

## 太赫兹波对肾癌组织的光谱检测

李 晗<sup>1,2</sup>, 余 晨<sup>2</sup>

(1. 上海市第一康复医院, 上海 200090; 2. 同济大学附属同济医院, 上海 200065)

**摘 要:** 利用太赫兹光谱技术, 对人肾癌组织进行检测, 分别比较了肿瘤组织和肿瘤旁正常组织对太赫兹波的响应。通过对新鲜含水和经冷冻真空脱水组织的测量分析, 分别获得了不同样品在 0.2~1.2 THz 波段的吸收系数和折射率。结果显示, 生物组织中含水量对太赫兹波吸收信号强度有很大的影响。同时, 不同组织的细胞结构和成分也是影响太赫兹信号强度的重要因素。比如癌细胞和正常细胞的结构的不同, 因此对太赫兹电磁波的吸收以及它们在太赫兹波段的折射率都有显著的不同。结果显示太赫兹光谱技术在生物组织检测和临床医学如肿瘤疾病诊断方面具有广阔的应用前景。

**关键词:** 太赫兹技术; 肾癌组织; 频谱分析

中图分类号: O433.4 文献标志码: A DOI: 10.3788/IRLA201645.0525001

## Terahertz spectral detection in human renal tissue

Li Han<sup>1,2</sup>, Yu Chen<sup>2</sup>

(1. The First Rehabilitation Hospital of Shanghai, Shanghai 200090, China; 2. Tongji Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200065, China)

**Abstract:** In this paper, terahertz spectroscopy technique was used for the investigation of human renal cancer by comparing the response of tumor tissue and normal tissue adjacent to tumor. Based on the measurement and analysis of fresh tissue and lyophilized tissue respectively, the absorption coefficient and refractive index from 0.2 THz to 1.2 THz were obtained. The result shows that water content of biological tissue has great influence on terahertz wave absorption signal amplitude. Meanwhile, difference of cell structure and composition also affect the transmission of terahertz signal. For example, as the different structure and composition of the cancer and normal cell, the absorption coefficient and refractive index of these tissues are completely different. The result indicates that terahertz spectroscopy technique is an important technology and has a broad prospect of application in biological tissue investigation and clinical medicine such as tumor disease diagnosis.

**Key words:** terahertz technology; renal cancer; spectroscopy analysis

收稿日期: 2016-03-15; 修订日期: 2016-04-12

作者简介: 李晗(1983-), 女, 硕士生, 主要从事慢性肾脏病患者的康复治疗技术及肾脏肿瘤及纤维化新技术研究方面的研究。

Email: April\_hanhanli@hotmail.com

## 0 引言

太赫兹(Terahertz, THz) 波介于微波和红外波之间,通常定义在 0.1~10 THz 电磁波段,具有非电离、非侵入和穿透性强等特性。1 THz 处电子能量为 4.14 meV,对生物材料是安全无损的。同时,不同物质在太赫兹波段常表现有特征吸收,因此近年来太赫兹技术在生物医学领域中的应用备受关注,并在太赫兹光谱和成像技术应用用于肿瘤组织检测中取得了进展<sup>[1-2]</sup>。已开展的研究涉及皮肤<sup>[3-4]</sup>,乳腺<sup>[5-6]</sup>,肝<sup>[7]</sup>,结肠<sup>[8]</sup>,口腔<sup>[9]</sup>,动物组织<sup>[10]</sup>等多种组织及病变检测。2006年, Vincent P. Wallace 等<sup>[3]</sup>将太赫兹技术应用用于皮肤基底癌的研究,发现太赫兹波对正常、癌变等皮肤组织响应不同,0.5 THz 处最大吸收差可达  $16.7\text{ cm}^{-1}$ ,借由吸收和折射率的差别,通过反射成像可以对皮肤的多层结构进行区别。Mingxia He 等<sup>[2]</sup>总结了太赫兹透射和反射系统对多种肿瘤组织的成像应用,并在此基础上对新型肿瘤诊断方法在临床应用方面进行了探索。最近,Seuug Jae Oh 等<sup>[11]</sup>利用反射式太赫兹成像系统,清晰检测出鼠脑胶质瘤边界,并根据髓鞘质的不同分布,较好地分辨出组织中的灰质和白质区域,为脑组织病变和结构研究提供了可能。水对太赫兹波的吸收非常强,生物组织中所富含的水也常在太赫兹技术检测信号中有所体现。2006年, Mingxia He 等使用太赫兹系统对猪肉的脂肪组织和肌肉组织进行研究,结果表明太赫兹波对组织中的水非常敏感,不同含水量的生物组织在太赫兹波段的吸收响应不同<sup>[10]</sup>。在鼠组织中也有同样的现象<sup>[12]</sup>。考虑到水对太赫兹吸收信号的影响相当明显<sup>[13]</sup>, Pickwell 使用低温实验环境来消除水的影响<sup>[14]</sup>,从而使得细胞结构和蛋白质等成分的影响相对得以增强,揭示出乳腺癌变组织和正常组织的区别。研究发现新鲜的组织中,乳腺肿瘤对太赫兹波的吸收系数大于正常乳腺组织,在低温环境下结果有相同的趋势,这可能是由于癌变细胞密度和正常组织的不同引起的。但低温方法通常会导致水的结晶而使细胞结构遭到破坏,这种外加的因素也可能对太赫兹信号产生一定的影响。Ahmed M. Hassan 等<sup>[6]</sup>使用反射式太赫兹成像技术对福尔马林固定的石蜡乳腺组织样品进行扫描成像,所得图像经严格的逆散射

