

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4516217号
(P4516217)

(45) 発行日 平成22年8月4日(2010.8.4)

(24) 登録日 平成22年5月21日(2010.5.21)

(51) Int.Cl.

F 1

A61B	1/00	(2006.01)
A61B	10/00	(2006.01)
C12Q	1/02	(2006.01)
GO1N	21/21	(2006.01)
GO1N	21/27	(2006.01)

A 61 B	1/00	300 D
A 61 B	10/00	E
A 61 B	10/00	T
C 12 Q	1/02	
G O 1 N	21/21	

請求項の数 14 (全 14 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-594380 (P2000-594380)
 (86) (22) 出願日 平成12年1月25日 (2000.1.25)
 (65) 公表番号 特表2002-535027 (P2002-535027A)
 (43) 公表日 平成14年10月22日 (2002.10.22)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2000/001967
 (87) 國際公開番号 WO2000/042912
 (87) 國際公開日 平成12年7月27日 (2000.7.27)
 審査請求日 平成19年1月24日 (2007.1.24)
 (31) 優先権主張番号 09/237,153
 (32) 優先日 平成11年1月25日 (1999.1.25)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 591275056
 マサチュセッツ・インスチチュート・オブ
 テクノロジイ
 MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY
 アメリカ合衆国マサチュセッツ州0213
 9・ケンブリッジ・マサチュセッツアベニ
 ュー77
 (74) 代理人 110000741
 特許業務法人小田島特許事務所
 (72) 発明者 バツクマン, バディム
 アメリカ合衆国マサチュセッツ州0213
 9ケンブリッジ・メモリアルドライブ55
 0・アパートメント9イー1

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】組織の偏光散乱分光法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

組織の表面層を測定する光ファイバープローブに於いて、

光源に光学的に結合された光ファイバーケーブルであって、光源から患者の組織に複数の波長を有する光を送る光ファイバーケーブルと、

該光ファイバーケーブルに光学的に接続され、該ケーブルを介して組織に向かられる入射光を偏光する偏光子と、

該光ファイバーケーブルを介して組織から戻って来た、波長の関数として周期性である成分を有する光の偏光成分を分離するアナライザと、

該アナライザに光学的に連結され、周期性である成分を有する光の分離された偏光成分を検出し、組織中の構造の寸法を決定するためのスペクトルデータを生成する検出器システムと

を具備していることを特徴とする光ファイバープローブ。

【請求項2】

該偏光子が該光ファイバーケーブルの遠位の端部に位置付けられている請求項1に記載のプローブ。

【請求項3】

該アナライザが該光ファイバーケーブルの遠位の端部に位置付けられている請求項1に記載のプローブ。

【請求項4】

10

該プローブが挿入される溝を有する内視鏡を有する請求項 1 に記載のプローブ。

【請求項 5】

該アナライザーが偏波するビームスプリッターを備えている請求項 1 に記載のプローブ。

【請求項 6】

組織内の組織細胞の寸法を決定するためのプロセサーを備えている請求項 1 に記載のプローブ。

【請求項 7】

該検出器システムが、検出した光の、300 nm から 1200 nm の範囲の波長を有するスペクトルを生成する請求項 1 に記載のプローブ。

10

【請求項 8】

該光源がブロードバンド光源とフィルターホイールとを備えている請求項 1 に記載のプローブ。

【請求項 9】

該光ファイバープローブに光学的に結合されたスペクトロメーターを具備する請求項 1 に記載のプローブ。

【請求項 10】

近位の端部と遠位の端部とを有するハウジングと、
該ハウジング内に配置され、光ファイバーを介して該光源に結合された少なくとも 1 つの中央供給ファイバーであって、該偏光子が該中央供給ファイバーに連結され、該光ファイバーケーブルを介して組織に向けられる入射光を偏光する中央供給ファイバーと、
該ハウジング内に配置され、少なくとも 2 つの異なった偏光成分を有し、その 1 つの成分が、波長の関数として周期を有する組織からもとった光を収集する少なくとも 1 つのオフセンター収集ファイバーとを具備し、
該偏光子が、該少なくとも 1 つのオフセンター収集ファイバに接続されており、組織から戻った光の偏光成分を分離する請求項 1 に記載のプローブ。

20

【請求項 11】

該偏光子が、複屈折結晶材料を含む請求項 1 に記載のプローブ。

【請求項 12】

該中央供給ファイバー及び該オフセンター収集ファイバーが挿入される溝を有する内視鏡を具備する請求項 1 に記載のプローブ。

30

【請求項 13】

該検出器システムが、組織内の組織細胞の寸法を決定する請求項 1 に記載のプローブ。

【請求項 14】

該偏光子に光学的に結合された分光器を有する請求項 10 に記載のプローブ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【関連出願】

本出願はその全内容が引用によりここに組み入れられる 1999 年 1 月 25 日出願の米国出願第 09/237,153 号の優先権を主張する。

40

【0002】

【政府の助成】

本発明は、全て又は 1 部について、アメリカ国立衛生研究所 (National Institute for Health) の交付番号 (grant number) 第 P 41 RR 02954 号により助成された。米国政府は該発明の一定の権利 (certain rights) を有する。

【0003】

【発明の背景】

癌の病変の 90 % より多くは器官の上皮に関する。結腸直腸 (colorectal) 、食道 (esophageal) 、膀胱 (bladder) 、頸管 (cervical) 及び喉頭 (oral) 癌の様な上皮癌の最も共通した形式の幾つかは形成異常 (dysplasia) と呼ばれる、良く規定された、検出可能

