

太赫兹辐照细胞生物学效应研究进展

谢鹏飞, 刘旭东, 孙怡雯*

深圳大学医学部生物医学工程学院, 医学超声关键技术国家-地方联合工程实验室,
广东省生物医学信息检测与超声成像重点实验室, 广东 深圳 518060

摘要 从成纤维细胞、上皮细胞、神经细胞、干细胞、淋巴细胞及生殖细胞几种常见的细胞系入手, 详细阐述了太赫兹辐射对不同细胞的功能、蛋白表达及基因毒性等的影响。围绕辐照条件和响应机制, 基于现有的细胞学研究成果, 提出了针对太赫兹生物学研究及具体应用的建议。随着太赫兹理论在生物医学领域的不断发展和成熟, 太赫兹技术必将对开创新型诊疗技术具有重要的意义。

关键词 太赫兹技术; 辐照; 细胞学效应; 非热效应

中图分类号 O439

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201946.0614013

Inspiration for Terahertz Radiation Induced Biological Effects on Cells

Xie Pengfei, Liu Xudong, Sun Yiwen*

National-Regional Key Technology Engineering Laboratory for Medical Ultrasound, Guangdong Key Laboratory for Biomedical Measurements and Ultrasound Imaging, Department of Biomedical Engineering, School of Medicine, Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong 518060, China

Abstract Starting with a few common cell lines including fibroblasts, epithelial cells, nerve cells, stem cells, lymphocytes, and germ cells, we describe the effects of terahertz radiation on the function, protein expression, and genotoxicity of different cells in detail. Around irradiation conditions and response mechanisms, some suggestions on the terahertz biology research and specific applications are put forward based on existing cytology research results. With the development and maturity of the terahertz theory in the field of biomedicine, the terahertz technology will certainly be of significance to pioneer new diagnosis technologies.

Key words terahertz technology; radiation; cytological effect; non-thermal effect

OCIS codes 300.6495; 350.5610; 170.1530

1 引言

太赫兹辐射是近年来新兴的一种远红外相干辐射, 太赫兹 (THz) 波跨越远红外和毫米波段, 是宏观电子学向微观光子学过渡的重要区域, 其频率范围定义为 $0.1 \sim 10$ THz^[1], 或更狭义的 $0.3 \sim 3$ THz^[2]。太赫兹辐射作为一种重要的频段资源, 正在成为不同领域关注的研究热点^[3-5]。由于太赫兹光子的能量低至几毫电子伏, 其影响生物体的机制与高能电磁辐射 (紫外线、X 射线、 γ 射线) 对生物体非可逆的破坏机制有根本不同。虽然目前对太赫兹辐射影响

生物分子 (DNA、蛋白质) 功能的机制尚不完全明晰^[6-7], 但传统理论表明, 太赫兹辐射由于其低能及非电离辐射的特点, 不会对生物体造成损伤, 因此具有无损调控生物体功能的潜力^[8-12]。

尽管如此, 人类对太赫兹辐射下的生物安全性问题从未放松警惕。早在 2000 年, 欧盟设立了一项名为“太赫兹-桥 (THz-BRIDGE)”的国际联合项目, 掀起了研究太赫兹生物效应的热潮^[13]。THz-BRIDGE 的全称为“THz radiation in Biological Research, Investigation on Diagnostics and study of potential Genotoxic Effects”, 旨在评估与太赫兹

收稿日期: 2019-01-29; 修回日期: 2019-03-04; 录用日期: 2019-04-01

基金项目: 国家自然科学基金 (61575125, 6181101530)、广东省高层次人才特殊支持计划 (2015TQ01R453)、广东省高校优秀青年教师培养计划 (YQ2015141)

* E-mail: ywsun@szu.edu.cn

辐射相关的生物风险及潜在的基因(遗传)毒性。基因是细胞内遗传信息的物质载体,蛋白质是基因功能的主要体现者,而要理解基因毒性或蛋白表达对生命活动的意义,必须将对它们的研究提升并整合在细胞水平进行。近几年,有很多关于太赫兹辐照生物效应的综述文章,从作用对象的不同尺度进行报道^[14-24],但很少总结不同细胞类型的太赫兹辐照效果。本文从成纤维细胞、上皮细胞、神经细胞、干细胞、淋巴细胞及生殖细胞几种常见的细胞系入手,详细归纳了多细胞生物体不同种细胞在太赫兹辐照下细胞功能、蛋白表达及基因毒性等受到的影响,以研究数据对诊断学的意义为依据,期望给相关科研人员一些启发。

2 太赫兹辐照生物效应原理

2.1 热效应

水是生命活动中不可缺少的一部分,水也是太赫兹频段主要的发色团。水分子间氢键的拉伸和弯曲振动模式都在太赫兹频域内,这些振动模型促使水对太赫兹波产生强烈的吸收^[25]。太赫兹辐射和其他电磁辐射一样在生物体中遵循电磁波的传播定律。由于水分含量较高,生物介质对太赫兹辐射具有很强的吸收能力,并将吸收的辐射能转化成热能^[26]。如果没有光化学及相变过程,这会直接导致物体温度的上升。因此高功率太赫兹辐射更可能使生物材料产生热效应。

2.2 非热效应

早在 20 世纪 70 年代,科学家已经提出了非热效应原理^[27]。他们认为太赫兹场与生物系统相互作用的过程中存在共振和非共振激发;共振作用涉及到对太赫兹光子能量有响应的低频激发,包括分子转动、晶格振动、自由载流子加速等^[28-30];而能量远大于太赫兹光子能量的激发,如碰撞电离,则被归类为非共振激发^[31]。太赫兹非热效应主要由太赫兹辐射所导致的生物键剧烈振荡并最终断裂而产生。

生物系统的太赫兹非热效应一直都是一个充满争议的话题。由于太赫兹辐射的能量尺度在氢键范围内,长期以来绝大多数人们一直认为这种非电离电磁场可以通过非线性共振作用对细胞和生物分子产生重大影响^[27, 32-33]。另据报道称,太赫兹辐射主要和生物分子中的氢键相互作用^[34-35],引起低频分子内振动从而导致蛋白质构象改变^[36]。目前也有理论模型表明,太赫兹辐射可以通过非线性共振机

制直接与生物分子相互作用(耦合)诱导相干激发^[29,37]以产生非热效应。

到目前为止,由于技术水平的限制,还没有完全证明太赫兹诱导的生物学响应来自热效应或非热效应,主要判别方式是利用红外摄像机和热电偶探测样品温度是否上升。以该方法为判据,在以下调研的文献中,提出太赫兹与细胞相互作用来自热效应的文献占比为 14%,来自非热效应的文献占比为 67%,另外 19%文献没有提及作用原因(图 1)。我们对每种细胞系适用的太赫兹生物学效应机制进行总结。

