

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公表特許公報** (A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 522577

(P2003 - 522577A)

(43)公表日 平成15年7月29日(2003.7.29)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
A 6 1 B 5/145		G 0 1 N 21/27	F 2 G 0 4 3
G 0 1 N 21/27		21/64	Z 2 G 0 4 5
21/64		33/483	C 2 G 0 5 9
33/483		33/66	A 4 C 0 3 8
33/66		A 6 1 B 5/14	310
		審査請求 未請求 予備審査請求 (全 26数)	

(21)出願番号 特願2001 - 559347(P2001 - 559347)

(86)(22)出願日 平成13年2月20日(2001.2.20)

(85)翻訳文提出日 平成14年8月19日(2002.8.19)

(86)国際出願番号 PCT/US01/05047

(87)国際公開番号 W001/060246

(87)国際公開日 平成13年8月23日(2001.8.23)

(31)優先権主張番号 60/183,356

(32)優先日 平成12年2月18日(2000.2.18)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 ア-ゴス インク
ARGOSE, INC.
アメリカ合衆国 02451 マサチューセツ
州 ウォルサム セカンドアベニュー 23
0

(72)発明者 ジェ-ムス・マン-フィールド
アメリカ合衆国 02215 マサチューセツ
州 ボストン ピ-ターボロ-ストリート
22 - 25

(72)発明者 ジ-ニー・イ-フ-リーマン
アメリカ合衆国 02493 マサチューセツ
州 ウ-ェストン コンコ-ルドロード 405

(74)代理人 弁理士 倉内 義朗

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 細胞サンプルおよび組織サンプルの緑色~紫外スペクトルの多変量分析

(57)【要約】

本発明は、血中グルコースレベルを測定するために体内での皮膚の自己蛍光スペクトルを処理するための方法に関する。本発明はまた、多変量の分類モデルまたは定量化モデルを使用して、細胞サンプルまたは組織サンプルを分類するか、あるいは細胞または組織の成分を定量化する方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 患者の血中グルコースレベルを測定するために、患者の皮膚表面によって放出される体内での皮膚の自己蛍光スペクトルを処理するための方法であって、

患者の皮膚表面から放出される自己蛍光スペクトルを集める工程、および皮膚表面の変数を説明するために多変量解析を使用して、集められたスペクトルを補正する工程を含む方法。

【請求項2】 上記多変量解析が、偏最小二乗、主成分回帰、線形回帰、多重線形回帰、ステップワイズ線形回帰、リッジ回帰、線形判別分析、クラスター分析、ニューラルネットワーク分析、平滑化フィルター、ラプラシアン演算子、最尤推定量、最大エントロピー法、一次および二次の導関数、ピーク強化、フーリエ自己デコンボリューション、主成分、ならびにバリマックス回転からなる群から選択される1つ以上の定量化技術または分類技術またはデータ処理技術を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 患者の皮膚の体内での自己蛍光を測定することによって患者の正しいグルコースレベルを決定するための装置であって、

多数の励起波長で皮膚を照射する手段、多数の放出された波長を集める手段、および集められた波長を、予備的な血中グルコースレベルを決定するために分析する手段とを含み、その分析する手段は、皮膚における変数を説明するために予備的な血中グルコースレベルを補正する手段を含み、その補正する手段は、患者の正しいグルコースレベルを決定するために、1つ以上の多変量分析方法論を使用することを含む、装置。

【請求項4】 細胞サンプルまたは組織サンプルの成分を定量化する方法であって、

緑色光～紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成すること、サンプルに上記光を照射し、サンプルの刺激された放出線の強度を、励起光よりも低いエネルギーの3つ以上の異なる波長において測定すること、および多変量定量化モデルを使用することによって、細胞または組織の1つ以上の成分を測定された強度から定量化することを含む方法。

【請求項5】 上記緑色光～紫外光が緑色～紫色の範囲の波長である、請求項4に記載の方法。

【請求項6】 上記緑色光～紫外光が緑色～近紫外の範囲の波長である、請求項4に記載の方法。

【請求項7】 上記成分がグルコースである、請求項4に記載の方法。

【請求項8】 上記サンプルへの照射が体外で行われる、請求項4に記載の方法。

【請求項9】 上記サンプルへの照射が体内で行われる、請求項4に記載の方法。

【請求項10】 上記サンプルの成分を定量化する工程が、少なくとも1つのスペクトルデータ前処理工程を含む、請求項4に記載の方法。

【請求項11】 上記前処理工程が、スペクトル領域における1つのスペクトルバンドを分類するために使用される、波長を選択する工程、直線ベースラインを補正する工程、および異なる波長を囲むスペクトル領域を正規化する工程の少なくとも1つを含む、請求項10に記載の方法。

【請求項12】 上記前処理工程が、スペクトルの範囲全体を正規化する工程、データをフィルター処理または平滑化処理する工程、あるいは分析物により事前に類別化する工程の少なくとも1つを含む、請求項10に記載の方法。

【請求項13】 上記多変量定量化が偏最小二乗技術によって行われる、請求項4に記載の方法。

【請求項14】 上記多変量定量化が主成分回帰技術によって行われる、請求項4に記載の方法。

【請求項15】 上記多変量分類が、多重線形回帰、ステップワイズ線形回帰またはリッジ回帰の1つによって行われる、請求項4に記載の方法。

【請求項16】 上記サンプルの成分を定量化する工程が、測定された強度情報および少なくとも1つの多変量定量化モデルを使用する多変量アルゴリズムに基づいて行われ、多変量定量化モデルが、基準サンプルの集合と、基準サンプルの集合に緑色光～紫外光を照射し、刺激された放出線をモニタリングすることから得られる波長の関数としてのスペクトル強度の集合とから決定される細胞成

