

生物组织脱水过程的太赫兹时域光谱

杨航^{1,2}, 赵红卫³, 张建兵³, 朱亦鸣⁴, 刘永彪^{1*}

(1. 南京医科大学基础医学院, 江苏南京 210029;

2. 江苏盛泽医院肿瘤中心, 江苏苏州 215228;

3. 中国科学院上海应用物理研究所, 上海 201800;

4. 上海理工大学上海市现代光学系统重点实验室, 上海 200093)

摘要:利用透射式太赫兹时域光谱 (THz-TDS) 技术对猪脂肪、肌肉和皮肤三种新鲜组织的持续脱水过程进行在线连续扫描, 观察太赫兹波时域谱在组织脱水过程的变化, 并分析比较三种组织脱水前后的太赫兹波吸收系数及折射率的改变及差异. 结果表明, 太赫兹波对新鲜组织含水量的改变十分敏感, 新鲜组织的含水量是影响太赫兹波吸收系数的主要因素. 同时, 不同组织对太赫兹的吸收有明显差异, 表明太赫兹光谱技术可以鉴别不同的组织类型. 本研究为太赫兹技术在生物医学领域的进一步研究和应用提供了帮助.

关键词:太赫兹; 生物组织; 脱水; 吸收系数; 折射率

中图分类号:R319, R318.51, TN219 **文献标识码:**A

The dehydration processes of biological tissues investigated by terahertz time-domain spectroscopy

YANG Hang^{1,2}, ZHAO Hong-Wei³, ZHANG Jian-Bing³, ZHU Yi-Ming⁴, LIU Yong-Biao^{1*}

(1. School of Basic Medical Sciences, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China;

2. Tumor Center, Jiangsu Shengze Hospital; Suzhou 215228, China;

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

4. Engineering Research Center of Optical Instrument and System, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: The continuous dehydration processes of adipose, muscle and skin from pork were investigated by transmitted terahertz time-domain spectroscopy (THz-TDS). The changes of terahertz spectroscopy during the dehydration have been observed, and the difference of absorption coefficient and refractive index at the beginning and end of the dehydration among three biological tissue samples were compared. The results show that terahertz spectroscopy is sensitive to the change of water content in the fresh tissues, and water content is the primary factor to influence the absorption coefficient of fresh tissues. Moreover, there are significant differences in the absorption of the terahertz spectroscopy for different tissues, indicates that the transmitted THz-TDS enable to distinguish different biological tissues.

Key words: Terahertz, biological tissues, dehydration, absorption coefficient, refractive index

PACS: 87.50.ux

引言

如同 100 多年前伦琴发现 x 射线一样, 太赫兹波 (THz) 的出现为人们认识和观察事物开启了新的

窗口. 得益于太赫兹波所具有的非电离、非侵入以及光谱连续和相位敏感性等特性, 太赫兹光谱和成像技术在生物医学领域的应用备受关注.^[1]

利用太赫兹技术对肿瘤和正常组织进行鉴别的

收稿日期: 2013-04-12, 修回日期: 2013-05-02

Received date: 2013-04-12, revised date: 2013-05-02

基金项目: 国家自然科学基金项目资助 (60977064, 60907044); 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (Y329021011)

Foundation items: Supported by National Natural Science Foundation of China (60977064, 60907044) and Knowledge Innovation Program of the Chinese Academy of Sciences (Y329021011)

作者简介 (Biography): 杨航 (1987-), 内蒙古包头市人, 硕士生, 主要从事肿瘤放射治疗以及 THz 技术在生物医学领域应用的研究工作. E-mail: runningwater 23@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author): yongbiaoliu@yahoo.com.cn.

实验研究,最近取得了较好的效果。^[2-7]研究表明,肿瘤组织与正常组织的含水量差异是二者在太赫兹辐射下对比度形成的主要影响因素。^[8-10]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.一个水分子可以通过四个氢键和其周围水分子连接,形成一个局域四面体结构.当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,并经弛豫形成新的氢键网络^[11-12].其中,水中氢键的形成和断裂发生在皮秒量级^[13].也就是说,水分子间在皮秒量级时间内可以发生多种相互作用,并在远红外和微波区域产生共振和弛豫,形成对太赫兹波的强烈吸收^[14],导致含水量低的区域对太赫兹波吸收少,透过性高;反之,含水量高的区域透过性低.肿瘤组织的含水量常大于正常组织^[8-9],因此,利用太赫兹光谱技术能够将正常与异常组织区分开.针对太赫兹辐射对水敏感这一特性,Wang Y Y^[15-16]曾利用太赫兹光谱技术考察了鸡肉和猪肉组织内含水的体积分数并与其他常用的测量方法进行对照,结果比较接近.此外,不同的组织结构以及某些生物分子(如蛋白质、DNA等)含量的差异也对太赫兹辐射产生不相同的响应^[2-3, 5].

