

# 组织固有荧光光谱复原算法及其在糖尿病 筛查中的应用研究

张洋<sup>1,2</sup>, 倪敬书<sup>1</sup>, 张元志<sup>1\*</sup>, 方朝晖<sup>3</sup>, 王贻坤<sup>1,2</sup>, 刘勇<sup>1</sup>

<sup>1</sup>中国科学院合肥物质科学研究院应用技术研究所, 安徽省生物医学光学仪器工程技术研究中心, 安徽 合肥 230031;

<sup>2</sup>皖江新兴产业技术发展中心, 安徽 铜陵 244000;

<sup>3</sup>安徽中医药大学第一附属医院, 安徽 合肥 230031

**摘要** 通过设计不同光学参数的组织仿体, 研究吸收、散射对组织荧光光谱及组织漫反射光谱的影响规律, 优化经验复原算法, 以校正吸收、散射的影响, 获得组织的固有荧光光谱。结果显示: 使用优化的经验复原算法(经验参数  $k_x$  和  $k_m$  分别为 0.9 和 -0.8)能够有效降低吸收、散射对荧光强度的影响, 且荧光强度与荧光成分的浓度线性相关。在基于皮肤组织荧光光谱法筛查糖尿病的应用研究中应用上述光谱复原算法, 结果显示: 与原始荧光光谱相比, 采用复原后的固有荧光光谱进行糖尿病筛查时, 受试者工作特征(ROC)曲线覆盖面积由 0.54 增加至 0.81, 在特异性同为 70.6% 时, 敏感性由 38.6% 增至 77.6%。采用组织仿体优化生物组织固有荧光光谱经验复原算法能有效提高荧光光谱的临床应用价值。

**关键词** 医用光学; 生物组织荧光; 组织仿体; 光谱复原; 漫反射光谱

中图分类号 R318.5

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201845.0707001

## Tissue Intrinsic Fluorescence Spectrum Recovery Algorithm and Its Application in Diabetes Screening

Zhang Yang<sup>1,2</sup>, Ni Jingshu<sup>1</sup>, Zhang Yuanzhi<sup>1</sup>, Fang Zhaohui<sup>3</sup>, Wang Yikun<sup>1,2</sup>, Liu Yong<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Applied Technology, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Anhui Provincial Engineering Technology Research Center for Biomedical Optical Instrument, Institute of Applied Technology, Hefei, Anhui 230031, China;*

<sup>2</sup>*Wan Jiang New Industry Technology Development Center, Tongling, Anhui 244000, China;*

<sup>3</sup>*The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230031, China*

**Abstract** Tissue phantoms with different optical parameters are designed to study the influence of absorption and scattering on tissue fluorescence and diffuse reflection spectra. An empirical recovery algorithm is optimized to correct the influence of absorption and scattering and obtain the intrinsic fluorescence spectrum of tissues. The results reveal that the empirical recovery algorithm (experience parameters  $k_x$  and  $k_m$  are 0.9 and -0.8, respectively) can effectively reduce the influence of absorption and scattering on the fluorescence intensity, and the fluorescence intensity is linearly correlated with the concentration of fluorescence components. When we apply spectral recovery algorithm to the screening of diabetes based on skin tissue fluorescence spectrum, the results reveal that, comparing to the fluorescence spectrum before recovery, the area under receiver operating characteristic

收稿日期: 2018-01-31; 收到修改稿日期: 2018-03-02

基金项目: 国家中医临床研究基地业务建设第二批科研专项课题(2015D05)、安徽省科技重大专项计划(15CZZ02019)、中国科学院国际合作局对外合作重点项目“一带一路”专项(116134KYSB20170018)

作者简介: 张洋(1989—), 男, 硕士研究生, 主要从事生物医学光学中组织荧光光谱复原及分类算法等方面的研究。

E-mail: yangz@aiofm.ac.cn

导师简介: 刘勇(1969—), 男, 博士, 研究员, 主要从事生物医学光子学、检测技术与自动化等方面的研究。

E-mail: liuyong@aiofm.ac.cn

\* 通信联系人。E-mail: yzzhang@aiofm.ac.cn

(ROC) curve increases from 0.54 to 0.81; besides, the sensitivity also increases from 38.6% to 77.6% when the specificity is 70.6%. Therefore, this study makes a major contribution to research on clinical application by optimizing fluorescence spectrum empirical recovery algorithm with tissue phantoms.