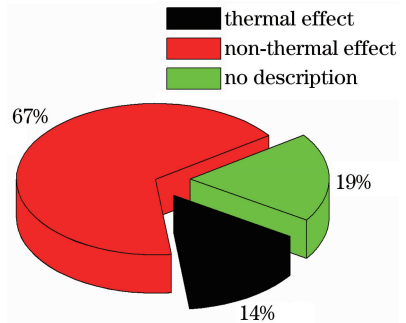


图 1 太赫兹辐照生物学效应占比

Fig. 1 Proportion of different terahertz radiation induced bio-effects

3 太赫兹辐照细胞学效应

3.1 成纤维细胞

人成纤维细胞是一种用于研究人体各种器官(包括皮肤、肺、膀胱和生殖系统)伤口愈合、毒理学、癌症或基本细胞生物学的理想细胞系统。考虑到人类皮肤是太赫兹辐照的最直接作用对象,首先总结了近年来太赫兹辐照对人真皮成纤维细胞的相关细胞学效应。

2010 年美国空气动力学实验室 Wilmink 等^[38]研究了正常成人真皮成纤维细胞(HDF)在光泵气体太赫兹激光器(OPTL)辐射(频率 2.52 THz,功率 84.8 mW·cm⁻²,辐照时间 5~80 min)下的生物学反应。对正常成人皮肤成纤维细胞辐照 4 h 后,采用定量聚合酶链式反应(PCR)评价蛋白质和 DNA 损伤通路相关基因的转录激活情况,并在辐照 24 h 后使用 MTT 比色法(一种检测细胞存活和生长的金标准)测定细胞活性。在所有的曝光组中(5, 10, 20, 40, 80 min),超过 95%的细胞在辐照后仍然存活,而热休克蛋白(HSP)表达仅轻微增加约 3.5 倍。红外摄像机和热电偶的热计量数据表明,辐照过程中细胞温度约升高 3 °C。尽管经过太赫兹辐照后的细胞表现出热休克蛋白表达的增加,但增加的

幅度与高温对照组中观察到的结果相当。此外,在基因毒性实验中也没有发现 DNA 修复基因转录水平的上调。这些结果表明,该辐射源并不会对人真皮成纤维细胞产生细胞学影响,而 HSP 表达的轻微增加似乎主要是光热效应所致。

为了进一步确定高功率太赫兹辐射源下是否也能得到同样的细胞学结论,同年 Wilmink 等^[39]又将人真皮成纤维细胞和 Jurkat 细胞系两种人源细胞株暴露在 OPTL 高功率($227 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$)太赫兹辐射下。结果显示,具有贴壁性质的人真皮成纤维

细胞的少数特定基因被上调(n 为微阵列中所占数量),如图 2 所示。此外,Jurkat 悬浮细胞(一种广泛用于研究信号传导的趋化因子受体)在太赫兹辐照 12 s 后即出现死亡迹象,并在辐照 40 min 时死亡率接近 80%。由此可知,高功率太赫兹辐照可能诱导细胞死亡,且该过程通过炎性细胞因子坏死和凋亡过程介导。由于实验过程中的细胞仅仅是一液相薄层,辐照过程有可能导致细胞脱水干燥。因此,细胞致死原因是否还与干燥机制有关,是未来还需进一步研究的问题。

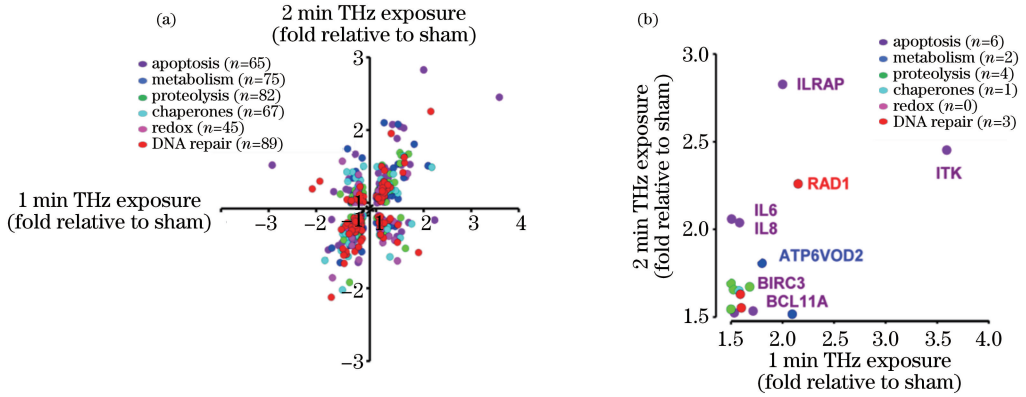


图 2 暴露于太赫兹辐射下的人真皮成纤维细胞微阵列数据(fold relative to sham 为对照组的表达量)^[39]。(a) 1 min 和 2 min 太赫兹辐照成纤维细胞基因表达图;(b) 不同基因表达扩增差异(DNA-脱氧核糖核酸,IL-白细胞介素,RAD-RAD1 细胞周期检查点 DNA 核酸外切酶,ITK-诱导性 T 细胞激酶,ILRAP-白细胞介素受体辅助蛋白,BIRC3-杆状病毒 IAP 重复序列 3,BCL11A-B 细胞 CLL/淋巴瘤 11A,ATP6VOD2-液泡 ATP 合成酶亚基 d2)

Fig. 2 Microarray data for dermal fibroblasts exposed to terahertz radiation^[39]. (a) Gene expression plot for fibroblasts exposed to 1 min and 2 min THz irradiations; (b) amplification of genes differentially expressed in both samples (DNA-deoxyribonucleic acid, IL-interleukin, RAD-RAD1 checkpoint DNA exonuclease, ITK-inducible T-cell kinase, ILRAP-interleukin receptor accessory protein, BIRC3-baculoviral IAP repeat-containing 3, BCL11A-B cell CLL/lymphoma 11A, ATP6VOD2-vacuolar ATP synthase subunit d2)