由于生物组织中含有丰富的水,如何克服水分子对太赫兹波的吸收,从具有很强水分子吸收背景中提取生物组织的太赫兹特征吸收,是太赫兹光谱技术走向实际应用前必须解决的基本问题.本文利用 THz-TDS 光谱技术对新鲜的猪肌肉组织、脂肪组织和皮肤(主要选取表皮组织,含少量真皮层组织)含水及脱水过程进行研究,获得了不同样品太赫兹波段的吸收特性,以讨论太赫兹技术应用到组织类型鉴别方面的可行性以及在临床医学领域的应用前景.

1 实验仪器及实验方法

1.1 实验仪器

实验中的透射式太赫兹光谱装置由美国光谱物理公司的 Mai Tai 钛蓝宝石飞秒激光器和美国 Zometa 公司的 THz-TDS 系统组成^[17].激光泵浦功率为 4.0 W,输出功率为 500 mW,中心波长 800 nm,脉冲宽度约 80 fs,重复频率 80 MHz.激光器产生的激光脉冲分为两束,一束作为泵浦光,另一束作为探测光.泵浦光激发光导天线上 GaAs 晶体产生光生载流子,载流子在外加偏置电场作用下加速运动而发射太赫兹波.太赫兹波经抛物面镜聚焦后透过样品,

与探测光共线穿过 ZnTe 晶体.通过电光采样技术获得包含振幅和相位信息的透射时域谱.

1.2 实验材料及准备

将新鲜猪皮组织、脂肪组织及肌肉组织切成厚度均匀的薄片,用螺旋测微仪测量厚度,测量大于十次并取平均值.将组织样品平整的置于样品架上,以氮气做参比.在氮气流速稳定(10 L/min)情况下吹扫样品周围.组织中的水分逐渐挥发,连续测量,直至太赫兹信号不再变化.表 1 为扫描前后各组织样品厚度及重量变化情况.

表 1 各组织脱水前后样品厚度及重量变化
Table 1 The change of thickness and weight of three tissue samples before and after dehydration

组织/参数	厚度 (mm)			重量 (mg)		
	新鲜 Fresh	干燥 Dry	收缩率 Reduction	新鲜 Fresh	干燥 Dry	失水比重 Reduction
皮肤组织 Skin	0.999	0.590	40.9%	711	366	48.5%
脂肪组织 Adipose	1.001	0.898	10.3%	801.1	592	26.1%
肌肉组织 Muscle	0.795	0.471	40.8%	952.3	345.4	63.7%

2 结果与分析

图 1(a)为实验开始和结束时氮气环境的参比,两条时域谱曲线有较好的重合,表明实验设备在测量区间稳定.图 1(b)、(c)、(d)分别为脂肪组织、肌肉组织和皮肤组织持续干燥脱水情况下的时域谱,每种组织样品的时域谱都会随着氮气吹扫时间的延长产生规律性的改变.其中,太赫兹时域信号强度的变化主要归于组织含水量的改变,随着含水量的下降,组织对太赫兹波的吸收也逐渐减弱,透射信号的强度也随之增加,而峰值延迟时间的改变则受脱水造成的组织形态上的收缩变形以及组织折射率改变的共同影响.三种样品的时域谱峰值大小(peak value)和峰值延迟(time delay)随脱水时间的变化见图 2.

