92	1.21	1.84

**EXAMPLE 2**

The device described in Example 1 was used in this example. Programmed temperature changes and the optical measurements were carried out at each of the two areas on the surface of the forearm as illustrated in FIG 1. The body interface module 14 of the device 10 was mounted on a cradle (not shown) that was, in turn, mounted on the left arm of a standard clinical reclining chair (not shown). The subject sat in the chair so that the forearm of the subject rested on the cradle. The head of the optical device, which is located in the body interface module 14, was pressed against the dorsal side of the subject's forearm and the data were collected from the time the head of the optical device contacted the skin. Data were collected at the two area sequentially while each area was subjected to a different temperature program. Data from the two areas were used to create a calibration relationship. At one area of the skin, the temperature was maintained at 34 °C for 30 seconds. The temperature was then lowered to 22 °C at the rate of 4 °C per minute. Optical readings were collected every five seconds for four

WO 02/082989

PCT/US02/06831

minutes. A second area on the surface of the forearm was maintained at 34 °C for 4 ½ minutes. Optical readings were collected every five seconds for four minutes.

The optical data was divided into two classes - the class of diabetics and the class of non-diabetics. A 2x2 table that related the subject's disease status to the optical signal was constructed. The subject's disease status was determined by a reference method wherein the subject had previously been diagnosed as either diabetic or non-diabetic. Four diabetics and four non-diabetics were tested six times to generate 48 data points that were used to generate a calibration relationship. This calibration relationship was used to predict the diabetic status of subjects who were part of a new group, the prediction group. This group included six diabetics and six non-diabetics; each member of the prediction group was tested two times. Prediction of the diabetic status in 120 seconds is shown in Table 4.

**Table 4**

Optical Test Result	True Status	
	Diabetic	Non-diabetic
Diabetic	11	3
Non-diabetic	1	9

The quality of the differentiation between diabetic and non-diabetic subjects as judged by sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predicted value (NPV) at different combinations of temperatures is shown in Table 5.

**Table 5**

Time (sec)	Temperature (°C)		p	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
	Area 1	Area 2					
120	34	28	0.0038	92	75	79	90
150	34	26	0.0011	92	83	85	91
180	34	24	0.0007	100	75	80	100
210	34	22	0.0011	83	92	91	85

WO 02/082989

PCT/US02/06831

The temperature programs exemplified in Table 5 could be used to predict the diabetics with a sensitivity of 85% to 100% and specificity between 75% and 92% depending on the temperature differential between the two areas. The PPV was higher than 80% and the NPV was higher than 85%.

### EXAMPLE 3

The procedure described in Example 2 was repeated in this example. In this example, one area on the surface of the forearm was maintained at a temperature of 38 °C for 30 seconds. The temperature of this area was then lowered to a temperature of 22 °C at the rate of 5.33 °C per minute. Optical readings were collected every five seconds for four minutes. A second area on the surface of the forearm was maintained at a temperature of 22 °C for 30 seconds. The temperature of this area was then raised to 38 °C at the rate of 5.33 °C per minute. Optical readings were collected every five seconds for four minutes.

The optical data was divided into two classes - the class of diabetics and the class of non-diabetics. A 2x2 table that related the subject's disease status to the optical signal was constructed. The subject's disease status was determined by a reference method wherein the subject had previously been diagnosed as either diabetic or non-diabetic. Four diabetics and four non-diabetics were tested six times to generate 48 data points that were used to generate a calibration relationship. This calibration relationship was used to predict the diabetic status of subjects who were part of a new group, the prediction group. This group included six diabetics and six non-diabetics; each member of the prediction group was tested two times. Prediction of the diabetic status in 120 seconds is shown in Table 6.

**Table 6**

Optical Test Result	True Status	
	Diabetic*	Non-diabetic*
Diabetic	11	1
Non-diabetic	0	9

\*Total number did not equal 12 because subjects displaying outlying signals were rejected.