技术处理代替以往简单的数据处理,有效避免了肿瘤组织和肿瘤旁正常组织混合区模糊无法辨认的情况。2014年, Faustino Wahaia 等<sup>[15]</sup>利用太赫兹时域光谱技术对石蜡包埋的胃组织进行了研究,分析了胃癌组织和正常组织的吸收与折射率等参数,其中石蜡包埋方法能够有效降低水分的影响。同年,浙江大学 Dibo Hou 等<sup>[16]</sup>利用透射式太赫兹时域光谱对脱水的人体胃癌组织进行检测,发现正常组织和癌变组织的太赫兹吸收光谱有明显差异,并利用主成分和聚类分析法对样品进行了有效分析分类。研究发现在 0.2~0.5 THz 与 1~1.5 THz 频段所观察到的吸收峰特征与癌变的不同程度有一定相关性。这些研究进展都显示出太赫兹波谱技术在辨别生物组织和病变诊断方面的有效性。凭借能量低、无损、高灵敏度以及无标记检测特点,太赫兹技术正成为未来研究癌症及相关疾病的新的方法和手段。

肾癌在全世界范围是高发恶性肿瘤,在国内更是如此。肾癌的诊断和早期发现对于治疗和预防具有重要意义。文中利用太赫兹频谱技术对手术后离体的人体肾癌组织进行检测。对新鲜组织中含水情况进行了分析,同时分别对癌变组织和肿瘤旁正常组织进行冰冻脱水研究,将所得结果与病理学切片进行对比。

## 1 实验仪器与样品准备

实验采用美国 Zomega 公司的光纤耦合太赫兹时域谱仪系统,使用透射模式进行单点频谱测量。采用 FemtoFiber pro NIR 激光器,波长为 1560 nm,脉宽 100 fs。激光经过分束镜后被分成泵浦光和探测光,泵浦光经光纤至发射端的光电导天线,得到太赫兹脉冲电场强度随时间变化的波形。探测光入射到探测端的电光晶体上,经过样品的太赫兹波携带上样品信息,在电光晶体中调制探测光的强度,得到样品的太赫兹信号。系统的频域带宽为 0.1~2.5 THz。由于仪器自身的噪声及组织样品的影响,在实验测量中,有效频谱范围为 0.2~1.2 THz。频谱分辨率为 25 GHz,2000 次频谱平均,系统信噪比大于 50 dB。

将样品置于  $x$ - $y$  扫描平移台上,平移台步进尺寸为  $125\text{ }\mu\text{m}$ ,太赫兹光斑大小约  $300\text{ }\mu\text{m}$ (~1 THz)。含水新鲜样品以聚苯乙烯窗片做固定,并以空白聚苯乙烯窗片为参比。脱水的组织样品具有一定强度

与平整度,可直接用于测量,以空气为参比。

样品来自经医学鉴定的两个病人手术后的肾部肿瘤组织和肿瘤旁组织,由复旦大学附属上海华山医院提供,经伦理委员会批准使用。用于太赫兹系统实验的样品厚度约300 μm,新鲜的组织厚度控制在 1 mm 左右,另一份为经-40℃温度环境中真空冷冻脱水的样品。太赫兹光谱测量实验在室温条件下进行,光谱仪系统通入干燥空气,以减小空气中水分对信号的影响。组织样品相邻部位取 10 μm 厚的石蜡切片,用于 HE 病理染色(Hematoxylin-eosin Staining),显微镜成像放大 200 倍后观察肿瘤与肿瘤旁组织的病理区别。

