



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 00804258.6

[45] 授权公告日 2005 年 7 月 20 日

[11] 授权公告号 CN 1211046C

[22] 申请日 2000.1.25 [21] 申请号 00804258.6

[30] 优先权

[32] 1999. 1. 25 [33] US [31] 09/237,153

[86] 国际申请 PCT/US2000/001967 2000. 1. 25

[87] 国际公布 WO2000/042912 英 2000. 7. 27

[85] 进入国家阶段日期 2001. 8. 24

[71] 专利权人 麻省理工学院

地址 美国马萨诸塞州

[72] 发明人 范迪姆·贝克曼

拉曼查德·R·戴萨尔

拉简·格贾尔 埃文宁·伊特兹肯

列弗·佩瑞尔曼

迈克尔·S·费尔德

审查员 熊 茜

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

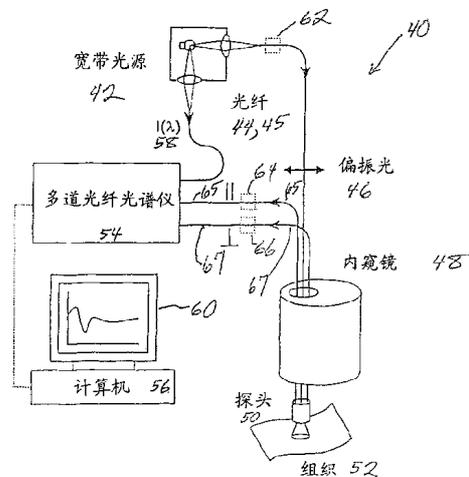
代理人 过晓东

权利要求书 3 页 说明书 14 页 附图 7 页

[54] 发明名称 一种在体外检测组织中发育异常的方法和光纤探头

[57] 摘要

这项发明涉及使用偏振光测定组织的性质。更具体地说，偏振光可以被用来检测组织的发育异常，因为来自基础组织的漫散射光线的贡献可以消除时，来自这种异常组织的反向散射光线的偏振现象被保存下来。用来发送和收集光线的光纤系统可以用来测定人体内的组织。



1. 一种从人类或动物移出的组织中检测发育异常的方法，该方法包括：

检测入射到所述组织的偏振光，所述偏振光具有多个波长，所述组织包括具有表面层的第一上皮层以及下面的组织层；

检测从所述的表面层返回的偏振反向散射光，所述反向散射光具有一个周期性分量，所述分量是波长的函数；以及

通过检测到的所述反向散射光的周期性分量，确定所述表面层的组织是否正常或包含上皮细胞发育异常。

2. 根据权利要求1的方法，进一步包括确定在所述的表面层的区域内组织细胞的大小。
3. 根据权利要求1的方法，进一步包括消除从所述组织返回的光的非偏振分量。
4. 根据权利要求1的方法，进一步包括提供光纤探头，以及用所述探头收集来自组织的偏振光。
5. 根据权利要求1的方法，进一步包括用检测到的反向散射光形成光谱，该光谱包括在300纳米至1200纳米范围内的波长。
6. 根据权利要求1的方法，进一步包括用检测到的偏振光确定所述的表面层区域的折射率。

7. 根据权利要求 1 的方法, 进一步包括检测来自组织样品的光线。
8. 根据权利要求 7 的方法, 进一步包括提供宽带光源和滤光轮以及使偏振光照射到组织样品上。
9. 根据权利要求 1 的方法, 进一步包括把从所述的表面层的区域返回的光线的偏振分量分离出来以及分析这两个分量以便从检测到的光线中除去非偏振的反向散射光线。
10. 一种用来测定组织表面层的光纤探头, 其中包括:
  - 光缆, 该光缆与光源光学耦合, 所述光缆从所述光源将具有多个波长的光传送到病人的组织上;
  - 偏光器, 所述偏光器与所述光缆光学耦合且使由所述光缆导向所述组织的入射光成为偏振光;
  - 分析仪, 所述分析仪把通过所述光缆从所述组织返回的偏振分量分离出来; 以及
  - 探测器系统, 所述探测器系统与所述分析仪光学耦合, 从而使所述探测器系统检测分离出来的包括周期性分量的光偏振分量, 所述探测器系统生成光谱数据, 从而确定所述组织中一个结构的大小。
11. 根据权利要求 10 的探头, 其中所述的偏光器包括偏振片, 该偏振片定位在光缆的远端, 使来自光源的光线偏振。
12. 根据权利要求 10 的探头, 进一步包括内窥镜, 该内窥镜具有用来插入探头的管道。
13. 根据权利要求 10 的探头, 其中分析仪包括偏振光束分离器。

14. 根据权利要求 10 的探头，其中分析仪定位于光缆的远端。
15. 根据权利要求 10 的探头，进一步包括在探头远端的众多偏振滤光片。
16. 根据权利要求 10 的探头，其中光源包括宽带光源和滤光轮。
17. 根据权利要求 10 的探头，进一步包括光谱仪，该光谱仪与光缆光学耦合。
18. 根据权利要求 10 的探头，进一步包括用来储存光谱的电子存储器，该光谱包括在 300 纳米至 1200 纳米范围内的波长。
19. 根据权利要求 10 的探头，进一步包括计算机，该计算机分析检测到的光谱，以便确定组织的表面层究竟是正常的还是上皮细胞发育异常。

## 一种在体外检测组织中发育异常的方法和光纤探头

### 相关的专利申请

这项申请要求 1999 年 1 月 25 日提交的美国专利申请第 09/237,153 号的优先权，该文献的全部内容通过此在引证并入本文。

### 政府的支持

本发明全面地或部分地得到来自国家健康研究所（批准号 P41RR02954）的支持。政府对这项发明有某种权利。

### 本发明的现有技术

90%以上的癌损伤源于上皮细胞。最常见的上皮细胞癌的几种形式（例如，结肠直肠癌、食管癌、膀胱癌、颈癌和口腔癌）都具有明确定义的可检测的癌变前期阶段，称之为发育异常。发育异常是通过致癌基因和肿瘤抑制基因中突变的连续累积表征的。如果进行检测，绝大多数发育异常损伤是可医治的。在上皮细胞癌的癌变前期阶段进行检测和治疗的临床研究已经证明降低了死亡率。

上皮细胞发育异常的诊断至今仍然是困难的，因为它通常不形成息肉之类的宏观结构，并且通常在癌已经发展之后才是可见的。检测上皮细胞发育异常的标准方法是根据对染色的活组织检查材料的随机的活组织检查和病理学诊察。但是，随机的活组织

检查采样误差高。在许多情况下，处在发育异常的危險之中的上皮细胞只有不足1%能够得到诊察。

所有类型的上皮细胞发育异常具有几个共同的特征，即上皮细胞核随着核质比增加而增大、核染色过度、以及上皮细胞的数量和分层增大。不考虑这些特征明确的上皮细胞变化，分类就象观察者间（甚至在经验丰富的病理学家之间也在所难免）的不同意见所证明的那样难以进行。

