



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106793917 B

(45)授权公告日 2019.04.30

(21)申请号 201580046151.3

(22)申请日 2015.07.02

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106793917 A

(43)申请公布日 2017.05.31

(30)优先权数据
1411800.4 2014.07.02 GB (续)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.02.28

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/SG2015/050195 2015.07.02

(87)PCT国际申请的公布数据
W02016/003371 EN 2016.01.07

(73)专利权人 新加坡国立大学
地址 新加坡119077肯特大道下21号

(72)发明人 黄志伟

(74)专利代理机构 北京派特恩知识产权代理有限公司 11270
代理人 康艳青 姚开丽

(51)Int.Cl.
A61B 1/00(2006.01) (续)

(56)对比文件

WO 2014/007759 A1,2014.01.09,
US 2007/0046778 A1,2007.03.01,
Mads Sylvest Bergholt et al..”

Development of a multiplexing fingerprint and high wavenumber Raman spectroscopy technique for real-time in vivo tissue Raman measurements at endoscopy”.《Journal of Biomedical Optics》.2013,第18卷(第3期),第030502-1至030502-3页.

Shiyamala Duraipandian et al..”

Simultaneous Fingerprint and High-Wavenumber Confocal Raman Spectroscopy Enhances Early Detection of Cervical Precancer In Vivo.《Analytical Chemistry》.2012,第84卷(第14期),摘要,第5914-5917页. (续)

审查员 何琛

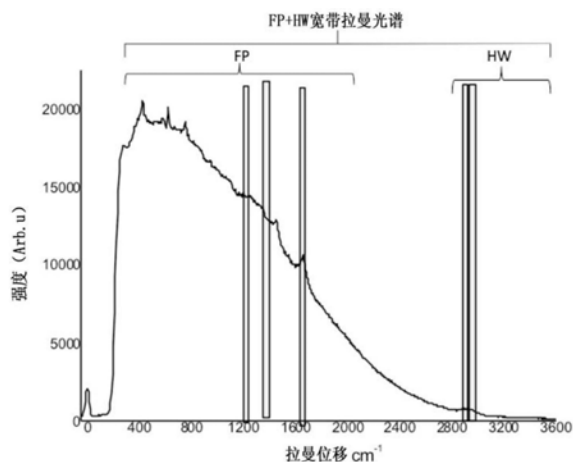
权利要求书2页 说明书25页 附图31页

(54)发明名称

用于分析、表征和/或诊断如异常生长的样本或组织的类型或性质的拉曼光谱系统、装置和方法

(57)摘要

使用拉曼光谱表征、识别或诊断样本或组织的类型和/或性质,例如异常生长;包括分析两个不同波长范围,例如FP和HW波长范围内的拉曼光谱内的不同光谱子区间,以识别与一个或两个波长范围中的一个或多个参考标记的匹配;并且通过该匹配来表征、鉴定或诊断该样本或组织的类型和/或性质。可以使用单个衍射光栅同时检测或获取FP和HW拉曼光谱。



CN 106793917 B

[接上页]

(30) 优先权数据

1411803.8 2014.07.02 GB

1411820.2 2014.07.02 GB

(51) Int. Cl.

G01N 21/65(2006.01)

(56) 对比文件

Shiyamala Duraipandian et al..”

Simultaneous Fingerprint and High-Wavenumber Confocal Raman Spectroscopy Enhances Early Detection of Cervical Precancer In Vivo.《Analytical Chemistry》.2012,第84卷(第14期),摘要,第5914-5917页.

1. 一种拉曼光谱装置,其特征在于,包括:

第一照射源,其被配置为将照明引导到组织中;

另一照射源,其被配置为将额外的照明输出到所述组织中;

热镜滤光器,其被配置为补偿由所述第一照射源输出的照明和由所述另一照射源输出的所述额外的照明之间的照明干扰;

拉曼光谱仪,其被配置为通过所述组织散射的照明同步检测指纹和高波数拉曼光谱;以及

计算机化控制和分析模块,其包括至少一个处理单元和存储器;所述存储器存储由所述至少一个处理单元执行的指令,用于分析在指纹和高波数拉曼光谱波长范围内检测到的拉曼光谱的离散光谱子区间,以在一个或两波长范围内识别与一个或多个参考标记的匹配。

2. 根据权利要求1所述的装置,其特征在于,所述拉曼光谱仪具有单个宽带衍射光栅。

3. 根据权利要求2所述的装置,其特征在于,所述第一照射源包括用于产生施加到所述组织的激发能的准直照射源,并且所述装置还包括用于将准直照明传输到组织并将检测到的拉曼光谱从所述组织返回到所述拉曼光谱仪的探针。

4. 根据权利要求3所述的装置,其特征在于,所述一个或多个参考标记包括所述检测到的拉曼光谱中的特异性峰。

5. 根据权利要求3所述的装置,其特征在于,所述计算机化控制和分析模块包括由所述至少一个处理单元执行的指令,用于基于所述匹配来诊断异常生长。

6. 根据权利要求3所述的装置,其特征在于,所述探针包括共焦光纤探针。

7. 根据权利要求6所述的装置,其特征在于,所述拉曼光谱装置还包括具有细长轴的内窥镜,所述细长轴具有在其内可传送所述探针的器械通道。

8. 根据权利要求3所述的装置,其特征在于,所述计算机化控制和分析模块包括可由所述至少一个处理单元执行的指令,用于动态地调整所述准直照明的功率。

9. 根据权利要求3所述的装置,其特征在于,所述计算机化控制和分析模块包括可由所述至少一个处理单元执行的指令,用于动态地调整该组织曝光于所述准直照明的时间。

10. 根据权利要求3所述的装置,其特征在于,所述拉曼光谱装置还包括校准装置,用于相对至少一个校准基准来标准化所述探针或整个拉曼光谱装置。

11. 一种由拉曼光谱装置执行的拉曼光谱方法,其特征在于,所述方法包括:

将第一照射源输出的照明引导到组织内;

在将第一照明源输出的照明引导到所述组织内的同时利用另一照射源将额外的照明指向到所述组织内;

利用热镜滤光器补偿由所述第一照射源输出的照明和由所述另一照射源输出的所述额外的照明之间的照明干扰;

通过探针同步检测来自该组织散射的照明的指纹和高波数拉曼光谱;以及

分析在指纹和高波数拉曼光谱波长范围内检测到的拉曼光谱中的离散光谱子区间,以识别与一个或两个波长范围中的一个或多个参考标记的匹配。

12. 根据权利要求11所述的方法,其特征在于,同步检测指纹和高波数拉曼光谱包括使用单个宽带衍射光栅在指纹和高波数拉曼光谱波长范围内衍射照明。

13. 根据权利要求11所述的方法,其特征在于,所述一个或多个参考标记是所述检测到的拉曼光谱中的特异性峰。

14. 根据权利要求11所述的方法,其特征在于,所述方法还包括动态地调整所述照明的功率。

15. 根据权利要求11所述的方法,其特征在于,所述方法还包括动态地调整所述组织曝光于所述照明的时间。

16. 根据权利要求11所述的方法,其特征在于,所述方法还包括在照明所述组织之前,相对至少一个校准基准执行校准或标准化程序,以标准化所述探针或整个拉曼光谱装置。

用于分析、表征和/或诊断如异常生长的样本或组织的类型或性质的拉曼光谱系统、装置和方法

技术领域

[0001] 本申请多个方面涉及用于增强激发能(例如准直照明)所指向的样本或组织的类型或性质的识别精度的拉曼光谱系统和方法,例如异常或明显异常生长(例如癌症)。具体但不排他地,本申请多个方面可在体内和体外实时增强诸如胃肠道生长的异常组织的诊断精度。

背景技术

[0002] 通过如内窥镜的微创技术来准确并快速地表征和识别组织的性质,如肿瘤性胃肠生长是非常理想的。例如,结肠直肠癌(CRC)是一种到晚期才发现时则具有高死亡率的常见疾病。识别和根除肿瘤性息肉是降低结肠直肠死亡率和发病率的最重要的措施之一。利用常规结肠镜技术区分具有很低或没有恶性转化风险的增生性息肉和具有显著恶性潜伏期的腺瘤仍然属于临床挑战。

[0003] 每年估计有超过120万个新的癌症病例和608,700例死亡,CRC是当今世界中的重要问题。对可治愈阶段的早期癌症息肉(即腺瘤)的早期识别结合适当的治疗干预,如息肉切除术或内窥镜粘膜切除(EMR)仍然是减少结肠直肠死亡率和发病率的最重要的措施。现有的结肠镜方法受到许多基本的临床限制。这是因为常规结肠镜检查完全依赖于息肉的总体粘膜特征的可视性,如腺管开口,血管模式等,并且很少或没有提供关于组织的生物分子信息。因此,目前的护理标准建议切除所有可疑的息肉样病变或在结肠直肠检查中发现的异常生长。这种方法工作强度很大,导致了高成本组织病理评估,并且给患者带来不必要的风险,因为所有息肉样病变中的三分之一到二分之一都会变成增生。虽然息肉切除的绝对风险被认为相对较小,但它仍然是并发症最常见的诱因,如结肠镜检查期间的出血,穿孔等。考虑到现有的临床挑战和最近引入的广泛传播的基于结肠直肠群体的筛查计划,对先进的内窥镜检查方法的需求变得前所未有的迫切。因此,最近的研究已经开始针对更精密的分子成像和光谱技术的开发,以改进体内诊断和分析。

[0004] 证据表明,将离体拉曼光谱应用到结肠组织标本可为区分不同病理类型(即正常,增生性息肉,腺瘤和腺癌)提供令人鼓舞的准确率,准确范围为89%至99%。这仍需要去除息肉以便拉曼光谱识别该病理类型的性质,并因此具有与上述常规内窥镜技术同样的问题。此外,将拉曼光谱应用到体内临床诊断存在许多障碍。这包括技术上的限制,例如固有的弱组织拉曼散射、较长的采集时间(>5s)和开发具有低熔融石英干扰、高收集效率和深度分辨力的长的(>1.9 μm)小型化光纤探针设计的基本需求。该探针需要用低熔融石英制造,因为熔融石英具有较强的拉曼信号和荧光本底,这将干扰弱组织拉曼信号。迄今为止,这些技术限制仍然没有被解决。

[0005] 最近的技术进步,包括快速拉曼光谱技术的发展和具有共焦能力的小型化光纤拉曼探针使得可在进行中的内窥镜检查期间,实现体内实时组织病理评估(即光学活检)。结肠直肠息肉的拉曼光谱研究易于受所谓的指纹(FP)光谱范围(例如,800-1800 cm^{-1})的局限。

使用高波数(HW)区域(例如,2800-3600 cm^{-1})已经引起了一些注意,这是因为该光谱范围表现出更强的组织拉曼信号以及来自光纤拉曼探针的石英本底的更少的干扰。然而,目前能够识别体内癌细胞的技术还不具有足够的精确性以使这种类型的技术成为可行选择。需要一种能够在体内和离体以更高的精度识别癌细胞的拉曼光谱技术。

发明内容

[0006] 根据本申请的实施例的目的在于克服与用于表征、识别和/或诊断如异常生长的组织的类型和/或性质的现有技术和当前内窥镜技术相关联的至少一些问题,异常组织如原发在身体的任何部分中的癌症等。另一个目的是提供基于拉曼光谱的加强精确度的系统和方法,用于快速表征、识别和/或诊断异常组织的类型或性质,例如在内镜检查(例如胃肠内镜检查,如结肠镜检查)期间的体内息肉和癌前期。

[0007] 根据本申请的各种实施例描述了光纤拉曼光谱系统和方法,提供了可在生物分子水平上在体内实现增强准确度的光学活组织检查的无标记的振动光谱技术。多个实施例能够在正在进行的内镜检查期间实现来自FP和HW光谱范围的同步测量的组合。对于体内和体外拉曼测量,组合FP和HW光谱范围的理论基础有多个:

[0008] (i) 对于可以表现出强烈自体荧光(例如胃、肺、结肠和肝)的组织,HW范围仍然可以包含具有诊断信息的强组织拉曼峰,该强烈的自体荧光在FP范围内会覆盖组织拉曼信号。

[0009] (ii) FP和HW范围含有互补的生物分子信息(例如蛋白质、脂质、DNA和水的生物分子信息)并且因此可以改善组织表征和诊断。

[0010] (iii) 不同的键在不同的光谱范围内振动,因此使用两个不同的光谱范围(FP和HW)增加了单次扫描中获得的生物分子信息。

[0011] 根据本申请的实施例,FP和HW组合光纤共焦拉曼光谱技术(例如涉及FP和HW光谱的同步采集)可以在身体检查期间改善癌症、癌前期和/或体内的其他异常生长的实时诊断。该FP和HW组合技术也可以用于离体组织样本,以更准确地识别来自身体任何部位的样本中存在的异常生长的类型。

[0012] 根据本申请一个方面,拉曼光谱装置包括:第一照射源,其被配置为将照明引导到组织中;拉曼光谱仪,其被配置为通过所述组织散射的照明同步检测FP和HW拉曼光谱;以及计算机化控制和分析模块,其包括至少一个处理单元和存储器;该存储器存储由所述至少一个处理单元执行的程序指令,用于分析在FP和HW波长范围内检测到的拉曼光谱的离散光谱子区间(例如约3-15或约5-10个离散光谱子区间,其中给定的或每个光谱子区间可以具有约10-30 cm^{-1} 或约20 cm^{-1} 的光谱宽度),以在一个或两个波长范围内识别与一个或多个参考标记的匹配。

[0013] 在多个实施例中,拉曼光谱仪具有单个宽带衍射光栅。第一照射源包括用于产生施加到组织的激发能的准直照射源,并且该装置还包括用于将准直照明传输到组织并将检测到的拉曼光谱从该组织返回到该拉曼光谱仪的探针。

[0014] 该一个或多个参考标记可以包括或者是检测到的拉曼光谱中特异性峰。计算机化控制和分析模块可以包括由至少一个处理单元执行的程序指令,用于基于该匹配来诊断异常生长。

[0015] 该探针可以包括或者是共焦光纤探针。所述装置还可包括具有细长轴的内窥镜，所述细长轴具有在其内可传送探针的器械通道。

[0016] 计算机化控制和分析模块可以包括可由至少一个处理单元执行的程序指令，用于动态地调整准直照明的功率，和/或动态地调整该组织暴露于准直照明的时间。

[0017] 该装置可以包括校准装置，用于相对至少一个校准基准来标准化探针或整个拉曼装置。

[0018] 该装置可以包括另一照射源，用于将额外的照明输出到组织中；以及热镜滤光器，用于补偿由所述第一照射源输出的照明和由所述另一照射源输出的额外的照明之间的照明干扰。

[0019] 根据本申请的一个方面，由拉曼光谱装置执行的方法包括：将第一照射源输出的照明引导到组织中；通过探针同步检测来自该组织散射的照明的FP和HW拉曼光谱；以及分析在FP和HW波长范围内检测到的拉曼光谱中的离散光谱子区间（例如约3-15或约5-10个离散光谱子区间，其中给定或每个光谱子区间可具有约 $10-30\text{cm}^{-1}$ 或约 20cm^{-1} 的光谱宽度），以识别与一个或两个波长范围中的一个或多个参考标记的匹配。

[0020] 同步检测FP和HW拉曼光谱可以包括使用单个宽带衍射光栅在FP和HW波长范围内衍射照明。

[0021] 该方法可包括基于该匹配诊断异常生长的性质。该一个或多个参考标记可以包括或者是检测到的拉曼光谱中特异性峰。

[0022] 该方法还可包括动态地调整照明的功率，和/或动态地调整该组织暴露于该照明的时间。

[0023] 该方法包括在照明该组织之前，相对至少一个校准基准执行校准或标准化程序，以标准化该探针或整个拉曼装置。

[0024] 该方法还包括利用另一照射源将额外的照明指向到组织中；同时利用热镜滤光器补偿由所述第一照射源输出的照明和由所述另一照射源输出的额外的照明之间的照明干扰。

附图说明

[0025] 现通过示例参考附图，以更好地根据本申请的实施例。该附图不应该被理解为限制性的，并且附图尺寸不可依比例确定。

[0026] 图1为根据本申请一实施例的用于体内组织诊断和表征的共焦拉曼光谱系统的示意图；

[0027] 图2是根据本申请一实施例的在内窥镜检查期间为改善或增强组织诊断和表征准确度而开发的宽带光纤共焦拉曼光谱系统的框图；

[0028] 图3是根据本申请一实施例的从胃肠道 (GI) 粘膜实时获得的宽带FP和HW体内拉曼和伴随自体荧光光谱的曲线图；

[0029] 图4为显示根据本申请一实施例的应用到包括指纹 (FP) 和高波数 (HW) 区域的宽带体内拉曼和伴随自体荧光光谱的区间选择的示例的曲线图；

[0030] 图5为显示根据本申请一实施例的分别在 (a) $800-1800\text{cm}^{-1}$ 和 (b) $2800-3100\text{cm}^{-1}$ 区域中减除自体荧光本底后应用到宽带体内拉曼光谱的区间选择的示例的曲线图；

- [0031] 图6为显示根据本申请一实施例的拉曼光谱加上或减去三个病变的一个标准差的曲线图,以及该三个病变的相关照片;
- [0032] 图7A为根据本申请一实施例的分辨光谱特征的差光谱的曲线图;
- [0033] 图7B为根据本申请一实施例的在整个光谱范围上的三个组织类别的方差分析(ANOVA);
- [0034] 图7C为根据本申请一实施例的显著性拉曼峰值的直方图;
- [0035] 图8A-图8D为根据已知实践的对应于不同结肠直肠组织类型的染色组织病理切片;
- [0036] 图9A为根据本申请一实施例的后验概率表示;
- [0037] 图9B为根据本申请一实施例的用于诊断腺瘤和腺癌的受试者工作特征(ROC)的曲线图;
- [0038] 图10为根据本申请一实施例的用于区分腺瘤与良性息肉的受试者工作特征的曲线图;
- [0039] 图11A示出了根据本申请一实施例的用于食管鳞状细胞癌(ESCC)的诊断算法开发的平均体内FP/HW拉曼光谱加减一个训练数据集(总数据集的80%)的标准差;
- [0040] 图11B示出根据本申请一实施例的分辨EECC唯一光谱特征的差光谱(ESCC-正常)加减一个标准差,以及正常食道和ESCC的WLR引导的FP/HW拉曼程序的对应的图像;
- [0041] 图12A显示了根据本申请一实施例的在整个光谱范围(即 $800-1800\text{cm}^{-1}$ 和 $2800-3600\text{cm}^{-1}$)上的训练数据集(总数据集的80%)(正常($n=736$);ESCC($n=202$))的拉曼峰强度的非配对双侧学生t-检验,其中包含最相关诊断信息的多个(如七个)拉曼光谱子区域被识别;
- [0042] 图12B显示了根据本申请一实施例的在诊断中相当重要的拉曼峰($*p<1\text{E}-10$)的直方图 $\pm 1\text{SD}$;
- [0043] 图13A显示了与正常浅表角化鳞状上皮和基底层对应的代表性苏木精和曙红染色的组织病理切片;
- [0044] 图13B显示了与侵袭性食管鳞状细胞癌对应的代表性苏木精和伊红染色的组织病理切片,表现出突出的结构和细胞异型;
- [0045] 图14A-14C显示了根据本申请一实施例,分别基于FP、HW和集成或同步FP/HW拉曼技术利用最小二乘判别分析和留一患者的交叉验证的属于训练数据集(总数据集的80%)的(i)正常食道($n=736$)和(ii)ESCC($n=202$)的体内拉曼光谱的后验概率((\circ)正常, (\blacktriangle)ESCC);
- [0046] 图15显示了根据本申请一实施例,利用FP、HW和集成或同步FP/HW拉曼技术为训练数据集(总数据集的80%)从正常食管组织中分离ESCC的受试者工作特征(ROC)曲线,其中ROC曲线下面积(AUC)分别为0.972,0.928和0.995;
- [0047] 图16A为显示了根据本申请一实施例的从子宫颈患者处测量的NIR-AF和拉曼复合光谱的曲线图;
- [0048] 图16B为显示了根据本申请一实施例的在区间PLS-DA之后提取的选择光谱区域的曲线图;
- [0049] 图17为显示了根据本申请一实施例,作为在整个光谱上的PLS-DA和区间PLS-DA的

模型复杂度函数而绘制的分类误差的曲线图,其中区间PLS-DA仅利用整个光谱的10%;

[0050] 图18为根据本申请一实施例的使用(a)整个光谱上PLS-DA建模;以及(b)使用区间PLS-DA建模得到的属于癌前期群体的后验概率(正常(n=1001)以及癌前期(n=232))的散点图,;

[0051] 图19为根据本申请一实施例,在对90位胃癌患者(良性(n=1950);癌症(n=108))测量得到的连续拉曼光谱和区间PLS-DA之后的选择光谱区域的曲线图;

[0052] 图20为显示根据本申请一实施例中,作为在整个光谱上的PLS-DA和区间PLS的模型复杂度函数而绘制的分类误差的曲线图;

[0053] 图21为根据本申请一实施例,使用(a)整个FP和HW光谱上的PLS以及(b)区间PLS-DA建模得到的属于癌前期群体的后验概率(正常(n=1950)以及癌(n=108))的散点图;

[0054] 图22A显示了根据本申请一实施例,在临床内窥镜检查期间从63名患者处获得的胃IM(n=329)和正常粘膜(n=1083)的平均FP和HW体内拉曼光谱加减一个标准差;

[0055] 图22B显示了根据本申请一实施例的用于分辨正常和IM胃组织之间的独特光谱特征的差光谱(即IM-正常加减一个标准差(SD));

[0056] 图23A和23B显示了胃组织的苏木精和曙红(H&E)-染色的切片的显微照片:A、正常胃粘膜(200倍放大);B、大量的肠上皮化生(100倍放大);

[0057] 图24显示了根据本申请一实施例,从胃组织的FP和HW集成拉曼光谱中计算得到的占据总方差的约88%的前五个主要成分(PC)(PC1=45.6%;PC2=33.6%;PC3=4.2%;PC4=3.1%;PC5=1.2%);

[0058] 图25A,25B和25C分别显示了根据本申请一实施例,使用PCA-LDA结合留一组织交叉验证法通过(A)FP,(B)HW和(C)FP和HW集成拉曼技术计算得到的正常和IM胃组织类别的后验概率值的散点图,其中,通过使用FP、HW和FP/HW集成拉曼技术分离IM与正常胃组织((○)正常;(▲)IM),虚线(0.5)分别提供了96.3%(26/27)、77.8%(21/27)和92.6%(25/27)的诊断敏感性,以及87.5%(77/88)、78.4%(69/88)和90.9%(80/88)的特异度;

[0059] 图26示出了根据本申请一实施例,FP/HW集成、FP和HW拉曼分别结合PCA-LDA算法和留一组织交叉验证技术的用于区分IM与正常胃组织的分类结果的受试者工作特性(ROC)曲线,其中对于FP/HW集成拉曼、FP拉曼和HW拉曼技术,ROC曲线下的积分面积分别为0.96,0.94和0.79;

[0060] 图27是根据本申请一实施例,应用于从口腔测量的拉曼光谱的区间PLS-DA的示例,其中结构间大变性的区域(例如 956cm^{-1} 的羟基磷灰石, 1302cm^{-1} 和 1445cm^{-1} 的脂质)通过变量选择技术被舍弃;

[0061] 图28是根据本申请一实施例,当使用离散频谱区间时处理拉曼光谱以用于预测的方法的流程图;

[0062] 图29A和29B显示了根据本申请一实施例,在氙光源的前面(a)不存在热镜;(b)与热镜整合以非接触模式获得的体内拉曼光谱的曲线图;

[0063] 图30A和30B显示了根据本申请一实施例,在氙光源的前面(a)不存在热镜;(b)与热镜整合以接触模式获得的体内拉曼光谱的曲线图;

[0064] 图31是根据本申请一实施例的对生物学中的光纤拉曼光谱的任何应用的照明光滤波的一般化系统的框图;

- [0065] 图32是根据本申请一实施例的校准方法的流程图；
- [0066] 图33是根据本申请一实施例的用于在患者使用之前测试和校准光纤拉曼内窥镜技术的校准装置的框图；
- [0067] 图34是根据本申请一实施例的在患者使用之前的拉曼内窥镜的测试程序图；
- [0068] 图35是根据本申请一实施例的使用两个不同的光纤探针获取的本底光谱的示例曲线图；
- [0069] 图36为示出了根据本申请一实施例的使用标准钨灯在校准装置中校准荧光标准玻璃容器的技术或方法的框图；
- [0070] 图37为示出了根据本申请一实施例的两个不同光纤探针的校准函数的示例的曲线图；
- [0071] 图38为示出了根据本申请一实施例的测量具有明确定义的拉曼峰值(例如聚苯乙烯)的材料的示例的曲线图；
- [0072] 图39为示出了根据本申请一实施例的测量波数-像素数的多项式映射的示例的曲线图；
- [0073] 图40A是显示根据本申请一实施例,使用两种不同的拉曼探针从两层组织模型(即聚苯乙烯和聚乙烯)获得的拉曼光谱的比较曲线图；
- [0074] 图40B是显示根据本申请一实施例,组织模型中的顶层和底层的代表性拉曼光谱的曲线图；
- [0075] 图41是根据本申请一实施例的通过自动调整激光激发功率和累积来改善S/N比并防止CCD饱和的技术或方法的框图；
- [0076] 图42是根据本申请一实施例的通过自动调整曝光时间和累积来改善S/N比并防止CCD饱和的技术或方法的框图；以及
- [0077] 图43是示出根据本申请一实施例的存储用于不同探针和不同器官的诊断模型的代表性数据库结构的框图。

具体实施方式

[0078] 拉曼光谱表示基于非弹性光散射基本原理的独特的光学振动技术。当入射激光诱导分子中的偏振变化时,小比例的入射光子(10^8 中占1个)被非弹性散射并具有频率偏移,该频率偏移对应于样品中分子的特异性拉曼活性振动模式。不同的分子和不同的键以不同的频率振动。因此,拉曼光谱能够从大量的细胞间和/或细胞内组分中收获丰富的特异性生物分子信息,组分如组织中的蛋白质、脂质和脱氧核糖核酸(DNA)、水等。

[0079] 图1示出了根据本申请一实施例的光纤共焦拉曼光谱系统或装置,或光纤共焦拉曼光谱仪100。系统100能够同时在指纹(FP)光谱范围和高波数(HW)区域内进行拉曼光谱测量。根据本申请实施例,获取和分析FP和HW组合光谱范围测量能够增强生物分子信息的体内和离体分析的准确性,例如用于表征、识别和/或诊断胃肠道组织。

[0080] 该光纤共焦拉曼光谱仪100包括如近红外(NIR)二极管激光器102的准直照射源、高通量反射成像光谱仪104、NIR优化的电荷耦合器件(CCD)照相机106以及可通过光纤110光学连接到激光器102和光谱仪104的探针108。该探针108可以由内窥镜的细长轴105传送(例如在由细长轴105的器械通道内)。该光纤拉曼光谱仪100还可以包括用于对激光照明进

行本底抑制的带通滤波器112,以及用于使组织拉曼信号通过同时消除散射激光和光纤本底干扰的长通滤波器114。计算机或微控制器系统124可以提供用于控制拉曼光谱仪操作和执行拉曼光谱分析方面的自动化/计算机化控制和分析模块。

[0081] 在一代表性实施例中,该近红外二极管激光器102可具有300mW的最大输出功率和785nm的波长,其可与例如由B&W泰克公司生产的器件一致。NIR激光器102在探针108的尖端116处产生激发能,该尖端116可以在由探针108“照明”的任何标本中引起振动,从而产生拉曼光谱。可以使用其他类型的准直照明来替代该二极管激光器102。光谱仪104可以配备有热电冷却,例如可冷却到约 -70°C 。光谱仪104可以与例如由普林斯顿仪器公司生产的型号为Acton LS785 f/2的设备一致。照相机106可以与由普林斯顿仪器公司生产的Pixies 400BR eXcelon一致。在该代表性实施例中,该光谱仪100可以在 $400\text{--}3600\text{cm}^{-1}$ 的光谱范围内获得分辨率约为 11cm^{-1} 的体内拉曼光谱。所示器件作为代表性示例,并且不作为限制性目的。