分または組織成分の量の関数である、請求項4に記載の方法。

【請求項17】 細胞サンプルまたは組織サンプルの成分を定量化する方法であって、

中紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成すること、サンプルに上記光を照射し、サンプルの刺激された放出線の強度を、励起光よりも低いエネルギーの3つ以上の異なる波長において測定すること、基準定量化結果に関連して、測定された波長における強度特性の関数としてサンプルの種々の成分を定量化する少なくとも1つの多変量定量化モデルを作製すること、定量化モデルに基づいて少なくとも3つの異なる波長における強度の多変量定量化を使用することによって、成分の量を測定された強度から計算すること、および上記多変量定量化モデルを使用することによって、成分を測定された強度から定量化することを含む方法。

【請求項18】 上記サンプルの成分の定量化が体外で行われる、請求項17に記載の方法。

【請求項19】 上記サンプルの成分の定量化が体内で行われる、請求項17に記載の方法。

【請求項20】 上記成分がグルコースである、請求項17に記載の方法。

【請求項21】 上記サンプルの成分を定量化する工程が少なくとも1つのスペクトルデータ前処理工程を含む、請求項17に記載の方法。

【請求項22】 上記前処理工程が、スペクトル領域における1つのスペクトルバンドを分類するために使用される、波長を選択する工程、直線ベースラインを補正する工程、および異なる波長を囲むスペクトル領域を正規化する工程の少なくとも1つを含む、請求項21に記載の方法。

【請求項23】 上記前処理工程が、スペクトルの範囲全体を正規化する工程、データをフィルター処理または平滑化処理する工程、あるいは分析物により事前に類別化する工程の少なくとも1つを含む、請求項21に記載の方法。

【請求項24】 上記多変量定量化が偏最小二乗技術によって行われる、請求項17に記載の方法。

【請求項25】 上記多変量定量化が主成分回帰技術によって行われる、請

求項17に記載の方法。

【請求項26】 上記多変量分類が、多重線形回帰、ステップワイズ線形回帰またはリッジ回帰の1つによって行われる、請求項17に記載の方法。

【請求項27】 上記サンプルの成分を定量化する工程が、測定された強度情報および少なくとも1つの多変量定量化モデルを使用する多変量アルゴリズムによって行われ、多変量定量化モデルが、基準サンプルの集合と、基準サンプルの集合に緑色光～紫外光を照射し、刺激された放出線をモニタリングすることから得られる波長の関数としてのスペクトル強度の集合とから決定される細胞成分または組織成分の量の関数である、請求項17に記載の方法。

【請求項28】 細胞サンプルまたは組織サンプルの成分を定量化するためのシステムであって、

緑色光～紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成する手段、緑色光～紫外光の少なくとも一部をサンプルに誘導する手段、励起光がサンプルと相互作用した後の刺激された放出光の少なくとも一部を集める手段、集められた刺激された放出光の強度を少なくとも3つの異なる波長において測定する手段、測定された強度を波長の関数として類別化する手段であって、測定手段に結合した手段、既知の細胞サンプルまたは組織サンプルの成分の正しい定量化を示すデータを含有する少なくとも1つの多変量定量化モデルを類別化する手段、および測定された強度を類別化する手段およびモデルを類別化する手段に結合したプロセッサ手段であって、多変量定量化モデルおよび測定された強度の使用によって細胞サンプルまたは組織サンプルの成分の量を計算する手段として役立つプロセッサ手段とを含むシステム。

【請求項29】 上記光を誘導する手段および光を集める手段が内視鏡を含む、請求項28に記載のシステム。

【請求項30】 上記光を誘導する手段および光を集める手段が光ファイバー一束を含む、請求項28に記載のシステム。

【請求項31】 上記異常値を決定する手段をさらに含む、請求項28に記載のシステム。

【請求項32】 細胞サンプルまたは組織サンプルを分類する方法であって

、
緑色光～紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成すること、サンプルに上記光を照射し、サンプルの刺激された放出線の強度を、励起光よりも低いエネルギーの3つ以上の異なる波長において測定すること、および多変量分類モデルを使用することによって、測定された強度から、サンプルを2つ以上の細胞タイプまたは組織タイプの1つとして分類することを含む、方法。

【請求項33】 上記緑色光～紫外光が緑色～紫色の範囲の波長である、請求項32に記載の方法。

【請求項34】 上記緑色光～紫外光が紫色～近紫外の範囲の波長である、請求項32に記載の方法。

【請求項35】 上記サンプルが正常または異常として分類される、請求項32に記載の方法。

【請求項36】 上記サンプルへの照射が体外で行われる、請求項32に記載の方法。

【請求項37】 上記サンプルへの照射が体内で行われる、請求項32に記載の方法。

【請求項38】 上記サンプルを分類する工程が少なくとも1つのスペクトルデータ前処理工程を含む、請求項32に記載の方法。

【請求項39】 上記前処理工程が、スペクトル領域における1つのスペクトルバンドを分類するために使用される、波長を選択する工程、直線ベースラインを補正する工程、および異なる波長を囲むスペクトル領域を正規化する工程の少なくとも1つを含む、請求項38に記載の方法。