WO 02/082989

PCT/US02/06831

Again, the quality of the differentiation between diabetic and non-diabetic subjects as judged by sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predicted value (NPV) was estimated at different combinations of temperatures at the two areas is shown in Table 7.

5

**Table 7**

Time (sec)	Temperature (°C)		p	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
	Area 1	Area 2					
120	30	30	0.0001	92	90	92	100
150	27.3	32.7	0.0016	73	100	100	77
180	24.7	35.3	0.0004	90	90	90	90
210	22	38	0.0004	82	92	100	83

The temperature programs in Table 7 could be used to predict the diabetics with a sensitivity of 73% to 92% and specificity between 90% and 100%, depending on the temperature differential between the two areas. The PPV was higher than 90% and the NPV was higher than 77%.

10

**EXAMPLE 4**

15

The procedure described in Example 2 was repeated in this example. In this example, one area on the surface of the forearm was maintained at a temperature of 30 °C for 30 seconds. The temperature of this area was then lowered to 22 °C at the rate of 2.67 °C per minute. Optical readings were collected every five seconds for up to 4 minutes. A second area on the surface of the forearm was maintained at a temperature of 30 °C for 30 seconds. The temperature of this area was then raised to 38 °C at the rate of 2.67 °C per minute. Optical readings were collected every five seconds for up to 4 minutes.

20

The optical data was divided into two classes - the class of diabetics and the class of non-diabetics. A 2x2 table that related the subject's disease status to the optical signal was constructed. The subject's disease status was determined by a reference

25



WO 02/082989

PCT/US02/06831

method wherein the subject had previously been diagnosed as either diabetic or non-diabetic. Four diabetics and four non-diabetics were tested six times to generate 48 data points that were used to generate a calibration relationship. This calibration relationship was used to predict the diabetic status of subjects who were part of a new group, the prediction group. This group included six diabetics and six non-diabetics; each member of the prediction group was tested two times. Prediction of the diabetic status in 120 seconds is shown in Table 8.

**Table 8**

Optical Test Result	True Status	
	Diabetic	Non-diabetic
Diabetic	10	0
Non-diabetic	2	12

The quality of the differentiation between diabetic and non-diabetic subjects as judged by sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predicted value (NPV) was estimated at different combinations of temperatures at the two areas.

The results are shown in Table 9.

**Table 9**

Time (sec)	Temperature (°C)		p	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
	Area 1	Area 2					
120	26	34	0.0002	83	100	100	86
150	24.7	35.3	0.0011	92	83	85	91
180	23.3	36.7	0.0007	75	100	100	80
210	22	38	0.0002	100	83	86	100

The temperature programs in Table 9 could be used to predict the diabetics with a sensitivity of 75% to 100%, and specificity between 83% and 100% depending on the temperature differential between the two areas. The PPV was higher than 85% and the NPV was higher than 80%.

WO 02/082989

PCT/US02/06831

**EXAMPLE 5**

A device similar to that described in Example 1 was used. This device is illustrated in FIG. 4. The device shown in FIG. 4 is similar to the device shown in FIG. 2, except for the following modifications. The lens assembly 34 (see FIG. 2) was replaced by a four-in-one fiber bundle 200 manufactured by Fiberguide Industries. The fiber bundle 200 contained four fibers designated by the reference numerals 202, 204, 206, 208. Each of the four fibers 202, 204, 206, 208 had a diameter of 400 micrometers and were made of the same material as the illuminating element 32 and the light collecting elements 46, 48, 50, and 52 described previously. Light from each of the LED's 20, 22, 24, and 26 was fed into each of four fibers 202, 204, 206, 208, respectively, the ends of which fibers were bundled in a ferrule (not shown), and focused at the beam splitter 36 leading to the illuminating element 32 by means of a group of lenses 210. Instead of a quadrant detector 60 (see FIG. 2), four individual photodiodes 212, 214, 216, and 218 were used to detect the light from the four fibers 46, 48, 50, and 52, respectively. The electronics and optics were packaged in an aluminum brief case, and the fiber bundle 44 was routed to the body interface module 14. In the device shown in FIG. 4, the reference numerals that matched those of FIG. 2 denote components that are identical or substantially identical to those components of FIG. 2 that employ the same reference numerals. The body interface module 14 was placed on a table (not shown). The subject sat in a chair in front of the body interface module 14 and the arm of the subject was placed on a cradle (not shown) that had been placed on the table. The subject sat in the chair so that the forearm of the subject rested on the cradle. The head of the optical device, which is located in the body interface module 14, was pressed against the dorsal side of the subject's forearm and the data were collected from the time the head of the optical device contacted the skin. The temperature program was the same as used in Example 4 (from 30 °C to 22 °C at the first area, and from 30 °C to 38 °C at the second area). Data were collected at the two areas sequentially for three minutes.

