

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-515473

(P2005-515473A)

(43) 公表日 平成17年5月26日(2005.5.26)

(51) Int.Cl.⁷

GO 1 N 21/27
A 6 1 B 1/00
A 6 1 B 10/00
GO 1 B 11/02
GO 1 N 15/02

F I

GO 1 N 21/27
A 6 1 B 1/00
A 6 1 B 10/00
GO 1 B 11/02
GO 1 N 15/02

B
3 O O D
E
Z
A

テーマコード (参考)

2 F 0 6 5
2 G 0 4 3
2 G 0 5 9
4 C 0 6 1

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 54 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-562614 (P2003-562614)
(86) (22) 出願日 平成15年1月17日 (2003. 1. 17)
(85) 翻訳文提出日 平成16年9月15日 (2004. 9. 15)
(86) 国際出願番号 PCT/US2003/001612
(87) 国際公開番号 W02003/062799
(87) 国際公開日 平成15年7月31日 (2003. 7. 31)
(31) 優先権主張番号 60/349, 958
(32) 優先日 平成14年1月18日 (2002. 1. 18)
(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 504275993
ニュートン・ラボラトリーズ・インコーポ
レーテッド
アメリカ合衆国マサチューセッツ州0180
1-2122 ウォバーン・カミングズパー
ク23

(74) 代理人 100060782

弁理士 小田島 平吉

(72) 発明者
ファルガム, スチーブン・エフ, ジュニア
アメリカ合衆国マサチューセッツ州0194
5-1250 マーブルヘッド・ドリフトウ
ッドロード9

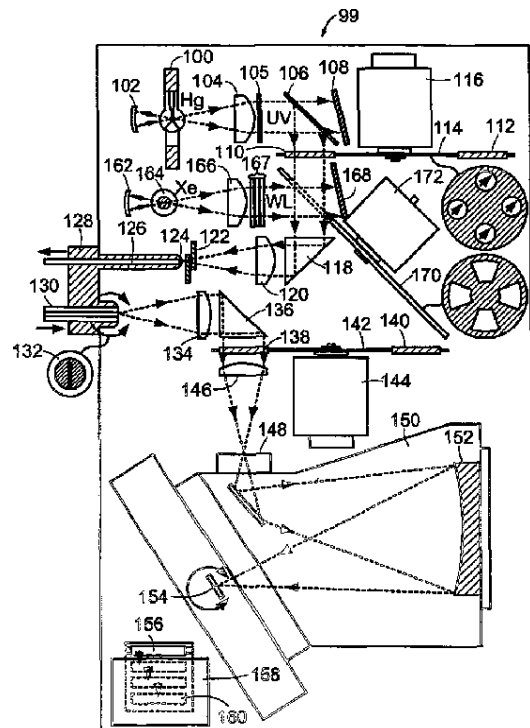
Fターム(参考) 2F065 AA26 CC16 GG03 JJ26 LL00
LL02 LL03 LL20 LL22 LL28
LL33 QQ18

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分光診断方法とシステム

(57) 【要約】

本発明は光散乱分光法を用いて材料の構造化された表面層の物理的特性の決定用のシステムと方法を提供する。該光散乱分光システムは現在の内視鏡自身への変型無しに該内視鏡と共に使用され得る光学プローブを含む。該システムは器官の上皮層内の細胞核の寸法分布の様な物理的特性を検出するため光学的及び計算的方法の組み合わせを用いる。該光散乱分光システムは単独でも、或いは、蛍光分光法及び反射光分光法の様な、他の技術と連携しても使用出来る。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

光散乱分光システムに於いて、該分光システムが
照明光ファイバーと、
プローブ軸線に対し第 1 角度に配向された第 1 収集光ファイバーと、そして
該プローブ軸線ステイタスに対し、該第 1 角度と異なる第 2 角度で配向された第 2 収集光ファイバーと、そして
偏光子とを備える
光学プローブと、
該照明光ファイバーに光学的に接続された光源と、
該第 1 収集光ファイバー及び第 2 収集光ファイバーに光学的に接続された検出器システムと、を具備しており、該検出器システムは該第 1 又は第 2 収集ファイバーの少なくとも 1 つにより該検出器システムへ送信された光からスペクトルを発生しており、そして該分光システムが又
該検出器システムと通信するデータプロセッサを具備することを特徴とする該分光システム。

10

【請求項 2】

該光学プローブが更に該光源と光学的に接続された 1 つ以上の励起照明光ファイバーを備えることを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 3】

該照明光ファイバーが修正ブロードバンド照明を送り、該 1 つ以上の励起照明光ファイバーが約 300 nm から約 460 nm までの範囲の波長を有する光を送ることを特徴とする請求項 2 の該分光システム。

20

【請求項 4】

該光学プローブが
該光源に光学的に接続され、約 300 nm から約 460 nm までの範囲の第 1 波長の光を送るよう適合された第 1 照明光ファイバーと、そして
該光源に光学的に接続され、約 300 nm から約 460 nm までの範囲の第 2 波長の光を送信するよう適合された第 2 照明光ファイバーと、を備えており、光の該第 2 波長は光の該第 1 波長と異なることを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

30

【請求項 5】

約 300 nm から約 460 nm の範囲の第 1 波長の光に応答して放射される光と約 300 nm から約 460 nm の範囲の第 2 波長の光に応答して放射される光とが、該第 2 波長の光は該第 1 波長の光と異っており、別々の収集光ファイバーを通して送られることを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 6】

該光学プローブが更に該検出器システムに光学的に接続された 1 つ以上の放射された光の収集光ファイバーを備えることを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 7】

該 1 つ以上の放射された光の収集光ファイバーの 1 つ以上が約 335 nm から約 700 nm までの波長範囲の光を送ることを特徴とする請求項 6 の該システム。

40

【請求項 8】

該光学プローブが更に第 2 偏光子を備えることを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 9】

該光学プローブが少なくとも 2 つの偏光子を備えており、1 つの偏光子の偏波軸線がもう 1 つの偏光子の偏波軸線と実質的に直交していることを特徴とする請求項 8 の該分光システム。

【請求項 10】

該収集光ファイバーが該検出器システムと光学的に接続された近位の端部と、遠位の端

50

部と、を有しており、1つ以上の偏光子が該遠位の端部に位置付けられることを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項11】

該光源が水銀ランプを備えることを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項12】

該光源がキセノンランプを備えることを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項13】

該光源が1つ以上のレーザーダイオードを備えることを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項14】

該光源が

約380nmから約460nmまでの範囲内の波長を有する光を放射する第1レーザーダイオードと、そして

約630nmから約670nmまでの範囲内の波長を有する光を放射する第2レーザーダイオードと備えることを特徴とする請求項13の該分光システム。

【請求項15】

更に約500nmから約550nmまでの範囲内の波長を有する光を放射する第3レーザーダイオードを具備することを特徴とする請求項14の該分光システム。

【請求項16】

該検出器システムが電荷結合デバイスを備えることを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項17】

該検出器システムがホログラフィックグレーティングを備えることを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項18】

該検出器システムが位相拘束されたシャッターを備えることを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項19】

該データプロセサーが、該検出器システムにより発生された1つ以上のスペクトルに少なくとも部分的に基づいて粒子特性を決定するインストラクションを記憶することを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項20】

該粒子特性が粒子寸法分布であることを特徴とする請求項19の該分光システム。

【請求項21】

該データプロセサーが、該照明光の偏波面に直角に偏波された光を収集するよう配向された収集光ファイバーから取得したスペクトルから、該照明光の偏波面に平行に偏波された光を収集するよう配向された収集光ファイバーから取得されたスペクトルを、引き算するインストラクションを記憶することを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項22】

該検出器システムがピクセレートされた画像センサーを備えることを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項23】

該データプロセサーが該照明ファイバーで照明された組織の物理的特性を決定するために、検出された光の周期的成分を波長の関数として決定することを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項24】

該検出器が光散乱スペクトル、反射スペクトルそして蛍光スペクトルの1つ以上を検出することを特徴とする請求項1の該分光システム。

【請求項25】

該プロセサーが該組織内の細胞核寸法分布を決定することを特徴とする請求項1の該分

10

20

30

40

50

光システム。

【請求項 26】

更にフィルターホイールを具備することを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 27】

更にシャッターホイールを具備することを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 28】

複数の励起ファイバーと、反射収集ファイバー上の複数の蛍光収集ファイバーとを備えることを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 29】

該データプロセサーが、差のスペクトルを得るために、第 1 の収集された偏波成分と第 2 の収集された偏波成分とを処理することを特徴とする請求項 1 の該分光システム。 10

【請求項 30】

更に該収集ファイバーと該照明ファイバーとを保持するリテーナーを具備することを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 31】

該プロセサーがフーリエ変換で周波数スペクトルを決定することを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 32】

該光源が、第 1 周波数を放射する第 1 エミッターと、第 2 周波数を放射する第 2 エミッターとそして第 3 周波数を放射する第 3 エミッターとを、該エミッターが白色光源として動作することが出来るように、備えることを特徴とする請求項 1 の該分光システム。 20

【請求項 33】

該光源が校正光源を備えることを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 34】

該データプロセサーが形成異常又は癌性組織から正常なものを決定することを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 35】

更に、該プローブの遠位の端部の画像形成用検出器と、追加的光ファイバー又はファイバー束で該プローブの遠位の端部に光学的に接続された蛍光スペクトロメーターと、を具備することを特徴とする請求項 2 の該分光システム。 30

【請求項 36】

該光源が第 1 レーザーダイオード、第 2 レーザーダイオードそして白色光源を備えることを特徴とする請求項 35 の該分光システム。

【請求項 37】

更に、二またに分かれた照明ファイバー束を具備することを特徴とする請求項 35 の該分光システム。

【請求項 38】

更に照明光路上の第 1 フィルターホイールと収集光路上の第 2 フィルターホイールとを具備しており、該第 1 ホイールと第 2 ホイールはアクチュエーターにより制御されることを特徴とする請求項 1 の該分光システム。 40

【請求項 39】

該偏光子がポリッシュされたファイバーリテーナー面と遠位の窓の間に位置付けられた 1 つ以上の薄膜を有することを特徴とする請求項 1 の該分光システム。

【請求項 40】

光学プローブに於いて、該プローブが

近位と遠位との端部を備えたプローブハウジングを具備しており、該プローブハウジングの該近位の端部は光源への光学的接続用に適合しており、該プローブは又

前記ハウジング内に位置付けられた少なくとも 1 つの内部光ファイバーの周りに位置付けられた複数の光ファイバーを具備しており、該光ファイバーはポリッシュされた遠位の面とリテーナーモジュールを形成するために前記光ファイバーの該遠位の端部と一緒にバイ 50

ンドされており、該プローブは更に、
少なくとも1つの偏光子と、そして

前記プローブハウジングの該遠位の端部を囲む光学的遮蔽部とを具備しており、該光学的遮蔽部は該リテーナーモジュールの遠位に位置付けられ、該光学的プローブ用の光透過用囲いを提供するように適合されており、該光学的遮蔽部の該遠位の表面は表面との接触用に好適であることを特徴とする該プローブ。

【請求項41】

該光ファイバーの該遠位の端部が配列に接合されることを特徴とする請求項40の該光学プローブ。

【請求項42】

該リテーナーモジュールが該光ファイバーを配列内に接合する接着剤を有することを特徴とする請求項40の該光学プローブ。

【請求項43】

該複数の光ファイバーが該少なくとも1つの内部光ファイバーの1つの長手軸線の周りで円形配列内に一緒にバインドされることを特徴とする請求項40の該光学プローブ。

【請求項44】

該複数の光ファイバーの該長手軸線は該少なくとも1つの内部光ファイバーの1つの長手軸線に対し約2度から約6度の範囲内の角度にあることを特徴とする請求項40の該光学プローブ。

【請求項45】

該少なくとも1つの内部光ファイバーがテーパー付けられたプラグ内の軸方向孔により該プローブハウジングの長手軸線上に保持されることを特徴とする請求項40の該光学プローブ。

【請求項46】

該少なくとも1つの内部光ファイバーの周りに位置付けられた該複数の光ファイバーが該プローブハウジング内のテーパー付けられたボアにより該少なくとも1つの内部光ファイバーの1つの長手軸線に対し約2度から約6度の範囲内の角度で保持されることを特徴とする請求項40の該光学プローブ。

【請求項47】

組織の層内の構造の特性を決定するためにスペクトルデータを解析する方法に於いて、
該方法が

複数の波長の該組織からの蛍光及び反射光を収集し、該収集された光を検出する光収集システムを提供する過程と、

該検出光から波長の関数として蛍光表現及び散乱光表現を形成する過程と、そして

該蛍光表現及び該散乱光表現を用いて該組織層の構造の特性を決定する過程とを具備することを特徴とする該方法。

【請求項48】

更に反射表現を形成する過程を具備することを特徴とする請求項40の該方法。

【請求項49】

組織層の特性を決定する方法に於いて、該方法が

偏光を該組織層の目的とする領域上に向ける過程と、

該目的組織の領域から後方散乱された光を第1角度に配置された第1収集光ファイバーで取得する過程と、

該目的組織の領域から後方散乱された光を該第1角度と異なる第2角度に配置された第2収集光ファイバーで取得する過程と、そして

該第1収集光ファイバー及び該第2収集光ファイバーの両者により取得された該光に少なくとも部分的に基づき該目的とする領域の特性を決定する過程とを具備することを特徴とする該方法。

【請求項50】

該組織層が上皮層を含んでおり、該特性を決定する過程が該上皮層の特性を決定する過

10

20

30

40

50

程を含むことを特徴とする請求項 49 の該方法。

【請求項 51】

該組織層特性が該目的領域内の構造の寸法を含むことを特徴とする請求項 49 の該方法。

【請求項 52】

該構造が該目的領域内の該上皮細胞の核であることを特徴とする請求項 51 の該方法。

【請求項 53】

更に、

第 1 励起光を該目的領域上に向ける過程と、そして

第 3 収集光ファイバーを用いて該第 1 励起光に応答する該目的領域からの第 1 蛍光を取得する過程と、

該第 1 収集光ファイバー、第 2 収集光ファイバー、そして第 3 収集光ファイバーにより取得された該光に少なくとも部分的に基づき該目的領域の特性を決定する過程と、を具備することを特徴とする請求項 49 の該方法。

【請求項 54】

更に、

第 2 励起光を該目的領域上に向ける過程と、

第 4 収集光ファイバーを用いて該第 2 励起光に応答する該組織からの第 2 蛍光を取得する過程と、

該第 1 収集光ファイバー、該第 2 収集光ファイバー、該第 3 収集光ファイバー、そして該第 4 収集光ファイバーにより取得された該光に少なくとも部分的に基づき該目的領域の特性を決定する過程と、を具備することを特徴とする請求項 53 の該方法。

【請求項 55】

該組織特性を決定する該過程が、

該第 1 収集光ファイバー及び該第 2 収集光ファイバーの両者により取得された該光からの後方散乱スペクトルを発生する過程と、

該後方散乱スペクトルに少なくとも部分的に基づき該目的領域の特性を決定する過程とを備えることを特徴とする請求項 49 の該方法。

【請求項 56】

該組織特性を決定する該過程が、

該第 1 励起光に応答して該組織から取得された該光から第 1 蛍光スペクトルを発生させる過程と、そして

該第 1 蛍光スペクトルに少なくとも部分的に基づき該組織の特性を決定する過程とを備えることを特徴とする請求項 53 の該方法。

【請求項 57】

特徴的な組織を決定する該過程が

該第 1 励起光に応答して該組織から取得された該光から第 1 蛍光スペクトルを発生させる過程と、

該第 2 励起光に応答して該組織から取得された該光から第 2 蛍光スペクトルを発生させる過程と、

該第 1 収集光ファイバー及び該第 2 収集光ファイバーの両者により取得された該光から後方散乱スペクトルを発生させる過程と、

該第 1 収集光ファイバー及び該第 2 収集光ファイバーの両者により取得される該光から反射スペクトルを発生させる過程と、

該第 1 蛍光スペクトル、該第 2 蛍光スペクトル、該後方散乱スペクトルそして該反射スペクトルに少なくとも部分的に基づき該目的領域の特性を決定する過程とを備えることを特徴とする請求項 54 の該方法。

【請求項 58】

該組織特性が組織形成異常を含むことを特徴とする請求項 56 の該方法。

【請求項 59】

10

20

30

40

50

該組織特性が組織形成異常を含むことを特徴とする請求項 57 の該方法。

【請求項 60】

該目的領域の特性を該決定する過程が該反射スペクトルを用いて該第 1 蛍光スペクトル及び第 2 蛍光スペクトルの少なくとも 1 つを修正することにより固有蛍光スペクトルを決定する過程を有することを特徴とする請求項 57 の該方法。

【請求項 61】

光散乱分光システムに於いて、該分光システムが
照明光ファイバーと、
プローブ軸線に対し第 1 角度で配向された第 1 収集光ファイバーと、そして
該プローブ軸線ステータスに対し、該第 1 角度と異なる第 2 角度で配向された第 2 収集光ファイバーと、そして
偏光子とを備える
光学プローブと、
該照明光ファイバーに光学的に接続された光源と、
該第 1 収集光ファイバー及び第 2 収集光ファイバーに光学的に接続された検出器システムとを具備しており、該検出器システムが該第 1 又は第 2 収集ファイバーの少なくとも 1 つにより該検出器システムへ送られた光からスペクトルを発生することを特徴とする該分光システム。

【請求項 62】

更に、該検出器システムと通信するデータプロセッサを具備しており、該データプロセッサが該スペクトルを解析出来ることを特徴とする請求項 61 の該分光システム。

【請求項 63】

更に、該データプロセッサと通信するディスプレイを具備することを特徴とする請求項 62 の該分光システム。

【請求項 64】

該光学プローブが更に、該光源に光学的に接続された 1 つ以上の励起照明光ファイバーを備えることを特徴とする請求項 61 の該分光システム。

【請求項 65】

該照明光ファイバーが修正ブロードバンド照明を送り、該 1 つ以上の励起照明光ファイバーが約 300 nm から約 460 nm までの範囲内の波長を有する光を送ることを特徴とする請求項 64 の該分光システム。

【請求項 66】

該光学プローブが、
該光源に光学的に接続され、約 300 nm から約 460 nm までの範囲内の第 1 波長の光を送るよう適合された第 1 照明光ファイバーと、そして
該光源に光学的に接続され、約 300 nm から約 460 nm までの範囲内の第 2 波長の光を送るよう適合された第 2 照明光ファイバーとを備えており、該光の第 2 波長は該光の第 1 波長と異なることを特徴とする請求項 61 の該分光システム。

【請求項 67】

約 300 nm から約 460 nm までの範囲内の第 1 波長の光に応答して放射される光と約 300 nm から約 460 nm までの範囲内の第 2 波長の光に応答して放射される光とが、該光の第 2 波長は該光の第 1 波長と異っており、別々の収集光ファイバーを通して送られることを特徴とする請求項 61 の該分光システム。

【請求項 68】

該光学プローブが更に該検出器システムに光学的に接続された 1 つ以上の放射された光の収集光ファイバーを備えることを特徴とする請求項 61 の該分光システム。

【請求項 69】

該 1 つ以上の放射された光の収集光ファイバーの 1 つ以上が約 335 nm から約 700 nm までの該波長範囲内の光を送ることを特徴とする請求項 68 の該分光システム。

【請求項 70】

該光学プローブが更に第2偏光子を備えることを特徴とする請求項61の該分光システム。

【請求項71】

該光学プローブが少なくとも2つの偏光子を備えており、1つの偏光子の偏波軸線はもう1つの偏光子の偏波軸線と実質的に直交していることを特徴とする請求項70の該分光システム。

【請求項72】

該収集光ファイバーが該検出器システムに光学的に接続された近位の端部と、遠位の端部と、を有しており、1つ以上の偏光子が該遠位の端部に位置付けられることを特徴とする請求項61の該分光システム。

10

【請求項73】

該光源が水銀ランプを備えることを特徴とする請求項61の該分光システム。

【請求項74】

該光源がキセノンランプを備えることを特徴とする請求項61の該分光システム。

【請求項75】

該光源が1つ以上のレーザーダイオードを備えることを特徴とする請求項61の該分光システム。

【請求項76】

該光源が、

約380nmから約460nmまでの範囲内の波長を有する光を放射する第1レーザーダイオードと、そして

20

約630nmから約670nmまでの範囲内の波長を有する光を放射する第2レーザーダイオードとを備えることを特徴とする請求項75の該分光システム。

【請求項77】

更に、約500nmから約550nmまでの範囲内の波長を有する光を放射する第3レーザーダイオードを具備することを特徴とする請求項76の該分光システム。

【請求項78】

該検出器システムが電荷結合デバイスを備えることを特徴とする請求項61の該分光システム。

【請求項79】

30

該検出器システムがホログラフィックグレーティングを備えることを特徴とする請求項61の該分光システム。

【請求項80】

該検出器システムが位相拘束されたシャッターを備えることを特徴とする請求項61の該分光システム。

【請求項81】

該データプロセッサが該検出器システムにより発生された1つ以上のスペクトルに少なくとも部分的に基づき粒子特性を決定するインストラクションを記憶することを特徴とする請求項62の該分光システム。

【請求項82】

40

該粒子特性が粒子寸法分布であることを特徴とする請求項81の該分光システム。

【請求項83】

該データプロセッサが、該照明光の偏波面に平行に偏波された光を収集するよう配向された収集光ファイバーから取得されたスペクトルを、該照明光の該偏波面に直角に偏波された光を収集するよう配向された収集光ファイバーから取得したスペクトルから、引き算するインストラクションを記憶することを特徴とする請求項62の該分光システム。

【請求項84】

該検出器システムがピクセレートされた画像センサーを備えることを特徴とする請求項61の該分光システム。

【請求項85】

50

該データプロセサーが該照明ファイバーで照明された組織の物理的特性を決定するために、検出された光の周期的成分を波長の関数として決定することを特徴とする請求項 6 2 の該分光システム。

【請求項 8 6】

該検出器が光散乱スペクトル、反射スペクトルそして蛍光スペクトルの 1 つ以上を検出することを特徴とする請求項 6 1 の該分光システム。

【請求項 8 7】

該プロセサーが該組織内の細胞核寸法分布を決定することを特徴とする請求項 6 1 の該分光システム。

【請求項 8 8】

更にフィルターホイールを具備することを特徴とする請求項 6 1 の該分光システム。

【請求項 8 9】

更にシャッターホイールを具備することを特徴とする請求項 6 1 の該分光システム。

【請求項 9 0】

複数の励起ファイバーと、反射収集ファイバー上の複数の蛍光収集ファイバーとを有することを特徴とする請求項 6 1 の該分光システム。

【請求項 9 1】

該データプロセサーが差スペクトルを得るために第 1 の収集された偏波成分と第 2 の収集された偏波成分とを処理することを特徴とする請求項 6 2 の該分光システム。

【請求項 9 2】

更に該収集ファイバー及び該照明ファイバーを保持するリテーナーを具備することを特徴とする請求項 6 1 の該分光システム。

【請求項 9 3】

該データプロセサーがフーリエ変換で周波数スペクトルを決定することを特徴とする請求項 6 2 の該分光システム。

【請求項 9 4】

該光源が第 1 周波数で放射する第 1 エミッター、第 2 周波数で放射する第 2 エミッターそして第 3 周波数での第 3 エミッターを、該エミッターが白色光源として動作することが出来るよう、備えることを特徴とする請求項 6 1 の該分光システム。