美国专利第5290275号公开了一种由光纤构成的激光导管，这种激光导管在柔软的情性塑料导管材料中传输激光辐射，在导管的一端具有一个透明的光学保护头。激光导管被插入血管中，而光学保护头被带入并与病斑相接触。当保护头与病斑或其它阻塞点相接触时，干扰的血液被挤开，从而使用直接的辐射进行诊断和组织切除成为可能。该文献公开了使用荧光和散射光进行光谱测量。该文献公开了使用光纤探头进行光的传输和从组织返回光的收集，且用于光谱分析。但是，该文献没有公开采用从组织的表面层反射回来的偏振光，其中该反射光保持其偏振。

## 本发明的概述

上皮细胞发育异常的非侵入性体内检测方法是为在人体内监视上皮细胞表面和诊断癌症前期症状准备的。

光学技术非常适合作为随机的活组织检查的代替，因为它们是非侵入性的、不需要切除组织并且能够在体内完成。此外，它们快捷（能够实时应用）、费用比较低、能够在微观规模上工作、并因此能够找到非常小的发育异常部位。后者非常可能被随机的活组织检查错过。

本发明涉及提供有关在混浊介质（例如，组织）的表面层中的散射体的信息的偏振光的散射光谱学。这种方法不需要利用荧光或吸收光谱的特征，而是利用表面组织（例如，上皮细胞层）的散射特性。它能够描写人体上皮细胞中的大散射体（细胞核）的特征，提供有关人体组织的组织学信息和在人体器官中对发育异常进行活体内的实时诊断。

用来确定上皮组织特征的非偏振光散射光谱学的概念是在1997年10月10日归档的美国专利申请第08/948,734号和指定美利坚合众国的1998年10月9日提交的国际专利申请第PCT/US98/21450号中介绍的，在此通过引证将这些申请的全部内容并入本文。在上皮细胞中主要的光散射中心是细胞的细胞器，例如折射率比周围的细胞质高的线粒体和核。从表层上皮细胞的细胞核反向散射的光线具有依赖于振动波长的分量。这些分量的周期性随着细胞核尺寸增加，而且其振幅与细胞核的密度有关。因此，通过分析振动分量的振幅和频率，上皮细胞核的密度和尺寸分布就能被确定。正常的细胞核具有 $1=4-7$ 微米的特征直径。反之，发育异常的细胞核可能象20微米那样大。细胞核的尺寸和密度是生物组织中赘生物癌变前期变化的重要的指示器。在活体内实时地测定细胞核的尺寸分布的能力在临床医学中具有明显的应用价值。这使非侵入性地实时诊断各种人体器官（例如，食管、结肠、膀胱、口腔、子宫颈等）中的癌变前期变化成为可能。

上皮覆盖着人体中各个器官的表面。上皮的厚度在20微米（一个细胞层）和两三百微米（多个细胞层）之间变动。在上皮下面有比较非细胞的结缔组织层和肌肉组织层。由于发育异常被制限在上皮范围内，所以区分与上皮和底层组织相关联的信号是至关重要的。携带着关于表层上皮细胞核的信息的反向散射分量存在于从粘膜组织反射的光线中。但是，它在振幅方面原本是非常小的，并且容易被来自底层组织的漫散射所形成的背景信号掩

盖。为了分析那个分量，背景信号必须被除掉。人们可以通过建立一般的背景光谱特征模型除掉漫反射背景。但是，为了使这种途径在实用医学中更有用以及为了能够在不同的器官中进行活体内的实时诊断，必不可少的是开发从散射光线中除去或大幅度减少漫反射分量的更壮健的方法。

本发明提供利用偏振光谱学测定上皮细胞的散射特性的方法。请注意，最初偏振的光线在通过浑浊介质（组织是浑浊介质的实例）行进期间失去其偏振性。另一方面，在单一的散射之后反向散射的光线保留其偏振性。因此，通过除去散射光线中非偏振的分量，人们能够识别被上皮细胞散射的光线。残留的光谱可以被进一步分析，以致细胞核的尺寸分布以及它们的密度都可以被确定下来。本发明的优选实施方案包括为了对组织进行诊断用来发送和收集光线的光纤系统。该光纤系统可以装在探头壳体的近端和远端，在那里远端可以被插入人体的各种管腔以便进行活体内的组织测定。偏振片可以在发送光纤和收集光纤两者的远端上使用。采用保留光线偏振性的光纤时，偏振片可以定位在探头的近端。在三个光纤系统中，探头可以使用中心的发送光纤和两条偏离中心的收集光纤，后者收集从组织返回的光线的两个不同的偏振分量。偏振片可以是诸如石英、蓝宝石或方解石之类的双折射的结晶材料。方解石必须通过密封与工作环境隔离。

## 附图简要说明

图 1 图解说明基于偏振的光线散射光谱系统的优选实施方案。

图 2A 和图 2B 分别是用于平行偏振和垂直偏振的双层组织模型（在包含血和  $\text{BaSO}_4$  的凝胶的顶面上的聚苯乙烯圆珠）的光谱（注意，特征性的血红蛋白浸渍）。

图 3A 至图 3D 图解说说明就 (A) 4.56 微米的微珠在水中 (相对折射率  $n \approx 1.19$ ) (B) 9.5 微米的圆珠在水中 ( $n \approx 1.19$ ) 珠, (C) 5.7 微米的圆珠在乙二醇中 ( $n \approx 1.09$ ), (D) 8.9 微米的圆珠在丙三醇中 ( $n \approx 1.07$ ) 而言两种偏振的差异, 其中信号 (虚线) 与 Mie 的计算结果 (实线) 相当一致, 而血红蛋白的吸收特征被完全清除。

图 4 是反向散射光线的 (残留) 偏振分量的光谱: 实验数据对 Mie 就 T84 结肠癌细胞的偏振的反向散射的计算结果的拟合, 其中最佳拟合提供下述的一套参数: 平均尺寸 10.2 微米、标准差 1.5 微米、相对折射率 1.045; 而且尺寸和标准差与利用光学显微镜测定的那些数据一致。

图 5 是反向散射光线的 (残留) 偏振分量的光谱: 实验数据对 Mie 就正常的肠细胞的偏振的反向散射的计算结果的拟合, 其中最佳拟合提供下述的一套参数: 平均尺寸 5.0 微米、标准差 0.5 微米、相对折射率 1.035; 而且尺寸和标准差与利用光学显微镜测定的那些数据一致。

