

近红外光谱技术用于无创生化检验研究的进展

丁海泉^{1,2}, 卢启鹏^{1*}, 彭忠琦¹, 陈星旦¹

1. 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所应用光学国家重点实验室, 吉林 长春 130033
2. 中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要 20世纪90年代初,近红外光谱技术在人体无创生化检验方面的潜力逐渐获得重视。然而,人体是一个极其复杂多变的检测对象,因此虽然各研究小组在实验模拟和离体分析方面取得了一定成果,但在临床应用上始终没有实质性突破。文章讨论了目前阻碍近红外光谱技术实现临床意义上的人体无创生化检验的关键问题,即信号微弱、组织背景干扰、血流容积变化问题。将国际上现有的近红外无创生化检验研究工作的思路按照分析方法大致归为两类,即经典近红外分析法和扣除组织背景干扰分析法。详细介绍了这两类研究思路各自的研究现状,并认为在现有条件下第二类思路更有希望取得临床可以应用的结果。

关键词 近红外光谱分析;无创生化检验;血糖;血脂

中图分类号: O657.3; O433.4 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2010)08-2107-04

引言

糖尿病、心脑血管病是最常见的慢性疾病,严重威胁人类健康。根据世界卫生组织的统计,截止2005年,全世界已有1.8亿人患有糖尿病,预计到2030年这一数字将增至3.66亿。如今,中国社会人口老龄化逐年加剧,随着人们生活水平的日益提高,血糖、血脂异常患者的发病率也呈逐年上升趋势。

控制这类疾病最好的办法是做到早发现、早预防、早治疗,这就要求患者经常要对血糖、血脂等指标进行检测。目前血糖、血脂的常规检测方法是从小体抽取少量血液样本进行生化分析,属于有创或微创检测,需要使用化学试剂,无法实现连续实时监测。此外,频繁的采血化验成本相对较高,给病人增加不必要的痛苦和经济负担,也容易造成一些血液体液传染病的传播。因此,人体生化指标的低成本无创检验一直是医学科学工作者们追寻的目标。

近红外光谱分析技术以其分析快速、无试剂、无损伤、多组分同时测量等优点,已广泛应用于农业、食品、石油化工、制药等领域^[1-5]。在1991年的第4届国际近红外光谱学会议上,Norris发表了“近红外在医学上的可能应用”^[6],引起国内外近红外光谱工作者的广泛关注。全世界数十个研究

小组投入此项研究中,研制出多种仪器,发表了大量的论文和专利,也取得了一些可喜的成果,但在临床实际应用方面却一直没有获得突破性进展。

国际上近红外无创生化检验研究工作的思路多种多样,从分析方法上大致可归结为两类:一类是采用经典的近红外测量方法,即利用近红外光谱仪器直接检测人体近红外光谱(既包含血液也包含皮肤、肌肉、骨骼等组织背景的光谱),再运用各种技术手段从复杂的光谱信号中解析出血液成分含量信息;另一类思路是利用某种方法,先将人体组织强背景干扰扣除掉,得到血液的光谱,再进行下一步分析。本文详细讨论这两类思路的研究现状及发展前景,认为在现有条件下第二类思路更有希望取得临床可以应用的结果。

1 经典近红外测量分析法

由于血糖无创检测的社会需求极为广泛,大多数论文和专利都集中在血糖无创检测上。十多年来,人们对全血、血清及生物分子水溶液进行了大量测量实验,对定标模型进行了多方面的研究,也考察了人体组织不同部位及测量条件等对无创检测的影响。

1.1 实验模拟和离体分析

Heise小组^[7]模拟人体血浆,用近红外光谱分析了溶液

收稿日期: 2009-09-08, 修订日期: 2009-12-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(60878052), 国家自然科学基金重点项目(60938002)和应用光学国家重点实验室开放基金项目(09Q13FQ090)资助

作者简介: 丁海泉, 1982年生, 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所博士研究生 e-mail: haiquan_ding@163.com

*通讯联系人 e-mail: luqipeng@126.com

中血糖含量, 选取波段 $6\ 800 \sim 5\ 460\ \text{cm}^{-1}$ 和 $4\ 750 \sim 4\ 200\ \text{cm}^{-1}$, 定标方法采用偏最小二乘法 (PLS), 预测标准差 (SEP) $16\ \text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ 。该小组也对人体真实血浆溶液进行了分析, 选取波段 $5\ 000 \sim 4\ 000\ \text{cm}^{-1}$, 同样采用 PLS 算法, SEP 为 $23\ \text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ 。