50

な前癌段階を有する。形成異常は規定された腫瘍遺伝子及び腫瘍抑制遺伝子の突然変異のシーケンシャルな累積により特徴付けられる。もし検出されれば、該形成異常の病変の絶対多数は治る。上皮癌のこの前癌段階の検出と治療への臨床的努力は死亡率を減じることを示して来た。

【0004】

上皮形成異常の診断は、それが典型的にポリープの様な巨視的構造を形成せず、癌が展開した後でのみ視認可能になるのが通常であるために、困難な儘である。上皮形成異常を検出する標準的方法はランダムな生検と該着色した生検材料の病理学的検査に基づいている。しかしながら、ランダムな生検は高いサンプリング誤差を有する。多くの場合、形成異常に対する危険では該上皮表面の1%より少ししか検査されない。

10

【0005】

全ての種類の上皮形成異常は幾つかの共通の特性、すなわち細胞質比への核の増加、核高色素症、そして増加した数を伴う上皮細胞核の拡大そして上皮細胞の成層化、を有する。これらの良く特徴付けられた上皮変化にも拘わらず、分類することは、経験のある病理学者間でも、高い観察者間不一致で示される様に、難しい儘経過している。

【0006】

【発明の概要】

上皮の形成異常を検出する非侵襲性で、生体内の方法は上皮表面の監視と、人間の前癌条件の病理学的診断を提供する。

【0007】

光学的技術は、それらが非侵襲性で、組織除去を要せず、生体内で行えるので、ランダムな生検の置き換えとなるよう良く適合している。更に、それらは速く（実時間で適用出来る）、比較的高価でなく、微視的規模で作動出来て、かくして非常に小さな形成異常なサイトを見出せる。後者はランダムな生検では非常にミスされ易いものである。

20

【0008】

本発明は、組織の様な濁った媒体の表面層内の散乱体（scatterer）に関する情報を提供するための偏光の光散乱分光検査法（light scattering spectroscopy）に関する。この過程は蛍光又は吸収スペクトルの特徴を利用する必要はなく、むしろ上皮層の様な表面組織の散乱特性を利用する。それは人間の上皮の大きな散乱体（細胞核）の特性を特徴付け出来て、人間の組織の経時的情報を提供し、生体内で人間器官の形成異常を実時間で診断する。

30

【0009】

上皮組織の特徴を決定するための非偏光の光散乱分光検査法のアイデアは、これらの出願の全内容が引用によりここに組み入れられる、1997年10月10日出願の米国出願第08/948、734号及び1998年10月9日出願の、米国に指定された国際出願第PCT/US98/21450号で説明されている。上皮での光散乱の主な中心は周囲細胞質のそれより高い屈折率を有するミトコンドリア及び核の様な細胞器官である。表面上皮細胞核からの後方散乱光は振動的波長（oscillatory wavelength）依存の成分を有する。この成分の周期性は核寸法と共に増大し、その振幅は該核の密度に関係付けられる。かくして、該振動的成分の振幅と周波数を解析することにより、上皮核の密度及び寸法分布が決定出来る。正常な核は特性直径（characteristic diameter） $1 = 4 - 7 \mu\text{m}$ を有する。対照的に、形成異常核は $20 \mu\text{m}$ 程も大きくなり得る。核の寸法と密度は生物学的組織の新生物前癌性変化（neoplastic precancerous changes）の重要な指標である。生体内で実時間で核寸法分布を測定する能力は臨床医療で価値ある応用を有する。これは食道、結腸、膀胱、口腔、頸管、他の様な種々の人間器官での前癌性変化の診断を非侵襲性で、実時間に可能にする。

40

【0010】

上皮は人体の器官の表面をカバーする。上皮の厚さは $20 \mu\text{m}$ （1つの細胞の層）から $200 - 300 \mu\text{m}$ （多数の細胞の層）に及ぶ。上皮の下に比較的アセルラー結合的（acellular connective）で、筋性の組織の層がある。形成異常は該上皮に限定されるので、該

50

上皮と下にある組織と付随する信号間を区別することが重要である。表面上皮核についての情報を担う後方散乱成分 (backscattered component) が粘膜組織 (mucosal tissue) から反射される光の中に存在する。しかしながら、それは普通は振幅が非常に小さく、下にある組織からの拡散散乱 (diffuse scattering) により形成される背景信号により容易にマスクされる。その成分を解析するためには該背景信号は除去されねばならない。該背景の一般的スペクトル的特徴をモデル化することにより該拡散的背景は除去出来る。しかしながら、実際の医療で該方策をより有用にし、生体内で、実時間で、そして種々の器官で形成異常を診断出来るようにするために、該散乱光の拡散的成分を除去する、顕著に除去するより強固な方法を開発することが必要である。

【0011】

10

本発明は偏光分光検査法 (polarized light spectroscopy) を使用することにより上皮細胞の散乱的特徴を測定する方法を提供する。最初に偏波された光 (polarized light) は濁った媒体 (組織は濁った媒体の例である) を通過する間にその偏波性 (polarization) を失う。他方該後方散乱された光は1回の散乱の後に偏波性を保存している。かくして、該散乱光の非偏波成分を除去することにより、上皮細胞により散乱された光を区別することが出来る。該残留スペクトルは、該核の寸法分布とそれらの密度が決定出来るように、更に解析され得る。