2015 年 Ameicis 等^[40]采用紧凑型自由电子激光器(Compact-FEL)作为辐射源,研究了离体人胎儿包皮成纤维细胞(ECACC)在低频太赫兹(0.1~0.15 THz)辐射下潜在的基因毒性和细胞毒性。辐射源以毫瓦级的低平均功率入射细胞,以避免热效应产生。通过彗星实验、H2AX 组蛋白磷酸化和端粒长度调节的评估,结果并没有发现辐照诱导的 DNA 损伤、诱导细胞凋亡及促存活信号蛋白的变化。但是通过抗着丝粒抗体间接免疫荧光染色(CREST)分析发现细胞的微核总数和着丝粒阳性微核诱导总数增加,这表明太赫兹辐射可能会引发基因非整倍性效应而不是破碎性效应,即对基因表达的影响极可能是由辐照所致染色体丢失或增加,而不是断裂和重排引起。此外,通过超微结构分析,可以观察到太赫兹辐照后的细胞肌动蛋白聚合增加,这证实了纺锤体蛋白的异常聚集可能导致所观察到的染色体

数目异常的假说(图 3,其中 e 表示太赫兹波, B 表示磁场, E 表示电场)。

2018 年,意大利陆军医疗中心 Franchini 等^[41]基于 Ameicis 等的实验结果,提出将人类胎儿暴露于太赫兹辐照下为小概率事件,研究重点应着眼于太赫兹辐射对成人真皮成纤维细胞的影响。该研究同样采用紧凑型自由电子激光器,评估了太赫兹辐射(频率 0.1~0.15 THz,平均功率 $0.4 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$,曝光时间 20 min)对人成纤维细胞基因完整性、细胞周期、细胞学超微结构和蛋白表达方面的影响。着丝点阴性微核率(一种评估细胞遗传毒性的指标)、H2AX 组蛋白磷酸化和端粒长度变化结果显示,太赫兹辐射并没有引起细胞 DNA 损伤,也没有检测到与 DNA 损伤和修复相关的蛋白表达的变化。此外,由着丝粒阳性微核频率和染色体非分离增加所表明的非整倍体诱导结论,也与 Ameicis 等的实验结果吻合。

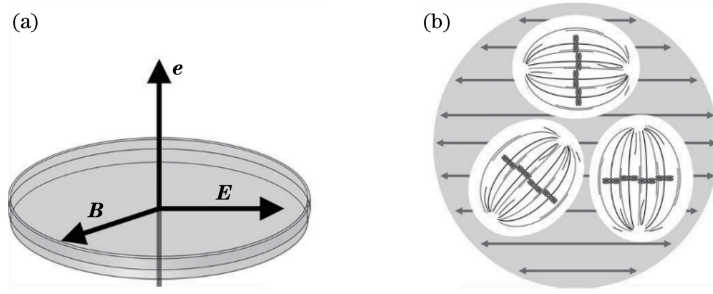


图3 太赫兹辐射与有丝分裂纺锤体的相互作用^[40]。(a) 辐照培养皿中的场；
(b) 电场中随机分布的细胞(当细胞中纺锤体微管方向与电场方向垂直时,电场对微管的影响最大)

Fig. 3 Interaction of THz radiation and mitotic spindle^[40]. (a) Fields in the irradiated petri dish; (b) randomly orientated cells in the electric field (the effect of the field on spindle microtubules is maximum if they are perpendicular)

更多研究结果表明^[42-46],太赫兹辐照皮肤细胞的细胞学特性与辐射频率相关性不大^[47],主要与辐射功率相关。低功率太赫兹辐射对细胞 DNA 转录修复、蛋白表达和细胞增殖活性几乎无影响,高功率辐照则会引起 DNA 损伤、特定基因转录水平上调,并激活细胞内炎性细胞因子。其中,由非热效应机制引起的生物学影响占 64%,热效应占 18%。从正面意义考虑,太赫兹诱导的细胞周期性调控和与肿瘤抑制相关的几种蛋白水平的增加,证明 DNA 损伤修复机制被激活,并有望将特定识别的基因用作评估高功率太赫兹辐照效应的生物标志物。

3.2 上皮细胞

除了生物体表皮的太赫兹辐射安全性评估外,眼睛暴露于太赫兹辐射下的生物学效应也是人们极为关注的课题。2016 年 Koyama 等^[48]使用频率 0.12 THz、功率 $5 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ 的太赫兹波辐照人角膜上皮细胞系(HCE-T,RIKEN Cell Bank,Ibaraki,日本)和人晶状体细胞系(RIKEN Cell Bank)24 h,并检测细胞的基因毒性、形态学变化和热应激蛋白表达。结果发现相对于对照组,细胞的微核频率没有出现显著增加。细胞形态学变化和热应激蛋白表达都没有发生改变,在曝光过程中温度升高小于 $0.2 \text{ }^\circ\text{C}$ 。这些结果表明,实验所用太赫兹辐射参数对人眼没有损害。

此外,Geyko 等^[49]研究了太赫兹辐射对机械致损角膜上皮化率的影响。他们采用频率为 $0.1 \sim 1.8 \text{ THz}$,功率分别为 $2.5, 26.0, 55.0, 60.8, 68.8 \text{ nW} \cdot \text{cm}^{-2}$ 的低强度脉冲太赫兹辐射对有破裂的活兔眼角膜辐照 5 min。研究发现,暴露于低强度太赫兹辐射下的兔角膜损伤后,在第一个小时内引发的上皮化的正效应比未照射的角膜高 10%。当太赫兹辐射功率提高到 60.8 nW 时,上皮化进程

减慢。因此,低强度太赫兹辐射不影响兔眼的正常生理功能,反而有利于角膜上皮细胞的再生上皮化过程。

本课题组也对小鼠脑微血管内皮细胞(bEnd.3,ATCC)曝光于太赫兹辐射(频率 $0.1 \sim 2 \text{ THz}$,平均功率 $\mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$ 量级,曝光时间 10,20,30 min)下的细胞形态学变化、细胞凋亡率、细胞周期进行了评估。结果发现,细胞显微膜形态几乎没有改变;辐照 12 h 内细胞凋亡率随辐照时间的增加而减小,但在 12 h 后出现促凋亡现象。细胞周期与凋亡结果呈相同趋势。在辐照过程中细胞温度增加 $0.7 \text{ }^\circ\text{C}$ 。由于脑微血管内皮细胞 bEnd.3 是血脑屏障的主要成分,对大脑内环境十分重要,因此该结果将有助于大脑药物递送、损伤阈值评估等研究。

从上述在体及离体人、兔、小鼠不同部位上皮细胞的研究可以看出,上皮细胞对太赫兹辐射表现出良好的耐受性、无毒性和无过敏性反应,组织学表明太赫兹辐照并不会引起病理学改变。同时,一定时间低功率的辐照甚至具有促进生物体生理功能的效果。