Saptari 等^[8]设计了机械调谐滤光片分光测量系统, 系统的信噪比可以达到 10^5 量级, 认为这大约是成功进行无创血糖测试对信噪比的最低要求。选取光谱范围 $2\ 180 \sim 2\ 312\ \text{nm}$, 利用经典最小二乘算法分析模拟人体血浆溶液 (包括葡萄糖、牛血清蛋白、甘油乙酸酯、乳酸盐、尿素等成分) 中葡萄糖含量。改变乳酸盐、甘油乙酸酯、牛血清蛋白和尿素浓度, 对模拟溶液中葡萄糖含量进行测试, SEP 为 $0.45\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (注: 葡萄糖 $1\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} = 18\ \text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$)。

Arnold 小组^[9]用 Nexus 670 傅里叶变换近红外光谱仪, 在第一倍频波段 ($1\ 550 \sim 1\ 850\ \text{nm}$) 和合频波段 ($2\ 000 \sim 2\ 500\ \text{nm}$) 测定葡萄糖和尿素、甘油三酯、乳酸等生物分子的水溶液的摩尔吸收率, 得到合频波段吸收率较第一倍频波段大 $4 \sim 5$ 倍。并对第一倍频和合频波段进行独立分析, 样品厚度分别选择 7.5 和 $1.5\ \text{mm}$ 。由合频建立的模型结果较第一倍频好, 特别是对于葡萄糖和尿素。由第一倍频和合频建立葡萄糖模型的 SEP 分别是 1.12 和 $0.45\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 尿素的 SEP 是 7.33 和 $0.10\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。他们由此得出结论, 合频波段比第一倍频波段更适用于生化分析。

Maruo 等^[10]设计了平场光栅分光、光纤耦合测量系统。采用 $150\ \text{W}$ 卤钨灯光源, 256 象元 InGaAs 阵列探测器。3 h 内测量系统 100% 线吸光度噪声为 $50\ \mu\text{AU}$ (AU 为吸光度单位)。为了得到血糖定标模型, 他们进行大量模拟光在皮肤组织中传播的仿真, 获得模拟近红外漫反射光谱。利用 PLS 算法在 $1430 \sim 1\ 730\ \text{nm}$ 波长范围建模, 分析葡萄糖的 SEP 为 $12.3\ \text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ 。

陈华才等^[11]应用 Bruker IFS 28/N 傅里叶光谱仪, 结合 PLS 算法建立入血清中 7 种生化成分的定标模型。分别对入血清中总胆固醇、甘油三酯、总蛋白、白蛋白、载脂蛋白 B、低密度脂蛋白胆固醇、葡萄糖成分进行分析, 相关系数 (R^2) 分别为 $0.90, 0.96, 0.92, 0.76, 0.88, 0.52, 0.91$, 交叉检验标准差 (RMSECV) 分别为 $15, 21.6, 2.66, 3.96, 0.091, 16.2, 0.49\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2 无创分析

Heise 小组^[7]采用口腔内壁静脉作为样本, 利用漫反射方式测量, 预测血糖含量最低 SEP 为 $2.1\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。认为利用近红外光谱进行无创血糖监测有很大的发展潜力, 但仍然有一些问题尚待解决。

Burmeister 小组^[12]在第一倍频 $6\ 500 \sim 5\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 区域内采用透射方式对人体舌头进行了近红外光谱测量, 分析葡萄糖的 SEP 为 $3.4\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Samann 等^[13]曾致力于葡萄糖定标模型的长期稳定性研究, 在实验初期获得 10 名糖尿病患者皮肤的漫反射近红外光谱, 采用交叉检验法建立模型, 在半年内持续跟踪记录糖尿病人血糖水平和人体光谱变化。研究开始阶段的几个月内, 糖尿病人血糖含量的 RMSECV 值在 $1 \sim 3\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之

间。随着研究的进行, SEP 逐渐增大, 研究持续半年后, 血糖 RMSECV 增加到 $4 \sim 6\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Maruo 等^[14]一天内分别对血糖正常的受试者和血糖水平需要严格控制的重症监护组 (ICU) 患者进行测量。其中健康受试者采用口服葡萄糖耐量测试 (OGTT) 试验, ICU 患者遵医嘱服用营养液, 通过大量的实验建立定标模型。整个实验期间测量探头与皮肤位置保持不变。对健康人的血糖预测结果 R^2 为 0.71 , SEP 为 $28.7\ \text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ 。对 ICU 患者血糖预测 R^2 为 0.97 , SEP 为 $27.2\ \text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ 。

