

太赫兹生物医学应用研究现状

郭缘森^{1,2,3}, 陈利刚^{1,2,3}, 颜识涵^{1,2,3}, 付 颖^{1,2,3}, 邱付成^{1,2,3}, 杨忠波^{1,2,3},
张明焜^{1,2,3}, 汤明杰^{1,2,3}, 王化斌^{1,2,3*}

(1. 中国科学院重庆绿色智能技术研究院 超分辨光学研究中心, 重庆 400714;

2. 中国科学院大学重庆学院, 重庆 400714;

3. 重庆市高分辨三维动态成像检测工程技术研究中心, 重庆 400714)

摘要: 近年来, 太赫兹(Terahertz, THz)技术在生物医学领域的应用研究发展迅速。科技工作者利用 THz 技术在生物分子、细胞、组织及生物个体等层面取得了一系列的重要研究成果, 为生物医学研究和诊疗提供了新视角和手段。作者从 THz 光谱检测、成像及生物效应三个方面总结了 THz 技术在生物医学领域的研究现状, 分析了 THz 技术在生物医学应用中所面临的挑战, 并对未来的发展方向进行了展望。

关 键 词: 太赫兹; 生物医学应用; 光谱; 成像; 生物效应

中图分类号: O43 文献标识码: A

Current research status of terahertz biomedical applications

GUO Yuan-Sen^{1,2,3}, CHEN Li-Gang^{1,2,3}, YAN Shi-Han^{1,2,3}, FU Ying^{1,2,3}, QIU Fu-Cheng^{1,2,3}, YANG
Zhong-Bo^{1,2,3}, ZHANG Ming-Kun^{1,2,3}, TANG Ming-Jie^{1,2,3}, WANG Hua-Bin^{1,2,3*}

(1. Center of Super-resolution Optics, Chongqing Institute of Green and Intelligent Technology, Chinese Academy of Sciences, Chongqing 400714, China;

2. Chongqing School, University of Chinese Academy of Sciences, Chongqing 400714, China;

3. Chongqing Engineering Research Center of High-Resolution and Three-Dimensional Dynamic Imaging Technology, Chongqing 400714, China)

Abstract: Terahertz (THz) technology is undergoing a rapid development in biomedical applications. Researchers have made a series of important achievements in the study of biological samples on various levels such as biomolecules, cells, tissues, and individual organisms, which provide new insights and innovative approaches for biological research and biomedical diagnosis. In this review, the progress of applying THz technology in biomedical studies has been summarized, including three key aspects, namely, spectroscopic detection, imaging, and biological effects. The challenges encountered in THz biomedical applications have been discussed, and the future development directions have also been envisioned.

Key words: terahertz, biomedical applications, spectrum, imaging, biological effects

PACS:

引言

先进光学技术不仅为获取生物体系的物化信

收稿日期: 2024-01-10, 修回日期: 2024-02-29

Received date: 2024-01-10, Revised date: 2024-02-29

基金项目: 国家自然科学基金 (62175238), 国家重点研发计划 (2021YFA1301503, 2023YFF0722304), 重庆市自然科学基金重点项目 (CSTB2023NSCQ-LZX0038), 重庆市技术创新与应用发展专项重点项目 (CSTC2021jscx-gksb-N0024), 中国科学院大学核心关键技术攻关项目 (E029610601)

Foundation items: Supported by the National Natural Science Foundation of China (62175238), the National Key Research and Development Program of China (2021YFA1301503, 2023YFF0722304), the Key Program of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTB2023NSCQ-LZX0038), Chongqing special key project for technological innovation and application development (CSTC2021jscx-gksb-N0024), and University of Chinese Academy of Sciences Supported Program for Tackling Key Problems in Science and Technology (E029610601)

作者简介 (Biography): 郭缘森 (1994-), 男, 重庆市开州区人, 博士研究生, 主要研究领域为太赫兹光谱成像, E-mail: guoyuansen@cigit.ac.cn

*通讯作者 (Corresponding author): E-mail: wanghuabin@cigit.ac.cn

息以及探索光与生物体系的相互作用机制提供了新的方法,而且也为生物医学诊断和治疗带来了新的思路 and 手段。作为 21 世纪一个重要的新兴前沿方向,太赫兹(Terahertz, THz)生物医学技术正在越来越多地受到大家的关注和重视。

THz 波是介于微波和红外之间的电磁波,其频率范围通常是指 0.1–10 THz,对应波长范围为 3–0.03 mm^[1–3]。由于 THz 波的光子能量范围与生物分子的振动、转动和平动能级有很大交叠,同时 THz 波对氢键和范德华力等弱作用也很敏感,因而利用 THz 技术可以获取生物样品丰富的化学成分、物理性质和结构信息^[4]。与 X-射线、紫外、可见光等相比,THz 波的光子能量比较低(1 THz 对应 4.14 meV),不会对生物样品直接造成电离损伤。因此 THz 技术在生物医学研究中具有广阔的应用前景。

自上世纪 90 年代以来,得益于 THz 辐射源和探测器性能的不断提升^[5–7],THz 技术在生物医学研究领域逐渐展示出应用潜力和优势,国际上多个研究团队和组织积极开展 THz 生物医学研究^[8–14]。我国自本世纪初开始重视 THz 技术的发展和运用。2005 年 11 月,召开了以“THz 科学技术的新发展”为主题的第 270 次香山科学会议,会议探讨了 THz 源、光谱检测及其应用的发展现状,并制定了我国 THz 技术的发展蓝图。2014 年 4 月,召开了以“太赫兹波在生物医学应用中的科学问题与前沿技术”为主题的第 488 次香山会议,会议强调了 THz 波在生物医学领域具有重要应用价值,这对国内 THz 生物医学研究的发展起到了重要的推动作用。2020 年 11 月,中国生物物理学会太赫兹生物物理分会的成立,标志着我国 THz 生物研究进入了一个新的发展阶段,为规模化和系统化的 THz 生物医学研究奠定了坚实的基础。