无论是时域谱峰值大小(图 2a)还是峰值延迟曲线(图 2b),脂肪组织的变化都比较平缓,这表明脂肪组织含水相对较少,受干燥环境的影响小.皮肤组织和肌肉组织的太赫兹信号随脱水时间延长发生显著的改变,这主要由于其组织含水量较大,易受干燥环境影响而失水.皮肤组织的太赫兹时域峰值变化,在干燥 110 min 后逐渐趋于稳定,而肌肉组织直到 140 min 时才趋于平稳,表明皮肤组织更早的达

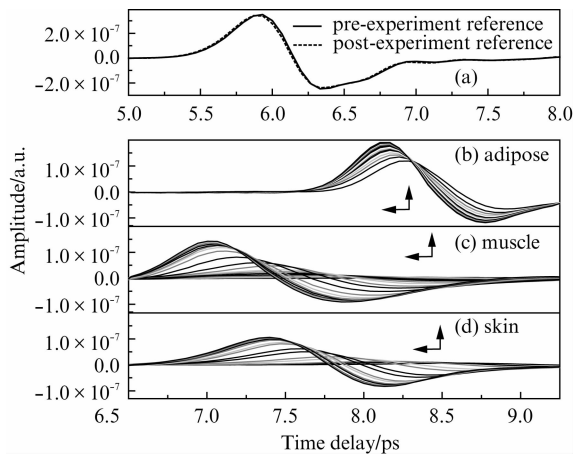


图1 三种组织连续脱水状态下的太赫兹时域谱曲线。(a)实验前后氮气环境下的参考信号,(b)脂肪组织随脱水时间的的光谱变化,通气时间为140 min,(c)肌肉组织随脱水时间的的光谱变化,通气190 min,(d)皮肤组织随脱水时间的的光谱变化通气时间为130 min.图中箭头表示时域最大峰随脱水时间的变化和发生的位移

Fig. 1 The change of time-domain spectroscopy of three biological tissue samples during the dehydration. (a) Reference signal of N_2 at the beginning and end of the experiment, (b) the spectra of adipose during the dehydration, time is 140 min, (c) spectra of muscle, 190 min, (d) spectra of skin, 130 min. The peak value and shift of position at the beginning and end of the experiment are marked

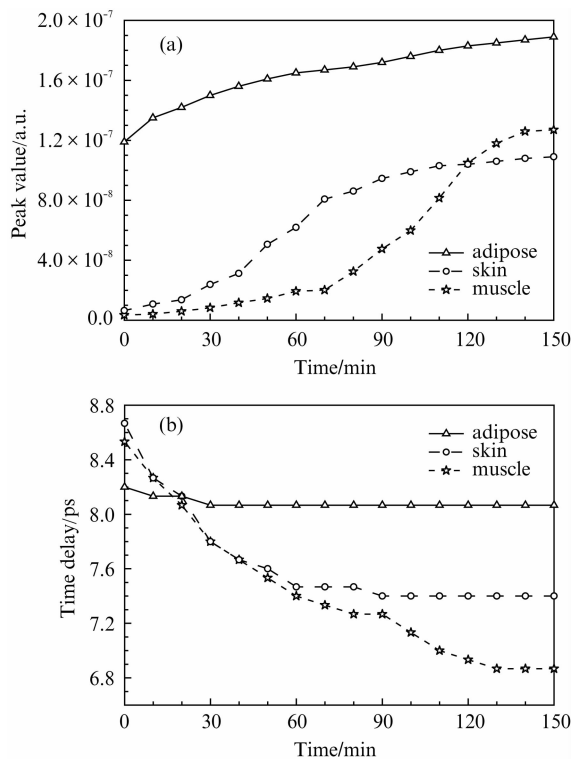


图2 (a)脂肪组织、皮肤组织和肌肉组织太赫兹时域谱峰值及,(b)时间延迟,随脱水时间的变化

Fig. 2 (a) The change of the peak value, (b) time delay of three tissue samples during the dehydration

到了干燥状态.以上分析表明,太赫兹波对组织样品内含水量的变化非常敏感,能够对组织的脱水状态做出评估.

图3为经傅里叶变换的三种组织样品的频域谱.由于采用实时扫描,数据量较大,因此只列出其中部分频域谱曲线.图3(a)显示脂肪组织脱水前后的频域谱变化很小.而图3(b)肌肉组织在脱水初期频域谱曲线在高频段(大于0.6 THz)出现较明显的波动,其原因是测量初期新鲜组织内含水量较大,对太赫兹波吸收强烈,透过性差,导致信噪比低.随着脱水时间的延长,组织内水分逐渐减少,太赫兹波透过信号也随之增强.这种情况同样出现在皮肤组织的脱水过程中.