图 6 展示正常的肠细胞和 T84 结肠癌细胞的细胞核尺寸分布, 其中实线是从数据提取的分布, 而虚线是利用光学显微镜测定的分布。

图 7 示意地图解说说明按照本发明用来完成组织的光学测定的光纤探头系统。

图 8A 和图 8B 展示本发明的优选实施方案的探头远端。

图 9A 至图 9C 图解说说明按照本发明的另一种光纤探头的优选实施方案。

本发明的上述和其它目的、特征和优点通过下面更具体地介绍用附图图解说明的本发明的优选实施方案将变得明显，其中相同的参考符号在不同的视图中始终指的是同一零部件。这些附图不必按比例绘制，而把重点放在图解说明本发明的原则上。

### 本发明的详细说明

为了确定上皮细胞的性质，人们可以使反向散射光线的实测光谱与模型或表达式相关。利用 Mie 的理论（该理论提供任意尺寸的球形物体的光线散射问题的精确解），散射体的尺寸和相对折射率都可以被确定。

就偏振的入射光线而言，被直径为  $d$  的球形颗粒散射的光线具有平行于散射平面偏振的分量和垂直于散射平面偏振的分量。就按方向  $s_0$  入射的平面偏振波而言，被散射到方向  $s$  中的光线将具有平行于散射平面偏振的分量（P）和垂直于散射平面偏振的分量（S）。这两个分量的强度  $I_p$  和  $I_s$  与入射光强  $I_p^{(0)}$  和  $I_s^{(0)}$  有下述关系：

$$I_p(\hat{s}) = 4 \frac{|S_2(\hat{s}, \hat{s}_0)|^2}{K^2 d^2} I_p^{(0)}(\hat{s}_0) \quad (1)$$

$$I_s(\hat{s}) = 4 \frac{|S_1(\hat{s}, \hat{s}_0)|^2}{K^2 d^2} I_p^{(0)}(\hat{s}_0) \quad (2)$$

其中  $k$  是入射光线的波数， $S_1$  和  $S_2$  是可以利用 Mie 理论计算数值的散射振幅，而  $s_1$  和  $s_2$  是定义入射和散射的光线的传播的单位向量。散射振幅是散射角  $\theta = \cos^{-1}(s, s_0)$  的函数并且被

标准化，以致积分  $\int_0^\pi (|S_1(\theta)|^2 + |S_2(\theta)|^2) \sin \theta d\theta$  等于总的弹性散射横截面。

现在考虑一个实验，在该实验中入射的线偏振光（强度  $I_0$ ）分布在立体角  $\Delta \Omega_0$  上，而散射是在立体角  $\Delta \Omega$  上收集的。入射光线的偏振  $\varepsilon_0$  可以被分解成在散射平面（即由  $s$  和  $s_0$  形成的平面）中的分量  $\varepsilon_p^0$  和垂直分量  $\varepsilon_s^0$ 。借助分析仪，我们检测散射光线强度的两个正交的分量，具有偏振  $\varepsilon^I_\alpha$  的  $I_\parallel$  和具有垂直偏振  $\varepsilon^{II}_\alpha$  的  $I_\perp$ 。然后，用下式给出这两个散射强度分量：

$$I_\parallel = \frac{2}{\pi k d^2} \int_{\Delta \Omega} d\hat{s} \int_{\Delta \Omega} d\hat{s}_0 I_0(\hat{s}_0) |S_2(\hat{s}_0, \hat{s}) \cos \varphi \cos \varphi_0 + S_1(\hat{s}_0, \hat{s}) \sin \varphi \sin \varphi_0|^2 \quad (3)$$

$$I_\perp = \frac{2}{\pi k d^2} \int_{\Delta \Omega} d\hat{s} \int_{\Delta \Omega} d\hat{s}_0 I_0(\hat{s}_0) |S_2(\hat{s}_0, \hat{s}) \cos \varphi \cos \varphi_0 - S_1(\hat{s}_0, \hat{s}) \sin \varphi \sin \varphi_0|^2 \quad (4)$$

如果入射光线是完全平行的（ $\Delta \Omega_0 = 0$ ），那么直接反向散射的光线将是平行于入射光线偏振方向偏振的。在这种情况下，我们可以使分析仪之一平行于入射的偏振方向取向（ $\varepsilon_0 \approx \varepsilon^I_\alpha$ ）。如果入射光线的立体角和被收集光线的立体角都相当小而且近似地相等，那么  $I_\parallel$  和  $I_\perp$  将是存在的。但是，分析仪仍然可以这样定位，以致（ $\varepsilon_0 \approx \varepsilon^I_\alpha$ ）。因此在这种情况下，收集到的光线将仍然是非常偏振的，而且  $I_\parallel \gg I_\perp$ 。就这种情况而言，残留强度的表达式  $I_\parallel - I_\perp$  可以被简化成：

$$I_\parallel - I_\perp \approx \frac{4I_0}{k d^2} \int_0^{\vartheta_0} \text{Re}(S_1^*(\vartheta) S_2(\vartheta)) \sin \vartheta d\vartheta \quad (5)$$

$$\text{其中 } \vartheta_0 = \sqrt{\frac{\Delta \Omega}{2\pi}} \text{。}$$

考虑象上皮组织那样的双层散射介质系统，其中大散射体（ $d \gg \lambda$ ）的薄层覆盖着非常混浊的基础组织层。这些分层中每层都

产生不同类型的散射。这个双层系统代表许多第一层与上皮相关、第二层与上皮下方的其它组织层相关的人体组织。上层的光学厚度如此薄，以致上层不允许多次散射。一小部分入射的线偏振光被上层中的颗粒反向散射。信号的其余部分透入光学厚度的第二层。穿过第二层的光线借助多重散射被随机化。这种弥散的光线如果在第二层中没有被吸收则返回到表面。这样，显现的光线有两种贡献：其一来自被第一层的颗粒反向散射的光线  $I_b$ ，其二是被第二层漫反射的光线  $I_d$ 。 $I_b$  具有相当高的线偏振程度，它平行于入射光线的偏振： $I_b^{\parallel} \gg I_b^{\perp}$ 。作为在第二层中多重散射的结果，漫反射的光线被消偏，因此  $I_d^{\parallel} = I_d^{\perp}$ 。所以，显现光线的残留强度  $I_{\parallel} - I_{\perp} = I_b^{\parallel} - I_b^{\perp}$  是受来自上层的贡献控制的，并且本质上免受来自下层组织的吸收和散射。

表达式 (3) - (5) 使  $I_{\parallel} - I_{\perp}$  与散射振幅  $S_1$  和  $S_2$  相关。振幅取决于散射光线的波长  $\lambda = \pi/k$ 、散射体尺寸  $d$  以及散射体的折射率与周围介质的折射率的比率... 相对折射率  $n$ 。所以，残留强度的光谱随散射体的尺寸和相对折射率变化。这样，散射体的尺寸和折射率可以找到，其方法是利用式 (3) - (5) 使 Mie 理论的表达式与残留强度的光谱拟合。