[0082] 汞-氙光谱校准灯的原子发射线可用于波长校准。该灯可以与由位于佛罗里达顿尼丁的海洋光学生产的HG-1和AR-1相同。由于系统的波长依赖性,通过使用钨校准灯,例如由位于加利福尼亚圣地亚哥的EG&G咖玛科技生产的RS-10,所有波长校准光谱均被校正。

[0083] 在一些实施例中,为了测量FP和HW光谱,可以通过连续切换不同的激光激发频率,或者通过使用双透射光栅来覆盖整个光谱范围,即以高分辨率(即, $-150\sim 1950\text{cm}^{-1}$; $1750\sim 3600\text{cm}^{-1}$)来测量组织拉曼信号,如国际专利申请PCT/SG2014/000063中所公开的。

[0084] 图2示出了在本文详细描述的另一实施例,即利用单个反射光栅同步测量FP和HW光谱的宽带光纤共焦拉曼系统或装置(例如 $400\text{--}3600\text{cm}^{-1}$) 200,该系统和装置在一定程度上提高了组织表征和诊断的准确性,例如在内窥镜可及的器官和身体部位中。

[0085] 该系统200包括近红外(NIR)二极管激光器202($\lambda_{\text{ex}}=785\text{nm}$)、配置有热电冷却的高通量反射光谱仪204、NIR优化电荷耦合器件(CCD)照相机206和特别设计的1.8mm(外径)光纤共焦拉曼探针208。该系统200还包括用于提供自动化/计算机化控制和分析模块的计算机/微控制器系统124,以控制拉曼光谱仪操作并且执行拉曼光谱分析的各方面。更具体地,根据本申请一实施例,该计算机/微控制器系统124可包括一个或多个处理单元,用于执行存储器驻留程序指令,以执行特定拉曼光谱获取和分析操作、程序或流程。

[0086] 将定制的镀金宽带反射光栅(如830g/mm,在约800nm处具有 $>90\%$ 的衍射率)结合或集成到该光纤共焦拉曼系统200中,以覆盖整个光谱范围(即 $400\text{--}3600\text{cm}^{-1}$),光谱分辨率约为 11cm^{-1} 。该光纤共焦拉曼内窥镜探针208用于激光输送和体内组织拉曼信号收集。该共焦拉曼内窥镜探针208先前已经在国际专利申请PCT/SG2014/000063有所描述,并且包括围绕中心光传输光纤(直径为 $200\mu\text{m}$, $\text{NA}=0.22$)的多个 $200\mu\text{m}$ 的滤光器涂覆的斜切光纤集合($\text{NA}=0.22$)。将微型1.0mm蓝宝石球透镜($\text{NA}=1.78$)耦合到该共焦探针208的光纤尖端,以将激发光紧紧地聚焦到组织上,使得能够从上皮层(组织深度 $<200\mu\text{m}$)收集有效的拉曼光谱。根据本申请一实施例,该光纤共焦拉曼探针208可以插入到医疗内窥镜的器械通道中并且与上皮轻轻接触,以使用宽带共焦拉曼内窥镜技术进行体内组织表征和诊断。

[0087] 图3显示了从胃肠粘膜测量的宽带FP和HW拉曼和伴随自体荧光光谱的示例,其覆盖了FP和HW区域。在FP范围内的伴随自体荧光的顶部观察到高分辨率的组织拉曼峰,以及FP范围内的试验性分子分配如下:

- [0088] • 853cm^{-1} , 其涉及 ν (C-C) 蛋白质,
- [0089] • 1004cm^{-1} , 其涉及苯丙氨酸的 ν_s (C-C) 环呼吸,
- [0090] • 1078cm^{-1} , 其涉及脂质的 ν (C-C),
- [0091] • 1265cm^{-1} , 其涉及蛋白质的酰胺III ν (C-N) 和 δ (N-H),
- [0092] • 1302cm^{-1} , 其涉及蛋白质的 CH_3CH_2 扭曲和摆动,
- [0093] • 1445cm^{-1} , 其涉及蛋白质和脂质的 δ (CH_2) 变形,
- [0094] • 1655cm^{-1} , 其涉及蛋白质的酰胺I ν (C=O), 以及
- [0095] • 1745cm^{-1} , 其涉及脂质的 ν (C=O)。
- [0096] 在HW区域中也可以看到强烈的拉曼峰, 例如:
- [0097] • 2850 和 2885cm^{-1} , 其涉及脂质的对称和非对称 CH_2 拉伸,
- [0098] • 2940cm^{-1} 涉及蛋白质的 CH_3 拉伸,
- [0099] • 在 3100 至 3600cm^{-1} 区域中的 3400cm^{-1} , 其涉及水OH拉伸振动的宽拉曼带。
- [0100] 根据本申请一实施例的宽带技术允许FP或HW范围, 或FP和HW光谱区域同时用于组织分析、识别、表征和/或诊断, 并且对于内窥镜可检测到的表现出强烈的自体荧光的器官特别有用, 可迅速饱和CCD。该计算机/微控制器系统124可以用于选择性地将FP光谱区域、HW光谱区域, 或者FP和HW区域均用于组织分析、识别、表征和/或诊断, 例如该选择响应于用户在图形用户界面上的直接输入。
- [0101] 一实施例包括如果FP区域超过CCD的动态范围, 则使用HW光谱区域进行诊断。在另一个实施例中, FP和HW光谱区域均用于组织表征、识别和/或诊断。宽带光纤共焦拉曼内窥镜平台允许根据测量的CCD饱和水平和/或组织类型, 在不同光谱区域 (如HW、FP、或同时FP和HW) 之间切换。
- [0102] 根据本申请一实施例的组织表征、识别或诊断技术或方法利用来自宽带FP和HW光谱的互补诊断信息。一般来说, 组织生物学光谱极其复杂。将不同组织类型之间的拉曼光谱的细微分子差异转换成有价值的诊断信息需要复杂的多变量统计分析技术, 例如主成分分析法 (PCA)。这已经通过利用整个 (即连续的) 拉曼光谱分别在FP或HW区域上进行组织诊断和表征而得到广泛实践。
- [0103] PCA通过将拉曼光谱分解成正交分量, 例如主分量 (PC) 的线性组合来减小拉曼光谱的维数, 使得数据集中的光谱变化最大化。因此, PCA通常与有效的聚类算法集成, 例如支持向量机 (SVM)、逻辑回归 (LR) 和线性判别分析 (LDA), 用于生物学拉曼光谱的分类。PCA对于数据简化和分析非常有效。
- [0104] 替换性地, 偏最小二乘 (PLS)-差分分析 (DA) 已经开始应用于通过对0和1的类成员关系进行编码, 并以适当的Y指示符矩阵表示群体的亲和性来对问题分类。PLS-DA采用PCA的基本原理, 但还通过最大化光谱变化和群体的亲和性之间的协方差来旋转诸如潜变量 (LVs) 的分量, 使得LV解释了与诊断相关的变化而非在光谱数据集中的最显著变量。在大多数情况下, 这确保了诊断上显著的光谱变化被保留在前几个LVs中。
- [0105] 大多数多变量算法 (例如PCA或PLS-DA) 最初设计目的并非为了处理大量的不相关光谱变量。换句话说, 拉曼光谱中的一些光谱区域可能对诊断模型具有弱化效应, 例如归因于大方差、干扰、结构间变异性等。
- [0106] 在一个实施例中, 提供了一种利用来自FP和HW频谱范围的互补信息的新的诊断技

术或程序,该互补信息例如通过使用宽带光纤共焦拉曼光谱系统200对FP和HW光谱进行测量而获得。本实施例利用宽带FP和HW拉曼光谱中的离散光谱子区间(例如大约3-15或大约5-10个离散光谱子区间,其中给定的或每个光谱子区间可具有大约 $10-30\text{cm}^{-1}$ 或大约 20cm^{-1} 的光谱宽度)用于诊断,而非连续光谱范围。图4示出了胃肠道的宽带拉曼测量的示例,其中互补信息已经从FP,即 $800-1800\text{cm}^{-1}$ 和HW,即 $2800-3600\text{cm}^{-1}$ 光谱范围中提取。图5A-5B显示了分别在FP和HW范围中的5阶多项式减法之后的相同的拉曼光谱,更清楚地显示了特异性拉曼峰。根据本公开的实施例,使用来自FP和HW区的光谱子区间被发现可显著改善或提高体内拉曼内窥镜诊断异常生长的准确度,如癌前期和癌症,这将在下文作进一步描述。

[0107] 根据本申请的一个实施例涉及胃肠道异常生长,例如结肠直肠异常生长的诊断。从体内结肠直肠组织测得的原始FP和HW拉曼光谱体现了弱组织拉曼信号、强自体荧光本底和噪声的组合。为了观察和分析拉曼信号,必须处理或去除本底和噪声。因此,通过一阶平滑滤波器预处理原始光谱,以减少光谱噪声,例如具有3像素窗口宽度的S-G滤波器(Savitzky-Golay filter)。在FP区域($800-1800\text{cm}^{-1}$)中,发现第五阶多项式对于拟合经过噪声平滑的光谱中的自体荧光本底是最佳的,然后从校正的FP光谱中减去该多项式以生成单独的组织拉曼光谱。在HW范围($2800-3600\text{cm}^{-1}$)中,发现一阶线性拟合对于去除弱自体荧光基线是最佳的。每个接收到的信号的这种预处理在大约30ms内完成,因此被处理的拉曼光谱和诊断结果可以实时显示在诸如计算机屏幕的显示设备上。

[0108] 在预处理之后,分析拉曼光谱以确定峰和/或标记。然后使用这些峰或标记来估计、表征或确定导出光谱的组织的性质(病变的性质或异常生长)。这可以通过计算机系统使用与已知控制光谱、参考标记等的比较的适当手段来完成。本文使用的术语“参考标记”旨在包括拉曼光谱中的一个或多个单独的峰,或实际上整个拉曼光谱。如果一个或多个拉曼参考标记指示异常细胞生长的某性质,则可以使用查找表等对获得的光谱和参考标记作比较。应当理解,可以采用许多不同类型的比较技术或方法。一旦已经进行比较并且已经确定了最佳匹配,则可以通过任何适当的手段向系统200的用户指示存在的异常细胞生长的类型。这可以包括计算机屏幕上的视觉表示和/或可听消息。

[0109] 在系统200一实施例的试验中,对共计50位连续症状患者进行结肠镜检查。已经对患者进行检查用于监控或筛查如贫血,出血等的各种结肠直肠适应症。在结肠镜检查之前,对患者施用聚乙二醇(PEG)电解质肠道制备物。使用静脉内施用异丙酚进行镇静。内窥镜医师在检查期间和共聚焦拉曼扫描之前清洁结肠,用生理盐水溶液进一步冲洗多息肉和扁平结肠直肠病变,以进一步减少混杂因素(即残留的粪便和流体等)。在一般检查期间,将内窥镜导向结肠远端,并在从体内撤回探针期间对可疑病变进行拉曼扫描($n\sim 15$ 光谱)。在约0.1至0.5秒的时间段内获取每个组织拉曼测量。这允许对结肠直肠息肉作快速调查。使用与霍特林(Hotelling)的 T^2 和Q-残留统计相关联的主成分分析法(PCA),在线临床软件自动舍弃在与结肠息肉(约10%)非接触获得的任何拉曼光谱。该PCA方法为在先的国际专利申请PCT/SG2014/000063的主题,其工作如下:

[0110] • 基于主成分(PCA)以及霍特林的 T^2 和Q-残留统计引入一种新的异常值检测方案,作为在线框架中的高级特异性模型反馈工具。霍特林的 T^2 和Q-残留统计是提供模型拟合内外信息的两个独立参数。

[0111] • 使用霍特林的 T^2 和Q-残留参数作为控制所获取的光谱质量(即探针-组织接触

模式、探针处理变化、白光干扰、蓝光干扰、混杂因素等)的指标,听觉反馈已被集成到在线拉曼诊断系统,便于实时光谱筛选并为临床医生提供探针处理建议。

[0112] • 如果验证光谱以作进一步分析,则该光谱被馈送到概率模型,用于体内癌症诊断。软件可基于大量患者的光谱数据库,在不同的预渲染的多变量统计模型之间即时切换,包括偏最小二乘判别分析(PLS-DA)、PCA线性判别分析(LDA)、蚁群优化(ACO)-LDA、分类和回归树(CART)、支持向量机(SVM)、自适应增强(AdaBoost)等。

[0113] 拉曼扫描完成并保存结果后,取出每个组织样本;将该样本置于福尔马林中、切开、用苏木精和曙红(H&E)染色,并用于组织病理学检查。结肠直肠组织临床上可分为以下三个重要的类别:

[0114] (i) 良性(正常和增生性息肉)

[0115] (ii) 低级别和高级别的腺瘤(管状、管状绒毛状、绒毛状)

[0116] (iii) 腺癌。

[0117] 将根据本申请的实施例的FP和HW同步光纤共焦拉曼技术与组织病理学评估进行比较,以确定在体内区分肿瘤性和非肿瘤性结肠直肠病变的能力。

[0118] 该比较包括使用该结果的统计分析,以验证FP和HW同步光纤共焦拉曼光谱技术是否足够精确以替代当前使用的技术。计算科恩统计以评估组织病理学表征的一致性。使用费舍尔事后(post hoc)最小显著差异(LSD)测试的方差分析(ANOVA)来测试群体之间平均值的差异。多变量统计分析用于为临床诊断提取显著拉曼光谱特征。概率偏最小二乘法(PLS)判别分析(DA)应用于组织诊断。使用“留一患者”交叉验证来评估和优化PLS-DA模型复杂性,以降低过拟合的风险。生成受试者工作特征(ROC)曲线并计算曲线下面积(AUC),以评价FP和HW光纤共焦拉曼光谱技术在体内区分肿瘤性和非肿瘤性息肉的能力。

[0119] 在一仅作为示例呈现的实验中,为了显示将本申请一实施例应用于一具体群体的测试对象或患者的结果,平均年龄为52岁(23-83)的50名患者(27名男性和23名女性)接受了光纤共焦拉曼检查。十三名患者表现有腺瘤(11位管状腺瘤和两位绒毛管状腺瘤)伴有低度异型增生。三位患者患有晚期结直肠腺癌。科恩的Kappa值为0.89表示该三个组织群体的病理发现之间具有高水平的一致性。从126个病变或异常生长中成功地获取到共计1731个体内结肠直肠拉曼光谱。在这些病变中,1397位是良性的,235位是腺瘤,99位是腺癌。这在组织病理组织学检查中得到证实。表1总结了患者和病变的详细分布,病变包括病理亚型和解剖学方位,如升、横、降乙状结肠、直肠。

[0120]

| 组织病理学 | 患者信息 | | | | 解剖学位置 & 测得拉曼光谱 | | | | | |
|---------|------|----|--------------|------|----------------|------|-----|-----|-----|------|
| | 患者 | 病变 | 性别 | 平均年龄 | 直肠 | 乙状结肠 | 降结肠 | 横结肠 | 升结肠 | 总光谱 |
| 正常平坦型病变 | 28 | 91 | 13/15 男/女 | 51 | 423 | 215 | 133 | 318 | 206 | 1295 |
| 增生性息肉 | 5 | 7 | 3/2 | 51 | 63 | 7 | 32 | 0 | 0 | 102 |
| 腺瘤 | | | | | | | | | | |
| 肾小管 | 11 | 17 | 5/6 | 60 | 83 | 0 | 12 | 41 | 81 | 216 |
| 绒毛状 | 2 | 2 | 2/0 | 41 | 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 19 |
| 腺癌 | 3 | 9 | 3/0 | 69 | 3 | 29 | 0 | 67 | 0 | 99 |

表1: 在临床内窥镜镜检查期间从不同的结肠直肠位置处测得的体内FP +HW共焦拉曼光谱的患者统计和细节的总结

[0121] 图6显示了测量良性,腺瘤和腺癌异常生长得到的体内拉曼光谱平均值±一个标准偏差(SD) (阴影浅灰色)。具有试验性分布的显著组织拉曼峰可以在FP范围内下列位置周

围观察到:

- [0122] • 853cm^{-1} , 其涉及 ν (C-C) 蛋白质,
- [0123] • 1004cm^{-1} , 其涉及苯丙氨酸的 ν_s (C-C) 环呼吸,
- [0124] • 1078cm^{-1} , 其涉及脂质的 ν (C-C),
- [0125] • 1265cm^{-1} , 其涉及蛋白质的酰胺III ν (C-N) 和 δ (N-H),
- [0126] • 1302cm^{-1} , 其涉及脂质的 CH_2 扭曲和摆动,
- [0127] • 1445cm^{-1} , 其涉及蛋白质和脂质的 δ (CH_2) 变形,
- [0128] • 1618cm^{-1} , 其涉及吡啉的 ν (C=C),
- [0129] • 1655cm^{-1} , 其涉及蛋白质的酰胺I ν (C=O), 以及
- [0130] • 1745cm^{-1} , 其涉及脂质的 ν (C=O)。

[0131] 在HW区域中也可以看到强烈的拉曼峰, 例如:

- [0132] • 2850 和 2885cm^{-1} , 其分别涉及脂质的对称和非对称 CH_2 拉伸,
- [0133] • 2940cm^{-1} 涉及蛋白质的 CH_3 拉伸,
- [0134] • 3009cm^{-1} 涉及蛋白质的对称 $=\text{CH}_3$ 拉伸,
- [0135] • 约 3300cm^{-1} 涉及酰胺A (蛋白质的NH拉伸), 以及
- [0136] • 在约 3200 至约 3400cm^{-1} , 涉及OH拉伸振动的水的宽拉曼带, 该振动直接涉及组织的细胞和细胞外空间中的局部构型和交互。

[0137] 图7A显示了良性腺瘤、良性腺癌和腺瘤-腺癌的差光谱 $\pm 1\text{SD}$ (阴影浅灰色), 该光谱分辨了不同的结肠直肠病变中的特征性光谱特征, 例如峰强度、位移和谱带增宽等。

[0138] 图7B示出了在整个光谱范围 (每个拉曼光谱范围为 $800-1800\text{cm}^{-1}$ 至 $2800-3600\text{cm}^{-1}$, 具有779个强度) 中的每个拉曼强度的计算得到的p-值 (ANOVA) 的对数图。

[0139] 图7C显示了来自FP和HW范围内 (i) 1078cm^{-1} (ii) 1265cm^{-1} (iii) 1335cm^{-1} (iv) 1431cm^{-1} (v) 1618cm^{-1} (vi) 2885cm^{-1} 和 (vii) 3200cm^{-1} 附近的最具诊断意义的拉曼峰强度 (平均 $\pm 1\text{SD}$) 的直方图。

[0140] 体内拉曼光谱与不同病理类别的代表性组织病理切片相关联。图8A显示了在具有轻度淋巴浆细胞浸润的正常肠型粘膜中广泛存在的杯状细胞。图8B显示了在杯状型增生性息肉中具有星形腺体的息肉状特征。图8C显示了具有低度异型增长的管状腺瘤, 表现出具有高色度核的拥挤细胞。图8D显示了具有显著细胞和结构异常的侵袭性腺癌。图8A-D中的组织病理学特征揭示了不同病变类型的细胞和形态特征, 而FP和HW光纤共焦拉曼光谱技术揭示了与图7A-C所示的结肠直肠癌相关的上皮中的发生的生物分子变化。

[0141] 通过使用来自FP和HW光谱范围的互补生物分子信息, 使用于体内诊断的光纤拉曼光谱得到应用。图9A显示了使用根据本申请一实施例的FP和HW光纤共焦拉曼光谱技术, 并使用来自分别属于 (i) 良性 ($n=1397$)、(ii) 腺瘤 ($n=235$) 和 (iii) 腺癌 ($n=99$) 的50位结肠直肠癌患者的三分概率PLS-DA生成的后验概率。通过形成如图9B所示的ROC曲线确定灵敏度和特异性之间的关系。曲线下面积 (AUC) 分别为0.930和0.978, 用于分别区别腺瘤和良性息肉, 以及腺癌和腺瘤与良性息肉。ROC分析显示, 腺瘤可以与良性息肉样病变和平坦型病变区分, 灵敏度为88.5% ($208/235$); 特异性为80.0% ($1118/1397$)。基于光谱检测腺癌灵敏度为92.9% ($92/99$), 特异性为96.51% ($1575/1632$)。如图10所示, 执行另一ROC分析, 以检查来自FP和HW区域的生物分子信息用于诊断时是否互补。基于FP范围 (即 $800-1800\text{cm}^{-1}$) 和

基于HW范围(即 $2800-3600\text{cm}^{-1}$)的AUC分别为0.895和0.908。另一方面,通过使用来自FP和HW范围的互补信息,鲁棒性显著改善,得到的AUC为0.930。根据这些令人鼓舞的体内结果,独特的FP和HW光纤共焦拉曼光谱技术呈现出高度有效的光学形态,从而可以实时实现体内结肠肿瘤的客观诊断。

[0142] 已知很多人患有小结肠直肠增生性息肉或扁平息肉样病变,这大大增加了组织病理学评估的成本。开发和采用高级内窥镜模型用于结肠直肠检查的最重要的动机是实现从腺瘤中区分良性增生性息肉的能力。根据本申请一实施例首次证明,可以从结肠直肠息肉测量(例如同步)覆盖FP和HW光谱范围的高质量体内共焦拉曼光谱,并且实时分析该光谱,并且这可以用于提供识别瘤变的改进方式,如图6所示。根据本申请一实施例的光纤共焦拉曼光谱技术揭示了伴随如图7A-C所示的肿瘤转化的上皮发生的多个生物化学和生物分子变化。例如,肿瘤性息肉与显著降低的拉曼峰强度相关联; 1078cm^{-1} 与 $\nu(\text{C}-\text{C})$ 相关; 1431cm^{-1} 与 $\delta(\text{CH}_2)$ 相关; 2850 和 2885cm^{-1} 分别与对称和不对称 CH_2 拉伸($p < 0.001$)相关,其指示脂质含量的相对降低。结果还显示了显著上调蛋白质,在 1004cm^{-1} 处由灵敏度生物标记指示,与苯丙氨酸的 $\nu_s(\text{C}-\text{C})$ 环呼吸相关;在 1655cm^{-1} 处用谱带增宽指示,与蛋白质的酰胺I $\nu(\text{C}=\text{O})$ 相关,表明肿瘤上皮中细胞增殖增加。肿瘤息肉中在 1618cm^{-1} ($p < 0.001$)处显著的拉曼峰强度也和与抗原发作和所导致的新血管形成相关的血红蛋白含量密切相关。

[0143] 上述峰强度涉及分子内特定键的振动。每种类型的键具有不同的峰强度,并且可以与特定键相关联的峰强度的识别可以揭示生物分子信息。病变或异常生长包括特定的一个或多个键并产生特定的相关峰强度这一事实可用于区分不同类型的异常生长。例如,如果良性的异常生长表现出特定的峰强度,则随后对该峰强度的检测就可以确定在之后的情况,病变或异常生长也可能是良性的。

[0144] 根据本申请的实施例,可以利用峰强度和生物标记之间的关联来识别存在的异常生长的类型。这在体内和离体均可实现。

[0145] 在一些结果中,发现腺瘤中的水含量明显不同。宽反对称OH拉伸振动在 3200cm^{-1} ($p < 0.001$)的强度的增加表明肿瘤上皮具有增多的结合水含量,该结合水含量可部分解释为水通道蛋白质改变了水渗透性,从而导致癌细胞水合。结合水的增加可能与疏水性脂质的同时减少相关。该发现的意义可通过计算与脂质和结合水相关的峰强度比(即 I_{2885}/I_{3200})分析。该峰值比可以独自区分腺瘤和良性息肉,灵敏度为81.3%(191/235);特异性为80.4%(1132/1397)。因此,息肉中的脂质含量和水灌注是原位结肠直肠癌形成的非常有用的生物标记。上皮拉曼光谱特征与细胞和组织生物化学的直接相关性因此可以加深对生物分子水平上在体结肠直肠癌发生的理解。可以使用峰或标记来诊断存在的异常生长类型。

[0146] 如图9A-B所示,通过利用大范围的互补光学生物标记,包括蛋白质、脂质、DNA和蛋白质结合和未结合水的构象,首次证明了可以在体内实现腺瘤的准确诊断。可以基于光谱将腺瘤与良性息肉样和平坦型病变区分开,灵敏度为88.5%(208/235);特异性为80.0%(1118/1397)。虽然光纤共焦型拉曼探针选择性地询问浅上皮层,但它仍然能够有效区分腺癌与腺瘤,这表明侵袭性癌细胞与显著的生物分子异常相关。

[0147] 通过结果可以清楚地看到FP和HW光纤共焦拉曼结肠镜技术在体内检测和诊断结肠直肠癌形成的有效性。还已经证明,通过利用FP和HW光谱范围可以产生优于单独使用FP或HW范围的AUC。这些实质性结果确认了FP和HW拉曼光谱技术可以大大降低误分类率,并且证

实了增加来自FP和HW范围的互补生物分子信息,以提高体内结肠直肠诊断。例如,HW光谱范围包含与水的局部构象以及CH₂和CH₃拉伸部分相关的信息,这些都不包含在FP范围内的。FP和HW范围的组合也可以用于离体诊断目的。

[0148] 应当注意,FP和HW组合拉曼光谱技术通常是优选的操作方法,例如通过FP和HW同步光谱测量。然而,使用体内FP或HW可产生能够鉴定不同类型的异常生长的结果。因此,根据本申请的实施例可以单独使用FP、单独使用HW或者使用FP和HW的组合(例如同时地)。

[0149] 还应当注意,使用宽带FP和HW光谱中的离散光谱子区间(其也可以被称为预定值和/或参考标记)提供了改进的诊断技术或方法。

[0150] 在用于增强目标组织表征和诊断的精度度的设备中应用单个镀金的宽带反射光栅(例如用于同时获得FP和HW光谱)为一个重要发展,例如在内窥镜手术期间用于在体内以更强的精度实时表征/诊断潜在的异常或异常生长。该单个镀金的宽带反射光栅意味着在体内测量期间不需要像现有技术那样切换衍射光栅。这显然有很多优点。因此,根据本申请实施例的系统或设备能够进行所有必要的测量,而不需要任何切换过程。该装置更紧凑且成本有效,因为其仅具有一个光栅而不是多个光栅。虽然与双光栅设计相比,单光栅设计在光谱分辨率上有点下降,但是这一紧凑系统不会影响或明显影响诊断目的或结果,这是因为该紧凑系统的光谱分辨率与组织拉曼光谱带宽匹配,通常在约10cm⁻¹的范围内。

[0151] 光纤共焦拉曼光谱提供了客观连续的实时计算机化诊断,该诊断可直接操作而不需要额外的内窥镜训练或配给造影剂。通过在体内实现肠上皮的功能性和生物分子/生物化学评估,FP和HW纤维光学共焦拉曼光谱的引入将对胃肠内窥镜实践,例如结肠镜实践带来重要影响。这种新的生物分子内窥镜方法使得临床结直肠检查时可客观和直接地做决策。在结肠直肠检查中,光纤共焦拉曼光谱可以有两个关键作用,如下:

[0152] (i) 预防和介入方法,包括鉴定小的高危腺瘤用于立即执行息肉切除术或EMR。事实上显然具有低风险的增生性息肉或扁平可疑病变可以原位留置,从而有效地降低医疗成本;

[0153] (ii) 光纤共焦拉曼光谱法也可以用于高度精确地有效确认或排除结肠直肠腺癌的存在。

[0154] 根据本申请的实施例揭露了对CRC应用内窥镜和腹腔镜手术的可能性,从而为胃肠病学家提供了用于实时评估和定义切缘的客观工具以及在分子水平上的治疗后功效或复发的后续评估。这可以协助完全肿瘤切除和随后的边缘评估,以减少复发的风险。因此,根据本申请的实施例的FP和HW光纤共焦拉曼光谱可以用于胃肠内窥镜领域,也可以用于其他身体部位,并通过实现实时体内客观组织评估用于筛选设置和治疗结肠直肠应用中。

