



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102348405 A

(43) 申请公布日 2012. 02. 08

(21) 申请号 201080011157. 4

代理人 刘新宇 李茂家

(22) 申请日 2010. 01. 08

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

A61B 1/00(2006. 01)

12/350, 955 2009. 01. 08 US

A61B 5/145(2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 09. 08

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2010/020556 2010. 01. 08

(87) PCT申请的公布数据

W02010/081047 EN 2010. 07. 15

(71) 申请人 北岸大学健康系统

地址 美国伊利诺州

申请人 西北大学

(72) 发明人 V·贝克曼 H·罗伊 A·戈麦斯

S·鲁德尔曼 J·罗杰斯

(74) 专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事

务所(普通合伙) 11277

权利要求书 2 页 说明书 9 页 附图 3 页

(54) 发明名称

利用通过微血管血含量早期增加的检测得到的参数筛查癌症的方法

(57) 摘要

本发明在一方面,涉及利用称为“微血管血供早期增加”(EIBS)来筛查肿瘤或病变的试验,该“微血管血供早期增加”(EIBS)存在于接近但本身不是异常组织的组织和该病变或肿瘤发展之前的组织中。虽然异常组织可以是病变或肿瘤,但异常组织还可以是病变或肿瘤形成之前的组织,例如癌症前期腺瘤、畸变隐窝病灶,本身还没有显示发育异常表型的发育异常病变发展之前的组织,和在这些病变或前-发育异常组织附近的组织。

1. 一种提供人体整个结肠内的活组织可能异常的指示的方法,其包括以下步骤:  
插入步骤,插入探针以使所述探针内的光源置于结肠远端部内表面处的位置;  
照亮步骤,利用从所述探针发出的来自所述光源的光,在所述位置照亮结肠远端部内表面的组织和在粘膜层内的微脉管系统,其中用光照亮的组织不含有可能异常的活组织;  
检测步骤,利用所述探针检测由照亮所述组织的步骤产生的相互作用光作为检测数据,其中所述相互作用光是基本上由之后与粘膜层的微脉管系统中的血液相互作用的光得到的,所述粘膜层在结肠远端部部的组织内,其中所述组织不包含可能异常的活组织;  
估算步骤,利用检测的数据估算微脉管系统内的有效血管大小;和  
得到指示的步骤,利用估算的有效血管大小得到整个结肠内活组织可能异常的指示。
2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述估算步骤还估算氧合血红蛋白,并且其中得到指示的步骤使用估算的氧合血红蛋白和估算的血管大小两者。
3. 根据权利要求 2 所述的方法,其中将所述估算的氧合血红蛋白和所述估算的血管大小与氧合血红蛋白阈值和估算的血管大小阈值相比较,以使当且仅当所述估算的血管大小低于所述估算的血管大小阈值和所述估算的氧合血红蛋白高于所述氧合血红蛋白阈值时,得到结肠内活组织可能异常的指示。
4. 根据权利要求 3 所述的方法,其中所述氧合血红蛋白阈值和所述估算的血管大小阈值是由从健康个体的对照组得到的平均测量值得到的。
5. 根据权利要求 4 所述的方法,其进一步包括如果指示为活组织可能异常则进行结肠镜检查的步骤。
6. 根据权利要求 2 所述的方法,其中估算所述氧合血红蛋白的步骤是利用所述估算的血管大小重新计算的。
7. 根据权利要求 2 所述的方法,其中多个所述估算的氧合血红蛋白是在一段时间内得到的,和其中得到指示的步骤包括利用多个所述估算的氧合血红蛋白得到估算的血红蛋白变化率。
8. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述检测步骤发生于所述探针与所述组织接触之时的即刻。
9. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述检测步骤发生于所述探针与所述组织接触后的延迟期。
10. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述检测步骤发生于所述探针与组织接触之时的即刻和所述探针与所述组织接触后的延迟期两者。
11. 根据权利要求 1 所述的方法,其中多个所述估算的血管大小是从多个粘膜深度得到的。
12. 根据权利要求 11 所述的方法,其中将来自于所述多个粘膜深度的不同粘膜深度的所述估算的血管大小的比率用于提供所述指示。
13. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述检测步骤检测相互作用光的以下成分的至少之一:共极化、交叉极化和未极化的相互作用光。
14. 根据权利要求 13 所述的方法,其中所述检测步骤检测在内表面上端至下粘膜层之间的多个穿透深度处的相互作用光。
15. 根据权利要求 13 所述的方法,其中所述检测组织的步骤检测在内表面上端至粘膜

层之间的多个穿透深度处的相互作用光。

16. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述插入、照亮和检测步骤是利用至少部分地置入内窥镜设备内的探针进行的。

17. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述得到指示的步骤包括比较所述估算的血管大小和基线血管大小的步骤。

18. 根据权利要求 17 所述的方法,其进一步包括确立所述基线血管大小的步骤。

19. 根据权利要求 18 所述的方法,其进一步包括基于多个人体而非单个人体的血管大小的测量确立基线血管大小的步骤。

20. 根据权利要求 1 所述的方法,其中来自得到步骤的所述指示表明在未来时间点活组织可能异常。

21. 根据权利要求 1 所述的方法,其进一步包括利用所述指示决定何时进行另外的检测以重新测定远端结肠内的活组织是否可能异常的步骤。

22. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述照亮的组织是组织学正常的、肉眼检查正常的和内窥镜检查正常的至少之一。

23. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述探针插入没有任何预先结肠清洗的远端结肠。

## 利用通过微脉管血含量早期增加的检测得到的参数筛查癌症的方法

[0001] 关于在联邦资助研究下的权利的声明

[0002] 这些发明是在由美国国立卫生研究院授予的批准号 R01CA109861 的政府资助下做出的。美国政府具有本发明中的某些权利。

[0003] 优先权要求

[0004] 本申请要求 2009 年 1 月 8 日提交的共同待决的美国专利申请 12/350,955, 名称“利用通过微脉管血含量早期增加的检测得到的参数筛查癌症的方法”的优先权并与其相关, 将其全部内容明确地引入本文作为参考。

[0005] 在本文说明书中引用并讨论了一些参考文献, 这些参考文献可包括专利、专利申请和各种公开出版物。提供这些参考文献的引用和 / 或讨论仅仅为阐明本发明的说明书并非承认任何这样的参考文献是“现有技术”。将本说明书中所有引用和讨论的参考文献以其整体引入本文作为参考, 并且在同种程度上, 似乎也将各参考文献分别引入作为参考。