The test was run at a local hospital; a protocol approved by the hospital's Institutional Review Board was used. Subjects were admitted to the hospital the night before the test and were confined for two days. On each day, 10 non-invasive tests and 10 finger stick measurements, taken at the same time as the non-invasive measurements, were conducted. Subjects were fed a standard diet and used diabetes medications as prescribed by their physicians. Data from the two areas were used to

WO 02/082989

PCT/US02/06831

create a calibration relationship. A leave-one-out cross validation method was used to estimate the standard error of prediction and the correlation coefficient.

5 A linear regression relationship utilizing differentials of optical measurements can be derived for each subject by means of Equations (5) and (6). In this example, the values of the measurements used were taken at 30 seconds and 180 seconds after the optical head initially contacted an area of the skin.

10 A summary of the data is shown in Table 10. In this table, the standard error of prediction, which is the root means square calculated prediction error using leave-one-out cross validation method, is "SEP". The leave-one-out cross validation method is described in Wu et al., "Noninvasive Determination of Hemoglobin and Hematocrit Using a Temperature-Controlled Localized Reflectance Tissue Photometer", Analytical Biochemistry, 2000;287:284-293, incorporated herein by reference. The cross validation prediction correlation coefficient is "r", and the standard deviation of the 20 invasively-determined glucose values over the two days is "SDP". The figure of merit is defined as  
15 the ratio of the correlation coefficient "r" to the value of (SEP/SDP). The higher the figure of merit, the better the correlation.

The value of (SEP/SDP) is a measure of the spread of the predicted blood glucose level relative to one standard deviation of the blood glucose level in the calibration set. A successful cross-validation requires that the ratio (SEP/SDP) be less  
20 than 1.0. In this example, the cut-off value for a successful cross-validation prediction of blood glucose level was set at a SEP/SDP ratio of 0.9. The values of SEP, r, and SEP/SDP are tabulated in Table 10. The underlined SEP/SDP values represent the successful predictions of blood glucose level.

25

WO 02/082989

PCT/US02/06831

**Table 10**

Subject	SEP (mg/dL)	Correlation coefficient r	SDP (mg/dL)	SEP/SDP	Figure of merit
1	78.0	0.63	99.2	<u>0.79</u>	<u>0.80</u>
2	57.3	0.53	66.6	<u>0.86</u>	0.62
3	44.5	0.66	59.6	<u>0.75</u>	<u>0.88</u>
4	52.6	0.25	53.6	0.98	0.25
5	39.7	0.62	50.6	<u>0.78</u>	<u>0.79</u>
6	50.6	0.65	66.1	<u>0.77</u>	<u>0.85</u>
7	41.7	0.74	63.0	<u>0.66</u>	<u>1.12</u>
8	31.0	0.71	44.3	<u>0.70</u>	<u>1.01</u>
9	38.5	0.80	64.4	<u>0.60</u>	<u>1.33</u>
10	51.7	0.38	54.3	0.95	0.40
11	38.8	0.49	44.0	<u>0.88</u>	0.55
12	40.5	0.83	74.2	<u>0.55</u>	<u>1.52</u>
13	63.7	0.52	71.5	<u>0.89</u>	0.59
14	109	0.40	117	0.93	0.43
15	42.0	0.50	48.6	<u>0.86</u>	0.58
16	62.9	0.51	72.5	<u>0.87</u>	0.59
17	76.5	0.62	96.2	<u>0.80</u>	<u>0.78</u>
18	46.1	0.45	50.9	0.91	0.50
19	47.0	0.52	53.6	<u>0.88</u>	0.59
20	45.7	0.45	50.3	0.91	0.49