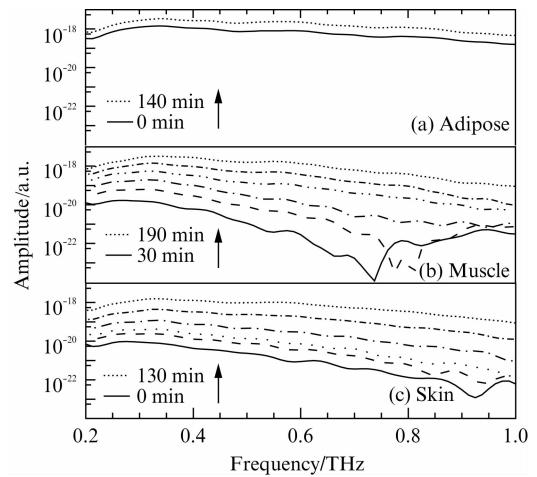


图3 脂肪、肌肉和皮肤三种组织随干燥时间的延长太赫兹频域谱曲线的变化

Fig. 3 The spectra of THz frequency-domain spectroscopy of three biological tissue samples during the dehydration

根据 Duvillaret L 的数据处理方法^[18],利用实验测量脱水前后组织样品的厚度以及太赫兹波频域谱数据,计算获得组织样品脱水前后与频率相关的吸收系数和折射率曲线(见图4).比较图4中三种新鲜组织样品(实心点)的吸收系数曲线(虚线),可看到三者在所测量的太赫兹频段内有显著差异.其中,对太赫兹波吸收最强烈的是肌肉组织,吸收系数在 100 cm^{-1} 以上,其次为皮肤组织,吸收系数在 $50\sim 100\text{ cm}^{-1}$ 之间,而脂肪组织对太赫兹波吸收很小, $0.2\sim 1.4\text{ THz}$ 的频段内其吸收系数均小于 40 cm^{-1} .对同一组织脱水前后的吸收系数进行比较可发现,肌肉组织吸收系数变化最大,在 0.8 THz 处脱水后吸收系数较脱水前减少了66.4%.其次为皮肤组织, 0.8 THz 处吸收系数减少了57.8%.而脂肪组织

变化最小,0.8 THz 处吸收系数减少 35.5%。对比脱水前后组织重量,肌肉组织失水比重约 63.7%,其次为皮肤组织 48.5%,脂肪组织 26.1%,与文献[15]报道基本一致。显然吸收系数的改变与组织失水量密切相关,表明新鲜组织含水量的差异是影响太赫兹吸收强度的主要因素。对比脱水后脂肪、肌肉和皮肤组织(空心点)的吸收系数,前两者与皮肤组织在大于 0.6 THz 的频段内差异仍较明显,而干燥的肌肉组织与皮肤组织间的差异较新鲜组织间小,并在某些频段重合,表明利用吸收系数的差异可以将脱水的脂肪组织、肌肉组织和皮肤组织区分开。对比三种组织脱水前(实心点)的折射率曲线(实线),发现新鲜的肌肉和皮肤组织折射率波动较明显,推测这可能和二者含水量高所导致的透射信号衰减相关。脱水后各组织折射率均在 1.55~1.85 范围间,与文献[19]报导基本吻合,并且在 1.0~1.4 THz 的频段内三种样品折射率差异最显著,表明折射率可以作为鉴别组织类型的一项指标。同一组织脱水前后的折射率曲线对比显示,脂肪组织的折射率并无明显变化,说明含水量的变化没有对组织的折射率造成明显影响,而皮肤和肌肉组织折射率在脱水前后变化较大,可能是其脱水过程中组织结构或水合状态发生改变所致。以上分析表明,扫描分析较厚且含水量较大的组织时,吸收系数可以作为鉴别组织间差异的主要参数和指标^[20],折射率的变化可作参考;分析含水量较小的组织时,折射率以及吸收系数均可作为鉴别组织类型的指标^[5, 21]。