【0012】

本発明の好ましい実施例は組織の診断用に光ファイバーの光配達及び収集システムを含んでいる。該光ファイバーシステムはプローブハウジングの近位と遠位の端部に収容出来て、そこでは該遠位の端部は組織の生体内測定用に人体の種々の管腔 (lumen) 内へ挿入可能である。偏光子 (polarizer) が配達及び収集両ファイバーの遠位の端部上で使用される。光の偏波性を保存する光ファイバーを用いると、該偏光子は該プローブの近位の端部に位置付けられる。3本のファイバーシステムでは、該プローブは中央の配達ファイバーと、組織から戻る光の2つの異なる偏波成分を収集する2本のオフセンター (off-center) 収集ファイバーを使用出来る。該偏光子は水晶、サファイヤ (sapphire) 又はカルサイト (calcite) の様な複屈折結晶材料とすることが出来る。該カルサイトは動作環境からシールされねばならない。

20

【0013】

【本発明の詳細説明】

30

本発明の前記及び他の目的、特徴及び利点は付属する図面で図解される、本発明の好ましい実施例の下記のより特定的な説明から明らかになるが、該図面では種々の図面を通して同じ参照文字が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、本発明の原理を図解することに力点が置かれている。

【0014】

上皮細胞 (epithelial) の特性を決定するためには、後方散乱光 (backscattered light) の測定されたスペクトルをモデル又は代表と相關させることが出来る。任意の寸法の球形物体による光散乱の問題の精密解を提供するミー (Mie) 理論を用いると、該散乱体の寸法及び比屈折率 (relative refractive indexes) が決定出来る。

【0015】

40

偏光の入射光に対して、直径 d を有する球形粒子により散乱された光は該散乱

【0016】

【外1】

面に平行及び直角に偏波された成分を有する。 \hat{s}_0 方向に入射する平面偏波 (plane polarized wave) について、 \hat{s} 方向に散乱される光は、該散乱面に対し平行に (p) 及び直角に (s) 偏波された成分を有する。これらの成分の輝度 (intensity)

【0017】

50

s) I_p 及び I_s は次の様に入射光の強さ $I_p^{(0)}$ 及び $I_s^{(0)}$ と関係付けられる、

【0018】

【数1】

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

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

10

【0019】

ここで k は入射光の波数 (wavenumber)、 S_1 と S_2 がミー理論を用いて数値的に計算出来る散乱振幅 (scattering amplitudes)、そして s_1 と s_2 は入射及び散

【0020】

【外2】

乱光の伝播を規定する単位ベクトルである。散乱振幅は散乱角 $\vartheta = \cos^{-1}(s \cdot s_0)$ の関数であり、積分 $\int_0^\pi (|S_1(\vartheta)|^2 + |S_2(\vartheta)|^2) \sin \vartheta d\vartheta$ が全弾性散乱断面に等しくなるよう正規化される。

今輝度 I_0 の直線偏波された入射光が立体角 $\Delta\Omega_0$ に亘り分布され、散乱が立体角 $\Delta\Omega$ に亘り収集された実験を考える。入射光の偏波、 \hat{s}_0 は、散乱面 (すなわち \hat{s} と \hat{s}_0 により形成される面) での、成分 $\hat{\varepsilon}_p^0$ と、直角の成分 $\hat{\varepsilon}_s^0$ に分解出来る。アナライザ (analyzers) により、我々は散乱光の輝度の2つの直交する成分、偏波 $\hat{\varepsilon}_a$ を有する I_{\parallel} と直角偏波 $\hat{\varepsilon}_a$ を有する I_{\perp} とを検出する。そこで散乱された輝度成分は下記により与えられる。

【0021】

【数2】

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

30

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

40

【0022】

【外3】

もし入射光が完全にコリメートされていれば ($\Delta\Omega_0 = 0$) 、直接後方に散乱される光は該入射光偏波に平行に偏波される。この場合我々はアナライザーの 1 つを入射偏波方向に平行に向けることが出来る ($\hat{\varepsilon}_0 \approx \hat{\varepsilon}_a$)。もし入射及び収集光の立体角が充分小さく概略等しいならば、 I_{\parallel} と I_{\perp} の両者が存在する。しかしながら、該アナライザーは ($\hat{\varepsilon}_0 \approx \hat{\varepsilon}_a$) であるようになお位置付けされている。かくして、この場合該収集光はなお非常に偏波されており、 $I_{\parallel} \gg I_{\perp}$ である。

この場合、残留輝度の表現、 $I_{\parallel} - I_{\perp}$ は次の様に簡単化され 10

【0023】

【数3】

$$I_{\parallel} - I_{\perp} \approx \frac{4I_0}{kd^2} \int_0^{\theta_0} \operatorname{Re}(S_1^*(\theta)S_2(\theta)) \sin \theta d\theta \quad (5)$$

