



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년02월13일
(11) 등록번호 10-1947859
(24) 등록일자 2019년02월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61B 5/00 (2006.01) A61B 6/00 (2006.01)
G01J 3/44 (2006.01) G01N 21/27 (2006.01)
G01N 21/65 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61B 5/0075 (2013.01)
A61B 5/0084 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-7002866
(22) 출원일자(국제) 2013년07월02일
심사청구일자 2018년06월21일
(85) 번역문제출일자 2015년02월02일
(65) 공개번호 10-2015-0036345
(43) 공개일자 2015년04월07일
(86) 국제출원번호 PCT/SG2013/000273
(87) 국제공개번호 WO 2014/007759
국제공개일자 2014년01월09일
(30) 우선권주장
61/667,384 2012년07월02일 미국(US)
1307338.2 2013년04월23일 영국(GB)
(56) 선행기술조사문헌
W02012171935 A2

(73) 특허권자
내셔널 유니버시티 오브 싱가포르
싱가포르 119077 로우어 쉐트 리지 로드 21
(72) 발명자
후앙, 지웨이
싱가포르 119077, 로우어 쉐트 리지 로드 21, 디
파트먼트 오브 바이오엔지니어링, 패컬티 오브 엔
지니어링, 내셔널 유니버시티 오브 싱가포르 내
호, 쉐크 유
싱가포르 119077, 로우어 쉐트 리지 로드 21, 디
파트먼트 오브 메디신, 용 루 린 스쿨 오브 메디
신, 내셔널 유니버시티 오브 싱가포르 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인(유한) 대아

전체 청구항 수 : 총 15 항

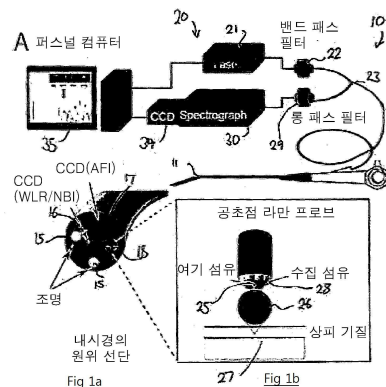
심사관 : 이재균

(54) 발명의 명칭 광섬유 라만 분광법을 이용하는 내시경검사로 실시간 암 진단과 관련된 방법

(57) 요약

광섬유 라만 분광 시스템의 정량적 분석을 위한 장치 독립적 측정을 수행하는 방법에 있어서, 상기 시스템이 레이저 광원, 분광기 및 광섬유 프로브를 포함하고 레이저 광원으로부터 광을 표적에 투과시키고 산란 광을 상기 분광기에 복원시키며, 상기 방법은 레이저 광원으로부터 광을 공지된 스펙트럼을 갖는 표준 표적에 투과시키고, 표준 표적으로부터 산란 광의 검정 스펙트럼을 기록하고, 공지된 스펙트럼과 검정 시스템을 비교하고 전달 함수(transfer function)를 발생시킨 다음 상기 전달 함수를 저장하는 단계를 포함한다. 경우에 따라 다른 개시된 방법과 조합하여 실시간 진단 라만 분광을 수행하는 방법이 추가로 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61B 6/00 (2013.01)
G01N 21/274 (2013.01)
G01N 21/65 (2013.01)
A61B 2560/0233 (2013.01)
G01J 2003/4424 (2013.01)
G01N 2021/656 (2013.01)
G01N 2201/129 (2013.01)

(72) 발명자

베르골트, 매즈 실베스트

싱가포르 119077, 로우어 켄트 리지 로드 21, 디파
 트먼트 오브 바이오엔지니어링, 패컬티 오브 엔지
 니어링, 내셔널 유니버시티 오브 싱가포르 내

젠, 웨이

싱가포르 119077, 로우어 켄트 리지 로드 21, 디파
 트먼트 오브 바이오엔지니어링, 패컬티 오브 엔지
 니어링, 내셔널 유니버시티 오브 싱가포르 내

여, 카이 구안

싱가포르 119077, 로우어 켄트 리지 로드 21, 디파
 트먼트 오브 메디신, 용 루 린 스쿨 오브 메디신,
 내셔널 유니버시티 오브 싱가포르 내

두라이판디안, 시야말라

싱가포르 119077, 로우어 켄트 리지 로드 21, 디파
 트먼트 오브 바이오엔지니어링, 패컬티 오브 엔지
 니어링, 내셔널 유니버시티 오브 싱가포르 내

명세서

청구범위

청구항 1

광섬유 라만 분광 시스템을 검정하는 방법으로서, 상기 시스템이 프로그램 지시들을 실행하도록 구성된 프로세서, 저장 장치, 레이저 광원, 1차 분광계 시스템 및 복수의 광섬유 프로브를 포함하되, 상기 복수의 광섬유 프로브는 적어도 1차 광섬유 프로브 및 2차 광섬유 프로브를 포함하고, 상기 복수의 광섬유 프로브 각각이 상기 1차 분광계 시스템에 결합가능하고 상기 복수의 광섬유 프로브 각각이 레이저 광원으로부터 광을 표적에 전송하고 산란 광을 상기 1차 분광계 시스템에 복원시키도록 구성되며, 상기 방법은:

상기 저장 장치에 표준 표적에 대한 공지된 스펙트럼을 저장하는 단계;

레이저 광원으로부터 광을 상기 공지된 스펙트럼을 갖는 상기 표준 표적에 투과시키는 단계; 및

상기 복수의 광섬유 프로브 각각에 대하여:

상기 표준 표적으로부터 상기 복수의 광섬유 프로브 각각을 통하여 상기 1차 분광계 시스템에 복원되는 상기 산란 광의 검정 스펙트럼을 기록하는 단계;

상기 공지된 스펙트럼과 검정 스펙트럼을 비교하고 상기 프로세서를 이용하여 적어도 상기 1차 광섬유 프로브에 대한 제1 전달 함수(transfer function) 및 상기 2차 광섬유 프로브에 대한 제2 전달 함수를 발생시키는 단계; 및

적어도 상기 제1 전달 함수 및 제2 전달 함수에 기초하여 검정 함수를 계산하는 단계;

제1 전달 함수, 제2 전달 함수 및 검정 함수를 상기 저장 장치에 저장하고 이에 의해 상기 1차 광섬유 프로브를 상기 제1 전달 함수와 관련시키고 상기 2차 광섬유 프로브를 상기 제2 전달 함수와 관련시키는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 방법은:

이후에 상기 복수의 광섬유 프로브 중에서 선택된 광섬유 프로브를 이용하여 시험 대상체를 조명하는 단계;

상기 시험 대상체를 조명하면서 스펙트럼을 기록하는 단계; 및

상기 선택된 광섬유 프로브와 관련된 저장된 전달 함수에 따라 스펙트럼을 보정하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 1차 분광계 시스템은 관련된 분광계 전달 함수를 가지며, 상기 프로브는 관련된 프로브 전달 함수를 가지며, 또한 상기 전달 함수는 분광계 전달 함수 및 프로브 전달 함수인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 검정 함수를 상기 2차 광섬유 프로브와 관련시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

2차 분광계 시스템 상에서, 상기 1차 광섬유 프로브를 사용하여 2차 시스템 전달 함수를 발생시키고 상기 2차

시스템 전달 함수를 저장하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 2차 분광계 시스템과 함께 상기 2차 광섬유 프로브를 사용하여, 상기 검정 함수에 따라 상기 저장된 2차 시스템 전달 함수를 변형하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 1차 분광계 시스템에 따라 상기 2차 분광계 시스템의 과장축 검정을 수행하는 초기 단계를 포함하는 방법.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 방법은:

상기 레이저 광원으로부터 광을 복수의 표적에 투과시키는 단계;

각각의 표적에 대하여, 상기 레이저 광원으로부터 광의 투과 파워 및 1차 분광계 시스템에서 산란광의 캡처된 스펙트럼을 측정하는 단계;

중속 변수로서 측정 투과 파워를 갖는 캡처된 스펙트럼의 다변량 분석을 수행하는 단계; 및

상기 캡처된 스펙트럼의 스펙트럼 특성의 함수로서 레이저 파워의 얻어진 모델을 저장하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 방법은:

레이저광을 시험 표적에 투과시키는 단계;

캡처된 스펙트럼을 상기 모델에 공급하는 단계; 및

상기 투과 파워의 추정치를 계산하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 10

복수의 광섬유 라만 분광 시스템들 내에 있는 광섬유 라만 분광 시스템을 조작하는 방법으로서, 상기 복수의 광섬유 라만 분광 시스템은 1차 분광기 및 레이저 광원을 갖는 1차 라만 분광 시스템, 및 적어도 하나의 2차 라만 분광 시스템을 각각 포함하고, 각각의 2차 라만 분광 시스템은 상기 1차 분광기와 구별되는 대응 2차 분광기 및 레이저 광원을 가지며, 상기 1차 라만 분광 시스템은 1차 광섬유 프로브 및 복수의 2차 광섬유 프로브에 결합가능하고, 각각의 2차 라만 분광 시스템은 상기 1차 광섬유 프로브 및 상기 복수의 2차 광섬유 프로브에 결합가능하고, 상기 방법은:

(A) 표준 광원에 대한 공지된 스펙트럼을 저장하고 상기 공지된 스펙트럼을 갖는 표준 광원을 제공하는 단계;

(B) 각각의 2차 라만 분광 시스템에 대해, 상기 1차 라만 분광 시스템의 1차 분광기로 상기 2차 분광기의 과장 검정을 수행하는 단계; 및

(C) 각각의 2차 라만 분광 시스템에 대한 제1 검정 공정을 수행하는 단계를 포함하되, 상기 제1 검정 공정은:

(i) 복수의 전달 함수를 결정하는 단계 - 상기 복수의 전달 함수 각각은 2차 라만 분광 시스템에 결합된 선택된 2차 광섬유 프로브에 대응하며, 상기 복수의 전달 함수 각각은 상기 선택된 2차 광섬유 프로브가 상기 2차 라만 분광 시스템에 결합되면서 얻어진 측정 검정 스펙트럼과 공지 스펙트럼 간의 수학적 관계를 설정함; 및

(ii) 각각의 선택된 2차 광섬유 프로브를 그에 대하여 결정된 전달 함수와 관련시키는 단계를 포함하고,

또는

(D) 하기를 포함하는 제2 검정 공정을 수행하는 단계;

(i) 각각의 2차 라만 분광 시스템에 대하여:

(a) 표준 광원으로부터 수신된 산란광의 검정 스펙트럼을 측정하는 동안 상기 1차 광섬유 프로브가 결합되면서 상기 2차 라만 분광 시스템에 대응하는 시스템 전달 함수를 결정하는 단계; 및

(b) 상기 2차 라만 분광 시스템을 그에 대하여 결정된 시스템 전달 함수와 관련시키는 단계; 및

(ii) 각각의 2차 광섬유 프로브에 대하여:

(a) 상기 2차 광섬유 프로브에 대한 검정 함수를 결정하는 단계; - 상기 검정 함수는 표준 광원으로부터 수신된 산란광의 스펙트럼을 측정하는 동안 상기 1차 라만 분광 시스템에 결합된 상기 2차 광섬유 프로브에 대응함; 및

(b) 상기 2차 광섬유 프로브를 그에 대하여 결정된 검정 함수와 관련시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 복수의 2차 광섬유 프로브는 선택된 2차 라만 분광 시스템을 위한 복수의 리저브 프로브를 포함하고, 또한 상기 선택된 2차 라만 분광 시스템에 대하여 상기 제1 검정 공정이 수행되어 상기 리저브 프로브들 각각에 대응하는 전달 함수를 결정하는, 방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

임의의 복수의 2차 광섬유 프로브를 임의의 수의 2차 라만 분광 시스템에 매칭하도록 상기 검정 공정을 수행하는 것을 포함하여, 상이한 2차 라만 분광 시스템 및 상이한 2차 광섬유 프로브들을 사용하여 캡처된 스펙트럼이 일치하고 비교가능하도록 하는, 방법.

청구항 13

라만 분광 시스템으로서,

레이저 광원;

1차 분광계 시스템;

적어도 1차 광섬유 프로브 및 2차 광섬유 프로브를 포함하는 복수의 광섬유 프로브 - 상기 복수의 광섬유 프로브 각각은 상기 1차 분광계 시스템에 결합가능하고, 상기 1차 분광계 시스템에 결합될 때, 레이저 광원으로부터 광을 표적에 투과시키고 산란광을 상기 1차 분광계 시스템에 복원시키도록 구성됨;

저장 장치;

상기 저장 장치에 저장되는 상기 1차 광섬유 프로브에 대한 제1 전달 함수 및 상기 2차 광섬유 프로브에 대한 제2 전달 함수;

상기 제1 전달 함수 및 상기 제2 전달 함수에 기초하는 검정 함수;

상기 시스템이 하기 작동 가능하도록 프로그램 지시들을 실행하도록 구성된 프로세서를 갖는 컴퓨터

상기 복수의 광섬유 프로브 중에서 선택된 하나를 사용하여 레이저 광원으로부터 광을 공지된 스펙트럼을 갖는 표적에 투과시킴;

상기 표적으로부터 산란광의 스펙트럼을 기록함; 및

상기 선택된 광섬유 프로브에 대응하는 저장된 전달 함수에 따라 기록된 스펙트럼을 변형시킴
를 포함하는 라만 분광 시스템.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 저장된 전달 함수는 상기 1차 분광계 시스템 및 선택된 광섬유 프로브에 대응하는, 라만 분광 시스템.

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 저장된 전달 함수는 상기 1차 분광계 시스템 및 상기 선택된 광섬유 프로브와 구별되는 1차 광섬유 프로브에 대응하며, 상기 컴퓨터는 상기 시스템이 상기 선택된 광섬유 프로브와 관련된 저장된 검정 함수에 따라 저장된 전달 함수를 변형하도록 작동가능하게 하는 프로그램 지시들을 실행하기 위해 추가로 구성되는, 라만 분광 시스템.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 출원은 그 기재내용 전체가 본 명세서에서 참고로 인용되는 2012년 7월 2일자 미국 가특허출원 제61/667,384호 및 2013년 4월 23일자로 출원된 영국특허출원 제1307338.2호의 우선권을 주장한다.
- [0002] 본 발명은 내시경 검사에서 실시간 암 진단용 온라인 바이오 의학 분광법 소프트웨어 플랫폼 및 광섬유 라만 분광법의 정량적 분석을 위한 장치 독립적 측정 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0003] 라만 분광법(Raman spectroscopy)은 단색광의 비탄성 또는 라만 산란을 사용하는 기술이다. 통상적으로, 단색 광원은 가시 광선 또는 근적외선(near infrared)("NIR") 범위의 레이저이다. 산란 광자의 에너지는, 산란 광자의 파장을 변화시키면서, 조명 재료의 진동 모드 또는 여기와의 상호작용에 응답하여 시프트 업 또는 다운한다. 따라서 산란 광에서 스펙트럼은 확산 재료에 대한 정보를 제공할 수 있다.
- [0004] NIR 라만 분광법은 다수의 기관에서 생체내 전암성 및 암세포의 특징화 및 진단을 위한 잠재적인 기술로 공지되어 있다. 이러한 기술은 비-침습적이거나 최소로 침습적이고, 생검 또는 조직의 다른 제거가 필요하지 않기 때문에 바람직하다. 두개의 파장대에서 NIR 라만 분광법을 사용하는 것이 공지되어 있다. 첫 번째는 예를 들면 단백질, DNA 및 지질 함량과 같은 고도로 특이적인 생체분자 정보의 풍부함 때문에, 800 내지 1800 cm^{-1} 의 파수를 갖는 소위 지문(fingerprint)("FP") 범위이며, 이는 조직 특성 진단을 위한 스펙트럼 영역에 포함된다. 이 파장 범위의 단점은 일반적으로 사용되는 785 nm의 레이저 광원이 사용될 때, 강한 자기형광 배경 신호가 발생될 수 있다는 것이다. 또한, 프로브로서 광섬유를 사용하는 경우, 라만 신호는 광섬유에서의 용융 실리카에서 산란된다. 특히 전하 결합소자(charge-coupled device)("CCD")가 산란 스펙트럼을 측정하는데 사용되는 경우, 자기형광 신호는 CCD를 포화시킬 수 있고, 이 파장 영역에서 본질적으로 매우 약한 라만 신호들의 검출을 방해한다.
- [0005] 기술로서 광섬유 라만 분광법의 또 다른 문제점은 장치의 표준화이다. 광섬유 라만 분광기술은 주로 단일 시스템에 국한되어 다중심의 임상시험 또는 일상적인 의료진단으로 옮기려는 시도들이 이루어지지 않았다. 이것은 주로 라만 분광계 장치들이 일반적으로 유사하지 않고 (즉, 광학, 반응 함수, 정렬, 스루풋 등) 또한 일반적으로 매우 상이한 라만 스펙트럼을 생성하기 때문이다. 또한 광섬유 라만 프로브는 수명이 제한되어 교체되거나

또는 주기적으로 서로 교환되어야 한다. 불행하게도, 각각의 광섬유 프로브는 그 자신의 독특한 배경을 가질 뿐만 아니라 상이한 투과형 스펙트럼 성질들과 관련되어 있기 때문에 상이한 광섬유 프로브를 사용하여 얻어진 라만 데이터는 비교할 수 없다. 상이한 투과형 특성들은 스펙트럼 강도를 현저하게 왜곡하여, 상이한 광섬유 프로브로 얻어진 조직 라만 스펙트럼을 비교할 수 없게 만든다. 그 결과, 일차 임상 플랫폼에서 개발된 다변량 진단 알고리즘은 이차 임상 플랫폼에 적용할 수 없다. 특히, 조직 라만 강도의 정량적 측정은 광섬유 생물의학 라만 적용에서 가장 어려운 문제 중의 하나이다. 장치/섬유 프로브 독립적 강도 검정 및 표준화는 생물 의학에서 광섬유 라만 분광법의 세계적인 사용을 실현하는데 필수적이다. 이 때문에, '마스터' 프로브를 사용하여 구축된 다변량 통계진단 모델은 '슬레이브' 프로브로 측정된 스펙트럼에 적용 할 수 없다. 라만 기술을 세계적 규모로 암 스크리닝을 위한 광범위한 도구가 되기 위해서는, 특히 생물 적용을 위해 라만 분광계 및 광섬유 프로브를 정규화할 필요가 있다. 보고된 연구들의 대부분은 광섬유 프로브 없이 간단한 화학 혼합물의 측정을 위해 인트라만 분광기 표준화에 초점을 맞추고 있다. 일반적으로 간단한 화학 혼합물의 라만 분광법은 이중 생물조직 샘플의 광섬유 라만 분광법과 비교할 수 없다.

[0006] 장치 전체에서 결과들의 표준화에 따른 추가의 문제점은 레이저 여기력과 관련된 스펙트럼 변화이다. 통상적으로, 라만 스펙트럼은 규격화되어 일반적인 스펙트럼 형상을 유지하지만, 이는 절대 정량 분광 특성들을 제거한다. 예를 들면, 섬유 선단에 다이아몬드를 매립하거나 표준용으로 레이저 광 경로에서 중합체 캡을 위치시킴으로써, 광섬유 라만 프로브에서 공급된 레이저 파워를 모니터링하는 시도가 알려져 있다. 그러나 이러한 해결책은 만족스럽지 못하고 필요한 스펙트럼 영역에서 방해로 일으킬 수 있다.

[0007] 암 및 전암 증상의 생체내 진단을 위해 광분광 기법(반사율 형광 및 라만을 포함)의 사용상의 또 다른 문제점은 데이터 분석이 주로 후처리 및 오프-라인 알고리즘 개발로 제한되어 있다는 것이다. 이것은 내시경 검사 중에 수집된 다수의 스펙트럼이 아웃라이어(outlier)이기 때문에 내시경 분석에서 사실이다. 이 내시경 검사용 실시간 진단을 가능하게 하는 시스템을 갖는 것이 유용할 것이다.

발명의 내용

[0008] 제1 양태에 따르면, 광섬유 라만 분광 시스템을 검정하는 방법이 제공되며, 상기 시스템이 레이저 광원, 분광기 및 광섬유 프로브를 포함하고 레이저 광원으로부터 광을 표적에 투과시키고 산란 광을 상기 분광기에 복원시키며, 상기 방법은 레이저 광원으로부터 광을 공지된 스펙트럼을 갖는 표준 표적에 투과시키고, 표준 표적으로부터 산란 광의 검정 스펙트럼을 기록하고, 공지된 스펙트럼과 검정 시스템을 비교하고 전달 함수(transfer function)를 발생시킨 다음 상기 전달 함수를 저장하는 단계를 포함한다.

[0009] 본 방법은 시험 대상체를 연속적으로 조명하고 스펙트럼을 기록하고 저장된 전달 함수에 따라 스펙트럼을 보정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0010] 상기 방법은 다수의 광학 프로브 각각에 대해 검정 스펙트럼을 기록하고, 상기 프로브 각각을 포함하는 시스템의 전달 함수를 계산하고, 상기 전달함수를 해당 프로브와 관련시키는 단계를 포함할 수 있다.

[0011] 상기 분광계는 관련된 분광계 전달 함수를 가지며, 상기 프로브는 관련된 프로브 전달 함수를 가지며, 또한 상기 전달함수는 분광계 전달 함수 및 프로브 전달 함수일 수 있다.

[0012] 상기 방법은 일차 분광계 시스템에서 제1광섬유 프로브에 의한 제1 전달 함수 및 제2 광섬유 프로브에 의한 제2 전달함수를 계산하고, 제1 전달함수 및 제2 전달함수에 기초하여 (프로브 간) 검정 함수를 계산하는 단계를 포함할 수 있다.

[0013] 상기 방법은 검정함수를 제2 광섬유 프로브와 관련시키는 단계를 포함할 수 있다.

[0014] 상기 방법은 이차 분광계 시스템에서 제1 광섬유 프로브를 사용하고 제2 시스템 전달 함수를 발생시키고 제2 시스템 전달 함수를 저장하는 단계를 포함할 수 있다.

[0015] 상기 방법은 이차 분광계 시스템에 의해 제2 광섬유 프로브를 사용하고, 검정 함수에 따라 상기 저장된 이차 시스템을 변형하는 단계를 포함할 수 있다.

[0016] 상기 방법은 일차 분광계 시스템에 따라 이차 분광계 시스템의 파장축 검정을 수행하는 초기단계를 포함할 수 있다.

[0017] 제2 양태에 따르면, 라만 분광계 시스템을 조작하는 방법이며, 상기 시스템이 레이저 광원, 분광기 및 광섬유 프로브를 포함하고 레이저 광원으로부터 광을 표적에 투과시키고 산란광을 분광기에 복원시키며, 상기 방법은

레이저 광원으로부터 광을 공지된 스펙트럼을 갖는 표적에 투과시키고, 표적으로부터 산란 광의 스펙트럼을 기록하고, 저장된 전달함수에 따라 기록된 스펙트럼을 변형시키는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.

- [0018] 저장된 전달 함수는 분광계 및 광섬유 프로브와 관련시킬 수 있다.
- [0019] 저장된 전달 함수는 분광계 및 광섬유 프로브와 관련시킬 수 있으며 또한 상기 방법은 광섬유 프로브와 관련된 저장된 검정 함수에 따라 저장된 전달함수를 변형하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0020] 제3 양태에 따르면, 레이저 광원, 레이저 광원으로부터 광을 표적에 투과시키고 산란광을 분광기에 복원시키는 분광기 및 광섬유 프로브, 및 저장된 전달 함수를 포함하며, 상기 시스템은 레이저 광원으로부터 광을 공지된 스펙트럼을 갖는 표적에 투과시키고, 표적으로부터 산란 광의 스펙트럼을 기록하고, 저장된 전달함수에 따라 기록된 스펙트럼을 변형시키도록 작동 가능한 것으로 된 라만 분광계 시스템이 제공된다.
- [0021] 저장된 전달 함수는 분광계 및 광섬유 프로브와 관련할 수 있다.
- [0022] 저장된 전달함수는 분광계 및 일차 광섬유 프로브와 관련할 수 있으며 또한 상기 방법은 광섬유 프로브와 관련된 저장된 검정 함수에 따라 저장된 전달함수를 변형하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0023] 제4 양태에 따르면, 라만 분광계 시스템에 송달된 레이저 파워를 평가하는 방법으로서, 상기 시스템이 레이저 광원, 분광기 및 광섬유 프로브를 포함하고 레이저 광원으로부터 광을 표적에 투과시키고 산란광을 분광기에 복원시키는 단계를 포함하고, 상기 시스템은 레이저 광원으로부터 광을 다수의 표적에 투과시키고, 각각의 표적에 대하여, 레이저 광원으로부터 광의 투과력 및 분광기에서 산란광의 스펙트럼을 측정하고, 종속 변수로서 측정 투과된 전력을 갖는 캡처된 스펙트럼의 다변량 분석을 수행하고, 얻어진 모델을 저장하는 단계를 포함한다.
- [0024] 본 방법은 레이저광을 시험 표적에 투과시키고, 캡처된 스펙트럼을 상기 모델에 공급하고, 투과된 전력의 추정치를 계산하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0025] 제5 양태에 따르면, 광섬유 프로브를 갖는 광섬유 분광기 시스템으로부터 배경 신호를 감산하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 다음의 단계를 포함한다.
- [0026] a) 배경 스펙트럼을 저장하고,
- [0027] b) 시험 스펙트럼을 수신하고,
- [0028] c) 하나 이상의 기준 피크를 이용하여 배경 기여도를 추정하고,
- [0029] d) 추정된 배경 기여에 기초한 보정 인자로 배경 스펙트럼을 곱한 다음 이를 시험 스펙트럼으로부터 감산하고,
- [0030] e) 잔류 배경 기여를 위해 시험 스펙트럼을 체크하고, 및
- [0031] f) 배경 기여가 무시할 수 있는 경우, 시험 스펙트럼을 아웃풋 하고, 그렇지 않으면 단계 c) 내지 e)를 반복한다.
- [0032] 하나 이상의 기준 피크는 광섬유 프로브에서 실리카 또는 사파이어에 대응하는 하나 이상의 피크를 포함할 수 있다.
- [0033] 제6 양태에 따르면, 내시경 검사중에 라만 분광법을 사용하여 실시간 진단을 위한 컴퓨터 실행 방법이 제공된다. 이 방법은 조직과 관련된 적어도 하나의 스펙트럼을 수신하고, 상기 스펙트럼을 사용하여 스코어를 결정하는 모델에서 적어도 하나의 스펙트럼을 분석한 다음, 스코어를 출력하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 스코어는 상기 조직이 암이 될 가능성을 나타낸다.
- [0034] 일부 실시형태에서, 상기 모델은 부분 최소 제곱-관별 분석, 주성분 분석 선형 구별 분석, 및 콜로니 최적화 선형 구별 분석, 분류 및 회귀 트리, 서포트 벡터 머신 및 적응 부스팅(adaptive boosting)으로 이루어진 군으로부터 선택된 해석 함수를 사용하여 생성된다,
- [0035] 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 스펙트럼은 라만 분광법에 의해 생성된다. 모델에서 적어도 하나의 스펙트럼을 분석하는 것은 제1 모델 및 제2 모델에서 적어도 하나의 스펙트럼을 분석하는 것을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서 상기 모델은 분석된 조직에 기초하여 선택된다. 일부 실시형태에서 스코어는 조직이 정상, 장상피화생, 이형성 또는 종양인지 여부 나타낸다.
- [0036] 일부 양태에서 적어도 하나의 스펙트럼을 분석하는 것은 아웃라이어 분석(outlier analysis)을 수행하고; 아웃라이어 분석에 응답하여 상기 적어도 하나의 스펙트럼이 아웃라이어임을 결정하고, 상기 스펙트럼을 거절하는

것을 포함한다. 아웃라이어 분석을 수행하는 것은 주성분 분석을 포함할 수 있다.