在体外测定被切除的组织试样的系统 10 是用图 1 予以图解说明的。这个系统 10 使准直的偏振光照射在组织 12 上并且把反向散射光线的两个正交的偏振分开。这两个分量的差异提供有关仅仅在上皮层中散射的光线的信息。由于通过随机介质时线偏振光比圆偏振光更迅速地被消偏，所以采用线偏振。该系统提供来自宽带光源 14 (250 W 钨灯, 66181 型, Oriel Instruments 公司, Stratford, CT) 的光线, 然后利用光纤 16、透镜 18 和光瞳 20 使该光线准直, 并且以小立体角二次聚焦到样品上。在光束通过光束分离器 24 被递送到散射介质表面之前, 宽带偏振片 22 先使光束线偏振。为了避免镜面反射, 光束以相对法线  $\sim 15^\circ$  的角度照

射在样品表面上。光束的直径是 2 毫米。反射的光线是用光瞳 26 和反射镜 28 收集到窄小的圆锥 ( $\approx 0.015$  弧度) 中的, 而两个偏振 (即平行于最初的偏振的  $I_{\parallel}$  和与最初的偏振正交的  $I_{\perp}$ ) 被宽带偏振光束分离器立方体 28 分开, 该宽带偏振光束分离器立方体 (Melles Griot 公司) 还作为我们的分析仪。来自这个分析仪的输出通过透镜 30 和 200 微米的光纤 32、34 (Ocean Optics 公司, Dunedin, FL) 被递送到多道分光镜 (四道分光镜, SQ200 型, Ocean Optics 公司, Dunedin, FL) 36 的两个信道中。这使两个分量的光谱能在 300 纳米至 1200 纳米的范围内 (或者非必选地在 400 纳米至 900 纳米的范围内) 同时测定。光束并非是完美地共线的, 而且当它们通过偏振片和分析仪立方体时这引起少许扭曲。此外, 光束分离器对 s 偏振和 p 偏振具有不同的反射率。漫反射的白色表面作为标准被用于校正波长的一致性和标定两个信道中的信号。 $I_{\parallel}(\lambda)$  和  $I_{\perp}(\lambda)$  都被标准化成相应的背景光谱,  $I_{\parallel}^B(\lambda)$  和  $I_{\perp}^B(\lambda)$  都被标准化成相应的背景光谱,  $I_{\parallel}^B(\lambda)$  和  $I_{\perp}^B(\lambda)$  是用白色漫射表面获取的。这消掉了光源中的光谱不一致性。因此, 实验实际上测定的是标准化的残留强度  $\Delta I$ :

$$\Delta I = \frac{I_{\parallel}}{I_{\parallel}^B} - \frac{I_{\perp}}{I_{\perp}^B} \quad (5)$$

为了确定操作参数, 进行了关于简单的单层和双层系统的测量。单层系统包括嵌在去离子水、乙二醇或丙三醇中的各种尺寸 (0.5 微米和 10 微米之间变动) 的聚苯乙烯圆珠 (Polyscience 公司)。这些层的厚度这样变化, 以致光学厚度  $\tau$  在 0.1 到 5 范围内, 通过  $\tau=1$  的介质传播的光子将平均经历一次散射事件。尺寸大的珠 (4-10 微米) 被用来代表细胞核。由于聚苯乙烯珠在水中的相对折射率是大约 1.2 (绝对折射率大约是  $n=1.59$ ) 并且远远高于细胞核相对细胞质的相对折射率 (它介于 1.03 到 1.1 之间),

所以乙二醇 ( $n_s=1.45$ ) 和丙三醇 ( $n_s=1.48$ ) 被用来代替水, 以便降低珠的相对折射率和更好地近似生物学条件。

在单层测定结果中, 偏振状态与入射光线相同的反向散射光线分量(用  $I_{\parallel}$  表示)几乎比偏振与入射光线的偏振正交的分量(用  $I_{\perp}$  表示)大 100 倍。这证实了来自大球形颗粒的单一的散射保留偏振。

在采用双层模型测量中, 第一层由埋入水乙二醇或丙三醇中的聚苯乙烯珠组成并且是如同在单层测量中那样制备的。第二层包括包含提供第二层的散射性质的  $\text{BaSO}_4$  粉末的溶液和人血的凝胶。血液中的血红蛋白成分把吸收性质提供给模型。这个物理模型模拟上皮和底层组织。调整  $\text{BaSO}_4$  粉末和血液的浓度可以使散射性质和吸收性质类似于生物组织的那些性质, 因为已知血红蛋白是在光谱区域中的主要吸收体。

图 2A 和图 2B 展示从双层系统反射出来的光线的平行偏振分量  $I_{\parallel}$  和正交偏振分量  $I_{\perp}$  的光谱。在这个测量中, 第一层包含埋在乙二醇中的珠。珠的平均直径是 4.56 微米, 其尺寸标准差是 0.03 微米。第一层的光学厚度是  $\tau \approx 0.8$ 。第二层的光学厚度及其散射和吸收性质都与生物组织的不相上下。 $I_{\perp}$  的光谱受血红蛋白的特征吸收带的控制。同时, 被第一层中 4.56 微米的微珠散射的光线的特征光谱的特点(即明显的波纹结构)和第二层中的血红蛋白吸收都可以在  $I_{\parallel}$  的光谱中看到。

在残留的光谱  $\Delta I$  是用 3A 表示的。没有看到血红蛋白的吸收特征, 来自第二层的漫射背景被彻底清除。来自球的散射的波纹结构是明显的。与 Mie 理论对于  $d=4.56$ 、 $\Delta d=0.03$  微米和  $n=1.035$  (在图 3B 中用微米表示) 的散射体的表达式比较表明精确度相当高。在把其它尺寸(5.7 微米、8.9 微米和 9.5 微米)的微珠埋在所用的任何一种介质(水、乙二醇和丙三醇)中进行测量时所

获得的残留光谱没有可测量的漫射背景并且与 Mie 理论一致。图 3B 表示就 9.5 微米的微珠而言理论和测量结果之间的一致性。

类似地，对于在乙二醇和丙三醇中的 5.7 微米和 8.9 微米的微珠进行测量的结果分别图 3(C)和图 3(D)表示。在这些情况下 Mie 理论也与实测值相符。高频率的波纹结构随着相对折射率变小而减少。法定频率振荡仍然是明显的。测量结果表明该仪器能够检测来自如同 0.05 那样低的光学厚度的微珠溶液的信号。在光谱中见到的小的不一致性可能来源于仪器对所用的光学元件的波长依赖性的不完美的校准。光束并非完美地共线，所以当光束通过偏振片和分析仪元件时在来自两个信道的偏振信号中出现不完美性。再者，所用的光束分离器对 s 和 p 偏振光束具有不同的反射率。但是，恰好利用白色标准，两个信道中的信号都对任何波长不一致性作过校正并且进一步被用于信号的标定。

