

小鼠在体皮下乳腺癌的太赫兹波成像检测研究

武丽敏^{1,2}, 廖彬³, 徐德刚^{1,2}, 王与焱^{1,2,3*}, 葛梅兰^{1,2}, 张超楠⁴, 李佳桦⁴,
孙忠成^{1,2}, 陈图南³, 冯华³, 姚建铨^{1,2}

(1. 天津大学精密仪器与光电子工程学院激光与光电子研究所, 天津 300072;

2. 天津大学光电信息技术教育部重点实验室, 天津 300072;

3. 陆军军医大学第一附属医院神经外科, 重庆 400038;

4. 天津大学生命科学学院天津市微纳生物材料与检疗工程技术中心, 天津 300072)

摘要: 乳腺癌是女性常见癌症之一, 乳腺癌区域的精准检测对乳腺癌的治疗有至关重要的作用。本文采用频率为 2.52THz 的连续太赫兹波反射式成像系统, 对小鼠在体皮下乳腺癌模型进行了太赫兹波成像检测。研究表明, 太赫兹波成像可以清晰识别出乳腺癌区域, 且与肉眼可见肿瘤区域一致。在体乳腺癌区域的太赫兹波相对反射率高于正常组织, 两者相对反射率差值高达 15%。进一步, 对距离皮肤表面不同深度的离体乳腺癌组织进行切片和苏木精-伊红(H&E)染色, 作为金标准对照。结果发现乳腺癌区域的面积随着距离皮肤表面深度的增加而增大。通过将太赫兹波成像与 H&E 染色结果对比可知, 在距离皮肤表面约 460 μm 处, 太赫兹波图像和 H&E 染色图中的肿瘤区域面积相等。由此可知, 太赫兹波对在体皮下乳腺癌的探测深度大约在 460 μm 左右, 太赫兹波有望实现深部肿瘤的检测。

关键词: 乳腺癌; 连续太赫兹波; 反射成像; 乳腺肿瘤诊断
中图分类号: TN29

Study of in-vivo breast cancer in a subcutaneous xenograft mouse model using terahertz imaging

WU Li-Min^{1,2}, LIAO Bin³, XU De-Gang^{1,2}, WANG Yu-Ye^{1,2,3*}, GE Mei-Lan^{1,2}, ZHANG Chao-Nan⁴, LI Jia-Hua⁴, SUN Zhong-Cheng^{1,2}, CHEN Tu-Nan³, FENG Hua³, YAO Jian-Quan^{1,2}

(1. Institute of Laser and Optoelectronics, School of Precision Instruments and Optoelectronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2. Key Laboratory of Optoelectronics Information Technology (Ministry of Education), Tianjin University, Tianjin 300072, China;

3. Institute of Neurosurgery, Southwest Hospital, Army Medical University, Chongqing; 400038, China;

4. School of Life Sciences, Tianjin Engineering Center of Micro-Nano Biomaterials, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: Breast cancer (BC) is one of the most common diseases in women. The accurate detection for BC is very important in clinical practice. In this paper, *in-vivo* breast cancer in a subcutaneous xenograft mouse was studied with the continuous-wave terahertz (THz) reflection imaging system at 2.52THz. The high reflection region in THz images of *in-vivo* subcutaneous xenograft mouse corresponded well to the tumor area in visible. The difference value of 15% between tumor and normal tissues was observed. For the gold standard, the tumor areas at different depths from the surface of skin

收稿日期: 2019-09-26, 修回日期: 2020-06-04

Received date: 2019-09-26, Revised date: 2020-06-04

基金项目: 国家 973 计划(2015CB755403), 国家自然科学基金(61775160, 61771332), 中国博士后科学基金特别资助(2016M602954), 重庆市博士后科研项目特别资助(Xm2016021), 重庆西南医院生物强院科技创新计划(SWH2016LHJC04, SWH2016LHJC01)

Foundation items: Supported by National Basic Research Program of China (973) (2015CB755403), National Natural Science Foundation of China (NSFC) (61775160, 61771332), China Postdoctoral Science Foundation (2016M602954), Postdoctoral Science Foundation of Chongqing (Xm2016021), Joint Incubation Project of Southwest Hospital (SWH2016LHJC-04, SWH2016LHJC-01);

作者简介(Biography): 武丽敏(1989—), 女, 山东聊城人, 博士生, 主要研究领域为太赫兹生物医学成像. E-mail: wulimin@tju.edu.cn.

* 通讯作者(Corresponding author): E-mail: yuyewang@tju.edu.cn

in mouse model were obtained by hematoxylin and eosin-stained images. The tumor areas increased with the increase of depth. In contrast with THz image, it is found that the tumor area in THz image was similar to that in hematoxylin and eosin-stained images at a depth of 460 μm . Therefore, the detection depth of THz wave to *in-vivo* breast cancer in subcutaneous xenograft mouse model is about 460 μm , and THz wave is expected to realize the detection of deep tumors.