- [0037] 일부 양태에서 오디오 발광 장치는 적어도 하나의 스펙트럼이 아웃라이어임을 결정하는 아웃라이어 분석에 응답하는 오디오 신호를 방출한다. 스펙트럼이 아웃라이어 방법이라는 결정에 대한 응답은 분광계에 지시하여 분석용 시스템에 의해 수신된 추가적인 적어도 하나의 스펙트럼을 얻는다.
- [0038] 일부 실시형태에서, 오디오 발광 장치는 조직을 정상, 이형성 또는 종양으로 식별하는 오디오 신호를 방출한다. 일부 실시형태에서, 각각의 진단과 관련된 오디오 신호는 상이하고, 또한 아웃 라이어 스펙트럼의 결정과 관련된 오디오 신호와 상이하다.
- [0039] 일부 실시형태에서, 상기 진단은 내시경 검사 과정 중에 일어난다.
- [0040] 또한 컴퓨터 실행 방법을 수행하기 위한 시스템은 물론 컴퓨터 실행방법을 수행하기 위한 지침설명서를 갖는 비-일시적 컴퓨터 해독 가능한 매체가 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0041] 개시된 시스템 및 방법의 실시형태들은 첨부된 도면들을 참조하여 단지 예시로서 설명된다.
- 도 1은 일 실시형태에 따른 라만 분광 시스템의 개략도이다.
- 도 1a는 도 1의 내시경의 단부를 대규모로 나타낸다.
- 도 1b는 도 1a의 내시경의 라만 프로브를 더욱 상세히 나타낸다.
- 도 2는 측정된 형광 스펙트럼을 기준 표준과의 비교를 예시하는 그래프이다. 검정 함수가 또한 도시된다.
- 도 3은 제1 검정 방법의 개략도이다.
- 도 4a는 제1 검정 방법에 사용하기 위한 제1 공정을 나타내는 흐름도이다.
- 도 4b는 제1 검정 방법에 사용하기 위한 제2 공정의 제1 부분을 나타내는 흐름도이다.
- 도 4c는 제1 검정 방법에 사용하기 위한 제2 공정의 제2 부분을 나타내는 흐름도이다.
- 도 5는 일차 분광계와 이차 분광계 중에서 아르곤/수은 램프의 파장 정렬을 나타내는 그래프이다.
- 도 6은 제2 검정방법을 사용하여 일차 분광계 및 이차 분광계의 스펙트럼 검정을 나타내는 그래프이다.
- 도 7a는 제1 검정방법에 사용하기 위한 제1 공정을 나타내는 흐름도이다.
- 도 7b는 제2 검정방법에 사용하기 위한 제2 공정의 제1 부분을 나타내는 흐름도이다.
- 도 7c는 제2 검정방법에 사용하기 위한 제2 공정의 제2 부분을 나타내는 흐름도이다.
- 도 8은 마스터 및 슬레이브 프로브 및 프로브 검정 전달 함수로 측정된 형광 표준을 나타내는 그래프이다.
- 도 9a는 검정되지 않은 일차 및 이차 분광계를 각각 마스터와 슬레이브 프로브와 비교하는 조직 라만 스펙트럼의 그래프이다.
- 도 9b는 제1 검정 방법을 사용하여 재검정한 후에 각각 마스터 및 슬레이브 프로브와 일차 및 이차 분광계로부터 조직 라만 스펙트럼의 그래프이다.
- 도 9c는 제2 검정 방법을 사용하여 재검정한 후에 각각 마스터 및 슬레이브 프로브와 일차 및 이차 분광계로부터 스펙트럼의 그래프이다.
- 도 10은 검정 전후에 위로부터 생체내 조직 라만 스펙트럼에 대한 주성분 분석 스코어 산포도이다.
- 도 11은 라만 스펙트럼에서 섬유 프로브로 인하여 배경 스펙트럼 피크를 나타내는 그래프이다.
- 도 12는 여기 레이저 파워에 의한 라만 스펙트럼의 변동을 나타내는 그래프이다.
- 도 13a는 레이저 파워를 추정하기 위한 모델을 생성하는 방법을 나타내는 흐름도이다.
- 도 13b는 레이저 파워를 추정하는 방법을 예시하는 흐름도이다.
- 도 14a는 임의의 수의 포함된 잠재 변수에 대한 평균 제공된 오차를 나타내는 그래프이다.

- 도 14b는 도 10의 방법의 잠재 변수에 대한 부하(loading) 및 회귀 인자를 나타낸다.
- 도 15는 생체내 시험 대상물에서 예측된 레이저 파워에 대하여 측정된 레이저 파워를 도시하는 그래프이다.
- 도 16은 프로브 배경 신호를 감산하는 방법을 나타내는 흐름도이다.
- 도 17은 손바닥 및 섬유 광학 실리카 및 사파이어로 배경으로부터 수신된 스펙트럼을 나타내는 그래프이다.
- 도 18은 도 16의 라만 스펙트럼과 배경 제거 후에 스펙트럼을 비교하는 그래프이다.
- 도 19는 상기 방법의 조합을 나타내는 흐름도이다.
- 도 20은 일 실시형태에 따른 실시간 암 진단을 위한 스펙트럼 취득 및 처리 흐름용 시스템의 건축 다이어그램이다.
- 도 21은 일 실시형태에 따른 실시간 진단을 위한 스펙트럼 취득 및 처리 흐름을 개략적으로 나타내는 흐름도이다.
- 도 22A 및 B는 두 가지 실시형태에 따른 실시간 암 진단용 시스템을 사용하기 위한 그래픽 사용자 인터페이스(GUI)이다.
- 도 23은 305 위의 환자로부터 취득한 정상 ($n = 2465$) 및 암($n = 283$) 위 조직의 생체내 평균 라만 스펙트럼이다.
- 도 24는 스펙트럼 훈련 데이터베이스에서 계산된 주성분(PC) 부하를 예시한다.
- 도 25는 두 개의 진단적으로 현저한 PC 스코어 (PC1 대 PC2)의 분산 플롯이다.
- 도 26은 10개의 미래의 위 샘플에서 취득한 105 라만 스펙트럼에 대한 호텔링 T^2 대 Q-잔차 (45 정상, 30 암, 30 이상치)를 입증한다.
- 도 27은 리브-원 스펙트럼-아웃(leave-one-spectrum-out), 교차 유효성과 함께 PLS-DA 모델링에 기초하여 미래의 정상 ($n = 45$) 및 암($n=30$) 위 조직에 속하는 사후 확률 값의 산포도이다.
- 도 28은 정상 및 암 위암 조직의 미래 예측을 위한 스펙트럼 데이터베이스로부터 계산된 수신기 작동 특성(ROC) 곡선은 물론 정상 및 암 위 조직의 미래 예측을 위한 ROC 곡선을 예시한다.
- 도 29는 상이한 785-nm 레이저 여기 힘 (즉 10, 30 및 60 nW)를 사용하여 자가 형광 감산된 및 강도 검정된 생체내 조직 라만 스펙트럼 \pm 이너 립(inner lip) 1SD를 예시한다.
- 도 30a는 리브-원 대상물-아웃, 교차 검증은 물론 데이터에 대한 선형 피팅(linear fit)에 기초하는 PLS 회귀 모델을 사용하여 실제 및 예측된 레이저 여기력 사이의 관계를 예시한다.
- 도 30b는 독립적 검증에 기초하는 PLS 회귀를 사용하는 실제 및 예측된 레이저 여기력 사이의 관계를 예시한다.
- 도 31은 60 nW 레이저 여기 파워에서 측정된 상이한 농도(즉, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 중량%)로 제조한 젤라틴 조직 팬텀의 라만 스펙트럼을 예시한다.
- 도 32는 예측된 레이저 파워로 보정한 후에 조직 팬텀의 실제 및 예측된 젤라틴 농도간의 상관성을 예시한다.
- 도 33은 임상 내시경 검사 중에 0.1초에 Rosenmuller의 포사(Fossa)로부터 획득한 대표적인 생체내 로우(raw) 라만 스펙트럼을 예시한다. 도 33의 삽입도는 강한 자가 형광 배경을 제거한 후 처리된 조직 라만 스펙트럼이다.
- 도 34는 후비인두 (PN) ($n=521$), Rosenmuller의 포사(FOR) ($n=157$) 및 후두 성대 (LVC)($n=196$)의 생체내 (대상체 간) 평균 라만 스펙트럼 \pm 1 표준편차(SD)를 예시한다. 백색광 반사율(WRL) 및 좁은 밴드 (NB) 영상 안내 하에 후비인두 (상부) Rosenmuller의 포사 (중간) 및 후두 성대 (하부)로부터 생체내 광섬유 라만 내시경 검사 결과들이 또한 도시한다.
- 도 35는 생체내 (대상체 간) 평균 라만 스펙트럼 \pm PN ($n=18$), FOR($n=18$) 및LVC ($n=17$)의 1SD를 예시한다.
- 도 36은 상이한 해부학적 조직 유형의(대상체 간): [후비인두 (PN) - 후두 성대 (LVC)]; [후부인두(PN) - Rosenmuller의 포사(FOR)]; 및 [후두 성대(LVC)- Rosenmuller의 포사(FOR)]의 차등 스펙트럼 \pm 1 SD의 비교

를 예시한다.

도 37은 인간의 체액(콧물, 침 및 혈액)에서 가능한 교란인자들(confounding factors)의 제외 라만 스펙트럼을 예시한다.

도 38은 스펙트럼 분산의 총 57.41% (PC1: 22.86%; PC2: 16.16%; PC3: 8.13%; PC4 6.22% PC5: 4.05%)를 나타내는, 머리와 목의 다른 조직들 중에서 생체 분자 변화를 분석하는 PC 부하를 예시한다.

도 39는 상이한 조직 유형(즉, PN, FOR 및 LVC)에 대한 5 PCA 스코어의 박스 차트를 제공한다. 각각의 노치 박스(notch box) 내의 선은 중앙값을 나타내지만, 박스의 하부 및 상부 경계들은 각각 제1 (25.0% 백분위수) 및 제3 (75.0% 백분위수) 사분위수를 나타낸다. 오차막대(위스커)는 1.5배 4분위수간 범위를 나타낸다. p-값은 또한 상이한 조직 유형 중에서 주어진다.

도 40A는 임상 내시경 검사 중에 취득한 편평상 라이닝 상피 (n=165), 원주상 라이닝 상피(n=907), 바렛 식도 (Barrett's esophagus)(n=318), 고도 이형성 (n=77)의 평균 생체내 공초점 라만 스펙트럼을 예시한다.

도 40B-E는 B) 측정된 조직 부위에 해당하는 대표적 조직학적 단면 - 슬라이드 (헤마톡실린 및 에오신 (H & E 오염)을 예시한다. 편평상 라이닝 상피; (C) 배상세포가 없는 원주상 라이닝 식도, x 200; (D) 정상 중층 편평 상피가 배상세포를 함유하는 장관 화생성 상피로 대체되는 바렛 식도, x 200; (E) 건축학적 및 세포학적 이형은 물론 분기 및 유두 형성, 세포학적 다형성 및 극성 상실의 밀집 크립트(crowded crypt)를 나타내는 고도 이형성; x 100.

도 41A는 공초점 라만 내시경 검사 기술을 사용하여 '정상' 원주상 라이닝 상피 (CLE), (ii) '저위험' 장상피 회생(IM), (iii) '고위험' 고도 이형성 (HGD)에 속하는 미래의 사후 확률의 2차원적 3진수 플롯을 예시한다.

도 41B는 '정상'CLE의 이분법적 차별의 수신기 동작 특성(ROC) 곡선, (ii) '저위험' IM, (iii) '고위험' HGD. ROC 곡선(AUC) 아래 영역은 각각 0.88, 0.84 및 0.90이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0042] 본 명세서에서는 내시경 검사에서 상이한 기관 (예를 들면, 위장관 (위, 식도, 결장), 방광, 폐, 구강, 인두, 후두, 자궁, 간, 피부 등)에서 종양성 병변의 실시간 검출을 실현하기 위한 생물 의학 분광법 (즉, 반사율, 형광 및 라만 분광법)을 위한 온라인 시스템 및 방법이 제공된다. 진단 방법은, 상이한 기관의 광범위한 스펙트럼 데이터베이스 (즉, 라만, 형광, 반사율)를 기반으로 멀티 클래스 진단을 포함하여, 여기원 동기화, 통합 시간 조정, 데이터 수집, 전처리, 아웃라이어 분석 및 확률 다변량 진단 (즉, 부분 최소 제곱-판별 분석(partial least squares-discriminant analysis)(PLS-DA), 주성분 분석(principal component analysis)(PCA) - 선형 판별 분석 (linear discriminant analysis)(LDA), 콜로니 최적화(ant colony optimization)(ACO) - LDA, 분류 및 회귀 트리(classification and regression trees)(CART), 지원 벡터 머신(support vector machine)(SVM), 적응 부스팅(adaptive boosting)(AdaBoost) 등)을 통합한다.

[0043] 일 실시형태에서, 개시된 시스템 및 방법은 내시경 검사에서 상부 GI의 전암 및 암의 조기진단 및 암의 검출을 위해 최근 개발된 멀티모달 영상 유도성(multimodal image-guided)(WLR/NBI /AFI) 라만 분광 플랫폼과 온라인 지난 프레임워크를 통합한다. 조직 라만 스펙트럼의 취득 및 통합시간을 0.5 s의 미리 정해진 상한으로 스케일링은 CCD 신호 포화를 방지하면서 개선된 SNR을 갖는 생체내 조직 스펙트럼의 즉각적인 취득을 허용한다. 이것은 자기 형광 강도가 조직에서 별개의 내생 형광 물질에 의해 원인이 되는 다른 해부학적 영역 (예를 들면, 위에서 난포강과 신체, 폐에서 기관지) 사이에서 현저하게 변화하는 내시경 검사 진단에 특히 중요하다.

[0044] 도면을 상세하게 구체적으로 참조하면, 도시된 상세는 실시예에 의거하며, 바람직한 실시형태의 예시적 논의의 목적으로 하며, 개시된 시스템 및 방법의 원칙 및 개념적 양상의 가장 유용하고 용이하게 이해되는 설명인 것으로 사료되는 것을 제공하는 구절에서 나타낸다는 것이 강조된다. 이와 관련하여, 개시된 시스템 및 방법의 근본적인 이해에 필요한 것보다 개시된 시스템 및 방법의 구조적 상세를 더욱 자세하게 나타내기 위한 시도는 이루어지지 않고 있으며, 도면과 관련된 설명은 개시된 시스템 및 방법이 어떻게 실제로 구체화되는지를 당업계의 기술자에게 자명하게 할 것이다.

[0045] 개시된 시스템 및 방법의 적어도 일 실시형태를 자세하게 설명하기 전에, 본 개시내용은 그 출원에서 다음의 설명에 기술되거나 또는 도면에 예시된 구성요소들의 구성 및 배열의 상세로 제한되지 않는다는 것으로 이해되어야 한다. 개시된 시스템 및 방법은 다른 실시형태에 적용할 수 있거나 또는 다양한 방식으로 실시되거나 수행된

다. 또한 본 명세서에서 사용되는 문구 및 용어는 설명을 위한 것이며 제한하는 것으로 간주되지 않아야 한다는 것이 이해되어야 한다.

- [0046] 이하 도 1을 참조하면, 일 실시형태에 따른 내시경 시스템을 포함하는 진단 장치는 10으로 도시된다. 내시경 자체는 11로 도시되고, 내시경 11의 장치 헤드는 도 1a에 일반적으로 예시된다. 시험되는 영역의 안내 및 시각적 관찰을 제공하기 위하여, 내시경 11은 적절한 비디오 시스템과 함께 제공된다. 크세는 광원으로부터 광은 내시경 12의 단부에서 조명 창 15에 투과된다. 백식 광 반사 화상, 좁은 대역화상 또는 자기 형광 화상에 응답하여 CCD 16 및 17은 반사광을 수신하고 비디오 데이터를 송신하여 시험 조직의 육안 검사 및 원하는 위치로 내시경의 안내를 허용한다. 공조점 라만 프로브 헤드는 18로 도시되며 도 1b에서 더욱 상세하게 도시된다.
- [0047] 라만 분광 시스템은 일반적으로 20으로 도시된다. 단색 레이저 광원은 21로 도시되며, 본 실시예에서 약 785 nm의 출력 파장을 갖는 레이저 다이오드이다. 레이저 다이오드 21로부터 광은 ± 2.5 nm의 반값 전폭으로 785 nm에서 중심이 되는 좁은 밴드 패스 필터(band pass filter)를 포함하는 근위 밴드 패스 필터 22를 통과한다. 광은 섬유 다발의 일부로서 제공된 여기 광섬유 25 내로 커플링 23을 통과한다. 여기 섬유 25는 200 μ m의 직경과 0.22의 개구수(numerical aperture)("NA")를 갖는다. 여기섬유 25에 의해 투과된 광은 약 1.0 mm의 직경 및 굴절율 $n = 1.77$ 을 갖는 사파이어 볼 렌즈를 포함하는 본 실시예에서는, 내시경 11의 단부에서 볼 렌즈 26에 진입한다. 도 1b에 도시된 바와 같이, 여기 광섬유 25로부터 투과된 광은 볼 렌즈 26 내에서 내부 반사된다. 볼 렌즈가 시험 대상의 렌즈와 접촉되는 경우, 본 명세서에서 27로 도시된 바와 같이, 여기 섬유 25로부터 투과된 광은 조직 27 내에서 ~ 140 μ m의 깊이로 라만 산란을 적어도 부분적으로 수행한다. 산란광은 다시 볼 렌즈 26에서 내부적으로 반사되고 또한 다수개의 수집 섬유 28에서 수신되고, 또한 섬유 다발의 일부로서 제공된다. 본 실시예에서는 26개의 100 μ m 수집 섬유가 0.22의 NA와 함께 사용된다. 집합 섬유 28은 임의의 적절한 형상으로, 예를 들면 상기 여기 섬유 25를 둘러싸는 원형 배열로, 배치될 수 있다.
- [0048] 수집 섬유 28에 의해 반환되는 수집된 산란광은 유사하게 ~ 800 nm에서 컷오프를 갖는 긴 패스 인라인 수집 필터 29를 통과한다. 사파이어 볼 렌즈 26, 여기 및 수집 섬유 25, 28, 밴드 패스 필터 22, 롱 패스 필터(long pass filter) 29는 조직 27로부터 후방 산란 라만 광자를 선택적으로 수집하는 양호한 시스템을 제공한다.
- [0049] 다음에 산란광은 분광사진기 30에서 분리되며, 얻어진 스펙트럼은 광 센싱 어레이 34에서, 본 실시예에서는 전하 결합 소자(charge-couple device)('CCD')에서 이미징화 된다. 35로 도시된 컴퓨터는 시스템의 작동을 제어하며 또한 스펙트럼을 처리하고 저장하며, 데이터를 제어하고 사용자에게 결과 및 데이터를 제공한다.
- [0050] 일 실시형태에서, 컴퓨터 35는 칩셋(chipset)에 결합된 적어도 하나의 프로세서를 포함한다. 또한, 칩셋에는 메모리, 저장 장치, 키보드, 그래픽 어댑터, 포인팅 장치, 오디오 발광 장치 및 네트워크 어댑터가 결합된다. 디스플레이는 그래픽 어댑터에 결합된다. 일 실시형태에서, 칩셋의 기능성은 메모리 컨트롤러 허브 및 I/O 컨트롤러 허브에 의해 제공된다. 또 다른 실시형태에서, 메모리는 칩셋 대신에 프로세서에 직접 결합된다.
- [0051] 저장 장치는 하드 드라이브, 콤팩트 디스크 판독 전용 메모리(CD-ROM), DVD, 또는 고체상태 메모리 디바이스와 같이 데이터를 보유할 수 있는 임의의 장치이다. 메모리는 프로세서에 의해 사용되는 명령 및 데이터를 보유한다. 포인팅 디바이스는 마우스, 트랙볼(track ball), 또는 다른 타입의 포인팅 디바이스일 수 있으며, 또한 컴퓨터 시스템내에서 데이터를 입력하기 위해 키보드와 조합하여 사용된다. 그래픽 어댑터는 이미지와 디스플레이에 다른 정보를 표시한다. 네트워크 어댑터는 컴퓨터 시스템을 로컬 또는 광역 네트워크에 결합한다.
- [0052] 당업계에 알려진 바와 같이, 컴퓨터 35는 이전에 설명한 것 외에 상이한 및 /또는 다른 구성요소를 가질 수 있다. 그 외에, 컴퓨터는 특정한 구성요소를 결여한다. 더욱이, 저장 장치는 컴퓨터로부터 (예를 들면, 저장 영역 네트워크(storage area network)(SAN)내에서 구현되는 바와 같이) 로컬 및/또는 원격일 수 있다.
- [0053] 당업계에 알려진 바와 같이, 컴퓨터가 본 명세서에서 기술된 기능을 제공하기 위한 컴퓨터 프로그램 모듈을 실행하도록 구성된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "모듈"(module)은 특정의 기능을 제공하기 위해 이용되는 컴퓨터 프로그램 로직을 지칭한다. 따라서, 모듈은 하드웨어, 펌웨어(firmware) 및/또는 소프트웨어로 구현될 수 있다. 일 실시형태에서, 프로그램 모듈은 기억 장치에 저장되고, 메모리에 부하되고, 상기 프로세서에 의해 실행된다.
- [0054] 본 명세서에 기술된 본체(entity)의 실시형태는 본 명세서에 기술된 것 이외의 다른 및/또는 상이한 모듈을 포함할 수 있다. 그 외에, 모듈에 기인하는 기능은 다른 실시형태들에서 다른 또는 상이한 모듈에 의해 수행될 수 있다. 더욱이, 이러한 설명은 때때로 명확성 및 편의상의 목적을 위해 용어 "모듈"을 생략한다.
- [0055] 컴퓨터 35는 분광 데이터의 전처리를 수행한다. 측정된 조직의 라만 스펙트럼이 조직 자가형광 배경에 의해 실

질적으로 가려지기 때문에, 생체내 조직의 라만 스펙트럼의 전처리는 약한 라만 신호를 추출하는데 필요하다. 생체내 조직으로부터 측정된 최초 라만 스펙트럼은 약한 라만 신호, 강한 자기형광 배경 및 소음의 조합을 나타낸다. 스펙트럼은 통합 시간 및 레이저 파워로 정규화된다. 다음에 스펙트럼은 1차 Savitzky-Golay 스무팅 필터 (3 픽셀의 윈도우 폭)를 사용하여 스무팅화시켜 잡음을 줄인다. 5차 다항(fifth-order polynomial)은 잡음 스무팅 스펙트럼에 피팅하는데 최적인 것으로 밝혀졌다. 다음에 이 다항은 최초 스펙트럼으로부터 감산되어 단독으로 조직 라만 스펙트럼을 생성한다. 컴퓨터 35는 또한 전암 및 암 검출을 위한 진단 알고리즘을 포함할 수 있다.

[0056] 분광계 및 광섬유 프로브 검정

[0057] 상이한 분광계는 상이한 전달 함수를 가질 것이며, 즉 동일한 광원을 사용하여 조명하더라도 스펙트럼 내에서 상이한 강도 변화를 나타낸다는 것이 알려져 있다. 도 2에 예시된 바와 같이, 표준 광원으로부터 스펙트럼이 도시되어 있다. 이 실시예에서는 표준 광원은, 레이저 광원 21과 같은 레이저에 의해 여기될 때 공지된 형광 스펙트럼을 방출하는 형광 표준 표적이다. 형광 표준 표적(fluorescent standard target)은 일정하고 안정해야 하며 레이저 여기(예를 들면, 785 nm) 하에 넓은 형광 스펙트럼을 방출해야 한다. 형광 스펙트럼은 시간 경과시 안정하고 목적인 전 스펙트럼 영역 (예를 들면, 400-1800 cm^{-1} , 2000-3800 cm^{-1}). 일 예는 크롬이 도핑된 유리이다. 두 분광계로부터 얻어진 스펙트럼은 분명히 다른 것으로 도시되어 있다. 분광계 응답 또는 전달 함수를 보상하기 위해서는 분광계로부터 수신된 스펙트럼을 보정할 검정함수를 적용하는 것으로 알려져 있다. 실시예 및 검정 기능은 도 2에 도시되며, 분광계의 상응하는 스펙트럼에 적용되었을 때 상기 스펙트럼을 공지의 표준 스펙트럼과 일치되게 할 것이다.