陈文亮等^[15]构建了声光可调谐滤波器 (AOTF) 分光近红外无创血糖检测系统, 利用该系统在一天内对 3 例志愿者进行 OGTT 试验。采用 PLS 算法对单一个体进行建模分析, R^2 分别为 $0.98, 0.97, 0.98$, RMSECV 为 $0.55, 0.46, 0.52\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。然而由于人体生理背景变化干扰, 不同天所做的实验结果相关性较差, 第一天数据建模预测其余天血糖值 SEP 大于 $10\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[16]。

张洪艳等在一天内对 6 名不同年龄健康志愿受试者做 OGTT 试验, 采用 Nexus 870 傅里叶变换近红外光谱仪记录受试者手腕处的近红外漫反射光谱。利用 PLS 方法在含有葡萄糖吸收峰的 $7\ 500 \sim 8\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 区间分别对同一个体、相同年龄段的不同个体、以及不同年龄段的不同个体建立了校正模型。同一个体建模的近红外分析值与真实值间的 R^2 在 0.94 左右, SEP $0.8\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。然而多个个体建模的结果要远比同一个体建模结果差。

从以上研究结果来看, 按照人体血浆成分配备的溶液进行近红外光谱分析都得到了比较满意的结果, 然而真正对人体进行无创分析的试验结果却与临床应用可接受的精度差距甚大。

不少学者对受试者进行 OGTT 试验后再对单一个体血糖定标模型进行研究, 在受试当天获得了较好的分析结果。但是, OGTT 是在其他生化指标保持不变的情况下单独改变血糖含量, 使受试者血糖值短期得到大幅度提升, 以此建立定标模型。这种只改变单一成分建立的模型是不可靠的, 尤其是对于人体这种复杂的分析对象, 一旦其他生化指标改变, 以前建立的模型很可能将不再适用。

另外, 较好的无创实验结果都是在特定实验条件下得到的, 即光谱数据均为短期 (一天内) 由被测试者同一部位测得。更换采样部位后由于组织背景发生改变, 分析结果必然会有所不同。即使采用传感器在每次测量时对采样部位进行精确定位, 但随着时间的推移 (以天为单位), 受试者饮食及新陈代谢引起皮肤、肌肉等组织背景理化参数漂移对测量结果会造成影响。

1.3 关键问题

近红外无创生化检验发展到现在近 20 年, 尽管国内外研究学者撰写了大量相关论文, 但至今仍没有获得能够满足临床应用精度的实验结果。于是有些学者开始动摇, 认为在现有的技术条件下利用近红外光谱来进行无创生化检验几乎是不可能实现的, 其中有些人甚至已经放弃了这项研究。根据以往的研究可以认为, 阻碍近红外光谱技术实现临床意义上的人体无创生化检验的原因主要包括以下几个方面。

(1) 信号微弱。水对近红外光的吸收十分严重, 血液中 90% 以上的成分是水, 而葡萄糖、胆固醇、甘油三酯等成分的含量都很低。而且人体组织如皮肤、肌肉、血管都是很强的近红外吸收体, 可以用于分析的信息被淹没在这些很强的背景中。若要精确检测生化成分的变化信息, 需要信噪比非常高的仪器。

(2) 背景干扰。不同个体之间或同一个体不同部位的皮肤、肌肉等组织背景成分不同。这就意味着, 即使血液成分含量完全一样, 采用经典近红外方法对不同个体或同一个体的不同部位进行测量得到的光谱也可能存在较大差异, 提取深埋在人体近红外光谱中的血液信息难度很大。

(3) 血流容积变化。人体是一个非常复杂的分析对象, 由于心脏搏动、血液循环等生理现象的存在, 引起血流容积随之波动, 这种波动导致人体近红外光谱中吸光度改变对测量结果的影响相当明显, 表现为光谱时域上的不稳定。

其中, 信号微弱问题解决相对容易一些。可以尝试优化光学系统和改进电子学系统, 通过进一步提高信噪比来提升仪器探测微弱信号的能力。而背景干扰引起的个体、位置差异问题和血流容积改变引起的光谱时域不稳定问题采用经典近红外方法似乎很难解决。