なおここで $\theta_0 = \sqrt{\frac{\Delta\Omega}{2\pi}}$

20

【0024】

である。

【0025】

大きな散乱 ($d \gg \lambda$) の薄い層が下にある組織の非常に濁った (turbid) 層をカバーする上皮組織の様な散乱媒体の 2 つの層を考える。これらの層の各々は異なる種類の散乱を引き起こす。この 2 層システムは多くの人体組織の光学特性を表し、該第 1 層は上皮と、第 2 層は上皮の下の他の組織層と相關させられる。上部層は光学的に薄いのでそれは多数散乱 (multiple scattering) を可能にしない。入射直線偏光 (incident linearly polarized light) の小部分は該上部層内の粒子により後方散乱 (backscattered) させられる。残りの該信号は光学的に厚い第 2 層に貫入する。該第 2 層を通る光伝播は多数散乱によりランダム化される。この拡散光 (diffusive light) は、もし該第 2 層内で吸収されないならば、該表面に戻る。かくして、出現光 (emerging light) は 2 つの寄与 (contribution) を有し、該第 1 層の粒子により後方散乱された光からの 1 つ、 I_b と該第 2 層から拡散的に反射される相手方、 I_d とある。 I_b は入射光の偏波に平 30

【0026】

【外4】

行である高度の直線偏波を有し、 $I_{\parallel}^b \gg I_{\perp}^b$ である。第 2 層内の多数散乱の結果として、拡散的に反射された光は減偏波され、 $I_d^d = I_{\perp}^d$ である。従って、該出現光の残留輝度は $-I_{\perp} = I_b^b - I_d^d$ は上部層からの寄与により支配され、下の該組織からの吸収と散乱の両者から実質的に自由である。

40

表現 (3) - (5) は $I_{\parallel} - I_{\perp}$ を散乱振幅 S_1 と S_2 に関係付ける。該振幅は

【0027】

散乱される光の波長 $\lambda = \pi / k$ 、散乱寸法 d そして周囲媒体の屈折率に対するその屈折率の比、比屈折率 n に依存する。従って、残留輝度のスペクトラムは散乱体の寸法 (scatte 50

rer's size) と比屈折率で変化する。かくして、該散乱体の寸法と屈折率は該残留輝度スペクトルに対し式(3)-(5)を使う該ミー理論の表現を当てはめることにより見出せる。

【0028】

体内で切除された組織サンプルを測定するシステム10が図1で図解されている。このシステム10はコリメートされた偏光を組織12に配達し後方散乱された光の2つの直交偏波(orthogonal polarizations)に分離する。これら2つの成分の差は該上皮層のみの中で散乱された光についての情報を提供する。直線偏光はランダムな媒体を通過する間に円偏光(circularly polarized light)より早く減偏波(depolarized)されるので、直線偏波が使用された。該システムはブロードバンドソース(broadband source)14{コネチカット州、ストラトフォード市、オリエルインスツルメント社、250Wタングステンランプ、モデル66181(250W tungsten lamp, Model 66181, Oriel Instruments, Inc., Stratford, CT)}から光を供給するがそれはコリメートされ次いでファイバー16,レンズ18そしてアパー・チャ-20を使用して該サンプル上に小さな立体角を有して再焦点合わせされる。ブロードバンド偏光子(polarizer)22は該ビームを、それがビームスプリッター(beamsplitter)24を通り散乱媒体の表面に配達される前に、直線偏波させる。該光ビームは、正反射を避けるために、法線に対し-15°の角度を有して該サンプルの表面を叩く。該ビームの直径は2mmである。該反射光はアパー・チャ-26とミラー28を用いて狭い円錐(-0.015ラジアン)に集められ、2つの偏波、すなわち初期偏波に対する平行

10

20

【0029】

【外5】

I_{\perp} 及び直交 $I_{\perp\perp}$ へとブロードバンド偏波ビームスプリッター立方体(broadban

【0030】

d polarization beam splitter cube)28により分離されるが、該立方体は我々のアナライザー{メレスグリオット社(Melles Griot, Inc.)}として作用する。このアナライザーからの出力はレンズ30と200μm光ファイバー32,34(オーシャンオプチックス社、ドゥネディン市、フロリダ州)を通して多チャンネル分光計{フロリダ州、ドゥネディン市、オーシャンオプチックス社、4連分光計、モデルSQ200(quadruple spectroscope, Model SQ200, Ocean Optics, Inc., Dunedin, FL)}36の2つのチャンネル内へ配達される。これは両成分のスペクトルが300nmから1200nmの範囲で又はオプションでは400nmから900nmの範囲で同時に測定されるようとする。

30

【0031】

該ビームは完全には同一直線上になく、これは、それらが該偏光子及びアナライザー立方体を通過する時少量の歪みを引き起こす。更に、該ビームスプリッターはsとpの偏波に異なる反射率を有する。波長の不均一性を修正するためそして該2チャンネル内での信号を校正するための標準として拡散性反射白色面

【0032】

【外6】

40

(diffusely reflective white surface)が使用される。 $I_{\perp}(\lambda)$ と $I_{\parallel}(\lambda)$ が対応する背景スペクトルに対し各々正規化されたものであり、 $I_{\perp^B}(\lambda)$ と $I_{\parallel^B}(\lambda)$ が対応する背景スペクトルに対し各々正規化されたものであり、 $I_{\perp^B}(\lambda)$ と $I_{\parallel^B}(\lambda)$ が白色拡散面を用いて取られた。これは該光源の中のスペク