[0058] 형광 표준 광원을 사용하면, 전달 함수, 즉 분광계의 파장 의존적 응답은 다음 식으로 나타낼 수 있다:

$$F(\lambda) = \frac{S(\lambda)}{T(\lambda)}$$

[0059]

[0060] (식 1) 여기서, $F(\lambda)$ 는 정확한 표준 형광 스펙트럼이고, $S(\lambda)$ 는 형광 표준 광원의 측정된 스펙트럼이고, $T(\lambda)$ 는 분광계의 전달 함수이다. 따라서 $T(\lambda)$ 는 공지된 바와 같이, 새로운 샘플 $R(\lambda)$ 의 정확하게 검정된 라만 스펙트럼은 다음 식으로 계산할 수 있다.

$$R(\lambda) = \frac{S(\lambda)}{T(\lambda)}$$

[0061]

[0062] (식 2) 여기서, $S(\lambda)$ 는 측정된 샘플 스펙트럼이다.

[0063] 전달함수 $T(\lambda)$ 는 분광계 전달 함수 $T_s(\lambda)$ 및 프로브 전달 함수 $T_p(\lambda)$ 모두의 함수이다. 따라서, 식 2는 다음과 같이 기재할 수 있다.

$$R(\lambda) = \frac{S(\lambda)}{T_s(\lambda)T_p(\lambda)}$$

[0064]

[0065] (식 3). 광섬유 프로브는 교체가능하고 소모가능하기 때문에, 새로운 프로브 전달함수 T_p 를 갖는 새로운 프로브가 삽입될 때, 시스템의 전체 전달 함수는 변화할 것이다.

[0066] 이하 도 3을 참조하면, 일차 또는 마스터 분광계는 50으로 도시되며, 이차 또는 슬레이브 분광계는 51로 도시된다. 분광계 50, 51은 각각 도 1에 도시된 것과 유사한 구조를 갖지만, 상이한 섬유 프로브 및 분광기 특성을 가질 수 있다. 이상적으로, 각각의 분광을 제어하는 퍼스널 컴퓨터 35는 시스템과 데이터 처리의 제어를 제공하기 위해 프로그램의 공통 라이브러리를 사용하며, 따라서 일차 및 이차 분광계 50, 51의 특성들이 일치하는 것이 바람직하다. 이 실시예에서, 일차 분광계 50은 일차 또는 마스터 프로브 52와 관련되어 있고, 이차 분광계 51은 53a, 53a, 53b로 도시된 다수개의 이차 또는 슬레이브 프로브와 관련되어 있다. 각각의 경우에 검정은 54로 개략적으로 도시된 표준 형광원을 참조하여 수행된다.

[0067] 제1 검정 방법은 도 4a에 도시되어 있다. 단계 60에서, 이차 분광계는 일차 분광계에 따라 검정된 파장이다. 이 경우에, 이차 분광계 51의 파장 축 검정은 예를 들면 정의된 스펙트럼 선을 갖는 아르곤-수은 스펙트럼 램프

또는 화학적 샘플을 사용하여 수행한 다음, 선형 보간법(linear interpolation)을 사용하는 픽셀 해상도 매칭은 제2 분광계의 축 크기가 일차 분광계의 축 크기와 매칭하도록 보장되게 수행한다. 이러한 검정의 결과들은 도 5에 도시되며, 여기서 일차 및 이차 분광계 50, 51로부터 스펙트럼은 정밀하게 정렬된 램프로부터 스펙트럼 선을 보여준다. 단계 61에서, 검정은 제2 분광계 및 형광원 54를 사용하는 프로브 53a에 대해 수행한다. 도 2의 그래프와 유사한 방식으로, 스펙트럼은 형광원으로부터 기록되고, 다음에 전달함수는 측정된 스펙트럼을 공지된 스펙트럼과 일치되게 계산하고, 예를 들면 퍼스널 컴퓨터 35에 의해 저장할 수 있다. 단계 62에서, 분광계 51은 생체내 라만 시험을 위해 사용할 수 있거나, 또는 그렇지 않을 수 있다. 측정된 라만 스펙트럼은 단계 61에서 기록된 검정 함수를 사용하여 보정할 수 있다.

[0068] 프로브 52a가 삭제되고 그것이 새로운 피사체에 시험을 실시하고자 하는 경우, 대체 프로브 53b는 치환 될 수 있으며, 이 경우에 도 4a의 방법이 반복된다.

[0069] 도 4b 및 4c에 도시된 바와 같은 대안적인 방법에서, 다수의 검점 함수는 2차 분광계 및 다수의 이차 프로브에 대해 기록할 수 있다. 도 4a에서와 같이, 도 4b의 단계 60에서, 이차 분광계 51은 일차 분광계 60과 일치되게 검정된다. 단계 61에서, 이차 프로브 53a에 대한 검정 함수가 측정되며, 또한 단계 63에서 이러한 검정 함수는 어떤 방식으로든 예를 들면 이차 프로브 53a에 대응하는 기준수와 태깅된(tagged) 컴퓨터 파일 56a로서 검정 함수를 저장함으로써 저장되고 프로브 53a와 관련된다. 화살표 64에 의해 도시된 바와 같이, 이 프로세스는 다음에 임의의 수의 프로브 53b, ... 53n에 대해 반복되어 프로브의 스톡(stock) 또는 리저브(reserve)를 제공한다. 도 4c에 도시된 바와 같이, 분광계 51을 사용하여 시험을 수행하려고 하는 경우, 단계 60에서 분광계는 상기와 같이 분광계 50에 따라 검정한다. 단계 65에서 프로브 53n은 시스템 상에 설치되며 상응하는 저장된 전달함수 66n이 검색된다. 단계 66에서 이차 분광계 51을 사용하여 시험을 수행할 수 있으며 또한 검색된 검정 함수 56n을 사용하여 검정할 수 있다.

[0070] 대체 접근법은 도 6을 참조하여 예시되며, 여기에서 슬레이브 또는 2차 프로브 53a, ..., 53n은 일차 또는 마스터 50 상에서 검정된다. 식 2에 따르면, 일차 분광계가 전달 함수 $T_{pp}(\lambda)$ 를 갖는 일차 또는 마스터 프로브 및 전달 함수 $T_{sp}(\lambda)$ 를 갖는 이차 또는 슬레이브 프로브로 시험하는 경우, 형광원 $F(\lambda)$ 로부터 스펙트럼은 일차 프로브에 대한 스펙트럼 $S_{pp}(\lambda)$, 여기서,

$$F(\lambda) = \frac{S_{PP}(\lambda)}{T_S(\lambda)T_{PP}(\lambda)}$$

[0071] (식 4) 및 이차 프로브를 사용하는 스펙트럼 $S_{sp}(\lambda)$, 여기서,

$$F(\lambda) = \frac{S_{SP}(\lambda)}{T_S(\lambda)T_{SP}(\lambda)}$$

[0073] (식 5)를 생기기 할 것이다. 식 4 및 5는 프로브 검정 함수 T_{cf} 를 통하여 두개의 프로브 전달 값과 관련되게 나눌 수 있다. 여기서

$$T_{CF} = \frac{T_{SP}(\lambda)}{T_{PP}(\lambda)} = \frac{S_{SP}(\lambda)}{S_{PP}(\lambda)}$$

[0075] (식 6). 따라서, 식 2 및 6으로부터, 이차 분광계가 이차 프로브와 함께 사용되는 경우, 측정된 스펙트럼 $S(\lambda)$ 및 라만 스펙트럼 $S(\lambda)$ 는 하기 식과 관련되어 있다.

$$R(\lambda) = \frac{S(\lambda)}{T_S(\lambda)T_{SP}(\lambda)} = \frac{S(\lambda)}{T(\lambda)T_{CF}}$$

[0077] (식 7) 여기서 $T(\lambda) = T_S(\lambda)T_{PP}(\lambda)$ 은 마스터 프로브를 사용하여 이차 분광계에 대해 측정된 저장된 시스템 전달 함수이다.

[0079] 도 6 내지 7c에 예시된 바와 같이, 이것은 임의의 수의 이차 또는 슬레이브 프로브 53a, 53b, 53n을 임의부의 이차 분광계 51a, 51b, 51n과 일치시킨다. 도 7a에 도시된 바와 같이, 제 1단계 70에서 이차 분광계 51a는 마스터 프로브 52를 사용하여 단계 60과 유사한 방식으로 일차 분광계 50에 따라 검정한다. 시스템 전달 함수 71a는 도

3 내지 4c의 방법과 유사한 방식으로 형광 표준 광원 54에 대하여 이차 분광계를 시험함으로써 단계 72에서 발견된다. 시스템 전달 함수 71a는 임의의 적절한 방식으로, 예를 들면 제어 소프트웨어 또는 그렇지 않으면 단계 73에서 대응하는 분광계 51과 관련된다. 화살표 74로 도시된 바와 같이, 이것은 임의의 수의 이차 분광계 시스템 51b,...51n에 대해 반복하여 적절한 시스템 전달 함수 71b,...71을 발생시킨다.

[0080] 도 7b에 도시된 바와 같이, 이차 또는 슬레이브 프로브 53a, 53b,...,53n은 마스터 프로브 52에 대해 검정한다. 단계 75에서, 일차 분광계 시스템 50은 이러한 단계가 이미 수행되어 마스터 프로브와 관련된 전달 함수가 이미 저장되었다면, 이것은 생략할 수 있을 지라도, 형광원 54에 대하여 마스터 프로브로 적절하게 검정한다. 단계 76에서, 마스터 프로브는 프로브 53a로 대체되며, 일차 분광계 시스템과 대응하는 슬레이브 프로브의 조합은 다음에 형광 표준 54에 대하여 시험한다. 단계 77에서, 검정 함수 T_{CF} 는 일차 및 이차 프로브 스펙트럼의 비로부터 계산하고, 78에서 이것은 79a에 도시된 바와 같이 이차 프로브와 관련하여 기록되고 저장된다. 화살표 80으로 도시된 바와 같이, 이것은 임의의 수의 이차 프로브 53b,...53n에 대해 반복할 수 있으며 대응하는 검정 함수 T_{CF} 는 79a,...79b에 도시된 바와 같이 저장한다.

[0081] 도 7c에 예시된 바와 같이, 이차 분광계 시스템 51n 중 하나는 마스터 프로브 52를 사용하는 시스템 전달 함수 71a가 공지되어 있고 이차 프로브 53n을 마스터 프로브 52와 관련하는 검정 함수 T_{CF} 는 공지되어 있기 때문에, 이차 프로브 53n중의 어느 하나와 함께 사용될 수 있다. 단계 81에서 도시된 바와 같이, 이차 분광계 시스템 51n은 이차 분광계 시스템 50에 따라 검정한다. 단계 82에서 이차 프로브 검정 함수 T_{CF} 는 검색되고, 저장된 시스템 전달 함수 71n은 저장된 검정 함수 T_{CF} 에 따라 변형한다. 단계 83에서, 생체내 라만 시험 또는 달리는 다음에 수행할 수 있으며, 캡처된 라만 스펙트럼은 보정한다.

[0082] 따라서 상기 방법 중의 어느 하나에서, 이차 분광계 특성들을 일차 분광계 특성들에 다시 매칭하고, 분광계 및 프로브 조합을 위한 전달 함수 또는 마스터 프로브를 도입하는 시스템에 대한 전달 함수 및 이차 프로브와 함께 사용하기 위한 검정 함수를 저장함으로써, 상이한 분광계 및 프로브 조합을 사용하여 캡처된 스펙트럼은 그럼에도 불구하고 일관적이며 비교 가능할 것이다.

[0083] 이것은 도 8 및 도 9a 내지 9c로부터 명백하다. 도 8은 마스터 프로브 52와 이차 또는 슬레이브 프로브 53n 사이에 상이한 응답을 나타낸다. 강도 응답은 스펙트럼에 따라 변화하며 또한 도시된 바와 같은 검정 함수는 이차 프로브의 스펙트럼을 메인 또는 마스터 프로브의 스펙트럼과 매핑할 것이다. 일차 분광계 50 및 이차 분광계 51로부터 검정되지 않는 조직 스펙트럼은 도 9a에 도시되며 또한 이들 사이의 차이는 명백하다. 도 9b 및 9c는 상기에 도시된 방법의 각각을 사용하는 검정 결과를 나타내며, 또한 일차 및 이차 분광계로부터 스펙트럼은 실질적으로 일치한다.

[0084] 라만 스펙트럼은 두 개의 상이한 프로브 ($n=902$ 스펙트럼)를 갖는 위로부터 측정하였다. 주성분 분석 (PCA)는 이차 프로브의 검정 전후에 수행하였다. 도 10은 광섬유 프로브의 검정 전후에 PCA 분석은 물론 상이한 스코어에 대한 95% 신뢰구간을 나타낸다. 상기 섬유 프로브의 검정 후에 스펙트럼은 마스터 및 슬레이브 광섬유 라만 프로브 중에서 성공적인 전달을 나타내는 동일한 신뢰구간 내에 속한다는 것이 명백하다.

[0085] 레이저 파워의 모니터링

[0086] 도 11은 예를 들면 조직 신호의 부재하에, 섬유 프로브로부터 배경 스펙트럼을 도시하는 그래프이다. 상기 섬유의 실리카 내에서 형광 또는 라만 산란에 대응하는 피크 및 원위 볼 렌즈의 사파이어에 대응하는 피크는 자명하다. 도 12는 상이한 수준의 투과된 파워를 갖는 생체내 조직으로부터 접수된 라만 스펙트럼의 그래프를 도시한다. 도 11로부터 피크는 도 12의 상이한 선에서 자명하지만, 피크의 상대 높이 및 연속배경은 투과된 파워에 따라 변한다는 것이 자명할 것이다.

[0087] 유리하게는, 캡처된 라만 스펙트럼에서 섬유 프로브 및 사파이어 볼 렌즈의 스펙트럼 특성들은 광학 트레인(optical train)에서 임의의 추가 성분들의 제공을 요구하지 않고 투과된 레이저 파워를 구동하기 위해 내부 기준으로서 사용될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 도 13a의 방법에서 도시된 바와 같이, 단계 90에서, 적절하게 큰 수의 스펙트럼은, 본 실시예 352에서, 수집되고 투과된 레이저 파워를 측정한다. 단계 91에서 적절한 다변량 통계 분석은 본 실시예 부분 최소 자승법 ("PLS") 회귀에서 수행한다. PLS 회귀는 스펙트럼 데이터의 치수를 잠재 변수 ("LV")로 감소시킨다. 이 경우에, 스펙트럼 변동과 종속 변수, 레이저 파워 사이의 변동은 잠재 변수가 레이저 파워와 잘 상호 관련하는 스펙트럼 피크에 더 높은 중량을 제공하도록 최대화된다. 적절한 수의 잠재 변수를 선택함으로써, 스펙트럼 특성의 함수로서 레이저 파워의 모델이 유도될 수 있으며, 단계 92에서 도시된 바와 같

이 저장된다. 따라서 도 13b에서 도시된 바와 같은 동작에서, 단계 93에서 시험 스펙트럼은 예를 들면 생체내 대상체로부터 캡처할 수 있거나 또는 이와 다르게 할 수 있다. 단계 94에서 스펙트럼 값은 저장된 모델에 제공된다. 단계 95에서, 레이저 파워를 유도하고, 예를 들면 퍼스널 컴퓨터 (35)상의 조작자에게 디스플레이 된다.

[0088] 본 실시예에서, 평균 제공 오차에 대하여 포함된 다수의 잠재 변수의 그래프는 도 14a에 도시되며, 4개의 변수는 오류와 복잡성 사이의 최적 균형을 제공함으로써 선택된다. 네 개의 잠재 변수 및 회귀 벡터의 상대 부하는 도 14b에 도시된다. 도 15에서, 5개의 대상체에서 16개 스펙트럼의 실시간 측정으로부터 실시예 데이터는 모델에 의해 추정된 파워에 대하여 플롯팅된 측정된 레이저 파워와 함께 도시된다. 실질적으로 선형 피팅은 추정된 전력이 실제로 공급되는 전력의 좋은 지표임을 보여준다는 것이 명백할 것이다.

[0089] 반복 배경 감산

[0090] 형광, 프로브의 실리카에서 라만 산란 및 렌즈의 사파이어로부터 기인하는 배경 라만 스펙트럼을 감산하는 방법은 도 16 내지 18을 참조하여 도시된다. 이러한 배경신호는 각각의 특이적 섬유 프로브에 특이적이다. 상기 배경을 파잉 또는 과소 감산하지 않고 조직 라만 스펙트럼으로부터 배경을 제거하는 것이 바람직하다.

[0091] 도 16의 단계 110에서 도시된 바와 같이 배경 스펙트럼은 예를 들면 표적의 부재하에 프로브를 통해 레이저 광원으로부터 광을 투과함으로써 캡처하고 저장할 수 있다. 단계 111에서, 시험 대상체로부터 라만 스펙트럼은, 예를 들어 조직으로부터 수신된다. 단계 112에서, 시험 대상체 라만 스펙트럼에서 섬유 배경 신호의 양은 하나 이상의 별개의 기준 피크의 세기를 이용하여 추정된다. 본 실시예에서, 피크는 실리카 및/또는 사파이어(예를 들면, 417 또는 490 cm^{-1})에 기인할 수 있다. 배경 신호의 추정량을 사용하여, 저장된 배경 신호는 적절한 가능하게는 과장 의존성, 보정 계수를 곱할 수 있으며 또한 시험 스펙트럼 (단계 113)로부터 감산할 수 있다.

[0092] 단계 (114)에서, 스펙트럼은 잔류 배경의 존재에 대해 판정한다. 배경이 완전히 제거된 경우 (즉 실리카 및 사파이어 신호가 조직 라만 스펙트럼에 무시할 정도로 기여하는 경우) 스펙트럼은 단계 115에서 도시된 바와 같이 출력 또는 추가 분석을 위해 통과된다. 배경신호가 아직도 존재한다면, 단계 112 내지 114는 화살표 116으로 도시된 바와 같이 반복된다.

[0093] 상기 방법은 실리카/사파이어 피크로 한정할 필요는 없다. 다변량 분석 (예를 들어, 부분 최소 제곱 및 곡선 해상 방법 등)도 이러한 목적으로 사용될 수 있다.

[0094] 예로서, 도 17은 팜 조직(palm tissue)으로부터 수신된 라만 스펙트럼 및 프로브로부터 배경 스펙트럼을 나타내는 그래프이다. 형광, 프로브의 실리카에서 라만 산란 및 렌즈의 사파이어로부터 피크들은 명백하며, 이들은 팜으로부터 라만 스펙트럼상에 중첩된다. 이러한 배경 신호는 각각의 특정 섬유 프로브에 독특하다.

[0095] 도 18에 도시된 바와 같이, 도 16의 반복적인 프로세스가 수행된 후, 스무팅 라만 스펙트럼은 배경 신호의 특징적인 피크 없이 도시되지만, 필요한 필수 라만 분광 정보를 유지한다.

[0096] 결합 시스템

[0097] 개시된 다양한 방법들이 함께 사용될 수 있다. 이러한 조합의 일 실시형태는 도 19에 도시된다. 단계 100에서, 검정 방법 19는 시스템의 전달 함수가 마스터 또는 일차 시스템 50에 따라 공지되고 또한 후속 스펙트럼들이 적절히 보정될 수 있도록 수행할 수 있다. 단계 101에서는 스무팅(smoothing) 및 조직 배경 감산을 포함하는 신호의 전처리가 수행될 수 있다. 단계 103에서 전력 모니터링은 상기에서 논의한 바와 같이 스펙트럼 상에서 수행할 수 있으며 또한 동시에, 단계 102에서 프로브 배경 감산이 수행될 수 있다. 단계 104에서 도시된 바와 같이, 단계 102 및 103의 정보는 퍼스널 컴퓨터 35 상에 적절한 프로그램이 제공되어 다른 진단 또는 출력 단계를 수행한다.

[0098] 개시된 검정방법을 진단 방법과 조합하며, 장치 독립적 광섬유 라만 분광법은 정량적 조직 분석 및 특징화에서 가능하다. 이것은 다른 장치로 촬영한 스펙트럼과 상이한 프로브 외에는 동일한 장치로 촬영한 스펙트럼의 비교를 가능하게 한다. 이것은 상이한 기계로 촬영하거나 또는 비교를 위해 사용할 상이한 프로브로 촬영한 스펙트럼의 사용을 가능하게 하는 진단에서 중요하다. 이것은 진단의 정확성을 높이는데 중요하다.

[0099] 실시간 압 진단

[0100] 온라인 생물의학 분광법 (즉, 반사율, 형광 및 라만 분광법) 시스템 및 방법은 임상 내시경 검사에서 실시간 압 진단을 실현하고 예측된 진단학에 의한 확률적 전달 알고리즘의 결과의 그래픽 디스플레이 뿐만 아니라 청각 피드백을 사용하여 임상의를 방해할 수 있다. 일 예로서 위에서 라만 내시경을 촬영하면 (도 22A), 상기 방법은

여러 병리현상: 정상, 장상피생화, 이형성 및 종양을 예측할 수 있다. 이러한 온라인 진단방법은 조직검사 안내 또는 종양 근절 등 의사결정에 사용될 수 있는 조직 병리학 실시간 임상에게 정보를 제공한다. GUI를 포함한 시스템은 신속한 데이터 처리에 최적화되어, 예를 들면 임상 내시경 검사를 위한 실시간 진단 (<0.1 초)를 허용한다.

[0101] 인터-해부학적 및 장기간 스펙트럼 변동을 분석하기 위해, 온라인 프레임 워크는 기관 특이적 진단 모델을 구현하고, 상이한 기관 (예를 들면, 식도, 위, 결장, 자궁, 방광, 폐, 비인두, 후두, 및 구강 (경구개, 연구개, 구강, 내 입술, 복부 및 혀))의 스펙트럼 데이터베이스 중에서 스위칭한다. 따라서, 개시된 라만 플랫폼은 내시경 검사에서 암 진단을 위한 보편적인 진단도구이다.

[0102] 도 20은 일 실시형태에 따른 실시간 암 진단을 위한 스펙트럼 취득 및 처리 흐름용 진단 시스템 115에 대한 구조도이다. 진단 시스템 115는 퍼스널 컴퓨터 35상에서 실행할 수 있다. 진단 시스템 115는 스펙트럼 취득 모듈 120, 스펙트럼 전처리 모듈 125, 아웃라이어 분석 모듈 130, 다변량 분석 모듈 135, 병리학 모듈 140 및 데이터베이스 142를 포함한다. 간단히, 하나의 스펙트럼 취득 모듈 120, 스펙트럼 전처리 모듈 125, 아웃라이어 분석 모듈 130, 다변량 분석 모듈 135, 병리학 모듈 140 및 데이터베이스 142가 도시되어 있지만, 실제로는 각각의 대부분은 작동할 수 있다.

[0103] 도 20-22를 참조하면, 단계 145에서, 스펙트럼 취득 모듈 120은 레이저 여기원을 CCD와 전자적으로 동기화하고 추가 처리를 위해 데이터베이스 142에서 CCD로부터 비닝(binned) 판독을 저장한다. 스펙트럼 취득 모듈은 이전의 조직 측정에 기초하여 전체 광자 계수 ~85% 이내로 스케일링 함으로써 노출 시간 및 스펙트럼 축적을 더욱 자동으로 조절하는 반면, 0.5초의 상한은 임상적으로 허용 가능한 조건을 실현하기 위해 설정된다. 다중 스펙트럼의 축적 및 노출 시간의 자동 조절은 내시경 적용을 위해 높은 신호 대 잡음 비를 얻고 또한 신호 포화를 방지하기 위해 신속하고 간단한 방법론을 제공한다. 스펙트럼 신호가 포화되면, 상기 방법은 포화를 방지하기 위해 감소된 통합시간으로 새로운 데이터 수집을 개시한다. 스펙트럼 취득 후, 상기 방법은 (예를 들어, 최대 임계 값으로서 전체 스펙트럼 범위에 걸쳐 95% 신뢰구간(CI)으로 스펙트럼의 1차 도관수(first derivative)를 사용하여 우주선을 식별하여 제거한다. 식별된 우주선은 선형 보간에 의해 제거된다. 짧은 스펙트럼 취득 시간 프레임은 내시경 검사 적용에 특히 유용하다. 도 22A에 예시된 GUI는 180에서 스펙트럼 취득을 도시한다.

[0104] 다른 적용을 위해, 스펙트럼 취득 프레임 워크는 또한 외부 또는 내부 외과 적 중재에 사용될 수 있거나 또는 수술 중에 조직 유형을 평가하기 위해 사용할 수 있다. 실시간 기능은 입회 진단이 가능하고, 따라서 종양 절제를 위한 적출 마진(excisional margin)을 안내하는데 사용될 수 있다. 진단 정보는 의학적 결정을 돕기 위해 (즉, <0.5 초) 온라인 제공할 수 있다는 것이 중요하다. 피부 측정을 위해 피부 스펙트럼은 긴 노출시간의 가능성으로 더욱 제어 가능한 실험적 세팅에서 취득되기 때문에 측정시간에 덜 엄격한 요구사항이 존재한다. 또한 온라인 소프트웨어 아키텍처는 형광, 반사 분광학을 포함하여 빠른 스펙트럼 측정을 요구하는 다른 영역에서 또는 공정 분석 기술, 식품 과학, 법의학 등의 상이한 분야에 적용할 수 있으며, 따라서 방해되지 않는 실시간 스크리닝이 필요하다. 단계 150에서, 스펙트럼 취득 모듈 120은 신호가 포화되어 있는지 여부를 결정한다. 그렇다면, 이것은 포화를 방지하기 위해 감소된 통합시간을 가진 새로운 데이터 수집을 개시한다. 단계 155에서, 스펙트럼 취득 모듈 120을 (즉, 최대 임계 값으로서 설정된 전체 스펙트럼 범위에 걸쳐 95% 신뢰구간 (CI)을 갖는 스펙트럼의 1차 미분을 사용하여) 우주선을 식별하고 제거한다. 우주선은 다변량 분석, 스무팅화, 평균값 필터링, 중앙값 필터링, 푸리에 변환, 웨이블릿(wavelet)을 포함하는 다른 방법들에 의해 제거할 수 있다.