Key words: Breast cancer, continuous terahertz wave, reflection imaging, breast tumor diagnosis

PACS:: 87.19.xj, 87.50.U-, 42.25.Gy, 87.64.kv

引言

乳腺癌是女性癌症死亡的第二大原因^[1]。乳腺癌导致女性死亡率约为3%，早期乳腺癌的检测及治疗可显著降低患者死亡率。在临床实践中，关于乳腺癌的检测方法有很多，如体格检查、超声、x-射线^[2]和核磁共振等。体格检查主要依靠医生对乳腺癌症状的了解程度，凭经验检查不具备严谨性还会出现误诊的情况。超声检查可实现操作简单、无放射性损害、和推断乳腺癌肿块良恶性的优点，而且超声引导还可进行穿、刺活检及治疗。但是，超声仪器和探头的频率直接影响图像质量，检查者对乳腺疾病相关知识的了解、操作技能以及思维分析能力对诊断准确性的影响较大。采用X-射线识别乳腺组织中密度的变化可以进行乳腺癌检测。然而，乳腺癌区域可能被致密的纤维腺体所掩盖，检测乳腺癌的假阴性率高达30%^[3]。且由于X-射线具有可电离的性质，有可能诱发恶性肿瘤。核磁共振成像技术对乳腺癌的诊断率达90%以上，对乳腺肿瘤大小和范围的评估有较高准确度，但术中核磁设备复杂且价格昂贵。因此，急需一种具有非电离且高灵敏度的检测方法帮助医生在术中识别乳腺癌。

太赫兹 (THz)波是指频率为0.1~10THz，位于红外与微波之间的电磁波，其具有非电离、指纹谱和对极性物质敏感等特性。太赫兹波成像作为医学成像的候选技术之一，近年来得到了广泛研究。太赫兹波成像已应用于众多肿瘤病灶的检测识别^[4-7]，如皮肤癌、肝癌、口腔癌和脑胶质瘤等。与正常组织相比，肿瘤组织的含水量较高^[8]且肿瘤细胞的密度、核异型性、有丝分裂活性和坏死都有所增加^[9]，这些都将改变其在THz波段检测的折射率、吸收和散射等特性。(通常，组织含水量是指组织中含水的质量与组织湿重之比，细胞密度是指通过酶消化后组织的细胞总数与体积之比。)考虑到新鲜生物组织中水对太赫兹波的吸收系数远大于组织中其他物质对太赫兹波的吸收系数，且生物组织中的

含水量通常较高，现有文献对新鲜组织的研究表明含水量差异是肿瘤与正常组织间THz光谱差异的主要原因^[4-6]，对冰冻和石蜡包埋组织的研究表明细胞成分和形态差异也是导致肿瘤和正常组织间的THz光谱特性不同的原因之一^[7,10]。2016年，S. Yamaguchi等人基于太赫兹时域光谱系统(THz-TDS)测量了新鲜与石蜡包埋大鼠脑胶质瘤及正常组织的光谱特性，通过定量分析，计算得出：新鲜脑胶质瘤组织中的含水量比正常组织增加了大约5%，脑胶质瘤组织单位面积的细胞核密度比正常组织增加了15%以上^[11]。这两者的共同作用导致肿瘤区域的折射率高于正常组织。

在乳腺癌组织检测方面，癌症组织的含水量约60%左右，而正常乳腺组织的含水量约40%左右^[12]。THz光谱和成像技术也已被用来尝试揭示乳腺癌和正常组织的特征差异。2007年，P. C. Ashworth等人报道了人的新鲜离体乳腺癌组织在0.15~2.5THz范围内的复折射率高于正常脂肪和纤维组织^[13]。T. Bowman等人报道了石蜡包埋乳腺癌样本在0.1~1.2THz范围内的折射率和吸收系数高于正常脂肪和纤维组织^[14]。2012年，A. M. Hassan等人采用频率为2THz和3THz的反射式太赫兹成像系统，实现了石蜡包埋乳腺癌样本的肿瘤边缘评估^[15]。2016年，T. Bowman等人分别采用THz-TDS的反射式和透射式成像系统，实现了新鲜离体乳腺癌组织与脂肪和纤维组织的区分，并证明反射式成像在研究肿瘤区域识别方面具有更高的分辨率和灵敏度^[16]。另外，该团队利用THz-TDS反射式成像系统对乳腺浸润性导管癌组织、乳腺纤维腺体组织和脂肪这三种物质的模拟物进行三维成像，实验中将前两种物质置于脂肪模拟物上，根据脉冲的二次反射可以测量出平均反射厚度为392 μm ，这与脂肪的实际厚度400 μm 相接近^[17]。尽管THz-TDS系统能够同时提取脉冲THz信号的振幅和相位信息，但其输出功率较低，对高吸收特性样品的检测存在信噪比低的缺点，且由于时间延迟导致成像耗时较长。