【0033】

トルの不均一性を除去する。かくして、実験は実際に正規化残留輝度、 I を測定した、

50

【0034】

【数4】

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

【0035】

動作パラメーターを決定するために簡単な1及び2層のシステムで測定が行われた。1層システムは、脱イオン水、グリコール、又はグリセロールに埋め込まれた0.5 μmから1.0 μmの範囲の種々の寸法のポリスチレンのビーズ { ポリサイエンス社 (Polyscienc 10 e, Inc.) } を含んでいた。これらの層の厚さは該光学的厚さ が 0.1 から 5 に及ぶよう に変えられた (= 1 を有する媒体を通り伝播する光子は平均して 1 散乱イベントを受ける)。細胞核を表すために大きな寸法 4 - 10 μm のビーズが使用された。水中のポリスチレンビーズの比屈折率は約 1.2 (絶対屈折率は約 $n = 1.59$) であり、1.03 から 1.1 の範囲にある細胞質 (cytoplasm) に対する細胞核のそれより実質的に高いので、該ビーズの比屈折率を減じて、従って、生物学的条件をより良く近似するためにグリコール ($n_a = 1.45$) 及びグリセロール ($n_a = 1.48$) が水の代わりに使用された。

【0036】

該1層の測定では、入来する光と同じ偏波状態を有する後方散乱光の成分

20

【0037】

【外7】

(I_{\parallel} で示す) は入来する光の偏波に直交する偏波を有する成分 (I_{\perp} で示す)

【0038】

より凡そ 100 倍大きい。これは大きな球形粒子からの 1 回の散乱は偏波を保存することを確立する。

【0039】

2つの層のモデルを用いた測定では、第1層は水、グリコール又はグリセロール内に埋め込まれたポリスチレンビーズから成り、1層測定に於ける様に用意された。該第2層は、第2層の散乱特性を提供する硫酸バリウム粉末の溶液を有するゲルと人間の血液を備えた。該血液のヘモグロビン含有量が該モデルの吸収特性を提供した。この物理的モデルは上皮と下にある組織とをシミュレートした。硫酸バリウム粉末と血液の濃度、散乱と吸収の調節は生物学的組織のそれらと同様になされたが、それは光学的スペクトル領域ではヘモグロビンは主な吸収体であると知られているからである。

30

【0040】

【外8】

図2Aと2Bは2層システムから反射された光の平行 I_{\parallel} 及び直交 I_{\perp} 偏波成

40

【0041】

分のスペクトルを示す。この測定で該第1層はグリコール内に埋め込まれたビーズを含んでいる。該ビーズは平均直径 4.56 μm を有する。それらの寸法の標準偏差は 0.03 μm であった。該第1層の光学的厚さは -0.8 であった。該第2層は光学的に厚く、その散乱及び吸収特性は生物学的組織のそれらと比肩

【0042】

【外9】

し得る。 I_{\perp} のスペクトルは特性ヘモグロビン吸収バンド (characteristic hem

50

【0043】

globin absorption) により支配される。同時に、第1層内 $4.56 \mu m$ ビーツにより散乱された光の特性スペクトルの特徴、すなわちアペアラントリップル構

【0044】

【外10】

造 (apparent ripple structure) 、そして第2層のヘモグロビン吸収が I₁ の

【0045】

スペクトルで見られる。

10

【0046】

残留スペクトル I₁ は図3 A に示されている。ヘモグロビン吸収の特徴は見られず、該第2層から来る拡散性の背景は完全に除去された。球からの散乱のリップル構造特性は明らかである。図3 B で示された μm と対応する $d = 4.56 \mu m$ 、 $d = 0.03 \mu m$ そして $n = 1.035$ を有する散乱体についてのミー理論表現との比較は高度の精度を示す。何れかの使用媒体に埋め込まれた他のビーツ寸法での測定で得られた残留スペクトルは測定可能な拡散性背景成分を有せず、ミー理論との一致を示す。図3 B は該理論と $9.5 \mu m$ ビーツでの測定との間の一致を示す。

【0047】

同様に、グリセロール及びグリコール内の $5.7 \mu m$ 及び $8.9 \mu m$ についての測定の結果をそれぞれ図3 (C) および3 (D) に示す。ミー理論はこの場合の測定値にも同様に対応する。該比屈折率がより小さくなると高周波リップル構造は減少する。低周波振動は明らかに留まっている。測定は該機器が 0.05 の様な少ない光学的厚さのビーツ溶液からも信号を検出出来ることを示した。該スペクトルで見られる小さな不一致は使用光学素子の波長依存性に対する機器の不完全な校正から来ている。ビームは完全には同一線上になく、そのため該ビームが該偏光子と該アライザー素子を通過時該2つのチャンネルからの偏波信号に幾らかの不完全さが起こる。更に、使用ビームスプリッターは s 及び p 偏波ビームに対し異なる反射率を有する。しかしながら、唯白色標準を使用して、該2つのチャンネルの信号は何れの波長不均一性についても修正され、更に信号の校正用に使用された。

20

【0048】

細胞分子膜 (cell monolayers) を用いた測定が行われ、その結果が図4 - 6 と連携して説明されている。分子膜の下の硫酸バリウム粉末溶液と人間血液を含むゲル層が下にある組織を表すため使用される。硫酸バリウムと血液の濃度は生物学的組織の光学的特性とマッチするよう調節された。3つの種類の細胞、すなわち正常な腸内細胞、T 84 癌性結腸細胞、そして線維母細胞が測定された。該測定はビーツを用いた測定と同様であった。しかしながら、細胞の核は、リップル構造を実質的に除くより大きい寸法の分布のみならずビーツのそれより小さい比屈折率を有していた。ミー理論への観察残留スペクトルの適合が行われた。適合過程での3つのパラメーターは核の平均寸法、寸法の標準偏差 (寸法のガウス分布が仮定された) 、そして比屈折率である。