**Key words** biotechnology; tissue fluorescence spectrum; tissue phantom; spectrum recovery; diffuse reflection spectrum

**OCIS codes** 170.6280; 170.6510; 290.1990; 170.7050

## 1 引 言

生物组织荧光光谱技术具有无创、实时、原位等特点,对组织内部微环境高度敏感,在疾病检测方面具有广阔的应用前景。组织荧光光谱可用于区分正常组织和癌变组织,并被成功用于前列腺癌<sup>[1]</sup>、口腔肿瘤<sup>[2]</sup>、肺癌<sup>[3]</sup>、乳腺癌<sup>[4]</sup>、皮肤肿瘤<sup>[5]</sup>等疾病的检测。皮肤组织属于典型的混浊介质,其中非均匀地分布着许多吸收和散射物质,会对入射到组织中的激发光和受激发产生的荧光造成双重影响,进而导致实际测量的荧光光谱并不能真实地反映组织的荧光特性。因此,在实际使用时,需要结合相应的光谱复原算法,从原始荧光光谱中提取组织的固有荧光光谱<sup>[6]</sup>。

针对如何从原始荧光光谱中复原出更能反映组织荧光特性的固有荧光光谱这一研究课题,科研人员提出了诸多解决方案,主要有基于经验技术<sup>[7]</sup>、光传输理论<sup>[8]</sup>和蒙特卡罗模拟<sup>[9]</sup>这三种光谱复原方法。其中,基于经验技术的光谱复原方法利用原始组织荧光光谱减去或者除以相同位置处测得的组织漫反射光来实现,因方法简便而广泛应用于临床。Chen等<sup>[10]</sup>和 Stamatias等<sup>[11]</sup>使用原始荧光光谱除以发射波段的反射光来复原固有荧光光谱,并分别用于肿瘤的检测和上皮层中水杨酸的检测。Hull等<sup>[12]</sup>提出使用原始荧光光谱除以发射波段和激发波段的反射光来复原组织荧光。文献<sup>[13-16]</sup>中分别利用该方法开展基于组织荧光光谱法的糖尿病及其并发症的检测评估,采用370 nm激发光源照射人体手臂内侧皮肤,收集荧光及漫反射光谱,通过检测糖基化终产物的积累水平来筛查糖尿病并评估并发症的风险。此类方法通常会涉及若干经验参数的选取,需要收集临床数据进行优化,从而导致复原效果依赖于临床样本的特征。

近年来,通过组织仿体来优化光谱复原算法的研究取得了一定进展<sup>[17-18]</sup>。本文介绍了一种基于组织激发和发射波段漫反射光谱的生物组织固有荧光光谱复原算法,通过制备具有和皮肤组织吸收系数、散射系数接近的组织仿体,测量了具有不同光学参

数的组织仿体的原始荧光和漫反射光,并利用非线性最小二乘算法选取光谱复原算法所涉及的经验参数。在此基础上,开展了基于皮肤荧光光谱法筛查糖尿病的临床应用研究,进一步验证了基于组织仿体优化荧光光谱复原算法所涉及的经验参数的有效性。

## 2 原理和方法

### 2.1 组织仿体

#### 2.1.1 组织仿体的制备流程

本研究中的皮肤组织仿体主要由荧光基团(还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸,简称 NADH,百灵威)、吸收剂(血红蛋白,简称 Hb,百灵威)和散射剂(聚乙烯微球,Polystyrene, Aladdin)按照不同比例制作而成,仿体的光学特性与皮肤较为接近。根据琼脂等物质的特性,仿体的主要制作流程为:1)取0.02 g琼脂(Baygene)置于10 mL离心管中,分别加入适量的纯水;2)涡旋振荡混匀,用封口膜将离心管封口,置于水浴锅内,水浴锅温度控制在90℃左右;3)琼脂融化后,加入特定浓度的荧光物质 NADH及不同浓度的血红蛋白、聚乙烯微球,涡旋振荡混匀;4)混匀后置于超声装置中去除气泡,超声处理后小气泡浮出表面,用移液枪吸掉小气泡,将剩余液体倒入3 cm培养皿中,等待凝固;5)凝固完成后测量每个仿体的荧光光谱和不同波段的漫反射光谱。