## 2 结果与讨论

实验采用正入射模式,频谱特征与吸收系数和折射率有关。通过以下公式提取相关参数,吸收系数:

$$\alpha = \frac{-2\ln\left\{\rho(\omega)\frac{[n(\omega)+1]^2}{4n(\omega)}\right\}}{d} \quad (1)$$

折射率为:

$$n = \frac{\Phi(\omega)c}{\omega d} + 1 \quad (2)$$

式中: $\rho(\omega)$ 为样品的复透射系数模; $d$ 为样品厚度; $\omega$ 为角频率; $c$ 为光速; $\Phi(\omega)$ 为参考信号和样品信号的傅立叶变换谱的相位差。

图 1(a)为含水和脱水的肿瘤组织和肿瘤旁正常组织的太赫兹吸收光谱。数据为多次重复测量的平均值的结果。其中,虚线和实线代表同一批新鲜肾组织样品的吸收光谱,两者未见明显差异,这是因为新鲜组织含有大量水的缘故。水是强极性介质,对太赫兹波有非常强的吸收。水分子间通过氢键形成一个巨大的网络结构。当其受到太赫兹波照射时,水网络结构中的氢键受激产生共振,水分子偶极发生旋转取向,并经弛豫形成新的动态的氢键网络结构<sup>[17-18]</sup>。对于生物组织,含水量的大小直接影响太赫兹波的吸收,含水量越多对太赫兹波吸收越强,太赫兹信号透过强度降低。有研究表明肿瘤组织的含水量常大于正常组织,含水量差异是二者在太赫兹辐射下形成对比度的主要因素<sup>[19-22]</sup>。由于文中所测量新鲜组织样品厚度大于 300 μm,过多的水含量掩盖了其中的差异。

因此,适当的样品脱水处理是必要的。水可以和

生物分子以多种形式发生作用和结合,细胞内结合水与游离态的自由水相比,在脱水过程中较难脱除。由于组织的复杂性,脱水程度和状况会直接影响太赫兹信号的差异<sup>[23]</sup>。在 Pickwell 的实验中环境温度控制在 200 K<sup>[14]</sup>,使组织冻结抑制水分对信号的吸收,但是细胞中水形成的晶体会破坏组织结构。为了进一步探究两种组织的差异必须控制影响信号的来源,文中将两种胃组织冷冻脱水处理,在-40℃的低温下胃组织真空抽气,组织内部的冰晶升华,去除水分的同时又不会破坏细胞结构。

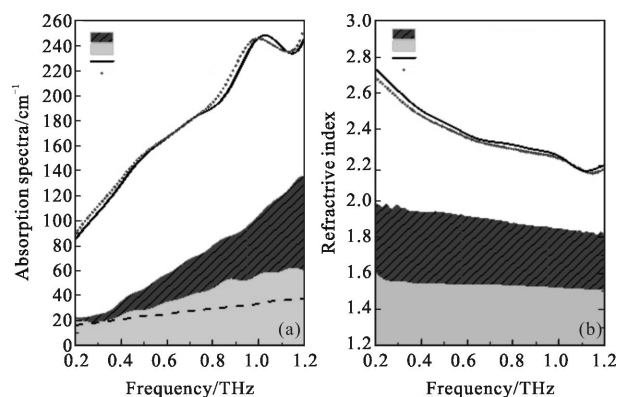


图 1 (a)含水和脱水肿瘤组织和肿瘤旁正常组织的太赫兹吸收光谱(b)折射率谱

Fig.1 (a) Terahertz absorption spectra and (b) refractive indexes of fresh and lyophilized renal cancer tissue and normal tissue