用单细胞层进行了测量，其结果将结合图 4-6 予以描述。在单细胞层下面包含  $\text{BaSO}_4$  粉末的溶液和人血的凝胶层被用于表示底层组织。 $\text{BaSO}_4$  粉末和血液的浓度经过调整，以与生物组织的光学性质相匹配。三种类型的细胞被测量：正常的肠细胞、T84 结肠癌细胞和光纤细胞。测量结果类似于采用微珠的测量结果。但是，细胞核具有比微珠小的相对折射率以及比微珠大的尺寸分布，这从本质上消除了波纹结构。完成了观测的残留光谱与 Mie 理论的拟合。拟合过程中的三个参数是细胞核的平均尺寸、尺寸标准差（假定尺寸分布为高斯分布）和相对折射率。

就正常的肠细胞而言，最佳拟合是利用最佳配合使用  $d=5.0$  微米、 $\Delta d=0.5$  微米和  $n=1.045$  得到的（图 4）。就光纤细胞而言，得到的是  $d=7.0$  微米、 $\Delta d=1.0$  微米和  $n=1.051$ 。就 T84 结肠癌细胞而言，相应的值是  $d=9.8$  微米、 $\Delta d=1.5$  微米和  $n=1.04$ （图 5）。

为了检验这些结果，细胞核的平均尺寸的分布是利用光学显微镜测定的。尺寸和它们的标准差与来自 Mie 理论的参数一致。表示对正常的 T84 细胞获得的尺寸分布的直方图是用图 6 予以展示的。平均尺寸的精度被算出是 0.1 微米，而  $n$  的精度是 0.001。注意，就癌细胞而言得到比较大的  $n$  值，这与在着色的组织切片的传统的病理组织学中观察到的癌细胞核的过染色度是一致的。如果核的平均尺寸  $d$ 、尺寸标准差  $\Delta d$  和相对折射率  $n$  被改变，那么反向散射信号是可以由 Mie 理论描述的。请注意，在 Mie 理论中， $d$  和  $n$  的依从关系并非总是作为乘积  $(n-1)d$  出现的。因此，残留光谱具有足够同时提取  $d$  和  $n$  的信息。

单细胞层的尺寸分布与光学显微镜检查结果不相上下，并且对于细胞的全部 3 条线都非常一致。尺寸和标准差的提取精度是大约 0.1 微米，这使该方法在区分不同细胞类型的细胞核（包括同一器官的癌细胞和非癌细胞）时是有用的。

检测细胞核的增大和细胞核的相对折射率的变化（这可能与细胞核中的 DNA 和蛋白质的数量有关）的能力在临床医学中具有应用价值。组织诊断的方法可以用诊断装置予以实现，其中光线可以被交付给组织表面上的一些点，并且在组织表面上的那些点中的每个点被收集和分析，以及在那些点中的每个点被收集和分析。在体内系统中，光纤被用于交付和收集光线。光纤探头可以插入内窥镜活组织检查管道或任何类似的装置（取决于正在研究的过程和器官的类型）。偏振片和分析仪可以被置于在发送和收集光纤的前面的探头的尖端。这样的仪器可以在例行的内窥镜检查期间使用，以便在体内实时地检测癌症前期变化。

这样的探头系统 40 是用图 7 一般地表示的。这个系统 40 包括光学上与通过探头 50 延伸的交付光纤 44 耦合的宽带光源 42。如同用图 7 示意地表示的那样，探头 50 可以穿过内窥镜 48 上的

管道插入，但是探头 50 也可以是为了被单独使用而构成的。在下面介绍的优选实施方案中，来自光源的光线被引导通过在探头 50 的远端的偏振片。但是在使用保持偏振的光纤的另一个实施方案中，偏振片 26 可以被用在探头光纤 44 的近端，以便引导偏振光 46 通过光纤。类似地，为了把选定的偏振分量传输到多信道光纤光谱仪 54 中，在收集光纤 65、66 的近端可以分别采用偏振元件。数据可以用计算机 56 进行处理，储存在计算机 56 中，储存在计算机的存储器中并且在需要时显示在显示器 60 上。

如同在图 8A 和图 8B 中见到的那样，探头系统可以包括远端已与偏振片合并的光纤探头。

图 8A 和图 8B 展示适合把偏振光用于体内诊断的探头 100 的远端。图 8A 展示一种光纤装置，该装置被分成 3 个部分：内部的交付光纤和两组用来收集不同的偏振分量的收集光纤 150 和 152。图 8B 的横截面展示把光线递送到组织 140 上的光纤 156。它们必须穿过偏振片 120，这在图 8B 的剖视图中也能见到。偏振元件被分为至少 2 个部分，即元件 122、126。光纤 152 被安排收集从组织表面向后反射的光线。

反向散射的光线具有两个偏振分量，对应于平行于入射光线的分量和垂直于入射光线的分量。这两个分量是用两个不同的双折射分析仪（用两个剖开的环形元件 122、126 表示）区分的。第一个元件 122 允许平行分量通过，而第二个元件 126 允许垂直分量通过。元件 122 的一部分使从光纤 156 射出的光线偏振。当光纤具有低数值孔径以便在非常小的角度上收集光线时，延长在光纤末端和对组织表面 140 敞开的光瞳表面 142 之间的距离 136 是必要的。它可能是 5 毫米长。为了避免杂散的内部反射，图示的玻璃块 130 具有比折射率为  $n_1$  的防护屏低的折射率  $n_2$ 。防护屏 132 可以被涂上吸收涂料，以致照射在边界上的光线被折射出去，然后被防护屏的外壁面上的吸收涂层吸收。玻璃元件 130 被

切削成斜角以避免来自组织表面的镜面反射，象被描述的那样增加反向散射信号的相对强度。具有正交的两种偏振状态的光线被区分开并且与光谱仪的两个信道耦合，以便检测和分析。

光纤探头 160 的另一个优选实施方案是用图 9A-图 9C 予以图解说明的。在这个实施方案中，发送光纤 156 和收集光纤 162 被装在软管 164 中，该软管被安装在环状的末端壳体 166 上。壳体 166 包括光纤护圈 106 和偏振片 168，后者可以是双折射晶体，例如方解石、石英或蓝宝石。发送光纤 156 把来自光源 42 的光线交付给偏振片 168，后者通过光瞳 175 和窗 178 递送正常的射线 170。通过光瞳 175 返回的光线具有正常的分量 170 和异常的分量 172。垂直的分量是用光纤 162 收集的，而平行的分量是用光纤 161 收集的。发送光纤 156 沿着晶体 168 的光轴 176 定位。光纤 161、156 沿着吸收板 178 的光瞳 175 排成直线。

