

文章编号: 1672-8785(2015)04-0043-05

太赫兹波对肠黏液的光谱检测

单 翌¹ 赵红卫² 刘勇超³

黄广建³ 朱亦鸣^{1*}

(1. 上海理工大学光电信息与计算机工程学院, 上海 200093 ;

2. 中国科学院上海应用物理研究所, 上海 201800 ;

3. 复旦大学附属华山医院, 上海 200040)

摘 要: 主要利用太赫兹时域光谱技术对人体正常肠组织表面黏液与癌变肠组织表面黏液进行检测。分别获得了不同样品在 0.2 THz~0.8 THz 波段的吸收系数和折射率。研究发现, 新鲜正常肠组织表面黏液的太赫兹吸收与水的吸收接近, 这提示水的贡献是主要的。同时, 癌变肠组织表面黏液在吸收系数和折射率强度上普遍比正常肠组织表面黏液样品高, 这表明该技术在癌组织检测中具有潜在的应用。研究结果表明, 太赫兹时域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泛的应用前景。

关键词: 太赫兹时域光谱技术; 肠癌; 肠黏液; 频谱分析; 吸收系数; 折射率指数

中图分类号: O433.1 **文献标志码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1672-8785.2015.04.009

Detection of Human Intestinal Mucus by Terahertz Pulsed Spectroscopy

SHAN Yi¹, ZHAO Hong-wei², LIU Yong-chao³,

HUANG Guang-jian³, ZHU Yi-ming^{1*}

(1. School of Optical-electrical and Computer Engineering, University of Shanghai
for Science and Technology, Shanghai 200093, China;

2. Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China;

3. Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

Abstract: The different surface mucus from human normal and cancerous intestinal tissues were investigated by terahertz time-domain spectroscopy technique and the absorption coefficient and refractive index were obtained in the range from 0.2 to 0.8 THz. The study found that the terahertz absorption intensity of fresh normal mucus is close to water, which indicating that the water in fresh tissue occupies the main contribution. The cancerous samples showed higher absorption coefficient and refractive index than that of the normal samples. It suggests that terahertz spectroscopy possesses the capability of identifying the cancerous tissue which has great potential application prospect in biological detection and tumor disease diagnosis.

Key words: terahertz time-domain spectroscopy; colon cancer; intestinal mucus; spectroscopic analysis; absorption coefficient; refractive index

收稿日期: 2015-02-06

作者简介: 单翌(1989-), 女, 内蒙古赤峰人, 硕士生, 主要利用太赫兹波对生物组织如胃癌组织、肠黏液组织等生物材料进行检测及研究。 * 通讯作者 E-mail: ymzhu@usst.edu.cn

0 引言

太赫兹 (Terahertz, THz) 波是介于微波和红外之间的一种电磁波, 它的波段通常定义在 0.1 THz ~ 10 THz 之间。太赫兹波具有非电离、非侵入和穿透性强等特性, 1 THz 电磁波的能量为 4.14 meV, 它对生物材料是安全无损的。同时, 不同物质在太赫兹波段常有不同的特征吸收, 因此, 近年来太赫兹时域光谱及成像技术在生物医学领域中的应用备受关注, 并在肿瘤组织检测中取得了突出的进展^[1,2]。

肠癌是常见的消化道恶性肿瘤之一, 它是指大肠粘膜上皮在环境或遗传等多种致癌因素作用下发生的恶性病变, 在全世界范围属于高发恶性肿瘤。肠癌的发病与生活方式、遗传和大肠腺瘤等关系密切。肠癌的诊断和早期发现对于治疗和预防具有重要意义。目前对肠癌的检查主要有结肠镜检查、活体组织检查和脱落细胞学检查。以上检查过程繁琐, 并会给患者带来较大痛苦。所以, 针对肠癌的方便快捷、准确和无痛苦的检测方法成为医学、生物监测等科研单位的一个重要研究课题。最新研究表明, 通过太赫兹检测肠组织的吸收和反射率等参数, 可以鉴别出组织的病变情况^[3,4]。