#### 2.1.2 组织仿体的光学参数

本研究采用单层仿体模型模拟人体皮肤组织。仿体基质选用无荧光特性的琼脂(折射率  $n = 1.35$ ),吸收剂选用生物相容性良好的血红蛋白,散射剂采用尺寸和浓度可控的聚乙烯微球(微球直径  $d = 0.342 \mu\text{m}$ ,折射率  $n = 1.59$ ),荧光成分选用组织中较为常见的 NADH,其激发波长为350~420 nm,发射波长覆盖420~600 nm。如表1所示:组织仿体中吸收剂的质量浓度分别设置为0.5, 1, 1.5 mg/mL;散射剂的质量浓度分别设置为0.02, 0.04, 0.06 mg/mL;荧光剂的质量浓度分别设置为0.06, 0.12, 0.24, 0.48, 0.96, 1.92 mg/mL,形成  $3 \times 3 \times 6$  阶参数矩阵。此外,在各荧光成分质量浓度下

增加一个无吸收、无散射特性的阳性对照,共计得到60组仿体。

表1 单层组织仿体的组成

Table 1 Composition of single-layer phantom

Phantom number	Mass concentration / (mg·mL <sup>-1</sup> )		
	NADH	Hb	Polystyrene
1	X	0.5	0.02
2	X	1.0	0.02
3	X	1.5	0.02
4	X	0.5	0.04
5	X	1.0	0.04
6	X	1.5	0.04
7	X	0.5	0.06
8	X	1.0	0.06
9	X	1.5	0.06
10	X	0	0

Note: X represents the NADH concentration, such as 0.06, 0.12, 0.24, 0.48, 0.96, 1.92 mg/mL.

在确定皮肤组织仿体中吸收剂、散射剂的浓度后,根据朗伯-比尔定律及血红蛋白的摩尔消光系数可以计算组织仿体的吸收系数;采用米散射理论计算组织仿体的散射系数,得到 NADH 典型激发/发射波长下组织的吸收系数和散射系数,结果如表 2 所示。

## 2.2 测量系统设计

### 2.2.1 光与皮肤组织的相互作用

皮肤组织会对入射光产生吸收作用,吸收作用主要源于血红蛋白与黑色素,皮肤组织的吸收系数可由

朗伯-比尔定律计算。皮肤组织中非均匀地分布着许多散射颗粒,会对入射到皮肤组织的光造成不同程度的散射,散射系数可以通过米散射理论描述。

表2 NADH 典型激发/发射波长下组织的吸收系数  $\mu_a$  散射系数  $\mu_s$

Table 2 Absorption coefficient  $\mu_a$  and scattering coefficient  $\mu_s$  at typical excitation and emission wavelengths of NADH

Excitation wavelength of 370 nm		Emission wavelength of 480 nm	
$\mu_a/cm^{-1}$	$\mu_s/cm^{-1}$	$\mu_a/cm^{-1}$	$\mu_s/cm^{-1}$
25	108	2.6	92
50	217	5.2	185
75	326	7.8	277

入射到组织中的光束,一部分直接被组织表面反射,另一部分进入组织,折射后依次进入表皮和真皮,被组织散射与吸收,未被吸收的散射光最后会重新返回组织表面,而后进入空气中,这一部分散射光称为漫反射光。漫反射光携带了组织内部结构的信息,其出射光谱取决于组织对光的吸收、散射以及组织的物理状态,可用于组织荧光光谱复原<sup>[19]</sup>。图 1 为组织荧光光谱和漫反射光谱测量示意图,其中: $\mu_{a,x}$ 为组织激发波段吸收系数; $\mu_{s,x}$ 为组织激发波段散射系数; $\mu_{a,m}$ 为组织发射波段吸收系数; $\mu_{s,m}$ 为组织发射波段散射系数; $c$ 为荧光物质浓度; $I(\lambda)$ 为入射光光谱,激发光中心波长为 370 nm,宽带光源用来计算漫反射率; $S_f(\lambda)$ 为荧光光谱; $R(\lambda)$ 为漫反射光光谱。