[0105] 단계 160에서, 스펙트럼 전처리 모듈 125는 적분시간 및 레이저 파워를 갖는 수집된 스펙트럼을 스케일링 한다. 일차 Savitzky-Golay 수무팅 필터는 강도 보정된 스펙트럼에서 잡음을 제거하기 위해 사용된다. 다음에 스무팅화 스펙트럼의 하한으로 구축된 5차 변형 다항식은 라만 스펙트럼을 분석하기 위해 감산된다. 최종적으로 라만 스펙트럼은 임상적 내시경 검사에서 변동을 프로브 취급 변동을 감소시키면서, 스펙트럼 라인 형상 및 상대 강도를 분석하기 위해 1800 내지 1800 cm^{-1} 에서 곡선 아래 통합 면적에 정규화 된다. GUI (도 22A)는 185에서 정규화된 스펙트럼을 예시한다. 일부 실시형태에서, 스펙 전처리 모듈 125는, 이들로 제한되지 않지만, 다중 산란 보정(MSC), FIR 필터링, 가중 기준 감산, 잡음 감소, 평균 센터링(mean centering), 차별화를 포함하는 추가적인 전처리 방법을 이용한다.

[0106] 단계 165에서, 아웃 라이어 분석 모듈 130은 Hotelling's T^2 및 Q-잔차 통계와 결합된 주성분(PCA)을 사용하여 아웃라이어 스펙트럼 (PCA)를 검출한다. GUI (도 22a)는 190에서 아웃라이어 분석을 예시한다. 아웃라이어 검출의 Hotelling's T^2 및 Q-잔류 통계와 결합된 주성분(PCA)을 사용하여 온라인 프레임워크에서 고급 모델 특이적

피드백 도구로서 작용한다. Hotelling's T^2 및 Q-잔차 통계는 모델 피트(model fit) 내부 및 외부에 정보를 제공하는 두 개의 독립적인 파라미터이다. 스펙트럼 량의 지표로서 이들 파라미터 (즉, 프로브 접촉 모드, 교란 요인, 백색 광 간섭 등)를 사용하여, 청각 피드백은 임상의를 위해 실시간 분광 스크리닝 및 프로브 취급 어드바이스를 촉진하는 온라인 라만 진단 시스템에 통합된다. 소프트웨어 시스템은 상이한 진단 결과에 대해 상이한 음향 피드백을 제공한다. 예를 들면, 스펙트럼이 아웃라이어인 경우, 특정 소리가 나타난다. 스펙트럼이 진단적으로 "정상"으로 분류되는 경우, 제2 별개의 소리가 나타난다. 스펙트럼이 "전암" 또는 "암"으로 분류되는 경우, 제3 또는 제4의 소리가 나타난다. 소리의 주파수는 "사후 확률"과 비례할 수 있다. 이것은 진단 정보를 수신하면서 실시간 안내를 내시경의에게 제공하기 때문에 매우 유용하다. 따라서, 내시경의는 라만 플랫폼 모니터에 주의할 필요가 없지만, 사운드 안내로 내시경 수술 절차에 초점을 맞출 것이다. 아웃라이어 분석 모듈이 획득한 스펙트럼이 이상점이라고 판단하면, 진단 시스템 115는 단계 145에서 다시 시작된다.

[0107] 스펙트럼이 추가 분석을 위해 검증된 경우, 이들은 생체내 암 진단용 확률 모델에 공급된다. 단계 170에서 다변량 분석모듈 135는 생체내 암 진단용 확률 모델을 적용한다. 다변량 분석 모듈 135는 많은 수의 환자의 분광 데이터 베이스에 기초하여 부분 최소 자승 - 판별 분석 (PLS-DA), PCA-선형 판별 분석 (LDA), 콜로니 최적화 (ACO)-LDA, 분류 및 회귀 트리 (CARF), 지지 벡터 머신 (SVM), 적응 부스팅(AdaBoost) 등을 포함하는 다양한 프리 렌더링 모델 중에서 전환한다.

[0108] 단계 175에서, 병리 모듈 140는 확률적 암 진단을 위한 다른 장치의 스펙트럼 데이터베이스 중에서 전환할 수 있는 기관 특이적 진단 모델을 실행한다. 오디오 피드백 이외에도, GUI (도 22a)는 195에서 병리학 모듈 140으로부터 출력을 임상의에게 제공한다.

[0109] 도 22B는 제2 실시형태에 따른 GUI를 제공한다.

[0110] 데이터베이스 142는 획득된 스펙트럼은 물론 진단에 사용되는 저장 스펙트럼을 저장한다.

[0111] 일부 실시형태에서, 다수의 스펙트럼을 촬영하여 분석한다. 예를 들면 5-15 사이에서 촬영한다. 각각을 분석하고, 또한 임계 백분율 이상이 동일한 결과를 제공하는 경우 - 정상 대 암 - 이것이 결정된 진단이다. 예를 들어, 10개의 스펙트럼을 촬영하고 7개 이상이 동일한 대담을 제공하는 경우, 이것이 진단이다. 5 또는 6 만이 동일한 응답을 제공하는 경우, 프로세스는 반복된다.

[0112] 실시예

[0113] 실시간 진단을 위해 사용되는 통합된 라만 분광학 및 세 모드 광시야 영상처리 시스템은 USB 6501 디지털 I/O (National Instruments, Austin, TX, USA)로 전자적으로 동기화된 스펙트럼 안정화 785 nm 다이오드 레이저 (최대출력: 300 mW, B&W TEK Inc., Newark, DE, USA), 액상 질소 냉각, NIR-최적화, 이면 조명형 및 깊은 고갈 전하 결합 소자(CCD) 카메라 (픽셀당 20 x 20 μ 에서 340 400 픽셀; Spec-10: 400BR/LN, Princeton Instruments, Trenton, NJ, USA)이 장착된 투과형 이미징 포토그래프 (Holospec f/1.8, Kaiser Optical Systems, Ann Arbor, MI, USA), 및 레이저 광 전달 및 생체내 라만 신호 수집 모두를 위해 특수하게 설계된 라만 내시경 검사 프로브를 포함한다. 1.8 mm 라만 내시경 프로브는 Rayleigh 산란광, 섬유 형광 및 실리카 라만 신호의 간섭을 감소시키면서, 조직 라만 신호의 수집을 최대화하기 위한 프로브의 근위 및 원위 단부에서 도입된 2단계의 광학 필터링으로 통과할 수 있으며 또한 광시야 내시경 이미징 (WLR/AFI/NBI) 모달리티의 안내에 따라 의심스런 조직 부위를 지향할 수 있다. 본 시스템은 $\sim 9\text{cm}^{-1}$ 의 스펙트럼 분해능을 갖는 1.5 W/cm^2 (스폿 크기 $200\text{ }\mu$)의 785 nm 여기 파워를 사용하여 0.5초 이내에 생체내 상부 GI 조직으로부터 $800\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ 의 파장 범위에서 라만 스펙트럼을 취득한다.

[0114] 라만 시스템의 하드웨어 성분들 (예를 들면, 레이저 파워 컨트롤, 분광계, CCD 셔터, 및 카메라 해독 동기화)는 상이한 분광계/카메라용 라이브러리 (예를 들면, PVCAM 라이브러리 (Princeton Instruments, Roper Scientific, Inc., Trenton, NJ, USA) 및 옴니 드라이버 (Ocean Optics Inc., Dunedin, FL, USA), 등)을 통하여 Matlab 소프트웨어에 인터페이스 된다. 레이저는 CCD 셔터와 전자적으로 동기화 된다. 레이저 파워, 노출 시간의 자동 조절, 및 스펙트럼의 축적은 이전의 조직 라만 측정에 기초하여 총 광자 계수 85% 이내 (예를 들면, 65,000 광자중 55,250)으로 스케일링 함으로써 실현되는 반면, 0.5초의 상환은 임상적으로 허용가능한 조건을 실현하기 위해 세팅된다. 다중 스펙트럼의 축적 및 노출시간의 자동조절은 CCD 포화를 방지하고 내시경 검사 적용을 위해 높은 신호 대 잡음 비 (SNR)을 얻기 위하여 신속하고 간단한 방법론을 제공한다. 라만 시프트 축 (파장)은 수은/아르곤 검정 램프 (Ocean Optics Inc., Dunedin, FL, USA)를 사용하여 검정하였다. 시스템의

과장 의존성에 대한 스펙트럼 응답 보정은 표준 램프(RS-10, EG&G Gamma Scientific, San Diego, CA, USA)를 사용하여 수행하였다. 플랫폼의 재생산성은 파수 표준으로서 사이클로헥산과 아세타미노펜의 레이저 주파수 및 스펙트럼으로 모니터링 하였다. 따라서 CCD 온도, 적분시간, 레이저 파워, CCD 정렬을 포함하는 모든 시스템 성능 측정들은 SQL 서버를 거쳐 중앙 데이터 베이스로 기록된다.

[0115] 라만 신호의 실시간 전처리는 최대 임계값으로 설정된 전체 스펙트럼 범위에 걸쳐 95% 신뢰구간(CI)의 일차 도관수를 사용하여 우주선의 신속한 검출로 실현되었다. 임계값 외부에 놓인 데이터 포인트는 2차로 삽입하였다. 스펙트럼은 통합 시간 및 레이저 파워로 더욱 스케일링 하였다. 1차, 5 포인트 Savitzky-Golay 스무팅 필터는 강도 보정 스펙트럼에서 잡음을 제거하기 위하여 사용한 반면, 평활화된 스펙트럼의 하한에 구축된 변형 다항식은 조직 라만 스펙트럼을 단독으로 분해하기 위해 감소하였다. 라만 스펙트럼은 800 내지 1800 cm^{-1} 의 곡선 하에 통합 영역으로 정규화하여, 상이한 조직 병리학 중에서 스펙트럼 형상 및 상대 라만 대역 강도의 더 양호한 비교를 가능하게 하였다. 다음에 스펙트럼은 데이터에서 변동을 제거하기 위해 특이적 데이터 베이스에 따라 국부적으로 평균 중심에 두었다. 전처리 이후에, 라만 스펙트럼은 모델 특이적 아웃라이어 분석으로 전달하였다.

[0116] 아웃라이어 검출 도식은 Hotelling' T^2 및 Q-잔류 통계와 결합된 PGA를 사용하여 온라인 프레임 워크에서 고급 모델 특이적 피드백 도구로서 생물 의학 분광기에 도입하였다. PCA는 이들은 직교 성분들 (주성분들 (PCS))의 선형 조합으로 분해함으로써 라만 스펙트럼의 치수를 감소시키며, 따라서 데이터 세트에서 스펙트럼 변동은 다음 식으로 정의된다.

[0117]
$$X = TP^T + E$$

[0118] 여기서 T 및 P는 스코어 및 부하를 나타내고, E는 잔차(residual)를 포함한다. 부하(loading)는 새로운 회전축에 대응하는 반면, 스코어는 데이터 투여값을 나타낸다. 따라서 Hotelling's T^2 통계는 PCA 모델 (모델 거리에 대한 샘플)에 의해 캡처된 변동의 측정값을 제공한다. 다른 한편, Q 잔차는 PCA 모델 (모델 피팅 통계의 결여)에 의해 캡처되지 않는 변동의 측정값이며 또한 다음 식으로 정의된다:

[0119]
$$T_{ik}^2 = t_{ik}(\lambda_k^{-1})t_{ik}^T$$

[0120] 여기서, t_{ik} 는 성분 k 를 사용하여 i^{th} 샘플 스펙트럼에 대한 PC 스코어이고, λ_k^{-1} 는 성분 k 에 대한 공분산 행렬의 정규화된 고유값의 대각선 행렬이다. 따라서 Hotelling T^2 는 PCA 모델 내에 극한 값의 지표를 제공한다. 다른 한편, Q-잔차는 PCA 모델 (모델 피팅 통계 없음에 의해 캡처되지 않은 변동의 측정값이며 또한 다음 식으로 정의된다:

[0121]
$$Q_{ik} = \sum (x_i - t_{ik}P_k^T)^2$$

[0122] 여기서, x_i 는 샘플 스펙트럼이고, Q_{ik} 는 성분 k 를 사용하여 i^{th} 샘플 스펙트럼에 대한 제곱 재건 오차의 합이고, 또한 P_k 는 PC 부하이다. Hotelling T^2 및 Q-잔차 모두에서, 정규화된 99%CI는 이상 라만 스펙트럼을 차단하기 위한 상측 임계값으로서 사용하였다. 따라서 Hotelling T^2 및 Q-잔차는 모델 피팅에 대하여 정량적 정도를 제공하는 두 개의 독립 파라미터이다. 이들 파라미터를 스펙트럼 품질의 지표 (즉 프로브 접촉 모드, 교락인자, 백색광 간섭 등)로서 사용하면, 청각 피드백은 온라인 라만 진단 시스템에 통합되어, 임상적 내시경 검사 과정에서 임상의를 위해 실시간 프로브 취급 어드바이스 및 분광 스크리닝을 촉진한다.

[0123] 라만 스펙트럼 품질의 검증 후에, 이들 품질의 라만 스펙트럼은 온라인 진단 및 병리 예측을 위해 확률적 모델에 즉시 전달되었다. GUI는 내시경 검사 과정에서 장차 분류를 위해 부분 최소자승 - 판별 분석 (PLS-DA), PCA-선형 판별 분석 (LDA), 콜로니 최적화(ACO)-LDA, 분류 및 회귀 트리 (CARF), 지지 벡터 머신 (SVM), 적응 부스팅(AdaBoost) 등을 포함하는 상이한 모델 중에서 즉시 전환할 수 있다. 일 예로서, 확률적 PLS-DA는 위암 진단을 위해 사용하였다. PLS-DA는 PCA의 기본 원칙을 사용하지만, 스펙트럼 데이터 세트에서 가장 두드러진 변동보다는 진단적으로 관련된 변동을 얻기 위해 스펙트럼 변동과 그룹 친화성 사이의 공분산을 최소화함으로써 성분들을 추가로 교체한다. 시스템은 구체적인 조직 병리를 예측하기 위하여 이항 분류, 모두에 대하여 하나 및 하나에 대하여 하나의 멀티클래스 (즉, 양성, 이형성 및 암) 확률적 PLS-DA 판별 분석을 지원한다.

[0124] 실시예 1

[0125] 총 2748 생체내 위 조직 스펙트럼 (2465 정상 및 283 암)은 위암 진단용 진단 알고리즘을 개발하기 위해 스펙트럼 데이터 베이스를 구축하기 위해 모집된 305명의 환자들로부터 취득하였다. 조직 병리학은 생체내 조직 진단 및 특징화를 위한 라만 기술의 평가를 위한 골드 표준으로서 작용한다.

[0126] 위는 분광진단을 위한 많은 교락인자들 (즉, 위액, 음식물 잔사, 출혈, 침출물 등)과 함께 나타내는 가장 도전적인 기관중의 하나를 나타낸다. 알고리즘 개발을 위해 305명의 위 환자(정상 (n = 2465) 및 암 (n = 283))으로부터 취득한 생체내 평균 스펙트럼은 도 23에 도시된다. 위 조직의 라만 스펙트럼은 875 cm^{-1} (하이드록시프롤린의 $\nu(\text{C-C})$), 936 cm^{-1} (단백질의 $\nu(\text{C-C})$), 1004 cm^{-1} (페닐 알라닌의 $\nu_s(\text{C-C})$ 링 호흡), 1078 cm^{-1} (지질의 $\nu(\text{C-C})$), 1265 cm^{-1} (단백질의 아마이드 III $\nu(\text{C-N})$ 및 $\delta(\text{N-H})$), 1302 및 1335 cm^{-1} (단백질 및 지질의 $\delta(\text{CH}_2)$ 변형), 1445 cm^{-1} (단백질 및 지질의 $\delta(\text{CH}_2)$), 1618 cm^{-1} (포르피린의 $\nu(\text{C=C})$), 1652 cm^{-1} (단백질의 아마이드 I $\nu(\text{C=O})$) 및 1745 cm^{-1} (지질의 $\nu(\text{C=O})$)에서 두드러진 라만 피크를 나타낸다. 위조직 라만 스펙트럼은 위벽의 피하지방의 의문을 반영할 것 같은 트리글리세라이드로부터 큰 기여(즉, 1078 , 1302 , 1445 , 1652 , 및 1745 cm^{-1} 에서 주요한 피크)를 함유한다. 위암의 라만 스펙트럼은 이전의 생체내 라만 연구를 재확인하는, 전술한 라만 스펙트럼 성질 (예를 들면, 강도, 스펙트럼 형상, 대역 폭 및 피크 위치)의 두드러진 변화를 나타낸다.

[0127] 자동 아웃라이어 검출은 HotellingT² 및 Q-잔차 통계(99% CI)에 의한 PCA를 사용하여 예측 온라인 분석에 실현되었다. 온라인 진단을 유효하게 만들기 위하여, 이성분 PCA 모델이 만들어지고 이것은 가장 큰 조직 스펙트럼 변동을 포함하였다. 이들 선택된 유의적 PCs ($p < 0.0001$)는 데이터세트(n=2748 라만 스펙트럼)에서 통 가변성의 38.71% (PC1: 30.33%, PC2: 8.38%)의 최대 변동을 나타냈다. 또한 대응하는 PC 부하는 도 24에 도시된다.

[0128] 도 25는 암 스펙트럼을 정상과 분리하기 위한 PC 스코어의 능력을 예시하는 정상 (n=2465) 및 암 조직 스펙트럼 (n=283)에 대한 스코어 산란 플롯 (즉 PC1 대 PC2)를 나타낸다. 따라서 HotellingT² 및 Q 잔차의 99% CI는 훈련용 데이터 세트로부터 계산하고 미래의 온라인 스펙트럼 확인을 위해 임계값으로 고정하였다. 다음에 본 발명자들은 위암의 예측을 위한 확률적 PLS-DA 모델을 만들었다.

[0129] 훈련용 데이터베이스는 학습(80%) 및 시험(20%) 세트로 다수회 (n=10)로 불규칙하게 다시 샘플링 하였다. 생성된 PLS-DA 모델은 소급적으로 위암 진단을 위해 85.6% (95% CI: 82.9% - 88.2%) (민감성 80.5% (95% CI: 71.4% - 89.6%) 및 특이성 86.2% (95% CI: 83.6% - 88.7%))의 예측 정확성을 제공하였다. 다음에 본 발명자들은 10개의 장차 위 환자들에서 아웃라이어 검출은 물론 확률적 PLS-DA를 시험하였다. 또한 예측 정상(n=45) 및 암 (n=30) 조직 스펙트럼을 위한 PC 스코어 산란 플롯(즉, PC1 대 PC2)는 도 25에 도시된다.

[0130] 도 26은 10개의 장차 위 샘플로부터 취득한 105 스펙트럼 (45 정상, 30 암, 30 아웃라이어)에 대한 95% CI 경계를 갖는 HotellingT² (38.71%) 및 Q-잔차(61.29%)의 예측 산란 플롯을 도시한다. 점선은 장래 라만 스펙트럼이 주성분 분석 (PCA)모델의 공통 조직 변동 내에 있는지를 검증하는 99% 신뢰구간을 나타낸다. 다수의 비접촉 스펙트럼은 99% CI 밖에 있고 따라서 조직 진단에 들어가지 않고 실시간으로 버려지는 것으로 관찰된다. 검증된 조직 라만 스펙트럼은 대부분 T² 및 Q의 99% CI 안쪽에 속하며, 이것은 이 온라인 데이터 분석이 생물 의학 조직 스펙트럼의 실시간 검증의 신속하고 고도로 효율적인 수단을 제공한다는 것을 증명한다.

[0131] 온라인 아웃라이어 분석에 의해 검증된 장래 획득된 스펙트럼은 즉시 질병 예측을 위해 확률적 PLS-DA에 추가로 전달되며, 이것은 병리조직학적 시험에 의해 확인된 바와 같이 위암 검출을 위해 80.0% (60/75)의 진단적 정확성을 달성한다 (도 27). 별도의 점선은 생체내 정상 위조직으로부터 암을 분리하기 위해 민감성 90.0% (27/30) 및 특이성 73.3% (33/45)을 제공한다.

[0132] 수신기 작동 특성 (ROC) 곡선은 그룹 분리를 평가하기 위해 더욱 생성되었다. 도 28은 장차 데이터세트 예측을 위해 계산된 ROC는 물론 소급적 예측을 위한 스펙트럼 데이터베이스의 각각의 불규칙 분열로부터 계산된 ROC 곡선의 평균을 도시한다. 소급적 및 장래 데이터세트를 위해 발생한 ROC 곡선 아래 통합영역은 각각 0.90 및 0.92이며, 이들은 생체내 위암 진단을 위한 RLS-DA 알고리즘의 강인성을 예시한다.

[0133] 조직 병리학적 예측에 대한 모든 전술한 온라인 데이터 취득을 위한 총 처리 시간은 0.13초이었다. 도 21에서 흐름도의 각 단계를 위한 처리 시간은 표 1에 나타낸다. 프리런닝(free-running) 광학적 진단 및 처리시간 <

0.5초가 달성될 수 있으며, 이것은 내시경 검사에서 실시간 생체내 조직 진단에 중요하다.

[0134] 표 1. 64-비트 I7 쿼드-코어 4GB 메모리를 갖는 퍼스널 컴퓨터 35에 대한 온라인 생물의학 라만 분광 프레임 워크에 대한 평균 처리시간

분석	계산 시간 (밀리초)
우주선 거절	0.5
레이저 응답 시간	10
전처리	40
아웃라이어 검출	10
확률적 PLS-DA 예측	70
총 계산시간	100 내지 130

[0135]

실시예 2

[0136]

[0137] 라만 분광기 시스템은 스펙트럼 안정화 785 nm 다이오드 레이저 (최대출력: 300 mW, B&W TEK Inc., Newark, 델라웨어), 액상 질소 냉각, 이면 조명형 및 깊은 고갈 CCD 카메라(픽셀당 20 x 20 μm 에서 1340 x 400 픽셀; Spec-10: 400BR/LN, Princeton Instruments, Trenton, 뉴저지)이 장착된 투과형 이미징 포토그래프 (HoloSpec f/1.8, Kaiser Optical Systems, Ann Arbor, 미시간)을 포함한다. 또한 상기 시스템은 중앙 광전달 섬유 (직경 200 μm , N.A. = 0.22)를 둘러싸는 9 x 3200 μm 를포함하는 특수하게 설계된 융합 실리카 광섬유 라만 내시경 프로브로 이루어진다. 1.0 mm 사파이어 볼 렌즈 (굴절율 1.76)는 상피 조직 라만 측정을 증강하기 위한 라만 프로브의 섬유 선단에 결합된다. 상기 시스템은 9 cm^{-1} 의 스펙트럼 분해능과 함께 800-1800 범위에 걸쳐 라만 스펙트럼을 취득한다. 본 연구에서 각각의 라만 스펙트럼은 785 nm 레이저 여기 하에 0.5초의 통합시간으로 측정하였다. 신속한 라만 분광기술은 아르곤/수은 스펙트럼 램프(AR-1 및 HG-1, Ocean Optics Inc., Dunedin, Florida)를 사용하여 파장 검정하였다. 모든 파장 검정 스펙트럼은 텅스텐-할로겐 검정 램프(RS-10, EG&G Gamma Scientific, San Diego, CA)를 사용하여 시스템의 강도 응답에 대해 보정하였다.

[0138]

도 20-22에 기술된 시스템 및 방법을 사용하면, 20-22는 실시간 데이터 취득 및 분석을 위해 라만 분광 시스템을 제어하기 위해 사용하였다. 생체내 조직으로부터 측정된 로우 라만 스펙트럼은 약한 라만 신호, 강한 자가형광 배경, 및 잡음의 조합을 나타낸다. 로우 스펙트럼은 스펙트럼 잡음을 감소시키기 위하여 제1차 Savitzky Golay 스무팅 필터(스펙트럼 분해능에 부합시키기 위해 선택된 3 픽셀의 윈도우 폭)으로 전처리한다. 지문 영역 (800-1800 cm^{-1})에서, 5차 다항식은 잡음 스무팅화 스펙트럼에서 배경을 피팅하는데 최적인 것으로 밝혀졌으며, 또한 이 다항식은 다음에 단독으로 조직 라만 스펙트럼을 생산하기 위해 최초 스펙트럼으로부터 감산한다. 전술한 모든 전처리는 100 ms 이내에 끝나며, 처리된 결과는 실시간으로 컴퓨터 스크리닝에 디스플레이 할 수 있다.

[0139]

PLS 회귀는 광섬유 라만 프로브로부터 특성 내부 기준 배경 신호를 추출하기 위한 다변량 방법으로 사용하였다. 간단하게, PLS는 PCA의 기본 원칙을 이용하지만, 스펙트럼 변동과 종속변수 (예를 들면, 레이저 여기 파워) 사이의 공분산을 최소화함으로써 성분들 LV를 추가로 교체하며, 따라서 LV 부하는 스펙트럼 데이터세트에서 가장 현저한 변동보다는 관련 변동을 설명한다. 레이저 여기 파워에 관련된 중요한 스펙트럼 기준 신호는 첫 번째 적은 LV에서 잔류하였다. 이 연구에서, 평균 중심화 (mean-centering)는 PLS 회귀 모델의 복잡성을 감소시키기 위해 모델링 전에 수행하였다. PLS 회귀 모델의 최적 복잡성은 리브-원 서브셋-아웃, 교차 검증을 통해 결정하였으며, PLS 회귀 모델의 성능은 결정 계수(R^2), 검정의 평균 제곱근 오차 (RMSEC), 교차 검증의 평균제곱근 오차(RMSECV) 및 예측의 평균 제곱근 오차(RMSEP)를 계산하여 조사하였다. 최적 PLS 모델은 높은 R^2 를 갖지만, 낮은 RMSEC, RMSECV 및 RMSEP를 가진다는 것을 주의한다. 본 연구에서 기준 신호를 분해하기 위해 개발된 PLS 회귀 모델은 또한 실시간 임상 소프트웨어에서 온라인 레이저 여기 파워 예측자로서 실행하고 공평한 방식으로 예측 시험하였다. 다변량 통계분석은 Matlab (Mathworks Inc., Natick, MA) 프로그래밍 환경에서 수행하였다.