【請求項 9 5】

該光源が校正光源を備えることを特徴とする請求項 6 1 の該分光システム。

【請求項 9 6】

該データプロセサーが形成異常又は癌性組織から正常なものを決定することを特徴とする請求項 6 2 の該分光システム。

【請求項 9 7】

更に、該プローブの遠位の端部の画像形成検出器と、追加的光ファイバー又はファイバー束を用いて該プローブの遠位の端部に光学的に接続された蛍光スペクトロメーターと、を具備することを特徴とする請求項 6 4 の該分光システム。

【請求項 9 8】

該光源が第 1 レーザーダイオード、第 2 レーザーダイオードそして白色光源を備えることを特徴とする請求項 9 7 の該分光システム。

【請求項 9 9】

更に、二またに分かれた照明ファイバー束を具備することを特徴とする請求項 9 7 の該分光システム。

【請求項 1 0 0】

更に、照明光路上の第 1 フィルターホイール及び収集光路上の第 2 フィルターホイールを具備しており、該第 1 ホイール及び該第 2 ホイールはアクチュエーターにより制御されることを特徴とする請求項 6 1 の該分光システム。

【請求項 1 0 1】

該偏光子がポリッシされたファイバーリテーナー表面と遠位の窓の間に位置付けられた

10

20

30

40

50

1 つ以上の薄膜を有することを特徴とする請求項 6 1 の該分光システム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は 2002 年 1 月 18 日に提出された米国特許仮出願第 60 / 349,958 号の特典と優先権を請求する。上記出願の全内容はその全体で引用によりここに組み入れられる。

【0002】

顕微鏡の対象の表面層の特性を下にある構造体の影響から比較的自由に特徴付ける定量的情報を得ることが屢々必要になる。光散乱分光法 (Light-scattering spectroscopy) { エルエスエス (LSS) } は望まれる情報を提供する 1 つの技術である。1 つのこのような応用は表面又は身体器官をカバーする上皮層 (epithelial layer) 内の細胞の前癌状態 (precancerous condition) をモニターすることである。細胞間構造体 (intercellular structures) 内の定量的変化を元の位置で測定する能力は癌又は前癌患部の早期診断用の機会を提供する。全ての癌の 90% より多くは元は上皮性である。大抵の上皮の癌は核異型性 (nuclear atypia) 及び形成異常 (dysplasia) により特徴付けられる。この段階で検出された患部は早期診断で根治 (eradicated) させられ得る可能性がある。しかしながら、多くの形式の異型性及び形成異常は平らで視覚的に観察されない。かくして、不可視の形成異常用のサーベイランス (surveillance) はランダムな生検 (biopsy) を使い、該生検材料の病理学者 (pathologist) による顕微鏡検査により引き継がれる。しかしながら、通常形成異常についてのリスクに際しての上皮面の小部分のみがこの仕方ですべて、高いサンプリングエラーに帰着する可能性がある。

【0003】

身体表面は上皮組織の薄い層で覆われる。種々の器官の上皮の厚さは簡単な鱗状上皮 (squamous epithelia) (上皮細胞の 1 枚の層を有する) での $10\text{ }\mu\text{m}$ より少ないものから上皮細胞の多数層を有する層状上皮 (stratified epithelia) での数百 μm までに及ぶ。全ての上皮の下には、比較的ハイポセルラー (hypocellular) な結合組織 (connective tissue)、炎症性細胞 (inflammatory cells)、そして神経血管構造体 (neurovascular) を含む支持要素の変層がある。

【0004】

例えば、胃腸管 (gastrointestinal tract) の様な中空の器官内で、上皮細胞層は該管の部分により、 $20\text{ }\mu\text{m}$ から $300\text{ }\mu\text{m}$ の厚さである。該上皮の下に比較的無細胞 (acellular) で高く脈管性の緩く結合性の組織、粘膜固有層 (lamina propria) があり、それは厚さで $500\text{ }\mu\text{m}$ までであり、コラーゲンと弾性繊維のネットワーク、そして種々の白血球型を含んでいる。該粘膜固有層の下に ($400\text{ }\mu\text{m}$ 厚さまでの) 筋肉層、粘膜筋板 (muscularis mucosae)、そしてその下に、多くの小血液器官と豊富なコラーゲン及び弾性繊維を含む中程度に密度のある結合組織の、約 $400 - 600\text{ }\mu\text{m}$ 厚さの、粘膜下組織 (submucosa) と呼ばれる、もう 1 つの層がある。それらの層の全体の厚さは約 1 mm である。光学的放射の生物学的組織内への特性的貫入深さは通常 1 mm を越えないので、好ましい実施例用には、組織の測定をそれらの層により限定することは充分である。

【0005】

該上皮を横断する光は、周囲の細胞質 (cytoplasm) のそれより大きい屈折率を有する、ミトコンドリア (mitochondria) 及び核 (nuclei) の様な、種々の寸法の細胞小器官 (cell organelles) により散乱され得る。光の細胞による弾性的散乱は、ミトコンドリア、種々のエンドソーム (endosomes) 及び他の細胞質的な小胞 (vesicles)、核小体 (nucleoli)、そして核、を含む、種々の細胞間小器官による。より小さい小器官は大きな角度の散乱に責任があるが、核は小さな角度での散乱に寄与する。

【0006】

細胞核は光学的波長より可成り大きい (典型的には $0.5\text{ }\mu\text{m}$ に比較して $5 - 10\text{ }\mu\text{m}$)

）。それらは光を進行方向に散乱し、後方方向にも、同様に可成りの散乱がある。該後方散乱光は波長依存の振動的な成分を有する。この成分の周期性は核の寸法と共に増大し、その振幅は該上皮核の細胞充実性すなわち母集団密度 (population density) に関係する。この振動成分の周波数と振幅を解析することにより、上皮核の寸法分布と密度が抽出され得る。

【 0 0 0 7 】

形成異常に付随する上皮細胞核の変化を検出するために、上皮層から反射される光は下にある組織から反射される光から区別されねばならない。上記で注意した様に、組織内の貫入深さは上皮厚さを実質的に越えるので、上皮核から後方散乱される光は普通振幅が非常に小さく、それは下にある組織から反射される光の拡散背景 (diffuse background) により容易にマスクされる。この拡散背景反射光 (diffuse background reflected light) は、該後方散乱される成分を解析するために除去されねばならない。

10

【 0 0 0 8 】

以前の取り組みは該背景の一般的なスペクトルの特徴をモデル化することにより該拡散背景反射光を除去することを求めて来た。しかしながら、この取り組みは各々の異なる種類の研究される組織に特定の適合されねばならず、その精度は理論に左右される。エルエスエスの使用を種々の医学的応用へ拡張するためには、散乱光の拡散成分を除去するか又は可成り減じるより強固な方法が必要である。

【 0 0 0 9 】

種々の形式の上皮形成異常は顕微鏡的検査で或る共通の形態学的変化 (morphological change) を示し、その最も顕著なものは核形態 (nuclear morphology) と関係する。該核は拡大され、多形態性 (pleomorphic) (輪郭及び寸法分布が不規則) で、" 込みあって (crowded) " (それらは組織容積のより多くを占める)、そして高色素性 (hyperchromatic) (それらは核ステインでより強く染みが付く) になる。非形成異常細胞核の直径は典型的に 5 - 10 μm であるが、形成異常核は差し渡しで 20 μm 程に大きくなり得る。

20

【 0 0 1 0 】

上皮細胞核は、可視光の波長 (0.4 - 0.8 μm) に比較して大きく、その屈折率がそれらの染色質 (chromatin) 含有量のために周囲細胞質のそれより高い、透明球体としてモデル化され得る。これらの粒子により後方散乱される光のスペクトラムは波長で特性的に変化する成分を含み、この変化は粒子寸法と屈折率に左右される。

30

【 0 0 1 1 】

上皮細胞核から散乱する光は偏光を使用して分離され得る。偏光は生物学的組織の様な混濁した媒体 (turbid medium) を横断する時その偏波 (polarization) を失うことが知られている。対照的に、1つの散乱イベントの後後方散乱された偏光はその偏波を失わない。偏光のこの性質は表面及び表面に近い生物学的組織を画像形成するため前に使用されて来た。かくして、散乱光の非偏波スペクトル成分を差し引く (subtracting) ことにより、上皮細胞核からの後方散乱により散乱する光の部分は容易に区別され得る。差のスペクトラムは更に、核の寸法分布、それらの母集団密度、そしてそれらの周囲媒体に対する屈折率を抽出するために解析され得る。

40

【 0 0 1 2 】

多くの上皮癌は、それらが組織侵入前の状態 (per-invasive state) で診断されるならば治療可能であるが、早期の患部は殆ど検出不可能なことが多い。それらが侵襲性になる前に、元の位置で形成異常及びカルシノマ (carcinoma) として知られる段階で、早期の癌細胞は上皮細胞アーキテクチャーを変える。特に、該核は拡大され、込みあいそして高色素性、すなわち造影染料 (contrast dye) で異常に暗く染まる。これらの組織侵入前の兆候は生検標本の組織検査により検出可能であったが、形成異常を生体内で診断する信頼性のある光学的技術は入手可能でない。光散乱分光法 (Light-scattering spectroscopy) { エルエスエス (LSS) } は上皮細胞核の寸法分布とクロマチン含有量 (chromatin content) を組織侵入前の新形成 (neoplasia) のインディケータとして測定する生検不要の手段を提供出来る。

50

【 0 0 1 3 】

種々の寸法の核の収集 (collection) 用では、光散乱信号はこれらの変化 (variations) の重畳であり、該核寸法分布と屈折率を該核から後方散乱された光のスペクトラムから決定することを可能にする。一旦該核寸法分布と屈折率とが既知となると、核の拡大、込み合いそして過染色性 (hyperchromasia) の定量的測定が得られ得る。

【 0 0 1 4 】

バレット食道 (Barrett's esophagus) は胃内容物の食道内への慢性の環流を有する患者の約 10 - 20 % で起こる前癌の状態である。バレット食道を示す人々は胸焼け、消化不良、固形食えん下困難、又は彼等を眠りから目覚めさせる夜行性吐き戻しの兆候を有する。バレット食道を有する患者は食道腺癌にかかる増大したリスクを有し、米国では最も急激に癌を増大させている。

10

【 0 0 1 5 】

この様な慢性胃腸環流 (chronic gastrointesinal reflux) の余病として、該食道の化性円柱上皮細胞 (metaplastic columnar epithelial cells) 内に食道の腺癌 (Adenocarcinoma) が生じる。この状態では、遠位の鱗状上皮は腸内で見出されるそれに似た単細胞層から成る円柱上皮により置き換えられる。バレット食道は屢々形成異常に付随し、それは後に癌に進み得る。バレット食道を有する患者の内視鏡サーベイランスの試みは食道癌死亡率の減少に帰着しなかった。最もありそうな説明は、該食道内で起こる形成異常が標準的内視鏡画像形成で見られず、散発的な生検サンプリングが必要と言うことである。この手順は危険な組織の約 0.3 % をサンプルすることしか出来ない。かくしてサンプリングエラーの大きな可能性がある。

20

【 0 0 1 6 】

バレット食道の形成異常を診断するための光学的技術の応用は該組織内の第 1 の変化が 1 つの細胞の厚さ (~ 20 - 30 μm) である上皮で起こる一方、蛍光又は反射スペクトルは大抵より深い組織層で形成される事実により制限される。形成異常の上皮の最も傑出した特徴の 1 つは拡大し、高色素性で、そして込み合った核の存在である。事実、核の寸法及び空間分布のこれらの変化は組織標本を形成異常であると診断するために病理学者により使用される主なマーカー (markers) である。他の組織層内には重要な変化は観察されない。生憎、上皮は強い吸収体 (absorbers) 又はフルオロフォア (fluorophores) を含まず、該上皮の厚さは比較的薄く、かくして無視出来る。これらがバレット食道の上皮診断を難しい問題にする。この様な場合、エルエスエスは組織侵入前の新形成のインディケータとして上皮細胞核の寸法分布とクロマチン含有量を測定するための生検不要の手段を提供出来る。

30

【特許文献 1】国際公開第 WO 02 / 057757 号パンフレット、2002 年 1 月 18 日出願

【特許文献 2】米国特許出願公開第 10 / 052、583 号明細書、2002 年 1 月 18 日出願

【特許文献 3】米国特許出願公開第 09 / 766、879 号明細書、2001 年 1 月 19 日出願

【特許文献 4】米国特許第 6,404,497 号明細書、2002 年 6 月 11 日発行

40

【特許文献 5】国際公開第 WO 00 / 43750 号パンフレット、2000 年 1 月 25 日出願

【特許文献 6】米国特許第 5,192,278 号明細書

【特許文献 7】米国特許第 6,091,984 号明細書

【特許文献 8】国際公開第 WO 00 / 42910 号パンフレット

【特許文献 9】米国特許出願公開第 09 / 362,806 号明細書、1999 年 7 月 28 日出願

【特許文献 10】国際公開第 WO 00 / 43750 号パンフレット

【特許文献 11】米国特許出願公開第 09 / 491,025 号明細書、2000 年 1 月 25 日出願

50

【非特許文献1】Backman, V. et al. Detection of preinvasive cancer cells. Early-warning changes in precancerous epithelial cells can now be spotted in situ, Nature, 406: 35-36 (2000)

【非特許文献2】Wallace, M. B., et al. Endoscopic detection of dysplasia in patients with Barrett's esophagus using light scattering spectroscopy, Gastroenterology 119: 677-682 (2000)

【非特許文献3】Georgakoudi, I., et al. Fluorescence, reflectance and light-scattering spectroscopy for evaluating dysplasia in patients with Barrette's esophagus, Gastroenterology 120: 1620-1629 (2000)

【発明の開示】

【0017】

本発明は光散乱分光法 (light scattering spectroscopy) を使用して材料の構造化層の物理的特性を決定するためのシステムと方法を提供する。好ましい実施例では、該光散乱分光システムは内視鏡自身を変型することなく現在の内視鏡と共に使用出来る光ファイバープローブ (fiber optic probes) を含む。該システムは、器官の上皮層内の細胞核の寸法分布の様な物理的特性を検出するために光学的及び計算的方法の組み合わせを使用する。該光散乱分光システムは単独で、又は蛍光分光法 (fluorescence spectroscopy) 及び反射光分光法 (reflected light spectroscopy) の様な他の技術と連係して使用される。

【0018】

一般に、本発明の該光散乱分光システムは粒子寸法分布を決定するために好適であり、そして少なくとも1つの照明光ファイバー (illumination optical fiber) と、複数の収集光ファイバー (collection optical fiber) とを含む光学的プローブ (optical probe) を具備しており、該複数の収集光ファイバーの少なくとも2つは異なる角度で又は異なる平面内に配向されており、該分光システムは又、光源と、偏光 (polarized light) と非偏波光 (unpolarized light) とのスペクトルを取得する検出器システム (detector system) と、該取得されたスペクトルを受けそして実行可能なインストラクションを含むことが出来る解析プログラムと、そして該解析プログラムインストラクションを実行し、粒子寸法分布を決定出来るデータプロセサーと、を具備している。一般に、該検出器システムは電荷結合デバイス (charge coupled device) {シーシーデー (CCD)}、シーモス (CMOS) 画像形成デバイス又は他の画像センサーを備える。

【0019】

1実施例では、該光散乱分光システムは光散乱スペクトルのみならず蛍光スペクトルも取得する。もう1つの実施例では、該光散乱分光システムは光散乱スペクトルのみならず反射スペクトル (reflectance spectra)、蛍光スペクトルも取得する。

【0020】

1つの好ましい実施例では、少なくとも1つの照明光ファイバーが、該光学システムのネット波長依存感度 (net wavelength-dependent sensitivity) を部分的に補償するためにフィルターされた修正ブロードバンド照明 (corrected broadband illumination) を供給する。一般に、シーシーデー検出器を使用する時、単位波長当たり最適照明電力はシーシーデー感度が一般に低いスペクトルの青の端部でより大きく、シーシーデー感度が一般に高いスペクトルの赤の端部でより小さい。

【0021】

本発明の好ましい実施例に依れば、分光診断システムは、後方散乱光スペクトル内の何

10

20

30

40

50

等かの下にある変動が差動的分光測定の結果として直接現れるように後方散乱スペクトルを提供する光プローブを含む。特定の実施例では、該プローブは偏光を検出するため使用される。或る実施例では該プローブは交差偏光子 (crossed polarizers) を有し、一方他の実施例では該プローブは単一偏光子 (single polarizer) を有する。偏光を使うことにより、後方散乱光のスペクトルは自動的に引き算され、現在のオフライン解析法に代わり、実時間解析を可能にする。

【0022】

本発明の物品、システムそして方法の前記及び他の特徴と利点は付属する図面で図解された好ましい実施例の下記のより特定の説明から明らかとなるが、該図面では種々の図を通して同様な参照文字は同じ部品を参照する。該図面は必ずしも尺度合わせされておらず、代わりに本発明の原理を図解することに力点が置かれている。

10

【実施例1】

【0023】

一般に、本発明の光散乱分光システムは、粒子寸法分布を決定するために好適であり、そして少なくとも1つの照明光ファイバーと、複数の収集光ファイバーとを備える光学プローブを具備しており、該複数の収集光ファイバーの少なくとも2つは異なる平面内に配向されており、該システムは又、光源と、偏光及び非偏波光のスペクトルを取得する検出器システムと、該取得したスペクトルを受け、実行可能なインストラクションを備えることが出来る解析プログラムと、そして該解析プログラムのインストラクションを実行し、そして該粒子寸法分布を決定出来るデータプロセサーと、を具備する。一般に、該検出器システムは電荷結合デバイス {シーシーデー (CCD)}、シーモス (CMOS) 画像形成デバイス又は他のピクセレートされた画像形成センサー (pixellated imaging sensor) を備える。

20

【0024】

本発明の該光散乱分光システムは更に、中央処理ユニット、メモリー記憶システムそしてサンプリングと解析ソフトウェアを実行出来るディスプレイデバイスを具備する。1実施例では、ソフトウェアは、拡散的に散乱する背景がない場合に散乱する粒子の与えられた直径についてエルエスエスプローブの特定の設計が返すスペクトルを計算する。該ソフトウェアは、或る範囲の波長についてそして0度から180度に及ぶ散乱角度のセットについて、与えられた屈折率の媒体中で与えられた直径と屈折率を有する球形粒子により散乱される動力 (power) を計算する。完全なミー計算 (full Mie calculation) は中程度に複雑なので、このデータはプローブシミュレーションの残り用に大きなルックアップテーブル内に記憶されるのが好ましい。特定のプローブが組織からリカバーする全ての起こり得る散乱角度に亘るモンテカルロ積分 (Monte Carlo integration) が次いで行われ、それが計算される各散乱角度についてスペクトルを加算した。起こり得る角度の範囲は、照明光ファイバーの直径 (典型的には200 μm)、収集光ファイバーの直径 (典型的には50 μm から200 μm)、該光ファイバーの間隔 (典型的には240 μm から400 μm)、該プローブ先端での窓の長さ (典型的には1 mm から5 mm)、該光ファイバーの開口数 (numerical apertures) (典型的には0.22 から0.4)、該プローブの軸線に対する該収集光ファイバーの相対角度 {該ファイバーが組織の " 視認される " 面積の重なり (overlap) を増加させるために内方ヘカント (canted) されている好ましい実施例用} そしてもし含まれるなら偏光子配向の角度、により決定される。このソフトウェアは、本発明の改良された、単一偏光子光学プローブにより作られ得るスペクトルのみならず非偏波光光学プローブ用エルエスエススペクトルをも形成するため使用された。

30

40

【0025】

拡大した (そしてより屈折性の) 細胞核から後方散乱される光の波長依存性はエルエスエスを組織形成異常の検出に適用するための物理的基礎である。該組織表面での細胞核の寸法及び密度の増大は形成異常を示す。後方散乱光電力対波長のプロットは、より大きい、形成異常の核について、より小さい、正常細胞核からよりも高い周波数の波長振動 (higher frequency oscillations in wavelength) を示す。これらの振動は典型的に、該組

50

織からの全反射光信号の2, 3パーセントに過ぎない。かくして大きな背景信号の引き算が該解析方法の重要部分である。

【0026】

該光散乱分光システム用の好適な光源と検出器システムの1実施例99が図1の平面図で略図で示される。光は水銀{エイチジー(Hg)}ランプ100とキセノンランプ{エックスイー(Xe)}164により提供され、各々はそれぞれ反射器(reflectors)102と162を備える。この図で、図解の目的で、該水銀ランプ100は該キセノンランプ164に対し90度回転されているが、大抵の実施例ではこれらのランプは同じ配向(orientation)に出来る。水銀ランプ100からの光はレンズ104でコリメートされ、フィルター105を通過し、該フィルターされた光はダイクロイック反射器(dichroic reflector)106により向け直される。フィルター105は短い波長のユーバイ(UV)を減じ、一方長い波長のユーバイと可視光を通するよう選択される。適当なフィルターはショットダブリュージー(Schott WG)シリーズフィルターの1つである。水銀ランプ100により作られる可視及び赤外放射は該ダイクロイック反射器106を通過し、フィルター108により吸収される。向け直されたユーバイ光は、モータ116により動かされるフィルターホイール(filter wheel)114により担われる励起フィルター(excitation filters)110と112を交互に通過する。

【0027】

同様に、該キセノンランプ164からの白色光はレンズ166によりコリメートされ、フィルターグループ167を通過し、反射性のコートされたホイール170により向け直されるか、又はフィルター168により吸収されるべくホイール170内のセクターを通過するか何れかである。フィルターグループ167は該シーシーデー検出器の各画素内に発生される光電子の数が該スペクトルに亘って比較的均一になるように該キセノンアークランプ164から収集された光のスペクトルを修正する。該スペクトル内の如何なる点での光電子(photoelectrons)の最大数も、近隣画素内へのスピルオーバー影響(spill-over effects)を避けるよう、使用される特定のシーシーデーのウエル深さ(well depth)を越えてはならない。又、検出されたスペクトル内のどの画素での信号対雑音比もその画素により収集される光電子の数の平方根に比例する。最適照明は、かくして、該スペクトルに亘り単位波長当たり均一な電力として規定された、白色光(white light)でなく、修正ブロードバンド照明(modified, broadband illumination)である(以下引用符で囲んだ"白色光")。一般に、最適な単位波長当たり照明電力は、シーシーデー感度が概ねより低い、該スペクトルの青の端部でより大きく、シーシーデー感度が概ねより高い、該スペクトルの赤の端部でより低い。考慮されるべき他の要因は、該スペクトロメーターの分散、該光学要素の損失、組織の一般的反射スペクトルそして該照明を発生するランプのスペクトルプロファイルである。ショット(Schott)により作られるそれらの様な固体のガラス吸収フィルターのスタック(stacked)されたセットは最適照明電力を得るのに好適である。特に、ショットのダブリュージー(WG)、ユージー(UG)及びジージー(GG)フィルターは該スペクトルの青の端部で該スペクトルを高めるため使用出来て、該ショットのケーバイ(KV)シリーズの様な、赤外線吸収フィルターは該スペクトルの赤の端部を減衰させるために使用出来る。