3.3 神经细胞

早在 2008 年,Ratushnyak 等^[50]就开始了相关研究,并报道了一种软体动物——静水椎实螺的神经元细胞在太赫兹辐射下的细胞学响应。实验结果发现,被分离的神经元细胞在高功率太赫兹自由电子激光器(平均功率 $30 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$)下辐照 1 min,细胞膜形态和膜电位都受到影响,在低功率($1 \sim 10 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$)辐照时细胞膜形态所受影响减弱,在功率为 $0.3 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ 时没有发现任何影响。由此表明太赫兹辐射对细胞的影响和辐照功率直接相关,并推测这些变化可能和单个神经元中分子的调节或结构变化有关。

2010年, Siegel等^[51]用60 GHz的毫米波(功率 $10\sim 50\text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$),在远低于现有安全暴露极限的吸收功率水平下,对大鼠离体神经细胞(H1299, Caltech Division of Biology)进行了实时检测。实验结果显示,短时间(1~2 min)的低功率密度水平($<1\text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$)毫米波辐照可引起大鼠神经细胞活性的显著变化,表现为细胞膜渗透性和纳米孔数量增加。利用敏感膜片钳对新生大鼠脑皮层锥体神经元的测量表明,当射频功率低于亚微瓦每平方米时,细胞膜通透性显著增强,该变化可导致神经元放电率的抑制或促进,以及上升、下降时间和膜电阻与射频功率密度的相关变化。虽然整体实验缺乏对每个样本高精度比吸收率(SAR)的分析数据,但毫米波辐射对神经细胞功能的非侵入性调节特性得到了证实,这种调节在抑制周围神经病理性疼痛、治疗中枢神经系统疾病等方面都具有潜在应用前景。

明确毫米波辐射对神经细胞既有刺激又有抑制的调节特性后,2012年 Tsurkan等^[9]研究了宽频带太赫兹辐射对感觉性神经节突起成长的影响。实验采用基于飞秒激光器激发InAs晶体的自主研发太赫兹系统,频率 $0.05\sim 2\text{ THz}$,功率 $0.5\sim$

$50\text{ }\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$,太赫兹辐射作用于10~12天大的鸡胚胎感觉神经节(Sinyavino Poultry, 俄罗斯)。使用面积指数(AI)评估神经节突起的生长,AI为周围生长区域的面积与中心区域面积(神经节体的初始面积)的比值。结果观察到当辐照功率为 $5\text{ }\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 和 $50\text{ }\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 时,对细胞生长没有影响,但当功率为 $0.5\text{ }\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 时,与对照组相比细胞AI增长了24%,这表明功率较低的太赫兹辐射对细胞生长具有刺激作用。在实验中,红外传感器温度测量观察到太赫兹辐照下样品的温度没有发生改变。

2015年, Vernier等^[12]从原理角度阐述了神经细胞电刺激的太赫兹响应机制。实验采用亚纳秒($<500\text{ ps}$)电脉冲刺激神经母细胞瘤-胶质瘤混合细胞(NG108, ATCC),结果发现电脉冲在细胞膜上会诱发神经元动作电位的改变并引起钙离子通道的瞬变。磷脂双分子层在电场中的互补分子动力学模拟证实,细胞膜内部的水偶极子对渗透性电势的响应小于 1 ps ,它们沿电场方向排列,并以太赫兹频率重新定向,以实现电场反转,如图4所示。这些模型为太赫兹频谱范围内生物膜渗透重组提供了一种可能的解释机制。

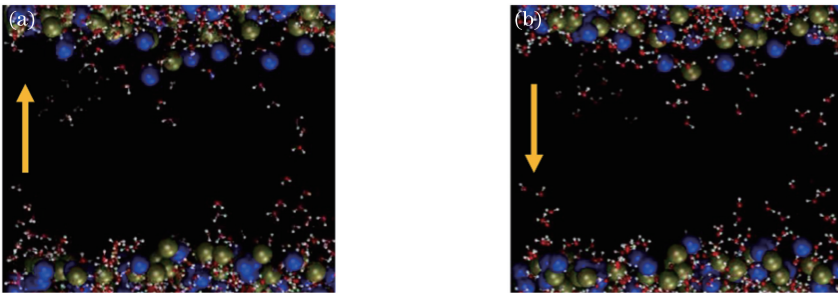


图4 磷脂双分子层内水分子偶极反转^[12]。(a)膜间每个桥接水分子的氧端朝向底部; (b)膜间每个桥接水分子的氧端朝向顶部

Fig. 4 Dipole reversal for water molecules in the phospholipid bilayer interior^[12]. (a) Oxygen end of each of the bridging water molecules in the middle of the membrane is positioned toward the bottom; (b) oxygen end of each of the bridging water molecules in the middle of the membrane is positioned toward the top

2017年, Borovkova等^[10]对太赫兹辐射大鼠神经胶质细胞株(Institute of Cytology of the Russia Academy of Sciences)的细胞毒性进行了研究。实验采用返波管(BWO)作为太赫兹辐照光源,频率为 $0.12\sim 0.18\text{ THz}$,平均功率密度为 $3.2\text{ }\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ (0.15 THz)。实验结果显示太赫兹波照射1 min后,凋亡细胞的相对数量增加1.5倍,辐照3 min后再增加1倍,如图5所示。在辐照过程中观察到温度变化不超过 $0.1\text{ }^\circ\text{C}$ 。

本课题组对小鼠视网膜神经节细胞(RGC-5, ATCC)在低功率脉冲太赫兹辐射下的生物学反应进行了研究。实验使用频率为 $0.1\sim 2.0\text{ THz}$ 、功率为 $\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 量级的太赫兹辐射光源,使视网膜神经节细胞分别曝光5, 10, 20, 30, 40 min,并在0.6, 12 h后检测细胞凋亡率变化。结果显示,曝光后细胞的凋亡率较对照组有明显下降。这表明低功率太赫兹辐射对小鼠视网膜神经节细胞在不利环境下($20.6\text{ }^\circ\text{C}$, 相对湿度5%)的凋亡率上升具有抑制作

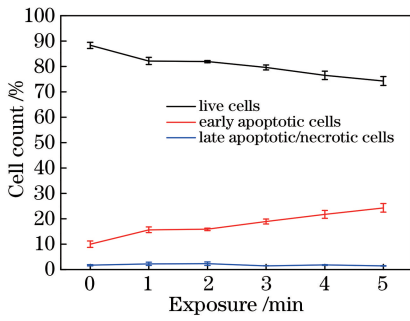


图 5 样品中活细胞及其在早、晚期凋亡率与太赫兹辐照时间的关系^[10]

Fig. 5 Number of live cells and cells at early and late stages of apoptosis in the sample versus the THz radiation exposure time^[10]