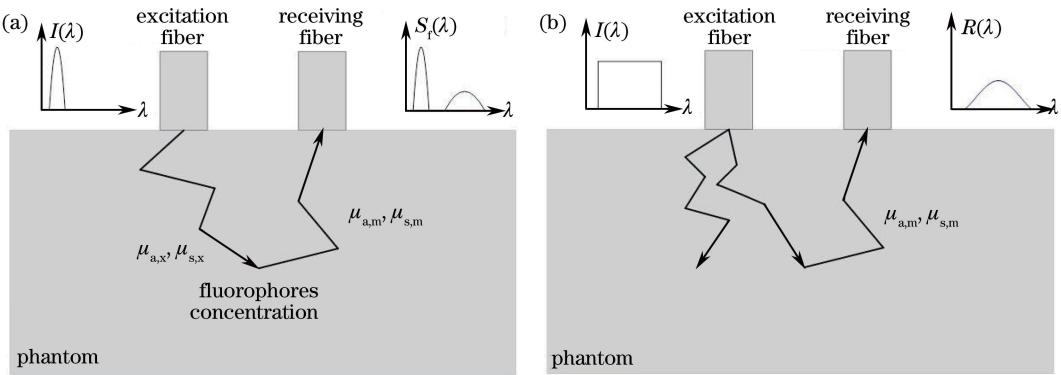


图1 测量组织荧光光谱与漫反射光谱示意图。(a)荧光光谱;(b)漫反射光谱

Fig. 1 Schematics for measuring fluorescence and diffuse reflection spectra of tissue.

(a) Fluorescence spectrum; (b) diffuse reflection spectrum

### 2.2.2 光谱测量系统

为了得到仿体及人体皮肤组织的荧光光谱和漫反射光谱,搭建如图 2 所示的光谱测量系统,详细内容可参照课题组前期论文<sup>[20-21]</sup>。

图 2 所示的光谱测量系统主要包含光源、传输光路、探测单元、信号分析和处理等模块。光源包括

激发光源和宽带光源,分别用于激发荧光光谱和漫反射光谱。根据需要,本系统采用近紫外发光二极管(LED)作为激发光源,采用多 LED 阵列组成宽带光源,光谱范围覆盖激发及发射全波段。传输光路由 3×1 型光纤束构成,分别连接激发光源、宽带光源、探测单元及待测样本表面。采用微型光谱仪作

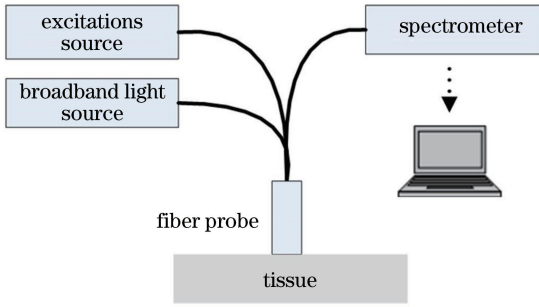


图 2 光谱测量系统示意图

Fig. 2 Schematic of spectrum detection system

为探测单元。采用搭载特定软件程序的计算机对光谱测量过程进行控制,并对信号进行处理及显示结果。

### 3 结果与讨论

采用搭建的组织荧光光谱测量系统测量组织仿体的荧光光谱、激发波段反射光光谱以及发射波段反射光光谱,结果如图 3 所示。结果显示:血红蛋白含量固定时,组织仿体荧光光谱的强度随聚乙烯微球浓度升高而升高;聚乙烯微球浓度固定时,荧光光谱强度随血红蛋白浓度升高而降低;激发波段反射光光谱随聚乙烯微球或血红蛋白浓度升高均呈现降低的趋势;发射波段反射光光谱随聚乙烯微球或血红蛋白浓度升高均呈现降低的趋势。此外,当荧光成分的质量浓度为 0.06, 0.12, 0.24, 0.48, 0.96, 1.92 mg/mL 时,光谱测量结果与上述一致。