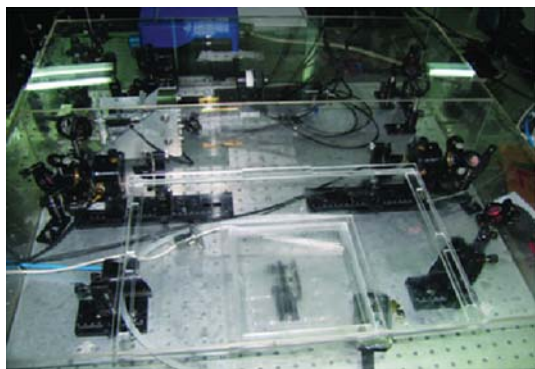
2011 年, Caroline B. Reid 等利用太赫兹时域光谱技术对癌变、发育不良以及正常的肠组织进行了研究, 他们分析了三种不同组织的吸收系数与折射率参数, 并根据 30 个病人样本的太赫兹光谱信号建立数据模型^[3]。经病理组织检验后, 发现癌变组织的血管量与正常组织相比明显增加, 证实了太赫兹光谱信号差异的来源。同年, Faustino Wahaia 等利用透射式太赫兹系统和连续太赫兹波成像系统对结肠组织进行了研究, 他们采用福尔马林固定结肠组织, 并用石蜡包埋处理样品。实验结果发现, 去除水的影响后, 正常结肠组织与癌变的组织的太赫兹成像存在区别^[4]。Mingxia He 等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, 在此基础上对新型肿瘤诊断方法在临床应用进行了探索^[4]。上述研究进展皆显示太赫兹波谱和成

像技术在辨别生物组织和病变诊断方面的有效性和实用性。基于能量低、无损、高灵敏度以及无标记检测特点, 太赫兹技术正逐渐成为未来研究癌症及相关疾病的新的重要方法和手段。然而, 目前分析理解太赫兹波与生物组织间的相互作用仍是需要克服的难题, 这些方面的研究是推进太赫兹技术在生物医学领域应用的重要基础。

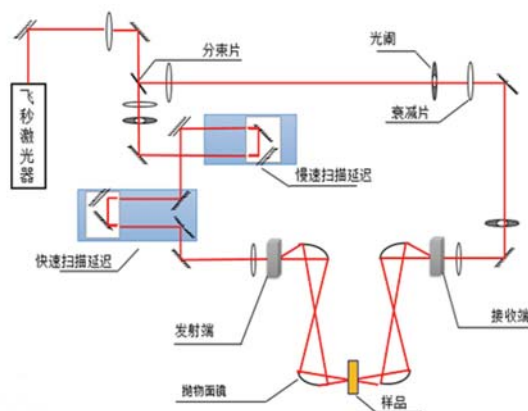
本文提出一种利用太赫兹时域频谱技术检测肠组织表面黏液的吸收系数谱和折射率谱的方法, 为肠组织癌变检测提供参考。通过实验对人体正常肠组织表面黏液与癌变肠组织表面黏液进行光谱检测, 分别获得了不同样品在 0.2 THz ~ 0.8 THz 波段的吸收系数和折射率, 并针对不同样品在该太赫兹波段的光谱响应和光学参数进行分析, 对太赫兹技术在肠癌无损探测领域的有效性进行了探索。目前尚未有对肠黏液的太赫兹技术检测研究, 因此开展相关研究对于肠癌的无损检测和理解太赫兹技术对含水生物样品的适用性均具有重要意义。