[0155] 另一个临床实例利用根据本申请一实施例,在内镜检查期间通过同时获取来自体内食管组织的指纹(FP)(即800-1800cm⁻¹)和高波数(HW)(即2800-3600cm⁻¹)拉曼光谱,实时体内诊断食管鳞状细胞癌(ESCC)。在该组实验中,从48位接收常规内镜检查的食管患者处获得总计1172个高质量的体内FP/HW组织拉曼光谱(正常(n=860);ESCC(n=312))。体内拉曼数据集总共分成两个部分:即总数据集的80%用于训练(来自34位食管患者的938个体内FP/HW拉曼光谱[正常(n=736);ESCC(n=202)]);而总数据集的其余20%用于预测测试(来自14名食管患者的234个体内FP/HW拉曼光谱[正常(n=124);ESCC(n=110)]。

[0156] 图11A显示了训练数据集(总数据集的80%)的体内拉曼光谱平均值±一个标准偏

差(SD)(阴影浅灰色),用于组织诊断算法开发。还显示了WLR引导的FP/HW拉曼程序的对应图像。具有试验性分布⁷⁻¹⁸的显著食道组织拉曼峰可以在FP范围内被观察到,即:

- [0157] • 853cm⁻¹,其涉及 ν (C-C)蛋白质,
- [0158] • 1004cm⁻¹,其涉及苯丙氨酸的环呼吸,
- [0159] • 1078cm⁻¹,其涉及脂质的 ν (C-C),
- [0160] • 1265cm⁻¹,其涉及蛋白质的酰胺III ν (C-N)和 δ (N-H),
- [0161] • 1302cm⁻¹,其涉及脂质的CH₂扭曲和摆动,
- [0162] • 1335cm⁻¹,其涉及蛋白质和核酸的CH₃CH₂扭曲,
- [0163] • 1445cm⁻¹,其涉及蛋白质和脂质的 δ (CH₂)变形,
- [0164] • 1618cm⁻¹,其涉及吡啉的 ν (C=C),
- [0165] • 1655cm⁻¹,其涉及蛋白质的酰胺I ν (C=O),以及
- [0166] • 1745cm⁻¹,其涉及磷脂质的 ν (C=O)。
- [0167] 在HW区域¹⁸⁻²⁴中也可以看到强烈的拉曼峰,例如:
- [0168] • 2850和2885cm⁻¹,其分别涉及脂质的对称和非对称CH₂拉伸,
- [0169] • 2940cm⁻¹涉及蛋白质的CH₃拉伸,
- [0170] • ~3300cm⁻¹涉及酰胺A(蛋白质的NH拉伸),以及
- [0171] • 水的宽拉曼带(OH拉伸振动峰在约3250cm⁻¹和约3400cm⁻¹),其涉及食管组织的细胞内和细胞外空间中的OH键的局部构象和交互。

[0172] 图11B显示了ESCC和正常食管组织之间的差异拉曼光谱 \pm 1SD(阴影面积),反映了与食道中癌症进展相关的拉曼活性组分变化。识别到的ESCC和正常组织的拉曼光谱中显著性差异($p=1.3E-8$,不成对的双侧学生的t检验)显示了FP/HW同步拉曼内窥镜检查用于体内诊断食管癌潜力。

[0173] 为了阐明具有诊断重要意义的拉曼活性组分,图12A显示了在整个光谱范围(即800-1800cm⁻¹和2800-3600cm⁻¹)内计算每个拉曼强度得到的p值(不成对的双侧学生的t检验)的对数图。特别地,在ESCC和正常食管之间发现了下述具有静态显著性差异($p<1E-10$)的光谱子区域:840-940cm⁻¹、1025-1100cm⁻¹、1310-1355cm⁻¹、1585-1690cm⁻¹和2830-2975cm⁻¹涉及蛋白质,脂质和核酸。在3160-3260cm⁻¹和3370-3420cm⁻¹范围内的结合水中也观察到显著的光谱差异。

[0174] 图12B显示FP和HW范围的统计学上最不同的拉曼峰强度(平均值 \pm 1SD)的直方图,即(i)853cm⁻¹,(ii)1078cm⁻¹,(iii)1335cm⁻¹,(iv)1618cm⁻¹,(v)1655cm⁻¹,(vi)2850cm⁻¹,(vii)2885cm⁻¹,(viii)3250cm⁻¹和(ix)3400cm⁻¹。如图13所示,组织病理学识别ESCC中显著的细胞和结构异常,代表不同拉曼活性组分的相对较高或较低FP/HW组织拉曼带揭露了伴随着ESCC的转化,食管组织的特异性生物化学/生物分子的改变。FP/HW拉曼光谱的变化与组织中的脂质、蛋白质、DNA和水含量相关,再次确认了FP/HW同步拉曼光谱在分子水平上检测ESCC的能力。

[0175] 利用在FP和HW光谱范围中识别的互补生物化学/生物分子信息,对训练数据集(总数据集的80%)实施PLS-DA和LOPCV,以开发用于增强体内ESCC诊断的稳健性诊断模型。科恩Kappa为0.91证实了食管组织群的高度一致性。图14分别示出了针对(a)FP,(b)HW和(c)综合FP/HW的每个拉曼预测的交叉验证的PLS-DA后验概率的散点图。综合FP/HW拉曼光谱的

诊断准确率为97.3% [灵敏度97.0% (196/202); 特异性97.4% (717/736)], 优于仅使用FP (精度-90.9%; 灵敏度-93.6% (189/202) 和特异性-90.2% (664/736)) 或HW (准确度-85.5%; 灵敏度-78.2% (158/202) 和特异性-87.5% (644/736)) 拉曼技术。如图15所示, 还生成了受试者工作特征 (ROC) 曲线, ROC曲线下FP、HW和综合FP/HW技术的积分面积分别为0.972, 0.928和0.995。上述结果证实与单独的FP或HW拉曼技术相比, FP/HW综合或同步拉曼技术为体内ESCC检测提供了最佳诊断性能。

[0176] 根据这些理想的诊断结果, FP/HW同步拉曼光谱和开发的诊断算法被应用于独立测试数据集 (总数据集的20%) 的预测诊断。使用FP/HW集成拉曼光谱可以实现93.2%的预测准确度 (即灵敏度-92.7% (102/110) 和特异性-93.6% (116/124)], 证实了FP/HW集成拉曼光谱相对于FP (预测精度-91.0%; 灵敏度-90.9% (100/110) 和特异性-91.9% (113/124)) 或HW (预测精度-80.3%; 灵敏度-76.4% (84/110) 和特异性-83.9% (104/124)) 拉曼技术单独用于体内EECC的优点。

[0177] 在另一个实施例中, 考虑识别其他类型的癌症, 例如, 使用图2中的系统200来识别宫颈癌或其他类型的异常生长。

[0178] 为了从FP和HW光谱区域中选择互补光谱区间, 将变量/特征选择技术并入宽带拉曼内窥镜技术中。该变量/特征选择的好处包括:

[0179] 1. 提高预测性能;

[0180] 2. 降低模型复杂度; 和

[0181] 3. 理解底层光谱处理, 例如变量/特征的重要性。

[0182] 在一个实施例中, 使用区间PLS-DA算法, 但是原则上可以应用多个或所有其它特征/变量选择技术或方法来选择用于任何聚类算法的互补光谱区域, 诸如PCA-LDA、SVM、LR等。该特征/变量选择技术可以是遗传算法 (GA)、群体智能、选择性比率等。简而言之, 本文使用的区间PLS-DA对拉曼光谱中的区间的最佳组合执行连续穷举搜索。因此, 区间PLS-DA创建各个PLS模型, 每个PLS模型仅使用变量的子集或窗口。如果对于给定光谱数据集存在200个区间, 则计算200个PLS-DA模型 (即每个区间一个模型)。

[0183] 对每个模型执行留一患者交叉验证, 并且选择可提供最高诊断准确度的区间。这是最佳单区间模型。如果只需要一个区间, 则算法在该点停止。然而, 如果期望多于一个区间 (以增加信息内容并提高预测性能), 则可以执行附加的周期。在第二周期中, 在创建新的一组新PLS模型时, 在所有模型中使用第一被选区间, 但是与每个其他剩余区间 (每次一个) 组合。以这种方式, 提取来自FP和HW范围的互补诊断值的区域, 同时从模型中排除冗余或不相关的光谱范围, 例如预测能力弱的区域。

[0184] FP和HW范围之外的其它光谱范围 (例如, 2000cm^{-1} 至 2800cm^{-1} 之间的所谓的拉曼静默区) 可用于某些应用中。为了演示本实施例的应用, 获取了来自一系列子宫颈患者的宽带光谱。招募了总共44名由于子宫颈抹片检查异常而接受阴道镜检查程序的非孕期女性患者 (18至70岁)。在体内组织拉曼光谱测量之前, 将5%乙酸溶液局部施用于子宫颈2分钟以评估组织中的颜色白化 (子宫颈中白色变色的程度与癌前期级别相关)。

[0185] 通过使光纤共焦探针轻触组织, 测量共焦宽带拉曼和伴随的自体荧光光谱。图16A显示了正常 ($n=356$) 和癌前期 ($n=120$) 宫颈组织的拉曼和自体荧光平均原始复合光谱。该正常和癌前期宫颈组织光谱显示在位于自体荧光之上的弱拉曼振动带, 临近:

- [0186] • $\sim 854\text{cm}^{-1}$, 其涉及结构蛋白质和胶原的糖原 (CCH) 变形芳香和 (C-C) 拉伸,
- [0187] • $\sim 937\text{cm}^{-1}$, 其涉及脯氨酸、缬氨酸和糖原的 ν (C-C) 拉伸,
- [0188] • $\sim 1001\text{cm}^{-1}$, 其涉及苯丙氨酸的 (C-C) 环呼吸,
- [0189] • $\sim 1095\text{cm}^{-1}$, 其涉及磷脂和核酸,
- [0190] • $\sim 1253\text{cm}^{-1}$, 其涉及酰胺 III,
- [0191] • $\sim 1313\text{cm}^{-1}$, 其涉及脂质/蛋白质 (胶原) 的 CH_3CH_2 扭转模式,
- [0192] • 1445cm^{-1} , 其涉及蛋白质和脂质的 CH_2 弯曲模式,
- [0193] • $\sim 1654\text{cm}^{-1}$, 其涉及蛋白质的酰胺 I 带- (C=O) 拉伸模式,
- [0194] • $\sim 2946\text{cm}^{-1}$, 其涉及蛋白质- CH_3 拉伸, 以及
- [0195] • $\sim 3400\text{cm}^{-1}$, 其涉及水- (OH) 拉伸。

[0196] 为了证明与区间选择集成的宽带拉曼技术可以改善子宫颈癌前期的诊断, 将常规 PLS-DA 应用于连续光谱 (图 16A), 并将区间 PLS-DA 应用于提取如上所述的互补区域。图 16B 示出了在区间 PLS-DA 之后选择的光谱子区域 (即 $1000\text{--}1020\text{cm}^{-1}$ 、 $1640\text{--}1660\text{cm}^{-1}$ 、 $2890\text{--}2910\text{cm}^{-1}$ 和 $3290\text{--}3310\text{cm}^{-1}$)。

[0197] 图 17 示出了分类误差, 该分类误差为 PLS-DA 和区间 PLS-DA 模型的算法复杂度 (即 LV 的数量) 的函数。最小值分别位于 9 和 5 LVs。显然, 通过使用来自 FP 和 HW 区域的互补光谱区域而非整个光谱, 精度显著增加 (分类误差从 25% 降低到 15%)。该示例显示通过去除含有弱信息的区域并从 FP 和 HW 光谱中选择互补子区间, 癌前期体内检测的准确率可以显著提高约 10%。这确实证明 FP 和 HW 区含有用于组织表征的互补信息。图 18A 和 18B 中的散点图示出了概率分类结果。因此, 来自宽带共焦拉曼内窥镜技术的离散区间现在使得临床医生能够获得与可疑病变相关的风险的更准确的概率测量, 从而显著地改善物理活检引导。

[0198] 应当注意, 可以通过结合诸如家族疾病史的先验信息施加阈值到概率分类 (图 18A 和 18B)。例如, 如果患者属于高危群体, 则装置可以为癌前期或癌症自动选择更高灵敏度的阈值。产生先验概率的其他类型的数据可以是遗传、蛋白质组、流行病; 例如年龄、种族、性别、饮酒习惯等、成像结果 (例如 CT、MRI 等)、症状等。可调节阈值的选择已被集成到用于控制光谱测量的临床拉曼内窥镜软件中。

[0199] 在另一个使用宽带共焦拉曼内窥镜的临床实例中, 从一系列胃癌患者处获取光纤共焦拉曼光谱用于胃恶性肿瘤的早期诊断。图 19A 显示了从 90 位患者测得的平均体内共焦 FP 和 HW 拉曼光谱, 呈现出不同组织类型: 良性 ($n=1950$ 光谱) 和癌症 ($n=108$ 光谱), 这已通过组织病理学特征得到证实。蛋白质, DNA 和脂质的显著性组织拉曼峰可以在下列范围附近观察到:

- [0200] • 936cm^{-1} , 其涉及 ν (C-C) 蛋白质,
- [0201] • 1004cm^{-1} , 其涉及苯丙氨酸的 ν_s (C-C) 环呼吸,
- [0202] • 1078cm^{-1} , 其涉及脂质的 ν (C-C)
- [0203] • 1265cm^{-1} , 其涉及蛋白质的酰胺 III ν (C-N) 和 δ (N-H),
- [0204] • 1302cm^{-1} , 其涉及蛋白质的 CH_2 扭曲和摇摆,
- [0205] • 1445cm^{-1} , 其涉及蛋白质和脂质的 δ (CH_2) 变形,
- [0206] • 1618cm^{-1} , 其涉及卟啉的 ν (C=C),
- [0207] • 1655cm^{-1} , 其涉及蛋白质的酰胺 I ν (C=O),

- [0208] • 1745cm^{-1} , 其涉及脂质的 $\nu(\text{C}=\text{O})$,
- [0209] • $\sim 2946\text{cm}^{-1}$, 其涉及蛋白质- CH_3 拉伸, 以及
- [0210] • $\sim 3400\text{cm}^{-1}$, 其涉及水- (OH) 拉伸。

[0211] 为了说明根据本申请实施例, 将常规PLS-DA应用于连续光谱以及区间PLS-DA中。图19B显示了在区间PLS-DA之后的选择的互补光谱区(即, $\sim 1050\text{--}1120\text{cm}^{-1}$, $\sim 1323\text{--}1490\text{cm}^{-1}$ 和 $\sim 2850\text{--}2870\text{cm}^{-1}$)。

[0212] 图20示出了分类误差, 该分类误差为PLS-DA和区间PLS-DA的算法复杂度(即LVs的数量)的函数。对于两种模型, 可使用5个LVs发现分类误差中的最小值。显然, 通过选择FP和HW范围内的互补诊断显著性光谱区而非整个光谱, 模型变得更精确(分类误差从0.25%降低到0.18%), 如图21A和21B中的散点图所示。灵敏度从72.2%增加到75.9%, 特异性从74.7%增加到87.9%, 这说明了互补信息改善了胃癌的诊断。

[0213] 另一个临床实例利用根据本公开的一实施例; 在该实施例中, 在内窥镜检查期间利用FP和HW同步光纤拉曼内窥镜技术用于胃肠化生(IM)-癌前病变的体内检测。在该实施例中, 拉曼光谱系统200包括近红外(NIR)二极管激光器($\lambda_{\text{ex}}=785\text{nm}$) (最大输出: 300mW, B&W泰克公司), 高通量反射成像光谱仪(Acton LS-785f/2, 普林斯顿仪器公司), 该光谱仪装配有镀金的830gr/mm光栅, 以及热电冷却的NIR优化的电荷耦合器件(CCD)照相机(PIXIS: 400BR-eXcelon, 普林斯顿仪器公司)。系统200在 $400\text{--}3600\text{cm}^{-1}$ 的光谱范围内获得分辨率为约 9cm^{-1} 的体内组织拉曼。具有1.8mm外径的1.9m长的光纤拉曼探针108用于激光输送和体内上皮组织拉曼信号收集。用于内窥镜检查的拉曼内窥镜探针108包括18个围绕中心光传输光纤(直径 $200\mu\text{m}$, $\text{NA}=0.22$)的 $200\mu\text{m}$ 的倾斜收集纤维($\text{NA}=0.22$)。将1.0mm蓝宝石球透镜($\text{NA}=1.78$)耦合到探针的纤维尖端, 以将激发光紧密聚焦到胃组织表面上, 使得能够从上皮衬壁收集有效的拉曼光谱。光纤拉曼光谱系统200的深度选择能力可以确保具有微观探测容积($<0.02\text{mm}^2$)的较浅组织问询($<200\mu\text{m}$), 从而减少来自较深的庞大组织的干扰和信号稀释, 同时选择性地或优选地问询与肿瘤发作和发展相关的上皮。使用汞-氩光谱校准灯(HG-1和AR-1, 海洋光学公司, 佛罗里达顿尼丁)的原子发射线用于波长校准。由于该系统的波长依赖性, 使用钨校准灯(RS-10, EG&G咖玛科技, 加利福尼亚圣地亚哥)校正所有波长校准光谱。整个FP/HW光纤拉曼内窥镜系统200可使用脚踏板和直观的软件框架来控制, 该软件框架被配置为实时地向胃肠病学家提供反馈(例如听觉和/或视觉的概率反馈)。

[0214] 原始光谱通过三阶Savitzky-Golay平滑滤波器(窗口宽度为3个像素)进行预处理, 以去除光谱噪声。在FP区域($800\text{--}1800\text{cm}^{-1}$)中, 发现第五阶多项式对于在噪声平滑光谱中拟合AF本底是最佳的, 然后从测得的FP频谱中减去该多项式以产生单独的FP组织拉曼光谱。在HW范围($2800\text{--}3600\text{cm}^{-1}$)中, 使用一阶多项式拟合去除AF本底。在FP和HW范围下的积分面积上对FP/HW拉曼光谱进行归一化, 以允许更好地比较正常和IM胃组织之间的光谱形状和相对拉曼带强度。使用在Matlab环境(迈斯沃克有限公司, 马萨诸塞州纳蒂克)中开发的软件在线处理所有原始光谱数据。实施主成分分析(PCA)和线性判别分析(LDA)以开发用于区分正常和IM胃组织的稳健性诊断算法。利用留一组织部位交叉验证来以公正的方式评价开发的诊断模型。在1秒内从每个组织部位获取多个拉曼光谱(10-15), 并且应用多数表决策略作最终分类。诊断结果可以实时显示在显示设备上, 如计算机屏幕。还通过连续改变阈值来生成受试者工作特征(ROC)曲线, 以确定所有组织中正确和不正确的分类。所有光谱预

处理和多元统计数据分析均使用Matlab编程环境中编写的脚本在线执行。

[0215] 从115个部位(即正常($n=88$ 部位)和IM($n=27$ 部位))成功获得总共1412个体内拉曼光谱(即,正常($n=1083$ 光谱)和IM($n=329$ 光谱)),这已通过得到一致结果的组织病理学检查得到证实。

[0216] 图22A显示测得的平均体内拉曼光谱 ± 1 标准偏差(SD)(阴影浅灰色)(即,正常和IM)。在FP范围在下列位置处观察到具有试验性分配的显著性组织拉曼峰:

[0217] • 875cm^{-1} ,其涉及 ν (C-C)蛋白,

[0218] • 1004cm^{-1} ,其涉及苯丙氨酸的 ν_s (C-C)环呼吸,

[0219] • 1078cm^{-1} ,其涉及脂质的 ν (C-C),

[0220] • 1302cm^{-1} ,其涉及脂质的 CH_2 扭曲和摇摆,

[0221] • 1445cm^{-1} ,其涉及蛋白质和脂质的 δ (CH_2)变形,

[0222] • 1655cm^{-1} ,其涉及蛋白质的酰胺I ν (C=O)。

[0223] 此外,在HW区域中还观察到强烈的拉曼峰:

[0224] • 2885cm^{-1} ,其涉及脂质的对称和不对称 CH_2 拉伸,

[0225] • 2940cm^{-1} ,其涉及蛋白质的 CH_3 拉伸,

[0226] • 3300cm^{-1} ,其涉及酰胺A(蛋白质的NH拉伸),以及

[0227] • 水(OH拉伸振动峰值在 $\sim 3400\text{cm}^{-1}$)的宽拉曼带,其与组织的细胞和细胞外空间中的OH键的局部构象和相互作用相关。

[0228] 图22B显示了与IM转化相关的分辨不同光谱特征(例如峰强度、位移和带增宽)的差光谱(即IM-正常) $\pm 1\text{SD}$ (阴影浅灰色),证实了FP/HW拉曼光谱用于内镜下IM早期诊断的潜力。

[0229] 图23A-B显示使用拉曼内窥镜检查的相应组织部位的代表性苏木精和曙红(H&E)切片,其包括(a)正常胃粘膜(200倍放大率);(b)广泛的胃肠化生,其中胃上皮含有明显的杯状细胞(100倍放大率)。组织病理学特征显示胃组织中正常和肠化生病变的细胞和形态特征,而FP/HW同步拉曼内窥镜揭示在分子水平上的上皮组织的特定生物化学成分(例如蛋白质,脂质和水)。

[0230] 为了开发复杂的多变量诊断算法并且比较三种不同的拉曼技术(即FP、HW和FP/HW集成)的组织诊断性能,在获得的体内组织拉曼光谱上实施PCA-LDA与学生的t-检验以评估在不同组织类型的光谱中观察到的难以察觉的差异。基于如图24所示的诊断显著性PCs($p < 0.01$)进一步开发留一组织部位交叉验证的PCA-LDA诊断算法,分别占拉曼光谱变量的45.6%(PC1)、33.6%(PC2)、4.2%(PC3)、3.1%(PC4)和1.2%(PC5)。不同显著性PC的特征是不同的;特别地,一些PC特征,如图24中的峰、谷和光谱形状,类似于组织拉曼光谱模式的峰、谷和光谱形状。第一显著PCs导致光谱数据集内的最大方差(即,45.6%);而连续的PCs描述构成逐渐变小的方差的特征。然后将所有五个诊断上有重要意义的PCs拟合到LDA模型以及用于胃组织诊断和分类的留一组织部位交叉验证技术。

[0231] 图25分别示出了由(a)FP/(b)HW和(c)集成或同步FP/HW拉曼技术计算并通过PCA-LDA算法建模得到的正常和IM病变之间的交叉验证分类结果(后验概率)。针对FP、HW和FP/HW集成拉曼光谱技术,应用于后验概率散点图的阈值线(0.5)分别产生89.6%(103/115)、78.3%(90/115)和91.3%(105/115)的诊断精确度(灵敏度为96.3%(26/27)、77.8%(21/

27)、92.6% (25/27);特异性为87.5% (77/88)、78.4% (69/88)、90.9% (80/88))。结果表明,与单独的FP技术或单独的HW技术相比,FP/HW集成拉曼光谱在胃IM诊断上表现最好。

[0232] 图26显示了FP、HW和FP/HW集成拉曼技术产生的ROC曲线,揭示了胃IM识别的诊断灵敏度和特异性之间的关系。针对FP、HW和的FP/HW集成拉曼技术,曲线下的积分面积(AUCs)分别为0.94、0.79和0.96,进一步证实了FP/HW集成拉曼技术在体内胃IM检测中提供最佳的诊断性能。总体上,上述结果表明开发FP/HW同步拉曼光谱技术用于在内窥镜检查期间增强体内胃癌前期病变的早期诊断的巨大潜力。

[0233] 图27显示了另一个实施例中,单独在FP范围内从口腔中测得的拉曼光谱。应当注意,在口腔中的不同组织部位(例如口腔和咀嚼粘膜)之间存在明显的结构间变异性。在该实施例中,使用区间选择方法将具较大结构间变异的区域排除,如 956cm^{-1} 的羟基磷灰石和 1302cm^{-1} 和 1445cm^{-1} 的脂质。因此,可通过排除具有较大变异的光谱区域,利用变量/特征选择技术减少结构间变异性对诊断算法的影响。这是一个重要的点,并将应用于其他器官,包括皮肤,口腔等。

[0234] 图28示出了如何在基于不同光谱子区域在实现概率诊断模型之后将该预测具前瞻性地实时地应用于新光谱的示例。这包括几个步骤,包括光纤本底减影校准、光谱区间截断预处理和用于疾病分类的预测器的预处理和最终应用。

[0235] 该实施例相对于现有技术具有几个主要优点:不必使用整个宽带光谱用于诊断,该技术或方法仅使用互补信息的子集(例如5-20%),大大简化了诊断模型。其次,变量选择为该疾病的生物化学和生物分子基础提供了定性洞察。第三,与基于整个光谱范围的光谱分析相比,精确度显著增加。此外,如果某些光谱范围具有干扰或混杂因素(例如血液)等,则可以有效地降低这些因素的影响。

[0236] 在一个示例中,计划对食管反流可疑症状进行内窥镜筛查的患者接受如下:

[0237] • 在食管末端执行常规WLR/NBI/AFI内镜成像,显示了为可疑癌前期(如结构异常)的较大巴雷特(Barrett)部分的非确定性外观。

[0238] • 随后将宽带共焦拉曼内窥镜技术应用于可疑组织部分中的客观目标活检。

[0239] • 共聚焦拉曼分类被定义为“正常”(无病理或胃炎)、“低风险”(肠化生)和“高风险”(发育不良/癌症)。

[0240] • 共焦拉曼探针放置在食管末端的组织,并根据从FP和HW区域中提取的互补信息实时地给出诊断。

[0241] • 共焦拉曼内窥镜技术靶向随后活检的高危组织部位。

[0242] 根据本申请实施例证明,在患者体内筛查期间可以执行实时同步的指纹(FP)和高波数(HW)光纤共焦拉曼光谱。光纤共焦拉曼光谱揭示了生物分子和生物化学的变化,如结肠直肠癌发生过程中发生在上皮细胞中的蛋白质、DNA、脂质和水。与单独使用FP或HW范围相比,使用来自FP和HW范围的互补生物分子信息改善了异常生长的检测。FP和HW光纤共焦拉曼光谱技术在改善癌前期和癌症检测和表征方面具有的巨大潜力。使用整个光谱的子集在身体的许多不同部位的处理和异常生长的识别中具有显著的优点。FP和HW范围已经被特别地确定为本文讨论的检测类型产生良好的结果。应当理解,可以证明这对于其他类型的检测、其它范围更有用。

[0243] 根据本申请的实施例不限于生物医学拉曼光谱,还可以应用于其它领域。这些领

域包括如荧光光谱、弹性散射光谱、表面增强拉曼光谱、过程分析技术、水和环境监测、药物过程/药物递送控制、食品工业、质量控制工业、法医学等。在这样的实施例中，由照射源提供的激发能被引导到不需要包括或是组织的目标样本(例如化学、水或环境材料/物质样本、制药/药物或食物样本，或者其他类型的样本)。此外，这些实施例不需要涉及内窥镜或内窥镜检查。文中提及的术语“拉曼”旨在包括其它类型的光谱，包括上文提到的光谱类型。

[0244] 根据本申请的实施例可以用作任何器官的诊断平台，例如肺，上下GIs(例如食管、胃、结肠直肠)、肝、膀胱、头和颈(例如鼻咽、喉、口腔)、子宫颈、皮肤、骨或者可以使用常规内窥镜、腹腔镜或关节镜的任何其它部位。

[0245] 使用根据本申请某些实施例获得的一些组织拉曼光谱可能会受到内窥镜照明的干扰。这会使异常生长的诊断难以实现。因此，另一实施例提供了一种消除这种干扰的解决方案。

[0246] 根据本申请一实施例的用于引导如上文所述的共焦拉曼光纤探针的三角内窥镜成像系统包括300W短弧氙光源、胃肠(GI)内窥镜和视频信号处理器。该氙光源与不同组的滤光器耦合以为串联的三端内窥镜成像(未示出)提供不同照明光。该滤光器可以包括如WLR(红色滤光器, 585-655nm; 绿色滤光器, 500-575nm); 蓝色滤光器, 390-495nm)、AFI(蓝色滤光器, 390-470nm; 用于反射图像归一化的绿色滤光器, 540-560nm)和NBI(绿色滤光片, 530-550nm; 蓝色滤光片, 390-445nm)。

[0247] 使用安装在GI内窥镜(未示出)的远侧处的两个不同的CCD来检测从组织反射的光或发射的荧光; 其中一个CCD是用于WLR/NBI的常规CCD; 另一个是用于AFI观察的高灵敏度CCD。该内窥镜短弧氙灯发射覆盖UV/VIS/NIR的宽带连续光, 并在>700nm的NIR光谱范围内具有突出的离散峰。由于785nm激光激发斯托克斯拉曼光谱也落在NIR范围内, 环境氙光会干扰该组织拉曼信号并完全模糊化体内组织测量和诊断。由于这个原因, 拉曼内窥镜诊断通常在氙灯照明灯“关闭”或调暗的情况下进行, 这在临床设置中是非常不理想的。