近年来,研究者在 THz 生物医学领域开展了积极探索性研究,在诸多方面取得了显著的成绩。THz 生物医学研究范围不仅包括生物分子、细胞、组织、个体等生物体系的光谱和成像检测,还涉及到 THz 波辐射的生物效应研究(图 1)。在这些研究工作的有力推动下,THz 科学技术与生物医学的交叉领域正在蓬勃发展,相关知识体系日益丰富和完善。鉴于目前尚缺少 THz 生物医学应用方面的综述性文章,为促进该领域发展,作者在本文总结了 THz 技术在生物医学领域的研究现状,分析了该领域目前所面临的问题,对其未来的发展趋势进行了展

望,以期 THz 生物医学应用的进一步发展提供有益的启示和帮助。

1 THz 生物光谱检测

THz 光谱技术是一种重要的无标记生物样品光谱检测手段。目前应用最广泛的 THz 光谱技术是 THz 时域光谱技术(Terahertz time-domain spectroscopy, THz-TDS)。它使用飞秒脉冲激光作为光源,通过分束器将激光分成两束,其中一束作为泵浦光,经过聚焦后照射在光电导天线/非线性晶体上,通过光电导/光整流效应诱发产生 THz 脉冲辐射;另一束作为探测光,作用于光电导天线/非线性晶体,基于 THz 波产生原理的逆过程实现 THz 波探测。在探测过程中,通过调整光路延迟线改变泵浦光和探测光之间的相位关系,从而基于等效采样技术实现对样品作用前/后 THz 波时域电场信号的采集。将时域信号进行快速傅里叶变换,可获取 THz 波的频域信息(不同频率下的振幅和相位信息)。在此基础上,根据相关算法,这些信息可以进一步被转换为表征样品性质的介电常数、折射率和吸收系数等光学参数。在 THz 光谱检测中,常用的探测模式有透射、反射和衰减全反射(Attenuated total reflection, ATR)模式(图 2),具体参数计算方法见参考文献^[15, 16]。研究人员可以根据测试目的和样品性质选择合适的探测模式,以实现对生物样品的有效检测。

在透射模式下(图 2a),THz 光路垂直于样品平面,通过检测透过样品前后的 THz 信号变化,可以获得样品的 THz 吸收光谱,进而可以分析得到样品的 THz 参数(如:吸收系数和折射率)。透射式 THz 光谱技术在生物样品检测中展现出了广泛的应用前景,该技术对生物样品的厚度有一定要求,尤其是对含水的生物样品;如果样品太厚,THz 波无法穿过样品,则无法利用该技术检测样品。

透射模式可用于检测固态生物分子(氨基酸、核酸、蛋白质和碳水化合物等)的特征吸收峰,实现对样品成分和结构的分析鉴定。例如,Zhang 团队检测了 20 种基本氨基酸,发现这些氨基酸在 THz 频率范围内具有不同的特征峰,可以利用 THz 光谱特征对它们进行分类^[17];Wang 团队测量了固态 L-酪氨酸(L-Tyr)、D-酪氨酸(D-Tyr)以及外消旋化合物 DL-酪氨酸(DL-Tyr)的 THz 光谱,发现有旋酪氨酸(L-Tyr 和 D-Tyr)与消旋酪氨酸(DL-Tyr)的 THz 吸收峰存在明显差异(图 2b),进一步分析表明这种差



图1 THz生物医学应用概览图。THz生物医学应用主要包括三方面:THz光谱、THz成像和THz波生物效应。

Fig. 1 Schematic overview of THz biomedical detection applications. THz biomedical applications mainly focuses on three aspects: THz spectroscopy, THz imaging, and THz biological effects.

异是由于它们的晶体结构不同所致^[15];Jepsen团队检测了构成DNA分子的四种碱基(腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和胸腺嘧啶),发现可以通过这些碱基在THz频率范围内的吸收系数和折射率对它们进行区分;Zhao团队基于空气等离子体THz时域系统分别检测了 γ -氨基丁酸、去甲肾上腺素和多巴胺三种神经递质,发现它们在THz频率范围内都具有独特的吸收光谱,并通过密度泛函理论分析证明每个THz吸收峰都对应于特定的振动模式^[18-20]。另外,透射模式也可用于探测水溶液中生物分子的THz吸收特性。例如,Manz团队测量了聚合酶链式反应扩增DNA过程中溶液在0.3-1.2 THz频率范围内的吸收光谱,观察到THz吸收系数随着DNA浓度的增加而降低^[21];Markelz团队检测了水溶液中鸡蛋清溶菌酶(Hen egg white lysozyme, HEWL)和三乙酰葡萄糖胺(Triacetylglucosamine, 3NAG)结合的过程,发现HEWL与3NAG结合后,样品溶液在THz频段的折射率和吸收系数降低^[22];Peng团队提出了一种基于

连续域中准束缚态(quasi-bound state in the continuum, QBIC)的生物传感器,然后利用THz-TDS系统检测了传感器上的痕量同型半胱氨酸分子,通过探测QBIC共振频率的变化实现了pmol量级的高精度检测^[23]。