[0140]

총 30 정상 건강한 대상체 (16 암컷 및 14 수컷)를 구강에서 생체내 라만 측정을 위해 모집하였다. 생체내 라만 분광 측정 전에, 모든 대상체는 교락 인자들 (예를 들면, 음식물 잔사, 미생물 코팅 등)을 줄이기 위해 광범위한 구강 세정을 하였다. 생체내 조직 라만 스펙트럼($n = 783$)은 25 대상체의 이너 립(inner lip)에서 수집하

였다. 상기 25 대상체에서, 생체내 경구 조직 라만 스펙트럼($n=5$)은 5-65 mW (~10 mW의 간격) 범위의 6 파워 레벨에서 획득하였다. 각각의 조직 라만 측정 전에, 레이저 여기 파워 레벨은 선형성 % 및 정확성 % (0.1 내지 100 mW 범위)를 갖는 전력계를 사용하여 광섬유 프로브의 원위 선단에서 측정하였다. 다른 교각 인자들 (예를 들면, 조직 표면에 대한 프로브 압력, 광표백, 조직 광학 특성 및 광섬유 프로브의 브랜딩)은 의도적으로 모니터링 하지 않았지만 인사이투(*in situ*) 기준 신호의 강력한 추출을 위해 PLS 모델링으로 도입하였다. 온라인 라만 획득 프레임 워크에서 개발된 PLS 모델의 개발 후에, 레이저 여기 파워 모니터링을 위한 내부 기준 신호의 예측적 및 독립적 검증은 5개의 새로운 대상체 ($n=166$ 대상체)에서 실시간으로 수행하였다.

[0141]

이 작업에서 개발된 내부 기준 방법의 정량적 가치를 더욱 검증하기 위하여, 본 발명자들은 또한 조직 팬텀 실험을 수행하였다. 다양한 젤라틴 농도의 조직 팬텀은 소 피부 타입-B 젤라틴(G9391, Sigma, USA)으로부터 제작하였다. 젤라틴은 종류 H_2O 중에 미리 정해진 농도 (20, 25, 30, 35, 40, 45, 및 50 중량%)로 용해하였다. 용해된 젤라틴은 계속 교반하면서 수욕에서 50℃에서 1 시간 동안 가열시켰다. 다음에, 용융된 젤라틴은 사전 냉각된 금형(4) 속에 붓고 2-3 시간 동안 저장하여 고체 젤라틴 팬텀을 생산하였다. 이어서 조직 팬텀의 정량적 광섬유 라만 분광기 분석을 수행하였다. 총 $n = 133$ 라만 스펙트럼은 상이한 레이저 파워로 광섬유 라만 프로브를 사용하여 다양한 조직 팬텀으로부터 측정하였다. 레이저 여기 파워는 10-60 mW 범위로 변화하였으며 또한 측정된 스펙트럼은 내부 기준 방법에 의해 예측된 바와 같이 레이저 여기 파워로 정규화 하였다.

[0142]

도 11은 785 nm 다이오드 레이저에 의해 여기되었을 때 사용된 볼 렌즈 기구광섬유 라만 프로브의 배경 스펙트럼을 도시한다. 원위 볼 렌즈로부터 유래하는 두드러진 사파이어(Al_2O_3) 라만 피크는 417 및 646 cm^{-1} (A_{1g} 대칭의 포논 모드), 및 380 및 751 cm^{-1} (E_g 포논 모드)에서 발견할 수 있다. 여기에는 비교적 약한 섬유 형광 배경은 물론 융합 실리카 섬유로부터 두 개의 지배적인 라만 구성요소가 있다. 490 and 606 cm^{-1} 에서 D_1 및 D_2 로 나뉜 융합 실리카의 날카로운 피크는 4원 및 3원 고리에서 산소 원자의 호흡 진동에 할당하였다. 무정형 실리카 물질의 일반적 특징과 관련된 강한 보손 라만 밴드의 쇼울더 (~130 cm^{-1})는 또한 광섬유 라만 프로브의 배경 스펙트럼으로부터 관찰하였다. 실리카 보손 밴드는 ~ 60 cm^{-1} 부근에서 피크를 형성하지만 단지 쇼울더만이 본 출원인의 라만 프로브 디자인의 광학 필터링 때문에 명확하였다. 광섬유 라만 프로브 자체로부터 이들 특성 배경 라만 피크 (지문 영역(800-1800 cm^{-1})보다 더 짧음)는 생체내 조직 라만 측정을 위한 내부 기준 신호로서 작용할 수 있었다.

[0143]

PLS 회귀 모델을 개발하고 내부 기준 신호를 분해하기 위하여, 본 발명자들은 독립 파라미터로서 레이저 여기 파워를 갖는 구강에서 25 대상체의 생체내 라만 스펙트럼을 측정하였다. 각각의 대상체에서, 생체내 조직 라만 스펙트럼($n=5$)은 5-65 mW 범위 (~10 mW의 간격)의 상이한 파워 레벨로 취득하였다. 도 12는 상이한 레이저 여기 파워 (예를 들면, 10, 30 및 60 mW)를 사용하여 이너 립으로부터 측정한 평균 생체내 로우 라만 스펙트럼 ± 1 표준 편차 (SD)의 일례를 도시한다. 다양한 넓은 자가 형광 배경에 중첩된 약한 조직 라만 신호가 관찰될 수 있다. 도 29는 검정된 배경 자유 평균 라만 스펙트럼 $\pm 1SD$ 를 도시한다. 이너 립의 생체내 라만 스펙트럼은 대략 853 cm^{-1} ($\nu(C-C)$), 1004 cm^{-1} ($\nu_s(C-C)$), 1245 cm^{-1} (단백질의 아미드 III $\nu(C-N)$ 및 $\delta(N-H)$), 1302 cm^{-1} (CH_3CH_2 트위스팅 및 웨징), 1443 cm^{-1} ($\delta(CH_2)$ 변형), 1655 cm^{-1} (단백질의 아미드 I $\nu(C=O)$) 및 1745 cm^{-1} $\nu(C=O)$)에서 라만 피크를 나타낸다. 다른 한편, 로우 생체내 조직 라만 스펙트럼 (도 12)은 또한 광섬유 프로브로부터 현저한 융합 실리카 및 사파이어 라만 피크 즉 380, 417, 490, 606, 646, 및 751 cm^{-1} 를 함유하였다.

[0144]

경구 조직 라만 스펙트럼으로부터 광범위한 특성 내부 기준 피크를 추출하기 위한 PLS 회귀 모델. Rayleigh 산란광은 PLS 분석으로부터 배제하였다. 측정된 생체내 로우 조직 라만 스펙트럼은 행 폭 스펙트럼 및 열 폭 파수의 매트릭스로 배열하였다. 기준 레이저 파워 레벨은 종속 변수를 나타내는 열 벡터(column vector)로 배열하였다. 평균 중심화 후에, PLS 회귀모델은 레이저 여기 파워 예측을 위해 강력한 신호를 만들기 위해 최적 알고리즘을 설정하기 위하여 리브-원 서브셋트-아웃, 가교 검증을 사용하여 개발하였다. 도 14a는 보유된 LV의 함수로서 레이저 파워 예측의 RMSEC 및 RMSECV를 도시한다. PLS 회귀 분석은 최적 모델(RMSECV = 2.5 mW)이 4 LV를 사용하여 얻어질 수 있음을 나타냈다. 도 14b는 가장 큰 라만 스펙트럼 변동(즉, LV1: 94.8%, LV2: 3.0%, LV3: 0.9% 및 LV4: 0.2%) 및 레이저 여기 파워 변동(LV1: 80.1%, LV2: 16.8%, LV3: 0.8% LV4: 0.7%)을 나타내는 첫 번째 4개의 LV 부하를 표시한다. 또한 계산된 PLS 회귀 벡터가 도시된다. 도 30a는 리브-원 서브셋트-아웃, 교

차 검증을 사용하여 생체내 레이저 파워 모니터링 결과 (즉 측정된 레이저 파워 대 예측된 레이저 파워)를 도시한다. 데이터는 실질적인 선형 관계 ($R=0.98$)를 나타내는 방정식($y = 0.551 + 0.984x$)으로 피팅할 수 있다. 4 LV의 PLS 모델 복잡성은 2.5 mW의 RMSECV 및 0.981의 R^2 에 의한 레이저 여기 파워 모니터링을 위해 정확한 내부 기준을 제공하였다. 다음에 동일한 PLS 회귀 모델은 5개의 새로운 대상체 ($n=166$ 스펙트럼)의 실시간 독립적 확인을 위한 라만 소프트웨어에서 온라인으로 실행하였다. 도 30b는 개발된 PLS 회귀 모델을 사용하여 측정된 실제 레이저 여기 파워와 예측된 레이저 여기 파워 사이의 관계를 도시한다. 2.4 mW의 RMSEP 및 선형 관계 ($y = 0.342 + 1.011x$; $R^2 = 0.985$)가 얻어질 수 있으며, 이것은 생체내 조직 라만 측정 중에 내부 기준으로서 PLS 회귀의 적용을 재확인한다.

[0145] 조직 팬텀(tissue phantoms)의 정량적 스펙트럼 분석을 위해 개발된 내부 기준 방법의 정량적 가치. 상이한 농도 (즉, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 및 50 중량%)의 젤라틴으로 구성된 7개의 조직 팬텀을 구축하고 시험하였다. 젤라틴 팬텀으로부터 라만 스펙트럼($n = 133$ 스펙트럼)을 측정하고 실시간으로 예측된 레이저 파워로 정규화하였다. 도 31은 60 mW 여기 레이저 파워에서 상이한 농도의 젤라틴 조직 팬텀으로부터 측정된 라만 스펙트럼을 도시한다. 예상한 바와 같이, 이들 라만 스펙트럼은 라만 피크 강도와 젤라틴 농도 사이의 선형 관계($R=0.992$)를 나타낸다. 도 32는 다양한 여기 레이저 파워 (10 내지 60 mW로 변함)로 실제 젤라틴 농도와 예측된 농도 사이의 상호 관계를 나타낸다. 인 사이투로 실시간 레이저 여기 파워 모니터링을 통하여 레이저 파워 변동을 보정함으로써 젤라틴 조직 팬텀의 정확한 정량적 분석이 실현될 수 있다는 것이 명백하다 ($RMSEP = 1.9\%$ 및 $R^2 = 0.985$). 상기 결과들은 다변량 내부 기준 신호에 기초하여 개발된 실시간 파워 모니터링은 광섬유 조직 라만 분광에서 강력한 정량적 조성 분석을 달성할 수 있음을 나타낸다.

[0146] 실시예 3 - 생체내 실시간 경비 이미지 안내형 라만 내시경 검사: 비인두 및 후두에서 스펙트럼 특성을 정의

[0147] 이 연구는 머리 및 목에서 대규모 임상적 연구를 위한 기본을 제공하는 경지 분광법의 실현가능성을 입증한다. 개발된 소형화 섬유 라만 프로브와 통합된 이미지 안내형 라만 내시경 플랫폼은 임상적 내시경 검사 중에 분자 수준으로 머리와 목의 내인성 조직 구성분의 신속하고 최소로 비침습적인 평가를 제공한다. 이것은 머리와 목에서 조직의 자세한 바이오분자 지문을 임상외가 얻는 것을 크게 촉진하며, 이것은 혈관 천공 또는 조직 탈수, 형태적 및 해부학적 효과 등에 의해 원인이 되는 잡음을 도입하지 않고 진짜 조성적 및 형태적 사인을 반영한다.

[0148] 라만 분광기 시스템은 스펙트럼 안정화 785 nm 다이오드 레이저 (최대출력: 300 mW, B&W TEK Inc., Newark, 델라웨어), 저온 냉각(-120°C), NIR-최적화, 이면 조명형 및 깊은 고갈 전하 결합 소자(CCD)카메라(픽셀당 $20 \times 20 \mu\text{m}$ 에서 1340×400 픽셀; Spec-10: 400BR/LN, Princeton Instruments)이 장착된 투과형 이미징 포토그래프(Holospec f/1.8, Kaiser Optical Systems)로 구성되어 있다. 신규의 분광계 섬유출력 커플링은 스펙트럼 분해능과 라만 신호의 신호 대 잡음 비를 개량하기 위한 분광계 이미지 수차를 보정하기 위하여 58 섬유 ($100 \mu\text{m}$)의 포물선 정렬 어레이로 구성되어 있다. 조직 여기 및 생체내 조직 라만 수집을 둘 다 최대화하는 경비 내시경 적용을 위한 1.8 mm 광섬유 라만 프로브가 이용되었다. 라만 섬유 프로브는 유연성 경비 내시경으로 피팅하고 광시야 영상처리 (즉, 백색 광 반사율(WLR) 및 좁은 밴드 영상처리 (NBI)) 안내에 따라 비인두 및 후두에서 상이한 위치로 안전하게 향하게 할 수 있다. 임상적 라만 내시경 플랫폼은 본 발명자들이 최근에 개발한 온라인 데이터 처리 소프트웨어와 통합되어 실시간 (처리시간 < 0.1 초)으로 임상외에게 프로브 취급 어드바이스 및 소리 피드백을 촉진하였다. 간략하게, 온라인 내시경 프레임워크는 스펙트럼 취득 (즉, 레이저 노출, 통합 시간, CCD 셔터 및 해독 등)을 동기화하고 스무딩화, 5차 다항식 기선 가산 등을 포함하는 확립된 전처리를 사용하여 로우 스펙트럼 (강한 자가형과 배경 및 약한 라만 신호를 포함)으로부터 라만 신호를 자동으로 추출한다. 생체내 라만 스펙트럼 및 알고리즘 (예를 들면, 주성분 분석)의 결과는 임상 경비 라만 내시경 검사 중에 포괄적 그래프 사용자 인터페이스 (GUI)에서 실시간으로 표시할 수 있다.

[0149] 상이한 인종 (22명의 아시아인 및 1명의 백인)의 총 23명의 정상 건강한 남자 대상체는 경비 내시경 검사에서 생체내 조직 라만 측정을 위해 모집하였다. 모집된 이들 대상체에서, WLR 및 NB 영상 검사 중에 의심가는 병변은 확인되지 않았다. 추정된 정상 (또는 양성) 조직의 총 3개의 예비 측정은 진정한 후두 성대(LVC), 후비인두(PN), 및 후두함요 (즉, Rosenmuller의 포사 (FOR))를 포함하는, 생체내 라만 획득을 위해 미리 정의되며, 여기서 NPC는 전형적으로 개시한다. 광섬유 라만 프로브는 조직의 내인성 바이오 분자 조성물을 실시간으로 조사하는 내부 조직과 온화한 접촉으로 배치될 수 있다. 생검 조직 부위에 대한 정확한 위치화는 담당 내시경의에 의한 WLR/NBI 모니터에 의해 검증하였다. 프로브는 라만 스펙트럼을 1 mm^3 의 프로브 용적과 ~800의 침투 깊이의

영역 (직경 200)으로부터 수집하게 하였다. 각각의 스펙트럼은 조직 표면 상에 전력 ~50 mW의 전785 nm 레이저 광을 사용하여 0.5 초 이내에 획득하였다.

[0150] 라만 스펙트럼은 온라인으로 표시하고 후속 절차 검사를 위해 저장하였다. 이러한 신속한 라만 내시경 기술은 비파괴적이며 또한 임상 평가를 위해 내시경 경비 검사 중에 일상적으로 사용할 수 있다. 조직내 부위 변동을 평가하기 위하여, 여러가지 라만 스펙트럼 (~18)이 또한 각각의 조직 부위로부터 획득하였다. 그 결과, 47개의 부위로부터 총 874개의 생체내 라만 스펙트럼은 경비 내시경으로 측정하고 23 대상체로부터 스펙트럼 분석 [PN (n=521), FOR (n=157) 및 LVC (n=196)]을 위해 사용하였다.

[0151] 데이터 분석 전에, 최초 라만 스펙트럼은 선형 Savitzky Golay 필터를 사용하여 먼저 스무팅화한 다음, 조직 자가형광 배경을 5차 다항식 피팅을 사용하여 스무팅화된 스펙트럼으로부터 감산하였다. 배경-감산된 라만 스펙트럼은 상이한 대상체 및 조직 부분에 대하여 임상적 라만 측정에 대한 라만 프로브 취급 변동을 최소화하기 위해 곡선 아래 통합 영역으로 정규화하였다. 모든 처리된 라만 스펙트럼은 매트릭스로 조합한 다음, 전체 라만 데이터세트의 평균 중앙화를 수행하였다. 스펙트럼 데이터의 치수를 감소시키기 위하여, 주성분 분석(PCA)은 조직 특성화를 위해 라만 스펙트럼 데이터세트에서 최대 변동을 나타내는 대각선 주성분 (PC) 세트를 추출하기 위해 사용하였다. 따라서, PC에 대한 부하는 점진적으로 감소하는 변동을 나타내는 데이터세트에서 가장 두드러진 스펙트럼 변동의 대각선 기본 스펙트럼을 나타내는 반면, PC에 대한 스코어는 대응하는 부하에 대한 조직 라만 스펙트럼의 투여값을 나타낸다. 따라서 PCA는 데이터 세트의 치수를 최소로 줄이면서 스펙트럼 변동을 분해하기 위하여 효율적으로 사용할 수 있다. 보유된 PC의 수는 변동 (ANOVA) 분석 및 0.05 레벨에서 스튜던트 t-검정에 기초하여 선택하였다. 본 발명자들은 평균 차이를 평가하기 위하여 *post-hoc* 피서의 최소 자승차이 (LSD) 검정을 사용하였다. 다변량 통계 분석은 Matlab (Mathworks Inc., Natick, MA) 프로그램 환경에서 PLS 툴박스 (Eigenvector Research, Wenatchee, WA)를 사용하여 수행하였다.

[0152] 고품질 생체내 라만 스펙트럼은 일상적으로 경비 이미지 가이드 (즉, WLR 및 NBI) 내시경 검사 중에 비인두 및 후두를 실시간으로 획득할 수 있다. 도 1은 내시경에서 0.1초의 획득시간으로 후비인두로부터 취득한 생체내 최초 라만 스펙트럼 (큰 조직 자가형광 배경에 중첩된 약한 라만 신호)의 일예를 도시한다. 신호 대 잡음 비 (SNR) >10로 배경 감산된 조직 라만 스펙트럼 (도 33의 삽입도)을 얻고 임상 내시경 측정 중에 표시할 수 있다. 도 34는 라만 프로브가 WLR/NB 이미지 가이드 중에 조직과 가볍게 접촉하는 경우 정상 비인두 [PN (n=521) 및 FOR (n=157)] 및 후두 조직[LVC (n=196)]의 대상체간 생체내 평균 라만 스펙트럼 1 표준편차 (SD)를 나타낸다. 획득된 비인두 및 후두 조직 라만 스펙트럼과의 비교 (도 34)는 체액 중에 생화학물질이 경비 내시경 검사에서 생체내 조직 라만 스펙트럼에 현저하게 기여하지 않는다는 것을 입증한다. 또한 대응하는 해부학적 위치로부터 얻어진 WLR 이미지가 도시된다. 단백질 및 지질과 관련된 주요한 라만 밴드는 시험적인 생체분자 어사인먼트로 표 2에 나타낸 바와 같이 확인된다.

[0153] 표 2. 비인두 및 후두 조직의 라만 산란에서 포함된 분자 진동 및 생화학물질의 시험적 어사인먼트 (여기서 ν , 스트레칭 모드; ν_s , 대칭 스트레칭 모드; δ , 벤딩모드).

라만 피크 (cm ⁻¹)	변동	생화학물질
853	$\nu(\text{C-C})$	단백질
940	$\nu(\text{C-C})$	단백질
1004	$\nu(\text{C-C})$ 호흡	단백질
1078	$\nu(\text{C-C})$	지질
1265	아미드 III $\nu(\text{C-N})$ $\delta(\text{N-H})$	단백질
1302	CH ₂ 트위스팅 및 웨징	지질/단백질
1450	$\delta(\text{CH}_2)$	지질/단백질
1660	아미드 I $\nu(\text{C=O})$	단백질

[0154]

[0155] 도 35는 불규칙하게 선택된 대상체의 대상체간 평균 스펙트럼 ± 1 SD를 나타낸다. 생체내 라만 스펙트럼은 비인두 및 후두에서 작은 대상체간 및 대상체외 변동(<10%)과 재생가능한 것으로 밝혀졌다. 추가로 라만 내시경 시험들은 후두인두내의 상이한 조직 부위들 사이의 변동성이 아주 작다(< 5%) (도시하지 않음)는 것을

나타낸다. 본 발명자들은 또한 도 36에 도시된 바와 같이 상이한 조직 유형들 (즉, PN-LVC, LV-FOR and PN-FOR) 사이에 차등 스펙트럼을 계산하였으며, 이것은 생물분자 레벨에서 상이한 해부학적 조직 부위의 특징적인 조성 및 형태학적 프로파일을 분석한다. ANOVA는 812, 875, 948, 986, 1026, 1112, 1254, 1340, 1450, 1558, 1655 및 1745 cm^{-1} 에서 중심에 있는 3개의 해부학적 조직 부위 사이의 12개의 두드러진 넓은 라만 스펙트럼 서브영역을 나타냈으며, 이것은 정확한 생체내 진단을 향하여 비인두 및 후두의 라만 스펙트럼 성질들을 특징화하는 중요성을 재확인한다.

[0156] 건강한 자원자들로부터 입수한 혈액, 침 및 콧물의 생체내 라만 스펙트럼은 도 37에 도시된 바와 같이 측정하였다. 침 및 콧물에서 가장 두드러진 라만 밴드는 1638 cm^{-1} (물의 벤딩 모드 v_2)에 있는 반면, 혈액은 560 및 1620 cm^{-1} 부근의 포르피린 라만 밴드를 나타낸다. 머리 및 목에서 상이한 조직들 중에서 스펙트럼 차이를 더욱 평가하기 위하여, 총변동(PC1: 22.86%; PC2: 16.16%; PC3: 8.13%; PC4 6.22% PC5: 4.05%)의 57.41%를 나타내는 ANOVA 및 스튜던트 t-검정($p < 0.05$)에 기초하는 5성분 PCA 모델은 상이한 해부학적 위치의 현저한 피크 변화를 분석하기 위하여 개발하였다. 도 38은 단백질(즉, 853, 940, 1004, 1265, 1450 및 1660 cm^{-1}) 및 지질(즉, 1078, 1302 1440, 1655 및 1745 cm^{-1})과 관련된 분해 라만 밴드를 나타내는 PC 부하를 보여준다. 도 39 (A 내지 E)는 상이한 조직 유형 (즉, PN, FOR 및 LVC)에 대한 PCA 스코어의 박스 차트를 표시한다. 각각의 노치 박스 내의 선은 중앙값을 나타내고, 박스의 하부 및 상부 경계는 제1 (25.0% 백분위수) 및 제3 (75.0% 백분위수) 사분위수를 각각 나타낸다. 오차 기둥(위스커)은 1.5배 4분편차를 나타낸다. p-값은 또한 상이한 조직 유형 중에서 표시된다. 선형 판별분석(LDA)과 통합된 이분법 PCA 알고리즘은 리브-원 대상체-아웃, 교차 검증을 사용하여 PN 대 FOR, 및 LVC 대 PN 사이의 차별화를 위해 민감성 77.0% (401/521), 67.3%(132/192) 및 특이성 89.2% (140/157) 및 76.0% (396/521)을 제공하였다. 전반적으로, 이들 결과는 머리 및 목에서 비인두 및 후두의 라만 스펙트럼이 경비 내시경에서 생체내 측정할 수 있으며 또한 진단학적 알고리즘 개발이 최소 알고리즘 복잡성을 확보하는데 특이적인 조직부위이어야 한다는 것을 입증한다.

[0157] 실시예 4 - 바렛의 식도에서 이형성의 실시간 생체내 진단을 위한 광섬유 공초점 라만 분광학

[0158] 광섬유 공초점 라만 진단은 실시간 (< 0.5 초)에서 달성할 수 있으며 또한 생체내 발암현상에서 상피세포 및 조직의 점진적 생물분자 및 기능적 변화를 찾아낸다. 병리조직학은 원주상 라이닝 상피 ($n=597$ 스펙트럼)으로서 예측으로 측정된 조직 부위의 152, 장생피화생 ($n=123$ 스펙트럼)으로서 48, 고도 이형성 ($n=77$ 스펙트럼)으로서 9를 특성화하였다. 수신기 동작 특성(ROC)분석을 사용하면, 고도 이형성의 식별은 스펙트럼 기본으로 민감성 87.0%, 및 특이성 84.7%를 생산하면서 성공적으로 달성할 수 있었다. ROC 곡선 아래 면적은 0.90인 것으로 밝혀졌다. 실시간 능력을 갖는 이러한 새로운 생물분자 특이적 내시경 치료법은 진행중인 내시경 검사 중에 바렛의 환자에서 고위험 조직 영역을 객관적으로 표적화하기 위한 믿을 만한 도구를 위장과 전문의에게 제공한다.

[0159] 공초점 라만 분광 시스템은 근적외선(NIR) 다이오드 레이저 ($\lambda_{ex} = 785\text{ nm}$), 액상 질소 냉각, NIR-최적화, 전하 결합 소자(CCD) 카메라가 장착된 대용량 처리 투과형 이미징 포토그래프, 및 특수하게 설계된 1.8mm 광섬유 공초점 라만 프로브를 포함한다. 상기 시스템은 $\sim 9\text{ cm}^{-1}$ 의 스펙트럼 분해능과 $800\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ 범위의 라만 스펙트럼을 취득한다. 개발된 광섬유 공초점 라만 내시경 프로브는 레이저 광 전달 및 생체내 조직 라만 신호 수집을 위해 사용한다.