H. Chen 等人通过对比离体新鲜乳腺癌组织与纯水的 THz 吸收光谱(108~143GHz),发现水分对新鲜乳腺癌组织吸收系数的贡献大于 78%,这证明水分含量的差异是新鲜乳腺癌 THz 波识别检测的主要原因之一。同时他们采用频率为 0.108THz 的连续 THz 波透射式成像系统实现了小鼠在体乳腺癌的检测。然而由于采用在体透射式测量,实验过程中需要将小鼠接种乳腺癌的后背皮肤区域拉出并用两块石英板覆盖在检测区域的上侧和下侧以减少散射,这样不仅增加实验难度还有可能损伤到实验对象^[18]。与透射式成像相比,反射式成像可直接将样品置于反射窗口成像,其不仅可获得样品的表面信息,还可实现样品的深部构造检测^[19]。

在本文中,采用频率为 2.52THz 的连续 THz 波反射成像系统对小鼠在体皮下乳腺癌模型进行了成像检测。实验结果表明,THz 成像可以实现在小鼠皮下乳腺癌区域与正常组织区分,THz 图像中显示的异常区域与肉眼可见肿瘤区域一致。在 THz 波反射成像中,乳腺癌区域的相对反射率高于正常皮肤组织。肿瘤区域的相对反射率为 83%±3%,正常组织的相对反射率为 68%±1.5%,肿瘤与正常组织间的相对反射率差值高达 15%。此外,对距离皮肤表面不同深度的离体乳腺癌组织进行切片和 H&E 染色,作为金标准对照。结果发现,肿瘤区域的细胞密度高于正常组织,且乳腺癌区域的面积随着距离皮肤表面深度的增加而增大。当距离皮肤表面 460μm 时,H&E 染色图片中的肿瘤面积与太赫兹波图像中的肿瘤区域基本一致。该实验结果表明 THz 波有望实现深部肿瘤的检测。

1 研究方法

1.1 实验装置

图 1 为 THz 波反射式成像系统示意图。此研究中,采用 CO₂ 激光泵浦的连续 THz 波气体激光器(FIRL100, Edinburgh Instruments Ltd, UK)作为 THz 光源,其具有输出功率高、连续波运转、可调谐、光束质量好及稳定性好的特点。在频率为 2.52THz 时,输出功率最高可达 150mW。因此,我们将 2.52THz 作为工作频率。实验中采用可在室温工作且稳定性较好的高莱探测器(GC-1P, Tydex Ltd.)接收 THz 波。考虑到高莱探测器的慢响应能力,由激光器出射的连续 THz 波被斩波器调制为正弦波,斩波器工作频率为 50Hz。为了降低功率波动所带来的噪声,THz 波被太赫兹波线栅偏振器(Microtech In-

struments, Inc.)分成两束,一束作为参考用于提高成像信噪比,另一束经过一个镀金平面镜和离轴抛物面镜准直和聚焦后,以 30° 斜入射到反射窗口,其焦点位于反射窗口的下表面,即物体的扫描成像表面。然后,携带样品信息的太赫兹波经两个离轴抛物面镜准直及聚焦后被 THz 探测器接收。离轴抛物面镜(1 和 2)的焦距为 50.8cm, F 值为 1。离轴抛物面镜(3)的焦距为 101.6cm, F 值为 2。待测样品被放置于反射窗口下并与反射窗口紧密接触。样品与反射窗口都被固定于 x-y 线性扫描移动平台(SIGMA KOKI CO., LTD.)上进行逐点扫描成像,扫描速率约为 10 像素/秒。通过刀口法测量可知,该反射式成像系统的分辨率为 600×600μm²,如图 2 所示。成像实验中,扫描步长设置为 200μm,温度控制在室温 23℃。实验中,将有无样品的太赫兹波反射成像图分别定义为 F_{sample} 和 $F_{\text{substrate}}$ 。考虑到反射窗口的不均匀性,样品的反射率通过将有无样品时太赫兹图像中对应的像素比值得到,即 $R = F_{\text{sample}} / F_{\text{substrate}}$ 。随后,采用该 THz 波图像 R 中反射率的最大值对图像进行归一化处理。