【0028】

可視及び赤外線放射は該ダイクロイック反射器106を通過し、フィルター108により吸収される。フィルターホイール114と反射ホイール170は、白色光及びユーバイ光がプリズム118によりレンズ120及び124を通り光ファイバー126の端部上に交互に向けられるように、それぞれモータ116及び172により制御され、動かされる。光ファイバー126の端部の照明のタイミングはシャッター122により制御される。好ましい実施例では、ランプ100とランプ164の何れか又は両者への電力供給はパルス化され得る。

【0029】

1つ以上の光ファイバー130により集められる光はレンズ134と146によりホ口

グラフィックグレーティングスペクトロメーター (holographic grating spectrometer) 150 の入り口スリット 148 を通過する。好ましい実施例では、多数光ファイバー端部 132 (ここでは図解の目的で 90 度回転されて示されている) の線形配列がレンズ 134 と 146 により該入り口スリット 148 を通っている。プリズム 136 は、モーター 144 により回されるホイール 142 上に担われたユービー阻止フィルター (UV blocking filters) 138 及び 140 を通る光路を導く。グレーティング 152 により作られたスペクトルはシーシーデー検出器 154 上に画像形成される。1 実施例では、マスク 158 の下で該検出器を動かすことにより多数のスペクトル 156, 160 が該シーシーデー検出器 154 上に連続して画像形成される。もう 1 つの実施例で、幾つかのスペクトルが別々に該シーシーデー検出器上に画像形成され得るのは、図 2, 図 3 そして図 4 参照されたい。両実施例では、幾つかのスペクトルがシーケンシャルに記憶され、該シーシーデーは 1 度に読まれる。

10

【0030】

非偏波のトリモード分光法 (unpolarized Tri-modal Spectroscopy) { テーエムエス (TMS) } システムは一般に 2 つ以上の蛍光スペクトルと白色光の反射スペクトルとの取得を要する。テーエムエスの種々の方法が、それら全体の引用によりここに組み入れられる特許文献 1, 2, 及び 3 で説明されている。該光学プローブは溶融石英光ファイバー (fused silica optical fibers) から成り (より深いユービー蛍光励起波長の最適透過用に)、該光ファイバーは最小直径用に 6 角の閉じてパックされた束 (hexagonal close-packed bundle) 内に配置され得る。少なくとも 1 本の光ファイバーが組織まで光を配送するため使用され (" 照明光ファイバー (illumination optical fiber) ")、照明用に使用されない光ファイバーがスペクトル解析用に最終蛍光又は反射光を収集するため使用される (" 収集光ファイバー (collection optical fiber) ")。

20

【0031】

組織まで光を配送するための光ファイバーの 1 本より多くの使用は、収集される蛍光の量を減じる犠牲を払っても該システムの機械的及び電気的設計を簡単化する利点を有する。図 2 A の略線図 200 はこの種の光源と収集設計を使用する非偏波テーエムエスシステムの実施例を図解する。典型的な全溶融石英光ファイバー (all-fused-silica optical fibers) 206, 280 の受け入れ角度 (acceptance angle) を 0.22 の開口数 (numerical aperture) { エヌエイ (NA) } とマッチするために 2 分のエフ光学システム (f/2 optical systems) 204 を使用して水銀アークランプ 202 から 2 つの蛍光波長が同時に収集される (例えば、340 nm と 405 nm で)。照明は、2 つの励起照明のパルスがシーケンシャルに組織へ配送されるように、各通路に別個の高速ブレードシャッター (fast blade shutters) を有する 2 つの別々の光ファイバーにより配送される。同様に、反射スペクトル用に必要な修正ブロードバンド照明 212 (" 白色光 ") がそれ自身の光学機器 214 により収集され、それ自身のシャッター 218 を有する別々の照明光ファイバー 216 内に配送される。かくしてこの実施例は光配送用に 7 つのファイバーの 3 つを使用するが、照明電力の 1 つの照明ファイバー内への光学的又は機械的混合を要しない。蛍光照明と白色光の照明の間でこの実施例がスイッチ出来るより高い速度はこのシステムのもう 1 つの利点である。

30

40

【0032】

組織から放射される蛍光は該励起より約 1000 倍弱いので、該蛍光収集路は、散乱され、反射される励起波長を、蛍光検出システムを飽和させることを防止するに充分なだけ減じるために、励起阻止フィルター (excitation blocking filter) を要する。図 2 A に示す実施例では、必要なフィルターが常に存在するように特定の収集ファイバー 218, 220, 222 は特定の蛍光及び反射波長に割り当てられる。又、これは全体的スペクトル収集時間を速めるが、何故ならばフィルターが場所的に動かされる必要はなく、与えられたスペクトル用に収集される光量を減じるからである。調時されたシャッター (timed shutter) が同様に個別収集路内にも存在する必要があるので、唯 1 つの路が与えられた時刻に組織への光源から該スペクトロメーターまで開いている。これは図 2 A の下部に示

50

す様にタイミングサイクル 2 2 6 を有する連続的に回転するホイールシャッター 2 2 4 で達成される。

【 0 0 3 3 】

図 2 の検出システムは最終スペクトルを検出するためシーシーデーカメラ 2 2 8 を使用する。特定の蛍光又は反射波長に個別光ファイバーが割り当てられるので該スペクトル取得は簡単化される。示される 4 つの光ファイバーの出口面は該シーシーデー検出器の異なる行位置 (different row positions) 2 3 0 , 2 3 2 , 2 3 4 上に画像形成され、該スペクトルは該スペクトロメーター分散体 2 3 6 により該シーシーデー列 (CCD columns) に亘り撒き散らされる。該シーシーデーは、該照明及び収集路が開くようスイッチされると、各シーケンシャルなスペクトルを記憶する。該取得されたスペクトルは、標準的シーシーデー読み出し電子機器 (standard CCD read-out electronics) を使って、スペクトル " 画像 " として 1 度に読み出される。

10

【 0 0 3 4 】

図 2 B は実施例 2 3 7 を略図式に図解するが、そこでは 2 つの励起波長、E 1 及び E 2 が波長で十分に分離されているのでダイクロイックミラー 2 3 8 が該 2 つの波長を分離するため使用され得て、次いで追加的フィルタリングの後それらを 1 つの照明光ファイバー 2 4 0 内へ再組み合わせする。又該 2 つの別々の光路は E 1 及び E 2 での照明の独立のタイミングを提供するためにシャッター 2 4 2 を有する。

【 0 0 3 5 】

もう 1 つの代わりの実施例が図 3 A に示される。この実施例 3 0 0 では、全ての照明カラーは 1 つの照明ファイバー 3 0 2 内に多重化されるので残りのファイバー 3 0 4 の全ては各最終蛍光又は反射スペクトルの収集用に使用出来る。この取り組みは、該システム用の全収集時間を遅くする、適当な時刻に適当なフィルターを該光路内にシフトせねばならない犠牲を払うが、収集される電力を 6 倍にする利点を有する。該フィルターを光路内に位置的にシフトするために回転ホイール 3 0 6 , 3 0 8 が使われる。該ホイールは、もし該フィルターが必要な露光期間を賄うに十分な程大きいなら、連続的に回転し続けられる。代わりに、より小さいフィルターを適当な時刻に位置内へ回転させるためにステッパー (stepper) 又はサーボモーターが使用出来る。又、励起パスフィルター (excitation pass filter) 3 0 6 と励起阻止フィルター (excitation blocking filter) 3 0 8 は同期化されねばならない。

20

30

【 0 0 3 6 】

図 1 の実施例に於ける様に、図 3 A の実施例で、それが取得された後各連続するスペクトルを該シーシーデー 3 1 4 , 3 1 6 , 3 1 8 , 3 2 0 上の記憶範囲へ動かすために該シーシーデー検出器 3 1 2 内の行シフティング電子機器 (row shifting electronics) が使われる。該シーシーデー上のこの記憶範囲は、該スペクトルを劣化させることから迷光 (stray light) を防止するために外部マスク 3 2 2 によりカバーされるのが好ましい。該スペクトルの全てが露光された後、該スペクトルの全てを読み出すために該行シフティング (row shifting) が普通の仕方で行われる。

【 0 0 3 7 】

図 3 B に示す略線図は実施例 3 2 9 を図解するが、そこでは幾つかの蛍光励起波長、E 1 , E 2 そして E 3 のみならず、修正ブロードバンド照明 (上記説明の様に " 白色光 ") 用源としても、1 つの水銀ランプ 3 3 0 が使用される。フィルターホイール 3 3 2 を使用して、既に上記で論じた様な適当なフィルターを、該光路内に動かすことにより種々の波長が選択される。

40

【 0 0 3 8 】

図 4 は、偏光が照明光ファイバーから放射され、該光が少なくとも 2 つの収集光ファイバー、好ましくは 4 つの光ファイバーにより、収集される実施例を図解する。該偏光子に対する該照明及び収集光ファイバーの関係の詳細は、単一偏光子光学プローブ (図 5 A) 及び交差偏光子光学プローブ (図 5 B) の両者用で図 5 A - 5 B で略図式に図解される。

【 0 0 3 9 】

50

エルエスエス用光ファイバプローブは典型的に白色光を少なくとも1つの照明光ファイバーを通して組織へ送り、該組織からの反射光を1つ以上の収集光ファイバーで収集する。該収集された光は該組織表面での細胞核からの後方散乱光（目的の信号）と該組織内深部から散乱された拡散光（遙かにより多くの背景信号）との両者を含む。該収集された光は近紫外線 { ユーバイ (UV) } から近赤外線 { アイアール (IR) } までの波長範囲に亘るスペクトルを発生するようスペクトロメーターで解析される。臨床研究用に最近使用されるエルエスエス光学プローブは非偏波白色光で組織を照明し、解析用に単一、非偏波、反射光スペクトルを収集する。背景信号は拡散散乱光の期待スペクトルをモデル化することによりこの非偏波スペクトルから除去されねばならない。該モデルは、例えば、組織内の血液量を見越したパラメーターを含む。この種のモデリングは遅く、誤差をこうむる。非偏波エルエスエス光学プローブは、起こり得る最も広い波長範囲に亘るスペクトルを返し、作るのが比較的簡単な利点を有するが、しかしながら、背景引き算 (background subtraction) 用モデリングを使う必要性は重要な欠点である。

10

20

30

【0040】

それら全体の引用により両者がここに組み入れられる特許文献4, 5で説明される様に、該背景信号の引き算を改良する手段として、エルエスエスプローブでの交さ偏光子 (crossed polarizers) の使用が種々のグループにより提案されて来た。交さ偏波エルエスエスプローブ (cross-polarized LSS probe) では、該照明ファイバーは（その遠位の先端で）偏光子でカバーされるので、組織に到着する光は偏波されている。この場合、組織表面の細胞核から後方散乱される光は又入射光と同じ平面内で偏波される。該組織のより深くから拡散散乱される光は、該核からの後方散乱される光に比較して、前術の様に、大きな背景信号に帰着する。この背景光は、該光が該組織表面に戻る前に多数の、面外の、散乱イベント (multiple, out-of-plane, scattering events) により、大幅に（しかし必ずしも完全にでは無く）、非偏波される (depolarized)。交さ偏光エルエスエス光学プローブでは、少なくとも2つの収集光ファイバーも又偏波層でカバーされ、その1つは該入射光の偏波と平行に偏波された光を通し、そしてその1つは該入射光の偏波と直角に偏波された光を通す。該入射光の偏波と平行に偏波された収集光の光散乱スペクトルは細胞核からの後方散乱信号のスペクトルにプラスされた該拡散（非偏波の）背景光のスペクトルを含む。入力光の偏波と直角に偏波された収集光の光散乱スペクトルは該拡散背景光のスペクトルのみを含む。これら2つの光散乱スペクトルの差を取る (Differencing) ことは上皮細胞の核からの後方散乱光の望まれるスペクトルのみを残す。

【0041】

交さ偏光エルエスエス光学プローブ設計は難しい背景引き算モデリングを要しない利点を有するが、それらは作るのが非偏波設計より高価である。現在入手可能な薄膜偏光子も又動作の限られた利用スペクトル範囲を有するので、取得スペクトルは解析がより難しい。又入力信号の偏波を保持する、組織内のより深くから反射される可成りの量の電力があり、かくして組織表面の細胞核のスペクトルから引き算されない。かくして該背景引き算は完全でない。

【0042】

エルエスエス用の単一偏光子光学プローブの設計は、該光学プローブが1つよりむしろ2つの光散乱スペクトルを発生するため使われ得る点で交さ偏光子光学プローブ設計と同じ利点を有する。これら2つの光散乱スペクトルの差を取ることは背景の拡散的に散乱される光のスペクトルを除去する。

40

【0043】

しかしながら、単一偏光子光学プローブにより作られる該2つの光散乱スペクトルは該交さ偏光子プローブ設計により与えられるそれを越えた重要な追加の有用な特徴を有する。照明光ファイバーの位置及び該単一偏光子の整合に対し2つの異なる角度又は平面に、適当に該収集光ファイバーを位置付けることにより、該2つの散乱スペクトルは波長の振動を示し、該振動は非偏波光学プローブで得られる光散乱スペクトルでの振動に比較して遙かに高い周波数（約6倍）である。2つの異なる平面（"s" 及び "p" と称する）内

50

に置かれた収集光ファイバーからの光のスペクトルでのこれらの角度又は振動は又相互に 180 度位相外れしているので、背景を除去する差を取る過程もこのより高い周波数振動の相対振幅を有効に 2 倍にする。該より高い振動周波数は全エルエスエスプローブデータに存在する低い周波数のスペクトルノイズからのこの振動スペクトル成分の分離を可成り簡単化する。

【0044】

幾つかの光学プローブ実施例により発生される信号のコンピュータ予測が、細胞核をシミュレートするために屈折率整合した流体内部でのポリスチレンビーズを使った測定と共に、下記で説明される。ファイバー寸法と位置そしてプローブ窓の好ましい長さ、の様な該プローブ用の好ましいパラメーターを示す技術的設計研究も説明される。

10

【0045】

一般に、構造位置付けの、そして本発明の光学プローブの様な構造体内の光ファイバーの束 (bundles) の整合用の、技術は入手可能である。例えば、その開示がそれら全体の引用によりここに組み入れられる特許文献 6 を参照されたい。

【0046】

2 つの例示的な適当なプローブ設計 500, 501 が図 5 A - B に示される。これらの設計では、図 4 の光源と検出器システム 400 を使用してブロードバンド照明 (" 白色光 ") を組織まで配送するために単一照明光ファイバー 402 が使われる。照明光ファイバー 402 は、蛍光分光法用の適当な波長の励起照明 404 用光ファイバーのリングにより囲まれ、図 4 及び 5 A - B に示す様に、散乱光 406, 407 を収集し、放射光 408 を収集する。中央照明光ファイバー 402 は典型的に直径 100 μm であり、該収集光ファイバー 406 - 408 は典型的に直径 50 μm (より大きいクラディング直径を有して) である。該プローブの 2.4 mm の全体直径は胃カメラの様な内視鏡の普通の生検チャンネル寸法 (common biopsy channel dimensions) を有するプローブの使用を許容する。単一の、薄膜偏光子 502 が図 5 A に示す様に該ファイバーの先端 504 と該プローブ窓 506 の間に置かれ得る。もう 1 つの実施例では、交差偏波フィルム 508, 510 が図 5 B に示す様に使用され得る。両実施例では、該偏波フィルムは、蛍光分光法用の励起及び放射波長を通すために使用される光ファイバー上でアブレート (ablated) されるのが好ましい。この様なプローブでは、光ファイバー先端から該中央ファイバーまでの半径方向距離は典型的に 0.35 mm である。該偏光子と光学的遮蔽の窓との組み合わせ厚さにより設定される、該光ファイバーの先端から組織までの距離は典型的に 5 mm であり、収集された後方散乱光用の 4 度の現在好ましい中央角度に帰着する。この角度は種々の実施例では適切に約 2 度から約 6 度の範囲内にあり得る。

20

30

【0047】

該ファイバーの " 照明された " 範囲の重なり合い (overlap) は図 5 A 及び 5 B で示す様に、光ファイバーのリングを 4 度に角度付け (angling) することにより得られ得る。図 5 A 及び 5 B に示す 1 実施例では、光ファイバーの該リングは黒いエポキシ内にポット (potted) される。もう 1 つの実施例では、該中央光ファイバーが、該プローブ先端の主ボディ (main body) 内のテーパ付き表面又は孔に対し該ファイバーのリングを加圧する比較的柔らかいプラスチックプラグにより囲まれることが出来る。この組立体は次いでこの主ボディの下面から僅かに延びるファイバーと共にエポキシされる (epoxied)。一旦該エポキシが硬化すると、該プローブの主ボディとそのファイバーはポリッシュ用ジグ (polishing jig) 内に置かれ、該ファイバーの全て (及び該主ボディ自身の先端) は 1 つの平面へ戻るようポリッシュされる。1 実施例では、プラスチック薄膜偏光子が別にカットされ、熔融石英ロッド (光学遮蔽と窓を形成する) と一緒に該主ボディに嵌合された薄い金属スリーブ内へエポキシされた。該ファイバー先端は該プローブの中央軸線に近いのでこの偏光子の外縁上の仕上げ (finish) は重要でない。尺度合わせされたプロトタイプのプローブで使用される商業的プラスチック偏光子のエッジを、困難無しにそしてその距離を越える偏波の有効性に影響せずに、約 50 マイクロメートルの水準 (figure) までポリッシュすることが可能なことを見出した。該窓先端とスリーブは次いで 10 と 20 度の間の角

40

50

度、好ましくは約 15 度まで戻るよう研磨され、そして一緒にポリッシュされる。非シーケンシャルレイトレーサー (non-sequential ray tracer)、ゼマックス (Zemax)、を用いた設計研究は、15 度が該窓先端でのガラス / 水非連続性からのフレネル反射 (Fresnel reflections) (例え非常に多数の内部反射後でも) を、光線を該収集ファイバーの受け入れ角度内に戻すよう向けることから防止するのに十分な角度であることを示した。該プローブが生検チャンネルを通るよう押してそれを該組織に対し位置付けるのに要する構造的堅さを提供するため、医療級のプラスチックの熱収縮チューブ (heat shrink tube of medical grade) が該ファイバーを保護し、該主プローブボディの外側上の環状の峰のシリーズを把持する。同様な熱収縮配管は蛍光プローブで使用された。

【0048】

10

図 6 は本発明のエルエスエスシステム用に好適な単一偏光子光学プローブ 602 の 1 実施例のより詳細な略図的図解である。1 つの "白色光" 照明光ファイバー 604 が軸方向孔 608 を有するテーパ付きプラグ又はリテーナー 606 により該プローブ軸線上に保持される。該リテーナーはエポキシ、プラスチック、又はポリマー材料とすることが出来る。このファイバーからの光は薄膜偏光子 610 を通過するが、該偏光子は別の光学部品とするか又は該プローブ窓 612 の端部上に直接積層され得る。該窓 612 は、該照明用光ファイバーの開口数により決定される光の広がり (light spread) が該プローブ窓の先端の大部分をカバーするに十分な長さである。該プローブの遠位のセクター 602 はステンレス鋼円筒 640 により囲まれ、該円筒は又周囲光から該窓を遮蔽するよう作用する。より大きいプローブ窓は望ましくなく、それはそれが必要なより多くの背景光を該プローブ先端内に収集し、背景光が収集光ファイバー 614 内に散乱される尤度 (likelihood) を増すからである。該収集光ファイバー 614 はプローブ先端ボディ内のテーパ付きボア (tapered bore) 616 により、照明ファイバー 604 を担う内部リテーナー 606 のテーパとマッチする適当な収集角度で保持される。かくして該光ファイバーリテーナーモジュール 618 は内部ファイバーサポート又はリテーナー 606 と外部ファイバーサポート 616 又は該プローブ先端ボディのテーパ付きボアとを含む。

20

【0049】

この実施例で示される光ファイバー 614 は照明光ファイバー 604 より直径が小さく、それは後方散乱光スペクトルのより深い変調に帰着する。これはより細い光ファイバーが後方散乱光が収集される角度を制限し、後方散乱角度と共に変化する該スペクトル振動の平均化 (averaging of the spectral oscillations) を減じるからである。該プローブが組み立てられた後、入力偏波の面内の後方散乱光を収集する光ファイバーは偏波の入力面外の光を収集する光ファイバーから分離され得る。

30

【0050】

図 7 は本発明によりスペクトルデータを解析する過程の好ましい実施例のフローチャート 700 である。一般に、該解析過程は測定された反射スペクトル、 $R(\lambda)$ に最も良く適合する粒子寸法コンセンレーション、 c_k のセットを決める。該最良適合は、各波長での偏差をその波長での測定での見積もり誤差で割ったものの平方の和を最小化する適合と規定される {カイ二乗}。もし必要なら該適合は異なる屈折率比 (refractive index ratios)、 m 、について繰り返され得る。望まれる係数用の解は、特異点とコンピュータ丸め誤差とに伴う問題を有効に避けるために公知の特異値分解法 (singular value decomposition method) で達成される。又、典型的に、この種の解析は 2, 3 ミリ秒で行うことが出来る。

40

【0051】

図 7 のフローチャートは、1 実施例で上皮細胞核の寸法の分布により示される、組織状態の分類に含まれる過程を示す。該過程はフットスイッチ又は他のトリガーで臨床医により始動される。該システムは初期には蛍光スペクトルを取得するために用意済み状態に保持され、適当なフィルターが置かれるか又はシャッターがトリガリング用に選択されている 702。一旦始動されると 704, 該システムは第 1 蛍光スペクトルを取る 706。次いで該フィルターとシャッターは "白色光" 励起用に選択され 708、偏光反射スペクト

50

ルが取得される 710。該フィルターは次の蛍光取得用の位置内に動かされ 711 (詳細な設計に依り)、一方反射スペクトルが取得される 710。次いで最後の蛍光スペクトルが取得される 712。エルエスエス解析用に後方散乱スペクトルを得る 714 ために該 2 つの反射スペクトルの差が取られ 713、そして固有蛍光スペクトル (intrinsic fluorescence spectra) {アイエフエス (IFS)} 解析用に非偏波拡散スペクトルを得る 716 ため加算される。該エルエスエス解析は、使用される特定プローブ設計用に予測されたスペクトルの予備計算された表内の最も近い整合への最小 2 乗適合として進む 718。該表のパラメーターはピークの核寸法、核寸法分布幅及び核屈折率を含む。該アイエフエス解析は固有蛍光分布 (本質的にはエフ / アールすなわち蛍光を反射で割った値) 720 と前に得られた臨床スペクトルと比較用のその特性パラメーターを計算する。各場合のそれらの予測信頼性を含む該 2 つの方法 721, 722 の荷重結果 723 は臨床医へのディスプレイ 724, 726, 728 用の最後の結果を提供する。