1 实验仪器及样品准备

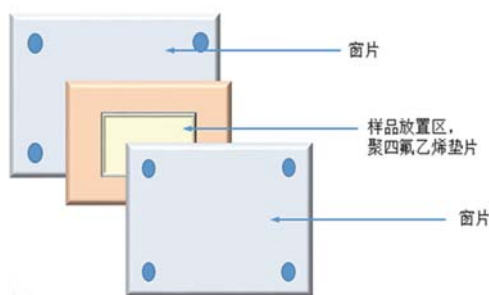
实验使用立陶宛 EKSPLA 公司生产的太赫兹时域光谱系统, 如图 1(a) 所示。本系统采用波长为 780 nm、脉宽为 94 fs 的 FemtoFiber pro NIR 激光器, 并利用透射模式进行测量。如图 1(b) 系统光路图所示, 激光经过分束镜后被分成泵浦光和探测光。泵浦光经光纤传输到发射端的光电导天线, 得到太赫兹脉冲电场强度随时间变化的波形。探测光入射到探测端的光电导天线上, 经过样品的太赫兹波携带上样品信息, 经过光电导天线得到电流响应, 得到样品的太赫兹信号。测量的样品不同, 相应的电流强度也不同。在本实验测量中, 系统的频域带宽为 0.1 THz ~ 2.5 THz。由于新鲜黏液样品含有大量水, 所以有效频谱范围选择 0.2 THz ~ 0.8 THz。频谱分辨率为 45 GHz, 系统信噪比大于 50 dB, 实验中采用 256 次频谱平均。



(a) 太赫兹时域光谱系统



(b) 太赫兹时域光谱系统光路图



(c) 样品架

图 1

样品架如图 1(c) 所示, 选用 Omni cell 液体池架, 并选用在太赫兹波段吸收小的透明聚苯乙烯板作为窗片。样品放置区使用不易变形的聚四氟乙烯薄膜作为垫片, 以控制样品厚度。样品架采用金属螺丝锁紧固定。

将样品竖直放置于太赫兹波的焦平面位置, 样品放置处太赫兹光斑的直径为 1.2 cm。实验中使用金属光阑将样品的直径控制在大小

统一的范围内, 以确保没有切光现象。窗片中间用厚度不易变形的聚四氟乙烯薄膜固定。实验中, 以空样品池为参考信号, 并以装有 300 μm 厚度的肠黏液为样品信号。以上实验均在室温条件下进行, 向光谱仪系统通入干燥空气, 将湿度控制在 3% 以下, 以减小空气中水分对信号的影响。

样品来自经医学鉴定的四位病人手术前后的癌变肠组织表面黏液和正常肠黏液, 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。实验数据均经重复测量三次和 256 次平均而获得, 以确保实验的重复性与准确性。

2 实验及结果分析

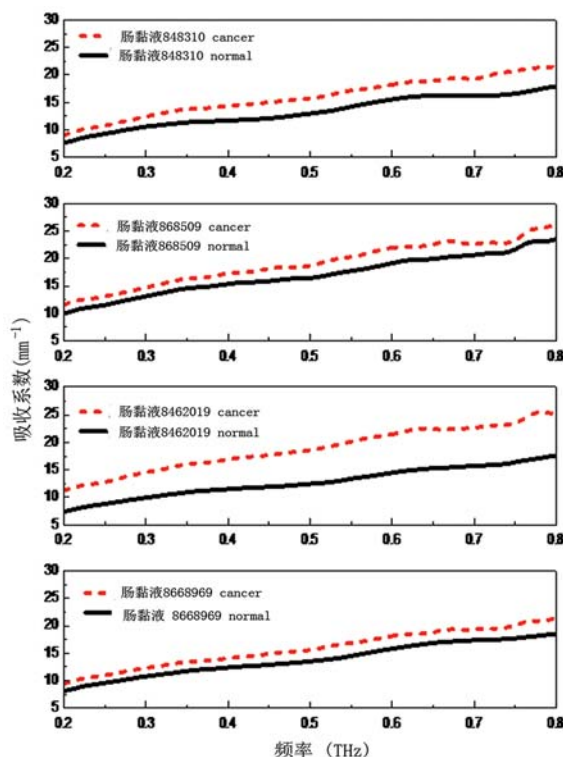
在测量过程中, 误差的来源很广泛, 需要将所有可能的影响因素考虑在内, 并综合评估其对信号的影响大小。首先, 样品来自不同患者癌变的肠黏液和手术后同一病人的正常肠黏液, 不同个体以及自身取样存在很大的差异。由于不同组织对太赫兹波的吸收程度不尽相同, 所以测量结果中具有一定的不可消除误差。其次, 为了保证样品的新鲜度, 本文采用的样品在剥离后均采用低温保存, 且在 8 小时内完成测量。再次, 在测量过程中, 每次换样后样品架的厚度会对信号的参数计算产生影响。虽然样品架中间的垫片采用的是不易变形的聚四氟乙烯材料, 但是螺丝的松紧程度仍会有微小差异。所以, 在测量时, 对每份样品重复三次测量, 取平均值, 这样在一定程度上可避免制样的误差。此外, 为避免实验过程中谱仪系统的波动, 所有样品均采用 256 次信号平均, 以有效抑制环境噪声带来的测量误差。