1.2 样品制备

本文所有动物实验的操作均依照中国动物福利法的规定进行,并且得到了陆军军医大学实验动物伦理委员会的许可。考虑到实验模型的造模难度及成功率,本研究采用小鼠皮下乳腺癌模型。为了使得研究模型更加贴近人组织,实验选用由北京华富康生物科技有限责任公司购买的 3 只 BALB/c 小白鼠,其是一种具有免疫功能的正常小鼠,重量在 10~20g 之间。本实验采用鼠源乳腺癌细胞 MCF-7,其被置于含有 10% 胎牛血清和 1% 抗生素的细胞培养基中培养。每只小鼠接种时,注射细胞浓度为 $5 \times 10^7/\text{ml}$,剂量为 0.3ml。接种前,首先采用戊巴比妥(40mg/kg)进行腹腔注射将小鼠麻醉,然后在小鼠左腋下进行乳腺癌细胞注射。两周后,进行太赫兹波在体反射式成像。太赫兹波成像前,首先采用戊巴比妥(40mg/kg)进行腹腔注射麻醉小鼠,然后将小鼠固定在具有手术标准的实验台上,如图 3(a)所示。然后采用脱毛剂进行脱毛处理,暴露肿瘤及正常组织区域,如图 3(b)所示。脱毛完毕后,患有乳腺癌的小鼠皮肤区域如图 3(c)中黑色虚线区域所示,恶性肿瘤周围区域整体硬度较周围正常组织高,肿瘤区域较正常组织突出。

在 THz 波在体反射成像检测前,我们选定样品

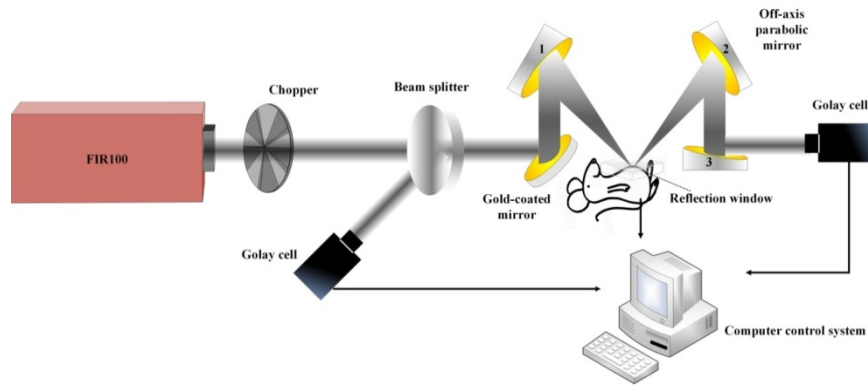


图1 连续 THz 波反射式成像系统示意图

Fig. 1 Schematic diagram of continuous THz wave reflection imaging system

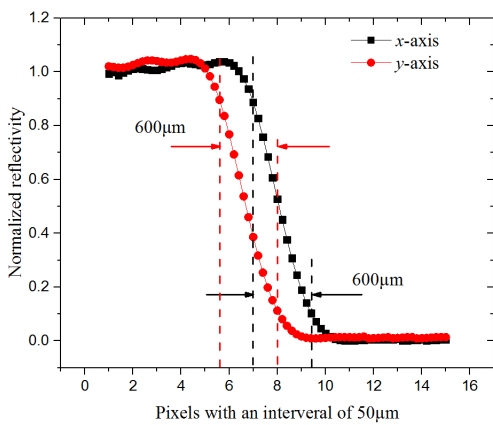


图2 采用刀口法测量聚焦光斑尺寸

Fig. 2 Measurement of the focal spot size by the knife-edge method

的待测区域,如图4(a)所示。将经过麻醉及脱毛处理的小鼠置于成像升降台上。为了降低样品表面漫反射对成像结果的影响,实验中采用对太赫兹波具有高透过率特性的石英材料作为反射窗口。然后,将小鼠通过升降台上升至反射窗口,并采用一定的压力确保样品待测区域与反射窗口紧密接触。

图4(b)中白色虚线与黑色虚线所示区域为与反射窗口紧密接触的肿瘤组织与正常组织。与图4(a)中的对应区域相比,肿瘤区域与正常区域未见明显变形。最后,以一定的扫描步长移动与样品紧密接触的反射窗口,通过点扫描的方式获得小鼠在体皮下乳腺癌组织的太赫兹波强度信息。此外,为了证明THz波反射成像结果的正确性,在太赫兹波在体反射式成像后将小鼠安乐死,并将患有乳腺癌的皮肤组织切除进行H&E病理染色对照。

2 结果讨论与分析

图3为小鼠在体乳腺癌检测样本的实物图和THz波反射式成像图。实验中共采用3只小鼠皮下乳腺癌模型,分别标号为NO. 1、NO. 2、NO. 3。为了降低反射成像中因样品表面不均匀引起的漫反射情况,样品检测区域与反射窗口紧密接触,如图5(a)所示。实验中,反射窗口覆盖了图5(a)中的所见区域。由于乳腺癌组织整体硬度较周围正常组织高,呈突起状,导致样品检测区域表面不平整,乳腺癌和正常组织的边界很难与反射窗口接触,仅有