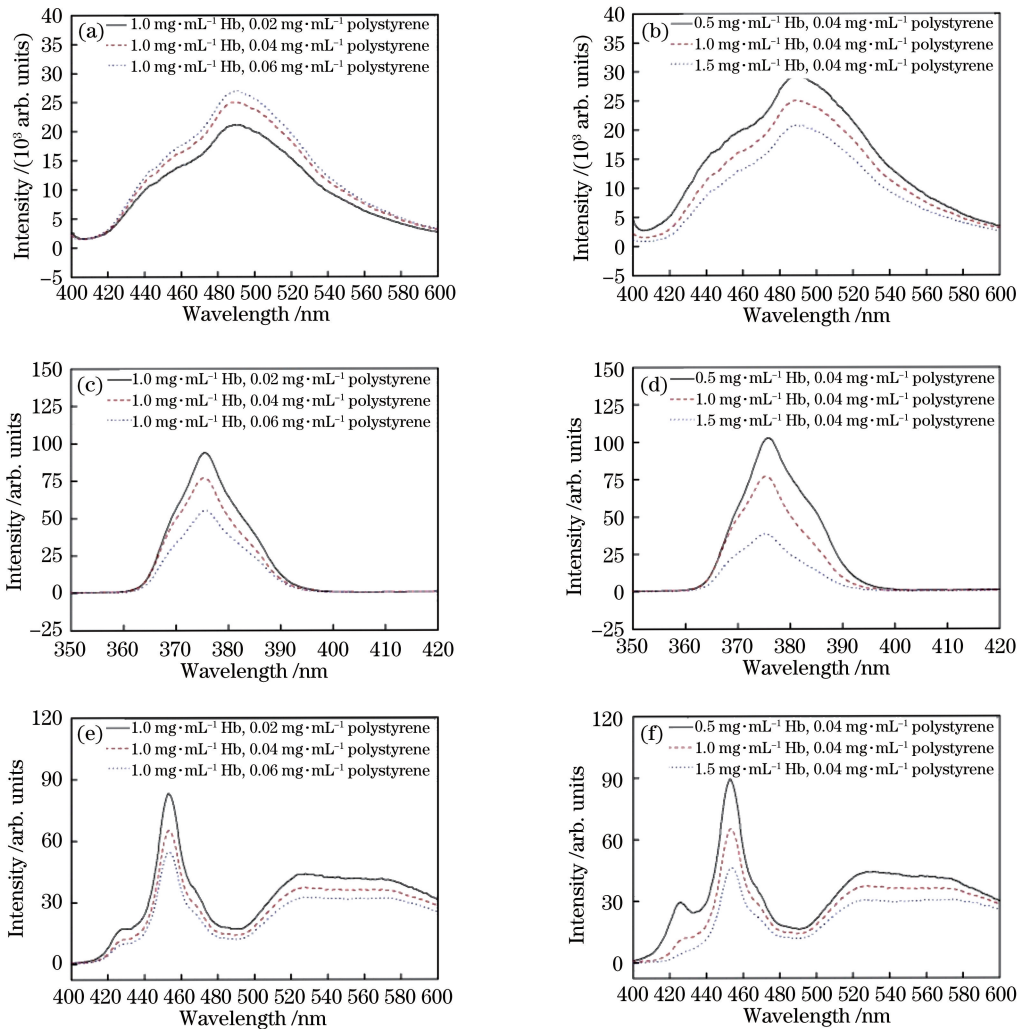


图 3 不同浓度血红蛋白、聚乙烯微球配制的组织仿体的光谱(NADH 浓度为 0.96 mg/mL)。

(a)~(b) 荧光光谱; (c)~(d) 激发波段的漫反射光谱; (e)~(f) 发射波段的漫反射光谱

Fig. 3 Spectra of phantom sets with 0.96 mg/mL NADH and varying concentrations of Hb and polystyrene.

(a)-(b) Fluorescence spectra; (c)-(d) diffuse reflection spectra of fluorescence excitation band; (e)-(f) diffuse reflection spectra of fluorescence emission band

根据组织仿体各光谱强度随吸收特性和散射特性的变化,拟定光谱复原模型为<sup>[7]</sup>

$$f(\lambda_m) = \frac{S_f(\lambda_m)}{R_{\lambda_x}^k R(\lambda_m)^{k_m}}, \quad (1)$$