实验结果如图 2 所示, 采用太赫兹透射式光谱技术获得光学信号, 通过数据处理得到样品的吸收系数和折射率^[6]。

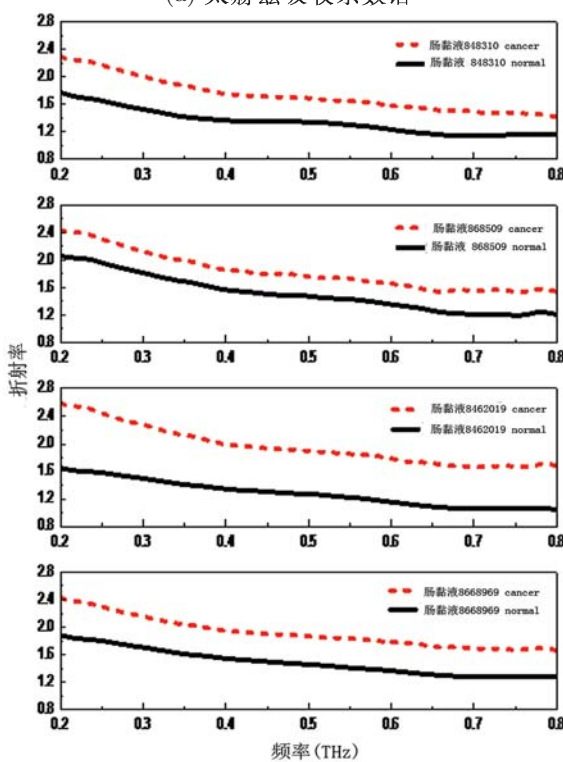
图 2(a) 中, 实线和虚线分别为患者的正常和癌变肠组织表面黏液的太赫兹吸收光谱。可以看出, 癌变组织样品的吸收系数明显大于正常样品。近几年的研究表明, 肿瘤组织的含水量通常大于正常组织, 含水量的差异是二者在太赫兹辐射下形成对比度的主要因素^[7]。水作为一种

极性介质对太赫兹波有较强的吸收,水中氢氧键的相互作用会形成网络结构。当其受到太赫兹波辐射时,水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^[8]。对于生物组织,含水量直接影响太赫兹波的吸收。含水量越多对太赫兹波的吸收越强,太赫兹信号的透过强度越低。黏液相对于脂肪、肌肉和皮肤等组织来说含水量更大,新鲜组织中水对太赫兹吸收的贡献非常大,吸收系数谱中所示样品的吸收强度非常接近水的吸收强度,表明水分对信号的影响占据主要地位^[9]。在图 2(a) 所示太赫兹吸收光谱中,0.2 THz 处正常肠黏液的太赫兹吸收系数约为 $7.43 \text{ mm}^{-1} \sim 9.91 \text{ mm}^{-1}$,癌变肠黏液的太赫兹吸收系数约为 $9.08 \text{ mm}^{-1} \sim 11.54 \text{ mm}^{-1}$ 。在所研究频谱范围内虽然未观察到明显的特征吸收峰,但两者在吸收强度上的差异明显。其中,癌变肠黏液的太赫兹信号吸收系数强度大于正常肠黏液的吸收强度。整体吸收强度随频率呈逐渐上升趋势。四组样品皆有相似的实验现象,提示吸收系数强度的差异可以用于鉴别癌变与正常肠组织表面黏液。