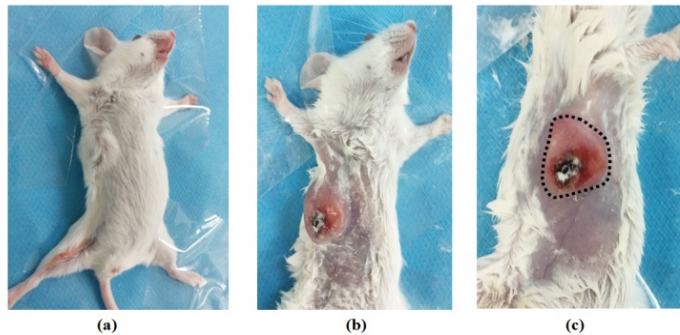


图3 小鼠皮下乳腺癌模型

Fig. 3 The subcutaneous breast cancer of mouse model

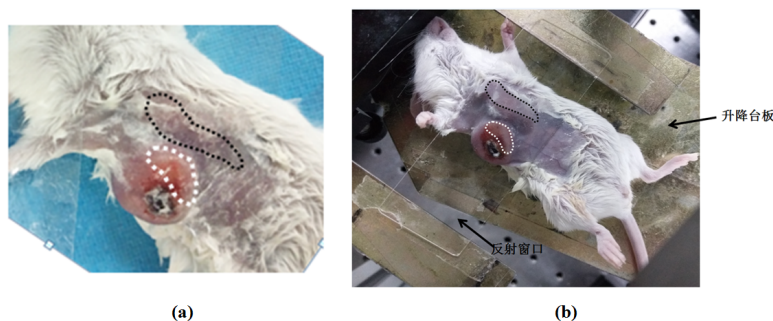


图4 (a) 样品未与反射窗口接触和(b)样品与反射窗口紧密接触
Fig. 4 The sample is (a) not and (b) in close contact with the reflection window

部分肿瘤区域和正常组织与反射窗口紧密贴合,如图5(a)中白色虚线区域的肿瘤组织和黑色虚线区域的正常组织。采用标准化的相对反射率值,获得3只在体小鼠乳腺癌模型的太赫兹波成像图,如图5(b)所示。在THz波图像中,高反射信号区域为乳腺癌区域,低反射信号区域为正常组织区域,分别如图5(b)中的红色区域和黄色区域所示。此结果与以往的乳腺癌太赫兹波检测结果相符^[15-16],此现象的原因在于肿瘤区域的含水量及细胞密度高于正常组织。这样,太赫兹波图像中乳腺癌和正常组织的位置和大小可被清晰的识别,且与图5(a)中白色虚线和黑色虚线所示的肿瘤和正常区域一致。在第一只小鼠(NO. 1)的检测中,正常组织的部分区域出现高反射信号。这是因为此区域有脱毛剂残留,脱毛剂中含有水,造成此区域的含水量增加而出现

高反射信号。

为了明确肿瘤组织与正常组织的反射率差异,图6绘出了图3(b)中水平方向紫色虚线位置的标准化相对反射率。从图6可知,肿瘤区域的相对反射率都高于正常组织。综合考虑所有样本,肿瘤区域的相对反射率为 $83\% \pm 3\%$,而正常组织的相对反射率为 $68\% \pm 1.5\%$,肿瘤与正常组织间的相对反射率差值约为15%。

为了验证连续THz波反射式成像结果的正确性,采用H&E染色对离体小鼠乳腺癌组织进行病理染色分析,作为金标准对照。图7为小鼠在体乳腺癌THz波成像实验后切除的乳腺癌组织。组织染色前,将新鲜离体乳腺癌组织放置在温度为 -20°C 的冰冻切片进行切片,切片厚度为 $20\mu\text{m}$ 。实验中对距离皮肤表面不同深度的新鲜离体样本进行了