The value of "r" can be included in the determination of the success rate by  
 calculating the figure of merit, wherein the figure of merit is equal to  $r / (SEP/SDP)$ . A  
 successful prediction was arbitrarily fixed at a figure of merit cut-off value of 0.70. This  
 figure of merit cut-off value is equivalent to the limit when (SEP/SDP) equals 0.90 and r  
 equals 0.63. The underlined figure of merit values represent a more rigorous prediction  
 of blood glucose level in the twenty diabetic subjects studied. Nine of twenty subjects  
 showed successful prediction of blood glucose levels when this more rigorous figure of  
 merit cut-off value was used. Thus, the sequential method, wherein a single optical head

WO 02/082989

PCT/US02/06831

and the temperature programs described in this example were used, led to successful predictions of blood glucose levels.

#### EXAMPLE 6

5 The device described in FIG. 3 was used in this example. The programmed temperature changes and the optical measurements were carried out at each of the two areas on the surface of the forearm as illustrated in FIG. 1. The body interface module 14 was placed on a table (not shown). The subject sat in front of the body interface module and the arm of the subject was placed on a cradle (not shown) that had been placed on the table. The two heads of the optical device were retracted by the subject's other hand. The two heads of optical device were then allowed to contact the skin and the data were collected from the time the heads contacted the skin. Data were collected at the two areas simultaneously; each area was subjected to a separate temperature program. Data from the two areas were used to derive a calibration relationship. The temperature program at the first area (the area closest to the elbow) was started at 30 °C and held at that temperature for 30 seconds; the temperature was then lowered to 22 °C at a rate of 2.67 °C per minute. The temperature program at the second area (the area farthest from the elbow) was started at 30 °C and held at that temperature for 30 seconds; the temperature was then raised to 38 °C at a rate of 2.67 °C per minute. Data (reflectance at four wavelengths and four distances) were collected for 210 seconds. The natural logarithm of each reflectance value at the two areas was determined. The values of  $\ln R(\lambda_i, r_j, t)$  were fitted to the capillary blood glucose level values, as determined by a finger stick procedure, to generate a calibration relationship for each subject. The values used for the line fitting were measured at 30 seconds and 210 seconds after the two optical heads contacted the two areas of the skin. A four term linear model was calculated for each subject. A summary of the data is shown in Table 11. Nineteen of the twenty subjects tested in this example were different from the twenty subjects whose data are shown in Table 10. Subject No. 40 in Table 11 is the same as Subject No. 1 in Table 10. In Table 11, the standard error of prediction, which is the root means square calculated prediction error using leave-one-out cross validation method, is "SEP". The leave-one-out cross validation method is described in Wu et al., "Noninvasive Determination of Hemoglobin and Hematocrit Using a Temperature-Controlled Localized Reflectance Tissue Photometer", Analytical Biochemistry,

WO 02/082989

PCT/US02/06831

2000;287:284-293, incorporated herein by reference. The cross validation prediction correlation coefficient is "r", and the standard deviation of the 20 invasively-determined glucose values over the two days is "SDP". As defined in Example 5, the figure of merit is equal to  $r/(SEP/SDP)$ .