### 技术领域

[0006] 本发明通常涉及光散射和吸收, 并特别涉及利用检测的微脉管血供早期增加识别可能异常的活组织的方法和相应的应用, 所述相应的应用包括活体内肿瘤成像、筛查、检测和治理, 并且, 特别地, “微脉管血供早期增加”(EIBS) 存在于接近、但本身不是病变或肿瘤的组织 and 该病变或肿瘤发展之前的组织中。

### 背景技术

[0007] 存在已知用于测定组织中异常的各种技术。这些技术中, 与本发明最相关的那些技术是其中存在检测到异常组织内血液增加的技术。虽然该技术与其它方法相比具有自身的优点, 但是它们需要检验异常组织本身, 这可能难以检测。另外, 该方法仅在异常足够大(例如癌化组织)后是有用的。

[0008] 检测结肠中的癌组织是一个持续研究的特定领域。结肠镜检查具有通过识别和禁止前期病变(腺瘤性息肉)而使结肠直肠癌(CRC)发生的可能性降低达~90%。然而, CRC 以 2008 年预测的 148,810 例新病例在美国保持癌症死亡的第二主要原因。现存 CRC 筛查方案不充分的主要原因是根据现存的建议, 认为每个超过 50 岁的病人处于 CRC 风险中并且是至少每 10 年进行结肠镜检查监视的候选者。然而, 由于包括费用、患者不情愿、并发症率和内窥镜医生数量不足的各种原因, 通过结肠镜检查筛查全部适用人口(>9 千万超过 50 岁的美国人)实际上是不可能的。的确, 当前仅小于 20% 的人口进行结肠镜检查。进一步使该事实复杂的是绝大多数结肠镜检查是阴性的。例如, 约 70-80% 的患者不具有任何结肠镜检查中的肿瘤病变。而且, 绝大多数这些腺瘤永不发展成为结肠癌。对于临床 / 生物学上重要的瘤形成(晚期腺瘤), 发生率仅为约 5%。

[0009] 因此, 本发明提供用于帮助异常组织检测的各种有益光学技术, 特别是利用光学测量筛查在异常组织本身发展早期的结肠的试验。

## 发明内容

[0010] 本发明在一方面,涉及利用称为“微脉管血供早期增加”(EIBS)来筛查人结肠中的肿瘤或病变的方法,该“微脉管血供早期增加”(EIBS)存在于接近但本身不是异常组织的组织和该病变或肿瘤发展之前的组织中。虽然异常组织可以是病变或肿瘤,但异常组织还可以是病变或肿瘤形成之前的组织,例如癌症前期腺瘤、畸变隐窝病灶,本身还没有显示发育异常表型的发育异常病变的发展之前的组织,和在这些病变或前-发育异常组织(pre-dysplastic tissues)附近的组织。

[0011] 在特定实施方案中,筛查包括得到EIBS测量并利用那些测量来得到估算的血管直径,亦称PLS,和估算的氧合血红蛋白。可以使用估算的血管直径和估算的氧合血红蛋白之一或优选两者与预测规则一起来筛查结肠癌。

## 附图说明

[0012] 对于本领域普通技术人员,在结合附图阅读本发明具体实施方案的以下描述时,本发明的这些及其它方面和特征将变得显而易见,其中:

[0013] 图1(a)、(b)和(c)是分别说明OHb浓度、包裹长度标尺(packaging length scale)(PLS)和标准化的包裹长度标尺的支持数据的图。

[0014] 图2(a)和(b)示出与探针组织接触相关的OHb浓度和组织氧化。

## 具体实施方式

[0015] 在下面的实施例中更具体的描述本发明,这些实施例由于其中的许多修改和变化对于本领域技术人员将是显而易见的,所以意于仅作为说明性的实施例。现将详细地描述本发明的各种实施方案。关于附图,所有图中相同的数字表示相同的组分。作为本文说明书和贯穿所附的权利要求中使用的“一种”、“一个”和“所述”的含义包括多个或多种的情况,除非上下文另有明确规定。另外,作为本文说明书和贯穿所附的权利要求中使用的“在……中”的含义包括“在……中”和“在……之上”,除非上下文另有明确规定。另外,为方便读者,在说明书中可能使用标题或子标题,它们将对本发明的范围没有影响。另外,将本说明书中使用的某些术语更具体地定义如下。

[0016] 本说明书中使用的术语一般具有其在本领域中、本发明上下文内和使用各术语的具体上下文中的通常含义。将用于描述本发明的某些术语讨论如下,或在说明书的其它地方讨论,以对与本发明说明书相关的实践者提供另外的指导。为了方便起见,某些术语可能,例如使用斜体字和/或引号来突出显示。突出显示的使用对术语的范围和含义没有影响;在相同的上下文中,无论是否突出显示,术语的范围和含义是一样的。应理解,可以用多于一种的方式来原因相同的事情。因此,对于任何一种或多种本文讨论的术语可使用选择性语言和同义语,是否在本文阐述或讨论术语并未给予任何特殊意义。对于某些术语提供同义语。一种或多种同义语的列举并不排除使用其它同义语。在本说明书任何地方的实例(包括本文讨论的任何术语的实例)的使用仅是说明性的,绝非限制本发明或任何例举的术语的范围和含义。同样地,本发明不局限于本说明书中给出的各实施方案。

[0017] 除非另有规定,否则本文所有的科技术语具有与本发明相关领域内的普通技术人

员所一般理解的含义相同的含义。在冲突的情况下,本文献,包括定义将起作用。

[0018] 作为本文使用的“附近”、“约”或“大约”将一般指在给定值或范围的 20%之内,优选 10%之内,并更优选 5%之内。本文给出的数量是约数,指如果没有明确表述,可推断为术语“附近”、“约”或“大约”。

[0019] 本发明在一方面,涉及利用称为“微血管血供早期增加”(EIBS) 来检查肿瘤或病变靶标的方法,该“微血管血供早期增加”(EIBS) 存在于接近但本身不是病变或肿瘤的组织。虽然异常组织可以是病变或肿瘤,但异常组织还可以是病变或肿瘤形成之前的组织,例如癌症前期腺瘤、畸变隐窝病灶,本身还没有显示发育异常表型的发育异常病变的发展之前的组织,和在这些病变或前-发育异常组织附近的组织。