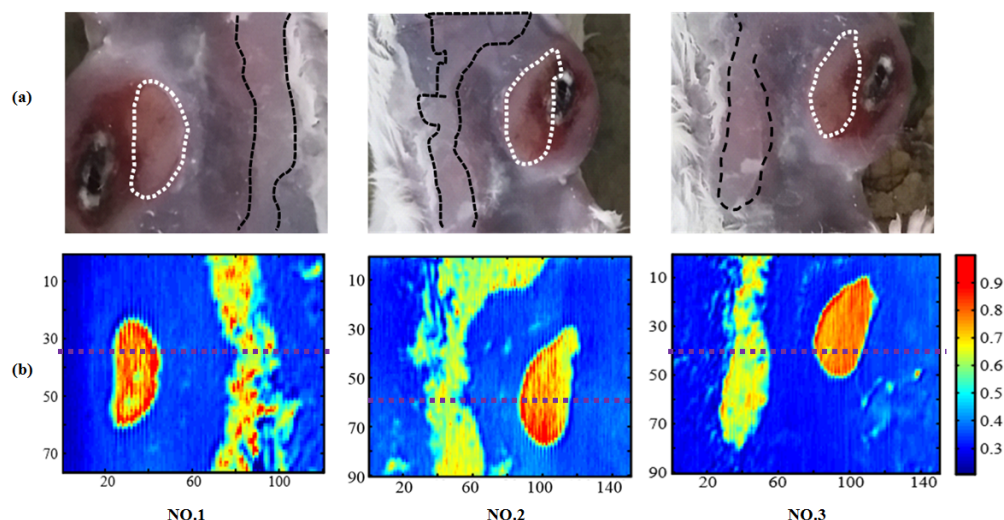


图5 小鼠乳腺癌组织(a)样品与反射窗口紧贴的相机图和(b)太赫兹波反射成像。其中,图(a)中白色虚线区域为肿瘤与反射窗口紧贴区域,(b)黑色虚线区域为正常皮肤组织与反射窗口紧贴区域。

Fig. 5 Breast cancer tissue of mouse (a) the visual images of sample in contact with reflection window and (b) reflection images of THz wave. (a) The white dotted area is the tumor in contact with reflection window and (b) The black dotted area is the normal tissue in contact with reflection window.

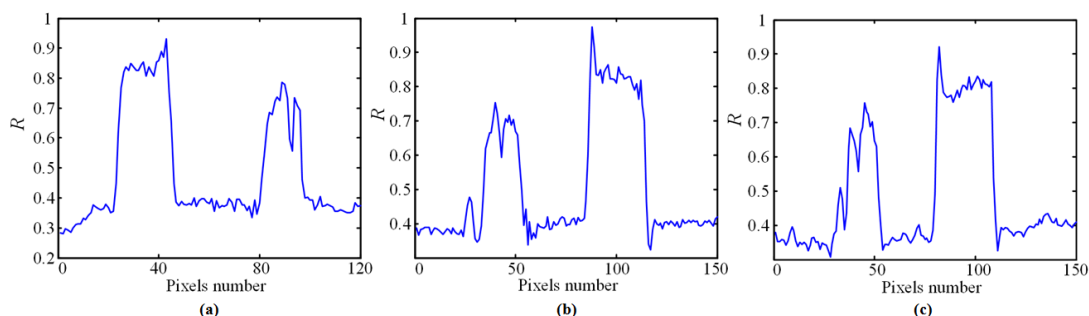


图6(a)、(b)和(c)分别为图3(b)NO. 1、NO. 2和NO. 3图水平方向紫色虚线位置的标准化相对反射率。

Fig. 6 (a), (b) and (c) show the normalized relative reflectivity of the horizontal purple dotted lines of Fig. 3 (b) NO. 1, NO. 2 and NO. 3, respectively.

H&E 染色处理。考虑到原始样品在冰冻状态下表面的不平整性,在制备 H&E 染色样品前对样品表面进行平整处理,共切掉 $200\mu\text{m}$ 厚的表面组织。图 8 (a)–(i)为距离皮肤表面不同深度的离体新鲜乳腺癌组织(NO. 1)的实物图。图中黑线区域所示为对应的切片染色区域。图 8(j)–(r)为不同深度样本组织的 H&E 染色图。染色图像中的紫蓝色区域为乳腺癌区域,如图 8(j)–(r)中的白色虚线区域所示。这源于肿瘤区域的细胞密度高于正常组织且苏木精染液可对细胞核的染色质着紫蓝色,因此肿瘤区域呈现较深的紫蓝色。通过对比图 5(a)和图 8(a)可知,用于切片的样品实物图和在天成像肿瘤检测区域实物图基本吻合,但 H&E 染色图 8(j)中显示的肿瘤面积明显小于图 5(b)THz 成像中所示的肿瘤面积。随着距离皮肤表面深度的增加,H&E 染色显示的肿瘤区域面积增大,如表格 1 所示。与图 5 中样

品 1 的太赫兹在天成像结果对比可知,当距离皮肤表面 $460\mu\text{m}$ 时,H&E 染色图片中显示的肿瘤区域与太赫兹图像中的肿瘤区域面积相等,都约为 8.2mm^2 。由此可知,太赫兹波对在体皮下乳腺癌的探测深度大约在 $460\mu\text{m}$ 左右。