[0160] 1.8 mm (외부 직경) 공초점 라만 내시경 프로브는 중심 광 전달 섬유 (직경 200 μm , NA = 0.22)을 둘러싸는 9 x 200 μm 필터 코팅된 수집 섬유(NA = 0.22)를 포함한다. 소형 1.0 mm 사파이어 볼 렌즈(NA = 1.78)는 조직 위에 여기광을 견고하게 집중시키기 위해 공초점 프로브의 섬유 선단에 결합하며, 이것은 상피 라이닝 ($< 200\text{ }\mu\text{m}$)으로부터 효과적인 라만 스펙트럼 수집을 가능하게 한다. 광섬유 공초점 라만 프로브는 통상적인 내시경의 장치 채널에 삽입하고 생체내 조직 특성화 및 진단을 위해 상피와 가볍게 접촉되게 배치할 수 있다. 공초점 라만 프로브의 심도 산택성은 다음을 포함하는 실력력 있는 실험적 이점들을 제공한다: (i) 광섬유 공초점 라만 분광학은 바렛의 발암현상의 초기 개시와 관련된 상피 라이닝을 선택적으로 표적화하며, 이것은 큰 조직 부피를 심문하는 통상적인 용적 타입 광섬유 라만 프로브보다 우수하며; (ii) 공초점 라만 기술의 얇은 조직 조사 능력은 깊은 조직층 (예를 들면, 기질)로부터 훨씬 감소된 조직 자기형광 기여로 인하여 자기형광 배경에 더 높은 조직 라만을 제공하며; 또한 (iii) 신규의 광섬유 공초점 라만 분광 플랫폼을 잘 문서화된 다변량 분석과 결합하면 상피 분자 정보를 생체내에서 실시간으로 추출하고 분석하게 한다. 전체 공초점 라만 내시경 시스템은 라만 분광학의 프론티어를 일상적인 임상 진단으로 추진하면서, 내시경의에게 청각 확률적 피드백에 의해 내시경

스크리닝 세팅에서 신속한 관찰을 허용하는 직감적 소프트웨어 프레임워크에서 제어된다.

- [0161] 총 450명의 환자들이 소화불량 및 상부 GI 이상증상을 포함하는 다양한 징후의 감시 또는 스크리닝을 위한 내시경 검사에 등록하였다. 의심스런 병변의 전형적인 검사 중에, 각각의 조직 라만 측정은 0.5초 이내내 취득할 수 있으며, 이것은 큰 조직 영역의 신속한 관찰을 허용한다. 상부 CI에서 상이한 조직학적 서브타입의 373명의 환자들로부터 취득한 생체내 라만 스펙트럼 데이터는 포괄적인 라만 라이브러리(>12,000 라만 스펙트럼)를 구축하기 위해 사용하였다. BE의 스크리닝 및 감시를 위해 모집된 환자들의 경우, 라만 스펙트럼은 다음 세가지 병리 조직학적 위험 클래스로 카테고리화 한다: (i) 원주상 라이닝 상피 (CLE), (ii) 배상세포의 존재로서 정의된 BE, (iii) 경도의 이형성 (LGD) 및 중증도의 이형성 (HGD). 예를 들면, 도 40A는 병리조직학적 특성화에 의해 확인되는 바와 같이 상이한 조직 유형 (즉, 편평 라이닝 상피 (n=165), CLE (n=907), 장상피화생 (IM) (n=318) 및 HGD (n=77))으로 나타내는 우리의 데이터베이스에서 환자들로부터 측정된 평균 생체내 공초점 라만 스펙트럼을 보여준다. 각각의 라만 스펙트럼은 0.5 초 이내에 취득하였다. 스펙트럼은 비교 목적으로 1445 cm^{-1} 에서 라만 피크로 정규화 하였다. 두드러진 조직 라만 피크는 936 cm^{-1} (ν (C-C) 단백질), 1004 cm^{-1} (페닐알라닌의 ν_s (C-C) 고리 호흡), 1078 cm^{-1} (지질의 ν (C-C)), 1265 cm^{-1} (단백질의 아마이드 III ν (C-N) 및 δ (N-H)), 1302 cm^{-1} (단백질의 CH_2 트위스팅 및 웨징), 1445 cm^{-1} (지질 및 단백질의 δ (CH_2) 변형), 1618 cm^{-1} (포르피린의 ν (C=C)), 1655 cm^{-1} (단백질의 아마이드 I ν (C=O)) 및 1745 cm^{-1} (지질의 ν (C=O)) 부근에서 관찰할 수 있다. 두드러진 라만 스펙트럼 차이 (예를 들면, 피크 강도, 시프팅 및 밴드 확장)는 상이한 조직 유형 중에서 식별할 수 있다. 이들 풍성한 스펙트럼 사인들은 바렛의 발암현상을 수반하는 상피에서 발생하는 생물분자 및 기능적 변화를 묘사한다. 조직학이 배상세포의 존재 및 진보적 구조상 및 세포학적 비정형성을 식별하지만 (도 40(B, C, D, E), 광섬유 공초점 라만 분광학은 상피가 바렛의 발암 서열 전반에 걸쳐 주요한 기능적 및 생물분자 변화를 수행한다는 것을 밝히고 있다. BE의 라만 생물분자 사인은 이형성의 것과 고도로 유사하다는 것은 아주 흥미로우며, 이것은 장상피화생 표현형으로 변환이 바렛의 발암현상에서 주요 사건이라는 것을 확인한다. 이들 고도로 특이적 상피 분자 사인은 내인성 광학적 바이오마터 (즉, 종양성 단백질, DNA, 뮤신 발현, 미토스 등)을 반영할 것 같다. 따라서 상피 라만 스펙트럼 사이들과 조직 병리학 또는 조직 화학과의 상관관계는 생물 분자 레벨에서 인사이트 바렛의 발병 및 진행의 이해를 깊게할 수 있다. 최근에, 다른 경쟁적 광학적 분광 기술 (예를 들면, 형광, 탄성 산란 분광학)은 생체내 내시경검사에서 이러한 철저한 분자 특성화를 제공할 수 없다.
- [0162] 조직 병리학은 CLE (n=597 j(즉, 독립적으로) 측정된 조직 부위의 152, IM (n=123 스펙트럼)으로서 48, 및 HGD (n=77 스펙트럼)으로서 9를 특징화하였다. 도 41A는 정상, 저위험 및 고위험 병변의 공초점 라만 스펙트럼에 속하는 77명의 환자에서 예측 측정된 위험 스코어의 2차원 3진 산란 플롯을 보여준다. 대응하는 이분 수신기 작동 특성(ROC) 곡선(도 41B)는 또한 도 3A로부터 발생되며, 이때 곡선 아래 면적 (AUC)은 정상, 저위험 및 고위험 병변 중에서 식별을 위해 각각 0.88, 0.84 및 0.90이다. 공초점 라만 기술은 저위험 병변을 BE로 차별화할 뿐만 아니라 (도 41A), 이형성 상피를 함유하는 특이적 조직 영역을 객관적으로 국소화할 수 있었다. 상기 ROC 분석은 고위험 조직이 실시간으로 성공적으로 달성할 수 있으며, 이것은 스펙트럼 기본으로 진단적 민감성 87.0% (67/77), 및 특이성 84.7% (610/720)를 생성한다는 것을 예시한다.
- [0163] 상기 설명에서, 실시형태는 개시된 시스템 및 방법의 일예 또는 실행이다. "일 실시형태", "실시형태" 또는 "일부 실시형태"란 다양한 표편은 필수적으로 전부 동일한 실시형태를 의미하지 않는다.
- [0164] 개시된 시스템 및 방법의 다양한 특징들이 단일 실시형태의 문맥에서 기술될 수 있지만, 이들 특징은 또한 별개로 또는 임의의 적절한 조합으로 제공될 수 있다. 역으로, 개시된 시스템 및 방법이 명확성을 위해 별개의 실시형태와 관련하여 본 명세서에 기술될 수 있지만, 개시된 시스템 및 방법은 또한 단일 실시형태에서 실행할 수 있다.
- [0165] 더욱이, 개시된 시스템 및 방법은 다양한 방식으로 수행 또는 실시될 수 있으며 또한 상기 설명에서 기술된 것들 이외의 실시형태에서 실행될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.
- [0166] 본 명세서에서 사용된 기술적 및 과학적 용어들의 의미는 별도의 정의가 없는 한 당해 분야에서 통상의 기술자에 의해 흔히 이해되어야 할 것이다.
- [0167] 본 개시내용의 특징한 양상들은 방법 형태로 본 명세서에 기술된 공정 단계 및 지침서를 포함한다. 본 개시내용의 공정단계 및 지침서는 소프트웨어, 펌웨어 또는 하드웨어에서 구체화될 수 있으며, 또한 소프트웨어에서 구체화되는 경우 실시간 네트워크 작동 시스템에 의해 사용되는 상이한 플랫폼에 두고 조작되도록 다운로드 할

수 있다는 것을 주지해야 한다.

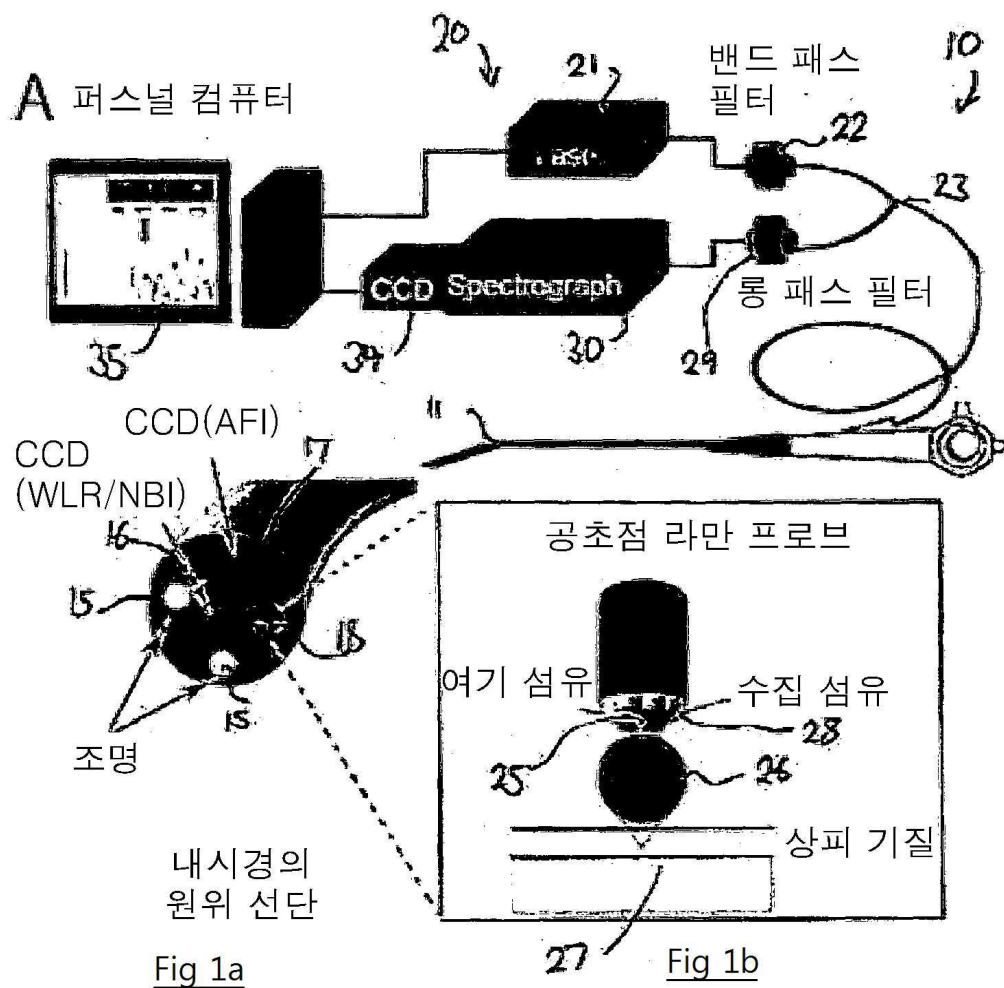
[0168] 본 개시내용은 또한 본 명세서에서 조작을 수행하기 위한 장치에 관한 것이다. 이 장치는 필요한 목적으로 특이적으로 구축할 수 있거나, 또는 컴퓨터에 의해 액세스할 수 있는 컴퓨터 해독가능한 매체 상에 저장된 컴퓨터 프로그램에 의해 선택적으로 활성화 또는 재구성된 일반목적 컴퓨터를 포함할 수 있다. 이러한 컴퓨터 프로그램은 유형의 비일시적 컴퓨터 해독가능한 저장매체, 예를 들면, 이들로 제한되지 않지만, 플로피 디스크, 광학 디스크, CD-ROMs, 자기 광학 디스크, 읽기 전용 메모리(ROMs), 랜덤 액세스 메모리 (RAMs), EPROMs, EEPROMs, 자성 또는 광학 카세트, 응용 특이적 집적 회로(ASICs) 또는 전자 지킴서를 저장하기에 적합한 임의 유형의 매체에 저장할 수 있으며, 각각은 컴퓨터 시스템 버스에 결합된다. 더욱이, 본 명세서에서 인용된 컴퓨터는 단일 프로세서를 포함할 수 있거나, 또는 계산 능력 증가를 위해 다중 프로세서 디자인을 사용하는 아키텍처(architecture)일 수 있다.

[0169] 본 명세서에 기수로된 방법 및 조작은 본질적으로 임의의 특정한 컴퓨터 또는 다른 장치에 관한 것이 아니다. 또한 다양한 다목적 시스템이 본 명세서에서 가르침에 따른 프로그램과 함께 사용될 수 있거나, 또는 필요한 방법 단계를 수행하기 위해 더욱 전문화된 장치를 구축하는 것이 편리함을 입증할 수 있다. 다양한 이들 시스템에 필요한 구조는 균등한 변화와 함께 당업자들에게 자명할 것이다. 그 외에, 본 개시내용은 임의의 특별한 프로그램 언어를 참조하여 기술되지는 않는다. 다양한 프로그램 언어가 본 명세서에 기술된 바와 같이 본 개시내용의 가르침을 실행하는데 사용될 수 있으며 또한 구체적 언어에 대한 임의의 언급은 본 개시내용의 실시가능 및 최선의 양태를 설명하기 위해 제공되는 것으로 인식된다.

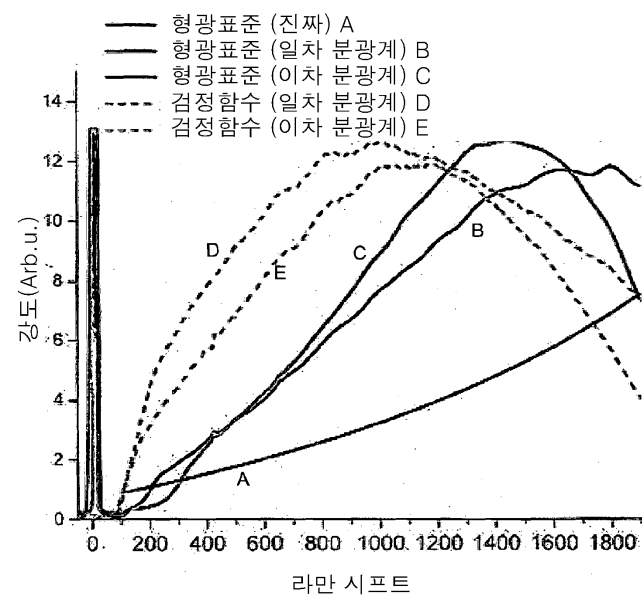
[0170] 본 개시내용은 다수의 토폴로지에 걸쳐 광범위한 컴퓨터 네트워크 시스템에 매우 적합한다. 이 분야 내에서, 큰 네트워크의 구성 및 관리는 네트워크, 예를 들면 인터넷, 공중 네트워크, 사설 네트워크, 또는 컴퓨터 시스템 사이에 통신을 가능하게 하는 다른 네트워크에 걸쳐 비유사한 컴퓨터 및 저장장치에 통신가능하게 결합되는 저장 장치 및 컴퓨터를 포함한다. 최종적으로, 본 명세서에서 사용되는 언어는 원칙적으로 해독성 및 지시 목적으로 선택되었으며 또한 발명적 주제를 기술하거나 제한하기 위해 선택될 수 없다는 것이 주지되어야 한다. 따라서 본 개시내용의 설명은 예시적인 것이지만 다음의 특허청구범위에 기술되는 개시내용의 범위를 제한하는 것이 아니다.