30

【0049】

正常腸内細胞では、 $d = 5.0 \mu m$ 、 $d = 0.5 \mu m$ 、そして $n = 1.045$ (図4) を使用して最良の適合が得られた。線維母細胞では、 $d = 7.0 \mu m$ 、 $d = 1.0 \mu m$ そして $n = 1.051$ が得られた。T 84 結腸癌細胞では対応する値は $d = 9.8 \mu m$ 、 $d = 1.5 \mu m$ 、そして $n = 1.04$ (図5)。

40

【0050】

これらの結果をチェックするため、細胞核の平均寸法分布が光顕微鏡検査法を使用して測定された。寸法とそれらの標準偏差はミー理論のパラメーターと一致した。正常 T 84 細胞で得られた寸法分布を示すヒストグラムが図6 で示される。平均寸法の精度は $0.1 \mu m$ であると見積もられ、そして n の精度は 0.001 と見積もられた。癌性細胞で得られ

50

た n のより大きい値は注目すべきであり、それは着色組織部分の従来の組織病理学で観察された癌細胞核の過色素性 (hyperchromaticity) と一致している。

【 0 0 5 1 】

もし該核の平均寸法 d 、寸法の標準偏差 d 、そして比屈折率 n が変わるならば、該後方散乱信号はミー理論により説明出来る。ミー理論では、 d と n への依存は必ずしも ($n - 1$) d 積としては来ないことは注意すべきである。かくして、該残留スペクトルは d と n を同時に抽出するのに充分な情報を有する。

【 0 0 5 2 】

分子膜での寸法分布が光顕微鏡検査法と比較され、細胞の全ての 3 つの線で良く一致した。寸法精度と標準偏差エクストラクション (standard deviation extraction) は約 0. 1 μm あり、それは該方法を同じ器官の癌性と非癌性との細胞を含む、種々の細胞の種類の核を区別する面で有用にする。

10

【 0 0 5 3 】

細胞核の拡大と該核の屈折率の変化とを検出する能力 { 該核内のデーエヌエイ (DNA) 及びたんぱく質の量と関係付け得る } は臨床医療で価値ある応用を有する。

【 0 0 5 4 】

組織診断の方法は、光が該組織の表面上の点に配達され、組織の表面上のそれらの点の各々で収集され解析される診断デバイスでも又実施出来る。生体内のシステムでは、光を配達し収集するために光ファイバーが使用される。光ファイバープローブが内視鏡生検チャネル又は何等かの同様なデバイス内で挿入出来る (研究される過程及び器官のタイプにより左右されるが)。偏光子及びアナライザーは該配達及び収集ファイバーの前部内のプローブの先端に置かれる。この様な器具は実時間で生体内の前癌性変化を検出するためにルーチンの内視鏡過程に使用出来る。

20

【 0 0 5 5 】

この様なプローブシステム 4 0 が図 7 に一般的に示されている。このシステム 4 0 はプロードバンド光源 4 2 を含むがそれはプローブ 5 0 を通して延びる配達ファイバー 4 4 と光学的に結合されている。図 7 に略図的に示す様に、プローブ 5 0 は内視鏡内 4 8 内のチャネルを通して挿入されるが、しかしながら該プローブ 5 0 は分離して使用されるよう作ることも出来る。下記に説明される好ましい実施例では、光源からの光はプローブ 5 0 の遠位の端部で偏光子を通して導かれる。しかしながら、偏波面保存光ファイバー (polarization preserving optical fibers) を使用するもう 1 つの実施例では、該ファイバーを通して偏光 4 6 を導くために偏光子 2 6 がプローブファイバー 4 4 の近位端部に使用される。同様に、収集ファイバー 6 5 , 6 7 の近位の端部は、選択された偏波成分を多数チャネルファイバーフィルタ 5 4 内へ伝送するために、それぞれ偏波素子 6 4 , 6 6 を使用する。次いで該データはコンピュータ 5 6 により処理され、コンピュータ 5 6 で記憶され、コンピュータメモリー内に記憶されそして必要によりディスプレー 6 0 上に表示される。

30

【 0 0 5 6 】

該プローブシステムは図 8 A 及び 8 B で見られる様に偏光子を組み込む遠位の端部を有する光ファイバープローブを備えることが出来る。

40

【 0 0 5 7 】

図 8 A 及び 8 B は生体内診断用の偏光の使用のためのプローブ 1 0 0 の遠位の端部を示す。図 8 A は 3 つの部分、すなわち内部配達ファイバーと異なる偏波成分を収集する 2 セットの収集ファイバー 1 5 0 と 1 5 2 、に分けられた光ファイバーデバイスを示す。図 8 B の断面は光を組織 1 4 0 上へ配達するファイバー 1 5 6 を示す。それらは図 8 B の断面図でも見られる偏光子 1 2 0 を通過せねばならない。偏波素子 (polarizing element) は少なくとも 2 つの部分又は素子 1 2 2 , 1 2 6 に分けられる。光ファイバー 1 5 2 は該組織表面から戻るよう反射される光を収集するよう配置されている。