除了生物分子,还可以利用透射模式THz光谱技术分析复杂度较高的生物样品(如细胞层和组织切片)的结构特性和功能信息^[24]。在细胞检测方面,可以通过THz光谱区分不同类型细胞或检测细胞结构变化。例如,Zhu团队分别将野生型和突变型胶质瘤细胞接种在一种THz频率电磁感应透明(Electromagnetic induced transparency, EIT)的超材料结构表面,通过测量其谐振频率和电场峰值幅度的变化区分了两种肿瘤细胞^[25];Berrier团队基于等离子体天线的THz生物传感器分别检测了革兰氏阴性菌(大肠杆菌和卡他分岐杆菌)和革兰氏阳性菌(枯草芽孢杆菌、粘质链球菌和表皮葡萄球菌),根据它们的吸收系数对这两类细菌进行了区分^[26];

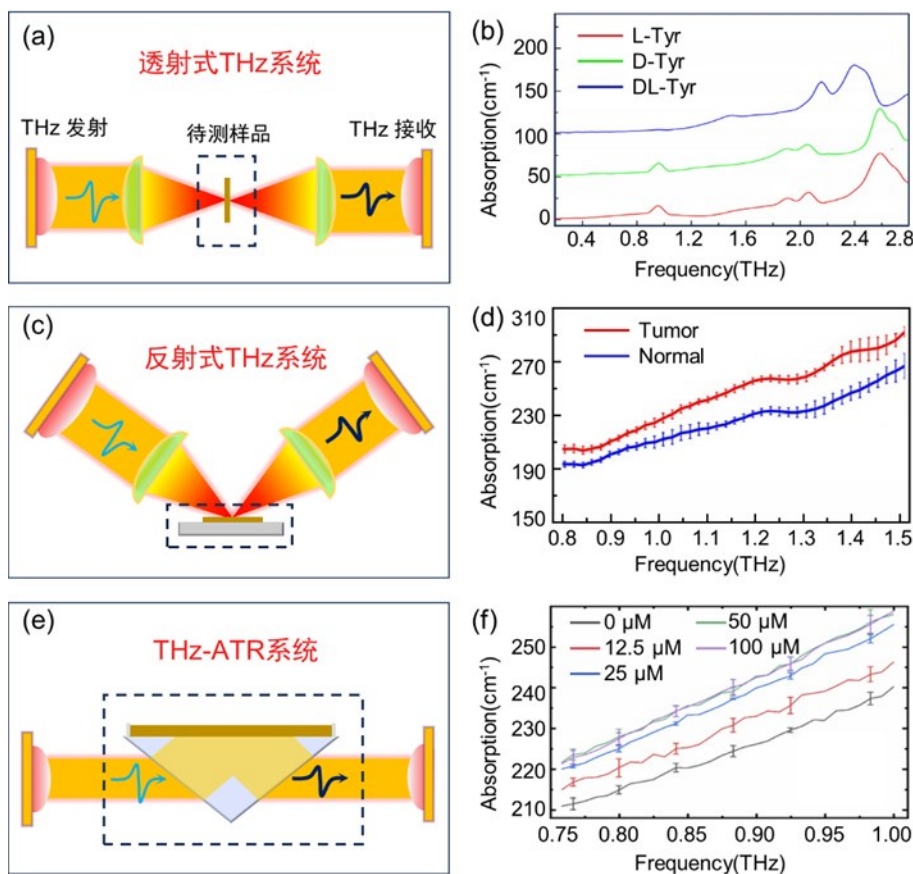


图2 THz光谱检测技术。(a)透射模式示意图;(b)固态 L-Tyr、D-Tyr 和 DL-Tyr 的 THz 吸收光谱。为了便于比较,将 L-Tyr 和 D-Tyr 的 THz 吸收光谱沿垂直轴进行了偏移;(c)反射模式示意图;(d)大鼠脑组织样品中肿瘤区域和正常区域的 THz 吸收光谱;(e)THz-ATR 模式示意图;(f)经不同浓度人参皂苷 Rg3 处理后, U87 细胞的 THz 吸收光谱。图(b)、(d)和(f)经授权转载自参考文献[15]、[41]和[48]。

Fig. 2 THz spectroscopy detection techniques. (a) Schematic of the transmission mode. (b) THz absorption spectra of L-Tyr, D-Tyr and DL-Tyr samples in solid state. The spectra are offset along the vertical axis for the purpose of easier comparison. (c) Schematic of the reflection mode. (d) THz absorption spectra of tumor and normal regions of a rat brain tissue sample. (e) Schematic of the ATR mode. (f) THz absorption spectra of U87 cells treated with different concentrations of ginsenoside Rg3. Images reproduced with permission from Ref. [15] (b), Ref. [41] (d), and Ref. [48] (f).

Zhang 团队测量了经血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)处理后单层牛肺微血管内皮细胞的 THz 吸收光谱,发现 VEGF 作用后细胞的 THz 透射率增加,他们认为这是由于 VEGF 处理后细胞的形态和间距发生变化所致^[27];Fu 团队在微流控装置中检测了化疗药物处理后的人乳腺癌细胞,发现细胞活力与 THz 光谱有明显的相关性,即:细胞活力越高,THz 透射率越高^[28]。在组织检测方面,通过分析 THz 光谱可以评估组织的病变情况。例如, Png 团队检测了阿尔兹海默症患者的速冻脑组织切片,发现病变区域的 THz 吸收率比健康区域低^[29];Xu 团队检测了不同损伤程度大鼠脑组织的石蜡切片,发现 THz 吸收系数随着脑损伤加重而增加^[30];Wang 团队检测了小鼠黑色素瘤皮肤组织切

片,发现黑色素瘤区域的折射率和吸收系数均高于正常区域,他们认为这是由于黑色素瘤比正常组织的含水量高、核酸密度高以及脂肪含量低所致^[31]。除了黑色素瘤,神经胶质瘤组织和结肠瘤组织也具有比正常组织更高的吸收系数^[32-35]。