【請求項40】 上記前処理工程が、スペクトルの範囲全体を正規化する工程、データをフィルター処理または平滑化処理する工程、あるいは分析物により事前に類別化する工程の少なくとも1つを含む、請求項38に記載の方法。

【請求項41】 上記多変量分類が線形判別分析技術によって行われる、請求項32に記載の方法。

【請求項42】 上記線形判別分析の前に、判別変数の数を制限する主成分分析工程が行われる、請求項41に記載の方法。

【請求項43】 上記サンプルを分類する工程が、測定された強度情報および少なくとも1つの多変量分類モデルを使用する多変量アルゴリズムによって行われ、多変量分類モデルが、基準サンプルの集合と、基準サンプルの集合に緑色光～紫外光を照射し、刺激された放出線をモニタリングすることから得られる波長の関数としてのスペクトル強度の集合とから決定される細胞サンプルまたは組織サンプルのクラスの間数である、請求項32に記載の方法。

【請求項44】 細胞サンプルまたは組織サンプルを分類する方法であって、

中紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成すること、サンプルに上記光を照射し、サンプルの刺激された放出線の強度を、励起光よりも低いエネルギーの3つ以上の異なる波長において測定すること、基準分類に関連して、測定された波長における強度特性の間数としてサンプルを分類する少なくとも1つの多変量分類モデルを作製すること、分類モデルに基づいて少なくとも3つの異なる波長における強度の多変量分類を使用することによって、サンプルの分類を測定された強度から計算すること、および上記多変量分類モデルを使用することによって、測定された強度から、サンプルを2つ以上の細胞タイプまたは組織タイプの1つとして分類することを含む方法。

【請求項45】 上記サンプルの分類が体外で行われる、請求項44に記載の方法。

【請求項46】 上記サンプルの分類が体内で行われる、請求項44に記載の方法。

【請求項47】 上記サンプルが正常または異常として分類される、請求項44に記載の方法。

【請求項48】 上記サンプルを分類する工程が少なくとも1つのスペクトルデータ前処理工程を含む、請求項44に記載の方法。

【請求項49】 上記前処理工程が、スペクトル領域における1つのスペクトルバンドを分類するために使用される、波長を選択する工程、直線ベースラインを補正する工程、および異なる波長を囲むスペクトル領域を正規化する工程の少なくとも1つを含む、請求項48に記載の方法。

【請求項50】 前処理工程が、スペクトルの範囲全体を正規化する工程、データをフィルター処理または平滑化处理する工程、あるいは分析物により事前に類別化する工程の少なくとも1つを含む、請求項48に記載の方法。

【請求項51】 上記多変量分類が線形判別分析技術によって行われる、請求項44に記載の方法。

【請求項52】 上記線形判別分析の前に、判別変数の数を制限する主成分分析工程が行われる、請求項51に記載の方法。

【請求項53】 上記サンプルを分類する工程が、測定された強度情報および少なくとも1つの多変量分類モデルを使用する多変量アルゴリズムによって行われ、多変量分類モデルが、基準サンプルの集合と、基準サンプルの集合に緑色光～紫外光を照射し、刺激された放出線をモニタリングすることから得られる波長の関数としてのスペクトル強度の集合とから決定される細胞サンプルまたは組織サンプルのクラスの間数である、請求項44に記載の方法。

【請求項54】 細胞サンプルまたは組織サンプルを分類するためのシステムであって、

緑色光～紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成する手段、緑色光～紫外光の少なくとも一部をサンプルに誘導する手段、励起光がサンプルと相互作用した後の刺激された放出光の少なくとも一部を集める手段、集められた刺激された放出光の強度を少なくとも3つの異なる波長において測定する手段、測定された強度を波長の関数として類別化する手段であって、測定手段に結合した手段、既知の細胞サンプルまたは組織サンプルの正しい分類を示すデータを含有する少なくとも1つの多変量分類モデルを類別化する手段、および測定された強度を類別化する手段およびモデルを類別化する手段に結合したプロセッサ手段であって、多変量分類モデルおよび測定された強度の使用によって細胞サンプルまたは組織サンプルの分類を2つ以上の細胞または組織の1つとして計算する手段として役立つプロセッサ手段を含むシステム。

【請求項55】 上記光を誘導する手段および光を集める手段が内視鏡を含む、請求項54に記載のシステム。

【請求項56】 上記光を誘導する手段および光を集める手段が光ファイバ

一束を含む、請求項54に記載のシステム。

【請求項57】 異常値を決定する手段をさらに含む、請求項54に記載のシステム。

【発明の詳細な説明】**【0001】****【発明の属する技術分野】**

本発明は、診断スペクトルの分析方法論および多変量の分類に関し、そして詳細には、血中グルコースレベルを測定するために体内での皮膚の自己蛍光スペクトルを処理するための方法に関する。本発明はまた、多変量の分類モデルまたは定量化モデルを使用して、細胞サンプルまたは組織サンプルを分類するか、あるいは細胞または組織の成分を定量化する方法に関する。

【0002】**【従来技術】**

穀物、オイル、種子および飼料などの農業サンプルから得られる近IRスペクトルが、様々な成分をまとめて定量化するために、例えば、総タンパク質、水分含有量または脂肪含有量を定量化するために使用されている。P. Williams 他、「近IR分光法およびPLS処理の農業適用」(カナダ穀物委員会)を参照のこと。