[0020] 本文描述的特定应用是用于检测早期结肠直肠癌 (“CRC”) 内的结肠粘膜中的该病变,但是还描述了其它应用。

[0021] 靶标是与活体例如人或动物有关的样品。样品是活体的部分,例如样品是生物样品,其中生物样品可能具有发展癌疾病的组织。

[0022] 肿瘤病是导致肿瘤或病变的过程,其中肿瘤或病变是异常活组织(恶化前的或癌的活组织之一),例如结肠癌、结肠的腺瘤性息肉,或其它癌症。

[0023] 在活体内进行测量步骤。测量步骤可进一步包括获取靶标图像的步骤。检测时获得的图像可用于随后分析肿瘤的程度及其位置。在应用中,为分析直肠粘膜将探针插入远端结肠,由此提供当使用探针时无需结肠镜检查以及无需结肠清洗而评价患者发展结肠癌风险的机制。利用可包括光散射以及其它光学方法的相互作用光(interacted light) 的血含量的测量,可包括将用于活体内(在其中测量血含量和/或血流)使用的探针插入实体器官的组织中。在一个实施方案中,方法包括将一束光投射到其中具有带有血液循环的组织的靶标。然后测量从靶标散射的光,并得到与靶标相关的血供信息。得到的血供信息包括与血液氧化和作为 PLS 已知并描述于本文中的血管大小有关的数据,然后将该数据用于筛查结肠癌。

[0024] 不意于限定范围,以下给出根据本发明实施方案的示例性仪器、设备、方法和它们相关的结果。注意,为了方便读者可能在实施例中使用标题或子标题,这绝不应限制本发明的范围。另外,本文提出并公开了一些理论;然而,无论它们是否正确,它们绝不应限制本发明的范围,只要根据本发明进行本发明而不考虑任何具体理论或实施方式。可用于得到所需数据以便获得血液氧化(OHb)和血管大小(PLS)的光学测量技术描述于上述引入作为参考的 EIBS 相关的专利申请中,这些专利申请描述了在检测 EIBS 的上下文中讨论的其它光学探针和系统。还注意,可用于本文所述的结肠癌筛查的另外的 EIBS 光学探针描述于 2009 年 1 月 8 日提交的美国临时专利申请序号 61/143,407,名称“用于识别异常组织的探针设备”中,该申请具有代理参考号 042652-0376945,明确地将该申请引入本文作为参考。

[0025] 本文描述的筛查技术还可用于结肠癌的筛查。具体地,该筛查基于包括以下内容的显著观察:1)EIBS 非常早的出现于结肠癌病变的过程中;2)在内窥镜和组织学正常出现(未受累的)的粘膜的肿瘤病变,例如结肠腺瘤之外,EIBS(即,作用区域(field effect)的标记物)是可检测的。如上所述,由 EIBS 获得的一个具体参数是在腺瘤位于的相同的结肠片段内(即,在结肠相同的 1/3 内)观察到的总血红蛋白(Hb)浓度在未受累粘膜(uninvolved mucosa)中增加;3)光谱测量(Spectroscopic measurements)可用于测量粘

膜内的氧合 Hb (OHb) 浓度和有效血管大小 (又名, Hb 包裹长度标尺, 还称为“PLS”)。4) 在相同片段中 OHb 在腺瘤外的粘膜中是增加的 ;5) PLS 是作用区域的标记物。患有近端晚期腺瘤 (proximal advanced adenomas) 的患者在远端结肠 (直肠) 中观察到 PLS 的降低 (平均血管大小的降低)。6) 在患有近端晚期腺瘤患者的远端结肠中观察到 OHb 的增加。该效果在女性中特别明显。

[0026] 已发现 OHb 的增加和 PLS 在离腺瘤的一定距离处均是可检测的, 作为在整个结肠的任一处是否存在异常组织的指示因子 (indicator), 所述距离允许检测和评价在结肠一端 (典型地直肠, 也称为远端结肠) 的一个或两个这样的参数。

[0027] 如上所述, 正如 EIBS 一样, PLS 和 OHb 两者的效果只在浅表组织 (典型地与粘膜深度一致的组织表面以下约 100-200 微米) 探测充分时能观察到。因此, EIBS 的这些方面主要发展于粘膜中。

[0028] 基于 EIBS 测量, 这些测量可用于得到估算的 PLS 和估算的 OHb, 以得到整个结肠健康的指示。估算的 PLS 和估算的 OHb 的变型也可用于得到该指示, 例如测量 OHb 随时间的变化作为指示 (参见, 例如, 如下图 2 所示当发生扩散时的变化), 从而可以监测经过一段时间内例如 100ms 的变化率, 并看是否大于该时间段内的正常变化结果) 或测量某人在某深度的血管直径与另外的深度的另外的血管直径的比作为指示。

[0029] 血管大小计算

[0030] 以下讨论涉及表皮组织有效血管大小的计算。相同的参数也称作血红蛋白 (Hb) 包裹长度标尺 (PLS)。使用极化门控探针测量 PLS。在特定实施方案中, 该极化包括三个 200  $\mu$ m 孔径的多模纤维, 其中之一用作照明通道而其它的用于光收集。照明纤维偶联到宽带光源。两个薄膜偏光器安装于探针的近端头 (proximal tip) 以偏振化入射光并能够收集共极化的  $I_{\parallel}(\lambda)$  和交叉极化的  $I_{\perp}(\lambda)$  的散射信号。附着于纤维头 (fiber tip) 的渐变折射率 (GRIN) 透镜用于校准来自照明纤维的光以及将来自样品的反向散射光聚焦进入两个收集纤维中。GRIN 透镜还确保收集纤维接收来自照明纤维照射的相同区域 (光斑直径 = 0.7mm) 的散射光。以 8° 角抛光 GRIN 透镜顶端 (tip) 以防止镜面反射。在探针远端, 将两个收集纤维偶联至分光仪, 该分光仪记录在 450-700nm 之间的从组织返回的光的光谱。虽然优选光的近乎连续光谱 (near-continuous spectra), 但是需要至少三个分离的波长, 至少三个分离的波长包含高血红蛋白吸收、中血红蛋白吸收和低血红蛋白吸收的每一个的至少一个波长。该特定的极化门控探针收集来自在本实施方案中相应于 SHALLOWEST (最浅) = CoPol-CrossPol ; MEDIUM (中等) = 仅 CoPol 和 DEEPEST (最深) = 仅 CrossPol 的三个穿透深度的反射信号。可选择地, 可以是其它结构。例如, 对于仅具有 2 个收集纤维、一个照明纤维和单个偏振光的 (CoPol 或 CrossPol 之一) 接受纤维的探针, 则只需要 1 个穿透深度。

[0031] 在这方面, 注意, 从单个深度得到的 PLS 并优选 PLS 和 OHb 两者可以提供充分的诊断信息, 虽然具有从多个深度, 特别是粘膜层内的多个深度得到的该信息可以提供甚至更好的结果, 这是因为不同的组织深度也许具有不同的诊断灵敏度。还注意, 用 EIBS 通过观察共极化和交叉极化以及共极化减去交叉极化的接收信号可以在一次测量中得到多个深度。