10

【0052】

ここに説明したプログラム、過程、方法そしてシステムは、他に指示されない場合は、コンピュータ又はネットワークシステム (ハードウェア又はソフトウェア) の何らかの特定の種類に関係せず、それに限定もされないことは理解されるべきである。種々の種類の汎用又は特殊コンピュータシステムがここに説明された開示と共に使用されてもよく、該開示の動作を実行してもよい。

【0053】

透明球からの光散乱の精確な理論は 1906 年にグスタフミー (Gustav Mie) により開発され、従って該過程はミー散乱 (Mie scattering) として知られて来た。該理論の近代の説明はバンデフルスト (van de Hulst) による刊行物で見出し得る。正常な細胞核は、水のそれ (1.33) に近い屈折率を有する媒体内の 5 から 7 μm の直径と約 1.42 の屈折率とを有する球としてモデル化出来る。形成異常の核は 10 μm 以上の直径を有する球としてモデル化出来る。

20

【0054】

該エルエスエススペクトルは、内視鏡の生検チャンネルを通過し測定されるべき組織に対し加圧される光ファイバースプローブで収集される。典型的プローブ 800 の先端は図 8 で単純化された形で略図式に示される。中央の、照明光ファイバー 802 は該組織 805 へ "白色光" を配送し、別の収集光ファイバー 806 は後方散乱光 810 を比較的狭い角度範囲内に返す。特定の波長でこれらの光ファイバーにより収集された光の量はその波長についてのミー散乱パターンに依る。散乱させる粒子の寸法は該返された光のスペクトルを解析することにより決定され得る。実際には、該プローブ先端上の光学的遮蔽内の窓が該組織から固定された距離に該光ファイバーを保持するので該散乱させる形状は一定に保たれる。該窓の平面は該プローブの長い軸線に直角にすることも出来るが、或いは該収集ファイバー内への鏡面反射性の反射を減じるために、4 度の様なもう 1 つの角度にチルト (tilted) されることも可能である。例えば、図 2 A、3, 5 A 及び 5 B 参照。

30

【0055】

上記で論じた様に、特定の光学プローブ用の受け入れ角度の範囲は、照明光ファイバーの直径、収集光ファイバーの直径、該ファイバー間の間隔、それらの開口数 {エヌエイ (NA) = $\sin(\text{受け入れ角} / 2)$ } そして該光ファイバーの遠位の端部から該光学的遮蔽内の窓までの該プローブ先端の長さ に依る。エルエスエスプローブにより検出された後方散乱された光のスペクトルはかくして極めて複雑な条件のプロダクト (product) であり得る。

40

【0056】

図 9 は、入射光の波長より遙かに小さく (図 9 A) そして入射光の波長より遙かに大きい (1 μm 直径粒子については図 9 B、10 μm 直径粒子については図 9 C)、細胞核の様な、粒子 901 から如何に光が散乱するかを図解するために、散乱された強度分布 900 の精確なミー計算の典型的な結果を略図式に示す。直接後方散乱方向 (170 度から 180 度) に近い強いピークは該エルエスエス光学プローブにより収集され、該散乱させる

50

粒子の直径を決めるために解析される。これらのピークは波長の変化と共に角度が急速にシフトする。

【 0 0 5 7 】

図 1 0 A - D は非偏波エルエスエスプローブを用いたエムアイターバイオメディカル研究センター (MIT Biomedical Research Center) に於ける研究グループにより取られた測定結果を抄録する。非特許文献 1, 2 及び 3 参照。

【 0 0 5 8 】

体外で培養された細胞と体内のバレット食道 {ビーイー (BE)} 組織とについてデータが図 1 0 A - E に示される。図 1 0 A と 1 0 B はそれぞれ正常 1 0 0 1 と T 8 4 腫瘍細胞サンプル 1 0 0 2 からの正規化された反射率

10

【 0 0 5 9 】

【 数 1 】

$$R(\lambda) / \overline{R}(\lambda)$$

【 0 0 6 0 】

を示す。差異のあるスペクトルの特徴が明らかである。培養された細胞のスペクトルでは、400 - 450 nm の近くの正常細胞スペクトル (図 1 0 A) で見られるブロードなピークが、図 1 0 C の解析グラフ 1 0 0 3 で示される様に、正常細胞の 6 - 7 μm 直径核について非偏波光学プローブからの波長振動のスケールサイズ (scale size) を示している

20

【 0 0 6 1 】

核寸法分布についての情報を得るために、例えば、その全体が引用によりここに組み入れられる特許文献 7 に説明される様に、該反射データが変換された。図 1 0 C の実線の曲線は図 1 0 A 及び 1 0 B のスペクトルから抽出された正常な 1 0 3 0 と T 8 4 細胞単一層 (cell monolayer) 1 0 3 2 サンプルの最終の適合された核寸法分布を示す。n = 1.06 の核 - 細胞質相対屈折率と n c = 1.36 の細胞質屈折率を使用された。図 1 0 C の破線の曲線は正常な 1 0 3 3 と T 8 4 細胞単一層 1 0 6 2 サンプルの、光学顕微鏡法を介して外形計測的に (morphometrically) 測定された、対応する寸法分布を示す。該抽出された及び測定された分布は正常及び T 8 4 細胞サンプルについてよく一致している。図 1 0 D は、(1) 正常 (非形成異常の) 1 0 4 2 と (2) 前癌性 (すなわち、低程度の形成異常の) 1 0 4 4 と、を示すために、標準の病理学的解析により独立的に共に診断された、2つのバレット食道組織サイトからの、

30

【 0 0 6 2 】

【 数 2 】

$$R(\lambda) / \overline{R}(\lambda)$$

【 0 0 6 3 】

を計算することにより拡散背景構造を除去した後の、反射スペクトル 1 0 0 4 を示す。

40

【 0 0 6 4 】

【 数 3 】

$$R(\lambda) / \overline{R}(\lambda)$$

【 0 0 6 5 】

を計算することによりこの拡散背景構造を除いた後、周期的な精細な構造が図 1 0 D で見られる。形成異常組織サイトからの精細な構造は正常なサイトからのそれより高い周波数含有量 (higher frequency content) を示す。抽出されたそれぞれの核寸法分布が図 1 0 E に示されている。該正常な 1 0 5 0 と形成異常組織 1 0 5 5 の両サイトについての分布

50

間の差は明らかである。形成異常サイト 1055 からの核の分布は正常なサイト 1050 からの分布のそれより遙かにブロードで、ピーク直径は $\sim 7 \mu\text{m}$ から $\sim 10 \mu\text{m}$ へシフトされている。加えて、大きい核 ($> 10 \mu\text{m}$) の相対数と核の合計数が可成り増加している。

【0066】

スペクトルから導出された粒子寸法分布はビーイー (BE) 組織内の形成異常細胞の核がそれらの核寸法と密度で測定可能な差を示すことを示している。これらの寸法分布を同じサイトから取られた生検サンプルについての病理学からの結果と比較することにより、該核寸法分布解析から該生検の結果を予測する過程のシーケンスが開発された。

【0067】

図 11 を参照すると、細胞の数対 $10 \mu\text{m}$ より大きい核のパーセンテージのプロット 1100 が示される。核の 30% より多くが拡大される (" 拡大される " で $10 \mu\text{m}$ 以上の測定された核直径を有するとして規定される) なら形成異常の割り当てが行われ、図 11 で破線の分割線 1102 により表された。スペクトル式診断が、ブラインド方式 (in a blind fashion) で 4 人のエキスパート病理学者により独立に決定された組織構造を使って平均診断と比較された。49 人の患者からの 874 の食道サイトが組織構造により検査された。4 サイトは高程度の形成異常を有し (HGD) 1104 (充実 3 角形で示す)、8 サイトは低程度の形成異常を有し (LGD) 1106 (充実 4 角形で示す)、12 サイトは形成異常については非決定的 (indefinite) であり (IND) 1108 (空の 4 角形で示す)、そして残りのサイトは形成異常でないバレット食道 (Barrett's) であった (NDB) 1110 (空の円で示す)。該 HGD、LGD そして IND の全てと 52 の NDB のランダムな選択から成る部分集合が分光法の組織構造法との比較用に使われた。エルエスエスはそれぞれカテゴリー NDB、IND、LGD 及び HGD の上皮について核の進んで増加する数を検出した。全 76 のサンプルの診断が図 11 で示される。低及び高程度形成異常を検出するためのエルエスエスの感度と特定性 (specificity) はそれぞれ 92% と 91% であった。全ての高程度形成異常サイトと 8 つの低程度形成異常サイトの 7 つが正しく診断された。核の数及び密度と大きい核のパーセンテージとの両者を組み入れる多変量モデル (multivariate model) の使用は感度と特定性をそれぞれ 92% と 97% まで更に改善した。更に、エルエスエスと該 4 人の病理学者の間の観察者間の一致は 76% で、何れか 1 人の病理学者の診断を他の 3 人と比較した場合 (平均 65%) に得られたそれより良かった。病理学者間のこの大きな変動は参考文献と一貫しておりこの病気の診断の難しさを説明している。

【0068】

この様なスペクトルデータを解析することの実用的難しさは上皮層の下組織を通しての拡散的散乱による背景光を除くニーズである。典型的にこの光は全信号の約 95% を賄っている。該背景光は、大きな角度に於いてより効率的に光を散乱させる、細胞内小器官 (intracellular organelle) の様な、特により小さい構造体からの、多数光子散乱イベント (multiple photon scattering events) に依る。有効な散乱長さは、波長により 0.1 から $1 \mu\text{m}$ に及ぶので、散乱された光の可成りの部分は該プローブの受け入れ角度内に再度入る。この拡散散乱も又、下にある組織内の吸収過程により、特にヘモグロビンにより、スペクトルの特徴を取り上げる。図 10A - E に示すデータについて、組織輸送 (tissue transport) 及び吸収の表現への時間の掛かる該データの適合により背景引き算がオフラインで行われた。このデータ用に要した適合時間は 1 点当たり多数分であって、それを実時間測定として非実用的にした。

【0069】

光がその入り口点から組織を通して拡散し去る時、それはその通路に沿い組織成分の寸法分布に関する情報を取り上げる。エルエスエスプローブ 1200 は図 12A で略図式に示す様に背景スペクトルの中でこの情報の幾らかを取り上げる。システムは、組織の散乱特性用のプローブとして、該配送ファイバーからの種々の距離で混濁媒体を出る光の偏光及びスペクトル特性を利用した。この技術用の基本的プローブは図 12B で略図式に示す

10

20

30

40

50

様な形状 1 2 0 2 を有する。図 1 2 B に図解されるプローブがエルエスエスプローブ用に要した様に細胞核からの直接後方散乱を測定出来ないことを注意する必要がある。同様に、非常に薄い窓を有する図 1 2 B で図解されたプローブは効率よく直接後方散乱を測定することは出来ない。

【 0 0 7 0 】

好ましい実施例では、本発明は後方散乱された光の角度分布と偏波を測定するための光散乱分光システムを提供する。この様なシステムの特徴は仮想組織 (tissue phantoms) を用いて研究された。この器具では、図 1 で略図式に図解されたそれと実質的に同様な光源と検出器システムとを用いて、キセノンアークランプからの白色光がフィルターされ (10 nm バンドパス)、偏波され、空間的にフィルターされ (< 0.25 度発散)、そして既知の入射光源を提供するようコリメートされる。非偏波ビームスプリッターが入射光を該仮想組織の方へ導き、散乱された光用の戻り通路を提供する。レンズシステムが該後方散乱された光を、名目上光軸線上に中心合わせされたシーシーデー検出器上に焦点合わせする。この様なレンズシステムはそれら全体がここに引用により組み入れられた、刊行された、特許文献 9 に対応する特許文献 8 と、特許文献 11 に対応する特許文献 10 と、に詳細に説明される。

10

【 0 0 7 1 】

後方散乱された光の角度は画像の光軸線から或るオフセットに変換される。後方散乱された光の通路内の偏光子は入射照明の偏波に直角の偏波を有する光か、それに平行な偏波を有する光か、何れかを観察するために回転され得る。かくして単一偏光子プローブは、背景拡散散乱信号を自動的に除去する利点にプラスして細胞核の直径が決定され得る振動の周波数を増加させる利点を有する。

20

【 0 0 7 2 】

これらの実験で、図 1 3 で略図式に線図化されたシーシーデー検出器配列 1 3 0 0 を横切るファイバー先端 (受光ファイバーの出力端部) の配列の画像を分散させるプリズムスペクトロメーターを用いて個別スペクトルが同時に得られる。該スペクトロメーターの絶対的校正は特に重要でないが、スペクトル間の相対誤差は良好な差信号を得るために最小化されねばならない。相対的波長校正誤差と組み合わせられたコモンモードスペクトル (該ヘモグロビン吸収の様な) 内の急峻な傾斜は該差スペクトル内のオフセットに帰着する。この種の誤差は普通該スペクトロメーターの画像形成光学機器内の場の歪みから生じる。この様な誤差が、該スペクトロメーター内に深く変調された光スペクトルを導入し、該スペクトル誤差用の 2 次元多項式写像関数 (2-D polynomial mapping function for the spectral error) を用いて該差スペクトル (difference spectra) の最終 2 乗 (resulting squares) を最小化することにより、減じられることが見出された。使用された該変調された光スペクトルは該照明光路内に置かれた多くの、等しく隔てられた (evenly-spaced)、狭帯域フィルター (narrowband filters) の組み合わせスペクトルであった。ファイバーの垂直配列を該プリズムを通して、該シーシーデーアレイ上に、画像形成することにより、スペクトルの全部が同時に得られ得る。該シーシーデーチップ上に該スペクトルのチャンネルをピンすること (Binning) により該 7 つのスペクトルを含む 7×255 画像が返される。

30

40

【 0 0 7 3 】

図 1 4 に示す様に、仮想組織は、 $4.562 + / - 0.209 \mu\text{m}$ 、 $9.14 + / - 0.709 \mu\text{m}$ 、 $14.9 + / - 2.21 \mu\text{m}$ そして $21.4 + / - 3.21 \mu\text{m}$ 、として指定された直径を有するポリサイエンス社 (Polysciences, Inc.) からのポリスチレンビーズ 1400 で作られる。これらは下記本文ではそれぞれ名目直径 5, 10, 15 及び $20 \mu\text{m}$ として参照される。ポリスチレンビーズは 1.60 の屈折率、 n を有する。これは細胞核より幾分高いが、散乱は、一般に散乱変数 (scattering variable)、 m と称される n_{sphere} 対 n_{medium} の比に主として左右される。生物学的組織の m の値は 1.03 から 1.10 の範囲内にある。画像形成実験の幾つかは該媒体として水 ($n_{\text{water}} = 1.33$) で行われ、 $m = 1.203$ を生じた。組織のより良いシミュレーション

50

ン用に、カーギルタイプエフエフ (Cargille Type FF) の、1.48 の屈折率を有する低 - 蛍光液浸オイル (low-fluorescence immersion oil) ($m = 1.081$) 又は $m = 1.06$ を生じるよう 1.507 の屈折率を有するエポテックスタイプ 310 (Epotex Type 310) 光学のエポキシ (optical epoxy)、を使用した研究も行われた。

【0074】

角度分布測定の場合が図 15 に示される。上部パネル 1502, 1504, 1506 は波長 594 - 604 nm の偏光と 5, 10 及び 15 μm の名目直径のビーズとについて得られた結果を示す。交差した 1508、及び整合した 1510、アナライザー (analyzer) を用いて得られた画像の位相関係が注目される。下部パネル 1520, 1522 は 15 μm ビーズと、波長 444 - 454 nm、1522, 594 - 604 nm、1520 の非偏波光を用いて得られた後方散乱パターンを示す。対応するミー (Mie) 後方散乱計算の結果のプロット 1524 が比較用に重ねて置かれている。

10

【0075】

非偏波プローブ用に計算されたスペクトルの例が、屈折率 1.33 の水媒体中で 1.42 の屈折率を有する、5 μm 直径、1604、及び 10 μm 直径、1602、細胞核の両者について図 16 に示される。非偏波光プローブは 100 μm 直径の送信光ファイバーと 5 mm の厚さの光学窓の後ろに 350 μm 離し隔てられた 50 μm の受光光ファイバーを有する。該解析方法はフーリエ解析を用いて大スケール共振構造の周波数を決定し、これらの周波数とそれらの振幅から該散乱させる粒子 (該核) の寸法と密度を恢復させる。これらの予測された後方散乱スペクトルは、10 nm より小さい幅を有する精細構造、約 50 nm の幅を有する中間構造そして完全な可視波長範囲のスケールの大スケール構造を有する。

20

【0076】

図 17 は 5 μm 直径、1702, 及び 10 μm 直径、1704, 細胞核の両者について単一偏光子光学プローブ設計からの予測差スペクトルを示す。低周波情報が除去されたこと、スペクトル振動内の中間周波及び高周波が非偏波プローブの場合に比較して高められたことが注目される。ポリスチレンビーズとプロトタイプの偏波プローブを用いて取られた実験データはこれらの予測されたスペクトルが実験的に得られ、良く一致することを確認した。後方散乱スペクトルの中間周波は散乱させる粒子直径を増加させると共に明らかに増加する。真の組織での細胞核は或る範囲の直径を示すので、それらの反射スペクトルは簡単な振動によっては表されず、むしろこの様なスペクトルの線形組み合わせは粒子寸法分布に左右される。

30

【0077】

測定で使用された偏光プローブは、内視鏡で使用されるプローブ用に実用的な名目 2.4 mm 直径から 4 倍スケールアップされた (scaled up by a factor of 4)。プローブの光学特性はそれが返す後方散乱スペクトルの意味ではスケールで不変である。このプローブは、比較的小さい範囲の後方散乱光収集角度で得られたスペクトルを測定するため使用された。この特定の 4 倍スケールされたプローブで使用された照明光ファイバーは直径 400 μm であり、直径 200 μm の収集光ファイバーを伴う。その結果は 100 μm 直径照明光ファイバーと 50 μm 直径収集光ファイバーを有するこのプローブで得られるべきそれらを表す。しかしながら、組織内の深くからの拡散散乱された光の収集はその組織内での特性的散乱距離に左右され、かくしてスケールで不変ではない。直接後方散乱と拡散散乱の間の比較は 1 倍プローブでのみ適切に行われる。

40

【0078】

4 倍スケールの単一偏光子光学プローブを用いて得られた 7 つのスペクトルが詳細に解析された。該スペクトルの 3 つは 4 度の後方散乱角度用であり、4 つは 8 度の角度用である。単一偏光子が、該照明ファイバー、4 度の収集ファイバーの 3 つ及び 8 度の収集ファイバーの 3 つをカバーした。該第 1 偏光子に対し 90 度に配向された、第 2 偏光子が該 8 度の後方散乱角度で該第 4 ファイバーをカバーした。該単一偏光子の下 4 及び 8 度の収集ファイバーは、それらの表されるスペクトルが該偏光子軸線 (s) に直角に、その軸線

50

(p) に平行にそしてその軸線に対し 45 度に、散乱された光を返すよう、位置付けられた。

【0079】

8 度の角度内に返されたスペクトルは 4 度のスペクトルより弱く、異なる振動を示し、全て該プローブについて予測された様であった。

【0080】

期待される様に、交差偏光子光学プローブは該照明された表面により非偏波された光用のスペクトルを返した。白色スペクトラロン (white Spectralon) 及び手の組織の様な、或る表面は光を可成り良く非偏波化する。これらの表面は半透明で、該表面内に透過された光はその表面から出現する前に多くの面外反射 (out-of-plane reflections) を受ける。部分的に吸収するスペクトラロン及びビーズの水中の懸濁液の様な、他の材料はその光を完全には非偏波化しない。これらの表面から反射される光はより少ない内部散乱イベントを受けて、該照明光の平面内で支配的に偏波される。背景引き算用に交差偏波された光信号の使用は下にある組織がその光を良く非偏波しないならば適当に働かないことは注意すべきである。背景差し引き用の単一偏光子の設計はこの制限をこうむらない。

10

【0081】

図 18 のスペクトル 1800 は光学的エポキシ内の $9.14 \pm 0.709 \mu\text{m}$ ポリスチレンビーズの懸濁液から取得した後方散乱スペクトルを示す。ビーズの屈折率のエポキシ屈折率に対する比は 1.06 なので該散乱スペクトルは上皮組織内の $9 \mu\text{m}$ 細胞核のそれと同様である。注意すべき特徴は入力偏波面に直角に散乱された光 (s)、1802, のスペクトル内の中間周波数振動 (mid-frequency oscillations) が偏波面に平行に散乱された光 (p)、1804、のスペクトル内の該振動と位相外れしていることである。最も低いスペクトル周波数は該 s 及び p 信号の両者に共通のスペクトル内の傾斜を形成する。45 度で散乱された光、1806, は中間周波数振動を有さず、かくして非偏波スペクトル 1808 と同様である。又後方散乱された光は、期待された様に、そして該交差偏光子スペクトルでの低い信号により示される様に、強く偏波される。該 s スペクトルから該 p スペクトルを引き算することはゆっくり変化する背景と何等かの非偏波戻り光を除去する。該交差偏光子を通る信号は非常に低い、それは拡散後方散乱をシミュレートする追加層が該ビーズの下に無いからである。

20

【0082】

該 s 及び p の偏波されたスペクトル内の中間周波数リップルが位相外れしていることが気付かれる。又モデル化されたデータ内にある、高周波リップルが該スペクトロメーターの低解像度のために消されることも注目される。s 信号から p 信号を引くことにより、1900、図 19 に示す様に、低周波数及び拡散後方散乱成分が除去出来る。2つのファイバーの収集効率の小さな差は該スペクトルの 1 つにスケール係数 (scaling factor) を適用することにより取り除ける小さな直流成分に帰着する。

30

【0083】

図 20 の上部グラフは、少量のヘモグロビンが付加された水中に懸濁された非常に精細な硫酸バリウム (barium sulfate) 粒子の部分層の上のポリスチレンビーズ層からのスペクトル 2010 を示し、s 偏波スペクトル 2012 と p 偏波スペクトル 2014 の両者を含む。図 20 の下部グラフは s - p 引き算後の最終スペクトル 2020 を示す。ヘモグロビン {ヘモグロビン - A0、鉄含有、シグマ (SIGMA)} は臨床組織スペクトル 2016 で観察される、415, 540 及び 570 nm での該スペクトルの落ち込み (dips) を作る。この背景光は該照明と同じ平面内で概ね偏波されるが、s - p 差し引き法はなおそれ除去する。

40

【0084】

図 21 は、 $4.562 \mu\text{m}$ の単一ビーズ直径 {単一分散分布 (monodisperse distribution)} を仮定した期待されるミ-後方散乱の理論モデル 2104 と比較した、エポテック 310 エポキシ中の $4.5 \mu\text{m}$ ポリスチレンビーズの懸濁液 (そこでは $m = 1.06$ である) についての、差スペクトル 2100 を示す。予測された中間及び高周波振動の位相

50

及び振幅の両者が実験と整合する点で適合は良好である。特定のプローブ設計について、或る範囲の直径上に分布したスペクトルの基本セットを適合させるために、線形のカイ2乗最小化プログラム (linear, chi-square minimization program) が書かれた。該プログラムは繰り返し式でなく、かくして非常に速いが、それはそれがスペクトルを記憶した直径又は直径分布のみを適合させることが出来る。しかしながら、臨床的エルエスエス器具用の実用的解析法は直径の分布を返すことが出来る必要がある。