【0003】

多変量の様々な統計学的方法が、一般には「計量化学(chemometrics)」の名のもと、赤外線および近赤外線による様々な生物医学サンプルの分析において長く使用されている。米国特許第5,596,992号(Haaland 他、発明の名称:細胞サンプルおよび組織サンプルの赤外スペクトルの多変量分類)および米国特許第5,857,462号(Thomas 他、発明の名称:改善された多変量スペクトル分析のための系統的な波長選択)を参照のこと。

【0004】

組織サンプルをその生体を離れて分析するために多変量方法を使用することは十分に確立されている。体内で得られたスペクトルについては、かなりの研究が行われている。線形判別分析が、ヒトの手関節の可視/近IRスペクトルを初期および後期の慢性関節リウマチのクラスに分類するために使用されている。様々な多変量方法が、頸部のガン組織または前ガン組織の存在または非存在に従って頸部から体内で得られた蛍光スペクトルを分類するために使用されている。

【0005】

一般に、計量化学の分野は十分に確立されており、複雑なスペクトルを解析するために多変量の様々な統計学的方法が広く使用されている。これらの方法は、薬学的分析、工業的適用において、そしてより近年には生物医学的なスペクトル分析において使用されている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

近年、グルコースレベルは、1つ以上の波長で励起した後の皮膚表面から放出される蛍光スペクトルを測定することによって体内で測定できることが発見されている。米国特許出願第09/287,486号（発明の名称：非侵襲的な組織グルコースレベルのモニタリング、1999年4月6日出願、これはその全体が参考として本明細書中に組み込まれる）を参照のこと。特に、ピーク比、相関分析および線形回帰分析が、血中グルコース濃度を測定する目的のために皮膚の自己蛍光スペクトルを解析するために使用されている。近IRスペクトルの偏最小二乗（「PLS」）解析が、非侵襲的なグルコースモニタリングに対するすべての赤外線研究の基礎である。

【0007】

集められたスペクトルの解析は、皮膚の不均一性、UV損傷、年齢、紅斑およびその他などの皮膚変数のためにスペクトルの変化または変動を識別することが困難であり得るという事実によって複雑になっている。本発明は、これらのタイプの変数を説明するために体内での皮膚の自己蛍光スペクトルを処理する方法を提供することによってこの問題を解決する。

【0008】

【課題を解決するための手段】

従って、本発明の1つの実施形態は、患者の血中グルコースレベルを測定するために、患者の皮膚表面によって放出される体内での皮膚の自己蛍光スペクトルを処理するための方法に関する。この方法は、患者の皮膚表面から放出される自己蛍光スペクトルを集める工程、および皮膚表面における変数を説明するために多変量分析技術を使用して、集められたスペクトルを補正する工程を含む。

【0009】

別の実施形態は、患者の皮膚の体内での自己蛍光を測定することによって患者の正しいグルコースレベルを決定するための装置に関する。この装置は、多数の励起波長で皮膚を照射する手段、多数の放出された波長を集める手段および予備的な血中グルコースレベルを決定するために、集められた波長を分析する手段を含む。分析する手段は、1つ以上の多変量統計学的技術を使用して皮膚における変動を説明するために予備的な血中グルコースレベルを補正して、患者の正しいグルコースレベルを決定する手段を含む。

【0010】

さらに、本発明はまた、放出された放射線の多数の波長の測定された強度の多変量解析を使用して、細胞サンプルまたは組織サンプルを分類するか、あるいはその成分を定量化する方法に関する。

【0011】

本発明の他の実施形態および利点は、下記の説明に一部が示され、そして一部がこの説明から明かになるか、または本発明の実施から明らかにされ得る。

【0012】

【発明の実施の形態】

本明細書中に例示され、そして広範囲に記載されているように、本発明は、血中グルコースレベルを測定する目的のために体内での皮膚の自己蛍光スペクトルを処理することに関する。体内での蛍光スペクトルは、血中グルコースレベルと相関することが示されている。上記を参照のこと。血中グルコースレベルの変化による皮膚の蛍光スペクトルの大きな変化が認められているが、血中グルコースの変化により生じるスペクトルの変動を、皮膚の不均一性、年齢効果、UV損傷、紅斑などの要因による他のスペクトル変化から分離することはときには困難であり得る。

【0013】

大きな被験者集団の場合、皮膚の蛍光スペクトルを、1人の個体とは対照的に集団の大きな割合に対して有効であるグルコース値に変換するアルゴリズムを決定できることは望ましい。これを達成するためには、1つまたは2つの波長で見