反射模式(图 2c)可以规避透射模式受限于样品厚度的问题,能探测平整样品表面或近表面特征,已被用于对生物分子、细胞和组织样品的检测。例如, Sun 团队分别检测了过氧化物酶(Peroxidase, PX)偶联的免疫球蛋白 G(Immunoglobulin G, IgG)以及异硫氰酸荧光素(Fluorescein isothiocyanate, FITC)偶联的 IgG 水/甘油混合溶液的介电特性,发现两种溶液的 THz 吸收系数随着抗体浓度的增加而降低,并且 FITC-IgG 始终高于 PX-IgG,表明利用

THz 光谱可以探测不同结构的生物分子^[36];Fan 团队使用一种反射式 THz 圆二色性(Circular dichroism, CD)光谱传感系统检测不同浓度阿司匹林作用下的肝癌细胞,实现了对水溶液中三种不同肝癌细胞(HepG2、Huh7 和 H7402 细胞)的区分,并发现随着阿司匹林浓度增加细胞活力越低,而 CD 光谱的共振强度越高,表明采用此系统可以对液体环境中细胞的进行定性和定量分析^[37];Fan 团队还设计了一种基于弯曲柔性超表面的 THz 偏振传感器,通过 THz 反射式时域偏振光谱系统检测了木瓜蛋白酶作用下牛血清白蛋白(BSA)的水解过程,发现随着添加的木瓜蛋白酶浓度增加,BSA 的水解程度增加,样品溶液的光谱越接近于水的光谱^[38];Zaitsev 团队对人体色素性皮肤痣进行了研究,发现健康皮肤、普通痣和异型增生痣的 THz 介电性质存在明显差异^[39];Huang 团队对新鲜的实验大鼠肾脏、肝和胰腺等样本进行了检测,发现这些组织在 THz 频率范围的折射率和吸收系数存在统计学上的显著差异^[40];Ouchi 团队检测了新鲜大鼠胶质瘤组织,发现肿瘤组织的 THz 折射率和吸收系数均高于正常组织(图 2d)^[41]。此外,反射式 THz 光谱技术也被成功用于对其它肿瘤组织(如人乳腺癌和宫颈癌组织)的检测^[42, 43]。

THz-ATR 是一种特殊的反射模式(图 2e),在此模式中,THz 波以一定角度入射 ATR 棱镜,使得 THz 波在棱镜与样品之间的界面发生全内反射,从而在此界面形成沿样品内部在 Z 方向呈指数衰减的倏逝波。通过分析经被测样品反射的 THz 信号,可以获取样品的相关信息。这种模式充分利用倏逝波的特性,不仅提高了 THz 波对生物样品检测的灵敏度,还显著降低了水对 THz 波的吸收影响,因而非常适用于溶液样品的检测。目前,研究人员利用该技术已成功开展对氨基酸、DNA、碳水化合物以及细胞等各种生物样品的研究,极大地促进了衰减全反射太赫兹时域光谱(THz TD-ATR)技术在生物研究中的发展和应用。例如, Li 团队测量了不同浓度 L-苏氨酸溶液的复介电常数,并对溶质的结合水个数进行了定量分析^[44];Ogawa 团队表征了单糖(葡萄糖和果糖)和双糖(蔗糖和海藻糖)溶液的水合状态,通过 THz 介电谱,发现单糖表现出比多糖更强的水合能力,水合数随糖溶液浓度的增加而降低^[45, 46];Xu 团队分别检测了不同程度爆炸性脑损伤模型大鼠(假手术、轻度和中度脑损伤)的血清和脑脊液,发

现随着脑损伤程度增加,THz 吸收系数逐渐升高,而折射率逐渐降低^[47];Wang 团队评估了不同浓度人参皂苷 Rg3(G-Rg3)对 U87 胶质瘤细胞的影响,结合细胞活性生物学实验,发现在一定药物浓度范围内(0–50 $\mu\text{mol/L}$),THz 吸收系数和细胞抑制率呈正相关。(图 2f)^[48];Zhu 团队对培养的人乳腺上皮细胞(MCF10A)进行了原位研究,通过 THz 介电常数实部和虚部的变化,分析了 H_2O_2 诱导下的细胞死亡过程^[49]。

特别需要说明的是,在 THz-ATR 技术中,传统方法是将溶液样品直接滴加在 ATR 棱镜上或位于其上的开放式液体池中。然而这种方法对样品的需求量较大,而且实验结果容易受到溶剂挥发的影响。为克服上述问题,Wang 团队设计了一种聚二甲基硅氧烷微流道芯片,将该芯片与 THz-ATR 结合,可以实现对微量溶液样品的高灵敏检测。他们还基于衰减全反射理论,系统地分析了单界面模型和双界面模型对实验结果的影响,确定了理论模型正确应用的条件^[50]。利用上述方法,该团队通过 THz 吸收系数成功区分了不同长度和不同重复序列的寡核苷酸片段^[51],并且利用 THz 吸收系数区分了不同种细胞(HEB 和 U87 细胞)以及经尼古丁处理后细胞性状的变化^[52]。

2 THz 生物成像

THz 生物成像技术是一种无标记、非电离的可视化表征技术,是 THz 生物医学应用的重要研究方向之一。在该技术中,通过分析生物样品在 THz 波段的介电特征,可以揭示样品的结构和成分信息。为深入理解生物医学问题,需要从生物分子、细胞、组织、器官和生命个体不同层次开展 THz 成像研究,这就对 THz 成像技术的空间分辨率提出了要求。传统的远场 THz 成像技术具有毫米或亚毫米级的分辨率,主要应用于生物组织、器官及生命个体的成像检测;新兴的近场 THz 成像技术能够突破光学衍射极限,实现微米甚至纳米级的分辨率,因而在细胞、亚细胞结构以及生物大分子成像检测方面具有良好的应用前景。