【 0 0 5 8 】

後方散乱された光は、該入射光に対し平行と直角の成分に対応する、2 つの偏波成分を有

50

する。該2つは2つの断面されたリング素子122, 126により示される2つの異なる複屈折アナライザーにより区別される。第1素子122は該平行な成分を通過可能とする一方第2素子126は直角な成分を可能にする。素子122の部分はファイバー156を出る光を偏波させる。該ファイバーは非常に小さい角度上で光を収集するために低い開口数を有するので、該ファイバー端と組織表面140に開いたアパー・チャーチャー表面142との間の距離136を延ばす必要がある。それは5mm程長く出来る。偽りの内部反射を避けるためにガラスブロック130は屈折率 n_1 を有する遮蔽132のそれより低い屈折率 n_2 を有するよう示されている。該遮蔽132は、境界を叩く光が外へ屈折して次いで該遮蔽132の外壁上の吸収コーティングにより吸収されるように、吸収成分を有するコートをされる。ガラス素子130は組織表面からのスペクトルの反射を避けるためにベベルを付けられるがそれはそれが後方散乱の相対信号強さを増加すると説明されているからである。該2つの直交する偏波を有する光は分離され検出と解析用に2つの分光計チャンネルに結合される。

【0059】

光ファイバープローブ160のもう1つの好ましい実施例が図9A-9Cに図解されている。この実施例では、配送156と収集162のファイバーは柔軟なチューブ164内に収容され該チューブは遠位の環状ハウジング166に取付られる。ハウジング166はファイバーリテナー106と、カルサイト(calcite)、水晶又はサファイヤの様な複屈折結晶とすることが出来る偏光子168とを含んでいる。配送ファイバー156は光源42からの光を偏光子168に配送するが、該偏光子は普通の光線170をアパー・チャーチャー175と窓178を通して配送する。アパー・チャーチャー175を通して戻る光は普通の成分170と特別の成分172を有する。直角な成分はファイバー162により収集され、平行な成分はファイバー161により収集される。該配送ファイバー156は該結晶168の光軸176に沿って位置付けられている。ファイバー161と156は吸収プレート174のアパー・チャーチャー175に沿うよう整合されている。

【0060】

本発明はその好ましい実施例を参照して特に示され説明されたが、付属する請求項により規定される本発明の精神と範囲から離れることなく形式と詳細で種々の変更がその中でなされるかも知れないことは当業者により理解されるところである。

【図面の簡単な説明】

【図1】 偏光ベースの光散乱分光システムの好ましい実施例を図解している。
 【図2A及び2B】 それぞれ平行及び直角偏光に対する2層組織仮想体(two-layered tissue phantom) (血液及びBaSO₄を含むゲルの頂部上のポリスチレンビーズ)の反射スペクトルである {特性ヘモグロビンディップ(dips)に注意}。

【図3A-D】 (A)水(比屈折率 $n = 1.19$)中の4.56μmビーズ、(B)水($n = 1.19$)中の9.5μmビーズ、(C)グリコール($n = 1.09$)中の5.7μmビーズ、(D)グリコール($n = 1.07$)中の8.9μmビーズ、に対する2つの偏光の差を図解しており、ここで信号(破線)はミー(Mie)計算(実線)と良く一致しており、ホモグロビンの吸収の特徴は完全に除去されている。

【図4】 後方散乱光の偏光(残留)成分のスペクトルである: T84癌性結腸細胞(cancerous colonic cells)の偏光後方散乱のミー計算の対実験データ適合度であり、ここで最も良い適合は次のセットのパラメーターを提供する: 平均寸法10.2μm、標準偏差1.5μm、比屈折率1.045、そして該寸法と標準偏差は光顕微鏡検査法を使用して測定されたものと一致する。

【図5】 後方散乱光の偏光(残留)成分のスペクトルである: 正常な腸内細胞(normal intestinal cells)の偏光後方散乱のミー計算の対実験データ適合度であり、ここで最も良い適合は次のセットのパラメーターを提供する: 平均寸法5.0μm、標準偏差0.5μm、比屈折率1.035、そして該寸法と標準偏差は光顕微鏡検査法を使用して測定されたものと一致する。

【図6】 正常な腸内細胞とT84癌性結腸細胞の核寸法分布を示すが、ここで各場合、

10

20

30

40

50

実線は該データから抽出された分布であり、破線は光顕微鏡検査法を使用して測定された分布である。

【図7】 本発明に従って組織の生体内光学的測定を行うための光ファイバープローブシステムを略図的に図解する。

【図8 A 及び 8 B】 本発明の好ましい実施例のプローブの遠位の端部を示す。

【図9 A - 9 C】 本発明の光ファイバープローブのもう1つの好ましい実施例を図解する。

【図1】

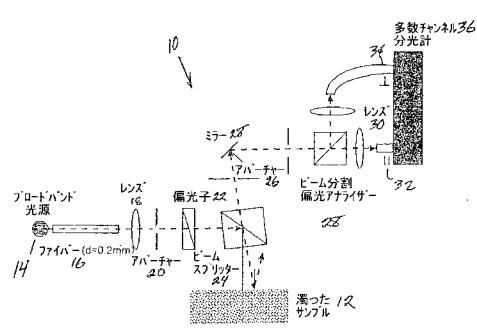


Figure 1

【図2 A - B】

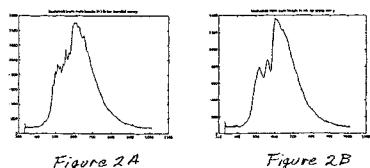


Figure 2A

Figure 2B

【図3 A - D】

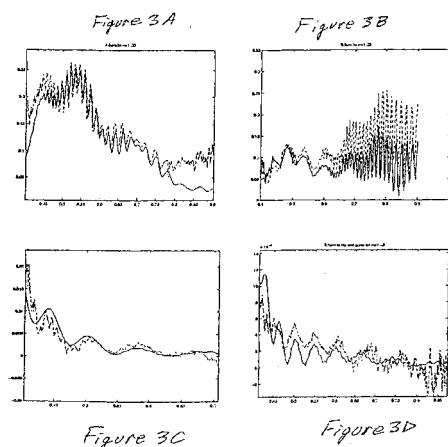
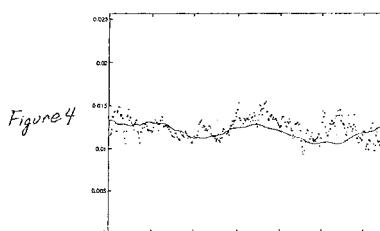