2 扣除组织背景干扰分析法

微血管血液容积随着心脏搏动呈脉动性变化, 在医学上称为血流容积脉搏波。Hertzman^[17]早在 1937 年就用电方法记录了人体手指、脚趾的血流容积脉搏波, 称为 PPG (photo-plethysmography)。目前, PPG 已成为医学上评价心血管功能的重要手段之一。对 PPG 进行时频分析、仿真等, 可用于多种心血管异常疾病的临床诊断。1974 年 Mendelson 利用 PPG 测量血氧浓度创造了“脉搏血氧计”, 目前在医学界广泛使用并被认为是革命性的概念, 很好地克服了过去非脉冲血氧测量的许多问题^[18]。近年已有人应用脉搏血氧计原理测量血红蛋白^[19]。国内也对此方法给予重视。

Yamakoshi 等^[20]借鉴脉搏测血氧原理研制出了“脉搏血糖计”。他们用 150 W 卤素灯光源、液氮致冷 InGaAs 阵列探测器和光谱分辨率好于 8 nm 的分光器组成测试系统, 吸光度噪声约为 30 μ AU。获得人体手指的血液透射光谱。对 27 名受试者进行 OGTT 试验, 在 80 ~ 220 $\text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ 血糖范围内, 测得 SEP 为 22 $\text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ 。实验虽只是初步的, 而且系统的吸光度噪声还较大, 其所得结果已和目前国际上应用经

典测量方法的水平相当。

李刚等提出了与该原理类似的“动态光谱”方法, 即“各个单波长对应的单个光电脉搏波周期上吸光度的最大值与最小值的差值构成的光谱”。他们认为利用动态光谱法原理上可以抑制个体差异和测量条件对检测结果的影响, 从而提高血液成分无创检测的精度。

陈星旦^[21]深入分析了近红外光谱无创生化检验的可能性, 认为人体皮肤、肌肉等组织背景和血液成分含量长期而言是变化的, 但在几秒钟的短时间里几乎是不变的。提出可以利用血流容积随时间变化而人体组织背景和血液成分含量短期不变这一特点, 将任意两个不同时间点测得的光谱相减, 扣除人体组织的强背景干扰, 在无创条件下获得人体血液近红外光谱。由于两幅光谱是在人体的同一个位置测得, 根据朗伯—比尔定律, 相减中自然扣除了人体组织背景的干扰, 提取出只表征容积改变的那部分血液成分信息的有效光谱; 由于每幅光谱是在一个时间点测得, 也就不存在血流容积变化带来的人体光谱时域不稳定性。这种处理方法为“血流容积差光谱相减法”。

徐可欣等^[22]从另一个角度出发, 提出“浮动基准”检测方法, 即“基于光强对血糖浓度变化不敏感和灵敏度最大的两个检测距离作为基准点和测量点同时测量”。认为基准点光谱信号与血糖浓度的变化无关, 但包含生理变化信息。测量点光谱信号包含最大血糖浓度变化信息和生理变化信息。将基准点和测量点获取的信息进行差分, 有可能降低人体生理背景噪声对测量的影响, 提高血糖测量的精度。

3 结 论

近红外光谱分析方法用于无创生化检验的研究已历时近 20 年。其间投入了大量的人力物力资源, 在分析人体血浆模拟溶液、离体分析、单体建模方面获得了一些成果。但由于采用经典的直接测量办法难以消除组织背景干扰和血流容积改变对测量结果造成的影响, 致使该项研究没有取得根本性突破, 至今无法临床应用。认识到这一点后, 人们开始探索新的解决办法, 如提出了“脉搏血糖计”、“动态光谱法”、“血流容积差光谱相减法”、“浮动基准”等研究方案。这些方法理论上能够抑制或扣除背景干扰和人体血流容积变化造成的影响, 如果继续深入研究并在现有的基础上加以改进, 很有希望能够提高血糖血脂等生化指标的无创检测精度, 最终达到临床应用的要求。

参 考 文 献

- [1] Williams P, Norris K. Second Edition, American Association of Cereal Chemists, Inc., 2001.
- [2] DING Hai-quan, LU Qi-peng, PIAO Ren-guan, et al (丁海泉, 卢启鹏, 朴仁官, 等). Optics and Precision Engineering (光学精密工程), 2007, 15(12): 1946.
- [3] CAO Pu, PAN Tao, CHEN Xing-dan (曹 璞, 潘 涛, 陈星旦). Optics and Precision Engineering (光学精密工程), 2007, 15(12): 1952.
- [4] ZHANG Jun, CHEN Xing-dan, PIAO Ren-guan, et al (张 军, 陈星旦, 朴仁官, 等). Optics and Precision Engineering (光学精密工程), 2008, 16(6): 986.