出されるよりも多くのスペクトル情報を考慮に入れた解析方法が必要である。

【0014】

広範囲の個体に由来する非常に多くのスペクトルを解析することによって、蛍光励起分光法を使用してグルコースを非侵襲的にモニタリングするための有用な装置で、皮膚の様々な違いに順応している装置を開発することができる。多変量の統計学的方法を使用することによって、多くの個体にわたって有用な定量化アルゴリズムを作ることができる。多くの多変量技術が、これに関して有用である。有用な解析方法論には、偏最小二乗、主成分回帰（「PCR」）、線形回帰、多重線形回帰、ステップワイズ線形回帰、リッジ回帰およびその他などの定量化方法論；線形判別分析（「LDA」）、クラスター分析（例えば、k-手段、C-手段など、ファジーおよびハードの両方）、ニューラルネットワーク（「NN」）分析などの分類方法論；および1-D平滑化フィルターまたは2-D平滑化フィルター（これらは中央値フィルター処理、平均値フィルター処理、離散コサイン、ウェーブレットまたはフーリエ変換に基づく）、ラプラシアン演算子、最尤推定量、最大エントロピー法、一次および二次の導関数（ともに1-D法および2-D法において）、ピーク強化法（フーリエ自己コンボリューションなど）、前処理工程としての主成分分析、ならびにPLS法およびPC法に対するバリマックス回転などのデータ処理方法論が含まれるが、これらに限定されない。

【0015】

他の方法論およびデータ処理方法は、そのグルコース値に従ってデータを類別化し、その後、小さいデータセット内の個体において、またはより大きい多人数のデータセットに対するそれぞれの個体において、1つ以上のデータフィルター処理/平滑化アルゴリズムを適用することをさらに含むことができる。グルコースまたは任意の他の関連する分析物により類別化することは少なくとも2つの望ましい利点を有する。すなわち、(1)類似するグルコース値を有するデータが一緒にグループ化され、その結果、フィルター処理技術のその後の適用により、グルコースに起因し得ない「ノイズ」が低下する；そして(2)データセットを時系列として保存する際の固有的な時間的相関が低下し、それにより偽の相関作用が低下する。

【0016】

さらに、または代わりに、様々なスペクトル変換アルゴリズムを、平滑化または類別化の前に、各人のデータに適用することができる。これらの伝達関数は、1人の個体に由来するスペクトルデータに対して行われる校正を、別の個体（1人または複数）に由来するスペクトルに、それらの間のスペクトル差を最小限にすることによってより容易に伝達可能にすることができる。そのようなアルゴリズムは、2名の個体のスペクトルの平均の比と同じくらい単純であり得るか、またはそれぞれの分光計の応答性特性を考慮に入れたかなり複雑なアルゴリズムであり得る。

【0017】

また、本発明の方法は定量化に先立って、スペクトルをグルコースレベルの様々なカテゴリーに予備的に分類することを含むことが可能である。これは、例えば、LDA、PCR、NNなどの、上述した管理型分類方法のいずれかを用いて行うことができる。また、スペクトルの連続的なバイナリー分割も適用することができる。例えば、150超過/未満、次いで、150未満の場合には100超過/未満で、150超過の場合には200超過/未満で、などである。

【0018】

さらに、本発明の方法は、分類または定量化に先立って、スペクトルデータの点の数を減らすために波長選択アルゴリズムを使用することができる。このような方法の例には、遺伝的アルゴリズム方法論、ステップワイズ線形回帰、および包括的コンビナトリアル線形判別分析などが含まれる。

【0019】

従って、本発明の1つの実施形態は、患者の血中グルコースレベルを測定するために、患者の皮膚表面によって放出される体内での皮膚の自己蛍光スペクトルを処理するための方法に関する。この方法は、患者の皮膚表面から放出される自己蛍光スペクトルを集める工程、および皮膚表面の変数を説明するために多変量解析法を使用して、集められたスペクトルを補正する工程を含む。変量解析法は、偏最小二乗、主成分回帰、線形回帰、多重線形回帰、ステップワイズ線形回帰、リッジ回帰、線形判別分析、クラスター分析（例えば、k - 手段、C - 手段な

ど、ファジーおよびハードの両方)、ニューラルネットワーク分析、平滑化フィルター(これらは、中央値フィルター処理、平均値フィルター処理、離散コサイン、ウェーブレットまたはフーリエ変換平滑化に基づき、すべて1-D法および2-D法の両方においてである)、ラプラシアン演算子、最尤推定量、最大エントロピー法、一次および二次の導関数(ともに1-D法および2-D法において)、ピーク強化法(フーリエ自己デコンボリューションなど)、前処理工程としての主成分分析、ならびにPLS法およびPC法に対するバリマックス回転からなる群から選択される1つ以上の定量化法または分類法またはデータ処理法を含むことができる。

【0020】

別の実施形態は、患者の皮膚の体内での自己蛍光を測定することによって患者の正しいグルコースレベルを測定するための装置に関する。この装置は、皮膚に多数の励起波長を照射する手段、多数の放出された波長を集める手段および予備的な血中グルコースレベルを決定するために、集められた波長を分析する手段を含む。分析する手段は、皮膚における変数を説明するために、予備的な血中グルコースレベルを補正する手段を含む。補正する手段は、患者の正しいグルコースレベルを決定するために、1つ以上の多変量分析方法論を使用することを含む。

- 定量化モデル -

本発明は、細胞または組織における成分を定量化するために有用であり、例えば、体内で組織中のグルコースレベルを定量化するために使用することができる。従って、本発明の1つの実施形態は、細胞サンプルまたは組織サンプルの成分を定量化する方法に関する。この方法は、緑色光～紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成する工程、サンプルに光を照射し、サンプルの刺激された放出線の強度を、励起光よりも低いエネルギーの少なくとも3つの異なる波長において、または励起光よりも低いエネルギーの多数の波長において測定する工程および多変量定量化モデルを使用することによって、細胞または組織の1つ以上の成分を測定された強度から定量化する工程を含む。緑色光～紫外光は、緑色～紫色の範囲の波長であり得るか、あるいは紫色～近紫外の範囲の波長であり得る。