【0085】

臨床的器具用のより良い解析法はフーリエ変換技術を用いて該スペクトルから振動の周波数を抽出することである。例えば、 $10\text{ }\mu\text{m}$ 粒子用の予測スペクトルのパワースペクトル 2202 が図 22 に示されている。中間及び高周波のピークが容易に定量化される。図 23 は図 19 に示す実験のポリスチレンビーズデータの高周波フーリエ変換 {エフエフター (FFT)} を示す。この場合高周波振動は該スペクトロメーターの解像度の上にあるので、それらは該パワースペクトル内に現れない。

10

【0086】

図 22 に示す計算されたスペクトルは便宜上 $1/\mu\text{m}$ の単位を有する逆波長空間 (inverse wavelength space) 内にプロットされている。回折 (そしてかくしてミー散乱) は一般に、回折されつつある光の波長で割った多数の特性長さ (characteristic length) を含む項で説明される。スペクトル振動ピークは $1/\lambda$ に対しプロットされた時等間隔になる。 $1/\lambda$ 空間内で等間隔に隔てられたピークを有する振動のフーリエ変換は、 μm の単位を有する $1/(1/\lambda)$ 空間で、特性長さ、 L 、でのデルタ関数 (delta function) である。該フーリエ変換での該ピークは特定のプローブについて該ミー後方散乱を予測するため使用されたプログラムから決定出来るスケール係数でスケールされた粒子寸法 (μm) に対応する。該エフエフターピークは図 23 の 2300 に示す様に目的のある範囲上で粒子直径の線形関数である位置で狭い。該エフエフターはかくして直接に寸法分布を返し得る。

20

【0087】

図 24 は線形スケール定数への予測されるスペクトル適合用のフーリエ変換ピーク位置を示すグラフ 2400 である。図 24 の水平破線 2402, 2404 は $9.14 + / - 0.71\text{ }\mu\text{m}$ 及び $4.56 + / - 0.21\text{ }\mu\text{m}$ ビーズで取られた実験データについて該エフエフターピークのそれぞれの位置である。該エフエフター解析からの予測直径、水平破線 2412, 2414、は製造者により指定されたこれらのビーズ用の寸法分布内に良く入っている。

30

【0088】

図 10C の正常結腸細胞 1033 と T84 腫瘍結腸細胞 1036 の核直径分布 1030 の比較で見られる様に、形成異常又は腫瘍細胞の核は平均直径のみならず分布幅 (distribution breadth) (これらの研究ではシグマと表される) でも異なることが予測される。単一偏波光学プローブが、核直径のよりブロードな分布用に有用な非偏波光学プローブのそれら以上の改善となる特性を有することが見出された。図 25A - B は、 $9.1\text{ }\mu\text{m}$ 直径の中心と、シグマ = 0.2 とを有する狭分布用の、単一偏波光学プローブ 2502, 2512 と非偏波光学プローブ 2504, 2514 について表現を比較しており、該システムは $100\text{ }\mu\text{m}$ 直径の中央照明ファイバーと、 4° でチルトされ、 5 mm の直径の窓を有し、 $350\text{ }\mu\text{m}$ で隔てられた、 $500\text{ }\mu\text{m}$ 直径の収集ファイバーを備え、プローブ用の 1.4 シグマのクリップを備えている。該スペクトルは逆波長空間 (図 25A) で 2502, 2504 として、又エフエフター (図 25B) で 2512, 2514 としてプロットされる。該単一偏波光学プローブの高周波振動と改良された信号対雑音特性が上記で説明された様に見られた。

40

【0089】

図 26 はシグマ = 0.2 を有する同じ狭分布用単一偏波光学プローブ用の表現、2602, 2612、と、逆波長空間内にプロットされたシグマ = 1.0 を有する 5 倍のよりブロードな分布 2602, 2604 (図 26A) と、エフエフター 2612, 2614 (図

50

26B)を比較する。よりブロードな分布について高周波振動は減じられるが、該単一偏波光学プローブの改良された信号対雑音特性は平均核直径を識別する能力が寸法分布の幅の5倍の増加によっても危うくされない結論に導く。

【0090】

図27を参照すると、本発明の光散乱分光システムと光学プローブの両者用の光源及び検出器システムのもう1つの実施例が略図式に示される2701。該画像形成システム(光源及び光収集ファイバー)は大きい面積の展望(survey)を提供し、該スペクトロメータシステムは或る点での詳細なスペクトル測定を提供する。該スペクトロメータは組織上の小面積からのより詳細なスペクトルとかくして形成異常の確率のより精密な見積もりを得ることを実現する。

10

【0091】

1実施例では、光は2つのレーザー源2706, 2709、そして例えば、キセノン(Xe)ランプ、又はブロードバンド照明用に最適化された水銀(Hg)ランプの様な照明ランプ2712により提供される。好ましくは、該第1レーザー源2706は、例えば、380nmから420nmの範囲の、より好ましくは約405nmの、波長で動作する窒化ガリウム(gallium nitride)レーザーダイオードの様な、ユーバイ/バイオレット光(UV/violet light)を提供する固体レーザーを含むのがよい。好ましくは、第2レーザー源は、例えば、アルミニウムガリウムインジウムリン(AlGaInP)レーザーダイオードの様な、630nmから670nmの範囲の、より好ましくは約650nmの、波長で動作するダイオードレーザーの様な、赤で動作するソリッドステイト(solid state)を含

20

【0092】

もう1つの実施例では、該光源は該赤(例えば、約630-670nmから)で動作するレーザーダイオード、該緑(例えば、約500-550nmから)で動作するレーザーダイオードそして該バイオレットで動作するレーザーダイオード(例えば、約380-460nmから)を含む。1つのバージョン(version)では、該赤、緑そしてバイオレットレーザーダイオードは照明光源として役立つ"白色光"と励起光と両者を提供するように操作される。例えば、各該3つのレーザーダイオードから組織に到着する光の強度とバンド幅を制御することにより修正ブロードバンド照明("白色光")が提供され得る。励起光は、1つ以上の励起波長を提供するよう、例えば、該バイオレットレーザーダイオードにより、該赤のレーザーダイオード[例えば、リン酸カリウム-酸化チタン(KTiOP₄) {ケーターピー(KTP)}結晶を用いて]からの光を周波数2倍化することにより、又は両者により提供され得る。

30

【0093】

画像形成し、アイエフエス(IFS)を得るために、2つのレーザー2706, 2709からのビーム2724, 2739がダイクロイックミラーで1つのビーム2713内に組み合わされ、レンズ(又はレンズのシステム)2730によりコリメートされる。シャッターホイール2733(該回転位置を示す)上のシャッターミラー2733とレンズ2730が該組み合わされたビーム2713を内視鏡2716の照明束2715の端部上に焦点合わせする。該照明束2713は該内視鏡2716の遠位の先端で2つの束2736、2742に分岐し組織2738を照明する。該照明の結果として該組織2769からの光は内視鏡2716の遠位の先端のカラーシーシェーデーチップ(color CCD chip)2775で検出される。該カラーシーシェーデーチップ2775は励起光を阻止するために阻止用フィルター2772でカバーされている(例えば、第1レーザーからの光を阻止する405nmロングパスフィルターは405nmで動作するレーザーダイオードを有する)。該シーシェーデーチップの青に敏感な素子は組織蛍光(tissue fluorescence)を記録し、該シーシェーデーチップの赤の素子は赤の基準スペクトルを記録する。代わりに、各カラーでのシーケンシャルな照明を使用して種々の画像がシーケンスで取得され得る。次いで蛍光及び赤の基準スペクトルが、形成異常の領域の決定を容易にするために、例えば、疑似カラー画像(false-color image)として提示され得るアイエフエス(IFS)スペクトルを作る

40

50

ために組み合わされる。

【0094】

1つの好ましい実施例では、第1レーザーは405nmで動作するレーザーダイオードを有し、第2レーザーは650nmで動作するレーザーダイオードを有し、そして該照明ランプはキセノンランプを有する。該光源と検出器システム2700はテーエムエス用に下記の様に動作する。テーエムエス用には、該シャッターホイール2733は、(1)レンズ(又はレンズシステム)2751によりコリメートされた該ランプ2712からのブロードバンドの照明("白色光")2745を反射器2754上へ、配送ファイバー2718内へそして組織2738上へ反射させることと、そして(2)該405nmダイオードレーザー光を反射器2754上へ、配送ファイバー2718内へそして組織2738上へ透過させる、ことを交互に行うよう位置付けられる。該405nm光の透過中、該650nmレーザー光は、例えば、該650nmレーザーをオフに換える及び/又はその光を阻止することにより、停止される。

10

【0095】

該プローブ2716中の収集光ファイバー2760は該組織2738から光2757を該システム2700内のスペクトロメーター2703へ戻すよう運ぶ。蛍光スペクトルを記録するために、該405nmレーザー光が該組織上にある時、ロータリーフィルターホイール2763は励起波長阻止フィルター(ここでは405nmロングパスフィルター)を該収集された光2757の通路内に置き、該光はレンズ(又はレンズのシステム)2766により該スペクトロメーター2703内へコリメートされる。蛍光測定中、ランプ2712からの"白色光"は停止される(例えば、該ランプをオフに切り替えることにより、或いはより好ましくは、該ランプをオフに切り替えることなくその光が阻止させられる該ランプ2712の前の高速シャッター2748により)。反射スペクトルを記録するために、該"白色光"が該組織上にある時、該ロータリーフィルターホイール2763は収集された光2757の通路(該ロータリー位置が示されている)内に孔(フィルター無し)を置き、該光はレンズ(又はレンズのシステム)2766により該スペクトロメーター2703内へコリメートされる。

20

【0096】

図1で図解されたシステムへも適用出来る、もう1つの実施例では、該ブロードバンド照明は、該フィルターホイールが回ると、該画像形成センサー(例えば、シーシーデー)の暗い読み出し期間の間のみ該シャッターが開くように、フィルターホイールに位相ロックされた、該スペクトロメーターへの入り口スリットの前に置かれた、シャッターによりスペクトロメーターへ達することを停止されてもよい。

30

【0097】

本発明の光散乱分光システム及び光学プローブの両者用の光源及び検出器システムのなもう1つの実施例が、該システムを動作させる1実施例の異なる図を提示する図28A-Dに略図式に示されている。図28A-Dに図解される様に、光源としてランプが使用されるが、しかしながら、レーザー源を含む、どんな適当な光源も使用出来る。

【0098】

図28A-Dは図29で図解されるスペクトルのシリーズを作るためのデータの取得の1実施例を示す4つの図のシーケンスである。図28Aの2800は第1励起波長位置のシステムを示す。該蛍光励起光源2847は典型的に水銀ランプであるが、例えば、レーザーの様な、何等かの適当な励起光源であってもよい。更に、該励起光源は2つのレーザー(例えば、レーザーダイオード)を含むことが出来て、そこでは例えば、第1は実質的に該図解された源2847の位置に置かれ、第2は反射器2805(それはダイクロイック反射器であってもよい)の背後に置かれる。

40

【0099】

もう1つの実施例では、該光源は赤(例えば、約630-670nmの)で動作しているレーザーダイオード、緑(例えば、約500-550nmの)で動作しているダイオード、そしてバイオレット(例えば、約380-460nmの)で動作しているレーザーダ

50

イオードを有する。

【 0 1 0 0 】

1 バージョンでは、該赤、緑そしてバイオレットのレーザーダイオードは、照明光源及び励起光として役立つために両 " 白色光 " を提供するように操作される。例えば、各 3 つのレーザーダイオードから組織に到着する光の強度及びバンド幅を制御することにより修正ブロードバンド照明 (" 白色光 ") が提供され得る。その時励起光は 1 つ以上の励起波長を提供するよう、例えば、該バイオレットレーザーダイオードにより、該赤レーザーダイオードからの光を周波数 2 倍化することにより [例えば、リン酸カリウム-酸化チタン (K TiOPo_4) { ケーテーピー (KTP) } 結晶を用いて]、又は両者で、提供され得る。

【 0 1 0 1 】

第 1 励起波長位置の該システムを用いると、該蛍光励起光源からの光はレンズ 2 8 4 8 によりコリメートされ、該照明ファイバーへの入力用の特定のバンドの波長を選択するために好ましくは源ホイール 2 8 1 0 のバンドパスフィルター 2 8 5 0 を通過するのがよい。レンズ 2 8 4 8 及び 2 8 0 6 の精密な軸方向位置は、白色光及び励起光の両者がレンズ 2 8 2 2 により照明ファイバー 2 8 2 4 上に最適に焦点合わせされるよう、設定される。簡単な色消し又は溶融石英レンズを用いて、これら 2 つの条件は焦点合わせする自由度の全部を使い果たす。該ホイールシステム 2 8 1 0 - 2 8 1 6 が図 2 8 A の位置から図 2 8 B の位置まで 9 0 度時計方向に回されると、該 " 白色光 " 源からの光は該照明ファイバー 2 8 2 4 へ送られる。該ホイールシステムは該減速ベルトドライブシステム 2 8 1 4 を通して該ステッパ (又はサーボ) モーター 2 8 1 2 により望まれる回転角度へ動かされる。ホイール 2 8 1 0 及び 2 8 1 6 とドライブプーリー 2 8 1 4 は、それらが回転位相にあるように同じシャフトに堅く固定される。

【 0 1 0 2 】

図 2 8 B は " 白色光 " 位置 2 8 7 0 の該システムを示す。該 " 白色光 " 源 2 8 0 2 は典型的にはキセノンアークランプであるが、上記説明の様にどんな適当なブロードバンド照明源であってもよい。ミラー 2 8 0 4 の傾斜 (tip) とチルト (tilt) が、該アーク自身を動かす必要無しに色消し収集レンズ 2 8 0 6 の光軸線へ該アーク位置を調整するため使用される。レンズ 2 8 0 6 を出る該コリメートされた " 白色光 " ビームはホイール 2 8 1 0 に取り付けられた回転反射器 (例えば、ミラー又はプリズム) 2 8 0 8 に到着し、該ホイールシステム 2 8 1 0 - 2 8 1 6 の回転軸線に平行に進む。反射器 (例えば、ミラー又はプリズム) 2 8 1 8 はそれが回転ミラー 2 8 0 8 と平行になるようホイール 2 8 1 0 に固定される。この条件は反射器 2 8 1 8 を反射されたビームが又該ホイールシステムの回転軸線に平行にも進むことを保証する。該反射器 2 8 1 8 から反射したビームの伝播方向は、該ホイールシステムとその取り付けられたミラーが 1 つの剛体として動く限り該ホイールシステムの位置 (回転位置を含む) に対し不変 (invariant) である。

【 0 1 0 3 】

次いで " 白色光 " ビームの方向は焦点合わせレンズ 2 8 2 2 の光軸上へ反射プリズム 2 8 2 0 により 9 0 度曲げられる。該システム 2 8 2 4 用照明ファイバーの端部はレンズ 2 8 2 2 の焦点にセットされる。該レンズ 2 8 2 2 に入る " 白色光 " はその光軸に平行なので、該光は該照明ファイバーの焦点と端部に到着する。この配置の目的は、該ホイールシステムの位置付けが該システムの実用性能に対し重要にならないように、源 2 8 0 2 からの " 白色光 " が該ホイールシステムの拡張された回転角度上で該照明ファイバーの端部 2 8 2 4 に入ることである。

【 0 1 0 4 】

該ホイールシステム 2 8 1 0 - 2 8 1 6 が図 2 8 B の位置から図 2 8 C の位置まで 9 0 度時計方向に回されると、第 2 励起波長位置に到着する。図 2 8 C は該第 2 励起波長位置 2 8 8 0 の該システムを示す。レンズ 2 8 5 2 は該照明ファイバー 2 8 2 4 上にそれが最適にも焦点合わせされるように第 2 励起波長の焦点を調整する。このレンズは、第 1 励起波長より比較的長いか又は短い第 2 励起バンド波長用には、凸であっても凹であってもよい。好ましくは、バンドパスフィルター 2 8 5 4 は該第 2 励起バンドの波長を設定するの

10

20

30

40

50

がよい。

【0105】

該励起波長を提供する水銀アークランプ源2847を用いて、該システムは300nmから420nmの波長で蛍光励起電力を提供出来る。該ランプ電流がパルス化されないなら、340nm, 365nm及び405nmでの突出水銀線 (prominent mercury line) に近い波長が最も有用である。パルス化電流運転では、より高い黒体連続体 (higher blackbody continuum) は該300から420nm領域の全波長を使用可能にする。種々の中心波長での固体蛍光励起源を用いると、該源は源2847の位置での1つの明るい源を提供するためにダイクロイックミラーと有効に組み合わせられ得る。この場合バンドパスフィルター2850と2854は必要ない。

10

【0106】

該ホイールシステム2810 - 2816が図28Cの位置から図28Dの位置へ90度時計方向に回されると、"光無し (no light)" 位置に到着する。図28Dは該"光無し" 位置の該システムを示し、光は照明ファイバー2824の端部に入らない。この場合、該蛍光励起光源2847からの光は反射器2808と2818で反射し、反対側上で該ホイールシステムを出てそこでそれは放出 (dump) される。該"白色光" 源2802からの該光は反射器2808から、それが放出される側へ反射される。

【0107】

もう1つの実施例では、該ブロードバンド照明は、該フィルターホイールが回ると、該画像形成センサー (例えば、シーシーデー) の暗い読み出し期間の間のみ該シャッターが開くように、フィルターホイールに位相ロックされた、該スペクトロメーターへの入り口スリットの前に置かれた、シャッターによりスペクトロメーターへの到着を停止されてもよい。

20

【0108】

図28A - Dを参照すると、該光学プローブからの光は収集光ファイバー2826により該システムへ戻される。該光ファイバーのプローブから該収集ファイバー2826の近位の端部はスペクトロメーター2840 - 2844の垂直スリット2838と整合する1本の線内に垂直に配置されるのが好ましい。該収集ファイバー2826の間隔は明確化のために図28A - Dでは誇張されている。該プローブから受けた光はレンズ2828によりコリメートされ、プリズム2830によりフィルターホイール2816を通り、光をレンズ2836上へ向ける反射器2834上へ曲げられるが、該レンズはそれを該スペクトロメーターの入り口スリット2838上へ焦点合わせする。

30

【0109】

該ホイールシステム2810 - 2816が第1励起波長位置にある時 (図28A)、該フィルターホイール2816内のその励起バンドを阻止するフィルター2851は、第1励起波長蛍光スペクトルが該スペクトロメーターにより得られる時励起光が該スペクトロメーターに到着するのを防止するために操向プリズム (steering prism) 2830と該反射器2834の間の光路内に入る。同様に、該ホイールシステム2810 - 2816が第2励起波長位置にある時 (図28C)、該第2励起バンド用阻止フィルター2855は該ホイールシステムの回転により該受光通路内に持ち込まれる。第2励起波長蛍光スペクトルはその時該スペクトロメーターにより得られる。

40

【0110】

励起光阻止フィルターの存在は、蛍光が励起光より典型的に千倍弱いので、重要である。もし組織からの該励起光の反射がそれを該スペクトロメーターへ入れるなら、それらは該シーシーデー画素を飽和させ、それにより該蛍光スペクトルの画像内に欠陥を引き起こす。

【0111】

該ホイールシステム2810 - 2816が該"白色光" 位置にある時 (図28B)、フィルターホイール2816の透明孔2832は受光した光の全てを通過可能とし、該スペクトロメーターにより"白色光" 反射スペクトルが得られる。同様に、該ホイールシステ

50

ム 2 8 1 0 - 2 8 1 6 が " 光無し " 位置にある時 (図 2 8 D) 、フィルターホイール 2 8 1 6 の透明孔 2 8 4 6 は受光した光の全てを該スペクトロメーターへ通過させ、背景スペクトルを作る。両光源 2 8 0 4 , 2 8 4 7 が該源ホイール 2 8 1 0 上の反射器により阻止される時は、該フィルターホイール上には透明開口部 2 8 4 6 があり、それは外部照明 (室灯、内視鏡照明、他) による該組織からの光を該スペクトロメーターへ到達させる。この位置で取られた背景スペクトルは、このノイズ源を減じるために他のスペクトルから引き算されるのが好ましい。例えば、もし光ファイバプローブを位置付けるために使われる内視鏡の照明光が測定中オンに留まるなら、該組織を通して該光ファイバプローブの先端へ透過される外部光のスペクトルは " 光無し " 構成で測定され得る。

【 0 1 1 2 】

該スペクトロメーター内部では反射器 2 8 4 0 は光の拡大ビームをホログラフィック / フォーカシンググレーティング (holographic / focusig grating) 2 8 4 2 へ導き、該グレーティングは該スリットを波長分散を有するシーシーデーカメラ上に再画像形成する。該シーシーデー画素の読みレジスター (read register) の方への連続シフトが、例えば、 (1) 第 1 励起波長蛍光、 (2) " 白色光 " 反射、 (3) 第 2 励起波長蛍光そして (4) 背景光、の様な得られたスペクトル用の記憶機構として役立つように、該第 1 スペクトルは該シーシーデー 2 8 4 4 の底部 (bottom) 上へ画像形成されるのが好ましい。図 2 9 は、図 2 8 A - D のそれと実質的に同様なシステムを用いて人の下唇のバーミリオン境界上皮層 (human vermillion border epithelial layer of the lower lip) から測定されたこの様なスペクトルのセットを示す。

【 0 1 1 3 】

図 2 9 は、励起光源が水銀アークランプを、そして照明源がキセノンアークランプを具備する図 2 8 A - D と実質的に同様な光散乱分光システムで得られた、人のバーミリオン境界上皮組織 (唇の赤い部分) のスペクトルを図解している。表示 2 9 0 0 はシーシーデー画素による光電子 (photoelectron) 発生を略図式に示し、増加した暗さ (例えば、黒いドット) は増加した光電子発生を示す。該表示 2 9 0 0 の垂直軸線はスペクトル取得の順序を示す。例えば、第 1 スペクトル 2 9 0 1 は該シーシーデーの底部上に画像形成され、該第 1 スペクトルの画素は次いで読みレジスターの方へシフトされ、第 2 スペクトル 2 9 0 2 が得られる。このシフトは該表示 2 9 0 0 で第 1 スペクトル 2 9 0 1 の上方への垂直変位として現れる。スペクトルの該シフティング (shifting) と取得は続き、第 3 スペクトル 2 9 0 3 と第 4 スペクトル 2 9 0 4 を得る。このシフティングは、全ての 4 つのスペクトルが一緒に表示される時、該第 1 スペクトル 2 9 0 1 を該表示の頂部に、該第 4 スペクトルを該底部に現れさせる。該表示 2 9 0 0 の水平軸線は、ホログラフィック / フォーカシンググレーティングによる光の分散のために該シーシーデーカメラを叩く光の波長を表す。