5

**Table 11**

Subject	SEP (mg/dL)	Correlation coefficient r	SDP (mg/dL)	SEP/SDP	Figure of merit
21	54.4	0.60	67.9	<u>0.80</u>	<u>0.75</u>
22	76.50	0.55	92.1	<u>0.83</u>	0.67
23	60.4	0.66	80.6	<u>0.75</u>	<u>0.89</u>
24	52.0	0.75	78.3	<u>0.66</u>	<u>1.13</u>
25	21.6	0.72	31.8	<u>0.68</u>	<u>1.06</u>
26	76.50	0.76	118.7	<u>0.64</u>	<u>1.17</u>
27	59.1	0.58	72.1	<u>0.82</u>	<u>0.71</u>
28	36.6	0.65	47.3	<u>0.77</u>	<u>0.84</u>
29	60.1	0.66	78.9	<u>0.76</u>	<u>0.86</u>
30	70.3	0.68	96.4	<u>0.73</u>	<u>0.93</u>
31	64.8	0.53	75.3	<u>0.86</u>	0.61
32	40.3	0.55	47.8	<u>0.84</u>	0.65
33	43.3	0.38	46.4	0.93	0.41
34	26.7	0.80	44.5	<u>0.60</u>	<u>1.33</u>
35	29.9	0.58	35.9	<u>0.83</u>	0.70
36	21.9	0.47	24.2	0.91	0.52
37	42.3	0.69	57.9	<u>0.73</u>	<u>0.94</u>
38	62.0	0.63	78.6	<u>0.79</u>	<u>0.80</u>
39	52.4	0.72	76.4	<u>0.69</u>	<u>1.06</u>
40	56.7	0.48	61.7	0.92	0.52

It is possible to use the same criteria as for the determination of the success rate in the non-invasive measurement as was used in Example 5. The use of a (SEP/SDP) ratio of 0.9 yielded seventeen successful predictions of blood glucose levels out of twenty subjects. The successful predictions are designated by underlining. The use of the more rigorous figure of merit cut-off value, i.e., the figure of merit cut-off value being

10

WO 02/082989

PCT/US02/06831

0.7, achieved thirteen successful predictions of blood glucose levels out of twenty subjects.

Various modifications and alterations of this invention will become apparent to those skilled in the art without departing from the scope and spirit of this invention, and it  
5 should be understood that this invention is not to be unduly limited to the illustrative embodiments set forth herein.

WO 02/082989

PCT/US02/06831

What is claimed is:

1. A method for the determination of a disease state in a tissue of a human, said method comprising the steps of:
  - 5 (a) measuring at least one optical property at a first area on said tissue to obtain a first set of data, said first area being subjected to a first temperature program;
  - (b) measuring at least one optical property at a second area on said tissue to obtain a second set of data, said second area being subjected to a second temperature program, said second temperature program being different from the first temperature program, said second area being morphologically similar to but not substantially overlapping with said first area; and
  - 10 (c) inserting said first set of data and said second set of data into a mathematical relationship to calculate a mathematical output; and
  - 15 (d) comparing said mathematical output to a category selector to determine said disease state of said human.
2. The method of claim 1, wherein said optical properties are measured with light having a wavelength ranging from about 400 nm to about 2000 nm.
- 20 3. The method of claim 1, wherein said optical properties are measured by a diffuse reflectance technique.
4. The method of claim 1, wherein measuring steps (a) and (b) are performed simultaneously.
- 25 5. The method of claim 1, wherein measuring steps (a) and (b) are performed sequentially.
6. The method of claim 1, wherein said temperature programs employ temperatures ranging from about 10 °C to about 45 °C.
- 30 7. The method of claim 1, wherein said disease state is selected from the group consisting of diabetic state, dermal disease state, neoplastic disease state, and vascular disease state.
- 35



WO 02/082989

PCT/US02/06831

8. The method of claim 1, wherein said mathematical relationship of step (c) is derived by a method comprising the steps of:

- 5 (a) providing a population comprising a sufficient number of human subjects to establish a category selector;
- (b) for each of said number of human subjects in said population:
- (1) measuring at least one optical property at a first area on said tissue to obtain a first set of data, said first area being subjected to a first temperature program;
- 10 (2) measuring at least one optical property at a second area on said tissue to obtain a second set of data, said second area being subjected to a second temperature program, said second temperature program being different from the first temperature program, said second area being morphologically similar to but not substantially overlapping with
- 15 said first area; and
- (c) establishing a mathematical relationship between (i) said optical properties of said first set of data and said second set of data and (ii) said disease state.