[0032] 探针的收集纤维获得相对于入射极化向的共极化 ( $I_{\parallel}$ ) 和交叉极化 ( $I_{\perp}$ ) 的信号。

由于光的多次散射使其极化方向随机化,  $I_{\perp}$ -通道专一地采样多散射光, 而  $I_{\parallel}$  通道采样短途光 (short-traveled light) 和多散射光的组合 ( $I_{\parallel}$  和  $I_{\perp}$  收集相同量的去极化光)。因此, 通过各通道收集效率标准化后, 这两个信号之差 ( $\Delta I$ ) 分离出最短途光。为了最小化来自周围背景光的系统影响以及改变纤维偶联效率, 我们使用以下标准化方案:

$$[0033] \quad I_{\perp}(\lambda) = \frac{i_{\perp}(\lambda) - BG_{\perp}(\lambda)}{K \cdot RF_{\perp}(\lambda)} \quad (1)$$

$$[0034] \quad I_{\parallel}(\lambda) = \frac{i_{\parallel}(\lambda) - BG_{\parallel}(\lambda)}{RF_{\parallel}(\lambda)} \quad (2)$$

$$[0035] \quad \Delta I(\lambda) = I_{\parallel}(\lambda) - I_{\perp}(\lambda) \quad (3)$$

[0036] 其中  $I_{\parallel}(\lambda)$ 、 $I_{\perp}(\lambda)$  和  $\Delta I(\lambda)$  分别表示标准化后的交叉极化、共极化和微分极化信号。i 表示当探针与样品接触时的测量信号, BG 表示当探针头与水接触时得到的背景信号, RF 表示从聚四氟乙烯反射率标准片得到的信号, 和 K 是表示反射率标准片在去极化光的效率的常数。对于使用的特定白色标准, 常数 K 测定为 0.89。通常该常数 K 是当用线式偏振源照明时实验测定的交叉极化与共极化接受光的比。

[0037] 因此, 通过使用两个来自垂直极化的收集通道的单独测量计算来自三个穿透深度的信号。注意虽然  $I_{\perp}(\lambda)$  信号相应于三个中的最长穿透深度, 但是该信号与光子散射的扩散方式相比仍然是表面的。可单独分析如上所述来自三个不同穿透深度的信号用于如下所述的氧合血红蛋白和脱氧血红蛋白以及有效血管大小。由此产生可具有不同诊断灵敏度的三种不同组织深度的估算的 OHb、DHb 和 PLS 参数。例如, 表面 OHb (源自上述等式 3 的光谱) 是高度诊断的。

[0038] 定量有效血管大小

[0039] 之前已公开了组织中的氧合和脱氧血红蛋白浓度的定量。简言之, 基于比尔-朗伯定律我们研发了算法。该模型假定对于三种类型的极化门控信号的每一个, 由于样品内光学性质的不同而引起的路径长度的差异是很小的。

[0040] 在该特定的应用中, 由于与 PLS 测定相关, 注意, 消光系数 (以下列出的  $A_{ohb}$  和  $A_{dhb}$ ) 随着 PLS 而变化, 并且用 PLS 计算它们不仅给出 PLS 的评价, 而且还导致更精确的 OHb 和 DHb 读数。由吸收引起的衰减与吸收体浓度具有逆指数 (inverse exponential) 关系, 并且可如下约算从组织返回的光的光谱:

$$[0041] \quad I(\lambda) = I_{scattering}(\lambda) \cdot e^{-\alpha_{OHb} \cdot A_{OHb}(\lambda) - \alpha_{DHb} \cdot A_{DHb}(\lambda)}, \quad (1)$$

[0042] 其中  $I_{scattering}(\lambda)$  是如果待观察样品缺少吸收体, 则为来自待观察样品的散射信号,  $A_{OHb}(\lambda)$  是氧合血红蛋白的吸收光谱,  $A_{DHb}(\lambda)$  是脱氧血红蛋白的吸收光谱。  $\alpha_{OHb}$  和  $\alpha_{DHb}$  分别是氧合和脱氧形式血红蛋白的光路径长度和血红蛋白浓度的乘积。  $HbO_2$  和  $Hb$  的吸收光谱汇编自出版物来源。

[0043] 在血供不存在 ( $Hb$  浓度 = 0) 时,  $I(\lambda) = I_{scattering}(\lambda)$ 。如果  $Hb$  浓度不是零, 则由于存在  $Hb$  吸收带引起记录光谱改变。这允许定量氧合和脱氧  $Hb$  的浓度。  $Hb$  不是在整个组织体积内均一分配而相反包裹于血红细胞 (RBC) 之内以及 RBCs 反过来集中于血管内的

事实进一步改变光谱。该“Hb 包裹”现象能够定量有效血管大小 (PLS) 并进一步改善氧合和脱氧 Hb 浓度测量的准确性。

[0044] 为了测量 PLS, 对于血红蛋白包裹, 必须根据由 J. C. Finlay 和 T. H. Foster, 在“Effect of pigment packaging on diffuse reflectance spectroscopy of samples containing red blood cells”*Opt Lett* 29, 965-967 (2004) 中描述的方法校正吸收光谱。当将血红蛋白局限于或包裹于红细胞和血管时, 与血管内的红细胞可能彼此遮挡入射光一样, 在同样的红细胞内的血红蛋白分子也可能彼此遮挡入射光。另外地, 未被红细胞占据的样品体积提供不采集任何血红蛋白样品的可能光路。最终结果是氧合 Hb 和脱氧 Hb 两者的吸收光谱平化 (flattening)。可由溶液中的消光光谱乘以如上所述由 Finlay 和 Foster 描述的失真系数求得校正的消光光谱,  $A(\lambda)$ 。例如, 脱氧 Hb (DHb) 的消光光谱如下获得,

[0045]

$$A^{DHb}(\lambda) = A_{solution}^{DHb}(\lambda) * \left[ \left( 1 - \frac{2}{(2\mu_a^{DHb}(\lambda)R)^2} (1 - (2\mu_a^{DHb}(\lambda)R + 1) \exp(-2\mu_a^{DHb}(\lambda)R)) \right) \frac{3}{4R\mu_a^{DHb}(\lambda)} \right] \quad (2)$$

[0046] 其中,  $\mu_a^{DHb}$  是 DHb 在单个红细胞中的吸收系数,  $R$  是 DHb 的包裹长度标尺。此处  $\mu_a^{DHb}$  等于  $A_{solution}^{DHb}(\lambda) * [DHb]$ , 其中对于脱氧红血细胞的悬浮液,  $[DHb]$  (单个红细胞中 DHb 的浓度) 测定为 6.25mM。还采用相似的等式来校正 OHb 的吸收光谱。对于由红细胞溶液测量的光谱,  $R$  相应于红血细胞的半径。然而, 当将红细胞进一步包裹于血管中时, 从所有可能光路经过血管来看, 包裹效应不再由于细胞本身, 而代替变为 Hb 包裹的量度。因此,  $R$  (血管内包裹的红血细胞的长度标尺) 称作有效血管大小。