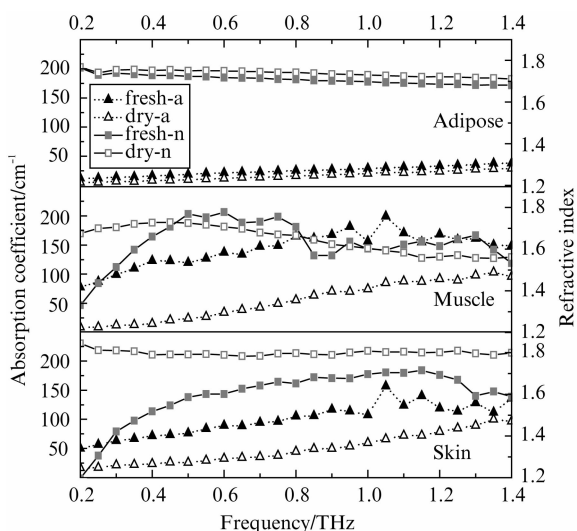


图4 脂肪组织、皮肤组织和肌肉组织干燥前后的吸收系数和折射率对比

Fig. 4 Absorption coefficient and refractive index of adipose, muscle and skin before and after dehydration

3 讨论

猪皮肤组织的主要成分为胶原蛋白,肌肉组织的基本成分为肌纤维蛋白。蛋白质自身的结构基础依赖于疏水键、氢键和静电力等一系列对太赫兹波敏感的非共价键,其基本组成单位氨基酸也在太赫兹波段内拥有特征共振吸收峰^[5],并且在生物组织内蛋白质与周围水依靠氢键形成水壳层结构^[22],因此对太赫兹波吸收较强。高等动物的脂肪是甘油三酯的混合物,其基本结构是非极性的、疏水的甘油酯三酯以脂滴的形式储存于脂肪细胞中。甘油三酯表面没有羟基或氨基等亲水基团,与蛋白质、多糖等其他生物大分子相比其周围储存的结合水很少。因此脂肪组织与皮肤、肌肉组织在吸收系数上表现出了明显差异。Singh R S 等^[23]利用反射式太赫兹系统对香肠内所含的肌肉以及脂肪组织区域进行成像研究,结果显示肌肉组织区域相对于脂肪组织区具有更高的反射信号强度。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,因而较正常组织蛋白质含量更高,脂肪含量更低^[24],这或许是它们除水之外形成太赫兹信号差异的重要因素^[5]。

虽然皮肤组织和肌肉组织在组织学结构上区别很大,但二者脱水后在吸收系数上并没有体现出很大的差异,表明组织结构的差异对太赫兹波吸收系数的影响相对较小。He M^[25]以及 Wilminck G J^[26]等均报道过不同种类动物的相同组织类型其太赫兹吸收系数十分接近,也证实了这一结论。

在实验开始阶段,含水丰富的新鲜肌肉组织和皮肤组织的频域谱出现了明显波动,透射信号信噪比降低,并影响折射率的精确性。对于较厚的组织样品,这种情况更为突出^[16]。虽然利用脱水、冷冻、制作薄片等方法可以避免水的干扰,但这些处理同时也会影响新鲜组织的水合状态及组织结构,使新鲜组织特别是活体测量受到限制^[26]。反射式太赫兹系统^[21, 23, 26]则在一定程度上避免了透射式测量的不足。

实验过程也存在一些技术层面的不足尚待解决:脱水过程中,样品实时的折射率和吸收系数的变化由于缺乏精确的厚度信息而无法获得,如果通过恰当的方法能够实现连续扫描样品厚度,那么组织脱水的过程将会得到更深入的分析 and 探究,水在组织中所扮演的角色也将更加清晰。

4 结论

利用透射式太赫兹时域光谱技术对新鲜的猪肌

肉、皮肤和脂肪组织的脱水过程进行连续扫描,结果表明太赫兹波对动物组织内含水量的细微变化十分敏感.通过分析比较新鲜和脱水组织的吸收系数和折射率的变化,证实含水量是影响新鲜组织对太赫兹波吸收的主要因素.而在脱水情况下,组织的基本组成成分特点成为鉴别不同组织类型的关键因素.因此,利用太赫兹光谱技术可以鉴别不同的组织类型.虽然本研究的实验样本来自单一主体,要给出定量的结论尚缺乏统计功效,但实验结果仍然提示太赫兹技术应用于组织类型鉴别是可行的.