20 9. A method for determining the concentration of an analyte in human tissue, said method comprising the steps of:

- (a) measuring at least one optical property at a first area on said tissue to obtain a first set of data, said first area being subjected to a first temperature program;
- (b) measuring at least one optical property at a second area on said
- 25 tissue to obtain a second set of data, said second area being subjected to a second temperature program, said second temperature program being different from the first temperature program, said second area being morphologically similar to but not substantially overlapping with said first area; and
- 30 (c) inserting said first set of data and said second set of data into a mathematical relationship to calculate said concentration of said analyte.

10. The method of claim 9, wherein said optical properties are measured with light having a wavelength ranging from about 400 nm to about 2000 nm.

WO 02/082989

PCT/US02/06831

11. The method of claim 9, wherein said optical properties are measured by a diffuse reflectance technique.

5 12. The method of claim 9, wherein measuring steps (a) and (b) are performed simultaneously.

10 13. The method of claim 9, wherein measuring steps (a) and (b) are performed sequentially.

14. The method of claim 9, wherein said temperature programs employ temperatures ranging from about 10 °C to about 45 °C.

15 15. The method of claim 9, wherein said mathematical relationship of step (c) is derived by a method comprising the steps of:

(a) providing a population comprising a sufficient number of human subjects to establish a statistically meaningful mathematical relationship;

(b) for each of said number of human subjects in said population:

20 (1) measuring at least one optical property at a first area on said tissue to obtain a first set of data, said first area being subjected to a first temperature program;

(2) measuring at least one optical property at a second area on said tissue to obtain a second set of data, said second area being subjected to a second temperature program, said second temperature program being different from the first temperature program, said second area being morphologically similar to but not substantially overlapping with said first area; and

25 (c) establishing a mathematical relationship between (i) said optical properties of said first set of data and said second set of data and (ii) said concentration of analyte.

30 16. The method of claim 9, wherein said analyte is selected from the group consisting of glucose, hemoglobin, hematocrit value, tissue water content, urea, and bilirubin.

WO 02/082989

PCT/US02/06831

17. An apparatus for determining a disease state of a human subject or the concentration of an analyte in the tissue of a human, said apparatus comprising:

- (a) means for illuminating at least two areas of tissue with light;
- 5 (b) means for collecting light re-emitted from said at least two areas of tissue;
- (c) means for measuring the intensity of said re-emitted light collected at said two areas of tissue; and
- (d) means for controlling the temperature of said at least two areas of said tissue simultaneously by means of temperature programs.

10

18. The apparatus of claim 17, further including (e) means for correlating the intensity of the re-emitted light collected at said at least two areas of said tissue with said concentration of an analyte or said disease state, provided that said at least two areas are morphologically similar and are substantially non-overlapping.