[0047] 示出来自组织的记录光谱的等式 1 和 2 与参数  $\alpha_{OHb}$ 、 $\alpha_{DHb}$  和  $R$  有关。现在我们讨论这些参数, 特别是有效血管大小  $R$  是如何由组织光谱测定的。有效血管大小作为之前发展的算法的部分来测定以定量氧合和脱氧 Hb 浓度。对“内源性”散射光谱  $I_{scattering}(\lambda)$  的认识, 将允许我们应用等式 1-2 和推导最适合测量光谱  $I(\lambda)$  的  $\alpha_{OHb}$  和  $\alpha_{DHb}$ 。虽然散射光谱的确切函数形式之前不知道, 但考虑到将  $I_{scattering}(\lambda)$  预期作为波长的慢变函数并且将不会显示氧合和脱氧 Hb 吸收带的事实, 仍可以估算氧合和脱氧 Hb 浓度。

[0048] 为了实现由上述等式 (1) 和 (2) 所述的算法, 我们将散射光谱假定为处于具有连续折射率随着大相关长度标尺而波动的随机介质用降低的散射系数的玻恩近似 (Born approximation) 的形式, 其具有以下形式:

$$I_{scattering}(\lambda) \propto \lambda^{2\beta-4}, \quad (3)$$

[0050] 其中  $\beta$  为表征折射率相关函数 ( $0 < \beta < 2$ ) 的类型的参数。对于给定的组织位点, 探针测量光谱  $I(\lambda)$ 。然后对于给定的参数  $\alpha_{OHb}$ 、 $\alpha_{DHb}$  和  $R$ , 通过采用等式 1-2 计算  $I_{scattering\_measured}(\lambda)$ :

$$I_{scattering\_measured}(\lambda) = I(\lambda) \cdot \exp[\alpha_{DHb} \cdot A_{DHb}(\lambda) + \alpha_{OHb} \cdot A_{OHb}(\lambda)]. \quad (4)$$

[0052] 如果参数  $\alpha_{OHb}$ 、 $\alpha_{DHb}$  和  $R$  正确的表征了组织微脉管系统, 则这是将观察到的散射光谱。如果参数的选择的确正确, 则  $I_{scattering\_measured}(\lambda) \propto I_{scattering}(\lambda) \propto \lambda^{2\beta-4}$ 。另一方面, 如果选择不正确, 则  $I_{scattering\_measured}(\lambda)$  将作为 Hb 吸收“凹陷”(如果  $\alpha_{OHb}$ 、 $\alpha_{DHb}$  低估了真实浓度) 或作为 Hb “突起”(如果  $\alpha_{OHb}$ 、 $\alpha_{DHb}$  高估了真实浓度) 仍显示 Hb 吸收特征。因此, 选择系数  $\alpha_{OHb}$ 、 $\alpha_{DHb}$  和  $R$  以及  $\beta$  以使  $I_{scattering\_measured}(\lambda)$  和  $\lambda^{2\beta-4}$  之间的均方误差之

和最小化。这可通过各种最优化算法来实现。

[0053] 与之前讨论的氧合和脱氧血红蛋白的计算相比, PLS 的计算加强了对照明和收集光的光谱的附加要求: 宽波长范围对于 PLS 测量是重要的。特别地, 至关重要是该波长范围包括可忽略氧合和脱氧 Hb 吸收的波长。例如, 480–680nm 的波长范围足以计算有效血管大小。如果波长范围不包括可忽略氧合和脱氧 Hb 吸收的波长, 则 PLS 的计算变得不准确和不稳定。这样的话, 虽然可能仍然测定氧合和脱氧 Hb 的浓度, 但是即使信号中的小偏差 (例如由于噪音) 也可能导致 PLS 计算值不相称的偏差。这部分是因为最优化的函数在函数空间中具有大量类似的局部最小值。例如, 虽然 450nm 直至 600nm 的范围可足以评价 Hb 浓度, 但是不足以测定 PLS, 这是因为其不包含显示低血红蛋白吸收的波长范围。

[0054] 基于 PLS 和 OHb 的预测规则

[0055] 可单独或优选一起有效地使用 EIBS 的 PLS 和 OHb 参数作为筛查结肠癌的试验, 并且这由以下提供的支持数据所证实。然而, 在提供该讨论之前, 进行预测规则的讨论。

[0056] 基于直肠 EIBS 鉴别患有晚期腺瘤的患者与对照患者。

[0057] 为了基于直肠粘膜微血管系统的分析来区分患有和未患腺瘤的患者, 基于上述的两个 EIBS 参数可开展预测规则: 氧合 Hb 浓度和 PLS、有效血管大小。从图 1(c) 所示的散点图还可知, OHb 和 PLS 是不相关的 (皮尔森  $r$  值 = 0.0456), 表明它们是独立的瘤形成风险的预测指标 (predictor)。例如, 可将预测规则设计如下。首先, 基于接受者操作特征 (ROC) 曲线, 测定 OHb 的阈值以得到所希望的灵敏度和特异性。例如, 可选择 OHb 的阈值 (此处定义为 OHb<sub>t</sub>) 以使灵敏度 = 100%。基于类似考虑得到有效血管大小的阈值 (EBVS<sub>t</sub>)。然后可独立地将每个选定的阈值用于简单的结肠癌筛查试验。例如, 处于风险中的患者将是在一次测试中具有大于 OHb<sub>t</sub> 的标准化的氧合血红蛋白值的那些。单独地, 第二次测试将区分处于风险中的患者是否它们具有小于 EBVS<sub>t</sub> 的标准化的包裹长度标尺。虽然每种上述规则可单独使用, 但基于通过当且仅当患者具有低于 EBVS<sub>t</sub> 的有效血管大小和高于 OHb<sub>t</sub> 的 OHb 值时将患者分类为阳性而制定的进一步的组合预测规则可达到更好的结果。该规则产生 100% 的灵敏度和 74% 的特异性。留一法交叉验证后, 灵敏度保持 100%, 同时具有 71% 的特异性。注意, 得到的标准化的氧合血红蛋白值和得到的标准化的包裹长度标尺优选从健康个体的对照组中得到。