References

- [1] He M X, Chen T, Yang J L, *et al.* The application of terahertz imaging in tumor diagnosis[J]. *Tumor.* (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. *肿瘤*) 2012(12): 1039 - 1042.)
- [2] Wallace V P, Fitzgerald A J, Pickwell E, *et al.* Terahertz pulsed spectroscopy of human Basal cell carcinoma [J]. *Appl Spectrosc.* 2006, **60**(10): 1127 - 1133.
- [3] Fitzgerald A J, Wallace V P, Jimenez-Linan M, *et al.* Terahertz pulsed imaging of human breast tumors[J]. *Radiology.* 2006, **239**(2): 533 - 540.
- [4] Chiu C M, Chen H W, Huang Y R, *et al.* All-terahertz fiber-scanning near-field microscopy[J]. *Opt Lett.* 2009, **34**(7): 1084 - 1086.
- [5] 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.
- [6] Joseph C S, Yaroslavsky A N, Neel V A, *et al.* Continuous wave terahertz transmission imaging of nonmelanoma skin cancers[J]. *Lasers in Surgery and Medicine.* 2011, **43**(6): 457 - 462.
- [7] 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), 2012 IEEE MTT-S International.* IEEE, 2012: 1 - 3.
- [8] Bruhlmeier M, Roelcke U, Bl A Uenstein P, *et al.* Measurement of the extracellular space in brain tumors using ⁷⁶Br-bromide and PET[J]. *Journal of Nuclear Medicine.* 2003, **44**(8): 1210 - 1218.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] Kindt J T, Schmittenmaer 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.
- [12] Stanley H E, Buldyrev S V, Canpolat M, *et al.* The puzzle of liquid water: a very complex fluid[J]. *Physica D: Non-linear Phenomena.* 1999, **133**(1): 453 - 462.
- [13] Starr F W, Nielsen J K, Stanley H E. Hydrogen-bond dynamics for the extended simple point-charge model of water [J]. *Physical Review E.* 2000, **62**(1): 579.
- [14] Yada H, Nagai M, Tanaka K. Origin of the fast relaxation component of water and heavy water revealed by terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy [J]. *Chemical Physics Letters.* 2008, **464**(4): 166 - 170.
- [15] Wang Y, Minamide H, Tang M, *et al.* Study of water concentration measurement in thin tissues with terahertz-wave parametric source [J]. *Optics Express.* 2010, **18**(15): 15504 - 15512.
- [16] Wang Y Y, Notake T, Tang M, *et al.* Terahertz-wave water concentration and distribution measurement in thin bio-tissue based on a novel sample preparation[J]. *Physics in medicine and biology.* 2011, **56**(14): 4517.
- [17] Zhang Z, Yu X, Zhao H, *et al.* Component analysis to isomer mixture with THz-TDS[J]. *Optics communications.* 2007, **277**(2): 273 - 276.
- [18] Duvillaret L, Garet F, Coutaz J L. A reliable method for extraction of material parameters in terahertz time-domain spectroscopy[J]. *Selected Topics in Quantum Electronics, IEEE Journal of.* 1996, **2**(3): 739 - 746.
- [19] Hoshina H, Hayashi A, Miyoshi N, *et al.* Terahertz pulsed imaging of frozen biological tissues [J]. *Applied Physics Letters.* 2009, **94**(12): 123901.
- [20] Liu C, Cui E, Liu W, *et al.* Analysis on the characteristics of biological tissues based on the terahertz time domain spectroscopy system[C]. *International Symposium on Photoelectronic Detection and Imaging 2011. International Society for Optics and Photonics,* 2011: 81951M - 81951M - 7.
- [21] Sun Y, Fischer B M, Pickwell-Macpherson E. Effects of formalin fixing on the terahertz properties of biological tissues[J]. *Journal of biomedical optics.* 2009, **14**(6): 64017.
- [22] Ebbinghaus S, Kim S J, Heyden M, *et al.* An extended dynamical hydration shell around proteins[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2007, **104**(52): 20749 - 20752.
- [23] Singh R S, Taylor Z D, Culjat M O, *et al.* Towards THz medical imaging; reflective imaging of animal tissues[J]. *Stud Health Technol Inform.* 2008, **132**: 472 - 474.
- [24] Ashworth P C, Pickwell-Macpherson E, Provenzano E, *et al.* Terahertz pulsed spectroscopy of freshly excised human breast cancer[J]. *Opt Express.* 2009, **17**(15): 12444 - 12454.
- [25] 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.
- [26] Wilmink G J, Ibey B L, Tongue T, *et al.* Development of a compact terahertz time-domain spectrometer for the measurement of the optical properties of biological tissues[J]. *Journal of Biomedical Optics.* 2011, **16**: 47006.