尽管这项发明已参照其优选实施方案被具体地展示和阐述，但是熟悉这项技术的人将理解在不脱离本发明的精神和范围的情况下可以在形式和细节上有各种各样的变化。

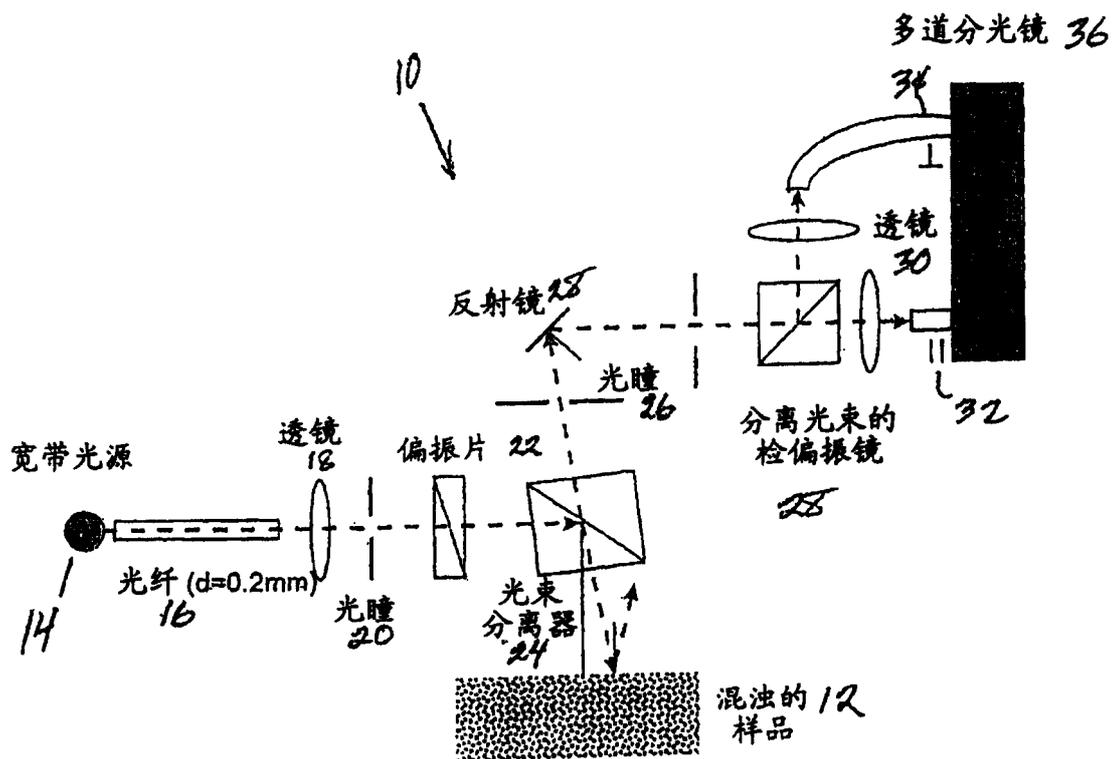


图 1

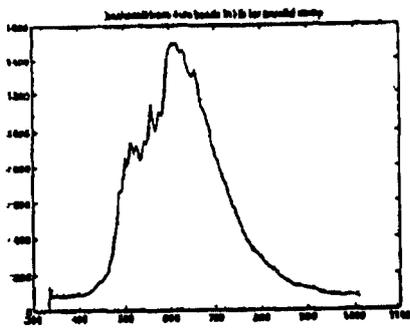


图 2A

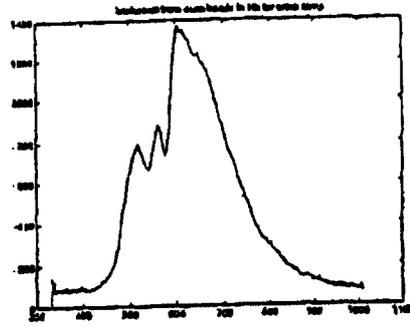


图 2B

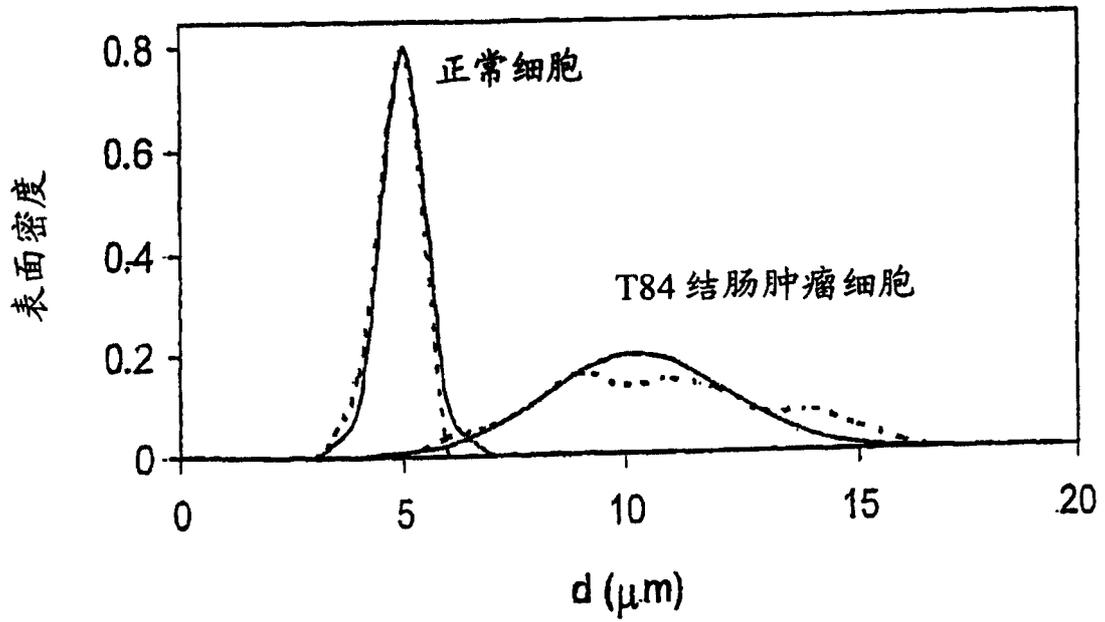


图 6

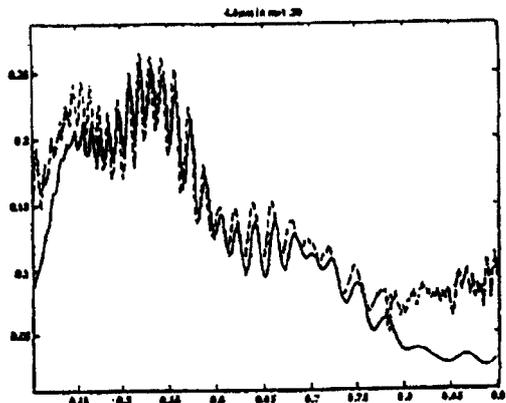


图 3A

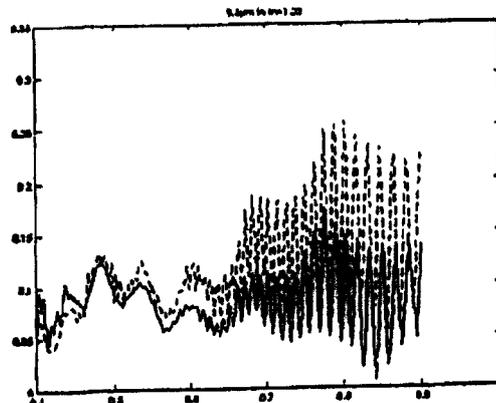


图 3B

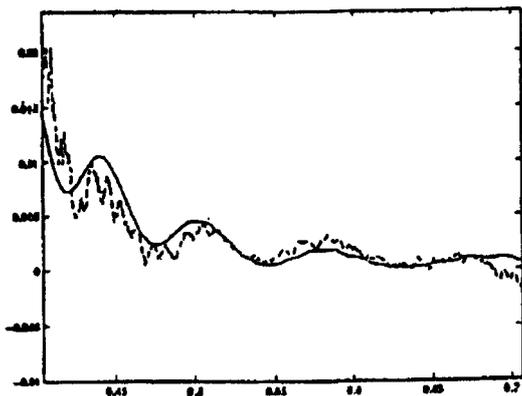


图 3C

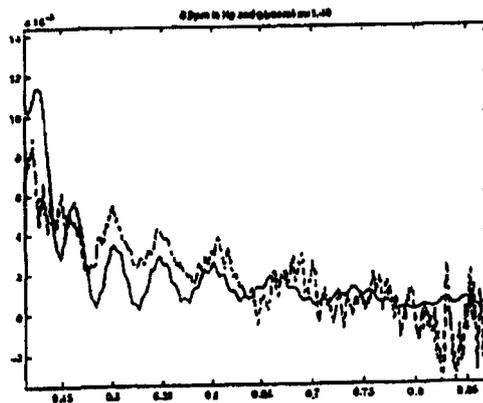