[0058] 现提供支持上述筛查预测规则讨论的数据

[0059] 支持数据。对包括无腺瘤的 165 人、患有单发性非晚期腺瘤的 39 人、患有多发性非晚期腺瘤的 9 人和患有晚期腺瘤的 12 人的 216 个患者进行研究。进行结肠镜检查的患者具有平均 10 的读数 (在内窥镜正常的直肠中使用纤维 - 光学 EIBS 探针得到该读数)。我们的分析显示表面 ( $< 100 \mu\text{m}$ ) OHb 在具有多发性非晚期腺瘤或单发性晚期腺瘤的受试者中改变。如图 1(a) 所示, 存在类似于肿瘤风险的逐步发展。直肠的 PLS 在晚期腺瘤患者中降低 (图 1(b))。当 PLS 和 OHb 组合为单个预测规则时, 晚期腺瘤患者是明显分开的 (图 1(c))。基于直肠 OHb 和 PLS 的预测规则在接受者操作特征曲线下的面积 (AUROC) 是优异的, 为 0.927。

[0060] 该数据显示基于 EIBS 的筛查结肠癌的试验是有效的。因此, 阴性直肠 EIBS 试验的患者可以放弃结肠镜检查, 而阳性直肠 EIBS 试验的患者将需要结肠镜检查。由于没有该预筛查, 所有患者将需要结肠镜检查, 适度的假阳性率是可接受的, 而假阴性将可能导致临

床上的不良结果。因此,可设定阈值以达到灵敏度 100%和特异性为 75%。由包括年龄和吸烟史的人口因素的混淆以及由包括痔疮、憩室病和良性增生性息肉的良性病变的混淆已确认对筛查试验结果没有重要影响。

[0061] 上述筛查试验可用作仅靶向最可能患癌形成的患者的方法。这在许多方面是利用粪便隐血试验 (FOBT) 或可屈性乙状结肠镜检查作为初步筛查试验的基础,并只有当患者是阳性时才送他们结肠镜检查。问题是这些现存试验的灵敏度是显著地低(对于晚期腺瘤 FOBT 具有约 10%的灵敏度)。因为预筛查试验是有价值的,其对于临床重要病变(晚期腺瘤或癌)将不得不具有显著的灵敏度。考虑到假阳性(其将强制结肠镜检查,然而不进行试验,每人应进行结肠镜检查)的容差,特异性应当良好但无须完美。

[0062] 因此,直肠 EIBS 筛查试验至少具有以下应用:

[0063] 1) 直肠 EIBS 筛查试验作为由初级护理内科医师或妇科医生(女性中)的年度体检中的单独测试。可进行该直肠 EIBS 筛查试验而无需结肠镜检查或结肠制剂。后者是患者非顺应性的主要原因之一。最初地,直肠 EIBS 筛查试验可在拒绝结肠镜检查的患者上进行。基于直肠 EIBS 筛查试验的结果,可指示患者接受结肠镜检查(考虑到直肠 EIBS 筛查试验结果,患者将更顺应)。因此,处于较高 CRC 风险的患者将酌情接受结肠镜检查,而低风险患者将不进行这些昂贵的、不舒服的过程。

[0064] 2) 在可屈性乙状结肠镜检查 (FS) 过程中的直肠 EIBS 筛查试验(远端结肠的内窥镜评价)。在过去几十年,FS 已被用于 CRC 筛查。FS 仅检测结肠的远端部。如果鉴定为腺瘤,患者进行完全结肠镜检查以同时除去远端息肉和鉴定潜在近端病变。由于较少的不安和同样重要的更可容许的结肠清洗,患者的顺应性更好。从社会角度,可屈性乙状结肠镜检查的优点包括其相对廉价,具有较低的并发症率并可以通过初级护理内科医生或甚至护士实践者来进行(因此增强内窥镜的能力)。可屈性乙状结肠镜检查的批评集中于其不能评价近端结肠的病变,这导致很大程度上被结肠镜检查所回避。考虑到分离的近端瘤形成(isolated proximal neoplasia) 妇女流行更高,该局限性对妇女特别重要。的确,可屈性乙状结肠镜检查可鉴定三分之二具有晚期瘤形成(晚期腺瘤或癌)的男性,但女性仅为三分之一。在由 PCP 或由护士实践者进行的可屈性乙状结肠镜检查过程中的直肠 EIBS 筛查试验可帮助鉴定具有近端瘤形成但没有远端腺瘤的那些患者。

[0065] 接触测量时的获取。当使探针与组织接触时,探针在组织上产生压力。该接触降低血流。而氧继续从动脉红血细胞扩散进入组织,希望由探针测量的氧合 Hb 的浓度将随着时间而下降。我们通过记录 5 个各 50msec 的相邻读数来测试该假说。图 2 显示测量的氧合 Hb 浓度以及组织氧化随时间而降低,支持了该假说。降低预期是时间的指数函数。该效应应具有两个重要的含意:

[0066] 1) 除非已知探针何时和组织接触,否则在接触和操作人员(例如内窥镜操作人员)开始获取信号时的时间点之间将始终存在有限的延迟。该延迟将不确定性以及额外的可变性引入由探针测量的氧合 Hb 浓度的值。如图 2 所示,该潜在的可变性相当重要:小至 0.25 秒的延迟可导致达至少 15-20%的氧合 Hb 浓度的明显降低。因此,为了降低可变性和确保准确测量,必要的是能够测定探针-组织接触的时间。

[0067] 2) 该效应提供测量氧扩散率的机会,这反过来是组织代谢率的指示。这可用作生理学和病理生理学过程的又一标记物。接触测量可由许多方法来实现。一种方法基于由探

针收集的散射光强度与探针至组织的距离逆相关,并且当探针到组织的距离超过临界距离时迅速消失的事实。例如,对于用于收集上述数据的探针,该临界距离为 $< 1\text{mm}$ 。在一次施行中,由探针收集的光强度是连续监测的。超过临界水平的强度的快速增加表明探针与组织接触。该快速增加可用于自动引发获得用作正确患者数据的信号。连续监测无须在整个光谱进行。为了节省信号获取和分析时间,记录和分析波长窄带的信号强度是足够的。例如,可以查看单个或窄波段波长的反射强度,并且一旦强度超过阈值,则将知道探针与组织接触。在该方法中,可以每 50msec 以下进行监测。

[0068] 因此,获得测量可以发生在接触的时候以及在接触后的延迟期后,并优选在接触时和接触时之后两者。

[0069] 此外,可以测试远端结肠的许多不同位置,然后将结果一起平均以提供筛查指标,虽然可以进行少至一次的测量,但具有 3-6 次之间的测量是优选的,具有超过 10 次的测量存在很少优点。另外,基于测定的读数,本文的筛查试验还可用于决定什么时候进行另外的试验以重新测定器官内的活组织是否可能异常。因此,估算的血管大小和估算的 OHb 越接近标准值,内科医生可建议患者越早返回另外的筛查试验。