用(图 6)。

近几年,太赫兹成像技术在脑疾病相关研究中方兴未艾,开启了太赫兹技术在生物医学领域应用的新大陆。太赫兹技术在脑成像中的应用,要建立在太赫兹辐照对相关细胞的安全评估基础上,尤其是脑神经细胞。以上研究中,非热效应占 60%,其余均没有提及反应机制。现有数据证实,强太赫兹

辐射对神经细胞具有生物危害性,且太赫兹辐射具有剂量依赖性的细胞毒性效应。因此,在此基础上的诊断型应用必须受到辐射功率密度和照射时间的严格限制。

3.4 干细胞

干细胞是一类具有多向分化潜能和自我复制能力的原始未分化细胞,是形成哺乳类动物各组织器官的原始起源细胞,其重要性不言而喻。2010 年美国哈佛医学院 Bock 等^[52]使用宽频带平均功率为 $1 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ 、脉冲峰值功率为 $30 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的太赫兹波对小鼠干细胞(CA92011, ScienCell Research Laboratories)辐照 2, 4, 6, 9 h(图 7)。通过基因芯片检测发现,89%的小鼠干细胞蛋白质编码基因对太赫兹辐射没有反应,但 PPARG、脂连素、GLUT4 和 FABP4 基因被激活,LXR 基因被抑制。太赫兹辐射 6 h 后,细胞浆液中有大量脂质样滴出现,表明太赫兹辐射通过激活转录因子过氧化物酶体增殖激活受体 γ (PPARG),加速细胞向脂肪表型分化。通过红外探测器检测发现辐照组温度比对照组高 $0.5 \text{ }^\circ\text{F}$,几乎没有温度改变。

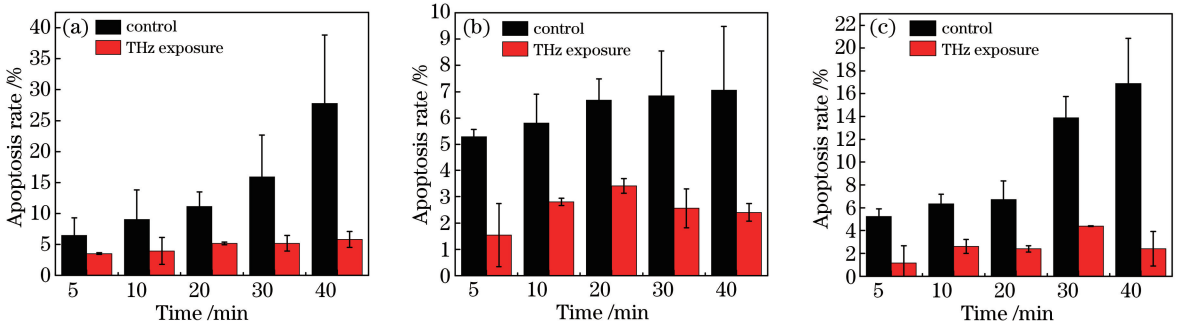


图 6 低功率太赫兹辐射停止后不同时间内小鼠视网膜神经节细胞的生物学反应。(a) 0 h;(b) 6 h;(c) 12 h

Fig. 6 Biological response of mouse retinal ganglion cells (a) 0 h, (b) 6 h, and (c) 12 h after stopping low power terahertz radiation

此后,2011 年 Alexandrov 等^[11]评估了小鼠间充质干细胞(CA92011, ScienCell Research Laboratories)在低功率太赫兹辐射下的细胞学反应。利用中心频率为 10 THz 的脉冲源和 2.52 THz 的连续源,分别辐照间充质干细胞 2 h 和 9 h,采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)技术对所选热基因转录活性的变化进行评估。通过光学显微镜没有发现可见的死亡细胞体,细胞膜形态也未受影响。热休克蛋白(HSP105、HSP90 和 CPR)的差异表达不受影响,但其他基因,例如脂连素、GLUT4 和 PPARG 的表达在宽频带、长时间辐照下有明显变化,表现为类脂滴包涵体出现,并随曝光时间增多。

实验过程中,红外照相机检测发现细胞温度升高了 $1.6 \text{ }^\circ\text{C}$,但热应激蛋白表达水平几乎没有改变。

2015 年 Bogomazova 等^[53]又报道了人胚胎干细胞(HESM01)DNA 损伤和转录组对太赫兹辐射的反应情况。利用平均功率为 $0.14 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的窄带(2.3 THz)太赫兹辐射在严格温控下对干细胞辐照 1 h,结果发现只有大约 1%的基因出现了微量增加,染色体结构没有发生畸变,没有观察到细胞有丝分裂指数和细胞形态学的变化,也没有引起细胞热休克反应基因上调。

从以上研究结果可以看出,尽管干细胞是一类对环境刺激和 DNA 损伤极为敏感的体细胞,但太

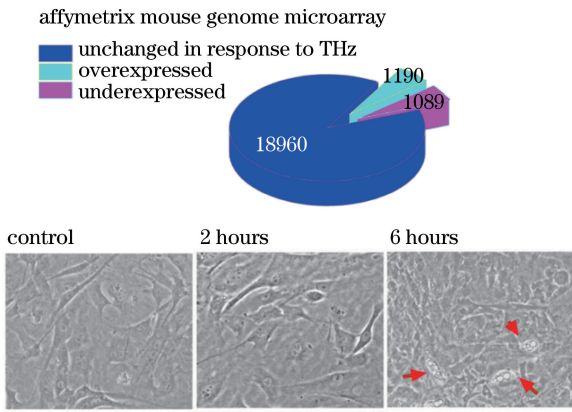


图 7 太赫兹辐照对小鼠干细胞培养的基因特异性影响^[52]
 Fig. 7 Gene specific effect of THz irradiation in mouse stem cell cultures^[52]

赫兹波并没有对其产生任何基因毒性的影响,也没有发现任何 DNA 损伤相关基因表达的变化,并且所有报道均指出实验中未观测到温度变化。但太赫兹波作为一种非电离辐射,的确会使干细胞中部分基因被激活,由此产生形态学影响,其程度与曝光时间和频率相关。由于太赫兹辐射对干细胞内特定基因的无损触发效应,有科学家预言太赫兹技术具有对人体干细胞基因进行编码的潜力,以此实现人类疾病的自愈性治疗。