15

WO 02/082989

PCT/US02/06831

1/4

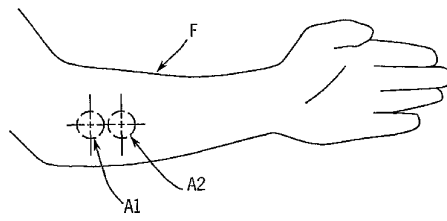
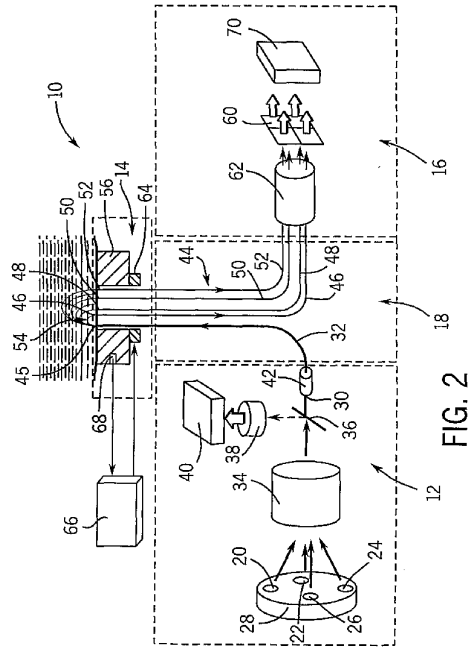
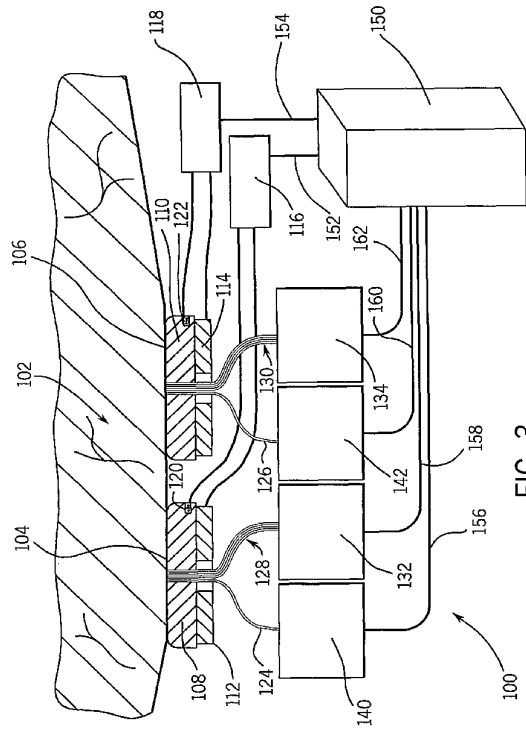
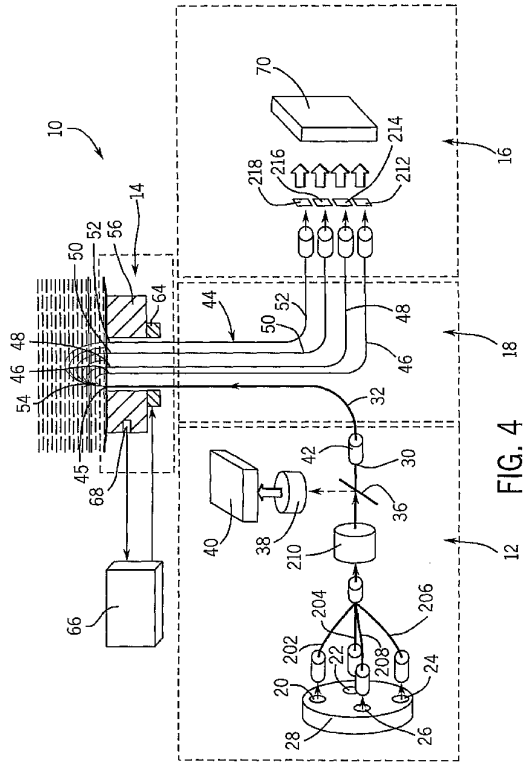


FIG. 1







## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US 02/06831
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 A61B5/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61B Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 978 691 A (MILLS) 2 November 1999 (1999-11-02) cited in the application column 5, line 62 - line 65 column 7, line 11 - column 9, line 53 column 12, line 7 - line 49	1,4-9, 12-18
A	US 5 348 003 A (CARO) 20 September 1994 (1994-09-20) cited in the application column 5, line 5 - line 50 column 8, line 35 - line 48	1,2, 8-10, 15-18
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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 document 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 (see specification) "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 20 August 2002		Date of mailing of the international search report 26/08/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Lemerclier, D

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.  
PCT/US 02/06831

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5978691	A	02-11-1999	AU 3721997 A EP 0944347 A2 WO 9803847 A2	10-02-1998 29-09-1999 29-01-1998
US 5348003	A	20-09-1994	NONE	