【 0 1 1 4 】

該第 1 スペクトル 2 9 0 1 は、図 2 8 A のそれと実質的に同様なシステム構成で得られる 3 4 0 nm に中心のある第 1 励起波長バンド用の第 1 励起波長蛍光スペクトルである。該第 1 スペクトル 2 9 0 1 は該フィルターホイール内の 3 4 0 nm 阻止フィルター (ロングパスフィルター) を通して、1 0 0 m s シーシーデーカメラ露光で得られた。該スペクトル 2 9 0 1 - 2 9 0 4 の " トラック " 2 9 0 6 は収集スペクトルから戻され該スペクトロメーターへ渡された光を表す。該スペクトル 2 9 0 1 - 2 9 0 4 の該 " ギャップ " 2 9 0 8 は壊れた (broken) 収集光ファイバーに依る。

【 0 1 1 5 】

該第 2 スペクトル 2 9 0 2 は図 2 8 B のそれと実質的に同様なシステム構成で、6 m s シーシーデーカメラ露光で得られた " 白色光 " 反射スペクトルである。該反射スペクトル取得時の短縮された露光時間は該シーシーデーカメラの飽和を避けることを容易化し、多数スペクトルセットを得るためのデューティサイクルを改善する。

【 0 1 1 6 】

第 3 スペクトル 2 9 0 3 は、図 2 8 C のそれと実質的に同様なシステム構成で得られた

10

20

30

40

50

405 nmに中心のある第2励起波長バンド用の第2励起波長蛍光スペクトルである。該第3スペクトル2903は該フィルターホイールの405 nm阻止フィルターを通して100 msシーシーデーカメラ露光で得られた。該第4スペクトル2904は図28Dのそれと実質的に同様なシステム構成で、100 msシーシーデーカメラ露光で得られた背景スペクトルである。好ましい実施例では、該4つのスペクトル用の合計取得時間は約1秒である。

【0117】

内視鏡照明が蛍光スペクトル取得中組織上に留まる1実施例では、該内視鏡照明無しの修正蛍光スペクトルを得るために、該“背景”スペクトルは組み合わされた蛍光及び背景スペクトルから引き算された。この方法は、例えば背景スペクトルが完全に引き算出来ても該修正蛍光スペクトルにノイズを付加し、何故ならば該背景上のショットノイズ (shot noise) が該蛍光上のショットノイズと相関関係にない (uncorrelated) からである。

10

【0118】

該検出器システムの画像形成センサー、例えば、シーシーデー、CMOS画像形成デバイス又は他の画像形成センサー、は該センサー上に画像形成されたスペクトルの電子的表現を発生する。例えば、シーシーデーは、画像形成された光、従って画像形成された組織の実時間可視化を達成するために多数フレームのデータ (例えば、シーケンシャルなスペクトル) を検出し、記憶しそして表示する能力を提供出来る。1実施例では、シーシーデーは、照明及び収集路が開くようスイッチされると、各シーケンシャルなスペクトルを記憶する。該取得されたスペクトルは、標準的シーシーデー読み出し電子機器を用いて、スペクトル“画像”として1度に読み出される。或る実施例では、複数の検出器素子 (画素) は、例えば、蛍光スペクトルの取得で、望まれる解像度を提供するためにグループ化又はピン (binned) され得る。他の実施例では、該シーシーデーは、ピンすることを減じる、又は除くために、読み出し速度に関して、十分なダイナミックレンジ (dynamic range) を有する。

20

【0119】

加えて、本発明のシステムの好ましい実施例では、該検出器システムは、例えば、内視鏡、画像センサー、又は両者により提供される研究下の組織の、画像を取得するためのフレームグラバー (frame grabber) を有する。好ましくは、例えばスペクトルが得られる組織上の位置に関する情報を提供するために、組織研究の全ての基準位置について画像が取得されるのがよい。

30

【0120】

好ましくは、光源のスペクトル出力が測定され、該検出器システムのスペクトル感度 (spectral sensitivity) が校正されるのがよい。1実施例では、例えば、該修正ブロードバンド照明 (“白色光”) 及び励起光について光源のスペクトル出力が、該検出器システムへの入力として、該照明ファイバー又は複数ファイバーの出力を使うことにより測定される。例えば、図28A-Dを参照すると、4つの取得位置2800, 2870, 2880, 2890の各々で光源のスペクトル出力を測定するために、収集光ファイバー2826の代わりに、該照明光ファイバー2824の遠位の端部がレンズ2828内への入力として使用される。1実施例では、該検出器システムは基準光源を提供し、該基準光源出力とその検出器システム応答との比較に基づき、波長と共に変わる、該検出器システム用修正係数を決定することにより校正される。検出器システム校正の1実施例の例が、図28A-Dのそれと実質的に同様なシステムについて図30A-Dで図解される。

40

【0121】

図30A-Dを参照すると、1実施例では、6Vウシオ (6V Ushio) “3200ケルビン (3200 Kelvin)” タングステンランプが基準源として使用された。該タングステンランプのスペクトルが校正されたフォトダイオード (photodiode) と狭帯域フィルターで測定された。400 nmに概略中心がある狭帯域フィルター3010の透過曲線が図30Aに示される。該測定されたデータは、図30Bで図解される様に、実際のタングステンランプ温度を決めるために、電力対波長曲線3020としてプロットされ、そこでは実線3

50

022は該測定されたデータ(空の正方形)3024への黒体放射曲線の適合線(fit)である。該適合線は3059ケルビンのタングステンランプ黒体温度を生じる。該シーシーデーにより測定された該スペクトルにより該校正されたランプスペクトルを割ると修正係数を生じる。図30Cはシーシーデー応答を波長3030の関数として示し、そこではタングステンランプスペクトルへの黒体適合線3032(破線)が該シーシーデーにより測定されたタングステンランプスペクトル3034(実線)上に重ね合わされている。図30Dは最終シーシーデー校正を修正曲線3040として示し、それは修正係数(x軸線)を該検出器システム用の波長(y軸線)の関数として提供する。

【0122】

本発明の原理が適用され得る広範な種類の実施例を見ると、図解された実施例は単に例示的で、本発明の範囲を限定すると取られるべきでないことは理解されるべきである。例えば、流れ図(flow diagram)の過程は説明されたそれらより他のシーケンスで取られてもよく、該ブロック線図ではより多く又はより少ない要素が使用されてもよい。好ましい実施例の種々の要素がソフトウェアで実施される様に説明されたが、他の実施例では代わりにハードウェア又はファームウェアでの実施が使われてもよく、その逆も成立する。

【0123】

戻って図27を参照すると、制御器2794は画像形成センサー又は検出器2775に電氣的に接続され、又検出器がスペクトロメーター2703に接続される。更に、該取得されたスペクトルを処理し粒子寸法分布を決定するための解析プログラムを実行出来るデータプロセサー2790の様な処理ユニットが該スペクトロメーターに接続される。画像ディスプレイ2792は該プロセサーと接続され得る。図27に関し図解されたが、該制御器、プロセサーそしてディスプレイユニットは図解される実施例のどれと接続されることも出来る。

【0124】

或る実施例では、該データプロセサーは汎用コンピュータ上のソフトウェアとして本発明の方法の解析プログラム及び/又は機能を実施してもよい。加えて、この様なプログラムは、解析プログラム、光源制御、検出器システムスペクトル取得、そして該測定されたスペクトルを用いた及びそれに関する操作、に影響する制御ロジックを提供するために、コンピュータのランダムアクセスメモリーの部分を取っておいてもよい。この様な実施例では、該プログラムはフォートラン(FORTRAN)、パスカル(PASCAL)、シー(C)、シーplusplus(C++)、又はベーシック(BASIC)の様な、多くの高級言語の何れか1つで書かれてもよい。更に、該プログラムはスクリプト(script)、マクロ(macro)又はエクセル(EXCEL)又はビジュアルベーシック(VISUAL BASIC)の様な、商業的に入手可能なソフトウェア内に埋め込まれた機能(functionality)で書かれてもよい。加えて、該ソフトウェアはコンピュータ上にあるマイクロプロセサーに向けられたアセンブリ言語で実施されることも出来る。例えば、該ソフトウェアは、もしそれがアイビーエムピーシー(IBM PC)又はクローンピーシー(PC clone)上でランするよう構成されるなら、インテル80x86アセンブリ言語で実施されることも出来る。該ソフトウェアは、その上に記憶されたコンピュータ読み出し可能なプログラムコードセグメントを有する、ハードドライブデバイス(hard drive device)、シーデーロム(CD-ROM)、デーブイデーロム(DVD-ROM)又はコンピュータディスクットの様なコンピュータ使用可能な媒体を含むが、それに限定されない、製造品上に埋め込まれてもよい。

【0125】

光散乱分光法用のシステムと方法に含まれる方法がコンピュータ使用可能な媒体を含むコンピュータプログラム製品内に具体化されてもよいことは当業者には明らかである。例えば、この様なコンピュータ使用可能な媒体は、その上に記憶されたコンピュータ読み出し可能なプログラムコードセグメントを有する、ハードドライブデバイス、シーデーロム、デーブイデーロム又はコンピュータディスクットの様な読み出し可能なメモリーデバイスを含むことが出来る。該コンピュータ読み出し可能な媒体は又、デジタル又はアナログデータ信号としてその上に担われたプログラムコードセグメントを有する光学的、有線又

10

20

30

40

50

は無線のバス又は通信リンクの様な通信又は伝送媒体を含むことが出来る。

【0126】

請求項はその影響に対して述べられてないならば説明された順序又は要素に限定されると読まれるべきでない。従って、付属する請求項又はその均等物の範囲又は精神内に入る全ての実施例は本発明として請求される。

【図面の簡単な説明】

【0127】

本発明の好ましい実施例は下記図面を参照して説明される。

【図1】光散乱分光システム用の光源と検出器システムの1実施例を図解する略線図である。

10

【図2A】光散乱分光法のみならず蛍光及び反射スペクトルをも提供するシステムの1構成を図解する略線図である。

【図2B】2つの波長を分離し、それらをフィルタリング後1つの照明光ファイバー内へ再組み合わせするためダイクロイックミラーが使用される実施例を図解する略線図である。

【図3A】光散乱分光システムのもう1つの構成を図解する略線図である。

【図3B】白色光源として水銀アークランプも使用される光散乱分光システムのもう1つの構成を図解する略線図である。

【図4】偏光散乱分光法のみならず蛍光及び反射スペクトルも提供するシステムの1実施例を図解する略線図である。

20

【図5A】1つの偏光子を組み入れる偏光散乱分光システムの光学プローブ要素の1実施例を図解する略線図である。

【図5B】2つの交差偏光子を組み入れた偏光散乱分光システムの光学プローブ要素の1実施例を図解する略線図である。

【図6】内側ファイバーサポートと外側ファイバーサポートとを有するリターナーモジュールを組み入れた偏光散乱分光システムの光学プローブ要素の1実施例を図解する略線図である。

【図7】解析プログラムの実施例を図解する略線図である。

【図8】直接的ミー後方散乱及び拡散散乱からの光に関して、光散乱分光システムの光学プローブ要素の実施例を図解する略線図である。

30

【図9A - 9C】エルエスエス測定用に目的のある寸法範囲の粒子について、1つのカラーの典型的ミー散乱強度分布を図解する線図である。

【図10A - 10B】それぞれ正常結腸細胞、及びT84細胞について細胞単一層 (cell monolayers) からの反射スペクトルを図解する。

【図10C】図10A及び10Bのデータからの核寸法分布を図解する。

【図10D】バレット食道の正常サイト (実線) 及び形成異常サイト (破線) からの反射スペクトルである。

【図10E】図10Dのデータについて核寸法分布を図解する。

【図11】バレット食道内の形成異常が成功裡に診断出来ることを示すエルエスエス技術の臨床試験の結果を図解する線図である。

40

【図12】2種類のプローブを図解する略線図であり、12Aに示すプローブの種類は後方散乱光と拡散的散乱光の両者を受け、一方図12Bに示すプローブの種類は拡散的に散乱光のみを受ける。

【図13】180度の近くに後方散乱した強度の角度分布を測定するために好適な画像形成エルエスエス器具を図解する略線図である。

【図14】ポリスチレンビーズの仮想組織内で使用される種類のマイクロ写真である。

【図15】偏光照明を使用した場合及び非偏波照明を使用した場合に得られる後方散乱光の角度分布を図解する線図である。

【図16】5mm厚さの光学窓の背後に350 μm 離し隔てられた、直径100 μm の照明光ファイバーと直径50 μm の収集光ファイバーとを用いる非偏波光学プローブについ

50

て、予測非偏波ミー (Mie) 散乱を図解するグラフである。

【図 17】改良された光ファイバプローブを用いて取得される、 $10\text{ }\mu\text{m}$ (上部パネル) 及び $5\text{ }\mu\text{m}$ (下部パネル) 細胞核について、偏光ミー後方散乱に基づく予測スペクトルを図解するグラフである。

【図 18】細胞核をシミュレートするため設計された屈折率整合用媒体内のポリスチレンビーズの仮想組織から、尺度合わせされた (scaled) エルエスエスプローブを用いて測定された偏光後方散乱スペクトルを図解するグラフである。

【図 19】マイナス p として計算された差スペクトルが、少ない低周波ミー後方散乱又は背景光を表すことを示すグラフである。

【図 20】溶解ヘモグロビンを有する拡散散乱サブレイヤー (diffuse scattering sublayer) を含むポリスチレンビーズ仮想組織の実験的測定の結果を示すグラフである。 10

【図 21】同じ中心直径の球についての理論計算と比較したポリスチレンビーズから後方散乱した光の差スペクトルを示すグラフである。

【図 22】 $10\text{ }\mu\text{m}$ ビーズの懸濁液からの予測 $s - p$ 信号 (上部パネル、図 22 A) と振動の周波数を表すエフエフター (下部パネル、図 22 B) とを示すグラフである。

【図 23】 $9.14\text{ }\mu\text{m}$ ポリスチレンビーズからの実験データのエフエフターを示すグラフである。

【図 24】予測スペクトルからのフーリエ変換のピーク位置が、対応する差スペクトルのフーリエ変換からその実験データの散乱させる粒子寸法を正しく決定する直線尺度合わせ定数へ、適合されることを示すグラフである。 20

【図 25】よりブロードな寸法分布を有する粒子の母集団について予測されたスペクトルの例を図解し、非偏波光光学プローブと偏光光学プローブについて予測された結果を比較し、逆波長空間内にプロットされたエルエスエススペクトル (図 25 A) と対応するエフエフター (図 25 B) を示すグラフのセットである。

【図 26】逆波長空間内にプロットされたエルエスエススペクトル (図 26 A) と対応するエフエフター (図 26 B) とを示す、偏光光学プローブについて、狭い寸法分布 (平均 = $9.1\text{ }\mu\text{m}$ 、シグマ = $0.2\text{ }\mu\text{m}$) を有する粒子の母集団について予測されたスペクトルを、よりブロードな寸法分布 (平均 = $9.1\text{ }\mu\text{m}$ 、シグマ = $1.0\text{ }\mu\text{m}$) を有する粒子の母集団についてのそれらと比較するグラフのセットである。