[0248] 为了消除环境氙气照明干扰, 提出了一种实施例, 其中在内窥镜系统的氙气光源前面整合有一热镜低通滤波器(在约700nm处截止; 可见光范围内具有约95%的平均透射率), 可以消除环境干扰。

[0249] 为了证明该实施例的应用, 在不同的内窥镜照射条件下测量体内拉曼光谱。图29A显示了在没有集成热镜的内窥镜检查期间获得的非接触组织拉曼光谱。可以识别到, 来自氙灯的主要干扰完全覆盖了组织拉曼信号。图29B示出了在氙灯前面整合有热镜低通滤波器之后, 非接触模式下的组织拉曼光谱。可以看出, 基本上消除了氙干扰。现在可以观察到可高度分辨的组织拉曼峰, 其中暂时分子分配如下:

- [0250] • 853cm^{-1} , 其涉及 ν (C-C)蛋白质,
- [0251] • 1004cm^{-1} , 其涉及苯丙氨酸的 ν_s (C-C)环呼吸,
- [0252] • 1078cm^{-1} , 其涉及脂质的 ν (C-C),
- [0253] • 1265cm^{-1} , 其涉及蛋白质的酰胺III ν (C-N)和 δ (N-H),
- [0254] • 1302cm^{-1} , 其涉及蛋白质的 CH_3CH_2 扭曲和摇摆,
- [0255] • 1445cm^{-1} , 其涉及蛋白质和脂质的 δ (CH_2)变形,
- [0256] • 1655cm^{-1} , 其涉及蛋白质的酰胺I ν (C=O), 以及
- [0257] • 1745cm^{-1} , 其涉及脂质的 ν (C=O)。

[0258] 测量拉曼光谱时该探针接触该组织。图30A示出在没有热镜的情况下以接触模式测量的组织拉曼光谱。图30B示出了在氙灯前面整合有热镜低通滤波器之后,接触模式下的组织拉曼光谱。总的来说,这些结果表明整合热镜可以完全消除来自共焦拉曼探针的非接触模式以及接触模式下的体内组织拉曼光谱的环境氙干扰。此外,从图中显而易见的是,在具有组织的拉曼探针的非接触模式下,氙干扰最为突出,这是因为更多的光耦合到探针头内。因此,该实施例在优选为非接触模式的诸如喉部/支气管的器官中是特别有用的,这是由于刺激咳嗽反射;或在患有晚期肿瘤的患者是特别有用的,拉曼探针与组织的接触可诱导流血以及癌细胞扩散的风险。

[0259] 应当注意,使用热镜过滤照明光用于引导并不限于在内窥镜上应用,而是更通用于过滤用于引导NIR组织光谱学(即表面增强拉曼光谱(SERS)、NIR荧光或NIR反射率)的任何光或成像模式,用于内部或外部器官(例如皮肤、子宫颈、膀胱、胃、食管、鼻咽、喉、口腔、结肠,直肠、肺等)。

[0260] 因此,图31示出了系统2100,概括了该概念。系统2100包括可以与组织2104接触的探针2102。该系统还包括NIR激光器2106、光谱仪2108、CCD 2110。一边缘长通滤波器2112位于该探针和该光谱仪之间;带通滤波器2114位于该探针和该激光器之间。PC 2116和相关软件用于控制系统。该组织还由照射源2118经一热镜低通滤波器2120照射。应当理解,该系统可以在构成系统的元件以及这些元件的方向和位置方面发生变化,这取决于本实施例的具体应用。

[0261] 众所周知,仪器标准远远落后于临床拉曼光谱的进展速度。因为组织拉曼光谱是基于固有较弱且具高分辨率的峰,所以该技术对仪器变化非常敏感。因此,在对人类患者进行临床测量之前开展和使用用于测试/校准和标准化内窥镜检查仪器的技术是势在必行的,以确保在不同拉曼系统中可得到可靠并一致的体内诊断。

[0262] 图32示出了将拉曼内窥镜应用于患者之前测试拉曼内窥镜的基本步骤,包括(i)启动系统;(ii)测试拉曼内窥镜系统;(iii)将拉曼内窥镜应用于患者。提出了一种新装置和技术或方法,用于系统测试和校准光纤拉曼内窥镜的校正。这包括光机装置和在拉曼软件中实现的一组程序指令程序,用于自动系统测试和在光纤拉曼诊断应用中的校准。该校准装置包括光谱校准辐射源(如汞和氙灯、NIR光谱发射器、激光等)、光强度辐射源、激光功率计、组织模型,以及自动光机械部件(例如步进电机)和控制器,用于拉曼内窥镜系统的标准化。该校准装置是临床拉曼内窥镜平台的主要部分,也可以用作独立装置用于光纤的一般测试和校准,包括封闭的步进电机驱动的滤波器轮2302,例如来自美国新泽西州纽顿市的统雷有限公司的FW102C,其内集成有不同的样本2304。柔性光纤拉曼探针2306可以安装在该校准装置中,如图33中示意性描述地。

[0263] 在临床拉曼软件中,滤波器轮旋转与激光激发和采集同步。从该滤波器轮中的每个样本获取光谱并存储该光谱。在校准/测试程序中执行的步骤包括CCD特征(即温度、暗电流)、激光激发功率和熔融石英光纤本底的测量,用于系统响应校准/测试的荧光材料,用于波长校准/测试的材料和最后的组织幻影。测得的信号可以用于重新校准拉曼内窥镜系统的参数(如强度响应、波长精度、本底噪声等)。

[0264] 现在结合获得的信号的示例,描述已经整合到校准装置的滤波器轮中的程序和标准样本。图34示出了在将校准装置用于患者之前测试该拉曼内窥镜的过程(2400)。可以在

每次测量之后或者在完成所有测量之后执行信号分析(即故障检测或校准)(如该具体示例所示)。

[0265] 在第一实例中,测量CCD的检测器信号并记录温度(2402)。这可以包括在不存在激光激发的情况下测量该信号强度的多个光谱(即,在0...1秒的曝光时间)。系统随后验证暗电流小于先前存储在工厂配置文件中的最大值。该实施例还包括确保在一系列光谱中的暗电流变化系数小于同样先前存储在该配置文件中的最大值。

[0266] 还使用集成激光功率计来测量在光纤拉曼探针的尖端处的激光激发功率(2402),以确保其所在范围小于美国国家标准协会(ANSI)最大允许皮肤曝光极限(设定为785nm激光束)。该实施例包括确保激光功率小于先前存储在配置文件中的最大值。

[0267] 滤波器轮包含具有暗环境的空槽,从而可以测量熔融石英光纤探针本底信号(2404)。使用激光激发和不同的曝光时间(例如,0.1...1.0s)测量光纤探针本底的多个光谱。这些光谱包含关于光纤探针状态的信息。例如,如果光纤损坏或探针尖端被污染,可以通过拉曼或荧光强度的增加来反映。

[0268] 图35示出了用于两个不同光纤探针的宽带拉曼内窥镜探针的本底信号的示例。该实施例还包括确保在一系列光谱上的变化系数小于先前存储在配置文件中的最大值。测得的光纤探针本底也存储在该存储器中,用于在实时处理期间从体内组织拉曼光谱中作进一步处理(即减影)。

[0269] 还测量并存储了表现出宽且稳定荧光光谱的荧光玻璃(例如,镀铬硼硅酸盐玻璃、绿玻璃、kopp2412等),用于测试和/或校准拉曼内窥镜系统(2406)的响应和收集效率。根据图36中详述步骤,使用国家标准技术研究所(NIST)钨丝灯对该标准荧光玻璃进行预先工厂校准。系统的响应可以与早先存储在配置文件中的响应进行比较。该实施例还包括确保在一系列光谱上的变化系数小于先前存储在配置文件中的最大值。该响应标准样本的光谱可用于将系统重新校准为出厂刻度。图37显示了使用两种不同的光纤探针从荧光标准玻璃(即kopp2412)中导出的校准函数的实例。

[0270] 还测量具有明确限定的窄拉曼峰的材料(2408)。一示例如图38中所示的聚苯乙烯。波长标准用于评估是否由于光学失调而在波长轴上存在偏移。将光谱与先前存储在配置文件中的光谱进行比较(例如使用相关系数或峰值识别等)。这包括分辨率(即半高宽(FWHM))的测试和峰值位置的验证。具有明确限定的窄拉曼峰的材料的光谱也可以用于将系统重新校准为存储在配置文件中的先前工厂标准。重新校准包括来自工厂校准波长轴的预定义峰值与来自未校准光谱的对应峰值之间的多项式映射(例如3...5阶)。图39中示出了一示例,其示出了在重新校准之后的峰的多项式映射。

[0271] 滤波器轮还包含分层的组织模型。该组织模型包括具有漫射性质的材料和/或显示出公知拉曼峰值的分层的组织模型(2410)。该实施例还包括确保在一系列光谱上的变化系数小于先前存储在该配置文件的最大值。图40A-B中给出了一个实例,其显示了使用不同的拉曼探针从聚苯乙烯和聚乙烯的两层模型夹层结构中获得的拉曼光谱的比较。分层组织模型的拉曼光谱用于验证光纤拉曼探针的深度选择性以及光谱质量。来自顶层到底层(例如分别为 1002cm^{-1} 和 1296cm^{-1})的信号的比率用作给定光纤共焦探针的深度选择的定性和定量指示。该实施例包括确保深度选择小于先前存储在配置文件中的最大值。

[0272] 在进行了各种测量之后执行信号分析(2412)。这是为了识别诸如故障检测、校准

问题等问题。如果检测到问题,则系统被定义为未通过(2414)。或者,如果没有遇到问题,则系统通过(2416)。

[0273] 另一实施例包括与GUI集成或作为GUI的程序指令集或软件框架,当执行拉曼内窥镜诊断时可响应于用户的选择/输入基于光谱和病变显示和存储拉曼数据。例如,如果选择第一或按下第一按钮,则来自第一病变的拉曼数据将被保存。如果选择第二或按下第二按钮,则来自第二病变的拉曼数据将被保存等。这样的系统还包括存储患者信息、积分时间、激光激发功率、时间、日期、诊断、探针本底信号、系统校准功能、内窥镜视频和包含测量细节的日志文件。可以提供集成的脚踏板装置,以供临床医生连接和保存数据。如果按下脚踏开关,所获取的数据将被存储为第一个病变。如果再一次按下,数据将被存储为第二个病变等。脚踏开关还可以包含用于打开和关闭激光激发的安全踏板。

[0274] 另一实施例包括程序指令集或软件框架,用于显示临床拉曼诊断以及记录的宽视场视频成像。内窥镜视频成像(即WLR/NBI/AFI)和视频记录已经整合到拉曼内窥镜软件中。可以在诸如计算机屏幕的显示设备上显示宽视场内窥镜视频和成像组织的体内拉曼诊断。内窥镜视频与测得的组织拉曼光谱在时间上同步。因此,拉曼光谱诊断可以与视频回放同时显示。这使得临床医生能够为每个患者追溯拉曼内窥镜诊断和所采样的可疑组织部位之间的精确相关性。这种整合的成像和拉曼内窥镜检查软件在临床系统上具有显著性提高,可实现查看历史临床数据。

[0275] CCDs和弱组织拉曼信号的有限动态范围在拉曼内窥镜应用中仍然具有挑战性,这是因为体内组织表现出不同程度的自体荧光。对于一些组织(如胃、肺、舌背、肝),检测器饱和可在0.1秒或甚至小于0.05秒内发生。对于这些组织,与其他组织类型(如食管、鼻咽、喉、子宫颈等)相比,拉曼信号可具有明显的噪声。一般来说,组织的拉曼信号强度与激光激发功率和曝光时间成线性比例。信噪比(S/N)与曝光时间的平方根成比例。目前,用户使用拉曼内窥镜技术为每个获得的光谱手动调整曝光时间或激光激发功率。这在实时应用中是非常不切实际的。因此,确定一自动化方法以防止CCD饱和,并且确保在临床条件下可接受的时间内获得具有最佳S/N比的拉曼光谱是关键。拉曼内窥镜技术需要真正的实时诊断,以在临床医学中获得广泛接受。新方法自动调整激光激发功率、曝光时间和光谱累积,以在具有高S/N比的临床拉曼测量期间实现不间断的实时诊断;该新方法在该需求下是非常具有价值的。作为代表性示例,提出了两种自动化技术或方法。

[0276] 参考图41所示的第一技术或方法,曝光时间是固定的(如在0.1秒)(3102),而激光激发功率被指定为可变的并且根据需要进行调节(3104)。测量拉曼光谱(3106)并确定信噪比(3108)。该光谱中的噪声估计以傅立叶变换、微分或其它方法为基础来量化噪声水平。如果拉曼光谱的信噪比(S/N)比较差(3110),则在随后的测量中,在读出之前累积若干拉曼光谱(例如 $n=2\dots 3$)(3112)。如果对于给定光谱CCD是饱和的(3114),则随后的拉曼测量的激光激发功率根据饱和度(3116)降低一定量。如果光谱不饱和,它用于诊断(3118)。饱和度被定义为饱和像素的年龄%。如果以强度计数($<70\%$ 或 $>90\%$ 的动态范围)读出光谱(3120),则随后的拉曼测量的激光激发功率被比例放大,使得信号强度在70-90%动态范围(3122)。一个实施例对该激光激发功率施加上限(例如25mW)。在另一个实施例中,一致地执行若干光谱(如 $n=2$)的累积。本底减影、预处理,异常值检测、疾病预测和显示都可以被执行(3124)。

[0277] 参考图42所示的第二技术或方法,激光激发功率是固定的(如在25mW) (3202),而曝光时间被指定为可变的(3204)。测量拉曼光谱(3206)并确定信噪比(3208)。噪声估计以傅立叶变换、微分或其它方法为基础来量化噪声水平。如果拉曼光谱的信噪比(S/N)比较差(3210),则在随后的测量中,在读出之前累积若干拉曼光谱(例如 $n=2\dots 3$) (3212)。如果对于给定光谱CCD是饱和的(3214),则随后的拉曼测量的曝光时间根据饱和度(3216)降低一定量。如果光谱不饱和,则用于诊断(3218)。饱和度被定义为饱和像素的年龄%。如果光谱具有较低的强度计数(<70%或>90%的动态范围),则随后的拉曼测量的曝光时间被比例放大,使得信号强度在70-90%动态范围(3222)。一个实施例对该曝光时间施加上限(例如0.5s)。在另一个实施例中,如果整合时间非常低(例如<0.1s),则一致地执行若干光谱的累积。本底减影、预处理,异常值检测、疾病预测和显示都可以被执行(3224)。

[0278] 图36和37分别详述的上述两个功能被整合在操作软件中。仅调整激光功率的好处在于,曝光时间恒定并且可以非常低(如0.1秒)。上述方法在临床拉曼内窥镜中具有重要价值,实现了具有高S/N比的不间断实时诊断,而且可以推广到其它形式,例如表面增强拉曼内窥镜(SERS)、反射率和荧光光谱。曝光时间、激光激发功率和累积的自动调整,以改善信号质量、防止CCD饱和并实现实时诊断的一般思想是本申请一实施例的重要特征。另一个实施例包括激光激发与采集的同步。换言之,在信号采集之前激光激发被打开,并且在采集之后该激光激发被关闭。

[0279] 本申请另一实施例包括在不同光纤探针和不同器官之间切换的能力。对于每种类型的光纤探针(例如共焦或容积式探针),存在针对每个器官(即喉、结肠鼻咽、胃、食道、口腔、皮肤、子宫颈、膀胱等)的诊断模型的数据库。例如,如果用户选择鼻咽作为器官,则将属于该鼻咽的一个或多个模型加载到系统中。图43中示出了代表性的数据库结构。该模型可以包括多变量诊断算法和/或多变量异常值检测模型。

[0280] 应当理解,上述各个实施例不应被理解为旨在限制性。相反,可以对一个或多个实施例进行组合和对说明书中示出的具体示例进行变型。这些过程中的一些可以在硬件,软件或其任何组合中实现。