도면

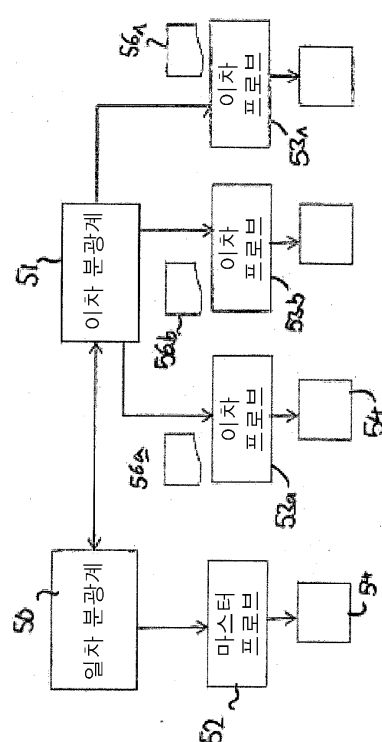
도면1



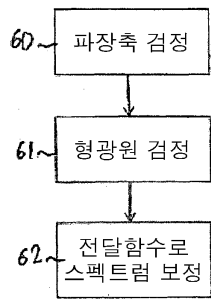
도면2



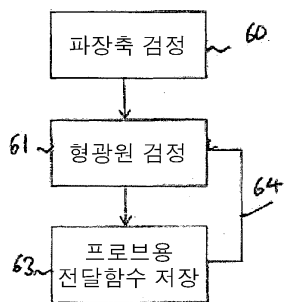
도면3



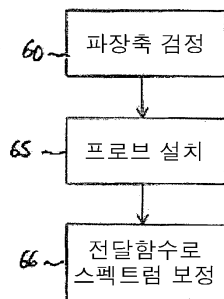
도면4a



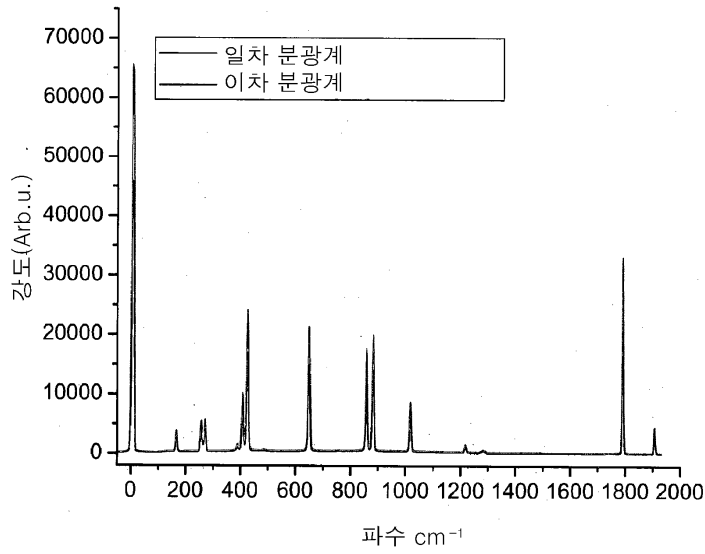
도면4b



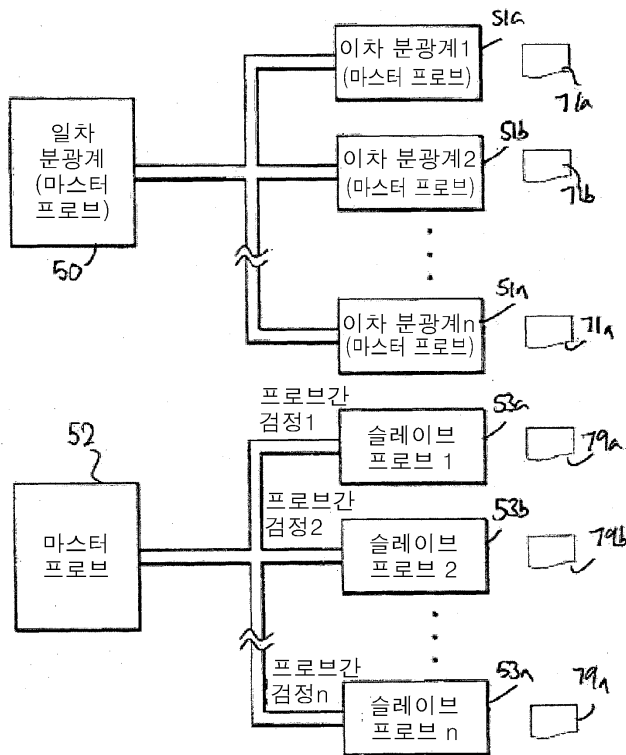
도면4c



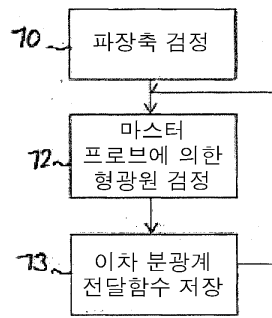
도면5



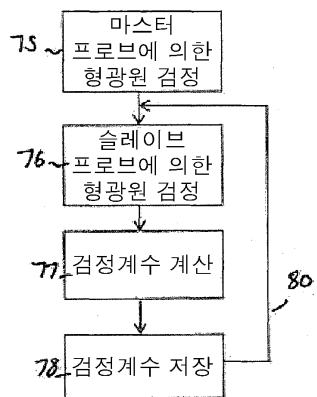
도면6



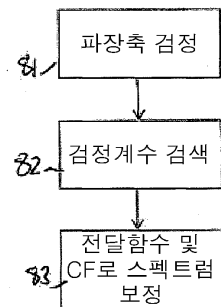
도면7a



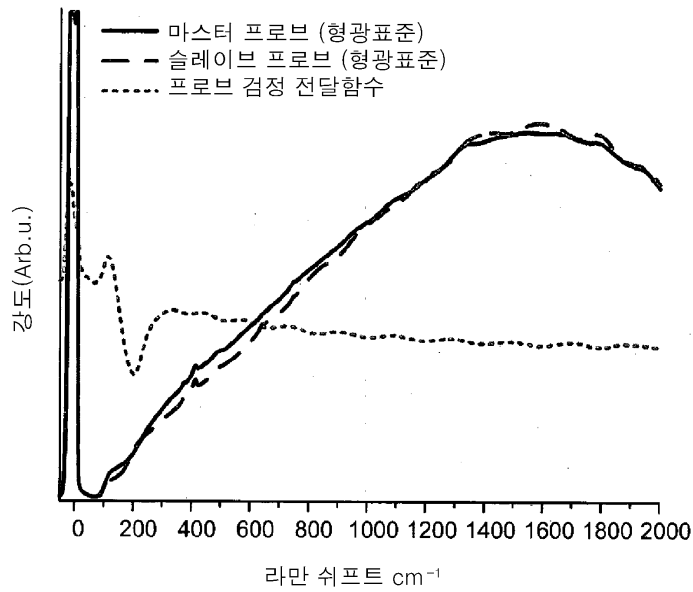
도면7b



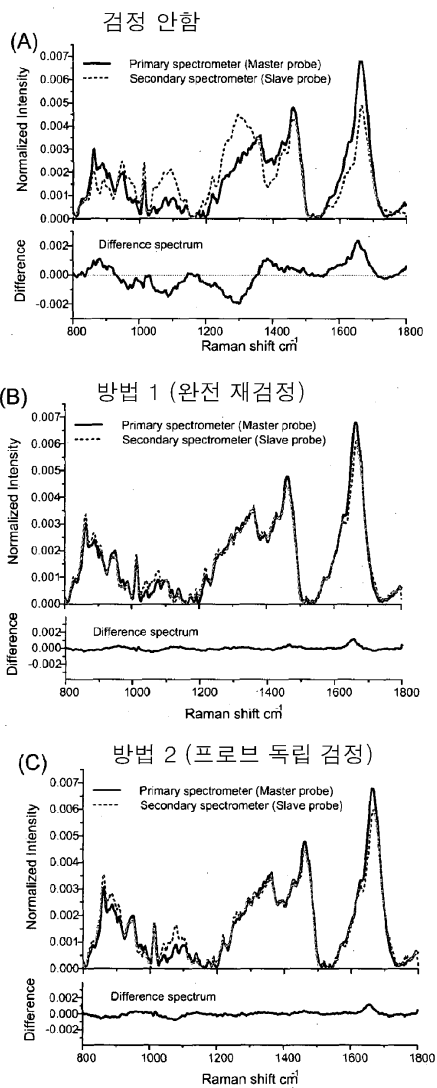
도면7c



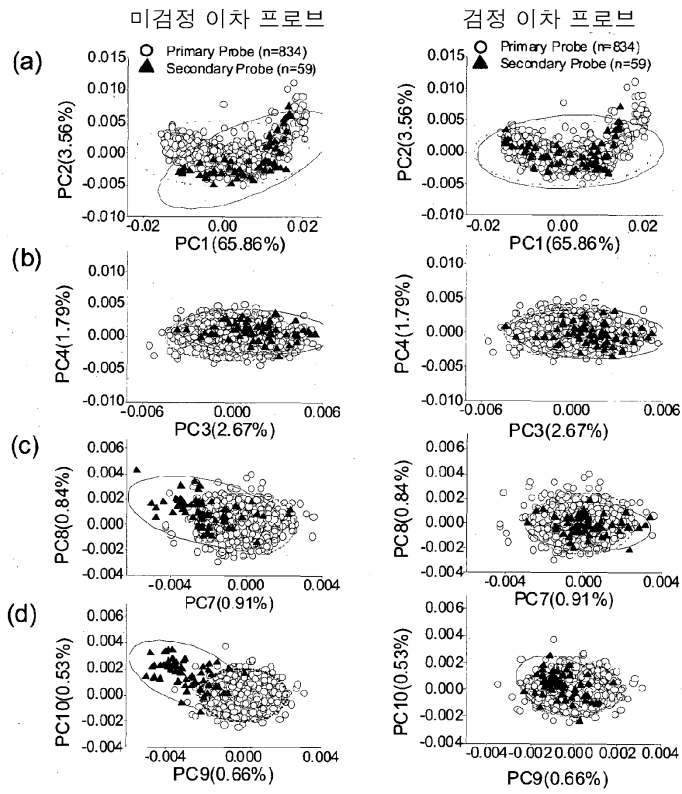
도면8



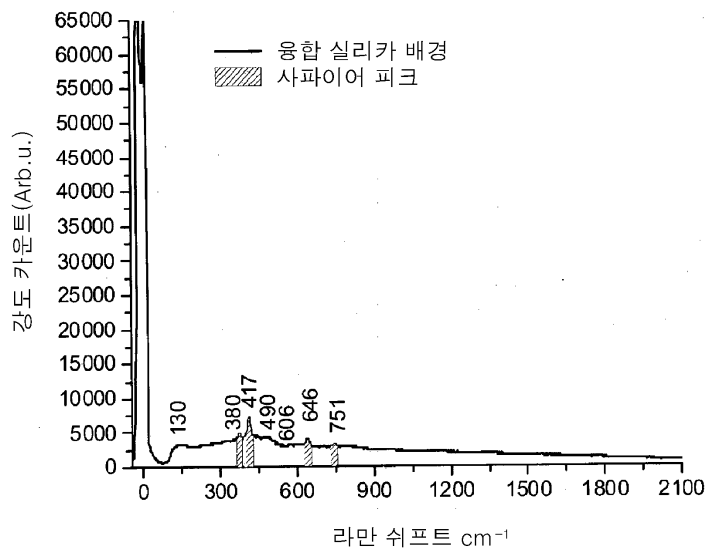
도면9



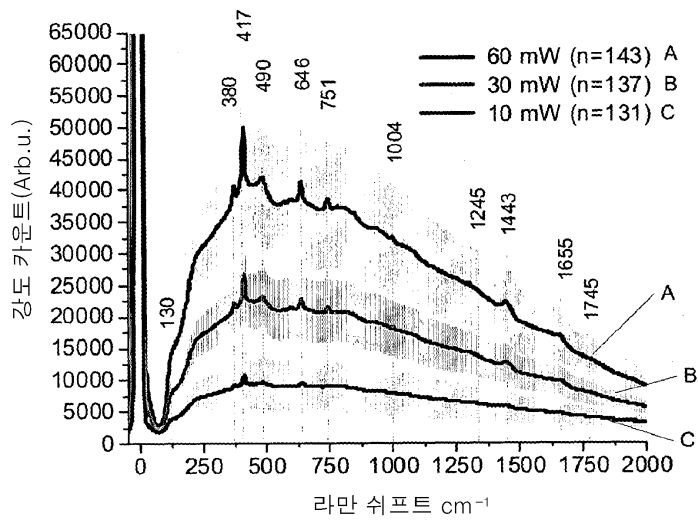
도면10



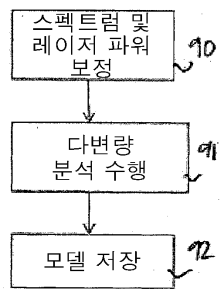
도면11



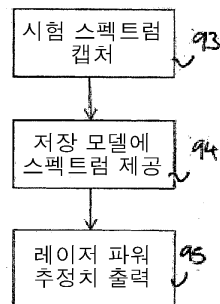
도면12



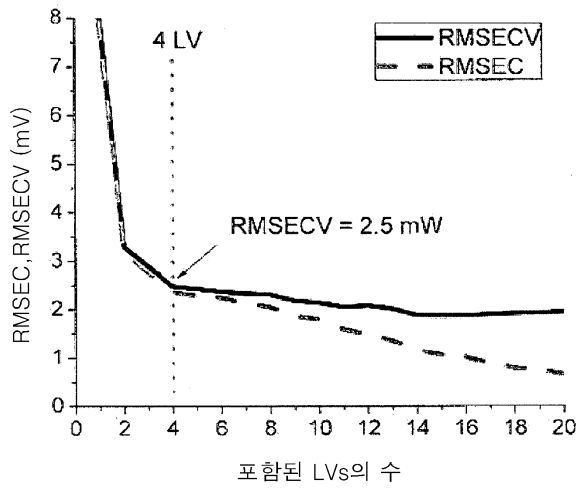
도면13a



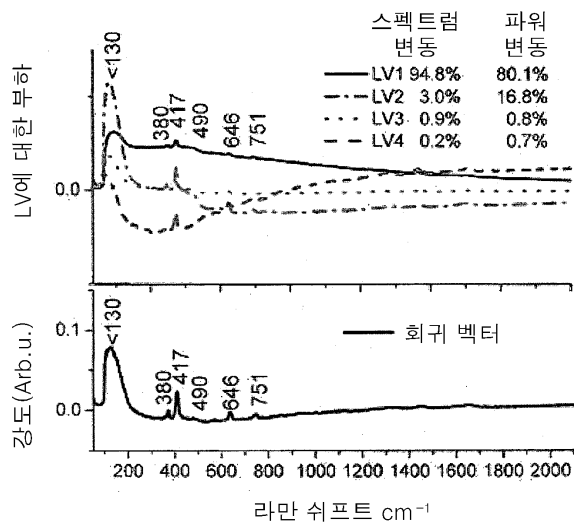
도면13b



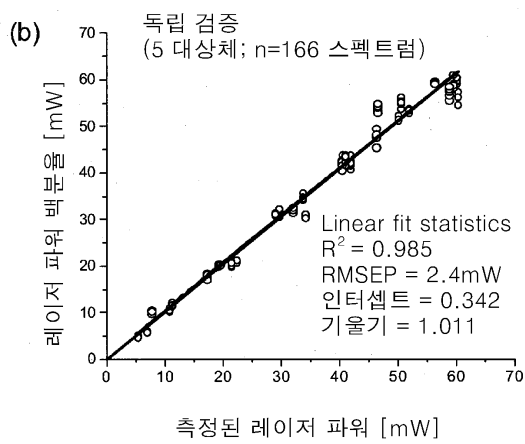
도면14a



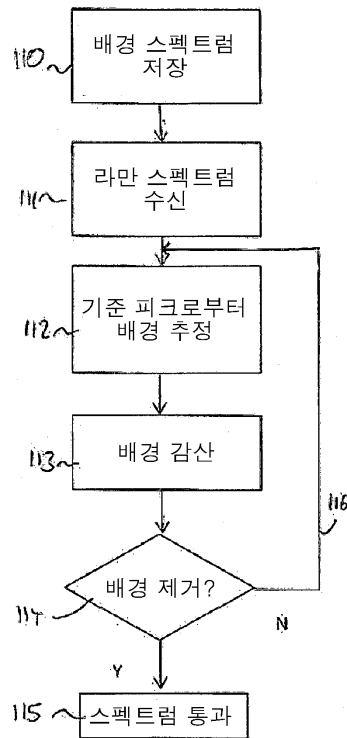
도면14b



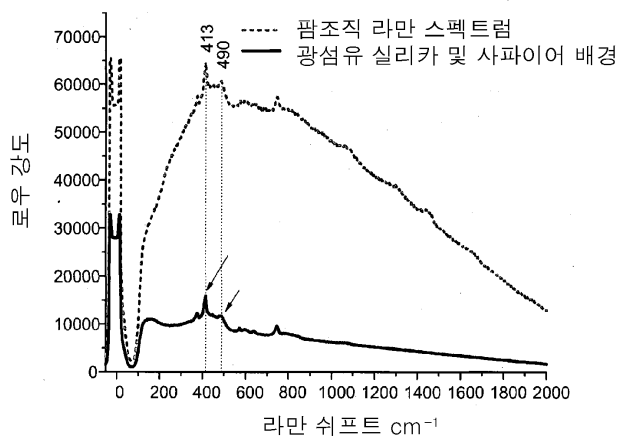
도면15



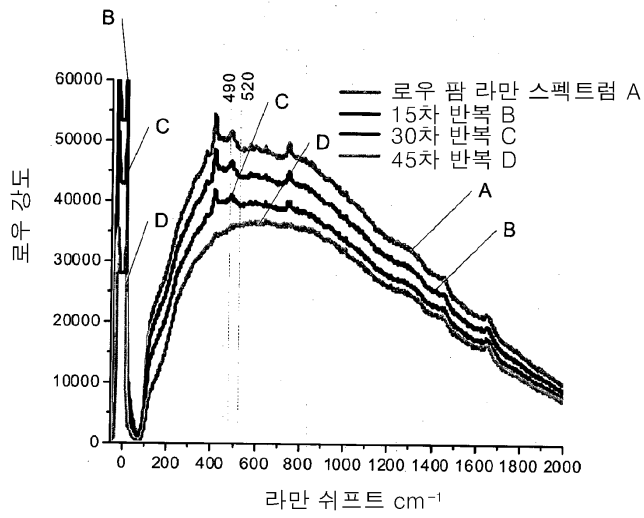
도면16



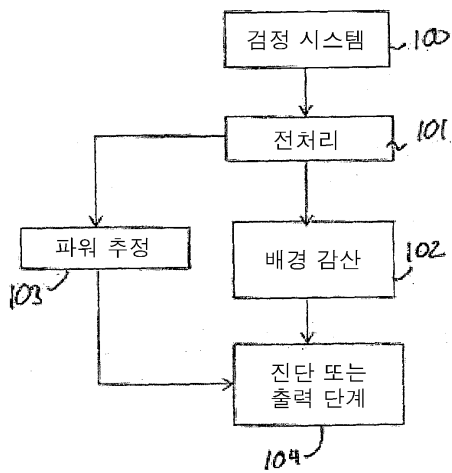
도면17



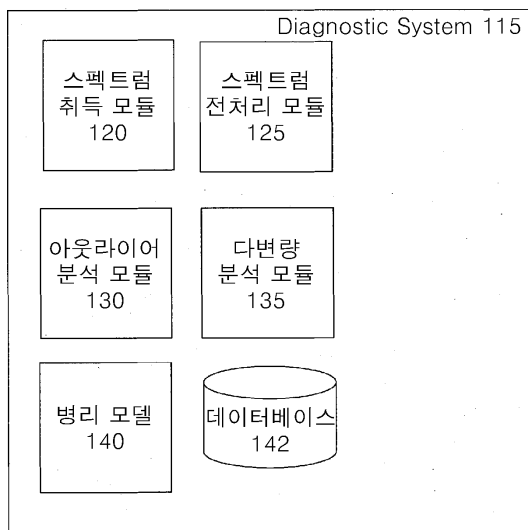
도면18



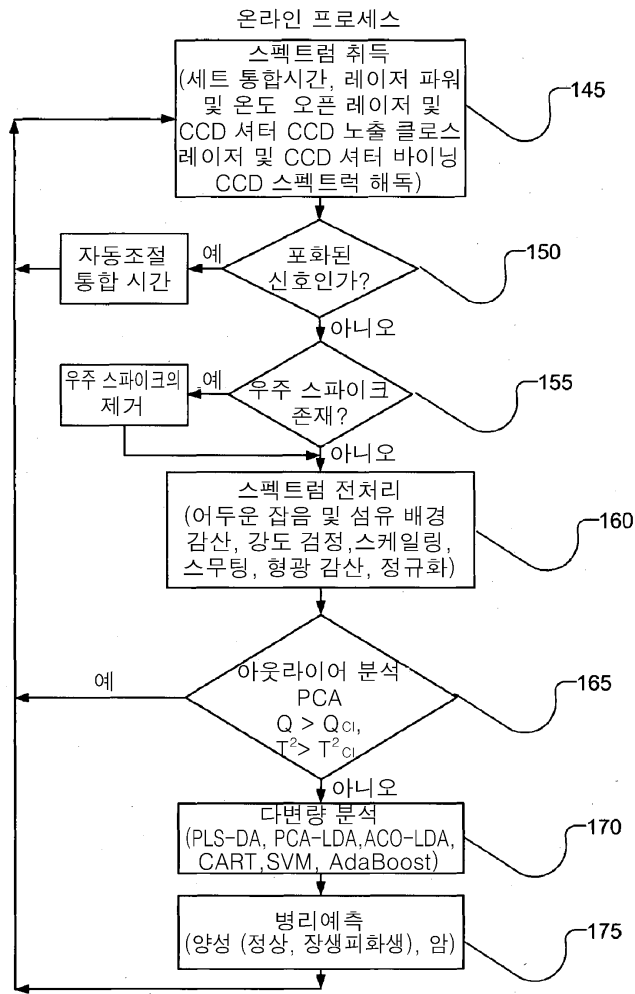
도면19

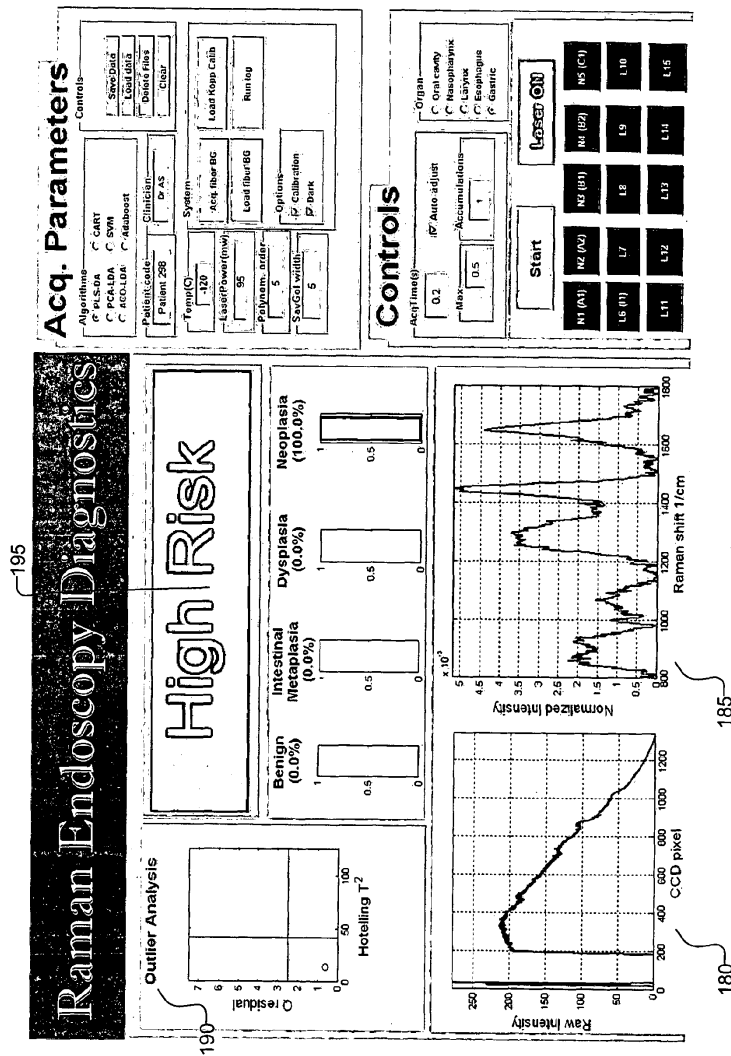


도면20

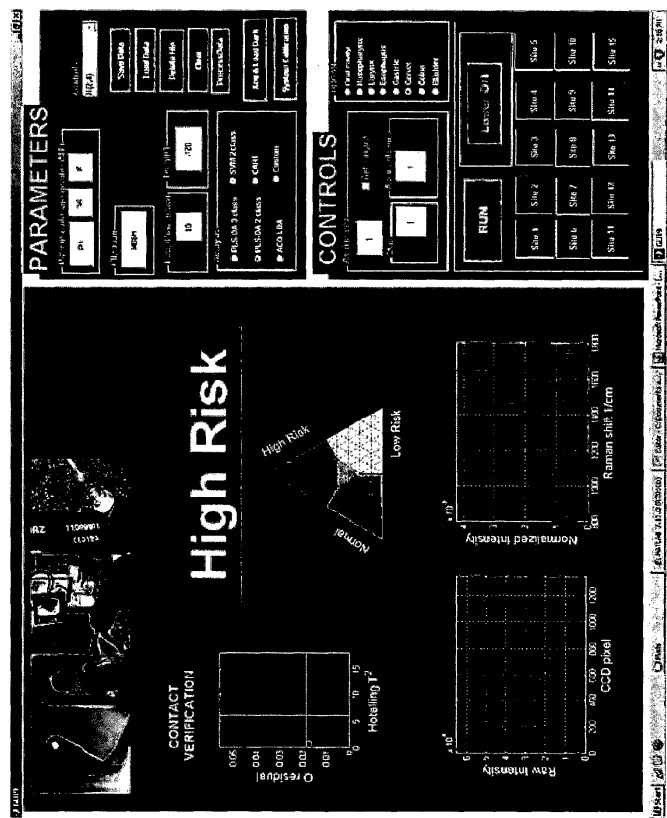


도면21

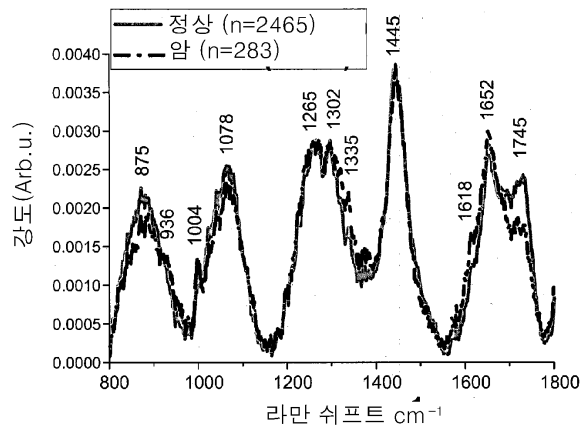




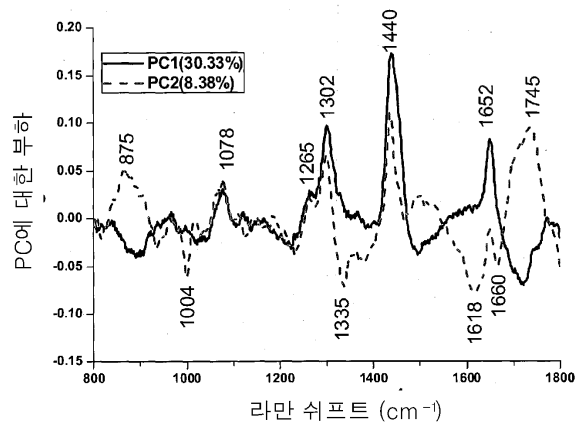
도면22b



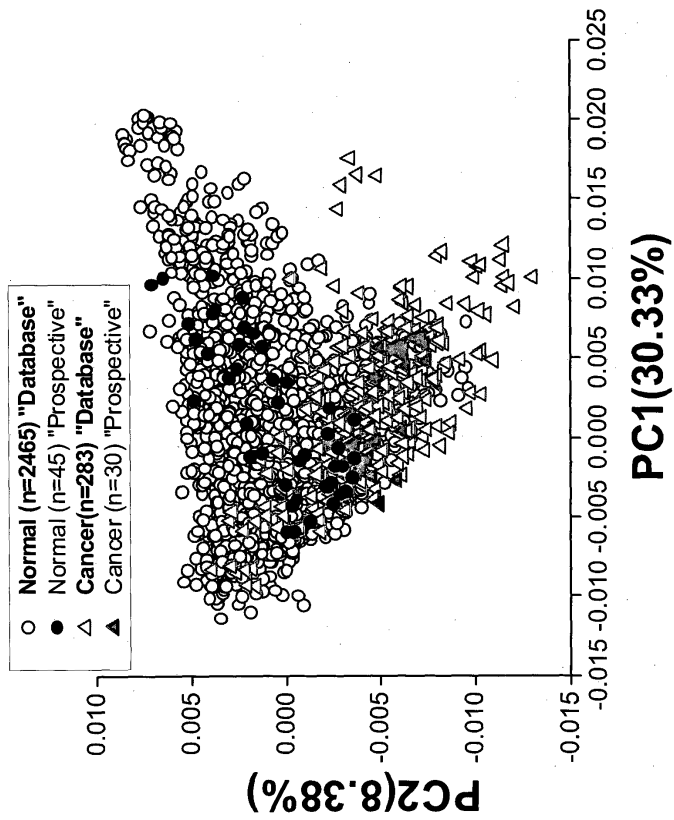
도면23



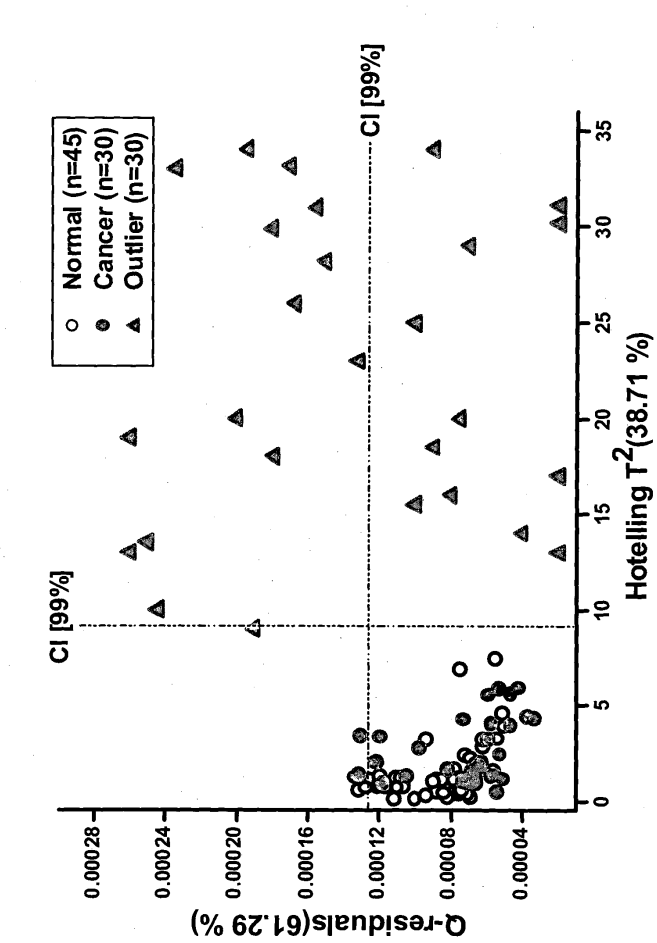
도면24



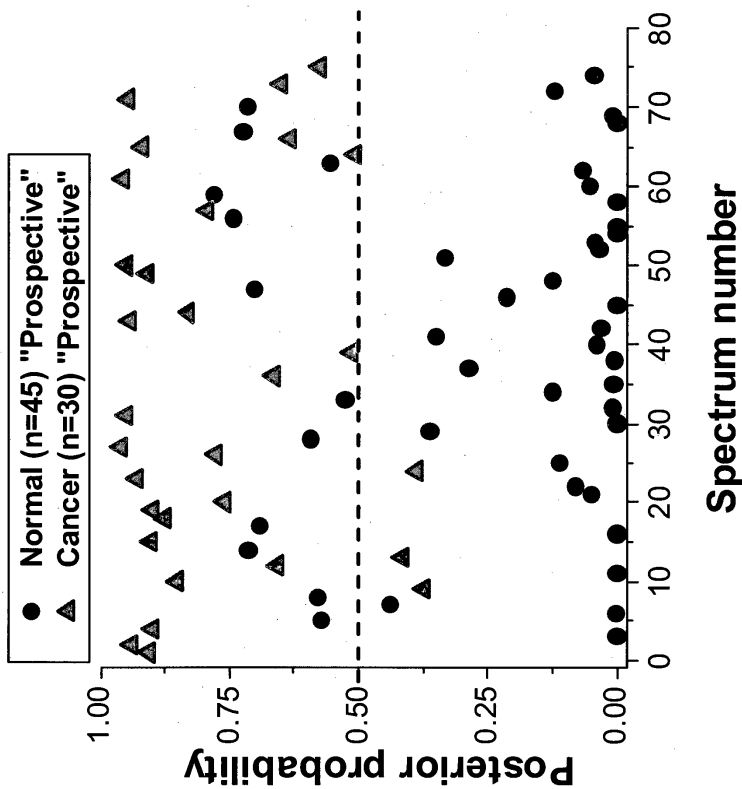
도면25



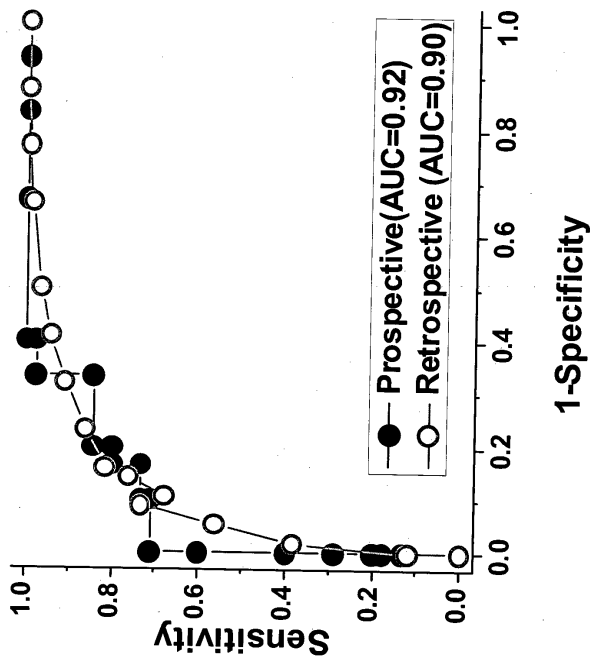
도면26



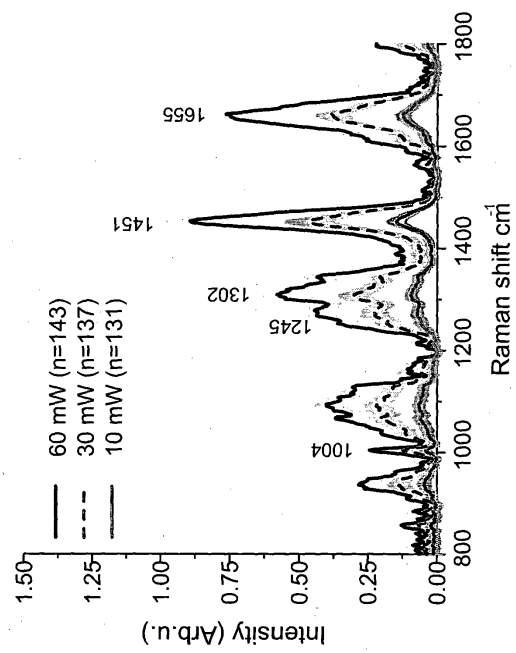
도면27



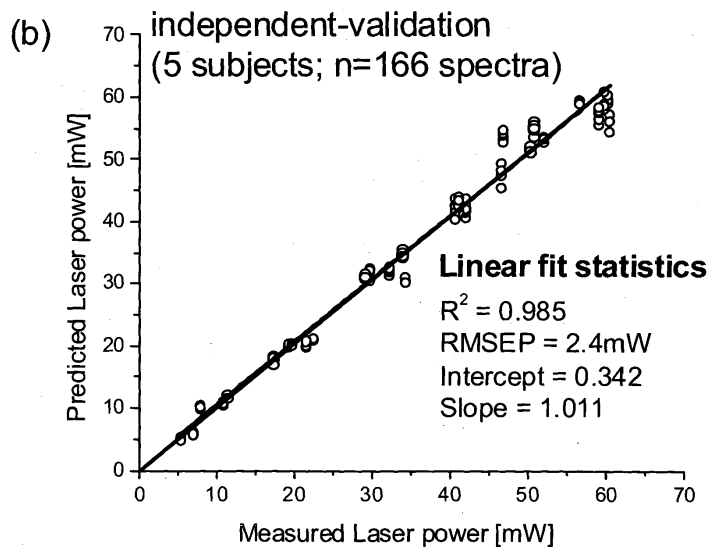
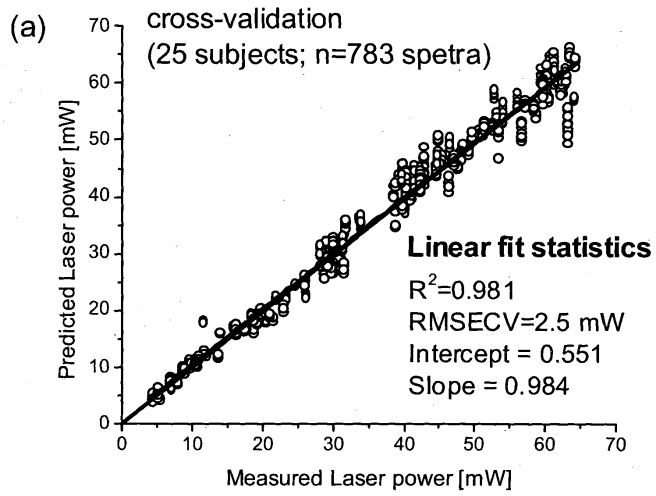
도면28