2.1 传统 THz 生物成像

基于 THz-TDS 系统的传统 THz 成像技术在生物医学检测中有着较为广泛应用,不仅可以用于离体生物组织或器官成像研究,还可用于在体成像探测。该成像技术需要将 THz-TDS 光谱系统与能荷载样品的精密位移平台相结合,通过位移平台的运

动,逐点获取样品不同位置的THz信号,进而基于THz信号形成样品的THz图像。

在离体成像研究方面,研究人员采用不同THz成像模式对多种离体生物组织样品进行了检测,并将THz检测结果与传统的组织病理学检测结果进行了对比,验证了THz成像技术的可靠性。THz透射成像模式常用于对离体组织切片的检测。例如,Feng团队使用透射式THz-TDS系统对机械性脑创伤的大鼠脑组织切片进行了成像检测,发现创伤区域具有较高的THz吸收,且与可见光图像和磁共振成像(Magnetic resonance imaging, MRI)结果中的损伤区吻合得很好,他们认为这主要是由于损伤区域的含水量和含血量高于正常区域所致^[53];Wang团队使用透射式THz-TDS系统对荷有黑色素瘤的小鼠皮肤组织切片进行了成像检测,从THz图像上可以明确地识别出正常皮肤组织和黑色素瘤组织(图3b)^[31]。此外,THz透射模式还用于对其它肿瘤组织^[42, 54, 55]的成像,可以根据THz透过率的差异区分正常区域和病变区域。THz反射成像模式在较厚的离体生物组织成像中得到了较为广泛的应用。例如,Suh团队将新鲜大鼠胶质瘤组织置于石英片表面,使用反射式THz-TDS系统从样品背面对组织进行了检测,发现从THz图像可以明确地区分正常组织和胶质瘤组织,其结果与可见光图像非常吻合,他们认为这主要是由于胶质瘤组织的含水量和细胞密度高于正常组织所致^[56];Hassan团队使用反射式THz-TDS系统透过压在离体兔眼角膜组织上的硅片对样品进行了成像检测,发现THz反射率与眼压正相关^[57]。此外,反射式THz-TDS技术还用于对临床手术切除的癌症组织成像^[58-60],结果均提示THz成像能够区分肿瘤区域和正常区域。这里需要说明的是,除了基于THz-TDS之外,还可以基于连续波THz系统开展反射式检测。例如,Wang团队使用以气体激光器为THz辐射源的连续波THz系统,结合ATR技术,成功区分了置于硅棱镜表面的小鼠脑组织中的胶质瘤区域和正常区域(图3c)^[61]。

在活体生物成像方面,研究人员已经利用传统反射式THz成像技术开展了一系列工作,虽然该技术目前只能应用于对浅层生物组织的研究,但是已有研究表明了该技术具有非常好的应用前景。例如,Bajwa团队利用反射式THz技术对烧伤的大鼠腹部水肿区域进行了成像检测,发现组织的THz图像与MRI图像具有很好的相关性,提示THz成像技术

具有跟踪组织含水量变化的能力^[62];Pickwell-MacPherson团队对人体皮肤疤痕进行了活体成像,不仅从THz图像上清晰区分了疤痕组织和周围正常组织,而且监测了增生性疤痕的痊愈过程(图3e),说明THz成像可用于定量检测皮肤组织的细微变化^[63, 64];Cardoso团队对糖尿病足综合症患者和正常对照组的足底进行了反射式THz成像检测,成功识别了糖尿病足患者(图3f),表明THz成像具有作为糖尿病患者早期足部病变筛查工具的潜力^[65]。

2.2 近场THz生物成像

由于受限于光学衍射极限,传统THz成像的空间分辨率仅能达到亚毫米量级,无法满足对生物组织、细胞和生物大分子等样品的微细结构进行显微检测的实际需求。近年来,研究者们积极开发出各种方法提高THz成像的空间分辨率。其中,近场THz成像是主要的超光学衍射极限THz光谱成像方法^[66]。目前用于生物检测的THz近场成像技术主要有微米级分辨近场THz成像技术和纳米级分辨近场THz成像技术。

2.2.1 微米级分辨近场THz生物成像

根据近场探测方式的不同,目前用于生物样品检测的微米级近场THz成像技术主要可分为两种:第一种为基于光电导天线微型探针(Photoconductive antenna microprobe, PCAM)与THz-TDS结合的近场技术(PCAM-THz-TDS);第二种是基于将样品贴附在光学晶体表面的近场技术。PCAM-THz-TDS近场探测方法是目前使用较为广泛的近场THz成像技术,它是通过利用探针在距离样品表面很近的位置(通常为微米量级,小于THz波长)探测透过样品的THz信号(图4a)。这种近场成像技术采用样品扫描方式,具有光谱范围宽、信噪比高、对样品适应性强等优点^[67]。Wang团队率先采用自主搭建的PCAM-THz-TDS系统对猪肉组织切片进行了THz成像,清晰地区分了瘦肉和脂肪区域,他们认为这是由于二者的组织含水量和生化成分不同所致^[68];随后,该团队针对样品与探针距离控制难度较大的问题提出一种基于图像分析的探针-样品距离控制技术,将系统空间分辨率提高到5 μm ,并利用该系统对小鼠脑组织切片进行检测,从THz图像上成功区分了胼胝体和大脑区域^[69];特别是,该团队获取了单个新鲜西瓜果肉细胞在脱水过程中的THz图像(图4b),率先成功实现了单细胞水平的THz成像检测^[70]。此外,Lee团队采用PCAM-THz-