THz 波成像作为医学影像的候选技术之一,其已成功应用于离体组织类型区分及浅表肿瘤病灶识别,然而采用 THz 波成像技术无标记原位识别乳腺体表层以下病灶、快速辨别乳腺癌残余情况依然是术中乳腺癌诊断的重点和难点。考虑到 THz 波在生物组织中的探测深度与组织的物理参数(折射率、吸收系数、密度等)相关^[20],位于正常皮肤组织下的肿瘤组织与正常组织的性质不同^[21],其会对入射的 THz 波有反射作用。当入射的 THz 波在能量足够强的情况下,可以探测到深部肿瘤反射的 THz 信号,从而实现深部肿瘤的无标记探测。此外,考虑

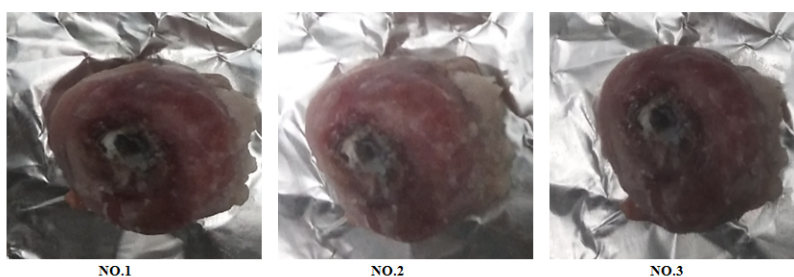


图7 新鲜离体患有乳腺癌的小鼠皮肤组织

Fig. 7 The freshly excised breast cancer tissue of mice

表 1 距离皮肤表面不同深度组织病理染色图中的肿瘤面积

Table 1 Tumor Sizes of Histological Images at different depths from the skin surface

深度(μm)	肿瘤面积(mm^2)	深度(μm)	肿瘤面积(mm^2)	深度(μm)	肿瘤面积(mm^2)
$d=200$	1.50	$d=400$	4.50	$d=800$	28.50
$d=260$	2.25	$d=460$	8.25	$d=860$	53.25
$d=320$	2.75	$d=520$	8.80	$d=920$	70.50

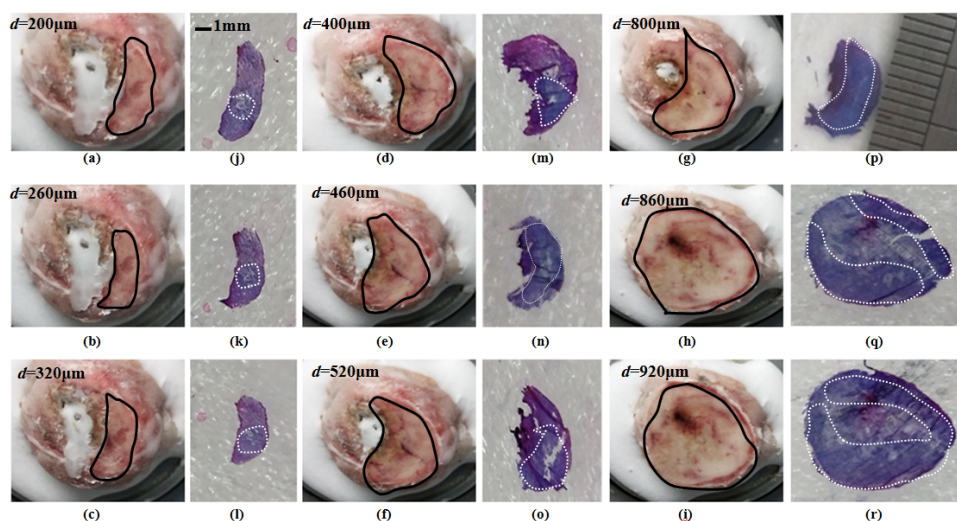


图8 新鲜离体乳腺癌组织(NO. 1)距离皮肤表面不同深度的实物图与切片H&E染色图

Fig. 8 Staining images of freshly excised breast cancer tissue (NO. 1) at different depths from skin surface

到乳腺癌组织的吸收系数和折射率随温度降低而减小的特性^[14],可以通过降低待测样品的温度,提高探测灵敏度。因此,太赫兹反射式成像技术有望为乳腺癌深部肿瘤无标记原位识别提供一种有效的诊断工具。

3 结论

该研究采用频率为2.52THz的连续太赫兹波反射成像系统,实现小鼠皮下乳腺癌模型在体反射成像。成像结果表明,太赫兹波高反射信号区域为乳腺癌区域且乳腺癌区域的反射信号高于正常组织。连续太赫兹波反射成像可清楚的识别乳腺癌区域,且与肉眼可见肿瘤区域相符。通过苏木精-伊红染色实验,证明肿瘤区域的细胞密度高于正常组织且肿瘤区域颜色被染成紫蓝色。尽管新鲜生物组织对太赫兹波有高吸收特性,然而本实验证明了太赫兹波反射成像可实现一定深度的皮下乳腺癌组织识别。由此可知,高频连续太赫兹波反射成像技术是一种实现生物组织在体成像可行且有效的方法,有望应用于各种病变组织的发展过程研究。