图 1(a)中,黑色和灰色带阴影区域分别代表正常和癌变组织脱水后,在 0.2~1.2 THz 波段的平均吸收系数。癌变组织的吸收明显高于肿瘤旁正常组织。在所测频谱范围内未观察到明显的特征吸收峰,整体吸收随频率呈逐渐上升趋势。其中,肿瘤组织的光谱吸收强度和上升幅度明显大于肿瘤旁正常组织。该现象与 Wahaia F 与 Dibo Hou 所测的石蜡固定胃癌组织的实验现象类似<sup>[15-16]</sup>。将文中的实验结果与 Emma Pickwell-MacPherson<sup>[24]</sup>对新鲜组织的检测结果进行对比,可以看到明显的区别,例如在 1 THz 处 Pickwell 所测新鲜组织的吸收系数为 220 cm<sup>-1</sup>,而实验中经冷冻脱水组织的吸收系数为 34 cm<sup>-1</sup>,说明水分对信号的影响占据主要地位,新鲜组织中水对太赫兹吸收的贡献非常大。经过脱水后,肿瘤组织和肿瘤旁正常组织的吸收差别明显可见。在图 1(a)的吸收谱中,0.2~0.3 THz 范围内吸收有较小的震荡,可能是脱水组织的内部细小空腔对信号的影响。样品经

脱水后,肿瘤和肿瘤旁正常组织太赫兹吸收的差异有显著区别。

生物组织脱水后,细胞中是否充分脱水也会直接影响信号差异的分析。细胞内部的水以自由水和结合水的形式存在。自由水约占细胞内全部水分 95.5%,结合水约占 4.5%。生物大分子往往兼有极性基(亲水)和非极性基(疏水),如蛋白质、核酸及脂类等。在水的环境中,其非极性基团常藏于结构的内部而极性部分则分布于表面与水分子结合。结合水不再能溶解其他物质,也难于流动。这部分水在高温加热的条件下可以脱离组织,并导致组织蛋白等失活变性。实验中组织经真空脱水,在此过程中主要将游离态的水去除,弱结合水会部分转化为自由水,但是强结合态水可能仍有残留,并与其他分子基团产生相互牵绊。但因为结合水只占 4.5%,而对于图 1(a)中癌细胞和癌旁组织的吸收率的巨大差别,基本可认定除了结合水外,还有其他重要因素影响了太赫兹波的吸收。

除了水的影响外,癌变和肿瘤旁正常组织的自身的差异也是造成太赫兹信号区别的重要因素。医学上,癌细胞与正常细胞的区别主要体现在:细胞核大,癌细胞核可比正常大 1~5 倍;核畸形、核膜增厚;核染色加深以及核质比例失常等方面。此外癌细胞具有丰富的游离核糖体,细胞膜上的糖蛋白等物质减少等。有研究表明大部分恶性肿瘤组织因其代谢率高,增值周期短,细胞密度大,因而较正常组织其蛋白质含量更高,而脂肪含量更低,成为除水之外形成太赫兹信号差异的重要因素<sup>[24,27-28]</sup>。最近,杨航等<sup>[23]</sup>利用太赫兹时域光谱考察过猪的脂肪、皮肤与肌肉组织及组织含水状况,发现含水量是影响新鲜组织对太赫兹波吸收的主要因素。而在脱水干燥情况下,组织的基本组成成分特点就成为了鉴别不同组织类型的关键因素。不同的组织结构以及某些生物分子(如蛋白质、DNA 等)含量的差异也会对太赫兹辐射产生不相同的响应<sup>[29-30]</sup>。

此外,图 1(b)为正常和癌变组织脱水先后在 0.2~1.2 THz 波段的平均折射率。同样可以观察到与吸收系数相似的趋势。癌变组织的折射率在 1.8~1.9 左右,肿瘤旁正常组织的折射率在 1.5 左右。折射率是描述材料光学特性的一个重要的物理参量,它是组织光学理论中重要的组成部分,可以反映样品物性

和组织分布特点<sup>[25]</sup>。图 1(b)中随着频率的增加折射率逐渐变小,且每条曲线都有些许振荡,说明组织是各向异质的。细胞本身的孔洞结构以及细胞器对太赫兹波散射导致高频信号减小。细胞核增大,肿瘤密度变大,随之折射率也变大。Backman 的研究指出这些变化可以作为肿瘤检测以及初期肿瘤的预判依据<sup>[26]</sup>。

图 2 为文中所用样品的病理切片显微照片,放大倍数 200 倍。肿瘤细胞团状排列,没有或只有少量腺样结构。肿瘤细胞内细胞核大且核仁明显,有淋巴样细胞浸润<sup>[31]</sup>。这些组成和结构差异共同影响了太赫兹波的折射率、吸收和散射,因此癌变组织的太赫兹谱会显著区别于癌旁组织。