式中: $f(\lambda_m)$ 为组织固有的荧光光谱; $S_f(\lambda_m)$ 为测量系统检测的原始荧光光谱; $R_{\lambda_x}$ 为激发波段反射光; $R(\lambda_m)$ 为发射波段反射光; $k_x$ 、 $k_m$ 为相关经验参数,其取值受到测量系统光路结构等因素的影响,且直接影响到组织荧光光谱的复原效果,因此在实际应用过程中需事先对其进行优化。

理论上,在荧光成分的种类确定后,组织仿体的固有荧光光谱仅与荧光成分的浓度相关。为此,对参数  $k_x$ 、 $k_m$  进行优化时,可以在选定荧光成分浓度下以最小化的荧光光谱变异系数为决策目标,不断改变参数取值,直到达到最佳结果。在本研究中,得

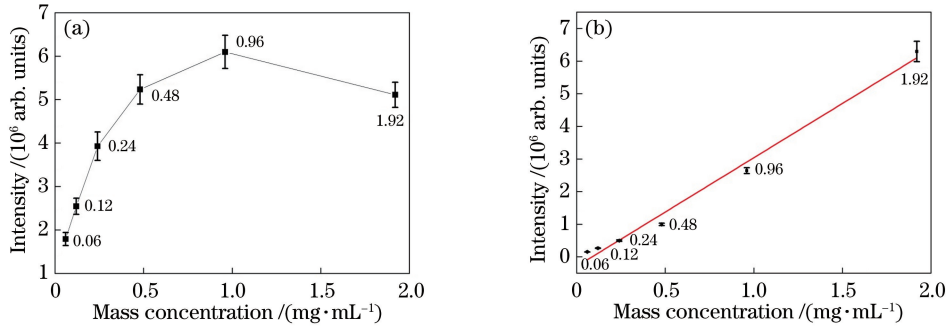


图 4 (a)仿体原始荧光光谱及(b)复原荧光光谱与 NADH 质量浓度的关系

Fig. 4 Relationship between the (a) phantom raw fluorescence or (b) fluorescence spectrum after recovery and mass concentration of NADH

本研究在安徽中医药大学第一附属医院、安徽医科大学第一附属医院、安徽省立医院征集了 327 例受试者,其中男性 143 人,女性 184 人,平均年龄为  $(47.5 \pm 17.0)$  岁,平均身高为  $(164.2 \pm 7.8)$  cm,平均体重为  $(63.7 \pm 11.42)$  kg,平均体质指数(BMI)为  $(23.6 \pm 3.7)$   $\text{kg}/\text{m}^2$ 。对所有受试者进行皮肤组织荧光光谱的采集及口服葡萄糖耐量试验(OGTT),依据 OGTT 后 2 h 血糖值(2 h PG)将受试者分为糖尿病患者组(DM 组)和非糖尿病受试者组(NDM 组)。在本研究中,若受试者 2 h PG 不低于 11.1 mmol/L,则判定其为糖尿病患者;否则,判定其为非糖尿病受试者。327 例受试者中非糖尿病受试者有 119 例,糖尿病患者有 208 例。采用搭建的组织荧光光谱测量系统采集受试者皮肤组织的荧光光谱、激发波段漫反射光谱以及发射波段漫反射光谱。经过暗背景扣除、光谱平滑、插值等预处理后,利用前述固有荧光光谱复原算法进行光谱复原;得到

到 6 组参数后取对应均值即可计算出最终的复原参数,此时  $k_x = 0.9$ ,  $k_m = -0.8$ 。将该参数代入(1)式,对 60 组仿体荧光光谱进行复原实验,分析复原前后荧光光谱积分强度的变异系数、光谱强度与荧光成分浓度的相关性,结果如图 4 所示。图 4(a)为原始荧光光谱分布,在荧光成分质量浓度较低时,荧光强度随荧光剂质量浓度升高而线性增加,当质量浓度高于 0.96 mg/mL 后,荧光光强随浓度增加而降低,质量浓度为 1.92 mg/mL 时的荧光强度甚至低于 0.96 mg/mL 时的荧光强度。除此之外,在各荧光成分浓度下,荧光强度变异系数在 15%~20%之间。图 4(b)为复原后的组织荧光光谱与荧光成分质量浓度之间的关系,图中荧光强度与 NADH 浓度线性相关,相关系数  $R^2$  为 0.987。此外,各荧光成分浓度下荧光强度变异系数在 5%左右。