Reference

[1] Jemal A, Siegel R, Xu J, *et al.* Cancer statistics, 2010 [J]. *Ca-a cancer journal for clinicians*, 2010, **60** (5): 277-300.
 [2] Feig S A, Hendrick R E. Radiation risk from screening mammography of women aged 40-49 years [J]. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*, 1997, **22** (22): 119-124.
 [3] Brewer N T, Salz T, Lillie S E. Systematic review: the long-term effects of false-positive mammograms [J]. *An-*

nals of internal medicine, 2007, **146** (7): 502-510.

[4] Joseph C S, Patel R, Neel V A, *et al.* Imaging of ex vivo nonmelanoma skin cancers in the optical and terahertz spectral regions optical and terahertz skin cancers imaging [J]. *Journal of Biophotonics*, 2014, **7** (5): 295-303.
 [5] Grootendorst M R, Fitzgerald A J, Koning S G, *et al.* Use of a handheld terahertz pulsed imaging device to differentiate benign and malignant breast tissue [J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, **8** (6): 2932-2945.
 [6] Ji Y B, Oh S J, Kang S G, *et al.* Terahertz reflectometry imaging for low and high grade gliomas [J]. *Scientific Reports* 6, 2016: 36040.
 [7] Sim Y C, Park J Y, Ahn K M, *et al.* Terahertz imaging of excised oral cancer at frozen temperature [J]. *Biomedical Optics Express*, 2013, **4** (8): 1413-1421.
 [8] Png M G, Choi W J, Ng H W B, *et al.* The impact of hydration changes in fresh bio-tissue on THz spectroscopic measurements [J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2008, **53** (13): 3501-3517.
 [9] Wesseling P, Kros M J, Jeuken J. The pathological diagnosis of diffuse gliomas: towards a smart synthesis of microscopic and molecular information in a multidisciplinary context [J]. *Diagnostic Histopathology*, 2011, **17** (11): 486-494.
 [10] Meng K, Chen T N, Chen T, *et al.* Terahertz pulsed spectroscopy of paraffin-embedded brain glioma [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2014, **19** (7): 077001.
 [11] Yamaguchi S, Fukushi Y, Kubota O, *et al.* Origin and quantification of differences between normal and tumor tissues observed by terahertz spectroscopy [J]. *Physics in Medicine & Biology*, 2016, **61** (18): 6808-6820.
 [12] G. Bindu, S. J. Abraham, A. Lonappan, *et al.* Detection of dielectric contrast of breast tissues using confocal microwave technique [J]. *Microwave and Optical Technology Letters*, 2006, **48** (6): 1187-1190.
 [13] Ashworth P C, Pickwell-MacPherson E, Pinder S E, *et al.* Terahertz Spectroscopy of Breast Tumors [C]. International Conference on Joint International Conference on In-

- frared & Millimeter Waves, 2007.
- [14] Bowman T, Shenawee M E, Campbell L. Regional spectroscopy of paraffin-embedded breast cancer tissue using pulsed terahertz transmission imaging [C]. Conference on Optical Interactions with Tissue and Cells XXVII, 2016.
- [15] Hassan A M, Hufnagle D C, Shenawee M E, *et al.* Terahertz imaging for margin assessment of breast cancer tumors [C]. International Microwave Symposium Digest IEEE Mtt S International Microwave Symposium, 2012.
- [16] Bowman T, Shenawee M E, Campbell L K. Terahertz transmission vs reflection imaging and model-based characterization for excised breast carcinomas [J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, **7**(9): 375-3783.
- [17] Bowman T, Walter A, El-Shenawee M. Margin assessment of three-dimensional breast cancer phantoms using terahertz imaging [C]. Conference on Design and Quality for Biomedical Technologies IX, 2016.
- [18] Chen H, Chen T, Tseng T, *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): 1-2.
- [19] Rahman A, Rahman K A, Rao B. Early detection of skin cancer via terahertz spectral profiling and 3D imaging [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, **82**: 64-70.
- [20] Wallace V P, Fitzgerald A J, Shankar S, *et al.* Terahertz pulsed imaging of basal cell carcinoma ex vivo and in vivo [J]. *British Journal of Dermatology*, 2004, **151**: 424 - 432.
- [21] Shenawee M E, Vohra N, Bowman T, *et al.* Cancer detection in excised breast tumors using terahertz imaging and spectroscopy [J]. *Biomedical Spectroscopy and Imaging*, 2019, **8**: 1-9.