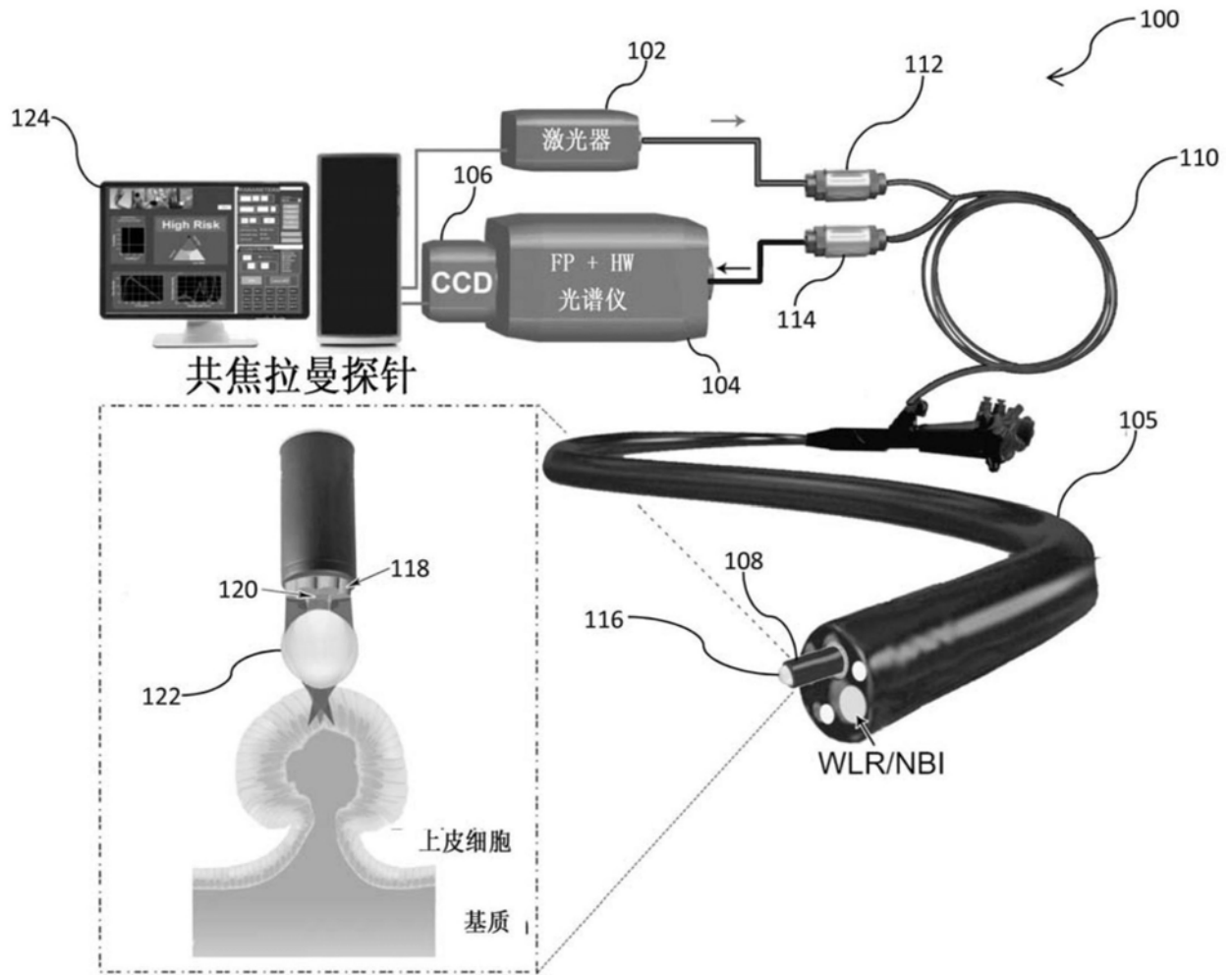


图1

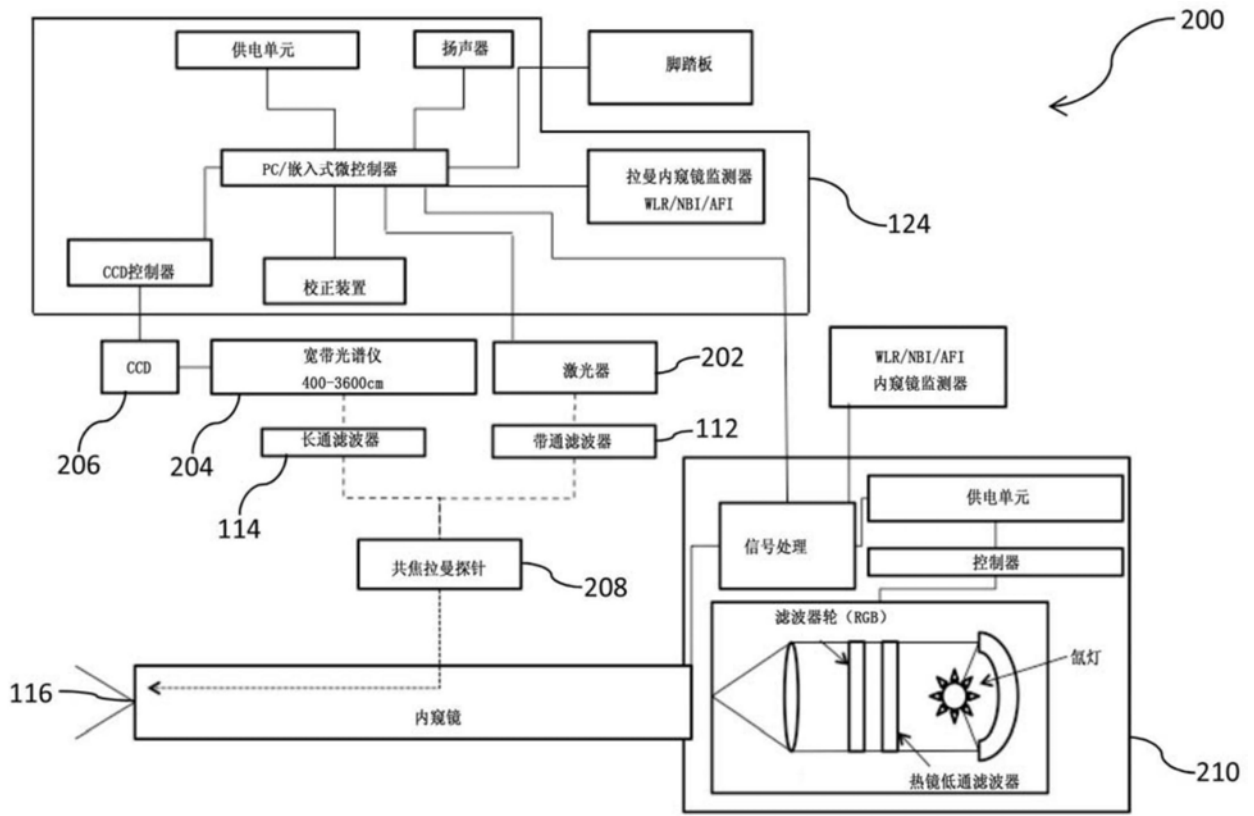


图2

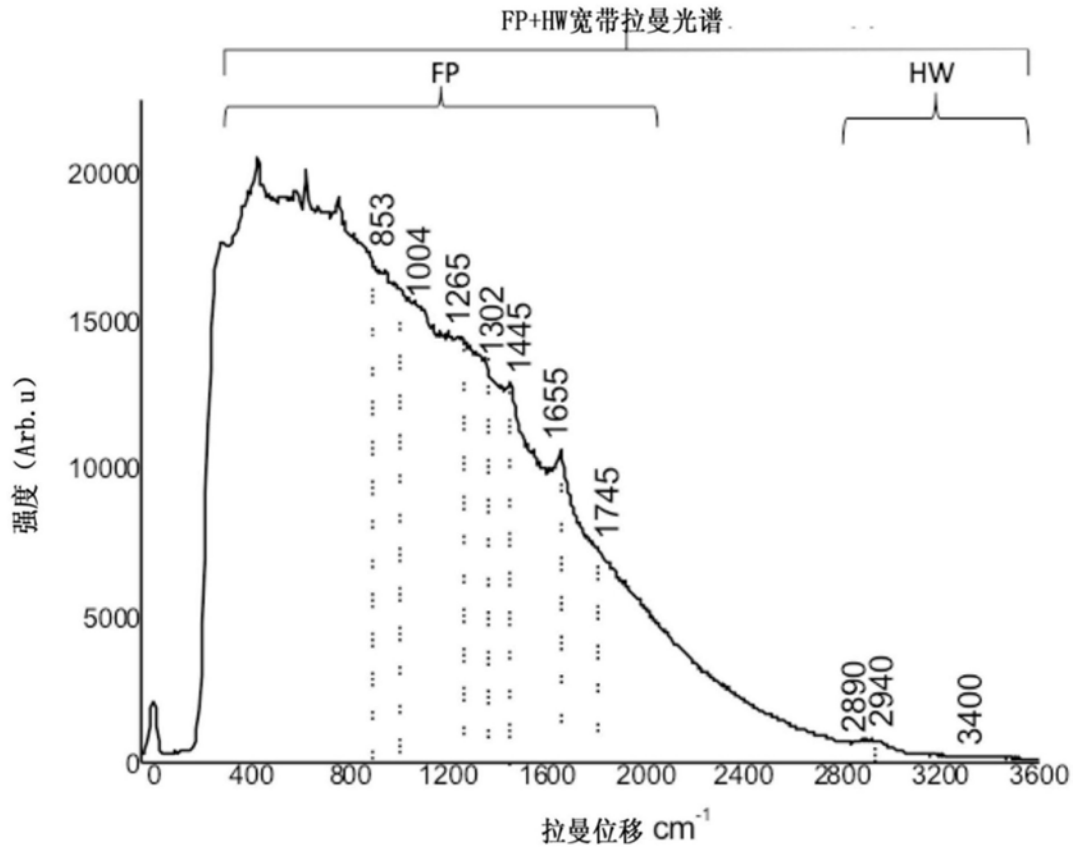


图3

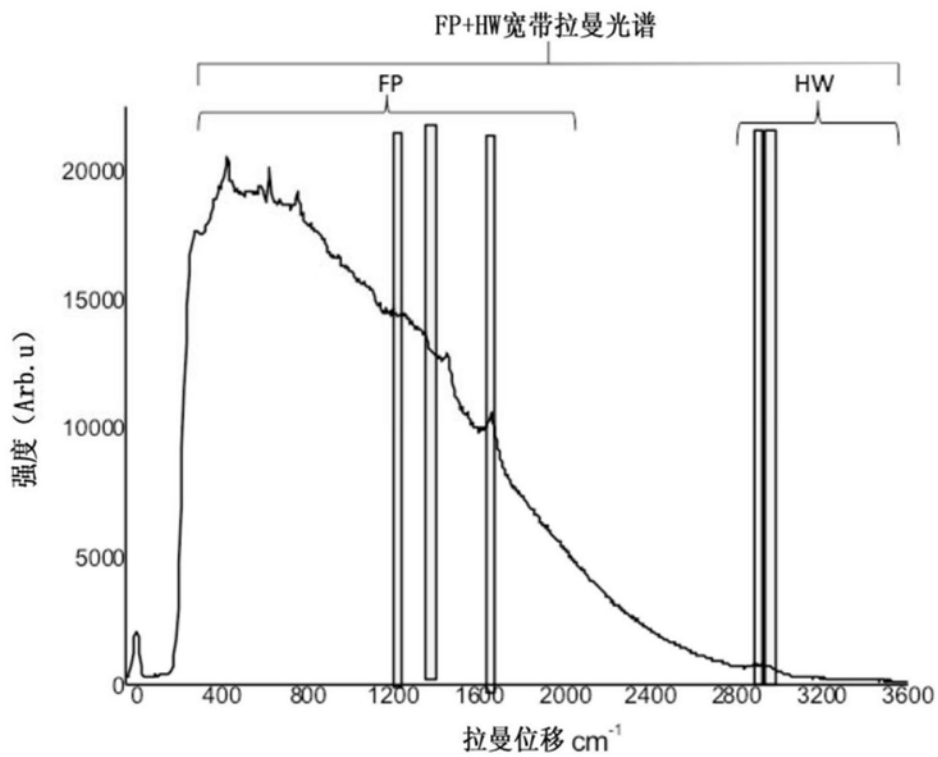


图4

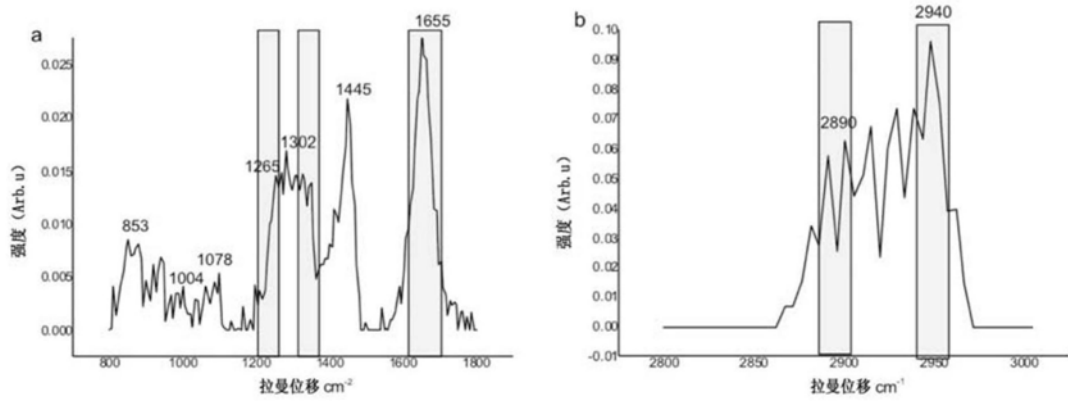


图5A&5B

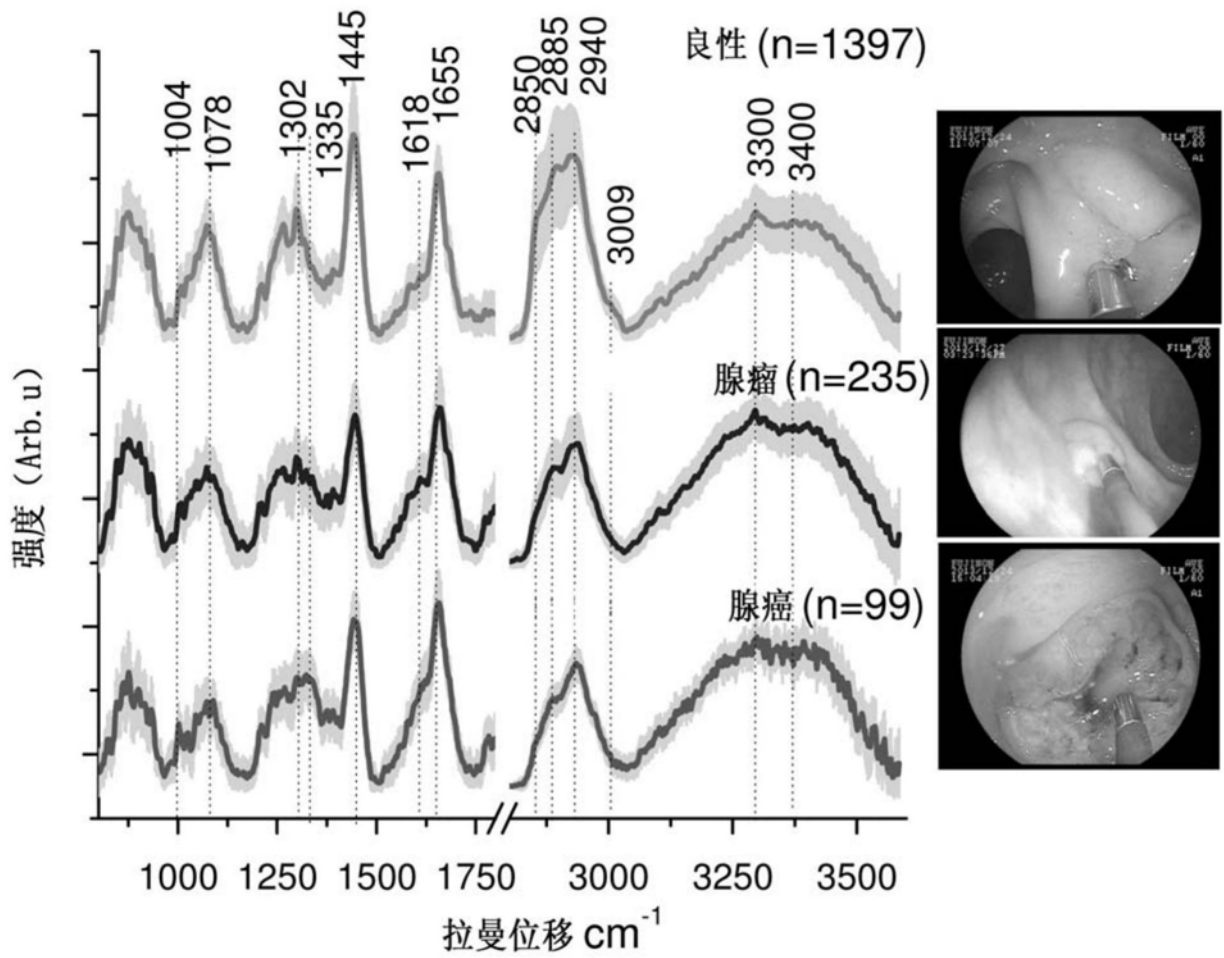


图6

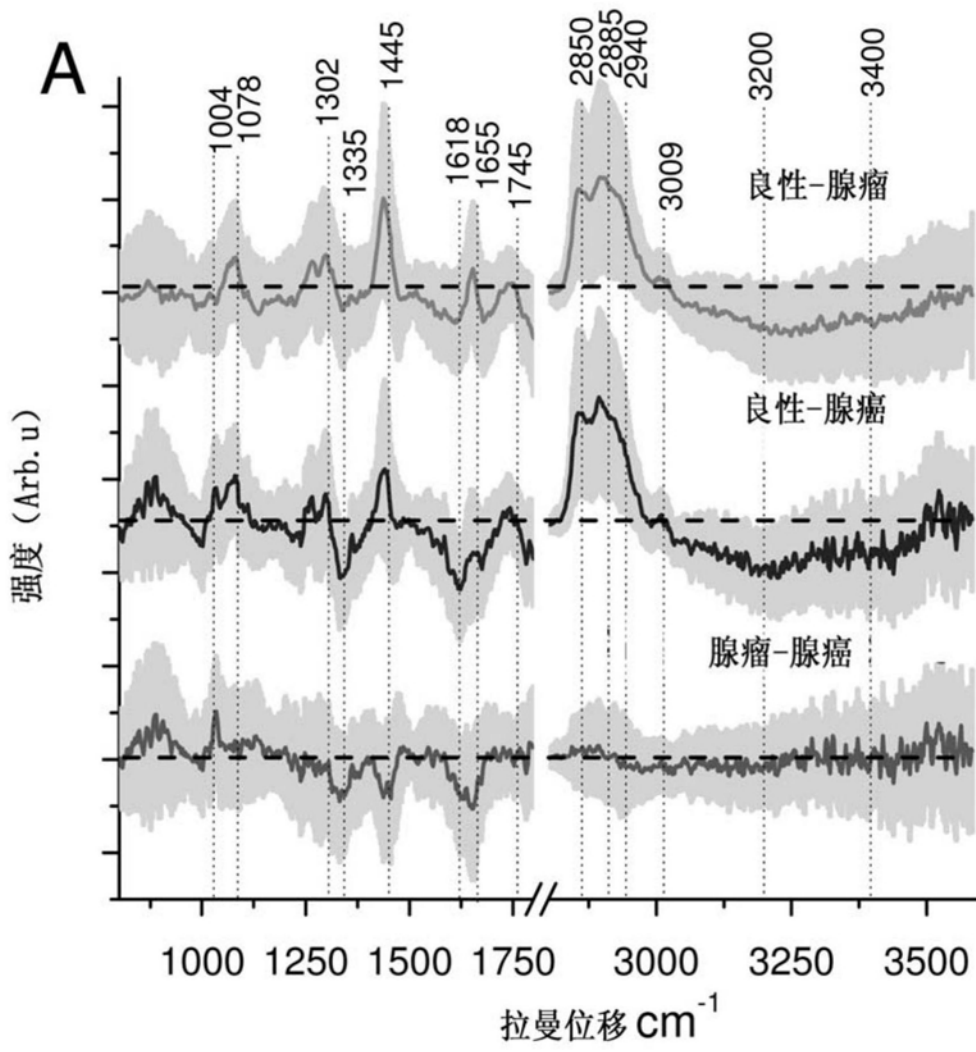


图7A

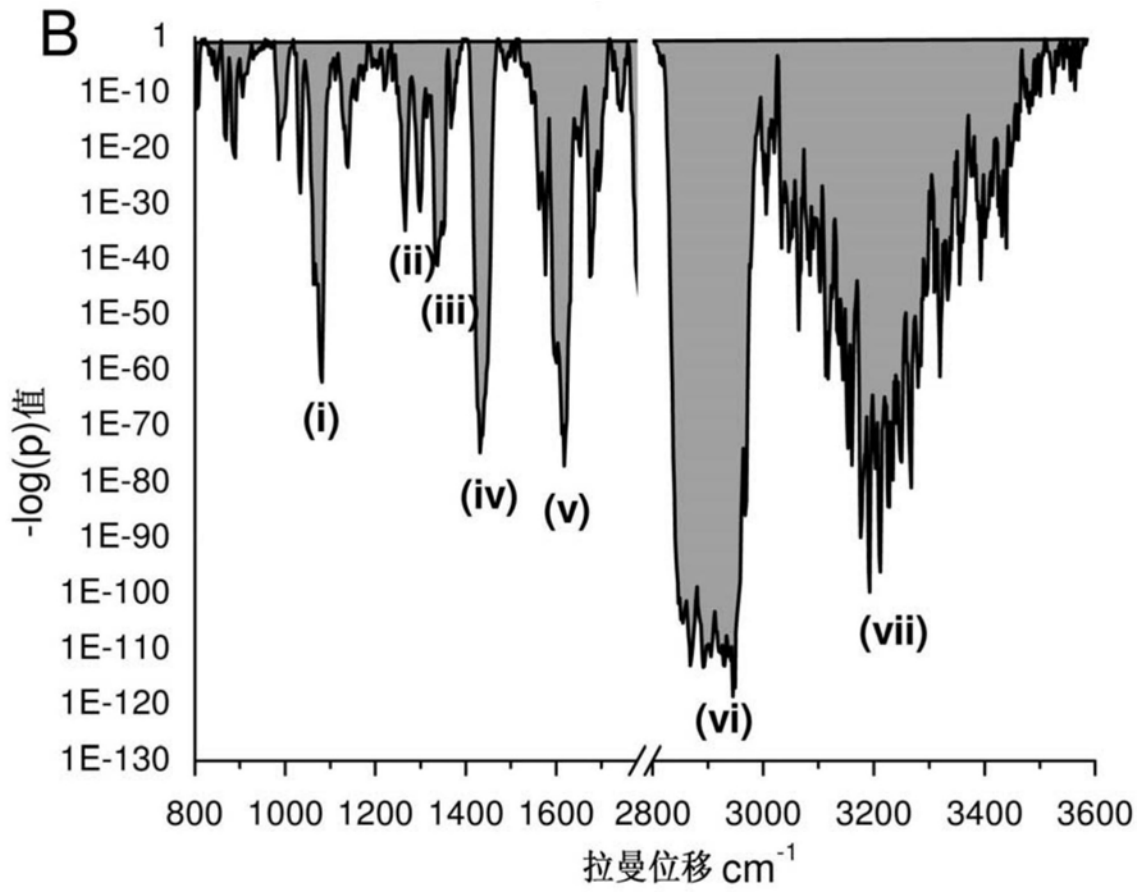


图7B

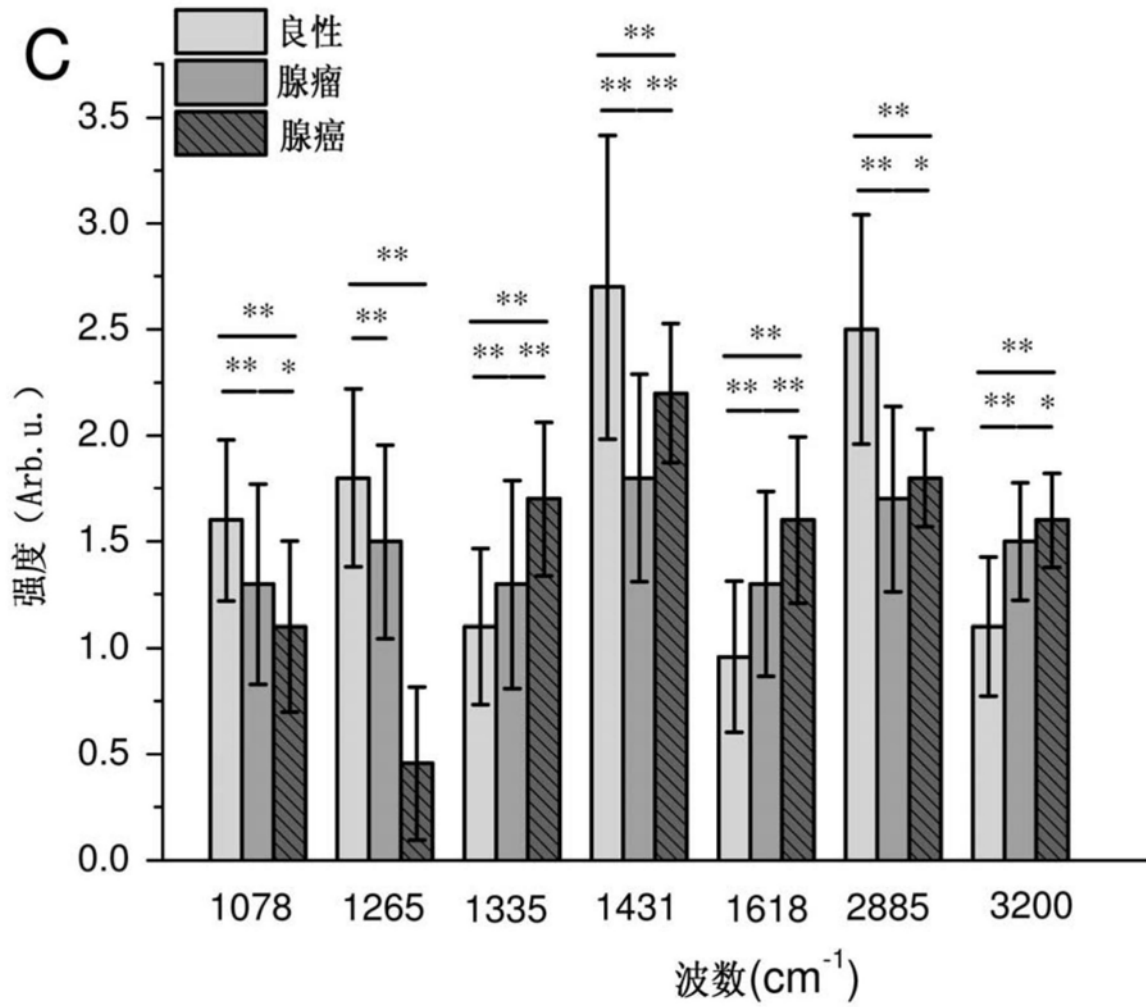


图7C

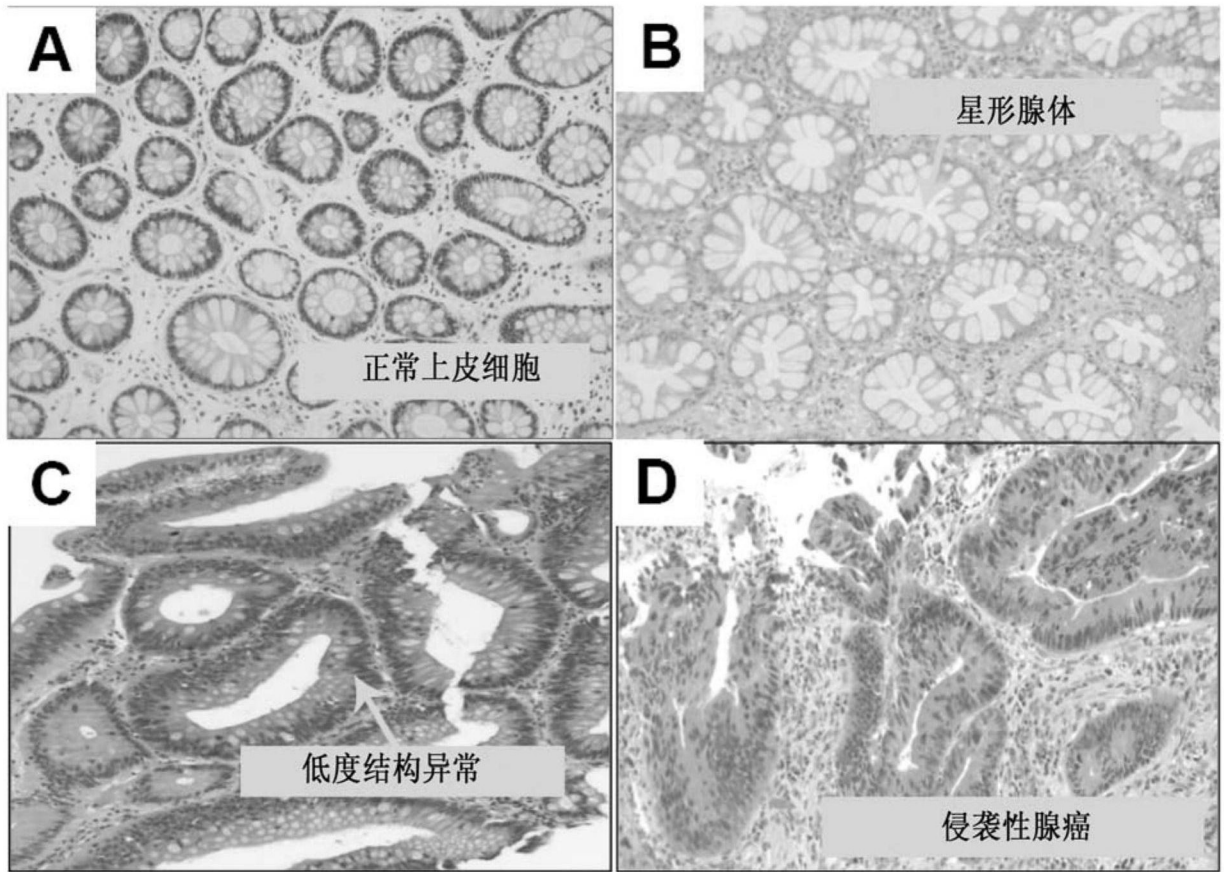


图8A-8D

- A ● 良性 (n=1397)
- ▲ 腺瘤 (n=235)
- 腺癌 (n=99)