## フロントページの続き

- (74)代理人 100124855  
弁理士 坪倉 道明
- (72)発明者 ハリル, オーマー・エス  
アメリカ合衆国、イリノイ・60048、リバティビル、ポートワイン・コート・1506
- (72)発明者 イエー, シュウ - ジエン  
アメリカ合衆国、イリノイ・60030、グレイズレイク、ストラットフォード・コート・920
- (72)発明者 カンター, スタニスロー  
アメリカ合衆国、イリノイ・60089、バツファロー・グローブ、サテンウッド・テラス・485
- (72)発明者 ハンナ, チャールズ・エフ  
アメリカ合衆国、イリノイ・60048、リバティビル、ウエスト・リンカーン・410
- (72)発明者 シヤイン, エリック・ビー  
アメリカ合衆国、イリノイ・60022、グレンコー、グローブ・ストリート・459
- F ターム(参考) 2G059 AA01 AA06 BB13 CC09 CC18 EE02 GG02 GG03 HH01 HH02  
JJ11 JJ17 JJ22 KK03 MM01 MM02 MM09 MM10 NN02 NN05  
4C038 KK10 KL07 KM01 KX01

## 【要約の続き】

ムにかけられる。疾病の判定に加えて、本発明は組織中の分析物の濃度を判定するために使用されることもやはり可能である。本発明はまた、糖尿病のような疾病状態、あるいは血中グルコースレベルのような分析物の濃度を本発明の方法によって判定するための装置も提供する。

专利名称(译)	用于光学测量组织以确定疾病状态或分析物浓度的方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2004531311A</a>	公开(公告)日	2004-10-14
申请号	JP2002580799	申请日	2002-03-07
[标]申请(专利权)人(译)	雅培公司		
申请(专利权)人(译)	雅培制药		
[标]发明人	ハリルオーマーエス イエーシュウジエン カンタースタニスロー ハンナチャールズエフ シャインエリツクビー		
发明人	ハリル,オーマー・エス イエー,シュウ-ジエン カンター,スタニスロー ハンナ,チャールズ・エフ シャイン,エリツク・ビー		
IPC分类号	G01N21/35 A61B5/00 A61B5/145 A61B5/1455		
CPC分类号	A61B5/1495 A61B5/14532 A61B5/1455 A61B5/7264		
FI分类号	A61B5/14.310 G01N21/35.Z		
F-TERM分类号	2G059/AA01 2G059/AA06 2G059/BB13 2G059/CC09 2G059/CC18 2G059/EE02 2G059/GG02 2G059/GG03 2G059/HH01 2G059/HH02 2G059/JJ11 2G059/JJ17 2G059/JJ22 2G059/KK03 2G059/MM01 2G059/MM02 2G059/MM09 2G059/MM10 2G059/NN02 2G059/NN05 4C038/KK10 4C038/KL07 4C038/KM01 4C038/KX01		
代理人(译)	小野 诚 Masarushin大崎		
优先权	09/834440 2001-04-13 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

# 摘要(译)

一种在形态上相似，基本上不重叠且优选在组织表面上彼此相邻的两个区域中收集光学数据的方法，同时每个区域的温度遵循温度程序。维护或更改。获得的光学数据是数学表达式，可用于预测指示疾病状态或身体状况（例如糖尿病疾病状态）的分析物浓度（例如血糖水平）。插入到关系表达式中，例如算法。本发明可以用于区分疾病状态，例如糖尿病和非糖尿病。该方法包括创建校准（训练）集的步骤，该校准集利用在不同温度刺激下从皮肤发出的光信号与临床确定的疾病状态例如糖尿病状态之间的关系。。该校准集可用于预测其他受试者的疾病状态。在人体组织的两个区域（如形态相似但基本不重叠的前臂皮肤）中确定由疾病状态引起的结构和循环变化 需遵守不同的温度变化程序。除了确定疾病之外，本发明还可用于确定组织中分析物的浓度。本发明还提供了一种通过本发明的方法确定疾病状态（例如糖尿病）或分析物浓度（例如血糖水平）的设备。