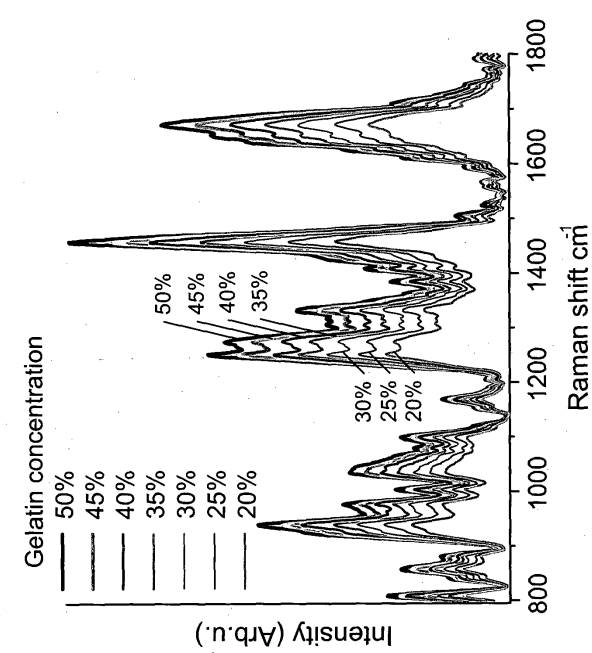
도면29



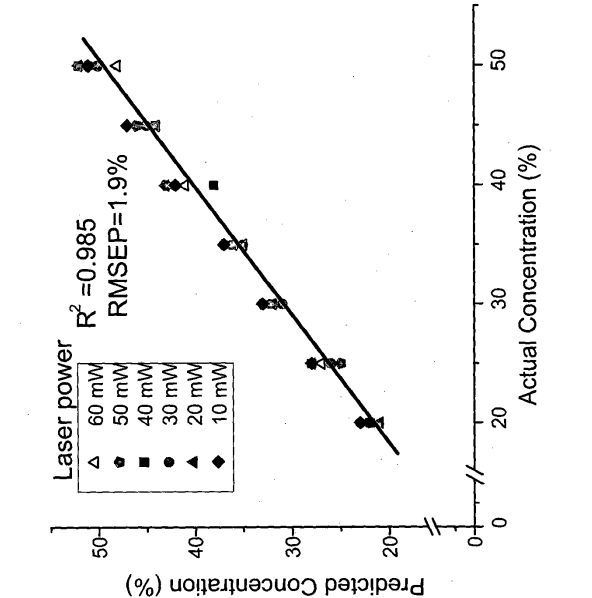
도면30



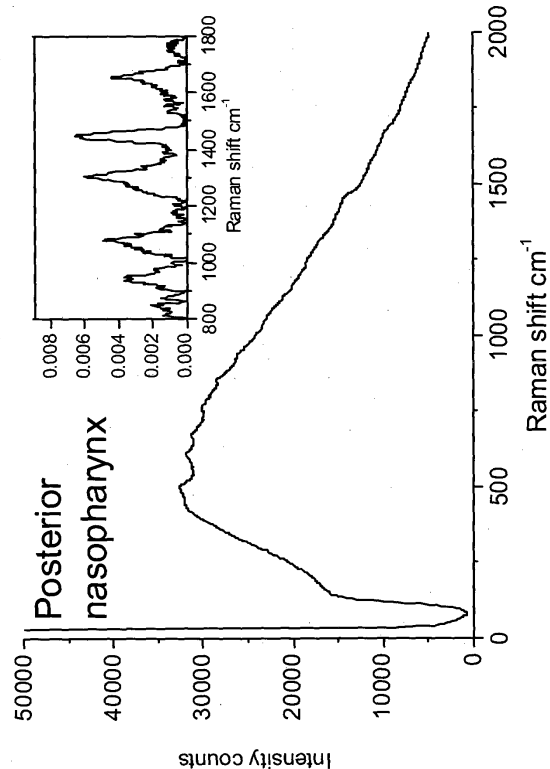
도면31



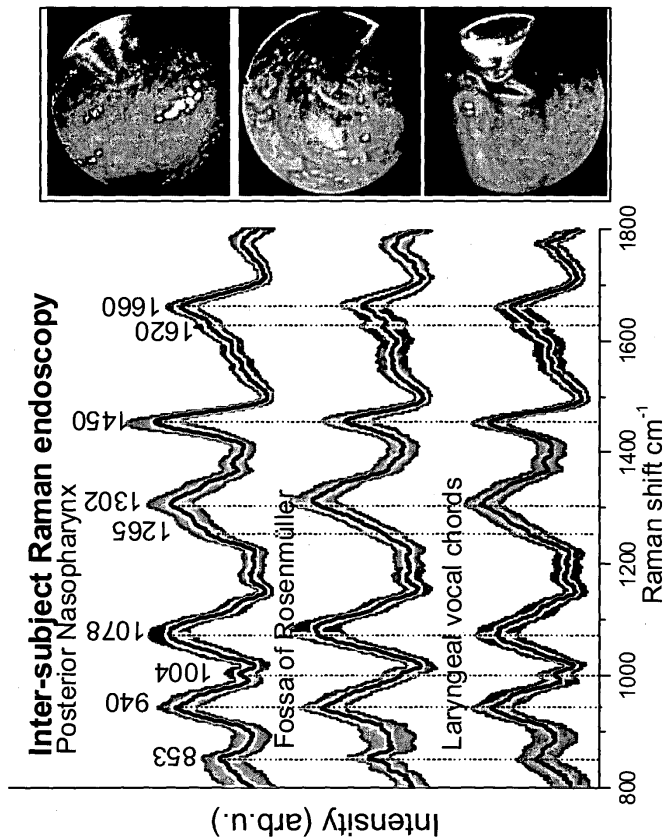
도면32



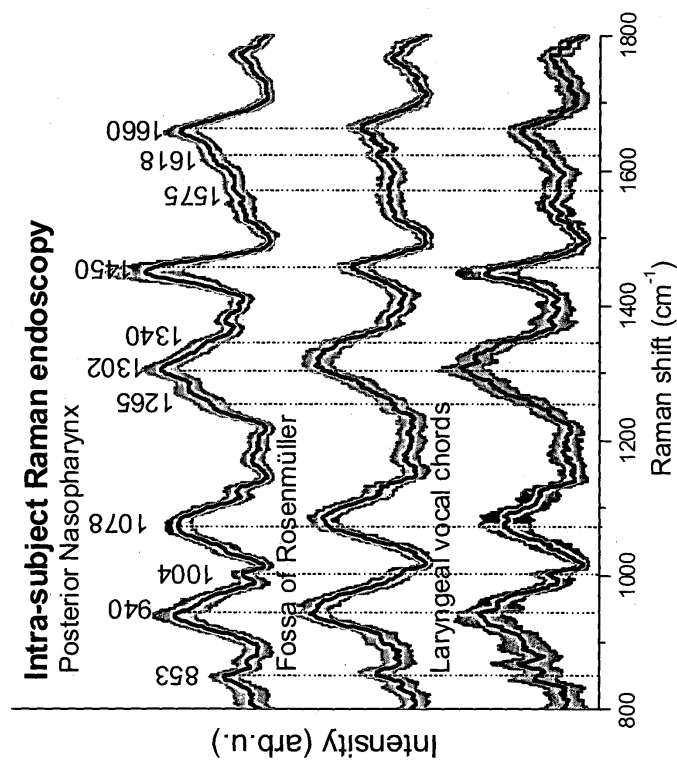
도면33



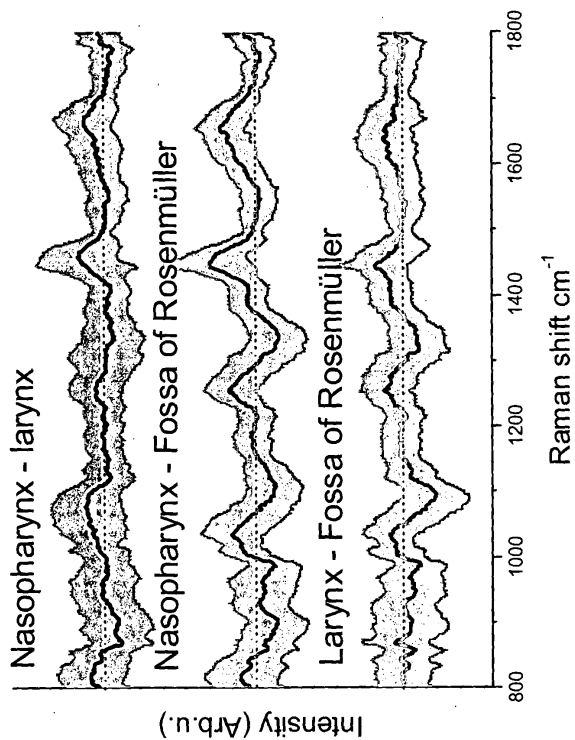
도면34



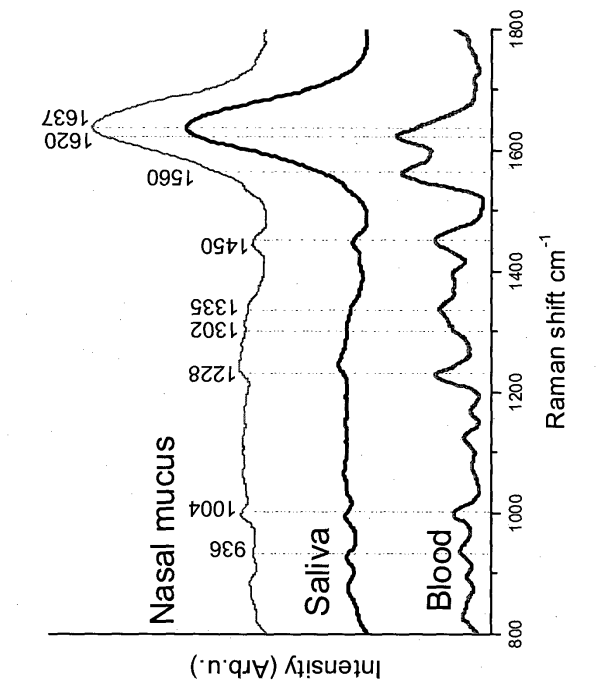
도면35



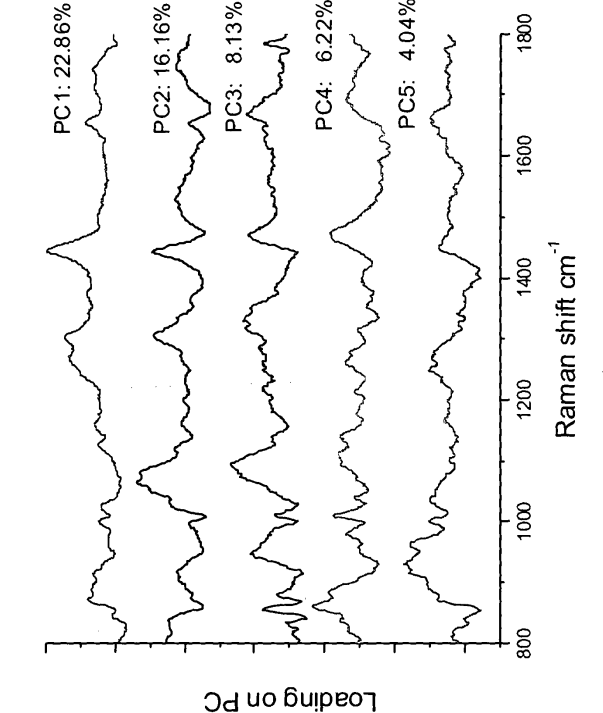
도면36



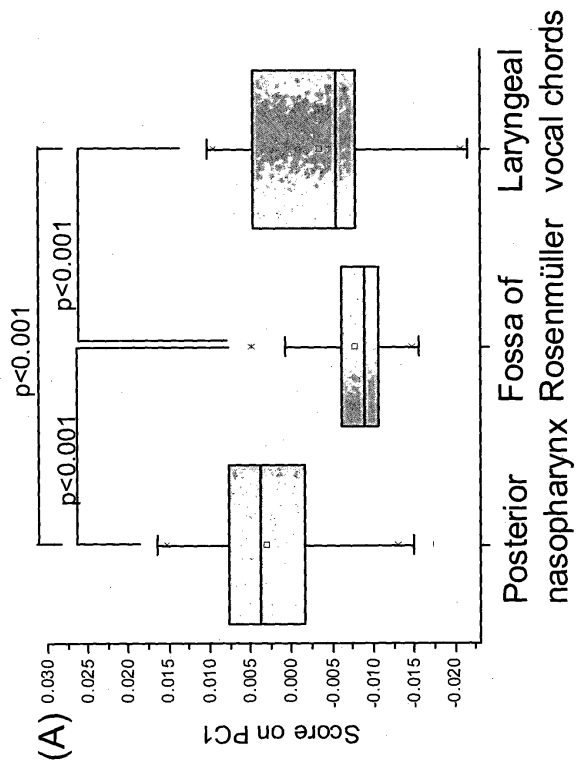
도면37



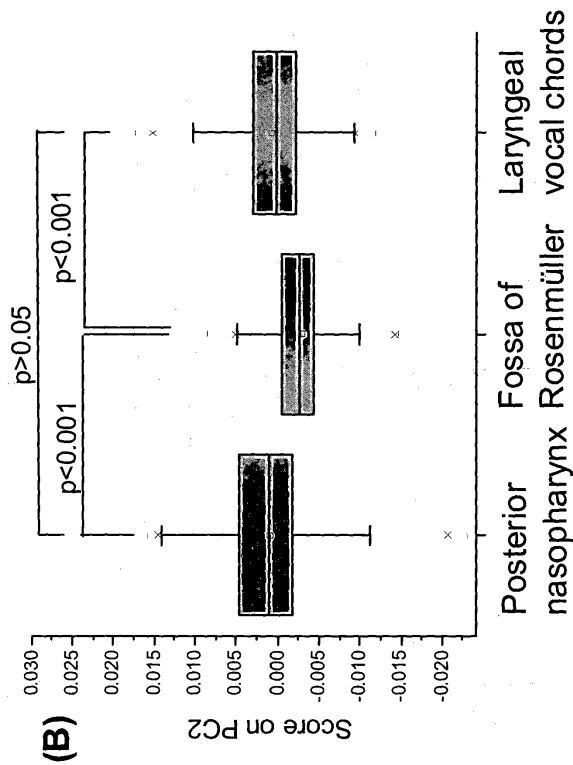
도면38



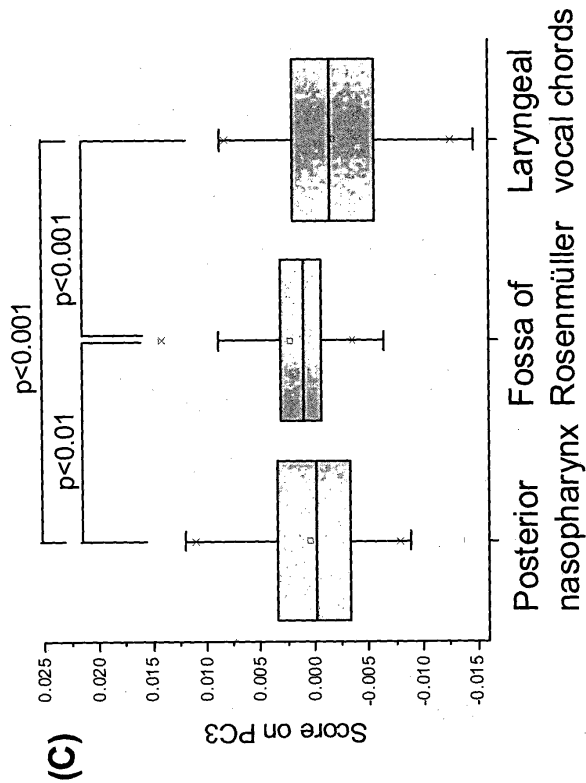
도면39a



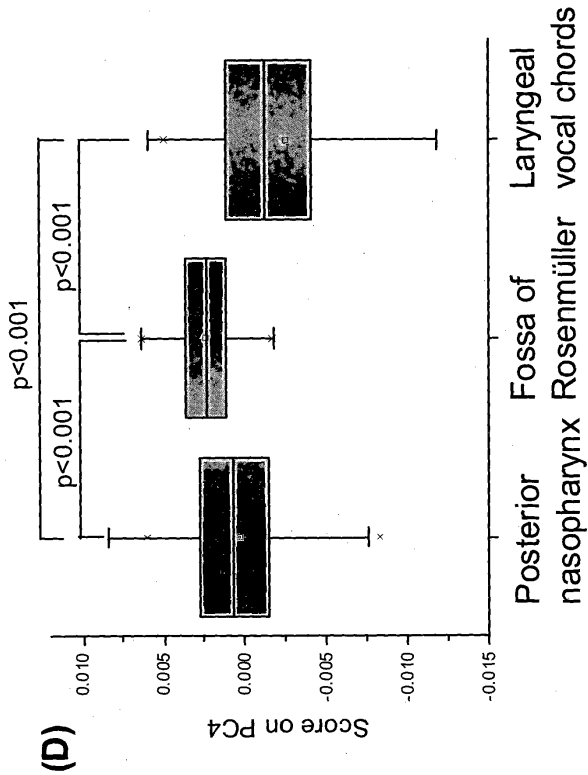
도면39b



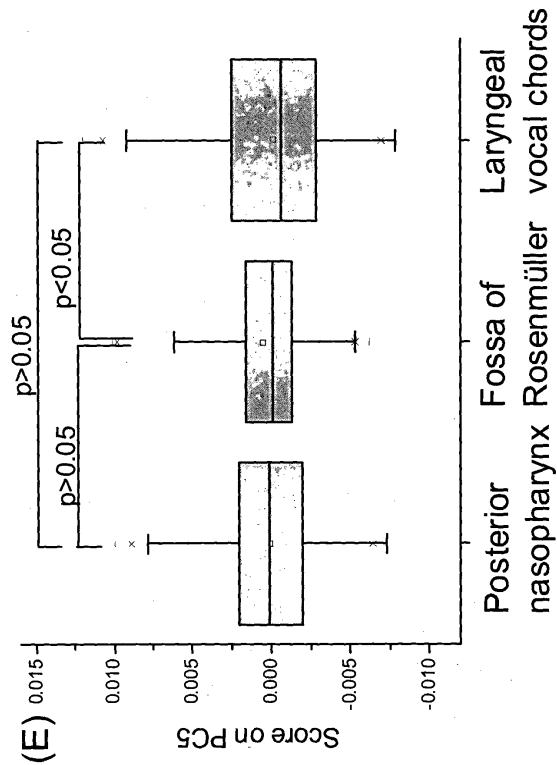
도면39c



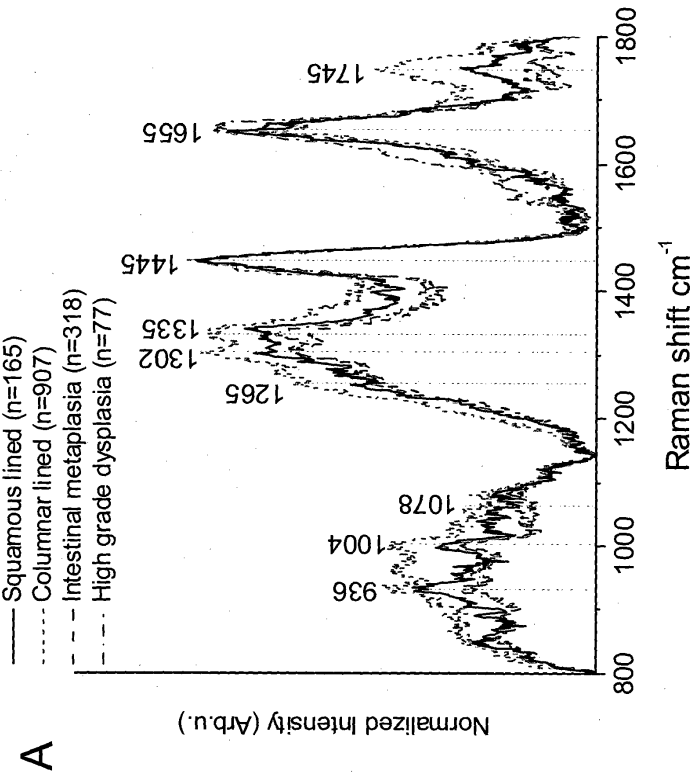
도면39d



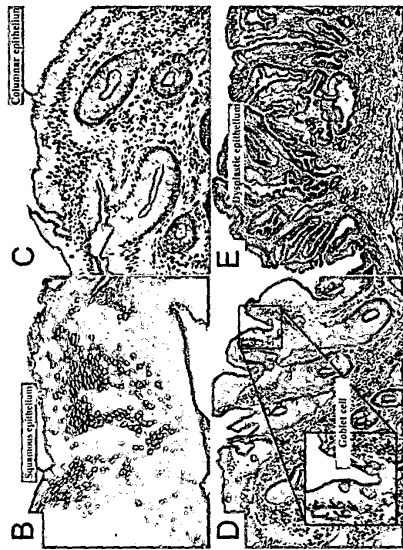
도면39e



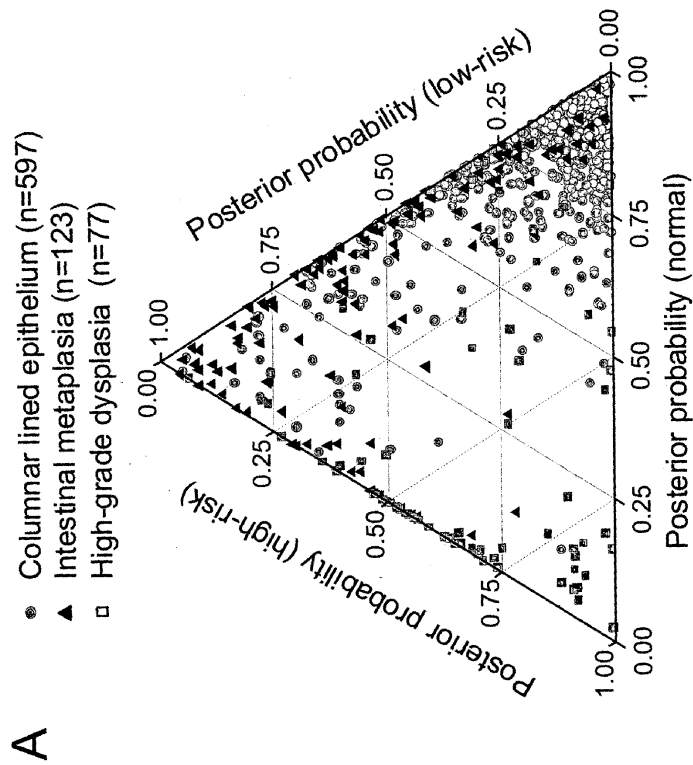
도면40a



도면40b



도면41



도면41b