- [5] LU Wan-zhen(陆婉珍). Modern Near Infrared Spectroscopy Analytical Technology (Second Edition) (现代近红外光谱分析技术, 第 2 版). Beijing: China Petrochemical Press(北京: 中国石化出版社), 2007. 306.
- [6] NORRIS K. Edited by Murray I & Cowe I A. U K: Ian Michael Publication, 1992. 596.
- [7] Heise H M. Handbook of Vibrational Spectroscopy, Edited by John M. Chalmers. John Wiley & Sons, LTD, 2002. 3280.
- [8] Saptari V, Youcef-Toumi K. Applied Optics, 2004, 43(13): 2680.
- [9] Chen J, Arnold M A, Small G W. Analytical Chemistry, 2004, 76(18): 5405.
- [10] Maruo K, Oota T, Tsurugi M, et al. Applied Spectroscopy, 2006, 60(4): 441.
- [11] CHEN Huar-cai, YANG Zhong-guo, CHEN Xing-dan, et al(陈华才, 杨仲国, 陈星旦, 等). Chinese Journal of Analysis Laboratory(分析实验室), 2005, 24(7): 17.
- [12] Burmeister J J, Arnold M A. Clinical Chemistry, 1999, 45(9): 1621.
- [13] Samann A. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes, 2000, 108: 406.
- [14] Maruo K, Oota T, Tsurugi M, et al. Applied Spectroscopy, 2006, 60(12): 1423.
- [15] CHEN Wen-liang, CUI Hou-xin, LIU Rong, et al(陈文亮, 崔厚欣, 刘蓉, 等). Journal of Biomedical Engineering(生物医学工程学杂志), 2004, 21(5): 824.
- [16] CHEN Wen-liang, YANG Yue, XU Ke-xin, et al(陈文亮, 杨越, 徐可欣, 等). Nanotechnology and Precision Engineering(纳米技术与精密工程), 2007, 5(4): 298.
- [17] Hertzman A. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1937, 37: 529.
- [18] Mendelson Y. Clinical Chemistry, 1992, 38(9): 1601.
- [19] Jeon K. Journal of Biomedical Optics, 2002, 7(1): 45.
- [20] Yamakoshi K, Yamakoshi Y. Journal of Biomedical Optics, 2006, 11(5): 054028.
- [21] CHEN Xing-dan(陈星旦). Optics and Precision Engineering(光学精密工程), 2008, 16(5): 759.
- [22] LIU Rong, XU Ke-xin, CHEN Wen-liang, et al(刘蓉, 徐可欣, 陈文亮, 等). Science in China Series G: Physics, Mechanics, Astronomy(中国科学 G 辑: 物理学力学天文学), 2007, 37: 124.

Progress in Noninvasive Biochemical Examination by Near Infrared Spectroscopy

DING Hai-quan^{1,2}, LU Qi-peng^{1*}, PENG Zhong-qi¹, CHEN Xing-dan¹

1. State Key Laboratory of Applied Optics, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China
2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract In the early nineties of last century, great importance had been gradually attached to the potential of near-infrared spectroscopy (NIRS) in the human body noninvasive biochemical examination. However, the human body is extremely complex. Although research teams have made some achievements in experimental simulations and in-vitro analysis, there is still no substantive breakthrough in clinical application now. The present paper discusses the key problems which prevent NIRS from achieving human noninvasive clinical biochemical examination, such as weak signal, the interference of human tissue background and the problem of blood volume change. The thoughts of noninvasive biomedical examination using NIRS are divided into two categories in terms of analytical method, that is classical near-infrared analysis and issue background interference elimination analysis. This paper also introduces in detail the current status of the two categories in the world, and believes that the second category is more promising to be successful in clinical application under the existing conditions.

Keywords Near infrared spectroscopy; Noninvasive biochemical examination; Blood glucose; Blood lipids

* Corresponding author

(Received Sep. 8, 2009; accepted Dec. 12, 2009)