图 2(b) 所示为正常和癌变组织表面黏液在 0.2 THz~0.8 THz 波段的平均折射率。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的重要组成部分,可以反映样品物性和组织分布特点^[10]。由实验结果可知,0.2 THz 处正常肠黏液的太赫兹折射率约为 $1.65 \sim 2.07$,癌变肠黏液的太赫兹折射率约为 $2.42 \sim 2.60$ 。癌变肠组织表面黏液的折射率普遍比正常肠组织表面黏液高,且随频率的增加癌变肠组织表面黏液的折射率逐渐变小。Dibo Hou 等人曾使用太赫兹时域光谱系统对胃组织进行检测发现,癌变组织有较高梯度的吸收系数,而正常肝组织的参数则比较恒定^[11]。这些研究结果皆提示,折射率的差异也可以为正常和癌变组织状态的判断提供参考。



(a) 太赫兹吸收系数谱



(b) 太赫兹折射率谱

图 2 四份不同病人的肠黏液样品

3 结论

利用太赫兹时域光谱技术对人体新鲜肠组织表面黏液进行了检测。分别比较了癌变和正常肠组织表面黏液样品对太赫兹波的吸收响应,并获得了样品的吸收系数和折射率。在0.2 THz~0.8 THz 范围内观测到,黏液样品的吸收系数接近水的吸收系数,提示该组织中水的含量可能占据太赫兹吸收信号的主要地位。癌变肠组织所分泌的肠黏液的太赫兹光谱吸收和折射率参数强度普遍比正常黏液样品的高,借此可以分辨癌变的肠表面黏液组织。为了进一步探究两种样品的差异,我们需要控制影响信号的来源,抑制组织中水分的影响。常见的抑制水分对信号吸收的方法是采用低温冷冻,但低温处理会使细胞中的水形成冰晶,可能导致细胞破裂损伤^[12]。本文对新鲜样品直接进行探测,虽然水对太赫兹信号的影响显著,但仍然能观察到癌变与正常肠黏液信号的明显差异。去除样品中的水分能够提高检测的有效性,但进一步的制样方法还有待探索。后期工作将考虑对样品采用真空低温脱水处理,使组织内部的水分快速升华,在一定程度上除水,并尽可能减小冷冻过程中产生的冰晶对样品细胞结构的破坏。研究表明,利用太赫兹光谱技术可以分辨正常和癌变肠黏液。进一步的工作将根据大量统计研究建立太赫兹光谱信号与癌变程度之间的关联,以便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。

致谢

感谢复旦大学附属上海华山医院为本文实验提供样品。

参考文献

- [1] Wahaia F, Kasalynas I, Seliuta D, et al. Terahertz Spectroscopy for the Study of Paraffin-embedded Gastric Cancer Samples[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2015, **1079**: 391–395.
- [2] 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.
- [3] Reid C B, Fitzgerald A, Reese G, et al. Terahertz Pulsed Imaging of Freshly Excised Human Colonic Tissues[J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2011, **56**(14): 4333–4353.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] Pupeza I, Wilk R, Koch M. Highly Accurate Optical Material Parameter Determination with THz Time-domain Spectroscopy[J]. *Optics Express*, 2007, **15**(7): 4335–4350.
- [7] Taylor Z D, Garritano J, Sung S, et al. THz and mm-Wave Sensing of Corneal Tissue Water Content: Electromagnetic Modeling and Analysis[J]. *Terahertz Science and Technology, IEEE Transactions on*, 2015, **5**(2): 170–183.
- [8] Saykally R J. Terahertz spectroscopy of water clusters[C]. *Infrared, Millimeter, and Terahertz waves (IRMMW-THz), 2014 39th International Conference on. IEEE*, 2014: 1–2.
- [9] 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.
- [10] 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**(1): 133–137.
- [11] 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): 5423–5420.
- [12] 李喜龙, 季维智. 动物种质细胞的超低温冷冻保存 [J]. *动物学研究*, 2000, **21**(5): 407–411.