[0070] 提供本发明示例性实施方案的上述说明仅用于阐释和说明目的,并非意于穷尽或限制本发明为公开的准确形式。根据上述教导,可进行许多修改和变化。

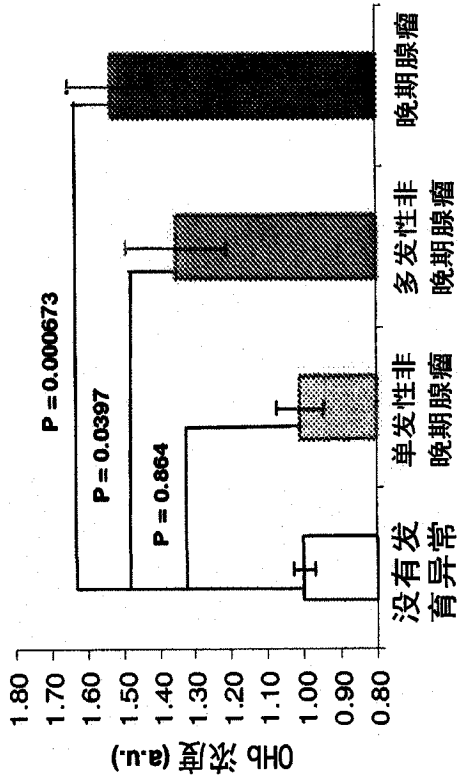


图 1a

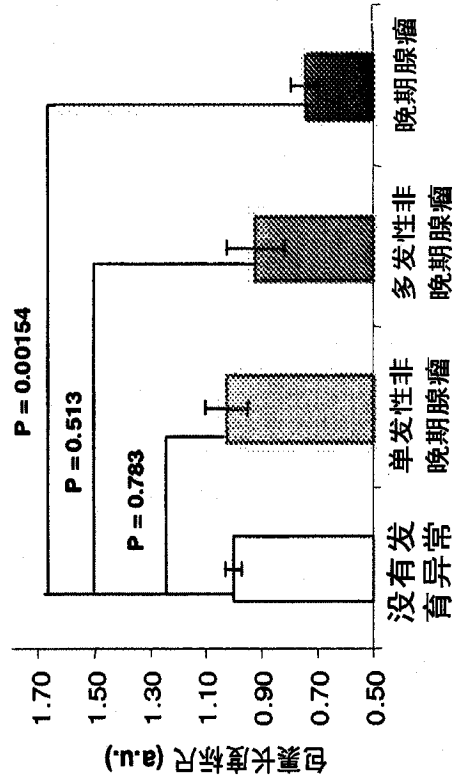


图 1b

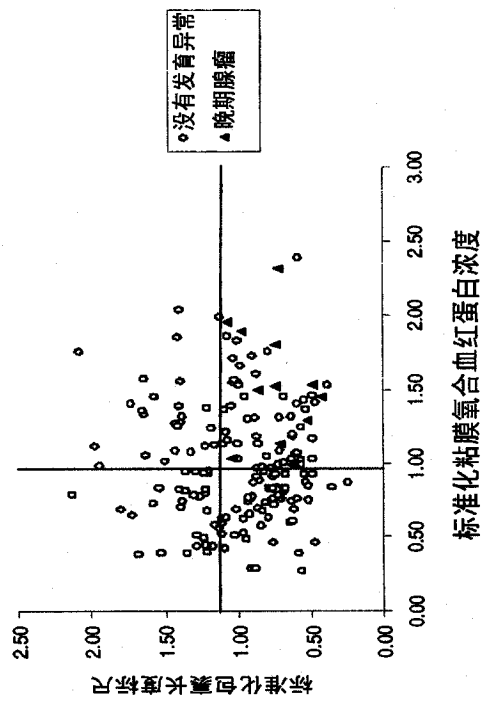


图 1c

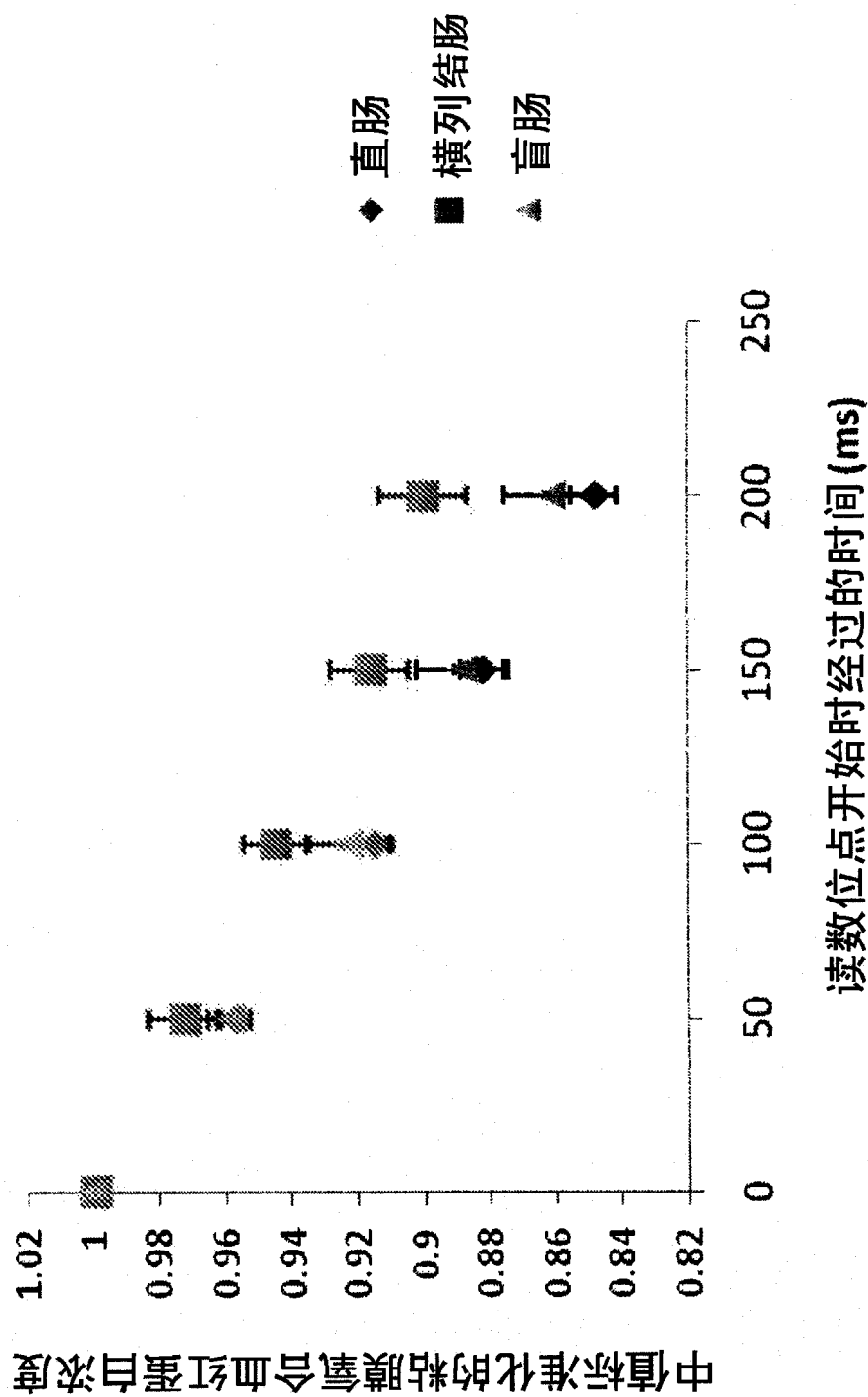


图 2a

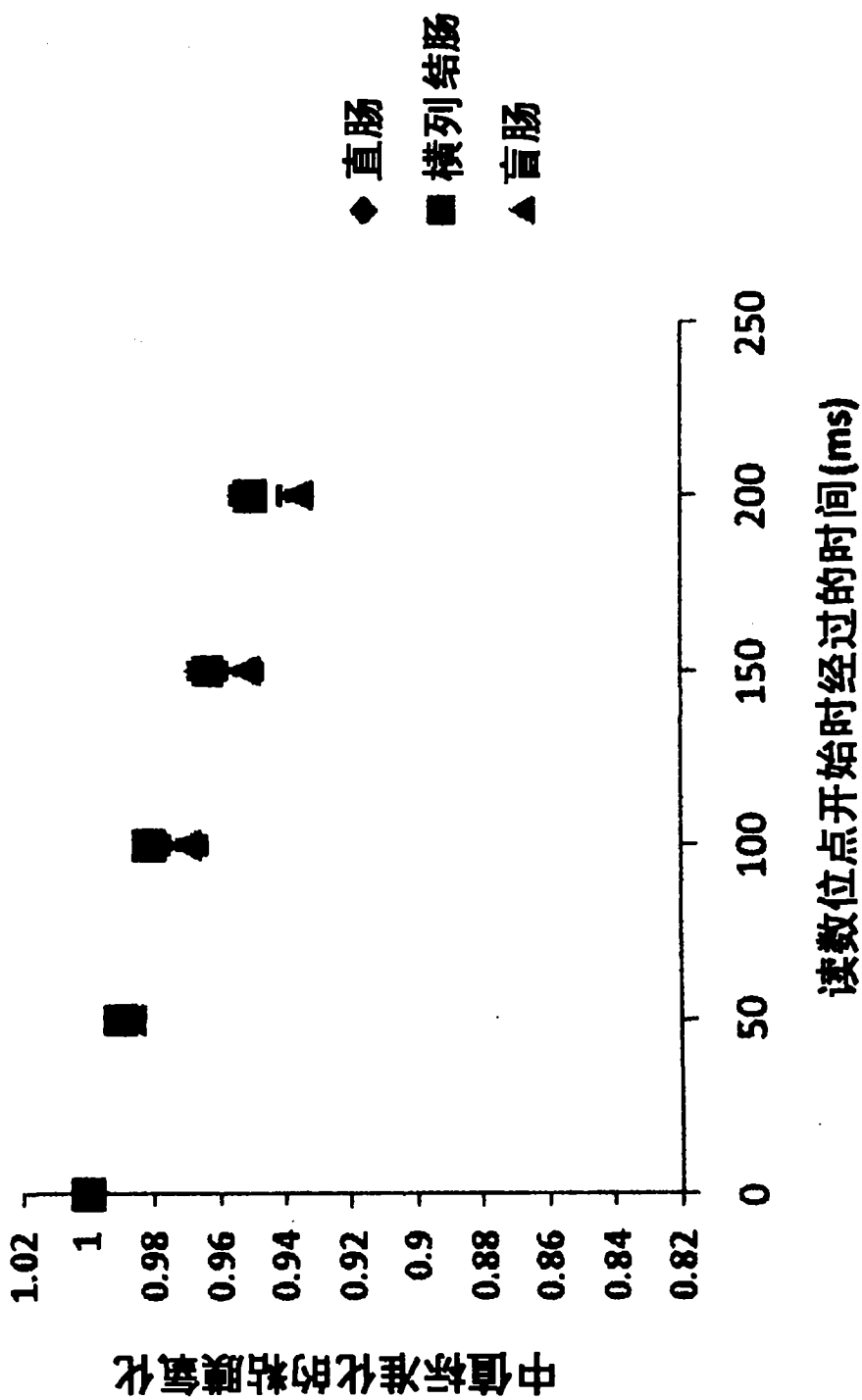


图 2b

专利名称(译)	利用通过微脉管血含量早期增加的检测得到的参数筛查癌症的方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN102348405A</a>	公开(公告)日	2012-02-08
申请号	CN201080011157.4	申请日	2010-01-08
[标]申请(专利权)人(译)	北岸大学健康系统公司		
申请(专利权)人(译)	北岸大学健康系统 西北大学		
当前申请(专利权)人(译)	UNIV西北		
[标]发明人	V贝克曼 H罗伊 A戈麦斯 S鲁德尔曼 J罗杰斯		
发明人	V·贝克曼 H·罗伊 A·戈麦斯 S·鲁德尔曼 J·罗杰斯		
IPC分类号	A61B1/00 A61B5/145		
CPC分类号	A61B5/4255 A61B1/31 A61B5/0075 A61B5/0084 A61B5/0261 A61B5/1459 A61B2560/0443 A61B2562/0242		
代理人(译)	刘新宇		
优先权	12/350955 2009-01-08 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明在一方面，涉及利用称为“微脉管血供早期增加”(EIBS)来筛查肿瘤或病变的试验，该“微脉管血供早期增加”(EIBS)存在于接近但本身不是异常组织的组织和该病变或肿瘤发展之前的组织中。虽然异常组织可以是病变或肿瘤，但异常组织还可以是病变或肿瘤形成之前的组织，例如癌症前期腺瘤、畸变隐窝病灶，本身还没有显示发育异常表型的发育异常病变发展之前的组织，和在这些病变或前-发育异常组织附近的组织。

$$I_1(\lambda) = \frac{i_1(\lambda) - BG_1(\lambda)}{K \cdot RE_1(\lambda)} \quad (1)$$