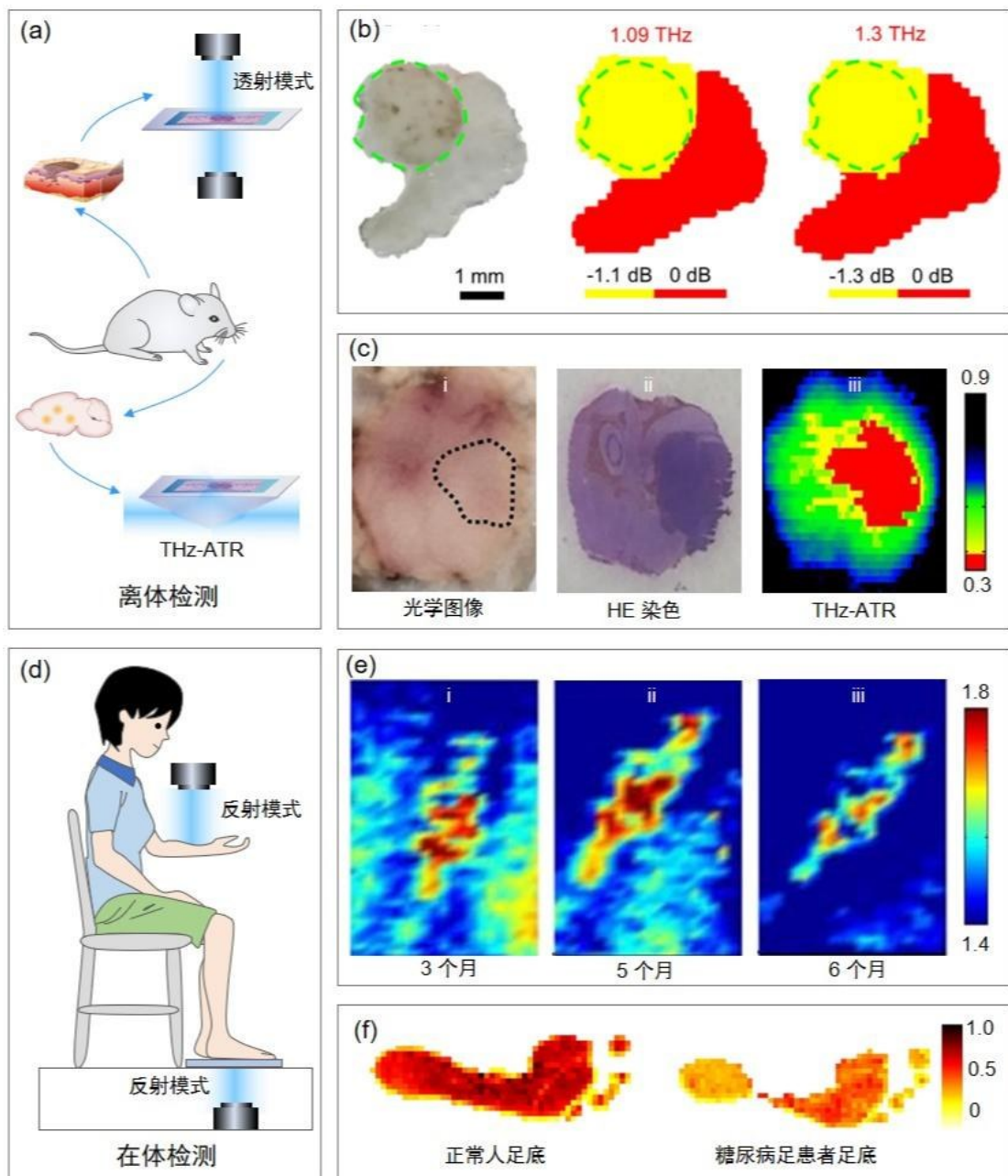


图3 传统THz生物成像。(a)离体成像检测示意图;(b)荷有黑色素瘤小鼠皮肤组织切片的光学图像及对应的不同频率下的透射模式THz图像;(c)脑胶质瘤模型小鼠脑组织的光学图像(i,虚线区域为肿瘤)和对应的HE染色图像(ii)及THz-ATR图像(iii);(d)在体成像检测示意图;(e)人体皮肤疤痕不同恢复时长的反射模式THz图像;(f)正常人足底和糖尿病足患者足底的反射模式THz图像。图(b)、(c)、(e)和(f)经授权转载自参考文献[31]、[61]、[63]和[65]。

Fig. 3 Conventional THz biomedical imaging techniques. (a) Schematic of *ex vivo* imaging detection. (b) Optical visual image and corresponding transmission-mode THz images of a mouse skin tissue sample containing melanoma. (c) Optical visual image (i, the tumor region is marked by the dotted line) and corresponding HE stained image (ii) and THz-ATR image of a mouse brain glioma tissue (iii). (d) Schematic of *in vivo* imaging detection. (e) Reflection-mode THz images of a human skin scar measured at different times during the recovery period. (f) Reflection-mode THz images of the plantar region of a normal human being (left), and a typical diabetic foot patient (right). Images reproduced with permission from Ref. [31] (b), Ref. [61] (c), Ref. [63] (e), and Ref. [65] (f).