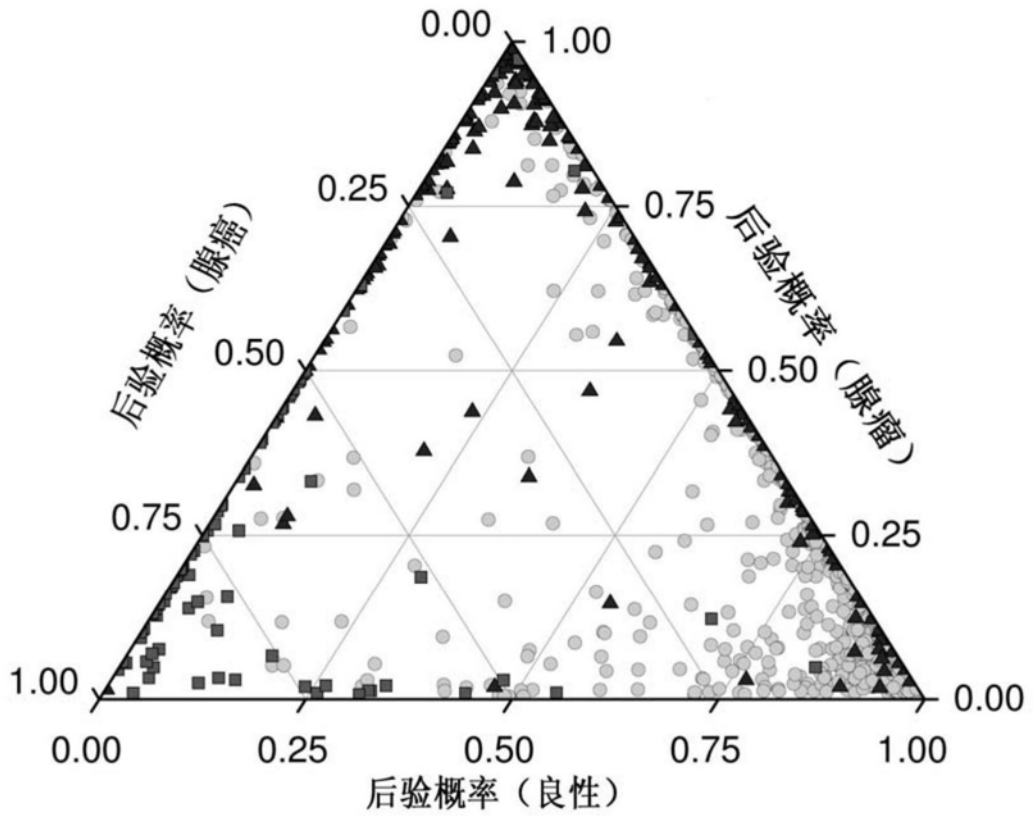


图9A

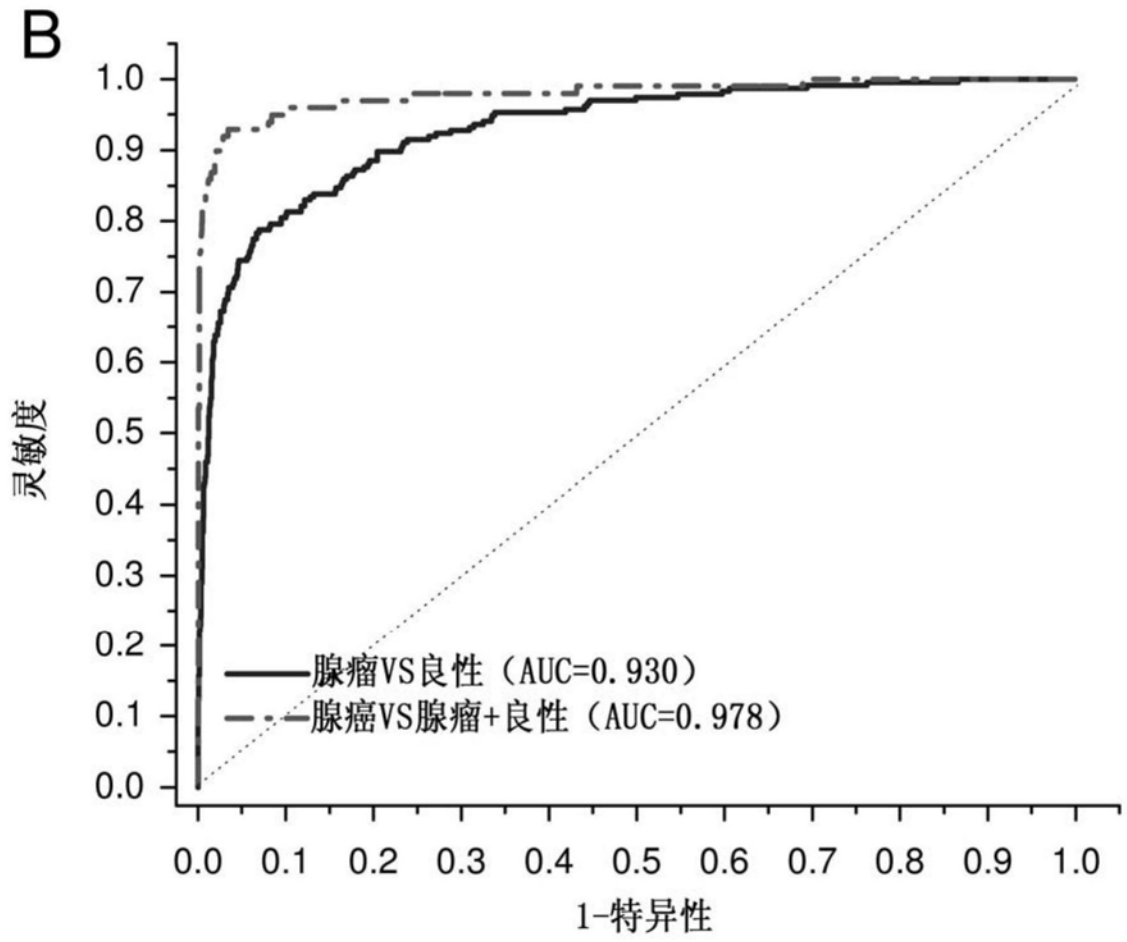


图9B

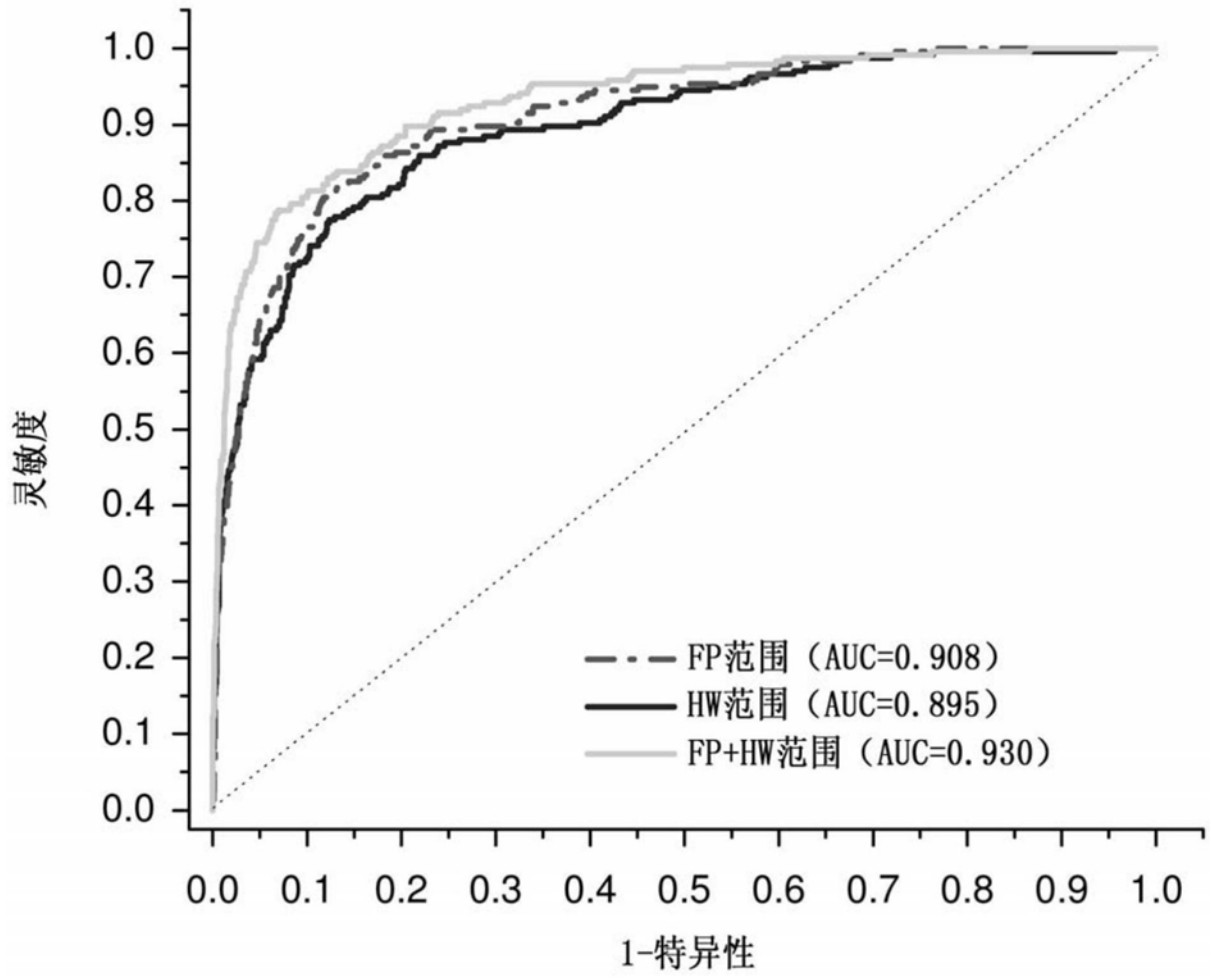


图10

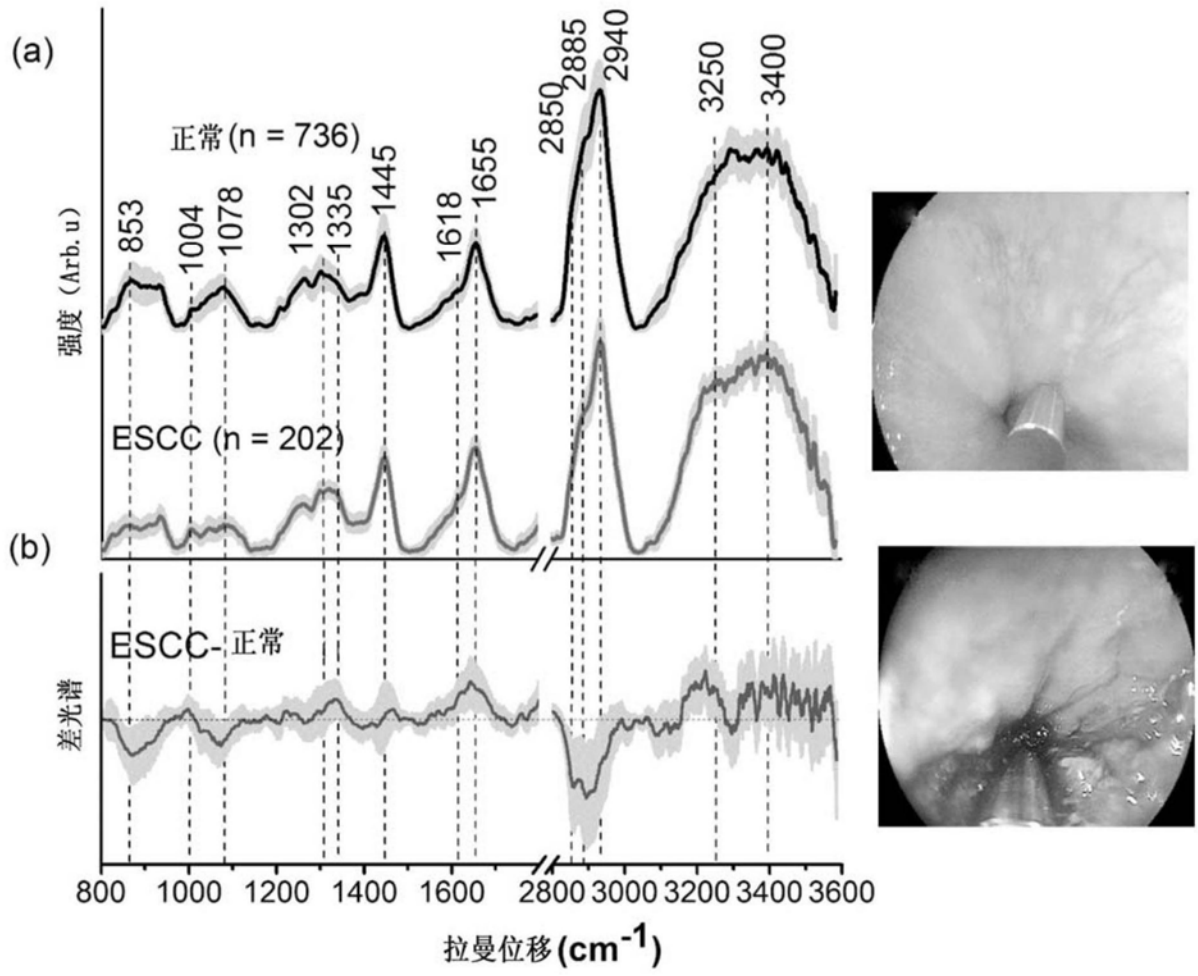


图11A&11B

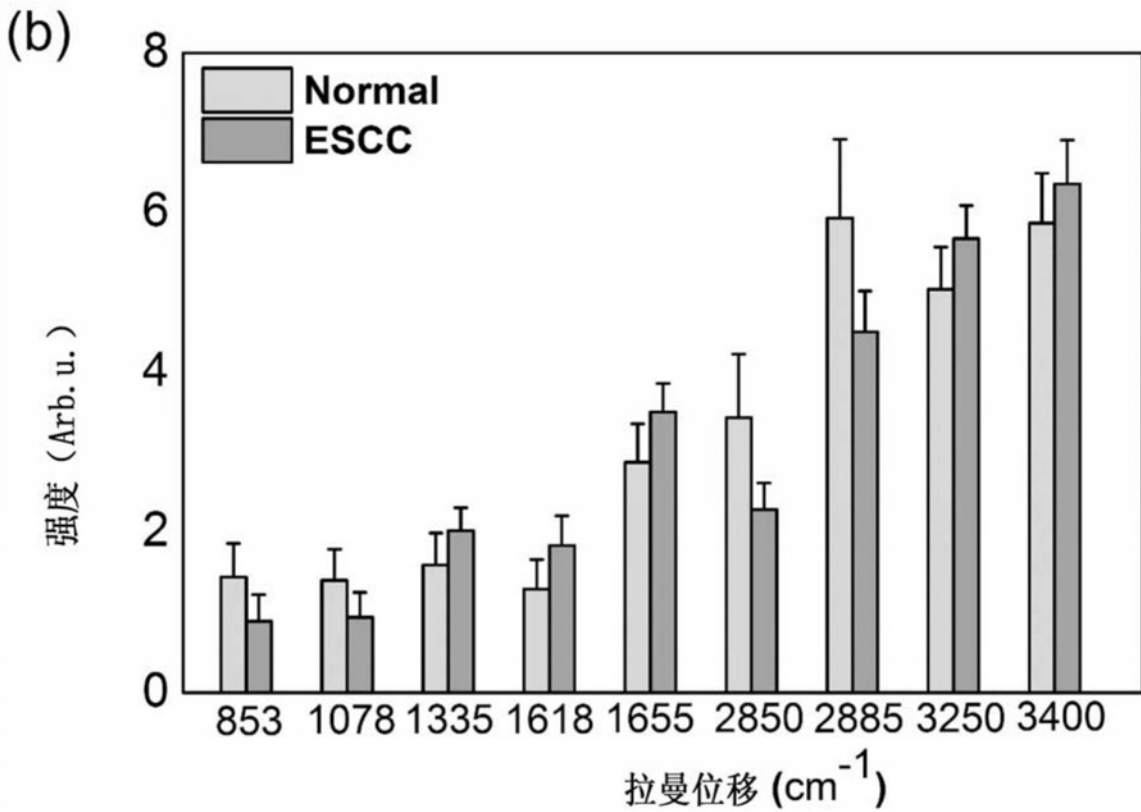
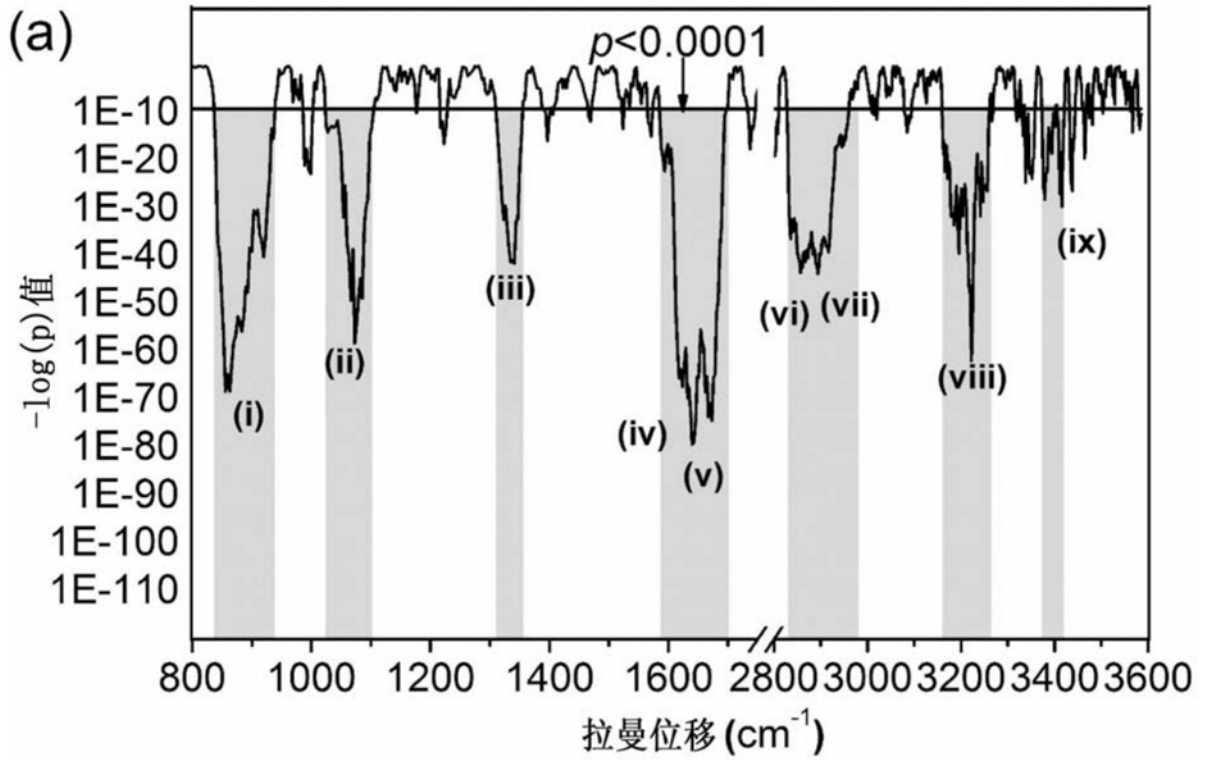