【0021】

定量化される成分はグルコースまたは他の所望される成分であり得る。照射は体内または体外で行うことができる。

【0022】

好適な実施形態において、サンプルの成分を定量化する工程は少なくとも1つのスペクトルデータ前処理工程を含む。1つのそのような実施形態において、前処理工程は、そのスペクトル領域における1つのスペクトルバンドを分類するために使用される、波長を選択する工程、直線ベースラインを補正する工程、および異なる波長を囲むスペクトル領域を正規化する工程の少なくとも1つを含む。あるいは、前処理工程は、スペクトルの範囲全体を正規化する工程、データをフィルター処理または平滑化処理する工程、あるいは分析物により事前に類別化する工程の少なくとも1つを含む。

【0023】

多変量定量化は、偏最小二乗技術によって、または主成分回帰技術によって、または多重線形回帰、ステップワイズ線形回帰もしくはリッジ回帰の1つによって行うことができる。

【0024】

本発明の好適な実施形態において、サンプルの成分を定量化する工程は、測定された強度情報および少なくとも1つの多変量定量化モデルを使用する多変量アルゴリズムに基づいて行われる。多変量定量化モデルは、基準サンプルの集合と、基準サンプルの集合に緑色光～紫外光を照射し、刺激された放出線をモニタリングすることから得られる波長の関数としてのスペクトル強度の集合とから、従来からなされていたように、決定される細胞成分または組織成分の量の関数である。

【0025】

本発明の別の実施形態は、細胞サンプルまたは組織サンプルの成分を定量化する方法に関する。この方法は、中紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成すること、サンプルに上記光を照射し、サンプルの刺激された放出線の強度を、励起光よりも低いエネルギーの少なくとも3つ異なる波長において、

または励起光よりも低いエネルギーの多数の波長において測定すること、基準定量化結果に関連して、測定された波長における強度特性の関数としてサンプルの種々の成分を定量化する少なくとも1つの多変量定量化モデルを作製すること、定量化モデルに基づいて少なくとも3つの異なる波長における強度の多変量定量化を使用することによって、成分の量を測定された強度から計算すること、および上記多変量定量化モデルを使用することによって、成分を測定された強度から定量化することを含む。

【0026】

上記の実施形態に関して、サンプル成分は体外または体内で定量化することができる。分析され得る成分として、グルコースが挙げられる。

【0027】

好ましくは、サンプルの成分を定量化する工程は少なくとも1つのスペクトルデータ前処理工程を含む。前処理工程は、好ましくは、そのスペクトル領域における1つのスペクトルバンドを分類するために使用される、波長を選択する工程、直線ベースラインを補正する工程、および異なる波長を囲むスペクトル領域を正規化する工程の少なくとも1つを含む。あるいは、前処理工程は、スペクトルの範囲全体を正規化する工程、データをフィルター処理または平滑化処理する工程、あるいは分析物により事前に類別化する工程の少なくとも1つを含む。多変量定量化は、偏最小二乗技術によって、または主成分回帰技術によって、または多重線形回帰、ステップワイズ線形回帰もしくはリッジ回帰の1つによって行うことができる。

【0028】

好適な実施形態において、サンプルの成分を定量化する工程は、測定された強度情報および少なくとも1つの多変量定量化モデルを使用する多変量アルゴリズムによって行われ、多変量定量化モデルが、基準サンプルの集合と、基準サンプルの集合に緑色光～紫外光を照射し、刺激された放出線をモニタリングすることから得られる波長の関数としてのスペクトル強度の集合とから従来からなされていたように、決定される細胞成分または組織成分の量の関数である。

【0029】

本発明はまた、細胞サンプルまたは組織サンプルの1つ以上の成分を定量化するためのシステムに関する。このシステムは下記の手段を含む。すなわち、緑色光～紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成する手段、緑色光～紫外光の少なくとも一部をサンプルに誘導する手段、励起光がサンプルに相互作用した後の刺激された放出光の少なくとも一部を集める手段、集められた刺激された放出光の強度を少なくとも3つの異なる波長において測定する手段、測定された強度を波長の関数として類別化する手段であって、測定手段に結合した手段、既知の細胞サンプルまたは組織サンプルの成分の正しい定量化を示すデータを含有する少なくとも1つの多変量定量化モデルを類別化する手段、および測定された強度を類別化する手段およびモデルを類別化する手段に結合したプロセッサ手段であり、多変量定量化モデルおよび測定された強度の使用によって細胞サンプルまたは組織サンプルの成分の量を計算する手段として役立つプロセッサ手段である。

【0030】

本システムの1つの実施形態において、光を誘導する手段および光を集める手段は内視鏡を含む。あるいは、光を誘導する手段および光を集める手段は光ファイバー束を含むことができる。さらに、本システムは、異常値を決定する手段を含むことが可能である。

- 分類モデル -

また、本発明は、細胞サンプルまたは組織サンプルを分類するために使用することができる。例えば、1つのそのような実施形態は、細胞サンプルまたは組織サンプルを分類する方法に関する。この方法は下記の工程を含む。すなわち、緑色光～紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成する工程、サンプルに上記光を照射し、サンプルの刺激された放出線の強度を、励起光よりも低いエネルギーの少なくとも3つ異なる波長において、または励起光よりも低いエネルギーの多数の波長において測定する工程、および多変量分類モデルを使用することによって、測定された強度から、サンプルを2つ以上の細胞タイプまたは組織タイプの1つとして分類する工程である。