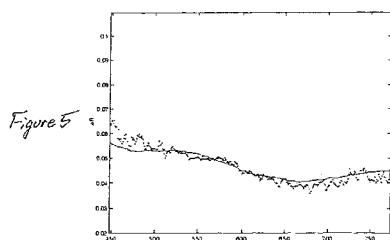
Figure 3C

Figure 3D

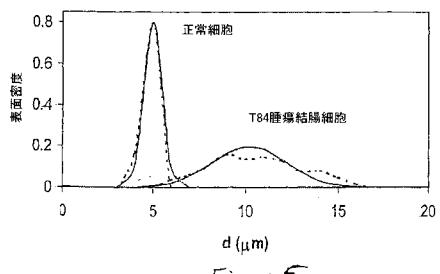
【図4】



【図5】



【図6】



【図7】

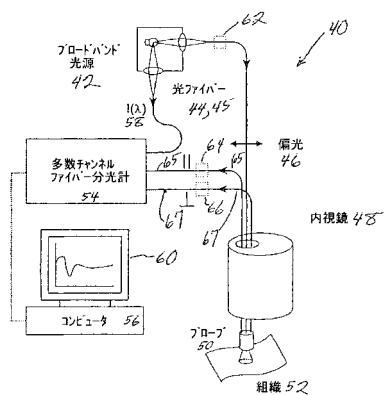
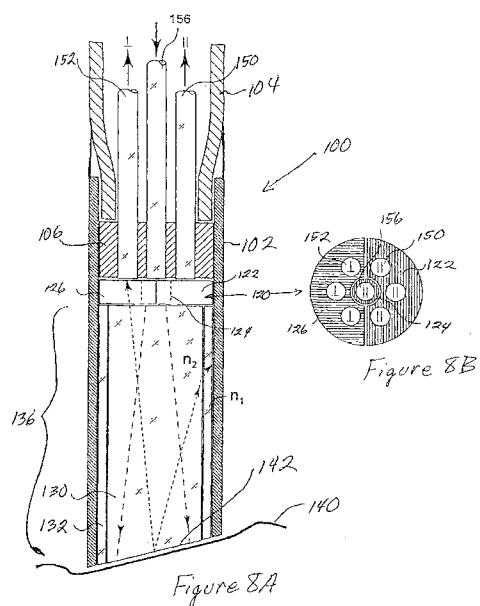
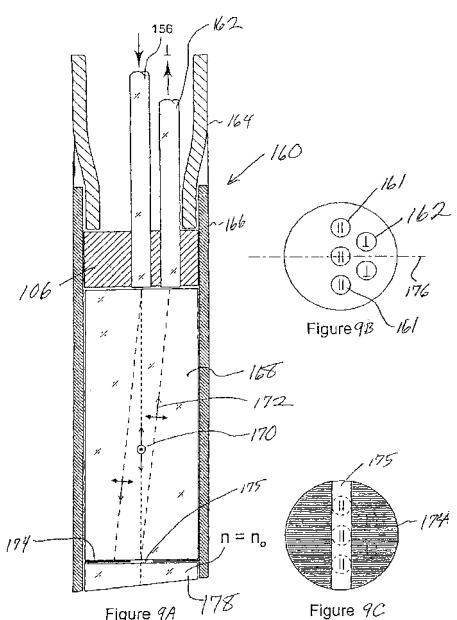


Figure 7

【図 8 A - B】



【図 9 A - 9 C】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
G 01N 21/35 (2006.01)	G 01N 21/27 Z
G 01N 33/48 (2006.01)	G 01N 21/35 Z
G 01N 33/483 (2006.01)	G 01N 33/48 M
	G 01N 33/483 C

(72)発明者 ダサリ, ラマンチヤンドラ・アール
アメリカ合衆国マサチュセッツ州 02421 レキシントン・グレートロックロード 6

(72)発明者 グルジヤー, ラジヤン
アメリカ合衆国マサチュセッツ州 02139 ケンブリッジ・メインストリート 3 / 897

(72)発明者 イツカン, アービング
アメリカ合衆国マサチュセッツ州 02116 ボストン・ビーコンストリート 330

(72)発明者 ペレルマン, レブ
アメリカ合衆国マサチュセッツ州 02146 ブルックライン・グリッグズロードナンバー 21 9
4

(72)発明者 フエルド,マイケル・エス
アメリカ合衆国マサチュセッツ州 02468 ニュートン・ヒンクレイロード 56

審査官 安田 明央

(56)参考文献 米国特許第 05290275 (U.S., A)
米国特許第 05333052 (U.S., A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61B 1/00-1/32
G02B 23/24-23/26
A61B 10/00
C12Q 1/02
G01N 21/21
G01N 21/27
G01N 21/35
G01N 33/48