3.5 淋巴细胞

目前医学上还不能完全阐明癌症的病因,但从遗传学和表观遗传学机制角度来讲,当人体罹患癌症的时候,细胞内 DNA 复制和染色体分离发生异常,反映出基因组不稳定性增加^[54-58]。2008 年 Korenstein-Ilan 等^[59]使用频率为 0.1 THz、功率 0.031 mW·cm⁻² 的连续太赫兹辐射对人外周血分离淋巴细胞(UNI-SEP_{maxi})曝光 1, 2, 24 h,利用荧光原位杂交技术检测 1, 10, 11 和 17 号染色体数目变化及染色体着丝粒复制时间的变化,观察到在曝光 2 h 后 11 和 17 号染色体的着丝粒异步复制模式改变,在曝光 14 h 后发现四个染色体都发生改变。这些结果表明人淋巴细胞在低功率辐射下会引起染色体组的不稳定,并且认为这种不稳定性会增加罹患癌症的风险。但也有研究人员随后尝试用更低功率(脉冲功率 10 μW·cm⁻²)直接对人肺癌细胞和乳腺癌细胞进行太赫兹辐照处理,辐照频率为 0.05~1.2 THz,作用时间 1 min,使用流式细胞术检测细胞凋亡和周期后发现,活细胞和早期凋亡细胞比例和细胞周期各个阶段细胞数量均无统计学意义的变化^[60]。

鉴于 microRNAs (miRNAs)被认为是基因表达的主要调控因子,2016 年 Eechgadda 等^[61]在 2.52 THz、636 mW·cm⁻² 的高功率太赫兹辐照下,对人 T 淋巴 Jurkat 细胞(TIB-152, ATCC)曝光 40 min 后的全基因组转录水平进行了全面分析。实验数据表明太赫兹辐射会引起 T 淋巴 Jurkat 细胞内特定 mRNAs 和 microRNAs 表达的显著变化,并触发未被识别的特定细胞内代谢和信号通路。该结果与早前研究报道的高功率下太赫兹波诱导的细胞死亡相一致^[39]。另有报道表明 2.7 THz、平均功率 260 mW·cm⁻²、持续时间 30 min 的太赫兹辐照也会引起中性粒细胞数量的显著增加,并引起相关炎症反应^[62]。

目前对淋巴细胞的太赫兹作用机制存在较多分歧,在文献报道中非热效应占 50%,热效应占 25%。对淋巴细胞的细胞学研究提供了关于太赫兹辐照生物效应的新观点,对受到太赫兹辐照的人类细胞中具体的触发基因和细胞内通路有了更清晰的认识。太赫兹技术通过辐照参数的优化,完全有可能作为一种有效的非接触性工具,选择性参与控制特定的基因功能和细胞过程。

3.6 生殖细胞

生殖细胞是多细胞生物体内不同于体细胞(成纤维细胞、上皮细胞、神经细胞、干细胞和淋巴细胞等)的一类具有繁殖功能的细胞总称。2015 年 Fedorov 等^[63]研究了低强度太赫兹辐射对果蝇 F1 代寿命的影响。他们使用频率 0.1~2.2 THz、功率 8.5 mW·cm⁻² 的脉冲太赫兹波辐射雌性果蝇 30 min 后,与未辐照和辐照过的雄性果蝇交配,并统计果蝇后代的寿命。结果表明,太赫兹辐射对两性 F1 后代的平均寿命和绝对寿命均无影响,但在生存反应中发现了性别的二态性,辐射时由未成熟或成熟卵细胞发育而成的雄性果蝇的存活曲线与对照组有显著差异,而雌性的存活曲线与对照组相似,这表明太赫兹辐射对 F1 雄性后代的存活有更长期的影响。

此外,2018 年 Wei 等^[64]进行了太赫兹辐射诱导人精子运动增强和细胞内钙升高的实验研究。实验使用频率 0.1~3 THz、功率 60 μW·cm⁻² 的太赫兹辐射源。他们发现太赫兹辐射时间超过 5 min 时能显著提高精子的渐进活动率,DNA 的完整性没有改变,并且可以通过降低细胞外钙离子浓度或阻断钙通道而减弱太赫兹波对精子活性的影响,实现功能调控。

考虑安全及伦理方面的因素,目前针对更多人类生殖细胞类型的太赫兹辐射影响研究还很少,以上报道也均未提及反应机制。

4 结 论

太赫兹辐射对生物系统的潜在影响是许多太赫兹应用安全类项目的重要研究内容,及时评估太赫兹辐射对生物系统健康的潜在危害和影响非常重要。主要总结了不同太赫兹辐照条件下成纤维细胞、上皮细胞、干细胞、神经细胞、淋巴细胞和生殖细胞的细胞学影响和潜在原因。现有细胞学研究结果表明,太赫兹辐射对生物体完全无损的早期观点,需要建立在一定的辐照条件及参数基础上。高功率辐射对基因表达和细胞毒性的影响不容忽视。但从积极角度考虑,这些作用也许是一种正面因素,使得以太赫兹辐射诱导并实现蛋白和基因功能的调控成为可能,为以太赫兹技术为手段的新型诊疗方法提供理论依据。当然,太赫兹辐射生物学效应的研究目前仍处在百花齐放的初级阶段,甚至由于辐射条件的不同,相同细胞的生物学效应也有相悖的结论报道,这需要科研人员给予冷静理性的对待和反复求证,并在系统全面的实验室及临床数据基础上,大力推进太赫兹辐射生物体安全型和治疗型的计量学标准出台,前路任重而道远。

参 考 文 献

- [1] Miles R E, Harrison P, Lippens D. Terahertz sources and systems [M]. Dordrecht: Springer, 2001: 15-24.
- [2] Siegel P H. Terahertz technology [J]. IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, 2002, 50(3): 910-928.
- [3] Seeds A J, Shams H, Fice M J, *et al.* Terahertz photonics for wireless communications[J]. Journal of Lightwave Technology, 2015, 33(3): 579-587.
- [4] Yin M, Tang S F, Tong M M. The application of terahertz spectroscopy to liquid petrochemicals detection: a review [J]. Applied Spectroscopy Reviews, 2016, 51(5): 379-396.
- [5] Wang X K, Zhang Y. Terahertz digital holography and its application [C] // Digital Holography and Three-Dimensional Imaging, July 25-28, 2016, Heidelberg, Germany, 2016: DW2E.1.
- [6] Markelz A G, Knab J R, Chen J Y, *et al.* Protein dynamical transition in terahertz dielectric response [J]. Chemical Physics Letters, 2007, 442(4/5/6): 413-417.