组织的固有荧光光谱后,对 400~600 nm 波段范围内的荧光进行积分求和,获得积分值。分别采用原始荧光和校正后的荧光积分值对该类人群进行糖尿病筛查,如图 5 所示,采用校正的荧光积分值筛查糖尿病的受试者工作特征(ROC)曲线下方的面积  $S$  为 0.81,高于原始荧光的 0.54,在特异性均为 70.6%时,组织固有荧光光谱的敏感性为 77.6%,高于原始光谱的 38.6%。我国现已成为全球糖尿病患者最多的国家,近期的调查结果显示,我国糖尿病患病率已达 10.9%。目前,临床上常用空腹血糖作为大规模筛查工具,但研究表明空腹血糖筛查糖尿病的漏诊率高达 30%~50%<sup>[22-23]</sup>。而 OGTT 由于操作复杂且重复性较差,在大规模筛查应用上存在限制。本研究结果显示,固有荧光光谱法用于糖尿病的筛查时,敏感性为 77.6%,具有较高的检出率。该方法具有无创、快速等特点,有望成为新的糖尿病筛查工具之一,因此开展更大规模的临床应用试验具有重要意义。

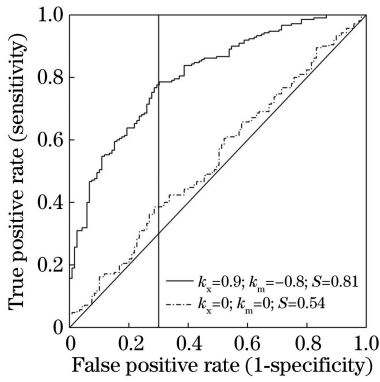


图 5 校正光谱( $k_x = 0.9, k_m = -0.8$ )及原始光谱( $k_x = 0, k_m = 0$ )筛查糖尿病的 ROC 曲线

Fig. 5 ROC curves of correction spectrum ( $k_x = 0.9, k_m = -0.8$ ) and original spectrum ( $k_x = 0, k_m = 0$ ) for diabetes screening

## 4 结 论

通过制备梯度浓度的吸收、散射以及荧光物质成分的组织仿体,研究组织荧光光谱、激发波段反射光谱、发射波段反射光谱的变化规律,进而发展了一种组织荧光光谱复原算法。研究表明,该算法能够有效降低组织吸收特性、散射特性对荧光光谱的干扰,提高荧光积分强度与荧光物质浓度的线性关系。通过征集糖尿病患者及对照人群,使用搭建的组织光谱测量系统测量受试者皮肤组织的荧光光谱和漫反射光谱,进行在体实验验证。结果显示,经过优化的固有荧光光谱复原算法能有效提高组织荧光光谱的临床应用价值。

### 参 考 文 献

[1] Pestova K, Koch A J, Quesenberry C P, *et al.* Identification of fluorescence *in situ* hybridization assay markers for prediction of disease progression in prostate cancer patients on active surveillance [J/OL]. BMC Cancer, 2018, 18. <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-017-3910-4>.

[2] Andrade S A, Pratavieira S, Ribeiro M M, *et al.* Oral cancer from the perspective of wide-field optical fluorescence: diagnosis, tumor evolution and post-treatment follow up [J]. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2017, 19: 239-242.

[3] Spliethoff J W, Evers D J, Klomp H M, *et al.* Improved identification of peripheral lung tumors by using diffuse reflectance and fluorescence spectroscopy[J]. Lung Cancer, 2013, 80(2): 165-171.

[4] Shalaby N, Al-Ebraheem A, Le D, *et al.* Time-resolved fluorescence (TRF) and diffuse reflectance spectroscopy (DRS) for margin analysis in breast cancer[J]. Lasers in Surgery and Medicine, 2018, 50(3): 236-245.

[5] Lim L, Nichols B, Migden M R, *et al.* Clinical study of noninvasive *in vivo* melanoma and nonmelanoma skin cancers using multimodal spectral diagnosis[J]. Journal of Biomedical Optics, 2014, 19(11): 117003.

[6] Meena B L, Singh P, Sah A N, *et al.* Intrinsic fluorescence for cervical precancer detection using polarized light based in-house fabricated portable device[J]. Journal of Biomedical Optics, 2018, 23(1): 1-7.