【0031】

緑色光～紫外光は、緑色～紫色の範囲の波長であり得るか、あるいは紫色～近紫外の範囲の波長であり得る。

【0032】

サンプルは、正常または異常として分類することができる。照射は体外または体内で行うことができる。

【0033】

好ましくは、サンプルを分類する工程は少なくとも1つのスペクトルデータ前処理工程を含む。例えば、前処理工程は、そのスペクトル領域における1つのスペクトルバンドを分類するために使用される、波長を選択する工程、直線ベースラインを補正する工程、および異なる波長を囲むスペクトル領域を正規化する工程の少なくとも1つを含むことができる。あるいは、前処理工程は、スペクトルの範囲全体を正規化する工程、データをフィルター処理または平滑化処理する工程、あるいは分析物により事前に類別化する工程の少なくとも1つを含むことができる。

【0034】

多変量分類は線形判別分析によって行うことができる。好ましくは、線形判別分析の前に、判別変数の数を制限する主成分分析工程が行われる。

【0035】

本方法の好適な実施形態において、サンプルを分類する工程は、測定された強度情報および少なくとも1つの多変量分類モデルを使用する多変量アルゴリズムによって行われ、多変量分類モデルが、基準サンプルの集合と、基準サンプルの集合に緑色光～紫外光を照射し、刺激された放出線をモニタリングすることから得られる波長の関数としてのスペクトル強度の集合とから従来からなされていたように、決定される細胞サンプルまたは組織サンプルのクラスの関数である。

【0036】

本発明の別の実施形態は、細胞サンプルまたは組織サンプルを分類する方法に関し、この方法は、中紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成すること、サンプルに上記光を照射し、サンプルの刺激された放出線の強度を、励起光よりも低いエネルギーの少なくとも3つの異なる波長において、または励

起光よりも低いエネルギーの多数の波長において測定すること、基準分類に関連して、測定された波長における強度特性の関数としてサンプルを分類する少なくとも1つの多変量分類モデルを作製すること、分類モデルに基づいて少なくとも3つの異なる波長における強度の多変量分類を使用することによって、サンプルの分類を測定された強度から計算すること、および上記多変量分類モデルを使用することによって、測定された強度から、サンプルを2つ以上の細胞タイプまたは組織タイプの1つとして分類することを含む。

【0037】

分類は体外または体内で行うことができる。サンプルは、正常または異常として分類することができる。好ましくは、サンプルを分類する工程は少なくとも1つのスペクトルデータ前処理工程を含む。例えば、前処理工程は、そのスペクトル領域における1つのスペクトルバンドを分類するために使用される、波長を選択する工程、直線ベースラインを補正する工程、および異なる波長を囲むスペクトル領域を正規化する工程の少なくとも1つを含むことができる。あるいは、前処理工程は、スペクトルの範囲全体を正規化する工程、データをフィルター処理または平滑化処理する工程、あるいは分析物により事前に類別化する工程の少なくとも1つを含むことができる。

【0038】

1つの実施形態において、多変量分類は線形判別分析技術によって行われる。本実施形態において、線形判別分析の前に、好ましくは、判別変数の数を制限する主成分分析工程が行われる。

【0039】

本方法の好適な実施形態において、サンプルを分類する工程は、測定された強度情報および少なくとも1つの多変量分類モデルを使用する多変量アルゴリズムによって行われ、多変量分類モデルが、基準サンプルの集合と、基準サンプルの集合に緑色光～紫外光を照射し、刺激された放出線をモニタリングすることから得られる波長の関数としてのスペクトル強度の集合とから従来からなされていたように、決定される細胞サンプルまたは組織サンプルのクラスの関数である。

【0040】

別の実施形態は、細胞サンプルまたは組織サンプルを分類するためのシステムに関する。このシステムは下記の手段を含む。すなわち、緑色光～紫外光の単一励起波長または多数の異なる励起波長を生成する手段、緑色光～紫外光の少なくとも一部をサンプルに誘導する手段、励起光がサンプルと相互作用した後の刺激された放出光の少なくとも一部を集める手段、集められた刺激された放出光の強度を少なくとも3つの異なる波長において測定する手段、測定された強度を波長の関数として類別化する手段であって、測定手段に結合した手段、既知の細胞サンプルまたは組織サンプルの正しい分類を示すデータを含有する少なくとも1つの多変量分類モデルを類別化する手段、および測定された強度を類別化する手段およびモデルを類別化する手段に結合したプロセッサ手段であって、多変量分類モデルおよび測定された強度の使用によって細胞サンプルまたは組織サンプルの分類を2つ以上の細胞または組織の1つとして計算する手段として役立つプロセッサ手段である。

【0041】

1つの実施形態において、光を誘導する手段および光を集める手段は内視鏡を含む。あるいは、光を誘導する手段および光を集める手段は光ファイバー束を含む。このシステムは、異常値を決定する手段をさらに含むことができる。

【0042】

上記の実施形態において、励起放射線を生成する手段は、任意のタイプの励起源であってもよく、好ましくは、キセノンアークランプ（ならびに適切なフィルターおよび/またはモノクロメーター）、多数のレーザーダイオードまたはLED、水銀ランプ、ハロゲンランプ、タングステンフィラメントランプ、またはそれらの任意の組合せであり得る。さらに、適切なフィルターおよび/またはモノクロメーターを加えることができる。