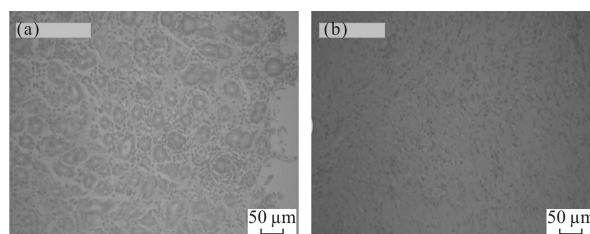


图 2 肿瘤旁正常组织(a)与肿瘤组织(b)的病理染色切片,放大倍数 200 倍

Fig.2 Pathology of stained tumor adjacent tissue (a) and tumor tissue (b) sections, magnification of 200 times

### 3 结论

文中利用太赫兹光谱技术,对肾癌组织进行检测。分别比较了肿瘤和肿瘤旁正常组织对太赫兹波的响应,对含水和脱水组织进行测量分析,结果表明组织中含水量对太赫兹波吸收强度有非常大的影响。在脱水情况下,不同组织结构和成份是影响太赫兹信号的关键因素,并且由于癌细胞和癌旁组织在结构和成份上的差别,造成二者对太赫兹电磁波的响应有着巨大的差别。下一步将结合成分分析和聚类分析等计算模型,对光谱数据与组织结构间的对应关系进行进一步分析,为太赫兹技术在临床医学如肿瘤等疾病的诊断提供帮助和依据。

### 参考文献:

- [1] Brun M A, Formanek F, Yasuda A, et al. Terahertz imaging applied to cancer diagnosis [J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2010, 55(16): 4615.
- [2] He Mingxia, Chen Tao, Yang Jilong, et al. The application