【図 27】光散乱分光システム用の光源と検出器システムのもう 1 つの実施例の略線図である。 30

【図 28 A - 28 D】光散乱分光システム用の光源と検出器システムの 1 構成の種々の略線図である。

【図 29】図 28 A - D のそれと実質的に同様なシステムを使って人の下唇のパーミリオン境界上皮層から測定されたスペクトルのセットである。

【図 30 A - D】図 28 A - D のそれと実質的に同様なシステムの検出器システムの校正を図解する。

【図 3 B】

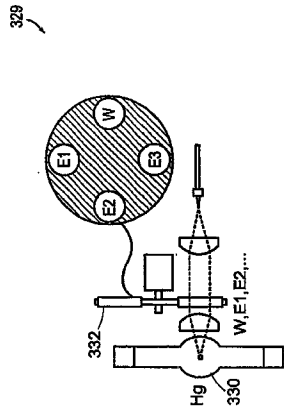


FIG. 3B

【図 4】

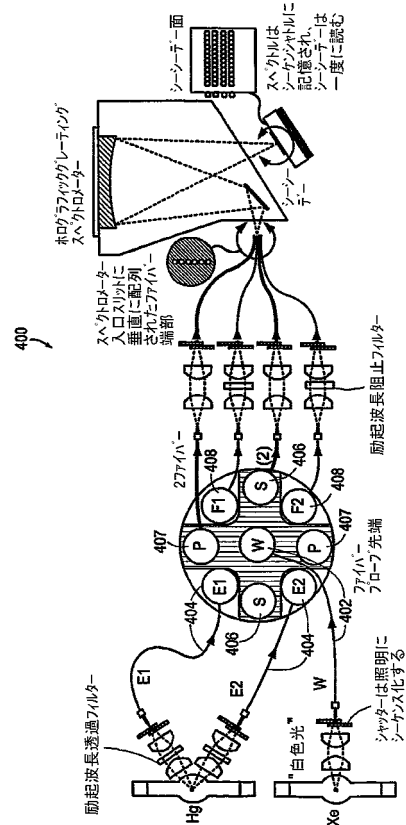


FIG. 4

【図 5 A】

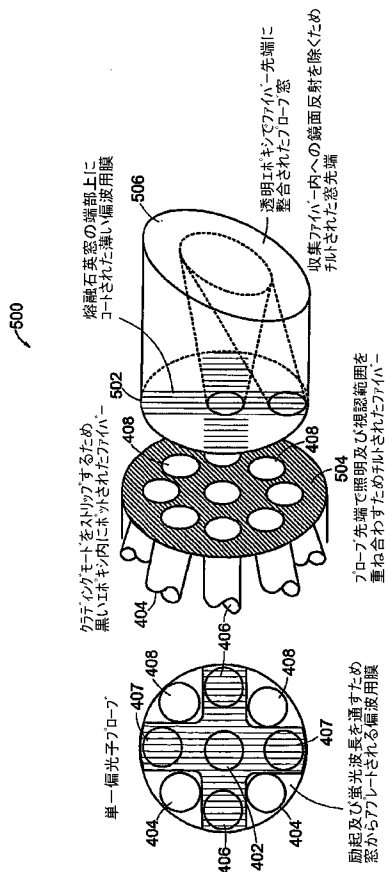


FIG. 5A

【図 5 B】

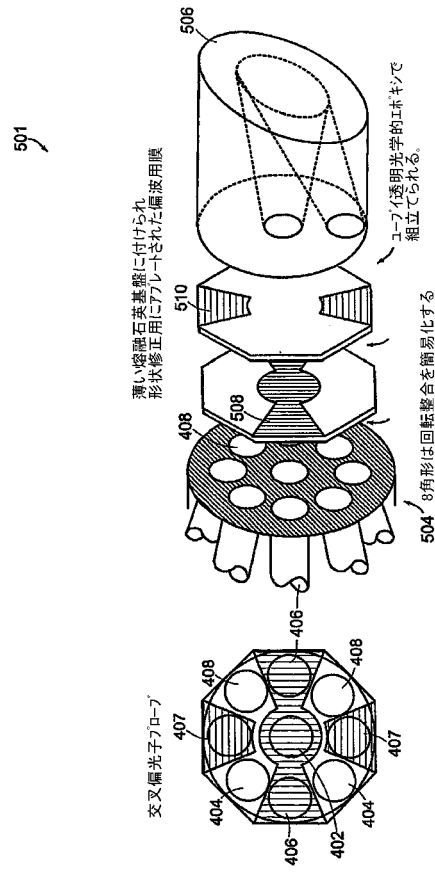


FIG. 5B

【図 6】

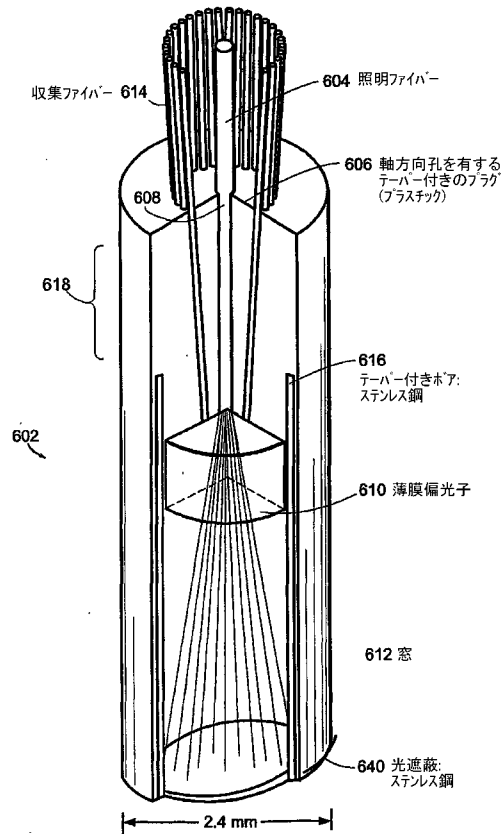


FIG. 6

【図 7】

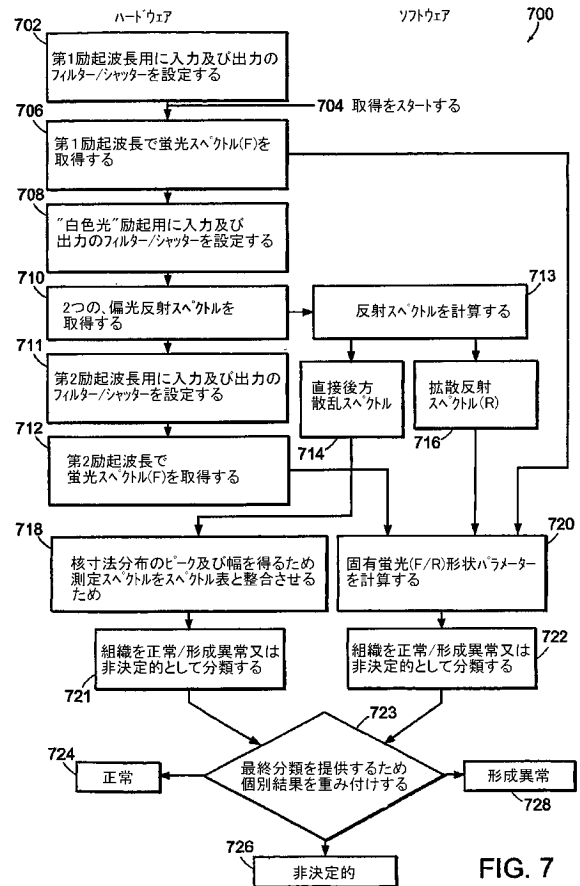


FIG. 7

【図 8】

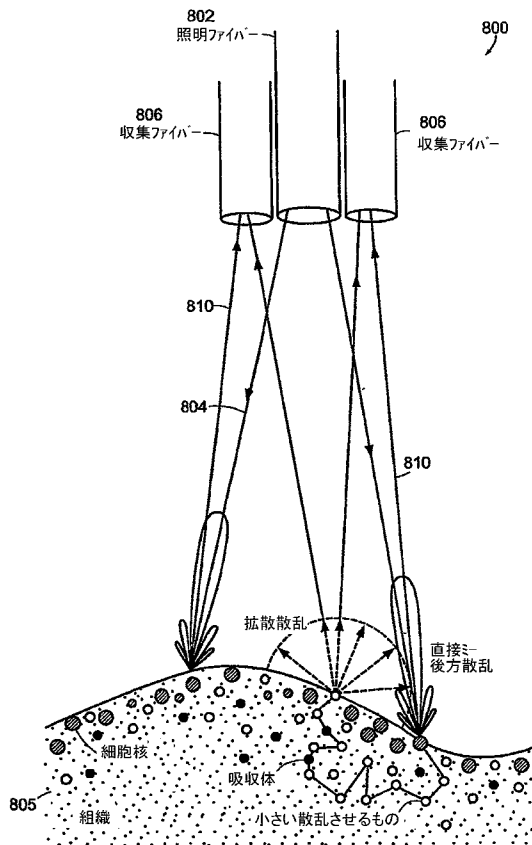


FIG. 8

【図 9 A - 9 C】

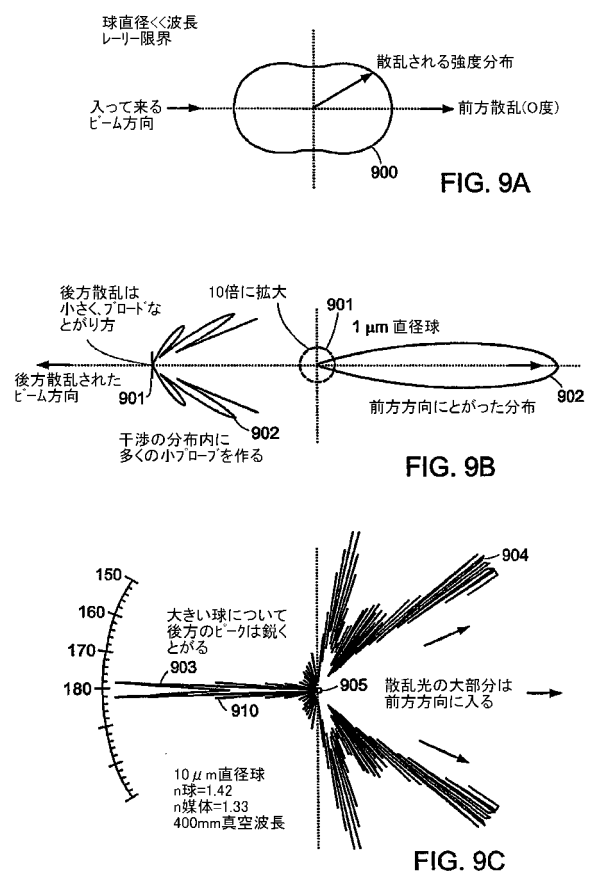


FIG. 9B

FIG. 9C

【図 10 A - 10 C】

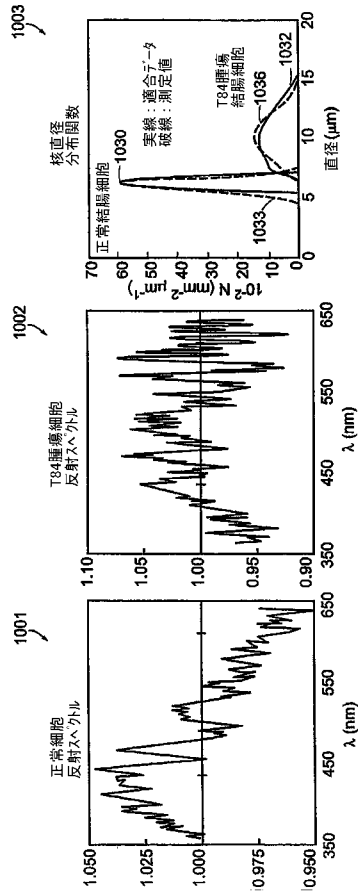


FIG 10C

FIG 10B

FIG 10A

【図 1 1】

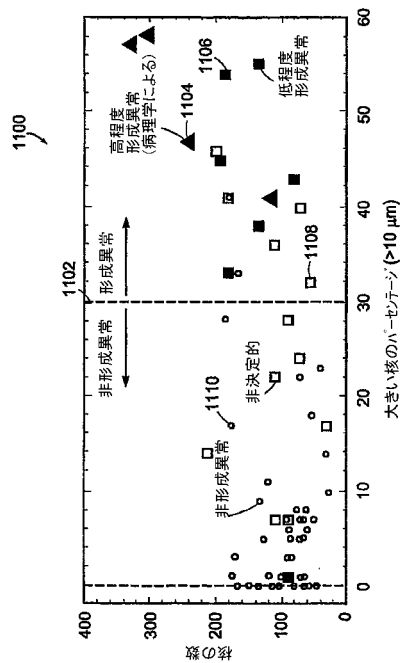


FIG. 11

【図 10 D - 10 E】

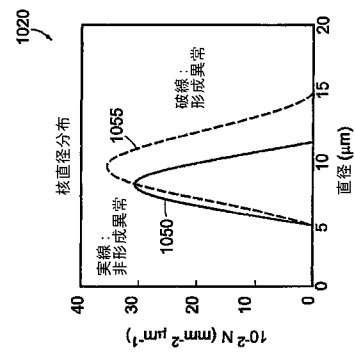


FIG. 10E

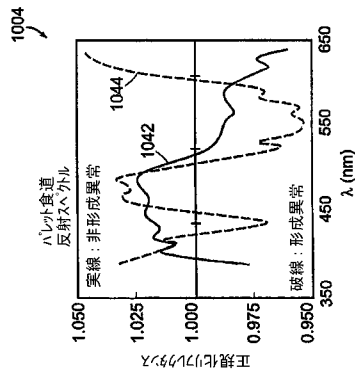


FIG. 10D

【図 1 2 A - 1 2 B】

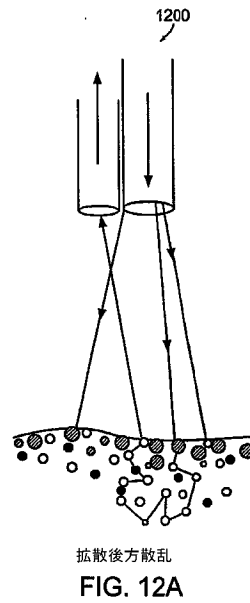
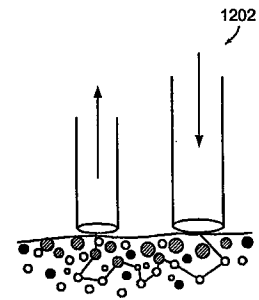


FIG. 12A



組織透過

FIG. 12B

【図 13】

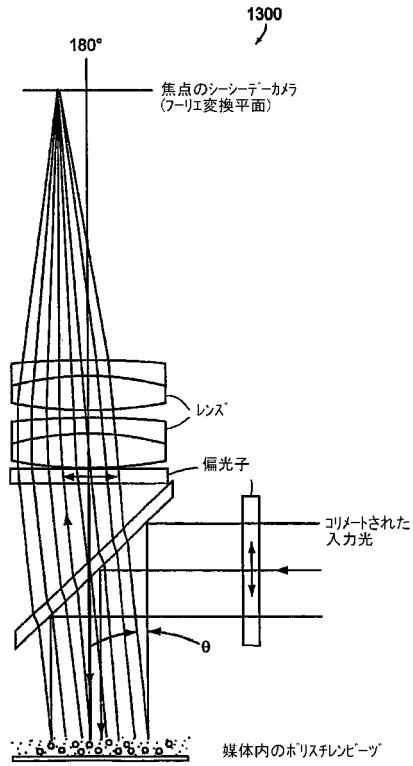


FIG. 13

【図 14】

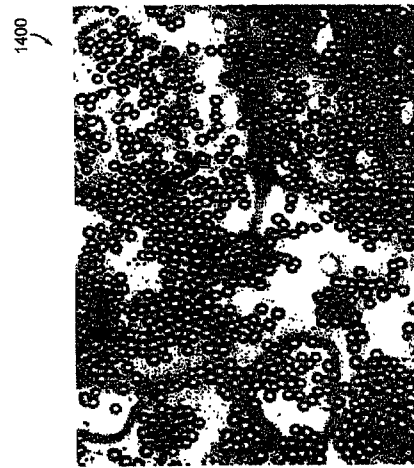


FIG. 14

【図 15 (1)】

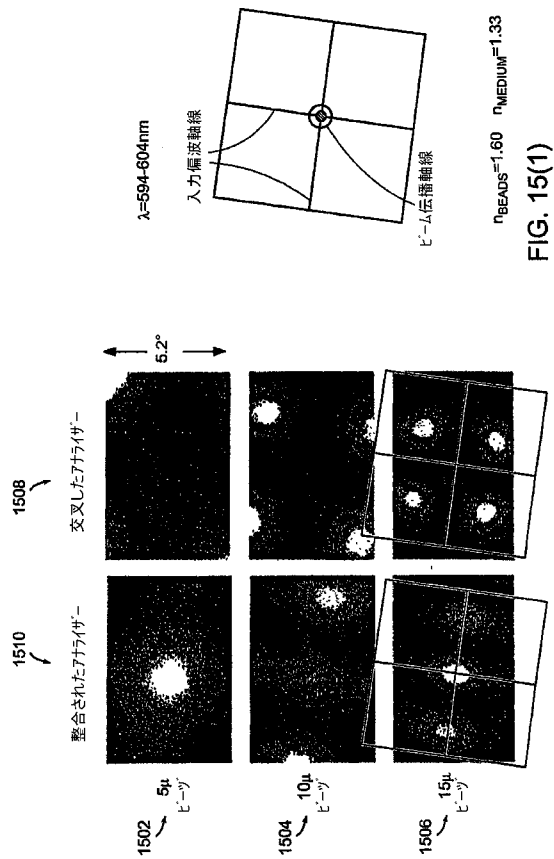


FIG. 15(1)

【図 15 (2)】

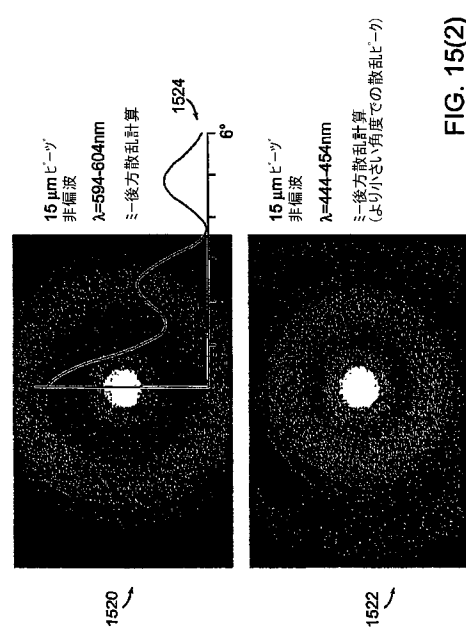
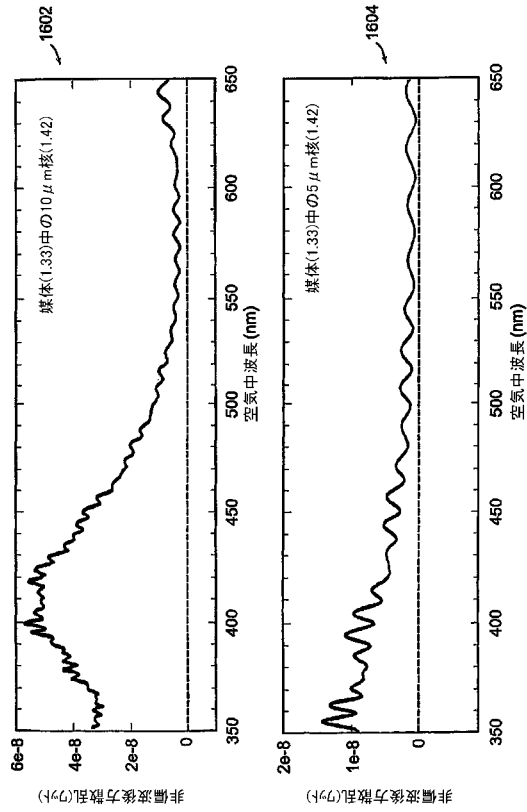
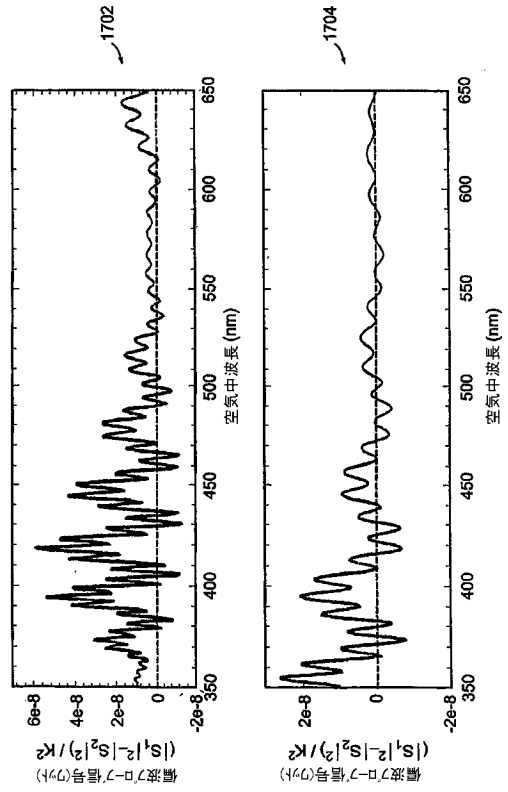


FIG. 15(2)