- [7] Knab J R, Chen J Y, He Y F, *et al.* Terahertz measurements of protein relaxational dynamics [J]. Proceedings of the IEEE, 2007, 95(8): 1605-1610.
- [8] Sergeeva S, Demidova E, Sinitsyna O, *et al.* 2.3 THz radiation: absence of genotoxicity/mutagenicity in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* [J]. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2016, 803/804: 34-38.
- [9] Tsurkan M V, Smolyanskaya O A, Bepalov V G, *et al.* Changing growth of neurites of sensory ganglion by terahertz radiation [J]. Proceedings of SPIE, 2012, 8261: 83610S.
- [10] Borovkova M, Serebriakova M, Fedorov V, *et al.* Investigation of terahertz radiation influence on rat glial cells [J]. Biomedical Optics Express, 2017, 8(1): 273-280.
- [11] Alexandrov B S, Rasmussen K Ø, Bishop A R, *et al.* Non-thermal effects of terahertz radiation on gene expression in mouse stem cells [J]. Biomedical Optics Express, 2011, 2(9): 2679-2689.
- [12] Vernier P T, Levine Z A, Ho M C, *et al.* Picosecond and terahertz perturbation of interfacial water and electropermeabilization of biological membranes [J]. The Journal of Membrane Biology, 2015, 248(5): 837-847.
- [13] Gallerano G P, Grosse E, Korenstein R, *et al.* THz-BRIDGE: an European project for the study of the interaction of terahertz radiation with biological systems [C] // Infrared and Millimeter Waves, Conference Digest of the 2004 Joint 29th International Conference on 2004 and 12th International Conference on Terahertz Electronics, September 27-October 1, 2004, Karlsruhe, Germany. New York: IEEE, 2004: 817-818.
- [14] Romanenko S, Begley R, Harvey A R, *et al.* The interaction between electromagnetic fields at megahertz, gigahertz and terahertz frequencies with cells, tissues and organisms: risks and potential [J]. Journal of the Royal Society Interface, 2017, 14(137): 20170585.
- [15] Fedorov V I, Popova S S, Pisarchik A N. Dynamic effects of submillimeter wave radiation on biological objects of various levels of organization [J]. International Journal of Infrared & Millimeter Waves, 2003, 24(8): 1235-1254.
- [16] Hintzsche H, Stopper H. Effects of terahertz radiation on biological systems [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2012, 42(22): 2408-2434.
- [17] Weightman P. Prospects for the study of biological systems with high power sources of terahertz

- radiation[J]. *Physical Biology*, 2012, 9(5): 053001.
- [18] Hafez A, Chai X, Ibrahim A, *et al.* Intense terahertz radiation and their applications[J]. *Journal of Optics*, 2016, 18(9): 093004.
- [19] Wang D T, Zhu L G, Liu Q, *et al.* Current status for the study of biological effects with terahertz radiation [C] // *Proceedings of National Terahertz Science, Technology and Application Academic Conference*, September 14-17, 2012, Beijing, China, 2012: 470-478.
王德田, 朱礼国, 刘乔, 等. 太赫兹波的生物效应研究现状[C] // *全国太赫兹科学技术与应用学术交流会论文集*, 2012年9月14—17日, 中国, 北京, 2012: 470-478.
- [20] Feng H, Li F, Chen T N. Current situation and future trends for THz-biomedicine [J]. *Journal of Terahertz Science and Electronic Information Technology*, 2013, 11(6): 827-835.
冯华, 李飞, 陈图南. 太赫兹波生物医学研究的现状与未来[J]. *太赫兹科学与电子信息学报*, 2013, 11(6): 827-835.
- [21] He M X, Chen T. Application research of terahertz science and technology in biomedicine[J]. *Journal of Electronic Measurement and Instrument*, 2012, 26(6): 471-483.
何明霞, 陈涛. 太赫兹科学技术在生物医学中的应用研究[J]. *电子测量与仪器学报*, 2012, 26(6): 471-483.
- [22] Mao L, Liu Y, Tian H Y, *et al.* Discussion on the safety of terahertz technology in biomedical applications[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2018(1): 74-76.
毛莉, 刘羽, 田晖艳, 等. 太赫兹技术在生物医学应用中的安全性探讨[J]. *国际检验医学杂志*, 2018(1): 74-76.
- [23] Zhou J, Liu S G. Research progress of terahertz biomedical applications[J]. *Modern Applied Physics*, 2014, 5(2): 85-97.
周俊, 刘盛纲. 太赫兹生物医学应用的研究进展[J]. *现代应用物理*, 2014, 5(2): 85-97.
- [24] Yi R H, Peng R Y, Wang B, *et al.* Current status and prospect for the study of biological effects with terahertz radiation [J]. *Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection*, 2018, 38(3): 230-235.
伊如汉, 彭瑞云, 王波, 等. 太赫兹波辐射生物效应研究现状与展望[J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2018, 38(3): 230-235.
- [25] Suzuki T, Takayama K, Yamauchi S, *et al.* Measurement of water absorption coefficient using terahertz time-domain spectroscopy [C] // *2009 34th International Conference on Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*, September 21-25, 2009, Busan, South Korea. New York: IEEE, 2009: 1-2.
- [26] Kristensen T T, Withayachumnankul W, Jepsen P U, *et al.* Modeling terahertz heating effects on water [J]. *Optics Express*, 2010, 18(5): 4727-4739.
- [27] Fröhlich H. The extraordinary dielectric properties of biological materials and the action of enzymes [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1975, 72(11): 4211-4215.
- [28] Chitanvis S M. Can low-power electromagnetic radiation disrupt hydrogen bonds in dsDNA? [J]. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 2006, 44(18): 2740-2747.
- [29] Alexandrov B S, Gelev V, Bishop A R, *et al.* DNA breathing dynamics in the presence of a terahertz field [J]. *Physics Letters A*, 2010, 374(10): 1214-1217.
- [30] Alexandrov B, Voulgarakis N K, Rasmussen K Ø, *et al.* Pre-melting dynamics of DNA and its relation to specific functions [J]. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2009, 21(3): 034107.
- [31] Kampfrath T, Tanaka K, Nelson K A. Resonant and nonresonant control over matter and light by intense terahertz transients [J]. *Nature Photonics*, 2013, 7(9): 680-690.
- [32] Feng Y, Beger R D, Hua X, *et al.* Breathing modes near a junction of DNA double helices [J]. *Physical Review A*, 1989, 40(8): 4612-4619.
- [33] Blank M, Goodman R. Do electromagnetic fields interact directly with DNA? [J]. *Bioelectromagnetics*, 1997, 18(2): 111-115.
- [34] Urabe H, Kato M, Tominaga Y, *et al.* Counterion dependence of water of hydration in DNA gel [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1990, 92(1): 768-774.
- [35] Fischer M, Walther M, Uhd Jepsen P. Far-infrared vibrational modes of DNA components studied by terahertz time-domain spectroscopy [J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2002, 47(21): 3807-3814.
- [36] Cherkasova O P, Fedorov V I, Nemova E F, *et al.* Influence of terahertz laser radiation on the spectral characteristics and functional properties of albumin [J]. *Optics and Spectroscopy*, 2009, 107(4): 534-537.
- [37] Maniadi P, Alexandrov B S, Bishop A R, *et al.* Feigenbaum cascade of discrete breathers in a model of DNA [J]. *Physical Review E*, 2011, 83: 011904.
- [38] Wilmink G J, Rivest B D, Ibey B L, *et al.* Quantitative investigation of the bioeffects associated with terahertz radiation [J]. *Proceeding of SPIE*, 2010, 7562: 75620L.