图12A&12B

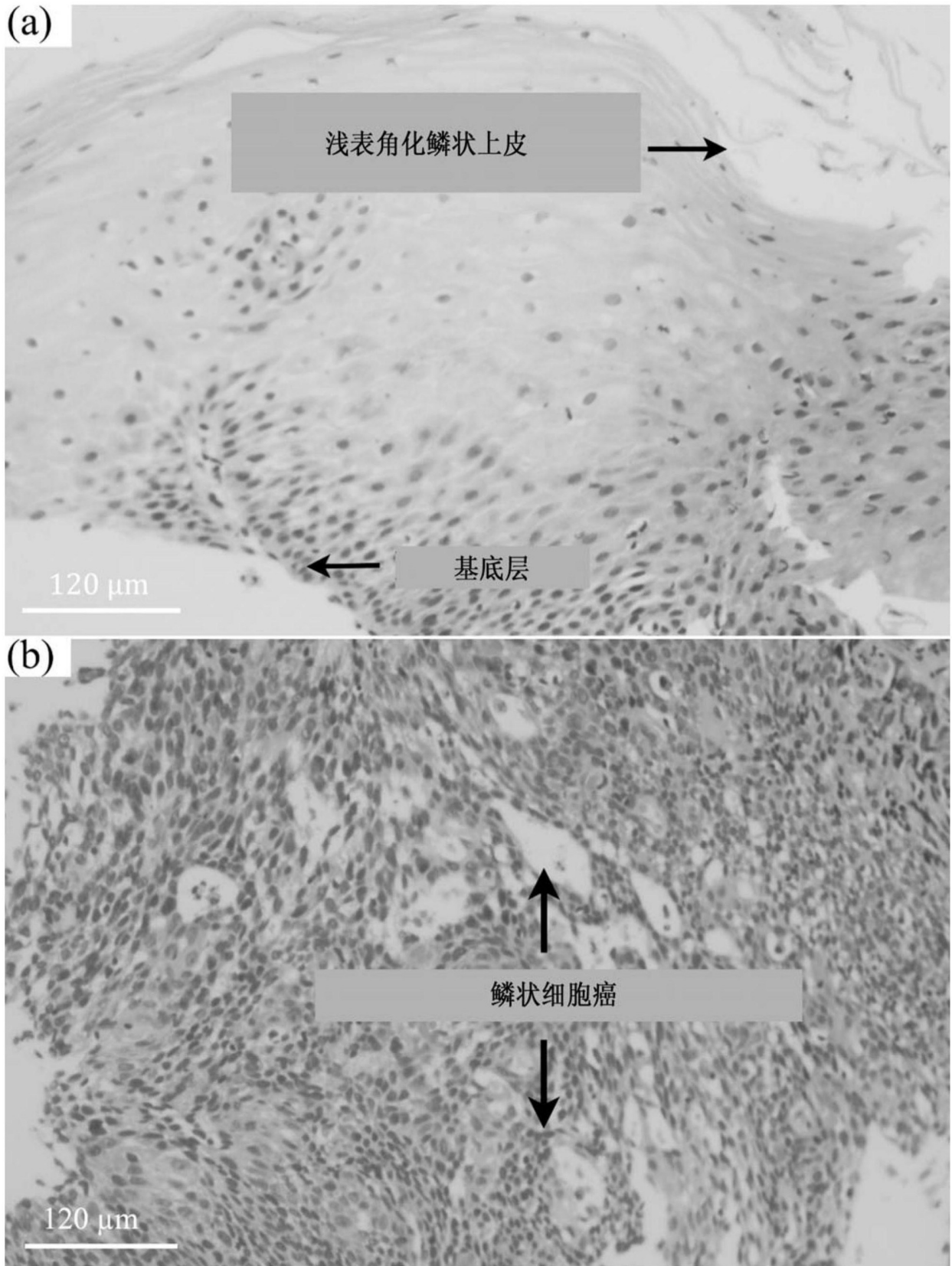


图13A&13B

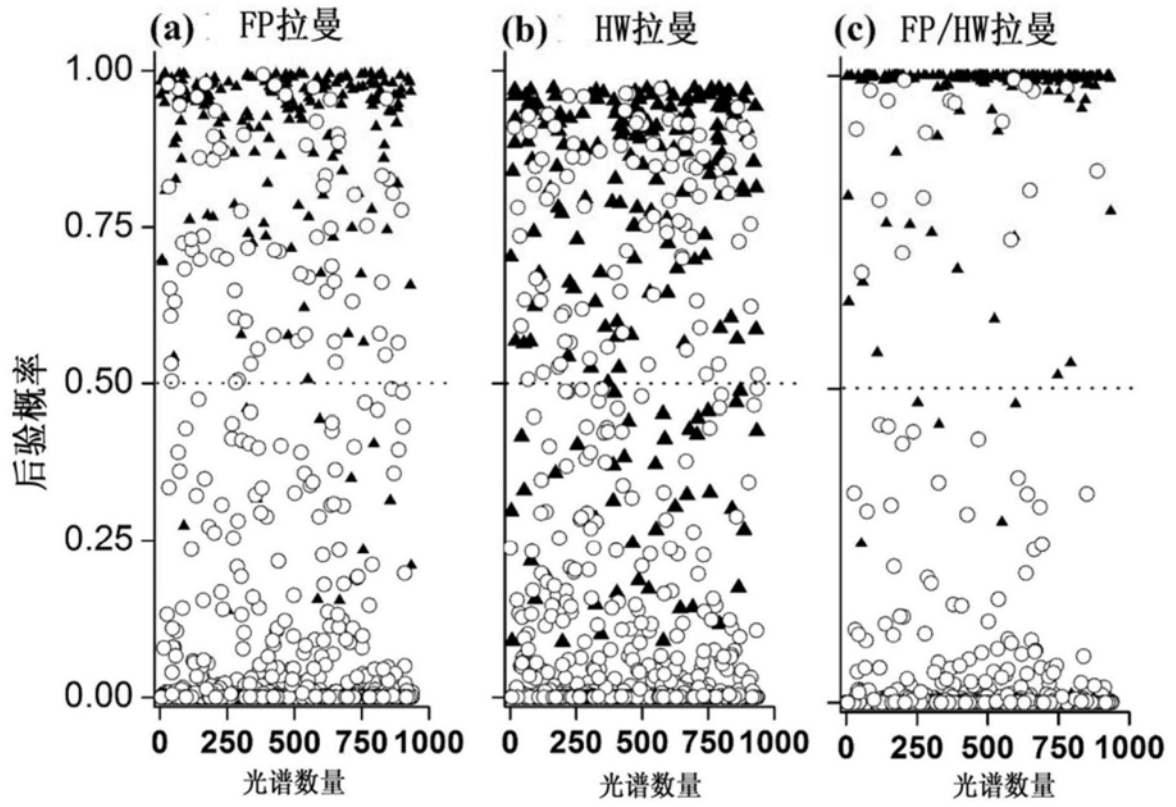


图14A,14B&14C

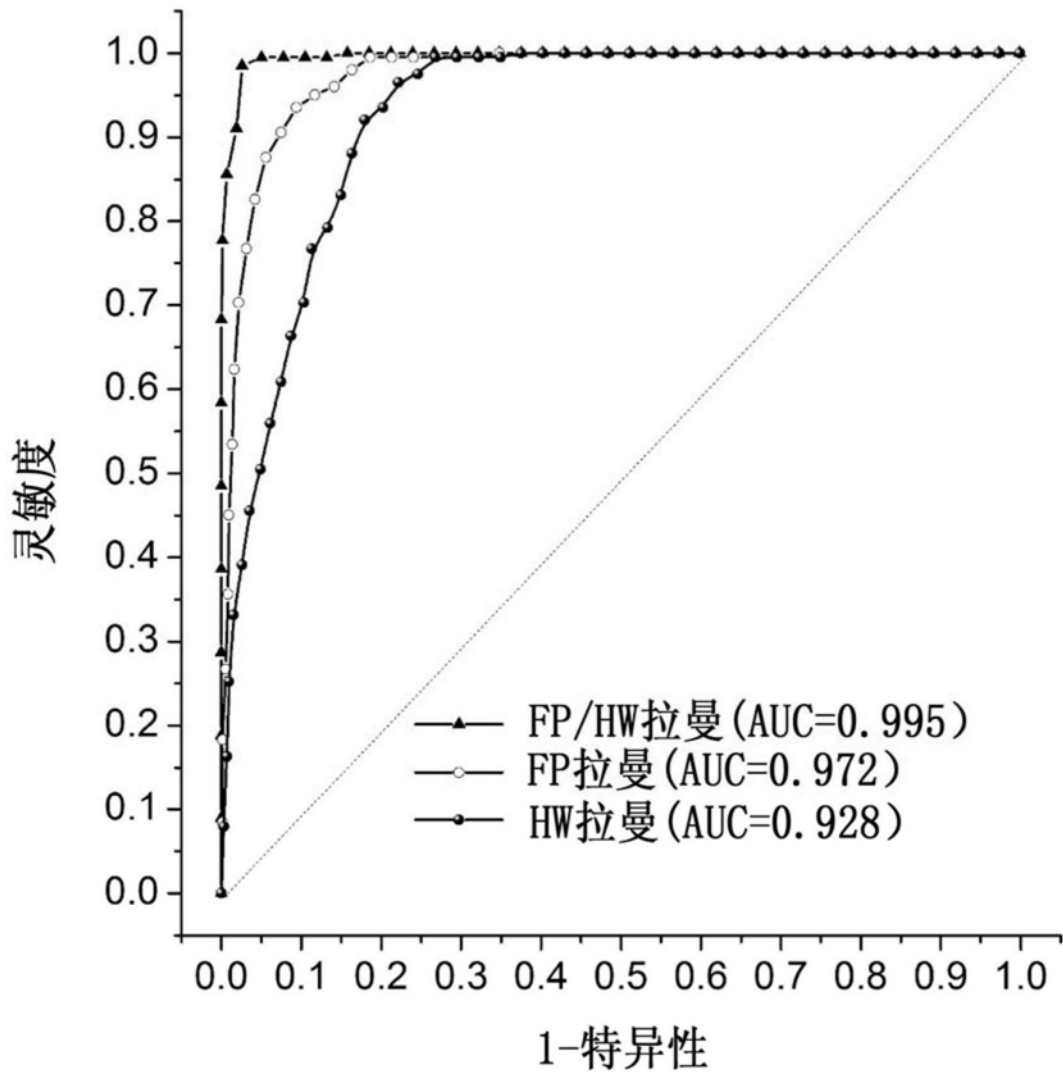


图15

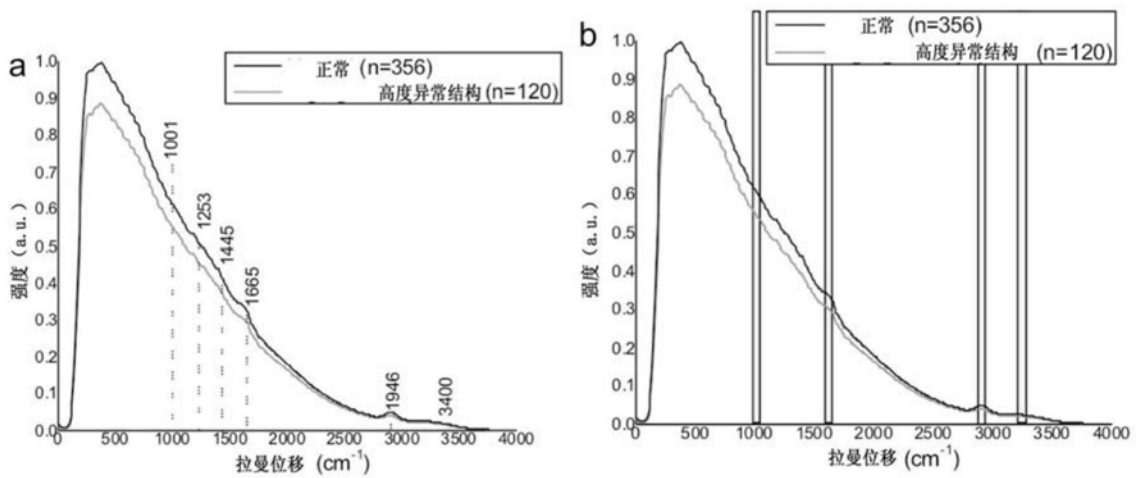


图16A&16B

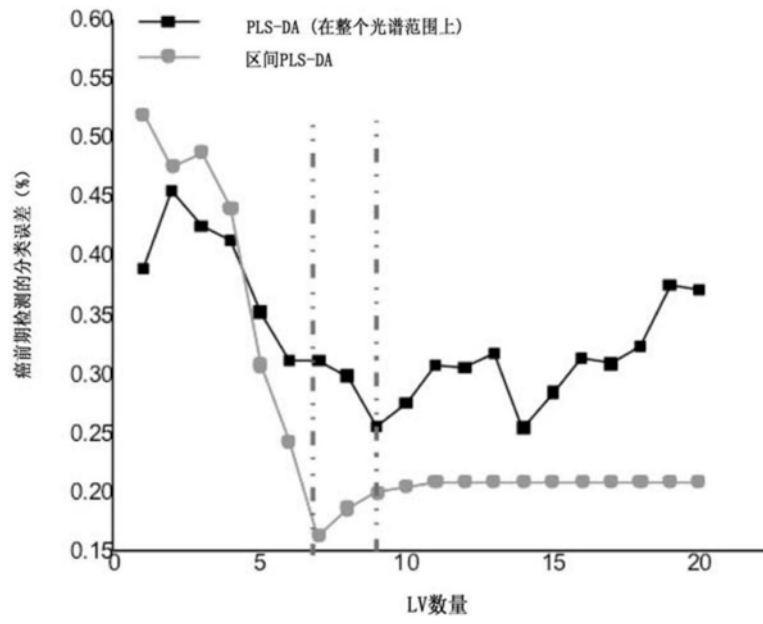


图17

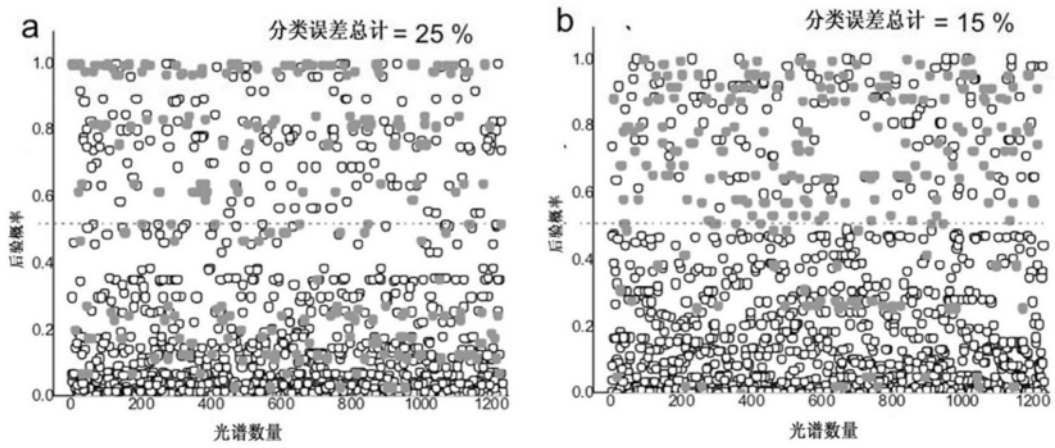


图18A&18B

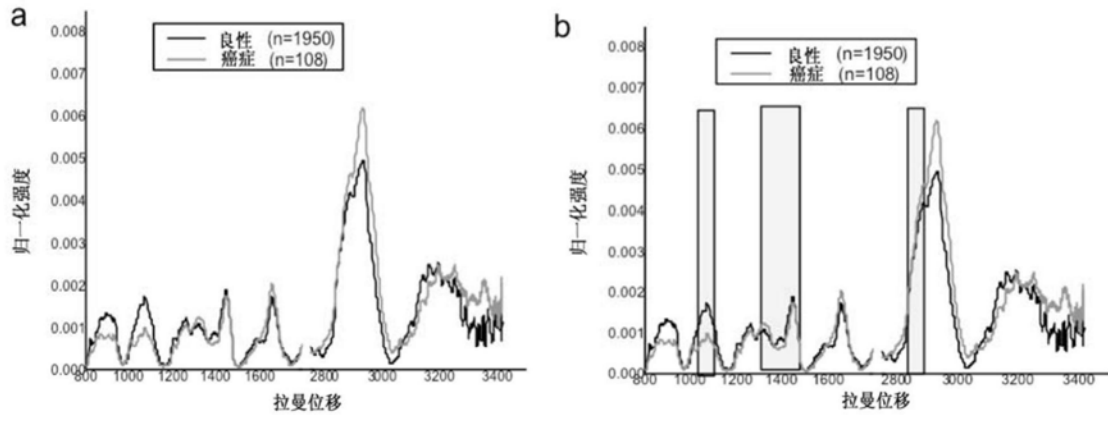


图19A&19B

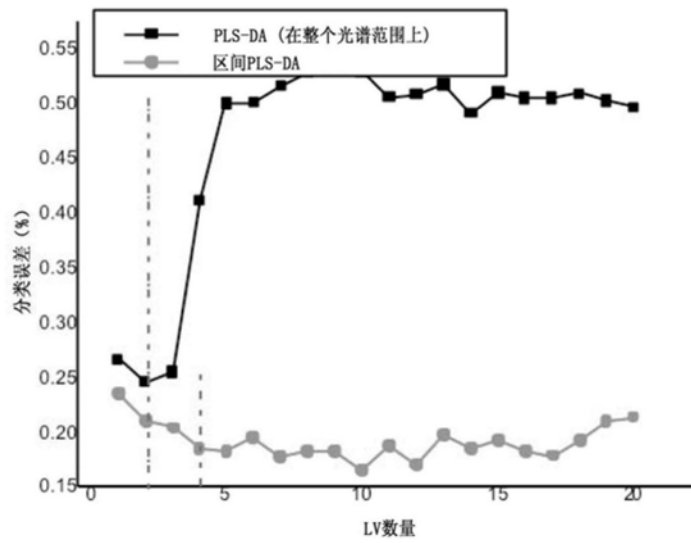


图20

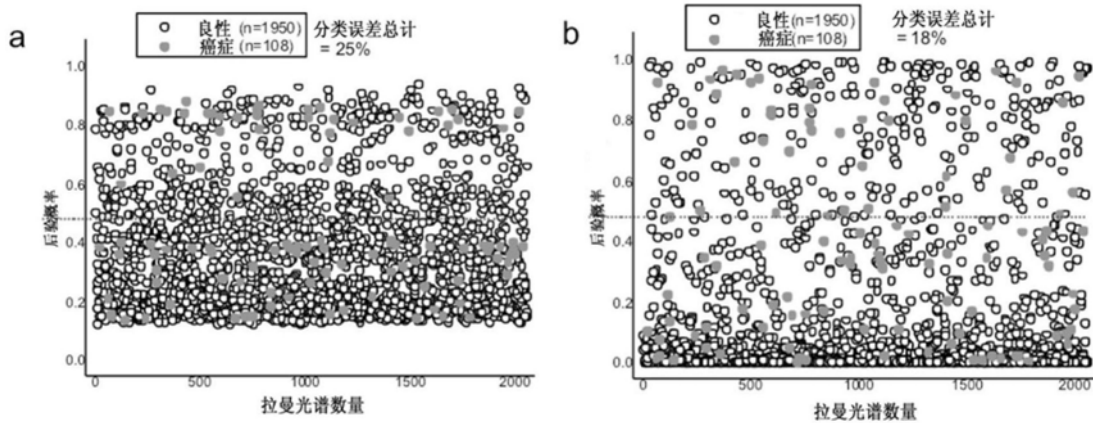


图21A&21B

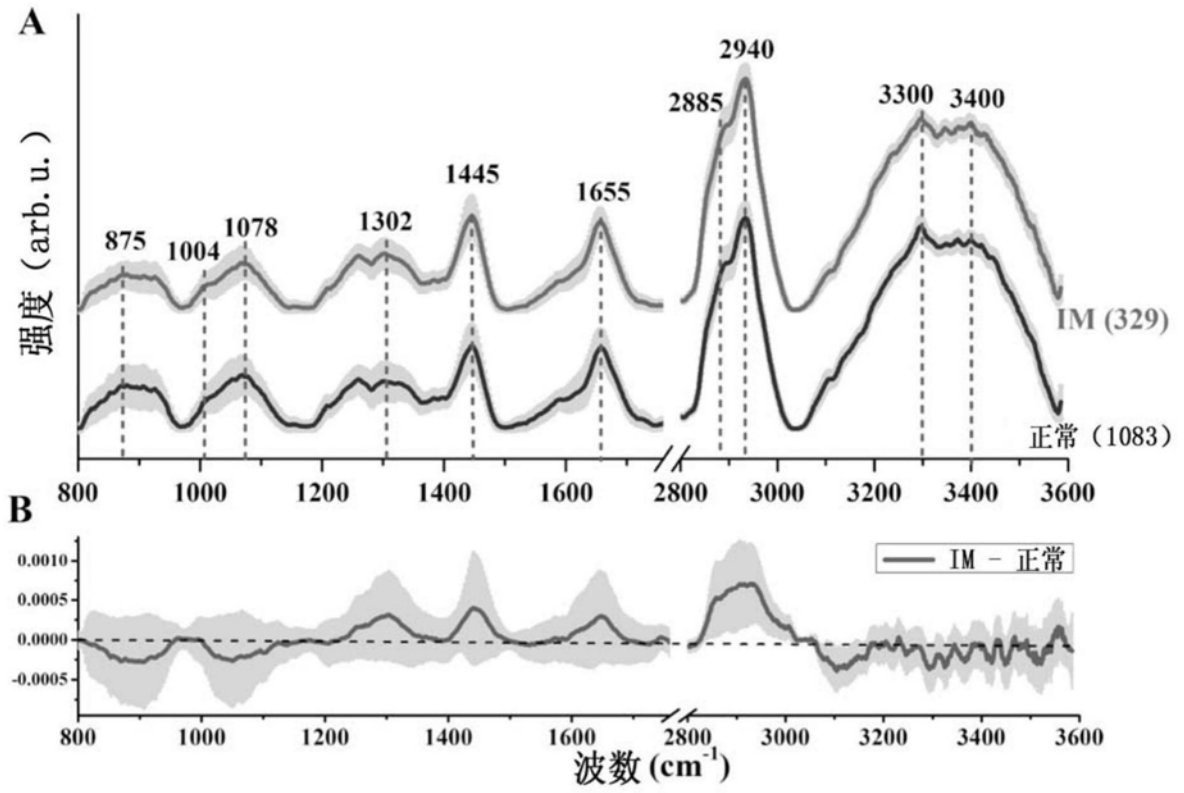


图22A & 22B

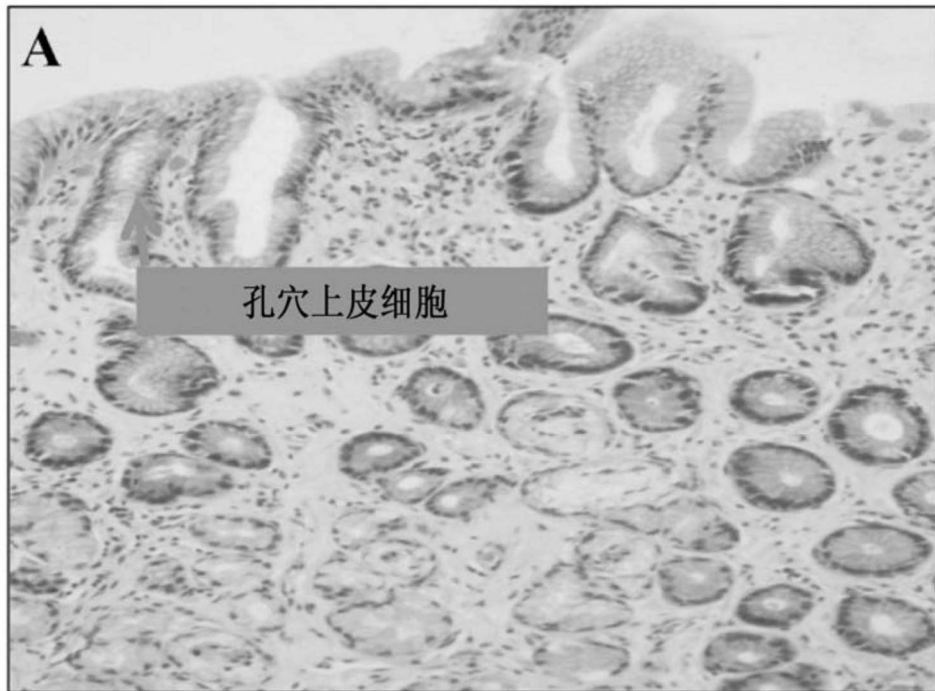


图23A

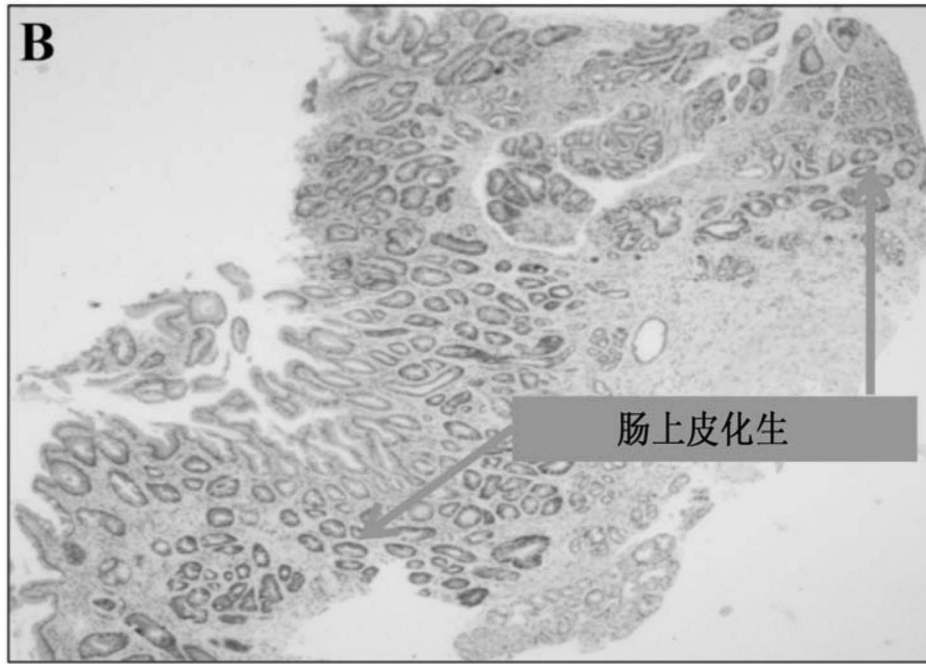


图23B

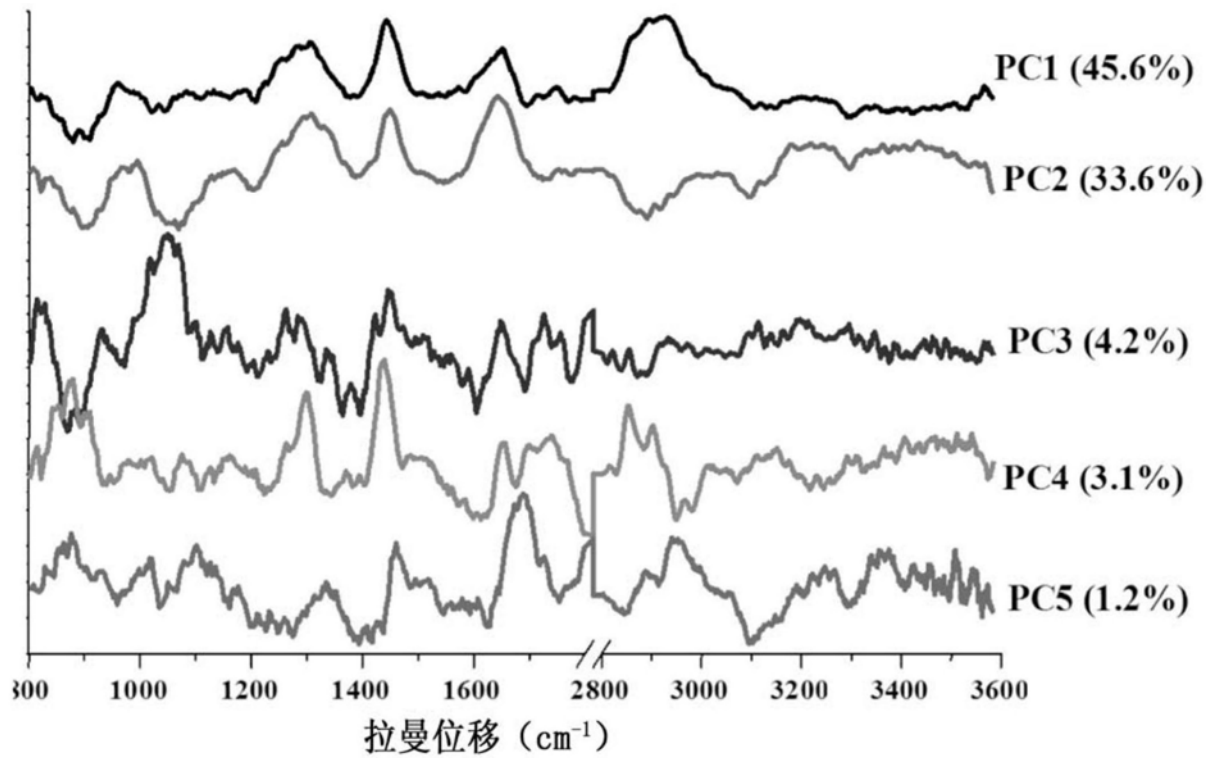


图24

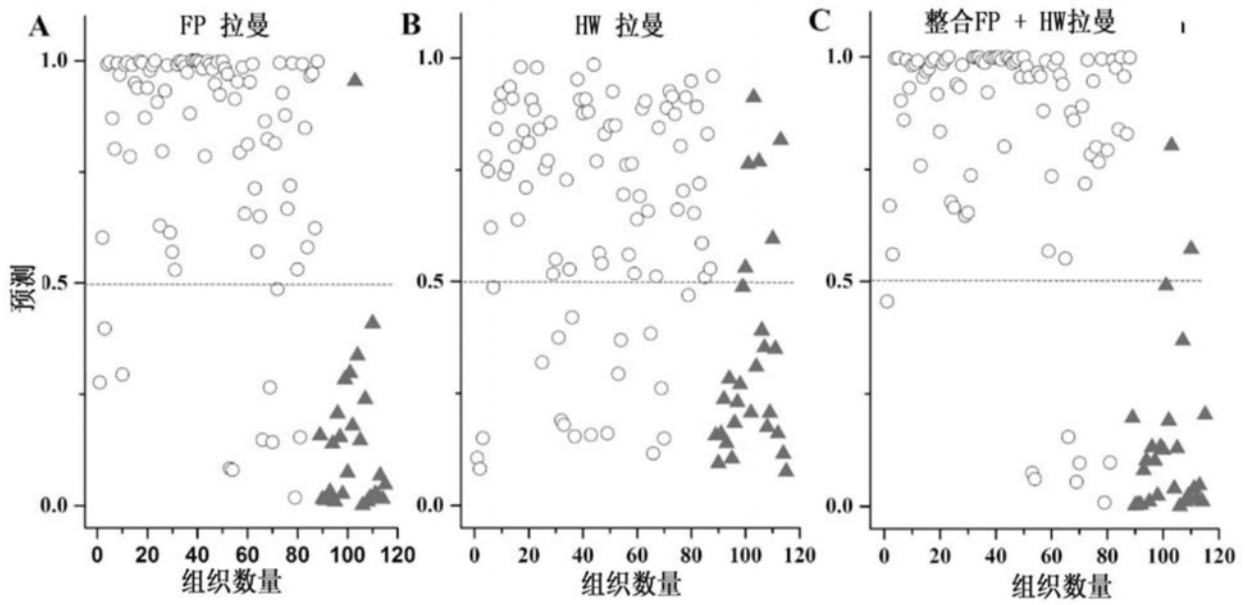


图25A, 25B & 25C

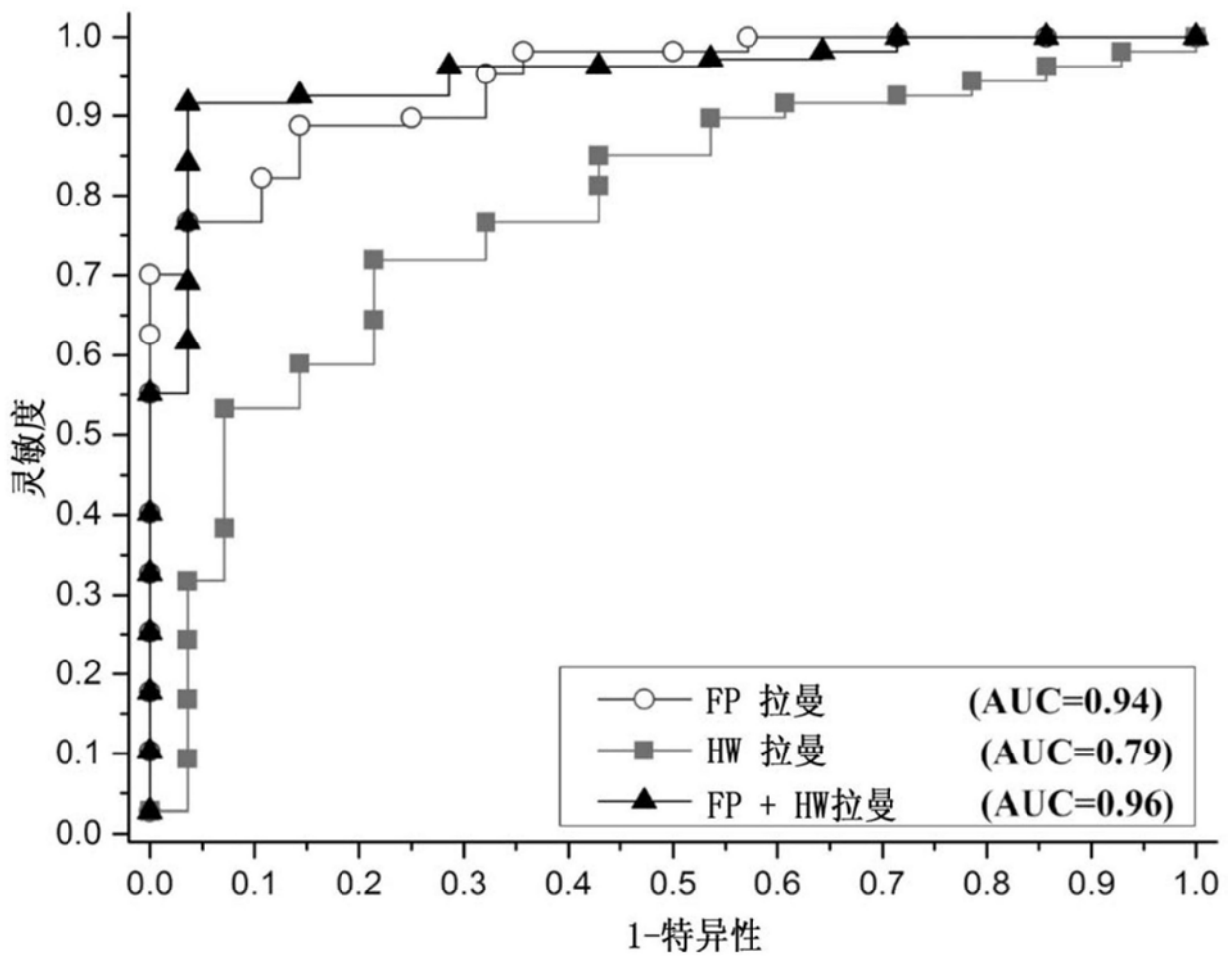


图26

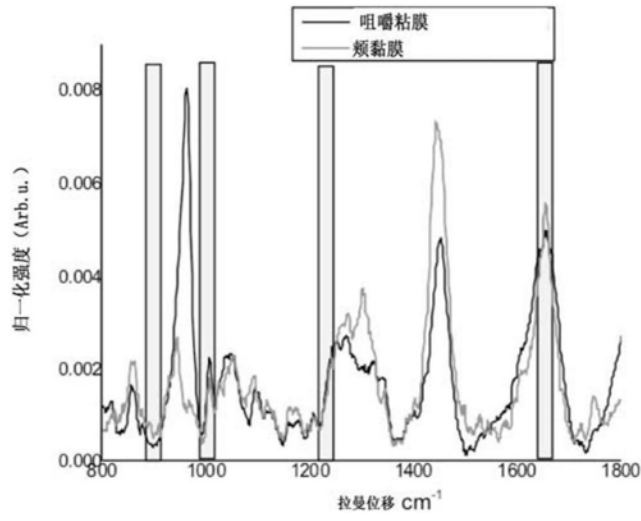


图27



图28

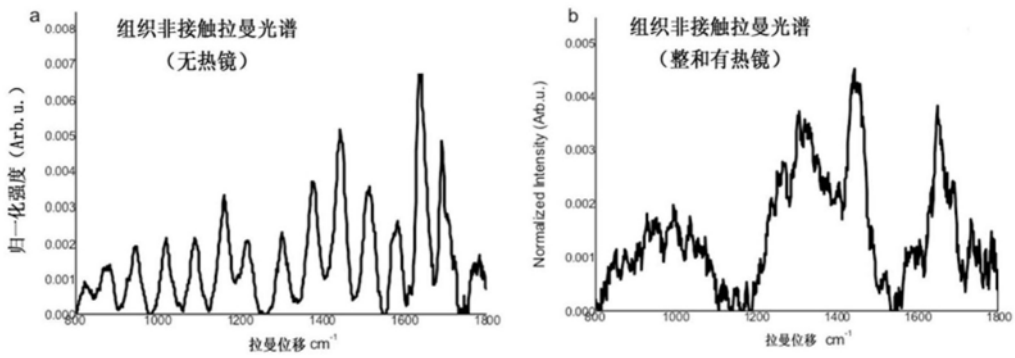


图29A & 29B

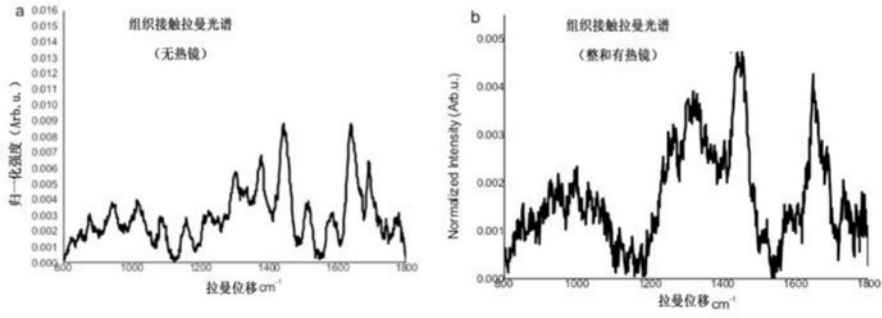


图30A&30B

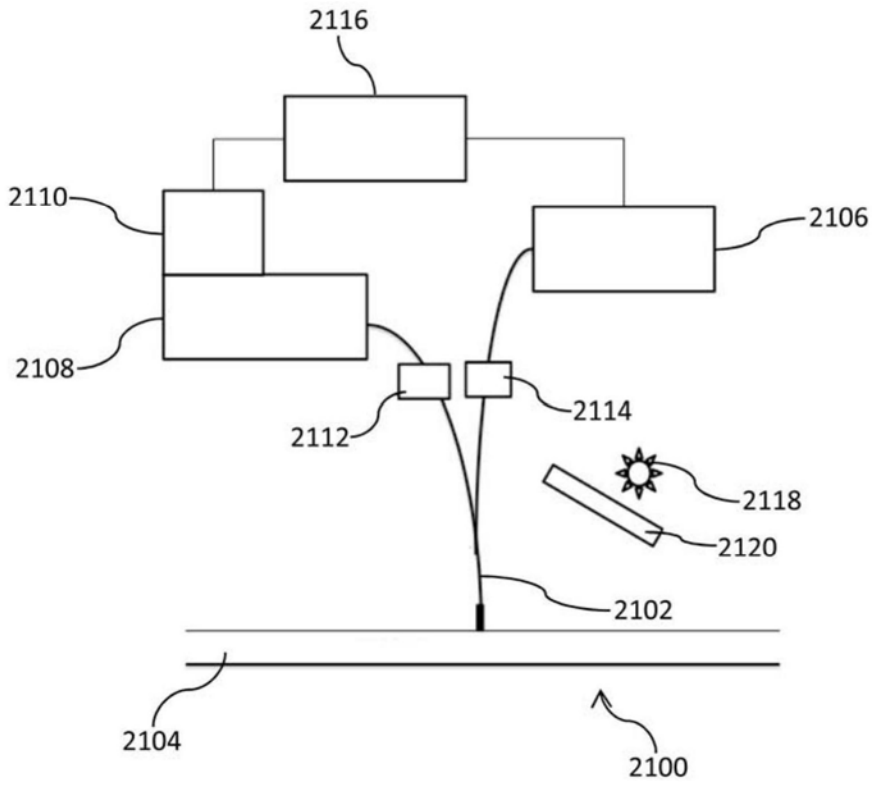


图31



图32

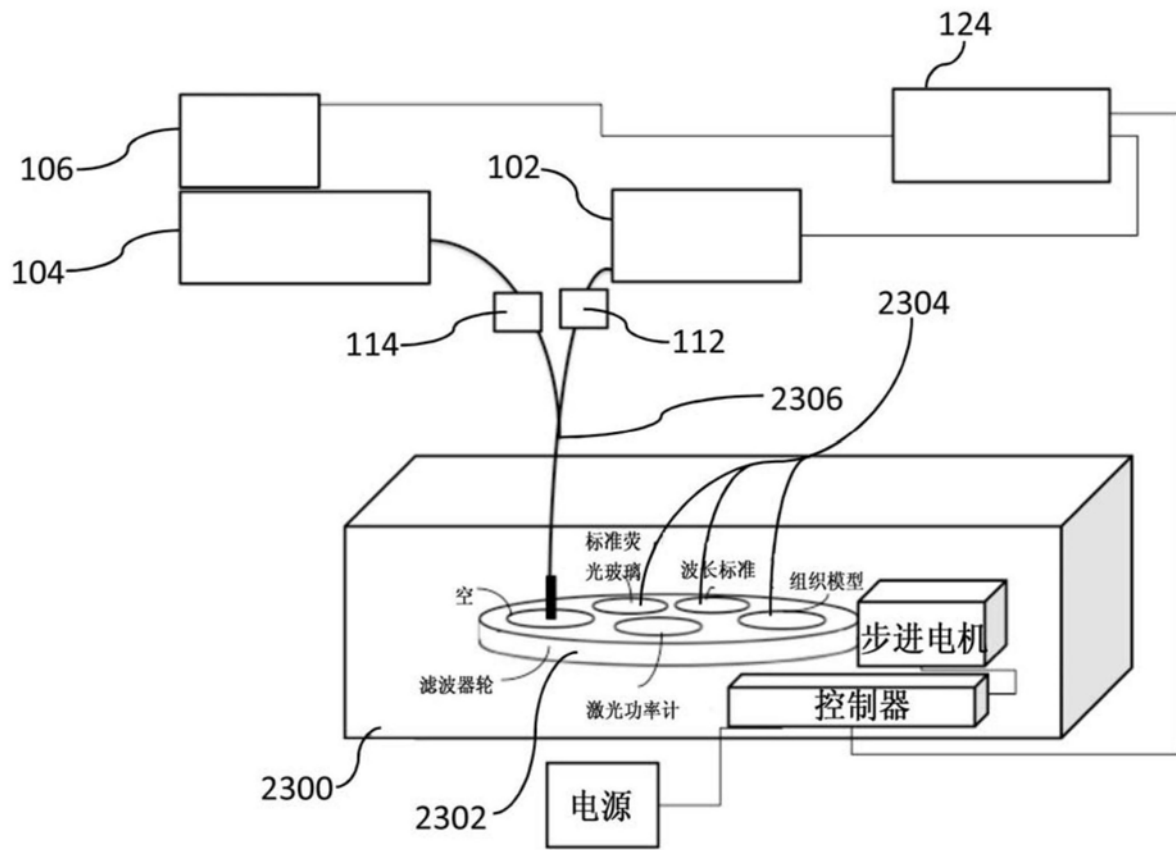


图33

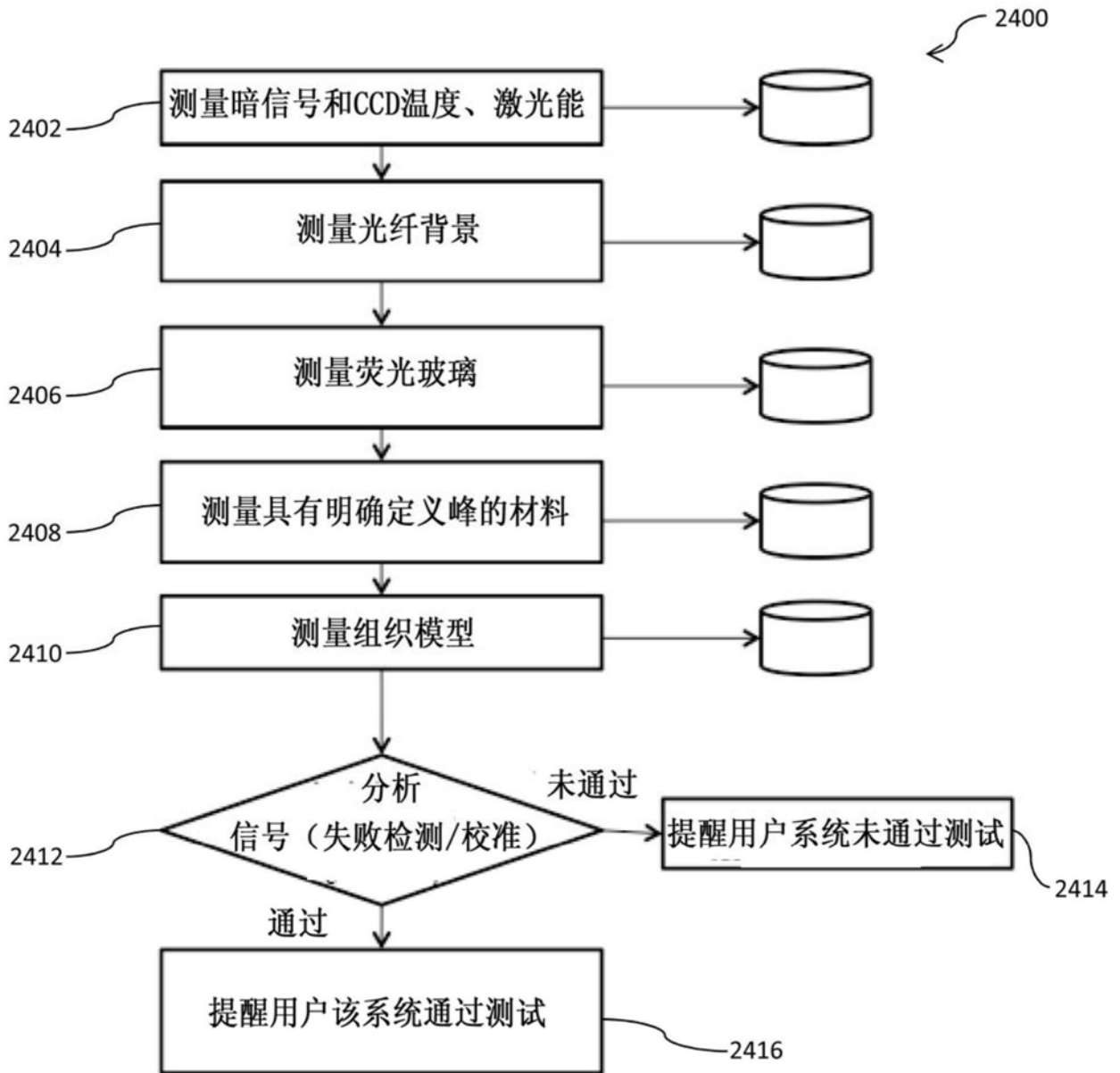


图34

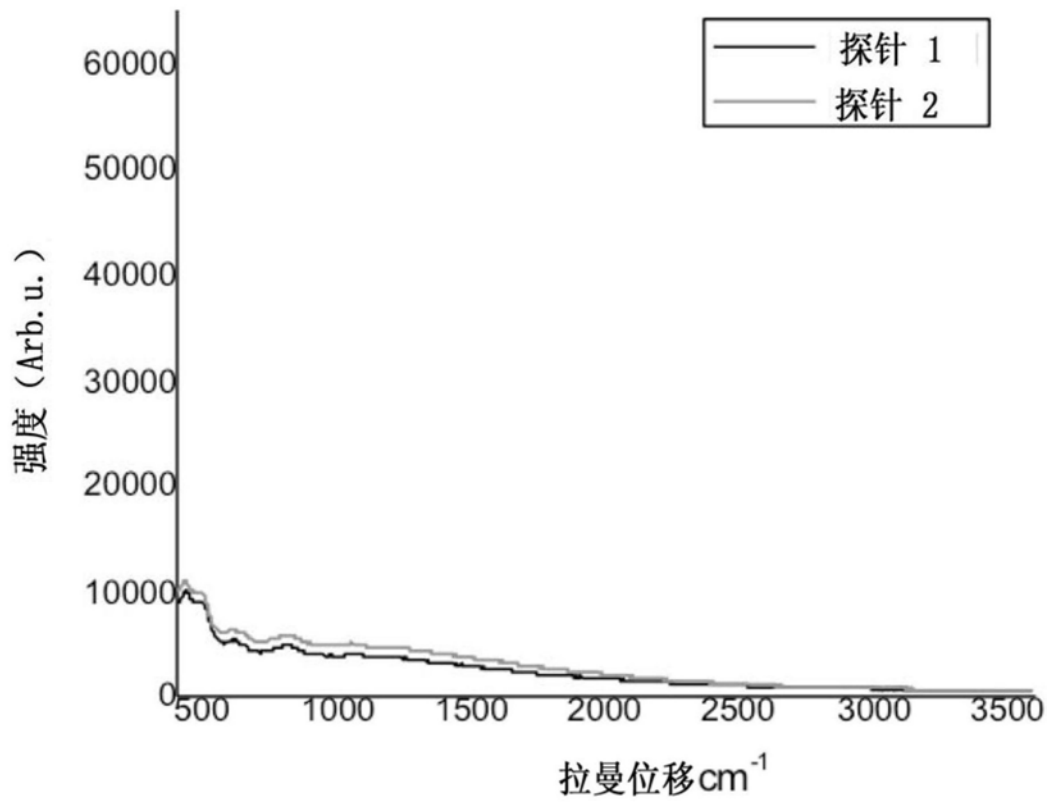


图35

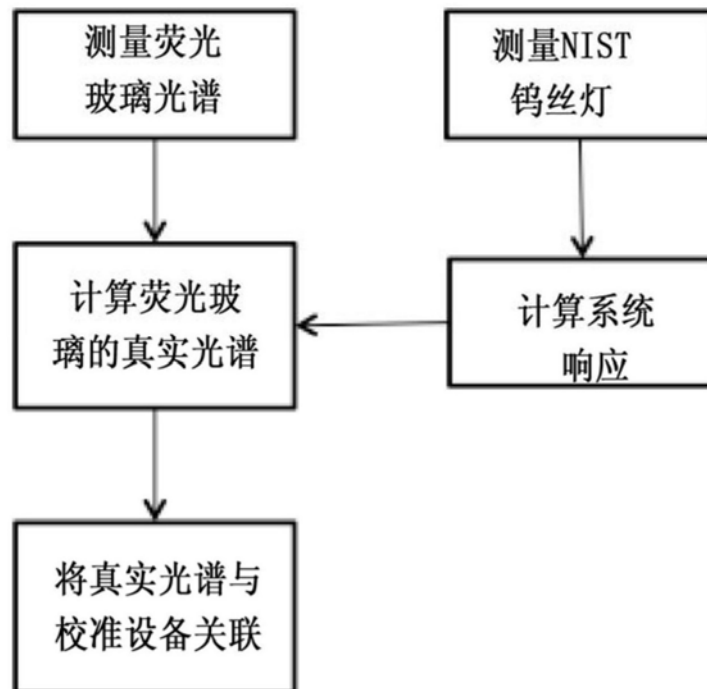


图36

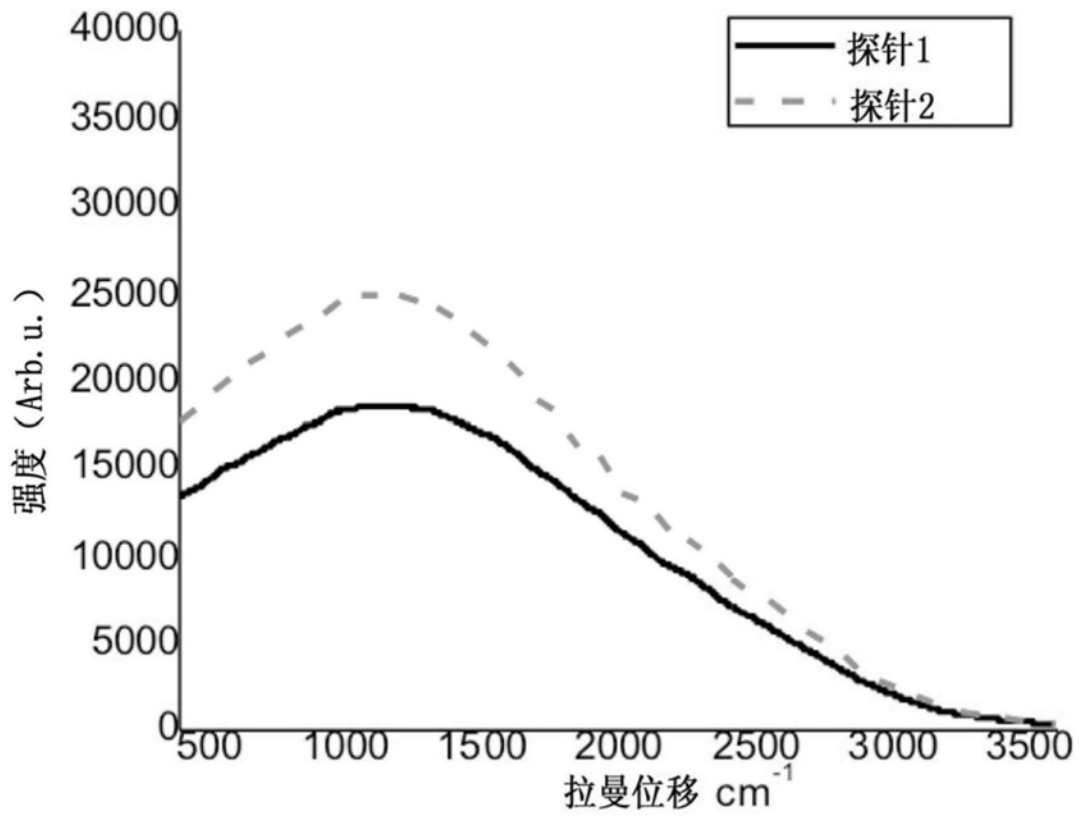


图37