TDS成像技术观察了淀粉样(A β)蛋白单体膜、寡聚体膜及原纤维膜,探讨了THz技术在阿尔茨海默症

发病机制的无标记检测方面的应用^[71]。将样品贴附在光学晶体表面的近场技术是通过将待测样品

直接贴附在薄光学晶体表面,利用在光学晶体表面产生的THz近场作用于样品,通过探测器远场探测从样品透射或反射的THz信号^[72, 73]。例如,Tonouchi团队采用脉冲激光逐点激励非线性光学晶体(GaAs,厚度500 μm)产生THz波,实现了对贴附在非线性光学晶体表面含有浸润性乳腺癌(Invasive ductal carcinoma, IDS)和导管原位癌(Ductal carcinoma in site, DCIS)的人乳腺癌组织样品THz近场成像检测,根据THz图像对比度的差异,成功区分了

IDS、DCIS和良性组织区域^[74, 75]。值得注意的是,在该技术中,生物样品需要紧贴晶体表面,因而难以应用于对非平整生物样品的检测。

2.2.2 纳米级分辨近场THz生物成像

将THz技术与原子力显微镜技术(Atomic force microscopy, AFM)结合形成的THz 散射式扫描近场光学显微镜(THz s-SNOM, 图4c)具有纳米级空间分辨率,可用于生物样品纳米尺度的精细成像检测。在THz s-SNOM技术中,采用纳米尺度的特殊

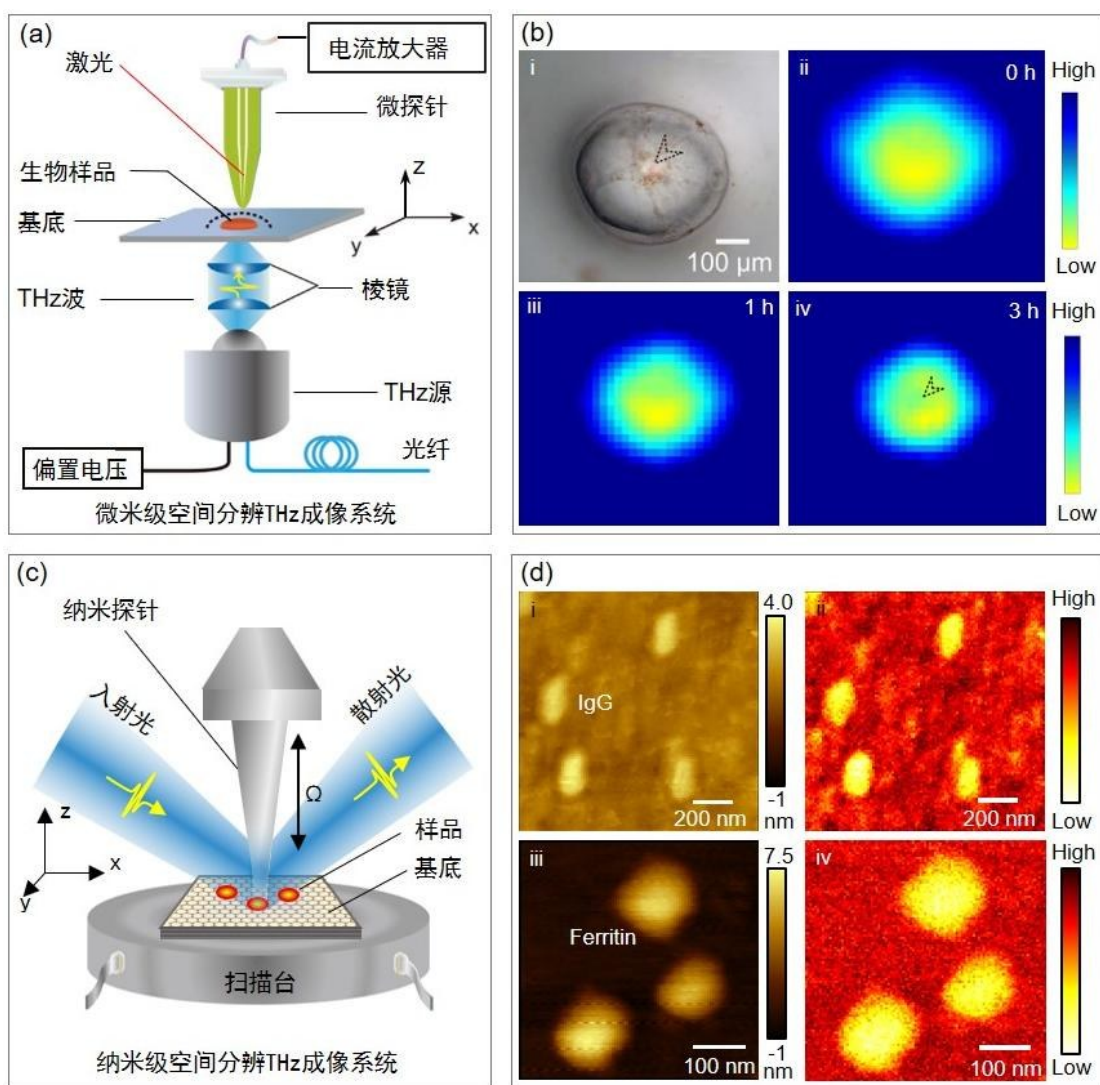


图4 THz近场生物成像。(a)微米级空间分辨PCAM-THz-TDS近场系统原理图;(b)单个细胞的光学图像(i)及在脱水过程中不同时刻(ii-iv)的PCAM-THz-TDS图像;(c)纳米级空间分辨THz s-SNOM系统原理图;(d)免疫球蛋白(IgG)和铁蛋白(Ferritin)THz s-SNOM近场图像,左侧为AFM形貌图,右侧为对应的THz图像。图(b)和(d)经授权转载自参考文献[70]和[77]。

Fig. 4 THz near-field biomedical imaging. (a) Schematic of the micron-resolution THz-PCAM system. (b) The optical visual image of a single cell (i), and the THz-PCAM images of the cell during the dehydration process (ii-iv). (c) Schematic of the nano-resolution THz s-SNOM system. (d) THz near-field images of IgG and ferritin measured by the s-SNOM, which include both atomic force microscopy (AFM) images (left) and THz images (right). Images reproduced with permission from Ref. [70] (b), and Ref. [77] (d).