【0043】

光ファイバー束または内視鏡を使用することに加えて、放射線を誘導し、または集めるために好適な手段は、下記のいずれかを含むことができる。すなわち、液体の光ガイド、光学素子（ミラー、レンズなど）のシステム、個々の光ファイバーケーブル、プラスチック光学素子、石英光学素子、またはそれらの任意の組

合せである。

【0044】

上記の実施形態において、放射線の強度を測定するために好適な手段は、フォトダイオード、フォトダイオードアレイ、アバランスポトダイオード、LED、レーザーダイオード、電荷結合デバイス(CCD)検出器(アレイ型または単独型)、シリコン検出器、またはそれらの任意の組合せからなる群から選択することができる。好適な類別化手段は、コンピューター(ハードウェアおよびソフトウェア)、EPROM、プログラム化されたファームウェアなどであり得る。さらに、好適な処理手段は任意のタイプの既存のデジタル処理装置であり得る。

【0045】

本発明の他の実施形態および使用は、本明細書の検討および本明細書中に開示された本発明の実施から当業者には明らかになる。すべての米国特許ならびに外国特許および特許出願を含む本明細書中に引用されている参考文献はすべて、明示的および全体的に、それにより参考として本明細書中に組み込まれる。これには、米国特許出願第09/287,486号(発明の名称:非浸襲的な組織グルコースレベルのモニタリング、1999年4月6日出願)が含まれる。「伝達標準化による被験体間変動の減少」と題された米国特許出願、「不均一組織における空間的に平均化された励起-放出マップの作製」と題された米国特許出願、および「非浸襲的なグルコースレベルのモニタリング」と題された米国特許出願は、すべて本出願と同時期に出願されており、全体的および明示的に参考として組み込まれる。本明細書および様々な例は例示にすぎず、本発明の真の範囲および精神は、添付された請求項によって示されているものとする。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		Int. onal Application No PCT/US 01/05047
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61B5/00 G01N21/64		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61B G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 02956 A (CEDARS SINAI MEDICAL CENTER) 21 January 1999 (1999-01-21) page 1, line 4 -page 11 page 2, line 30 -page 3, line 11 page 19, line 24 -page 20, line 5 page 20, line 17 - line 20 page 20, line 27 - line 30 page 23, line 1 - line 22 page 26, line 21 - line 36 page 31, line 1 - line 7 page 34, line 24 -page 35, line 28 page 38, line 20 - line 25 page 39, line 3 - line 19 ----- -/--	1-57
<input checked="" 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 (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 7 September 2001		Date of mailing of the international search report 19/09/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Navas Montero, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No. PCT/US 01/05047

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WO 99 27848 A (ABBOTT LAB) 10 June 1999 (1999-06-10)</p> <p>page 5, line 22 - line 25 page 10, line 30 -page 11, line 8 page 11, line 28 -page 12, line 11 page 12, line 31 -page 13, line 5 page 24, line 30 -page 25, line 12</p>	<p>1-9, 13-28, 32-37, 41-47, 51-54</p>
Y	<p>US 5 341 805 A (STAVRIDIS MARIANO ET AL) 30 August 1994 (1994-08-30) column 1, line 41 -column 2, line 56</p>	1-57
Y	<p>WO 97 48331 A (MITCHELL MICHELE FOLLEN ;RAMANUJAM NIRMALA (US); RICHARDS KORTUM R) 24 December 1997 (1997-12-24) the whole document</p>	1-57

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. l. onal Application No

PCT/US 01/05047

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9902956 A	21-01-1999	US 6124597 A	26-09-2000
		AU 7830698 A	08-02-1999
		EP 0995095 A	26-04-2000
WO 9927848 A	10-06-1999	US 6070093 A	30-05-2000
		EP 1037554 A	27-09-2000
US 5341805 A	30-08-1994	AT 164008 T	15-03-1998
		DE 69408976 D	16-04-1998
		DE 69408976 T	09-07-1998
		DK 694165 T	02-06-1998
		EP 0694165 A	31-01-1996
		ES 2113098 T	16-04-1998
		GR 3026579 T	31-07-1998
		IL 109231 A	14-11-1996
		JP 8510321 T	29-10-1996
		WO 9423284 A	13-10-1994
WO 9748331 A	24-12-1997	US 6258576 B	10-07-2001
		AU 3495997 A	07-01-1998
		EP 0915674 A	19-05-1999
		JP 2001501727 T	06-02-2001

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

(72)発明者 ジェニー・イー・フリーマン
 アメリカ合衆国 02493 マサチューセツ
 ツ州 ウェストン コンコードロード
 405

Fターム(参考) 2G043 AA03 BA16 EA01 FA06 FA07
 HA01 HA02 HA05 JA01 JA02
 KA02 KA03 KA09 LA01 LA03
 NA01 NA02 NA06 NA13
 2G045 CB01 DA31 FA29 JA01
 2G059 AA05 BB12 CC16 EE07 EE12
 FF08 GG01 GG02 GG10 HH02
 HH03 JJ01 JJ02 JJ11 JJ13
 JJ17 MM01 MM05 MM13 MM17
 4C038 KK10 KL01 KL05 KL07 KM00
 KX02