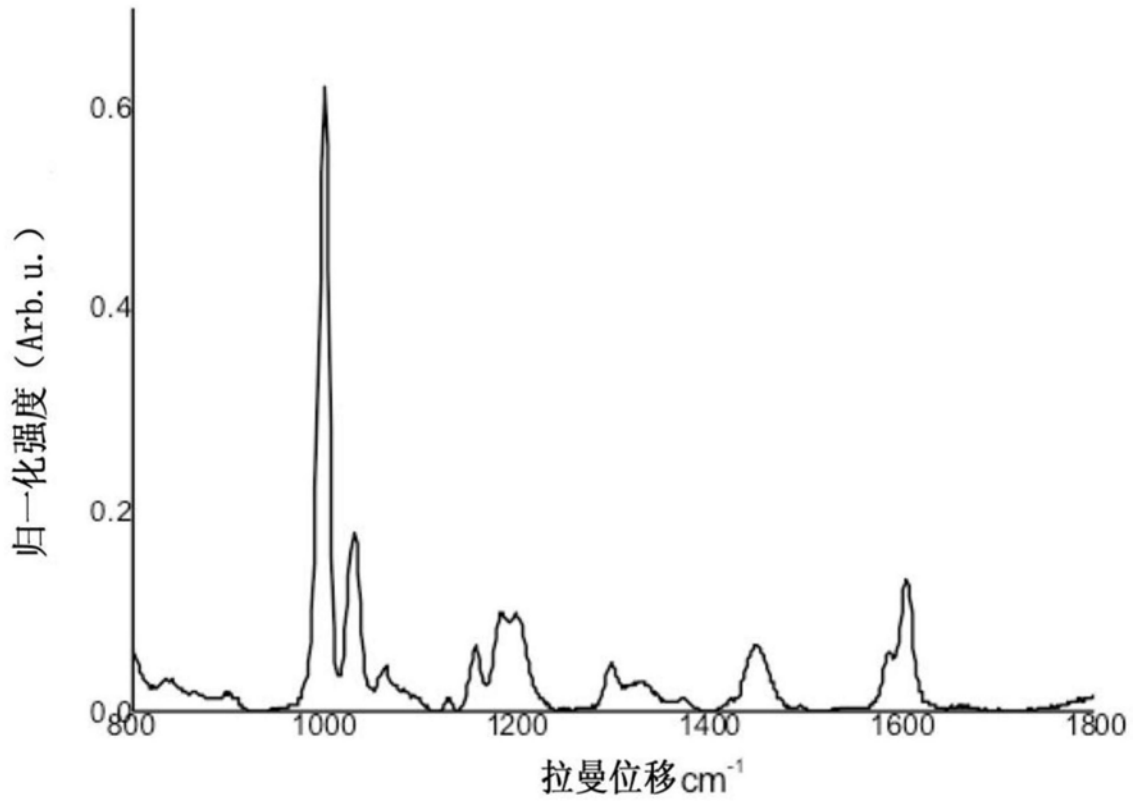


图38

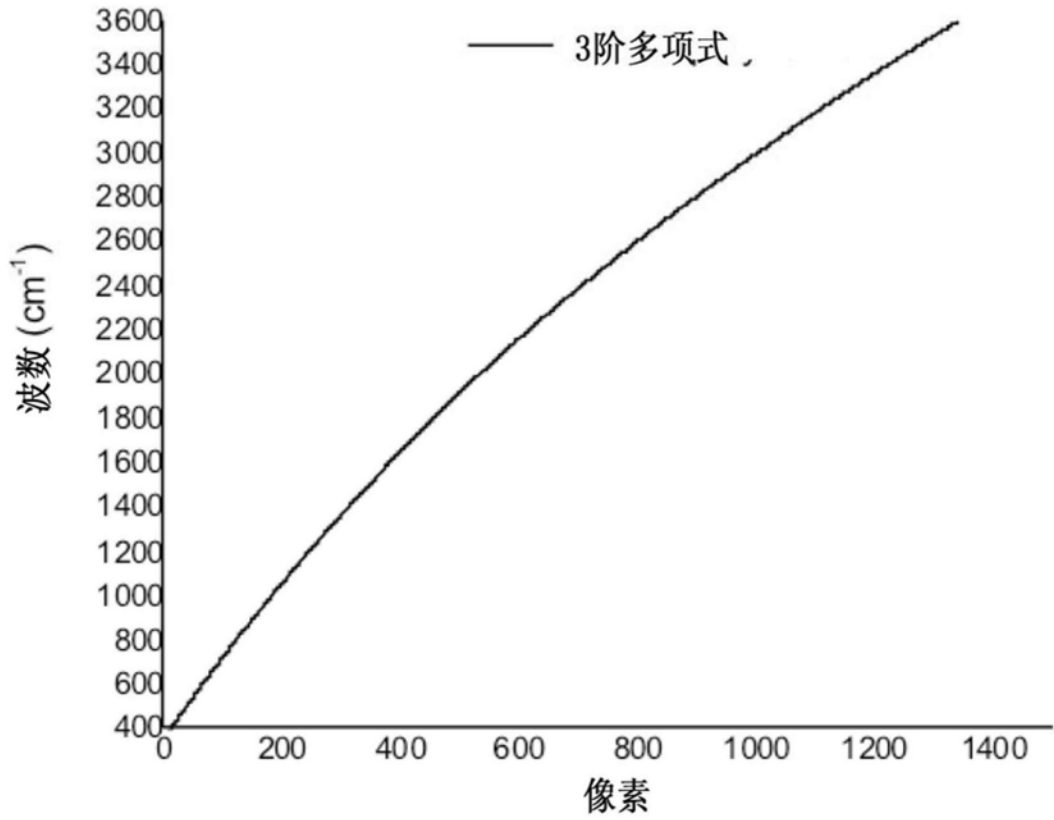


图39

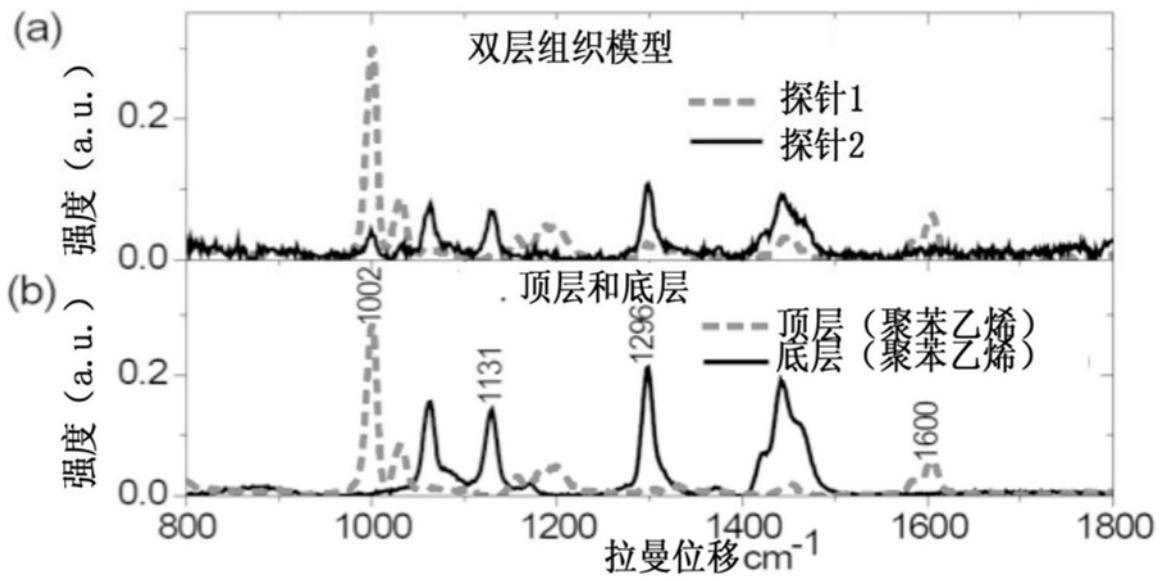


图40A&40B

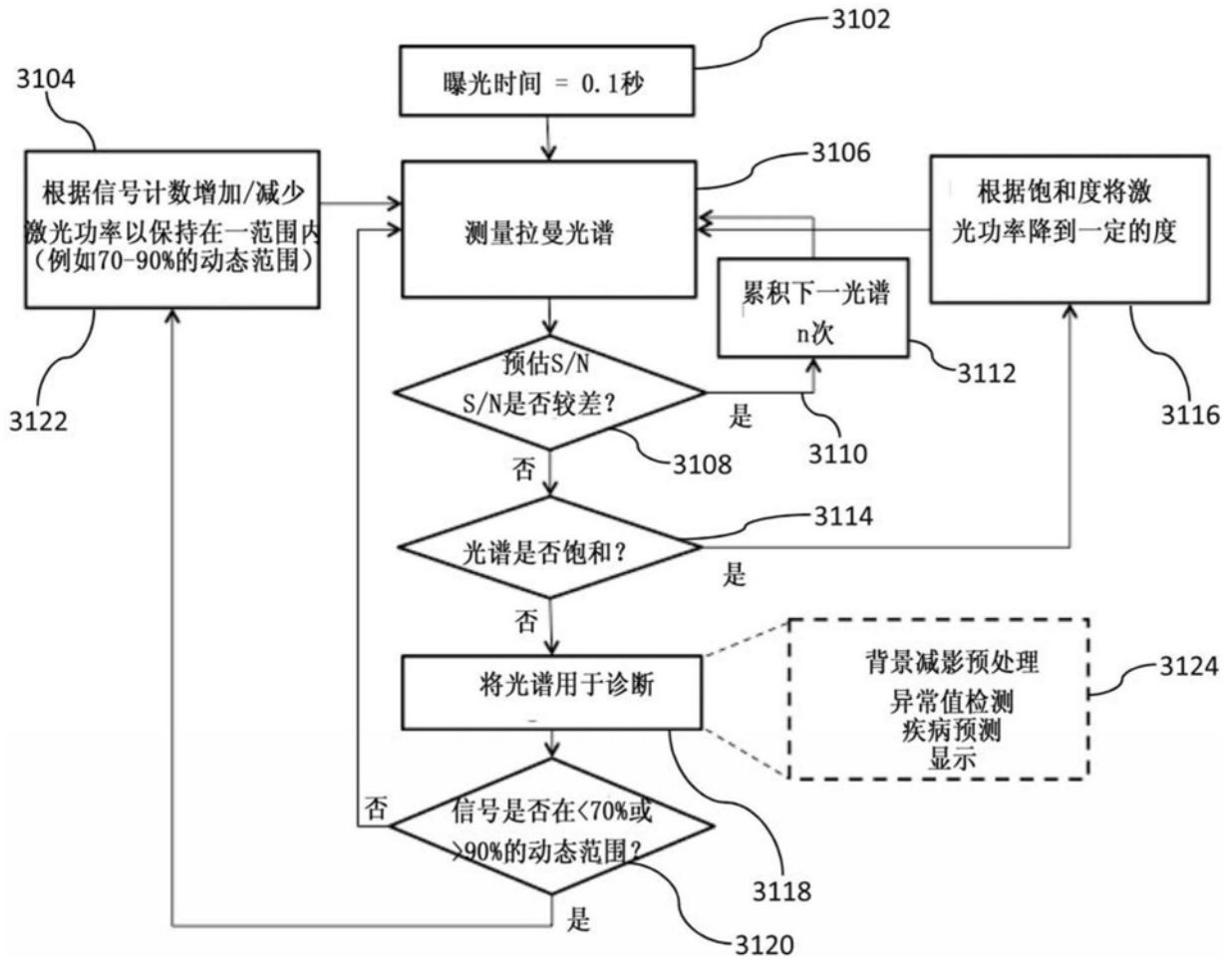


图41

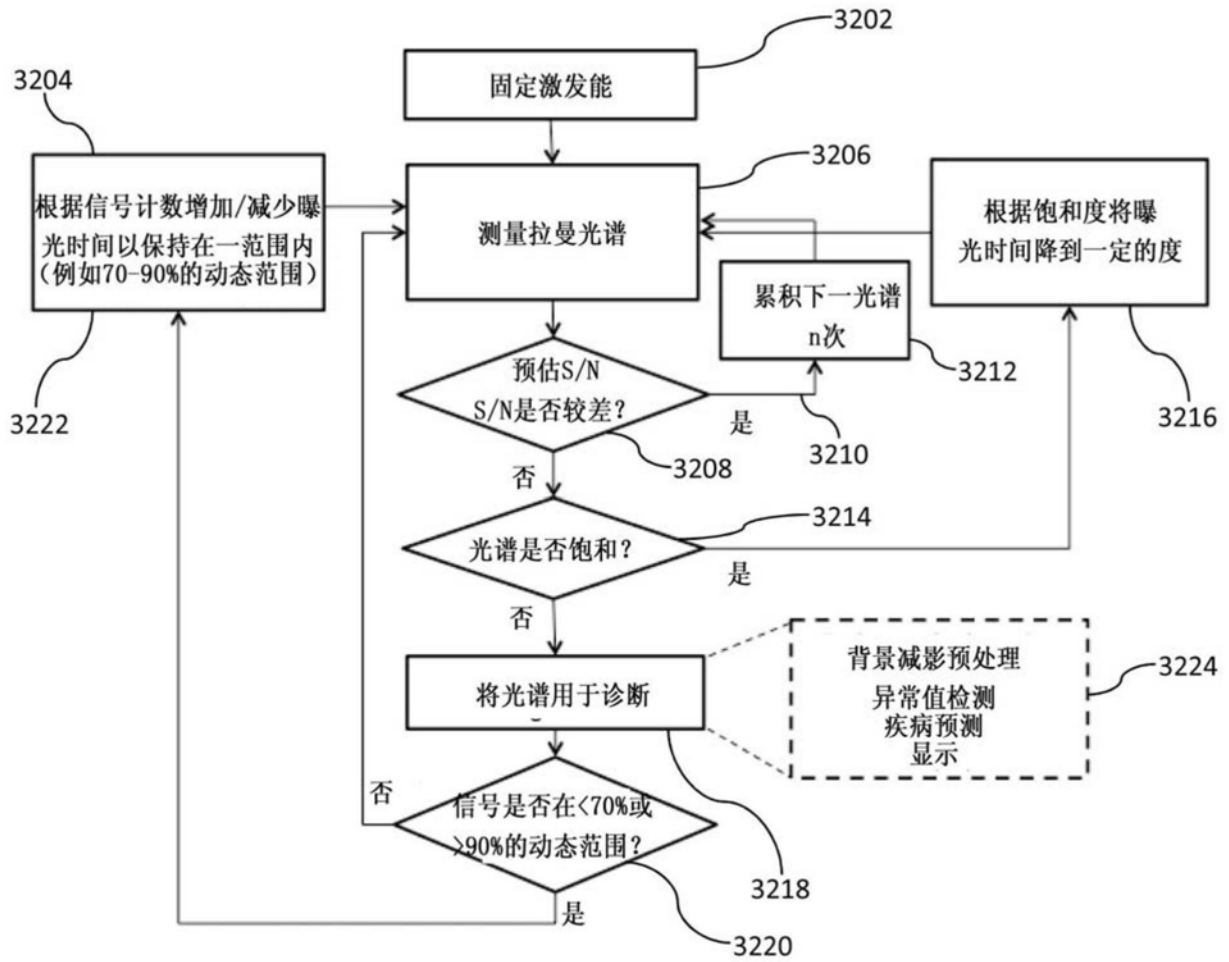


图42

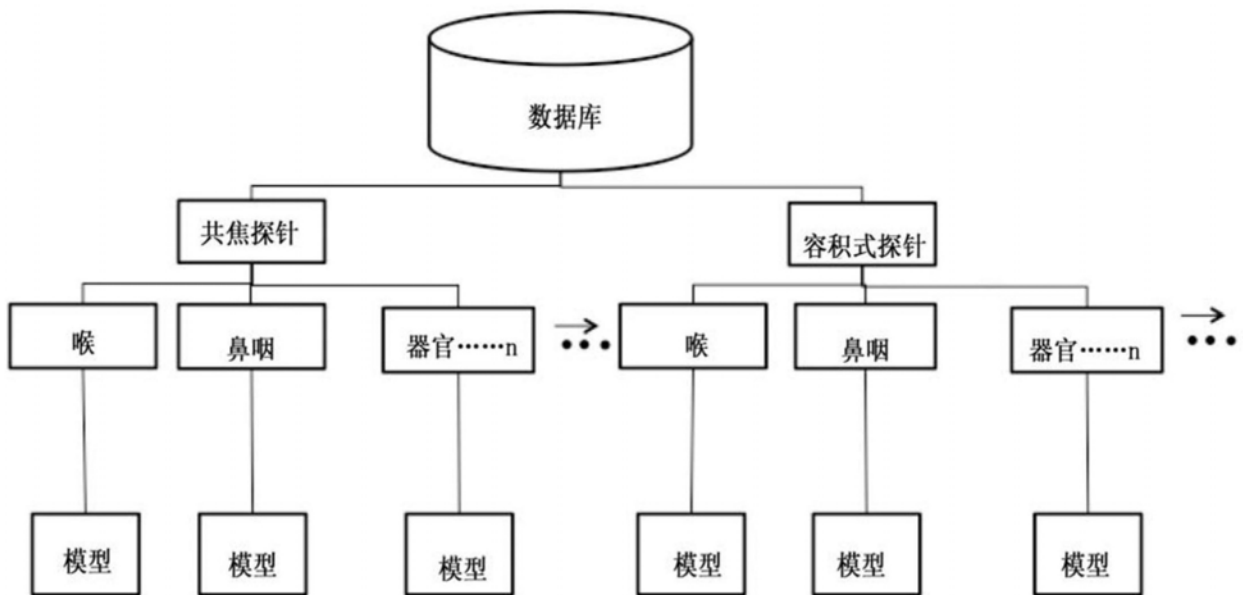


图43

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 用于分析、表征和/或诊断如异常生长的样本或组织的类型或性质的拉曼光谱系统、装置和方法 | | |
| 公开(公告)号 | CN106793917B | 公开(公告)日 | 2019-04-30 |
| 申请号 | CN201580046151.3 | 申请日 | 2015-07-02 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 新加坡国立大学 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 新加坡国立大学 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 新加坡国立大学 | | |
| [标]发明人 | 黄志伟 | | |
| 发明人 | 黄志伟 | | |
| IPC分类号 | A61B1/00 G01N21/65 | | |
| CPC分类号 | A61B1/018 A61B5/0075 A61B5/0084 A61B2560/0223 G01J3/0218 G01J3/44 G01J2003/123 G01N21/274 G01N21/65 G01N2201/129 G01N2201/0612 G01N2201/08 G01N2201/12 | | |
| 审查员(译) | 何琛 | | |
| 优先权 | 2014011800 2014-07-02 GB 2014011803 2014-07-02 GB 2014011820 2014-07-02 GB | | |
| 其他公开文献 | CN106793917A | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

使用拉曼光谱表征、识别或诊断样本或组织的类型和/或性质，例如异常生长；包括分析两个不同波长范围，例如FP和HW波长范围内的拉曼光谱内的不同光谱子区间，以识别与一个或两个波长范围中的一个或多个参考标记的匹配；并且通过该匹配来表征、鉴定或诊断该样本或组织的类型和/或性质。可以使用单个衍射光栅同时检测或获取FP和HW拉曼光谱。