[7] Zhang Y Z, Liu Y, Hou H Y, *et al.* Intrinsic tissue fluorescence spectrum recovery based on particle swarm optimization algorithm[J]. Chinese Journal of Lasers, 2016, 43(5): 0504001.  
张元志, 刘勇, 侯华毅, 等. 基于粒子群优化算法的生物组织固有荧光光谱复原方法 [J]. 中国激光, 2016, 43(5): 0504001.

[8] Liu Y, Zhang Y Z, Hou H Y, *et al.* Tissue intrinsic fluorescence spectrum recovering based on diffusion theory [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2016, 36(12): 3836-3841.  
刘勇, 张元志, 侯华毅, 等. 基于扩散理论的生物组织固有荧光光谱复原方法研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2016, 36(12): 3836-3841.

[9] Luo Z, Deng Y, Wang K, *et al.* Decoupled fluorescence Monte Carlo model for direct computation of fluorescence in turbid media [J]. Journal of Biomedical Optics, 2015, 20(2): 025002.

[10] Chen X, Xie H, Xu Z, *et al.* Correction of tissue autofluorescence by reflectance spectrum [C]. Proceedings of SPIE, 2002, 4916: 441-444.

[11] Stamatias G N, Wu J, Kollias N, Non-invasive method for quantitative evaluation of exogenous compound deposition on skin [J]. Journal of Investigative Dermatology, 2002, 118(2): 295-302.

[12] Hull E, Ediger M, Unione A, *et al.* Noninvasive, optical detection of diabetes: model studies with porcine skin [J]. Optics Express, 2004, 12(19): 4496-4510.

[13] Da Moura Semedo C, Webb M, Waller H, *et al.* Skin autofluorescence, a non-invasive marker of advanced glycation end products: clinical relevance and limitations [J]. Postgraduate Medical Journal, 2017, 93(1099): 289-294.

[14] Yamanaka M, Matsumura T, Ohno R, *et al.* Non-invasive measurement of skin autofluorescence to

- evaluate diabetic complications[J]. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2016, 58(2): 135-140.
- [15] Sorensen C J, Hastings M K, Lang C E, *et al.* Relationship of shoulder activity and skin intrinsic fluorescence with low level shoulder pain and disability in people with type 2 diabetes[J]. *Journal of Diabetes and its Complications*, 2017, 31(6): 983-987.
- [16] Mohan V, Rani C S, Regin B S, *et al.* Noninvasive type 2 diabetes screening: clinical evaluation of SCOUT DS in an Asian Indian cohort[J]. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 2013, 15(1): 39-45.
- [17] Nivetha K B, Sujatha N. Development of thin skin mimicking bilayer solid tissue phantoms for optical spectroscopic studies[J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(7): 3198-3212.
- [18] Anastasopoulou M, Koch M, Gorpas D, *et al.* Comprehensive phantom for interventional fluorescence molecular imaging [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2016, 21(9): 091309.
- [19] Jacques S L. Optical properties of biological tissues: a review[J]. *Physics in Medicine & Biology*, 2013, 58(11): R37-61.
- [20] Zhang Y, Zhu L, Wang Y, *et al.* Classification of skin autofluorescence spectrum using support vector machine in type 2 diabetes screening [J]. *Journal of Innovation in Optical Health Science*, 2013, 6(4): 1350036.
- [21] Wang Y K, Zhu L, Zhang L, *et al.* A portable system for noninvasive assessment of advanced glycation end-products using skin fluorescence and reflectance spectrum [J]. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2012, 79(3): 431-436.
- [22] Xu K. Analysis of the clinical value on fasting plasma glucose, 2 h postprandial plasma glucose and glycosylated hemoglobin in the diagnostic of diabetes mellitus[J]. *China Modern Medicine*, 2014, 21(13): 75-77.  
徐珂. 空腹血糖、餐后 2 h 血糖、糖化血红蛋白检测在糖尿病诊断中的临床价值分析[J]. *中国当代医药*, 2014, 21(13): 75-77.
- [23] Wang L, Gao P, Zhang M, *et al.* Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013 [J]. *The Journal of the American Medical Association*, 2017, 317(24): 2515-2523.