- of terahertz imaging in tumor diagnosis [J]. *TUMOR*, 2012, 32(12): 1039–1042. (in Chinese)
- 何明霞, 陈涛, 杨吉龙, 等. 太赫兹成像技术在肿瘤诊断方面的应用[J]. *肿瘤*, 2012, 32(12): 1039–1042.
- [3] Wallace V P, Fitzgerald A J, Pickwell E, et al. Terahertz pulsed spectroscopy of human basal cell carcinoma [J]. *Applied Spectroscopy*, 2006, 60(10): 1127–1133.
- [4] Taylor Z D, Singh R S, Culjat M O, et al. Reflective terahertz imaging of porcine skin burns [J]. *Optics Letters*, 2008, 33(11): 1258–1260.
- [5] Pickwell-MacPherson E, Fitzgerald A J, Wallace V P. Breast cancer tissue diagnosis at terahertz frequencies [C]//SPIE BiOS. International Society for Optics and Photonics, 2012: 82210M.
- [6] Hassan A M, Hufnagle D C, El-Shenawee M, et al. Terahertz imaging for margin assessment of breast cancer tumors [C]//Microwave Symposium Digest (MTT), IEEE MTT-S International, 2012: 1–3.
- [7] Enatsu T, Kitahara H, Takano K, et al. Terahertz spectroscopic imaging of paraffin-embedded liver cancer samples [C]//Infrared and Millimeter Waves, 2007 and the 2007 15th International Conference on Terahertz Electronics. IRMMW-THz. Joint 32nd International Conference on IEEE, 2007: 557–558.
- [8] Wahaia F, Valusis G, Bernardo L M, et al. Detection of colon cancer by terahertz techniques [J]. *Journal of Molecular Structure*, 2011, 1006(1): 77–82.
- [9] Sim Y C, Ahn K M, Park J Y, et al. Temperature-dependent terahertz imaging of excised oral malignant melanoma [J]. *Biomedical and Health Informatics, IEEE Journal of*, 2013, 17(4): 779–784.
- [10] He M, Azad A K, Ye S, et al. Far-infrared signature of animal tissues characterized by terahertz time-domain spectroscopy [J]. *Optics Communications*, 2006, 259(1): 389–392.
- [11] Oh S J, Kim S H, Ji Y B, et al. Study of freshly excised brain tissues using terahertz imaging [J]. *Biomedical Optics Express*, 2014, 5(8): 2837–2842.
- [12] Chen H, Chen T H, Tseng T F, et al. High-sensitivity in vivo THz transmission imaging of early human breast cancer in a subcutaneous xenograft mouse model [J]. *Optics Express*, 2011, 19(22): 21552–21562.
- [13] Xu J, Plaxco K W, Allen S J. Absorption spectra of liquid water and aqueous buffers between 0.3 and 3.72 THz [J]. *Journal of Chemical Physics*, 2006, 124(3): 36101–36101.
- [14] Ashworth P C, Pickwell-MacPherson E, Pinder S E, et al. Terahertz spectroscopy of breast tumors [C]//Infrared and Millimeter Waves, 2007 and the 2007 15th International Conference on Terahertz Electronics, Joint 32nd International Conference on, IEEE, 2007: 603–605.
- [15] Wahaia F, Kasalynas I, Seliuta D, et al. Study of gastric cancer samples using terahertz techniques [C]//Second International Conference on Applications of Optics and Photonics. International Society for Optics and Photonics, 2014: 92864H.
- [16] Hou D, Li X, Cai J, et al. Terahertz spectroscopic investigation of human gastric normal and tumor tissues [J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2014, 59(18): 5423.
- [17] Kindt J T, Schmuttenmaer C A. Far-infrared dielectric properties of polar liquids probed by femtosecond terahertz pulse spectroscopy [J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1996, 100(24): 10373–10379.
- [18] Stanley H E. Liquid water: A very complex fluid [J]. *Pramana*, 1999, 53(1): 53–83.
- [19] Bruehlmeier M, Roelcke U, Bläuenstein P, et al. Measurement of the extracellular space in brain tumors using <sup>76</sup>Br-bromide and PET [J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2003, 44(8): 1210–1218.
- [20] Pickwell E, Cole B E, Fitzgerald A J, et al. Simulation of terahertz pulse propagation in biological systems [J]. *Applied Physics Letters*, 2004, 84(12): 2190–2192.
- [21] Suen J Y, Tewari P, Taylor Z D, et al. Towards medical terahertz sensing of skin hydration [J]. *Stud Health Technol Inform*, 2009, 142: 364–368.
- [22] Woodward R M, Wallace V P, Arnone D D, et al. Terahertz pulsed imaging of skin cancer in the time and frequency domain [J]. *Journal of Biological Physics*, 2003, 29(2–3): 257–259.
- [23] Yang Hang, Zhao Hongwei, Zhang Jianbing, et al. The dehydration processes of biological tissues investigated by terahertz time-domain spectroscopy [J]. *J Infrared Millim Waves*, 2014, 33(3): 263–267. (in Chinese)
- 杨航, 赵红卫, 张建平, 等. 生物组织脱水过程的太赫兹时域光谱[J]. *红外与毫米波学报*, 2014, 33(3): 263–267.
- [24] Ashworth P C, Pickwell-MacPherson E, Provenzano E, et al. Terahertz pulsed spectroscopy of freshly excised human breast cancer [J]. *Optics Express*, 2009, 17(15): 12444–12454.
- [25] Lai Jiancheng, Zhang Yingying, Li Zhenhua, et al. A review of the measurement and concept of refractive index of biological tissues [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2009, 18

- (2): 133–137.(in Chinese)  
来建成, 张颖颖, 李振华, 等. 生物组织折射率的概念与测量方法评述[J]. 激光生物学报, 2009, 18(2): 133–137.
- [26] Backman V, Wallace M B, Perelman L T, et al. Detection of preinvasive cancer cells [J]. *Nature*, 2000, 406 (6791): 35–36.
- [27] Pickwell E. Biological applications of terahertz pulsed imaging and spectroscopy [D]. Cambridge: University of Cambridge, 2005.
- [28] Wahaia F, Valusis G, Bernardo L M, et al. Detection of colon cancer by terahertz techniques [J]. *Journal of Molecular Structure*, 2011, 1006(1): 77–82.
- [29] Knab J R, Chen J Y, He Y, et al. Terahertz measurements of protein relaxational dynamics [J]. *Proceedings of the IEEE*, 2007, 95(8): 1605–1610.
- [30] Zhang W, Brown E R, Rahman M, et al. Observation of terahertz absorption signatures in microliter DNA solutions [J]. *Applied Physics Letters*, 2013, 102(2): 023701.
- [31] 王晓宇, 袁群. 胃肠镜下常见病形态学诊断与病理 [M]. 第一版. 北京: 人民军医出版社, 2008: 157.
- [32] Zaytsev K I, Kudrin K G, Koroleva S A, et al. Medical diagnostics using terahertz pulsed spectroscopy[J]. *Journal of Physics: Conference Series*, 2014, 486(1): 012014.