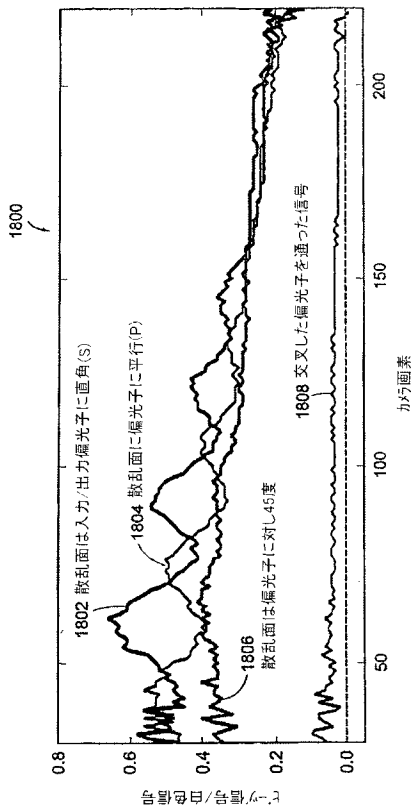
【図 16】



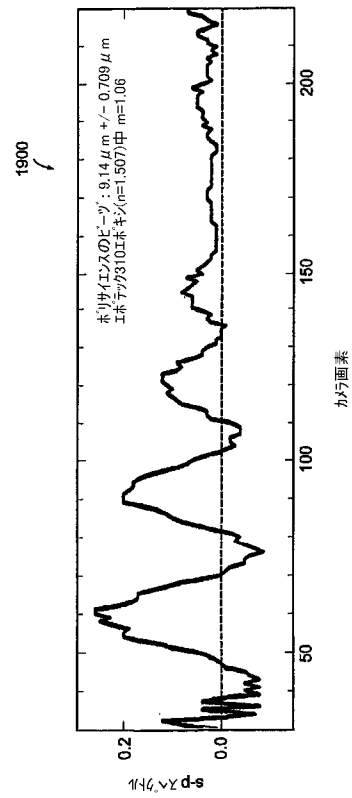
【図 17】



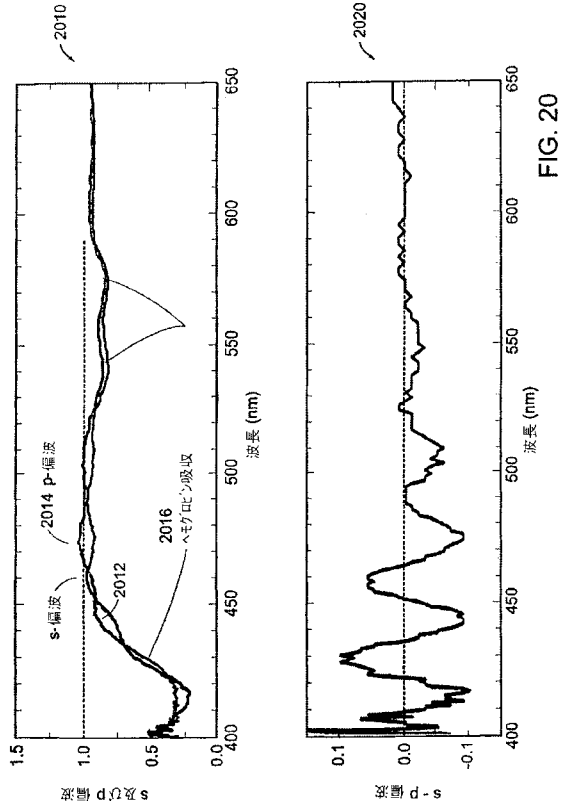
【図 18】



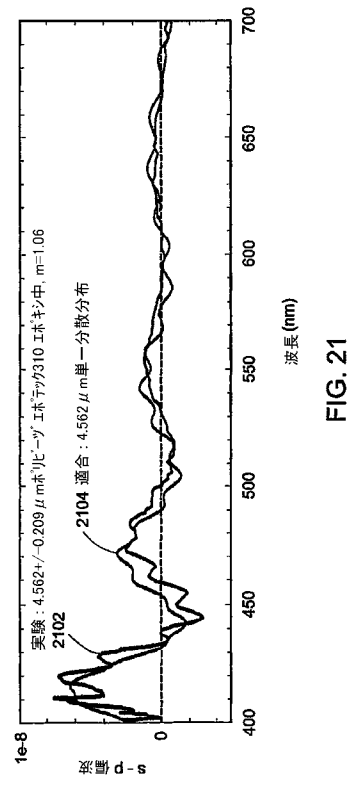
【図 19】



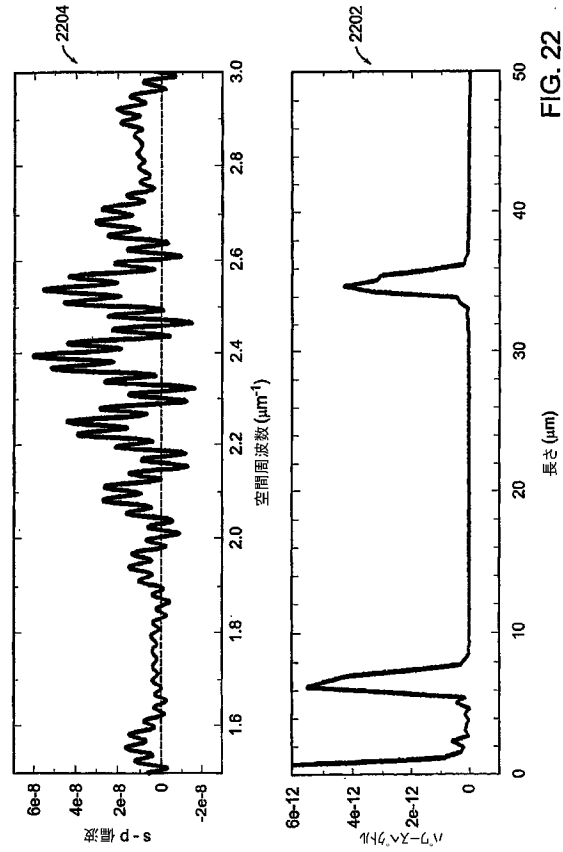
【図 20】



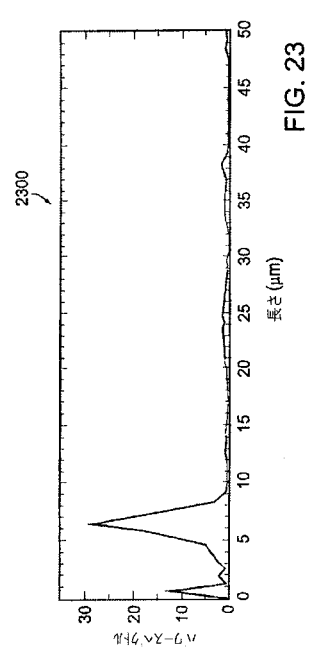
【図 21】



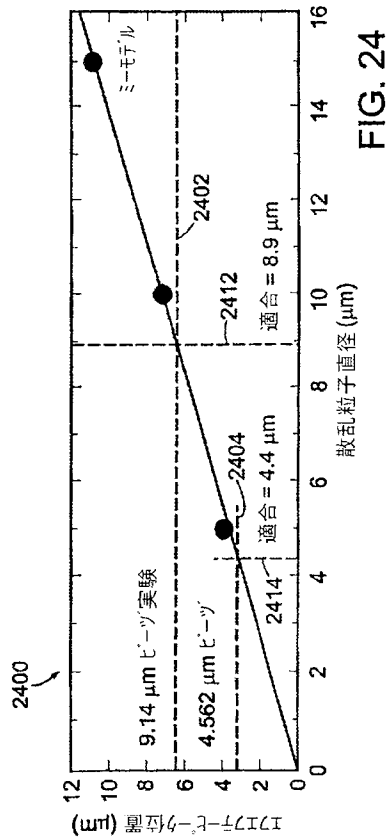
【図 22】



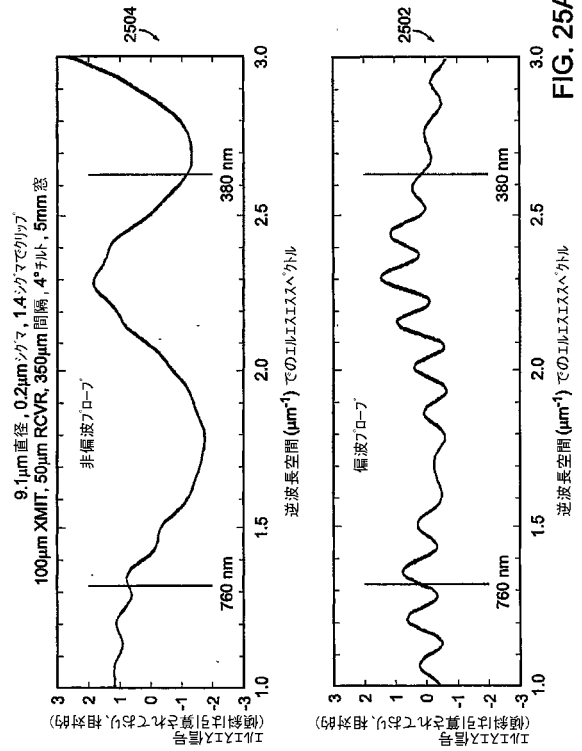
【図 23】



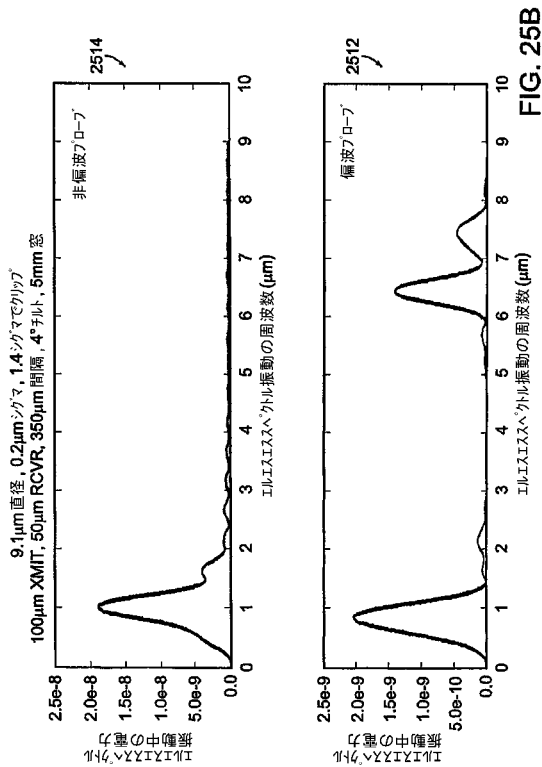
【図 24】



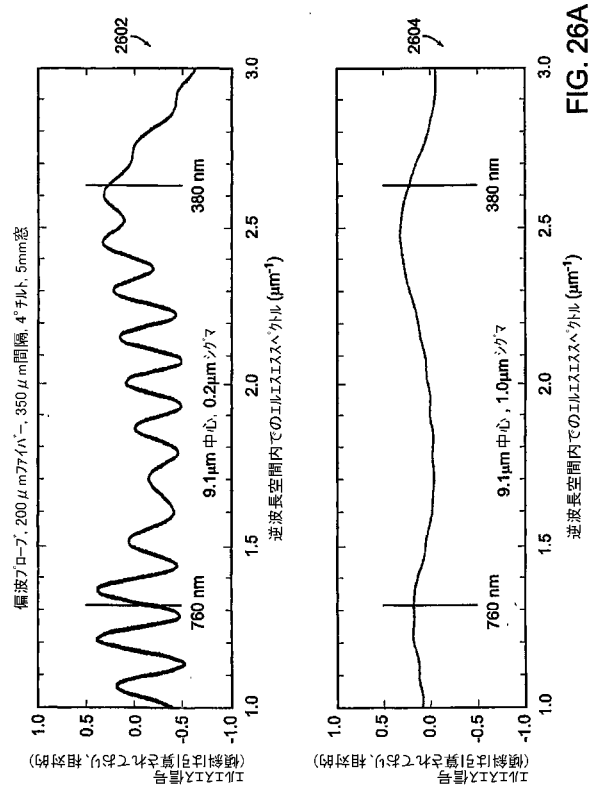
【図 25A】



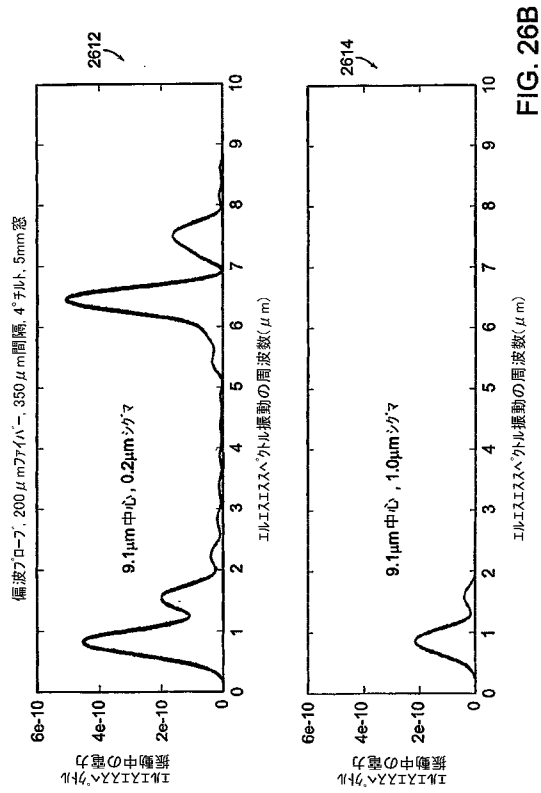
【図 25B】



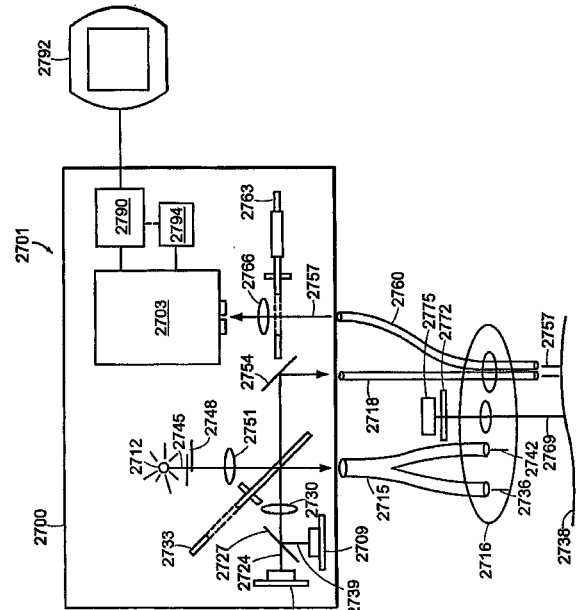
【図 26A】



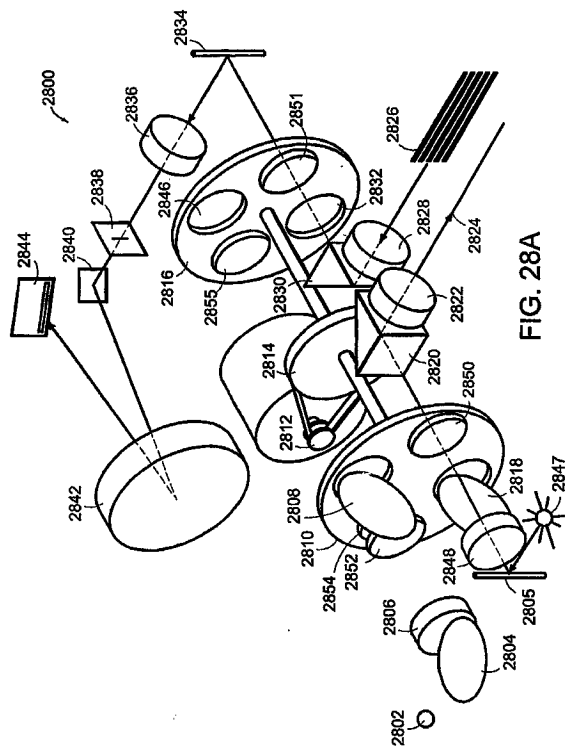
【図 26 B】



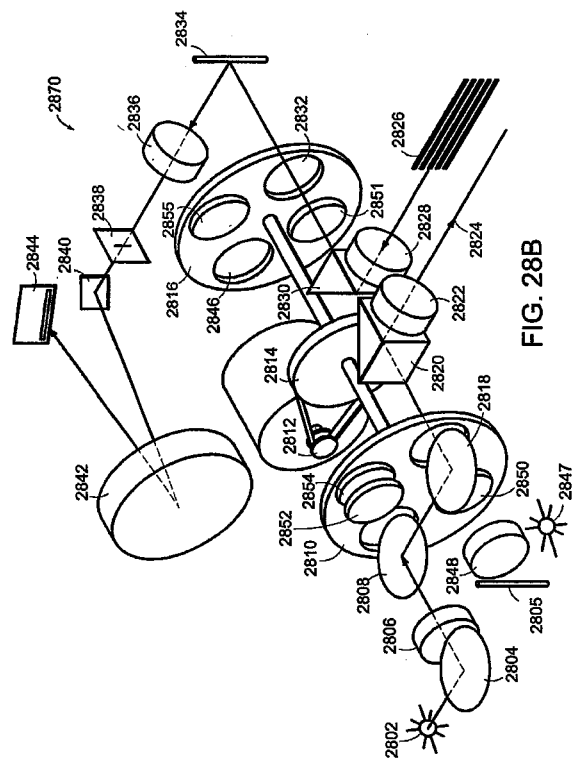
【図 27】



【図 28 A】



【図 28 B】



【図 28C】

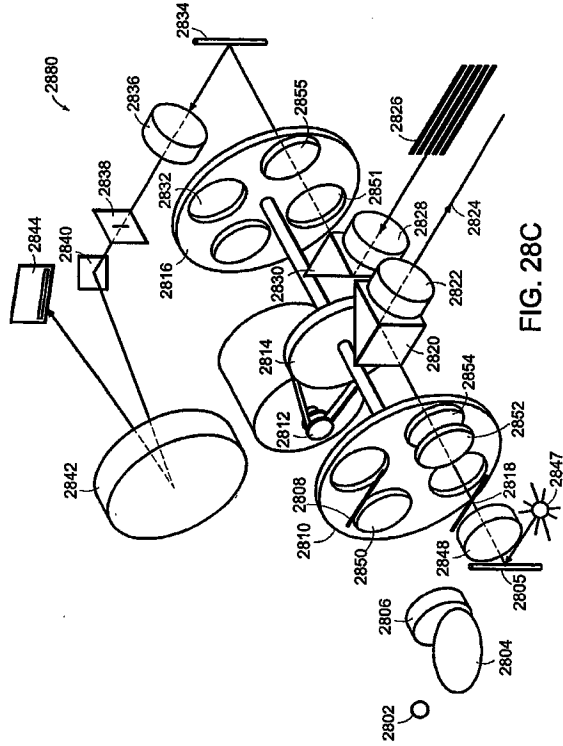


FIG. 28C

【図 28D】

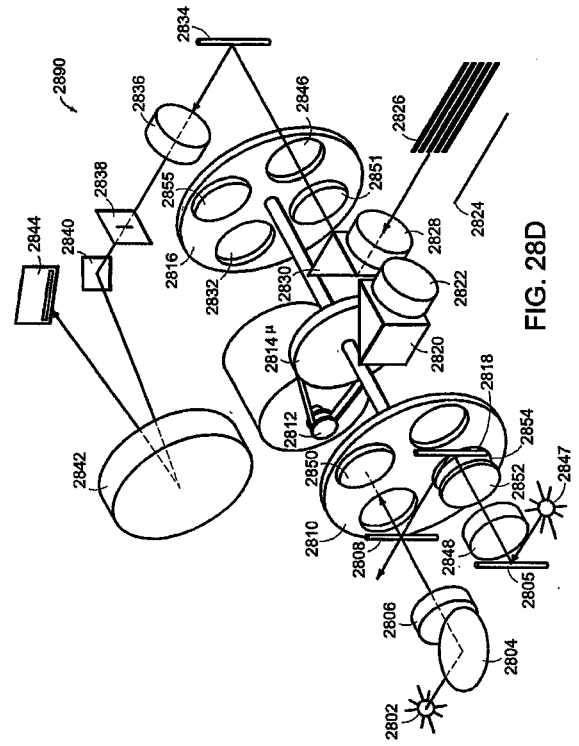


FIG. 28D

【図 29】

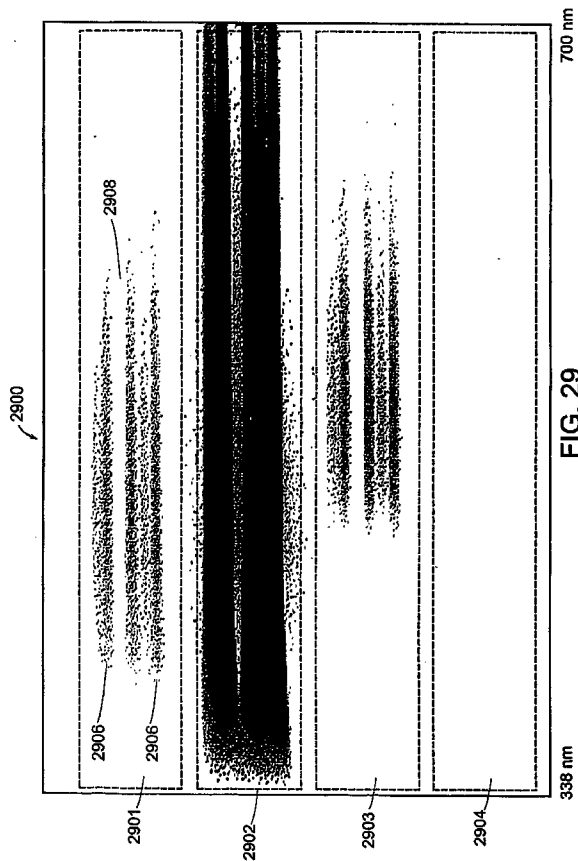


FIG. 29

【図 30A - 30B】

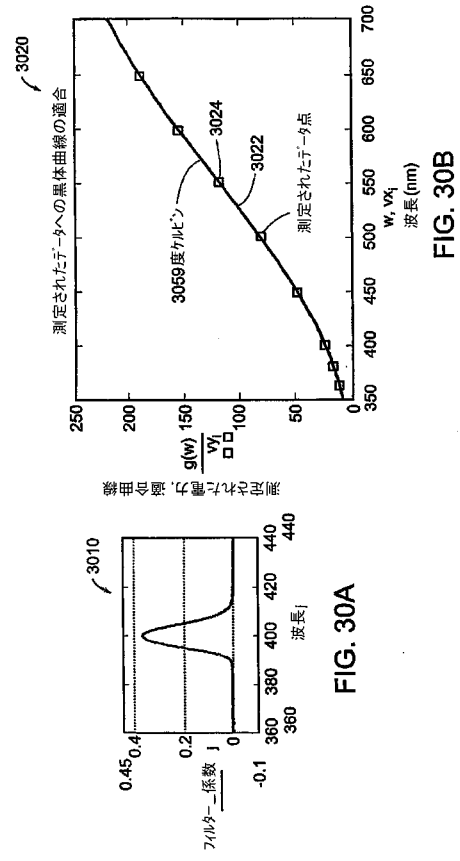


FIG. 30A

FIG. 30B

【図 30C - 30D】

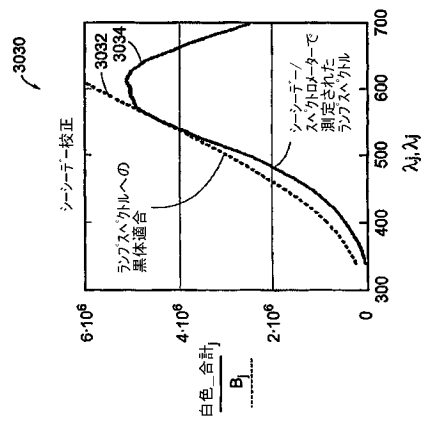


FIG. 30C

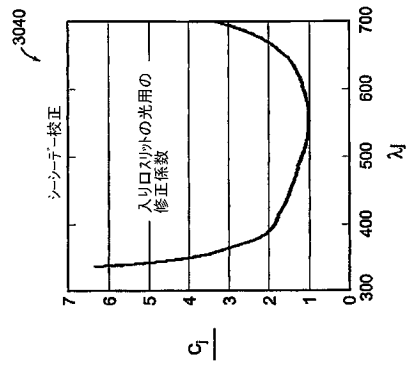


FIG. 30D

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No PCT/US 03/01612
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G01N21/47 G01N15/02 G01N21/21 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 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, WPI Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WO 96 42006 A (UNIV SOUTH FLORIDA) 27 December 1996 (1996-12-27) page 3, line 34 -page 5, line 23 page 8, line 1 -page 10, line 21; figure 1 ---	1,49 6,12,16, 19-22, 24,51,55
X A	US 5 636 637 A (DE RIGAL JEAN ET AL) 10 June 1997 (1997-06-10) column 4, line 31 -column 5, line 12; figures 1,4 --- -/--	1,49 6,7,10, 12,24
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ 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 21 July 2003		Date of mailing of the international search report 30/07/2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Stuebner, B

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/US 03/01612

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 43750 A (FULGHUM STEPHEN F ;NEWTON LAB INC (US)) 27 July 2000 (2000-07-27) cited in the application	1, 49
A	page 11, line 21 -page 12, line 12 page 18, line 8 -page 20, line 6; figures 1,7-10,21D	16-22, 24-27, 50-53, 56,58
A	WO 01 34031 A (SPECTRX INC) 17 May 2001 (2001-05-17) page 4, line 16 -page 7, line 5 page 18, line 15 -page 20, line 12; figures 1-3	1-7,10, 13-16, 19-24, 49,53-57
A	US 4 541 719 A (WYATT PHILIP J) 17 September 1985 (1985-09-17) column 4, line 54 -column 5, line 24; figures 1,2	1,11-13, 19,49
A	EP 0 590 268 A (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY) 6 April 1994 (1994-04-06) column 17, line 38 -column 18, line 11; figures 1,13	1,17,49

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 03/01612**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 40-48, 61-101
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US 03 01612

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 40-48, 61-101

Present claims 1-101 relate to an extremely large number of possible apparatus and methods. In fact, the claims contain so many possible permutations and provisos that a lack of clarity and/or conciseness within the meaning of Article 6 PCT arises to such an extent as to render a meaningful search of the claims impossible. It should be noted that apparatus Claims 61 plus 62 corresponds to Claim 1 and, additionally, most of the dependent Claims 63-101 are only a repetition of Claims 2-39. Also apparatus Claims 40-46 mainly repeat features of the preceding claims. Furthermore, method Claims 47 and 48 are unclear, since they do not disclose a light source.

Consequently, the search has been carried out for those parts of the application which do appear to be clear and/or concise, namely Claims 1-39 and 49-60.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 03/01612

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9642006	A	27-12-1996	AU 6385496 A	09-01-1997
			JP 11507735 T	06-07-1999
			WO 9642006 A2	27-12-1996
			US 5808738 A	15-09-1998
US 5636637	A	10-06-1997	FR 2719989 A1	24-11-1995
			AU 684003 B2	27-11-1997
			AU 2005295 A	30-11-1995
			CA 2149600 A1	21-11-1995
			EP 1183995 A2	06-03-2002
			EP 1264578 A2	11-12-2002
			EP 0682912 A1	22-11-1995
			JP 3269750 B2	02-04-2002
			JP 7313468 A	05-12-1995
WO 0043750	A	27-07-2000	AU 2628200 A	07-08-2000
			CA 2371782 A1	27-07-2000
			CN 1341209 T	20-03-2002
			EP 1153280 A2	14-11-2001
			JP 2002535645 T	22-10-2002
			WO 0043750 A2	27-07-2000
WO 0134031	A	17-05-2001	AU 1572401 A	06-06-2001
			BR 0015285 A	18-06-2002
			CA 2389177 A1	17-05-2001
			EP 1229836 A1	14-08-2002
			WO 0134031 A1	17-05-2001
US 4541719	A	17-09-1985	DE 3377013 D1	14-07-1988
			EP 0102726 A1	14-03-1984
EP 0590268	A	06-04-1994	EP 0590268 A1	06-04-1994
			AT 111711 T	15-10-1994
			AT 167792 T	15-07-1998
			CA 1279901 C	05-02-1991
			CA 1339056 C	29-07-1997
			CA 1317641 C2	11-05-1993
			CA 1329655 C	17-05-1994
			DE 3650071 D1	27-10-1994
			DE 3650071 T2	01-06-1995
			DE 3650688 D1	06-08-1998
			DE 3650688 T2	25-03-1999
			DK 130586 A	23-09-1986
			EP 0195375 A2	24-09-1986
			FI 861209 A	23-09-1986
			JP 2589674 B2	12-03-1997
			JP 61257638 A	15-11-1986
			JP 2739933 B2	15-04-1998
			JP 9117407 A	06-05-1997
			NO 861136 A	16-01-1987
			US 5304173 A	19-04-1994
			US 5106387 A	21-04-1992
			US 5199431 A	06-04-1993
			US 5104392 A	14-04-1992
			US 2002045811 A1	18-04-2002
			US 5693043 A	02-12-1997
			US 5290275 A	01-03-1994
			US 5318024 A	07-06-1994

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 03/01612

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0590268	A	US 5496305 A	05-03-1996

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 21/21	G 0 1 N 21/21	Z
G 0 1 N 21/64	G 0 1 N 21/64	Z

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN, GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC, 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,M X,MZ,NO,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

F ターム(参考) 2G043 AA03 BA16 EA01 EA14 HA01 HA05 HA09 HA11 JA02 JA03
JA04 KA02 KA03 KA07 KA09 LA03 NA05 NA13
2G059 AA05 BB12 CC16 EE02 EE05 EE07 EE12 GG01 GG03 HH02
HH03 HH06 JJ02 JJ03 JJ05 JJ07 JJ11 JJ12 JJ17 JJ19
JJ22 JJ23 KK04 MM09 MM14 PP06
4C061 CC06 HH51 LL03 NN01 NN05 QQ02 QQ04 QQ09 RR04 RR14
RR26 WW08 WW17

专利名称(译)	用于光谱诊断的方法和系统		
公开(公告)号	JP2005515473A	公开(公告)日	2005-05-26
申请号	JP2003562614	申请日	2003-01-17
申请(专利权)人(译)	每次牛顿实验室股份有限公司的Rete		
[标]发明人	ファルガムスチーブンエフジュニア		
发明人	ファルガム,スチーブン・エフ,ジュニア		
IPC分类号	G01B11/02 A61B1/00 A61B1/273 A61B5/00 A61B10/00 G01N15/02 G01N21/21 G01N21/25 G01N21/27 G01N21/47 G01N21/49 G01N21/64		
CPC分类号	G01N21/6486 A61B5/0071 A61B5/0075 A61B5/0084 A61B5/7257 G01N21/255 G01N21/47 G01N21/474 G01N21/49 G01N21/645 G01N2021/6419 G01N2021/6421		
FI分类号	G01N21/27.B A61B1/00.300.D A61B10/00.E G01B11/02.Z G01N15/02.A G01N21/21.Z G01N21/64.Z		
F-TERM分类号	2F065/AA26 2F065/CC16 2F065/GG03 2F065/JJ26 2F065/LL00 2F065/LL02 2F065/LL03 2F065/LL20 2F065/LL22 2F065/LL28 2F065/LL33 2F065/QQ18 2G043/AA03 2G043/BA16 2G043/EA01 2G043/EA14 2G043/HA01 2G043/HA05 2G043/HA09 2G043/HA11 2G043/JA02 2G043/JA03 2G043/JA04 2G043/KA02 2G043/KA03 2G043/KA07 2G043/KA09 2G043/LA03 2G043/NA05 2G043/NA13 2G059/AA05 2G059/BB12 2G059/CC16 2G059/EE02 2G059/EE05 2G059/EE07 2G059/EE12 2G059/GG01 2G059/GG03 2G059/HH02 2G059/HH03 2G059/HH06 2G059/JJ02 2G059/JJ03 2G059/JJ05 2G059/JJ07 2G059/JJ11 2G059/JJ12 2G059/JJ17 2G059/JJ19 2G059/JJ22 2G059/JJ23 2G059/KK04 2G059/MM09 2G059/MM14 2G059/PP06 4C061/CC06 4C061/HH51 4C061/LL03 4C061/NN01 4C061/NN05 4C061/QQ02 4C061/QQ04 4C061/QQ09 4C061/RR04 4C061/RR14 4C061/RR26 4C061/WW08 4C061/WW17		
优先权	60/349958 2002-01-18 US		
其他公开文献	JP2005515473A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了使用光散射光谱法确定结构化表面材料层的物理特性的系统和方法。光散射光谱系统包括光学探针，其可以与现有的内窥镜一起使用而无需修改内窥镜本身。该系统使用光学和计算方法的组合来检测物理特征，例如器官上皮层中细胞核的大小分布。光散射光谱系统可以单独使用，或与其他技术结合使用，例如荧光光谱法和反射光谱法。