- [39] Wilmink G J, Ibey B L, Roth C L, *et al.* Determination of death thresholds and identification of terahertz (THz)-specific gene expression signatures [J]. *Proceeding of SPIE*, 2010, 7562: 75620K.
- [40] Amicis A D, Sanctis S D, Cristofaro S D, *et al.* Biological effects of *in vitro* THz radiation exposure in human foetal fibroblasts [J]. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2015, 793: 150-160.
- [41] Franchini V, de Sanctis S, Marinaccio J, *et al.* Study of the effects of 0.15 terahertz radiation on genome integrity of adult fibroblasts [J]. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2018, 59(6): 476-487.
- [42] Franchini V, Ceccuzzi S, Doria A, *et al.* Biological effects of 25 to 150 GHz radiation after *in vitro* exposure of human fibroblasts: a comparison of experimental results [J]. *Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*, 2018, 39(9): 899-911.
- [43] Titova L V, Ayesheshim A K, Golubov A, *et al.* Intense THz pulses cause H2AX phosphorylation and activate DNA damage response in human skin tissue [J]. *Biomedical Optics Express*, 2013, 4(4): 559-568.
- [44] Yaekashiwa N, Otsuki S, Hayashi S, *et al.* Investigation of the non-thermal effects of exposing cells to 70-300 GHz irradiation using a widely tunable source [J]. *Journal of Radiation Research*, 2018, 59(2): 116-121.
- [45] Hintzsche H, Jastrow C, Kleine-Ostmann T, *et al.* Terahertz radiation induces spindle disturbances in human-hamster hybrid cells [J]. *Radiation Research*, 2011, 175(5): 569-574.
- [46] Polyakova A G, Kuznecova V L, Presnyakova M V. The impact of broadband microwaves of sub- and millimeter range on biochemical metabolism in experimental tissue ischemia *in vivo* [J]. *Modern Technologies in Medicine*, 2016, 8(3): 112-119.
- [47] Hintzsche H, Jastrow C, Heinen B, *et al.* Terahertz radiation at 0.380 THz and 2.520 THz does not lead to DNA damage in skin cells *in vitro* [J]. *Radiation Research*, 2013, 179(1): 38-45.
- [48] Koyama S, Narita E, Shimizu Y, *et al.* Twenty four-hour exposure to a 0.12 THz electromagnetic field does not affect the genotoxicity, morphological changes, or expression of heat shock protein in HCE-T cells [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2016, 13(8): E793.
- [49] Geyko I A, Smolyanskaya O A, Sulatsky M I, *et al.* Impact of terahertz radiation on the epithelialization rate of scarified cornea [J]. *Proceedings of SPIE*, 2015, 9542: 95420E.
- [50] Olshevskaya J S, Ratushnyak A S, Petrov A K, *et al.* Effect of terahertz electromagnetic waves on neurons systems [C] // 2008 IEEE Region 8 International Conference on Computational Technologies in Electrical and Electronics Engineering, July 21-25, 2008, Novosibirsk, Russia. New York: IEEE, 2008: 210-211.
- [51] Siegel P H, Pikov V. THz in biology and medicine: toward quantifying and understanding the interaction of millimeter- and submillimeter-waves with cells and cell processes [J]. *Proceedings of SPIE*, 2010, 7562: 75620H.
- [52] Bock J, Fukuyo Y, Kang S, *et al.* Mammalian stem cells reprogramming in response to terahertz radiation [J]. *PLoS ONE*, 2010, 5(12): e15806.
- [53] Bogomazova A N, Vassina E M, Goryachkovskaya T N, *et al.* No DNA damage response and negligible genome-wide transcriptional changes in human embryonic stem cells exposed to terahertz radiation [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 7749.
- [54] Korenstein- Ilan A, Amiel A, Lalezari S, *et al.* Allele-specific replication associated with aneuploidy in blood cells of patients with hematologic malignancies [J]. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 2002, 139(2): 97-103.
- [55] Gagos S, Irminger-Finger I. Chromosome instability in neoplasia: chaotic roots to continuous growth [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2005, 37(5): 1014-1033.
- [56] Sieber O M, Heinimann K, Tomlinson I P M. Genomic instability: the engine of tumorigenesis? [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2003, 3(9): 701-708.
- [57] Loeb L A. Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis [J]. *Cancer Research*, 1991, 51(12): 3075-3079.
- [58] Fukuda M, Sun A. The DNA-instability test as a specific marker of malignancy and its application to detect cancer clones in borderline malignancy [J]. *European Journal of Histochemistry*, 2005, 49(1): 11-26.
- [59] Korenstein- Ilan A, Barbul A, Hasin P, *et al.* Terahertz radiation increases genomic instability in human lymphocytes [J]. *Radiation Research*, 2008, 170(2): 224-234.
- [60] Duka (Tsurkan) M V, Nesgovorova Y S, Smolyanskaya O A, *et al.* Study of the action of broad-band terahertz radiation on the functional activity of cells [J]. *Journal of Optical Technology*, 2013, 80(11): 655-660.

- [61] Echchgadda I, Grundt J E, Cerna C Z, *et al.* Terahertz radiation: a non-contact tool for the selective stimulation of biological responses in human cells[J]. IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology, 2016, 6(1): 54-68.
- [62] Hwang Y, Ahn J, Mun J, *et al.* *In vivo* analysis of THz wave irradiation induced acute inflammatory response in skin by laser-scanning confocal microscopy [J]. Optics Express, 2014, 22 (10): 11465-11475.
- [63] Fedorov V I, Weisman N Y. The lifespan of the F1 progeny of drosophila females exposed to terahertz radiation of low intensity[J]. Biophysics, 2015, 60 (5): 835-842.
- [64] Wei C, Zhang Y C, Li R, *et al.* Terahertz irradiation-induced motility enhancement and intracellular calcium elevation in human sperm *in vitro* [J]. Biomedical Optics Express, 2018, 9(9): 3998-4008.