图 3D

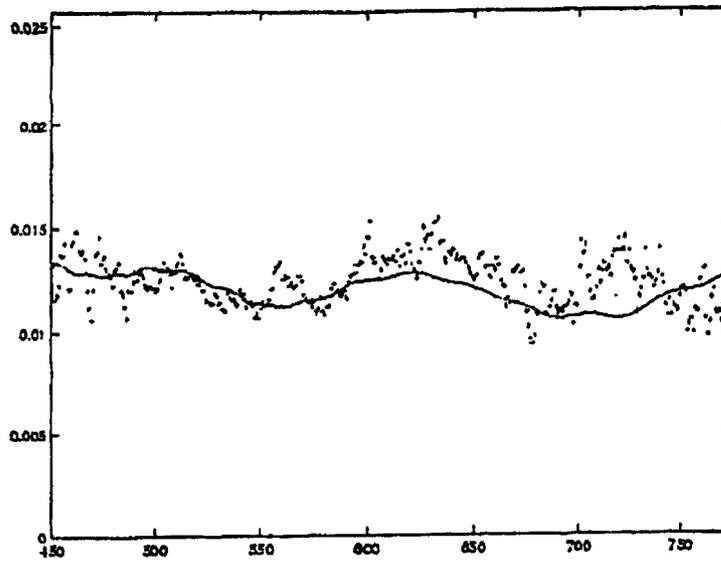


图 4

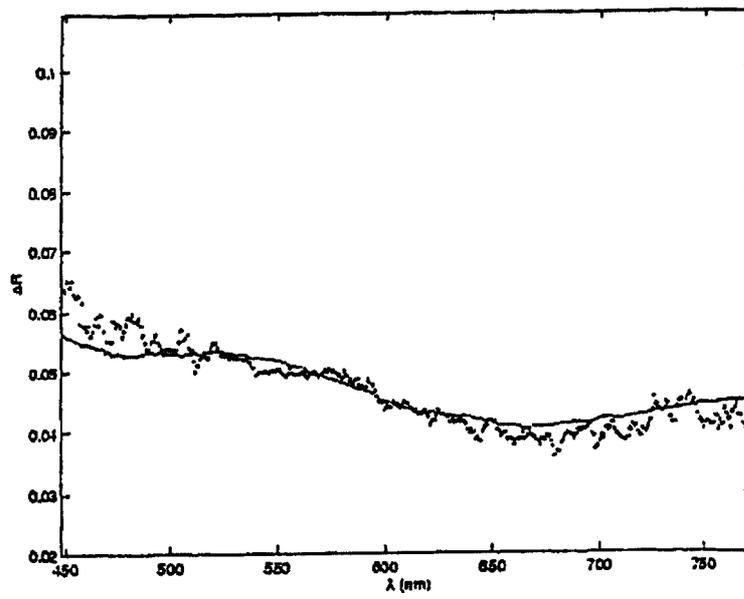


图 5

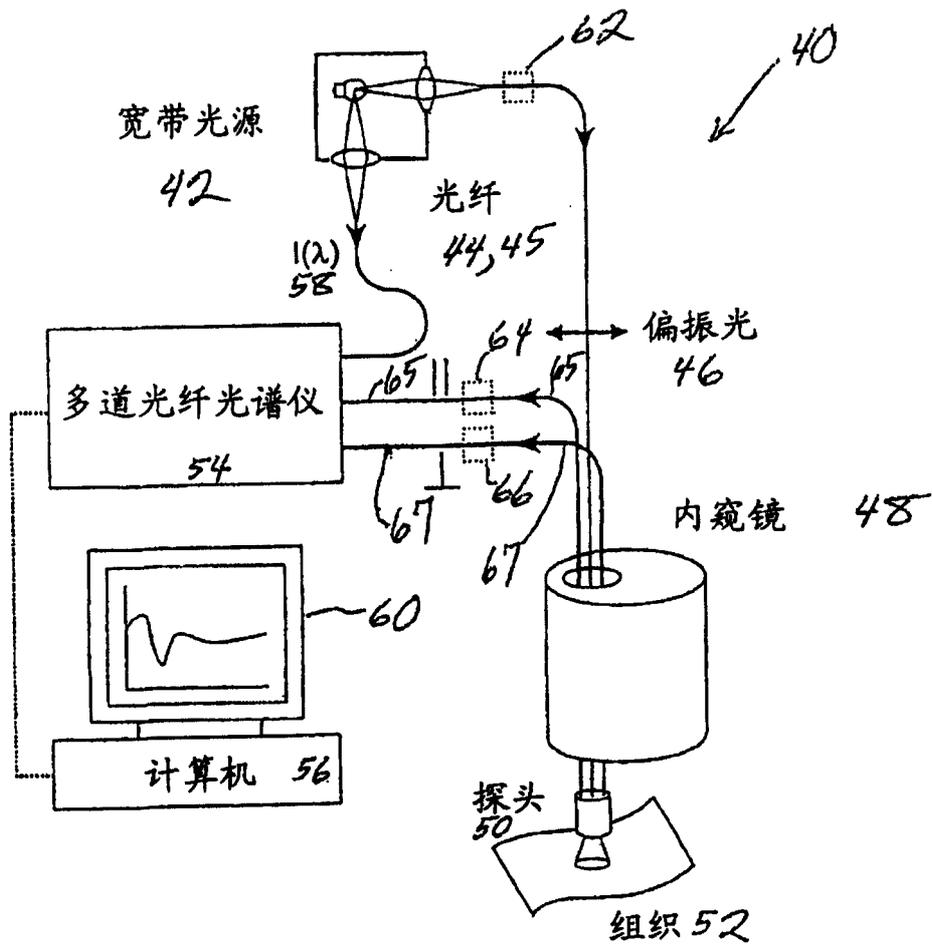


图 7



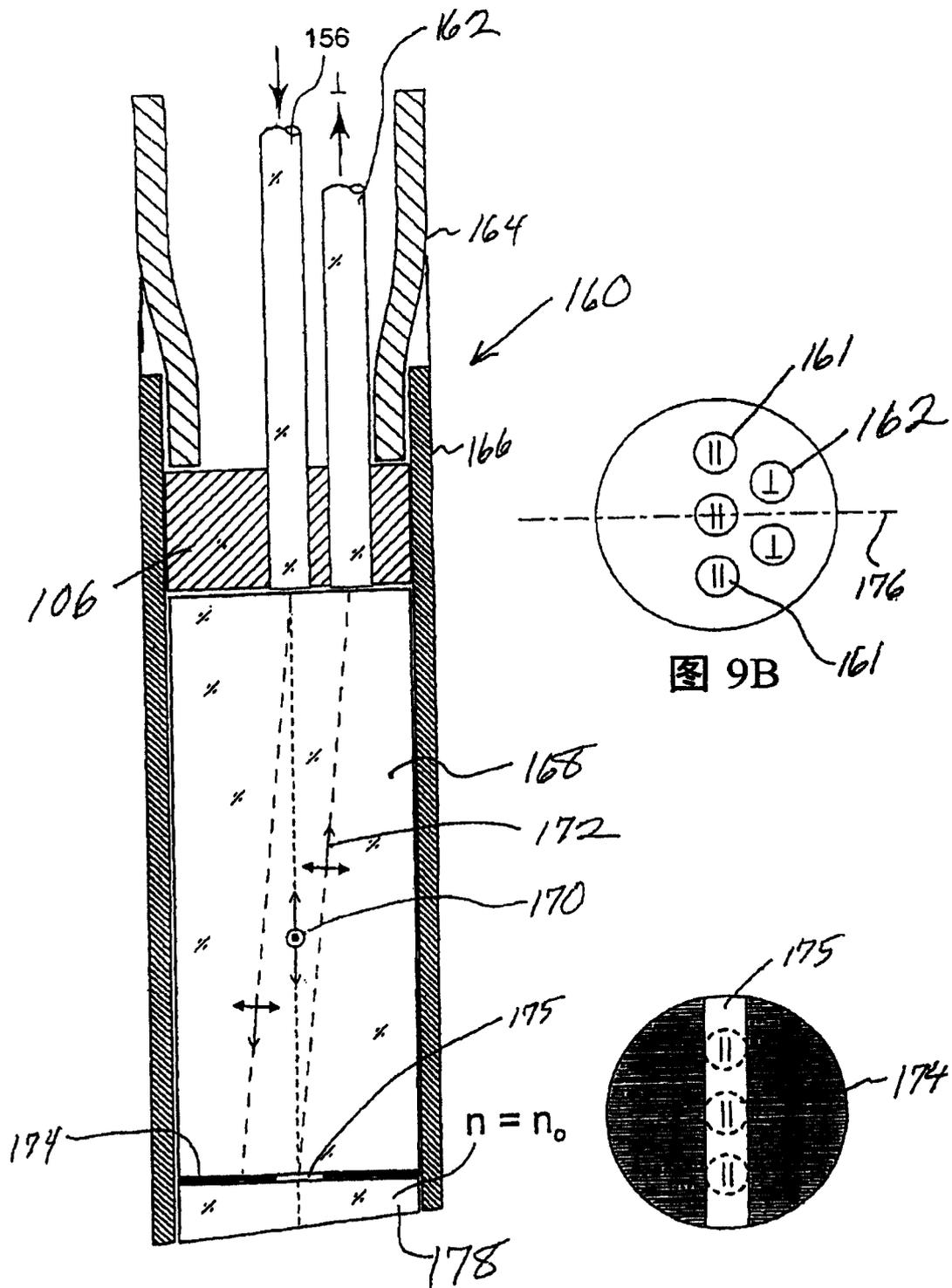


图 9A

图 9C

专利名称(译)	一种在体外检测组织中发育异常的方法和光纤探头		
公开(公告)号	<a href="#">CN1211046C</a>	公开(公告)日	2005-07-20
申请号	CN00804258.6	申请日	2000-01-25
[标]申请(专利权)人(译)	麻省理工学院		
申请(专利权)人(译)	麻省理工学院		
当前申请(专利权)人(译)	麻省理工学院		
[标]发明人	范迪姆贝克曼 拉曼查德R戴萨尔 拉简格贾尔 埃文宁伊特兹肯 列弗佩瑞尔曼 迈克尔S费尔德		
发明人	范迪姆·贝克曼 拉曼查德·R·戴萨尔 拉简·格贾尔 埃文宁·伊特兹肯 列弗·佩瑞尔曼 迈克尔·S·费尔德		
IPC分类号	G01N33/48 A61B1/00 A61B5/00 A61B10/00 C12Q1/02 G01N21/21 G01N21/27 G01N21/35 G01N33/483		
CPC分类号	A61B5/0084 A61B5/0075		
优先权	09/237153 1999-01-25 US		
其他公开文献	CN1341004A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

这项发明涉及使用偏振光测定组织的性质。更具体地说，偏振光可以被用来检测组织的发育异常，因为来自基础组织的漫散射光线的贡献可以消除时，来自这种异常组织的反向散射光线的偏振现象被保存下来。用来发送和收集光线的光纤系统可以用来测定人体内的组织。