探针入射 THz 波进行局域增强形成纳米级近场,利用纳米级 THz 近场与样品进行逐点作用,通过收集和分析从探针散射的 THz 信号获取样品的 THz 近场信息,进而将 THz 近场信息与样品的物性相关联实现对样品的检测^[76]。Wang 团队通过将蛋白质分子(免疫球蛋白和铁蛋白)分散在具有高 THz 反射率的高取向热解石墨(Highly oriented pyrolytic graphite, HOPG)基底上,利用 THz s-SNOM 技术首次实现了单个生物分子的 THz 超分辨成像(图 4d)^[77]。此外,Hu 团队利用 THz s-SNOM 获得了蜡样芽孢杆菌和冠状病毒病(COVID-19)假病毒的 THz 近场图像^[78]。这些研究为认识生物大分子的结构性质,以及精准分析 THz 波与生物样品的作用机制提供了新方法。

未来,通过对技术的持续优化和升级,上述微米级和纳米级分辨 THz 近场技术将有望在精准生物医学检测研究领域发挥更为重要的作用。

3 THz 波生物效应

THz 波作为一种电磁辐射,它的生物效应受到越来越多的关注。尽管 THz 波不会像 X 射线那样引起电离损伤,但它可能会对生物体系产生非电离的生物效应,如:改变生物大分子构象或功能、影响细胞成分及活性、引起组织的炎症反应或抑制肿瘤生长等。为了评估生物体在 THz 波辐照下的安全性,探索 THz 波辐照治疗疾病的可能性,研究人员从生物分子、细胞及生物组织等多个层面对 THz 波生物效应进行了深入研究。

在生物分子层面,THz 波辐照能够引起生物分子的构象或功能发生变化。例如,Cherkasova 团队使用气体(N_2O)激光器产生的频率为 3.6 THz、功率密度为 10 mW/cm² 的连续 THz 波照射牛血清白蛋白(BSA)溶液 60 min,通过圆二色谱观察到照射后蛋白特征波段(200–240 nm)的强度变高,说明 THz 波能够使 BSA 的构象发生变化(图 5b)^[79];He 团队采用频率为 0.1 THz、功率密度为 13 mW/cm² 的连续 THz 波照射碱性磷酸酶 20 min 后,发现酶的活性明显降低,他们推测这是由于 THz 辐照改变了碱性磷酸酶的构象所致^[80];Gauthier 团队利用铌酸锂晶体产生的频率范围为 0.1–3.0 THz、平均功率密度为 57 mW/cm² 的宽带 THz 脉冲对不同长度的双链 DNA 辐照 10 min,通过 DNA 荧光交换实验发现短链 DNA(20 bp 以下)的荧光强度显著降低,说明 THz 波可促使短链的 DNA 分子解链(图 5c)^[81];Gauthier 团队还

利用 THz 波对 T7 和 Bal-31 两种 DNA 内切酶溶液辐照了 10 min,发现 T7 DNA 内切酶加快了对质粒 DNA 的消化速度,表明 THz 辐射提高了 T7 的催化活性,而对 Bal-31 无此效应^[81]。

在细胞层面,THz 波辐照可能会引起细胞膜通透性^[82, 83]、细胞成分^[84–86]、及细胞活性^[87]等多方面的变化。例如,Fedorov 团队使用气体(N_2O)激光器产生的频率为 2.4 THz、功率密度为 20 mW/cm² 的连续 THz 波分别辐照人类红细胞和淋巴细胞 30 min,发现这两种细胞的细胞膜通透性均有所增强^[82];Lu 团队使用自由电子激光器产生频率为 3.1 THz、平均功率密度为 33 mW/cm² 的脉冲 THz 波(脉宽 2 ms,每脉冲峰值功率 1.6 W,重复频率 10 Hz)对 RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞辐照 20 min,通过 TMA-DPH 荧光膜探针测试发现辐照后细胞膜的流动性显著增强^[88];Liu 团队使用频率为 0.1–3 THz、功率密度为 60 μ W/cm² 的宽带 THz 脉冲分别辐照正常人、轻度弱精症患者和中度弱精症患者的精子细胞 60 min 后,发现他们的精子细胞活力均显著提高(图 6b),并且其 DNA 的完整性没有变化^[89];Peng 团队采用返波管产生的频率为 0.16 THz 的连续 THz 波在 50 mW 辐照功率下对离体原代培养的来自大鼠不同脑区的神经元辐照了 60 min,通过免疫荧光分析发现海马神经元的突触素(Synaptophysin, SYN)的积分光密度(Integrated optical density, IOD)会显著减小,但突触后密度 95 蛋白(Postsynaptic density 95, PSD95)的 IOD 没有明显变化,而对皮层神经元的 SYN 和 PSD95 表达影响则恰好相反,说明 THz 波对不同神经细胞类型产生了不同的效应^[85];该团队采用相同 THz 源在 10 mW 和 50 mW 的功率下对大鼠原代海马神经元辐照 30 min,使用流式细胞仪对原代海马神经元活性进行评估,发现神经细胞凋亡比例随辐照功率显著上升,说明 THz 波能够诱导神经细胞凋亡(图 6c)^[90];Tsurkan 团队使用砷化镓晶体产生的频率为 0.02–2 THz、功率密度为 0.5 μ W/cm² 的宽带 THz 脉冲辐照鸡胚感觉神经节神经突起 3 min,发现神经节的生长速度明显加快^[91]。需要注意的是,有研究报道 THz 波对某些细胞的影响较小。例如,Bogomazova 团队利用频率为 2.3 THz、功率密度为 1.4 μ W/cm² 的 THz 波对人类胚胎干细胞进行了辐照,发现 THz 波基本不会诱发 DNA 损伤或染色体畸变,也不会影响细胞的有丝分裂或形态^[92];Koyama 团队采用频率为 0.2 THz、功率密度为

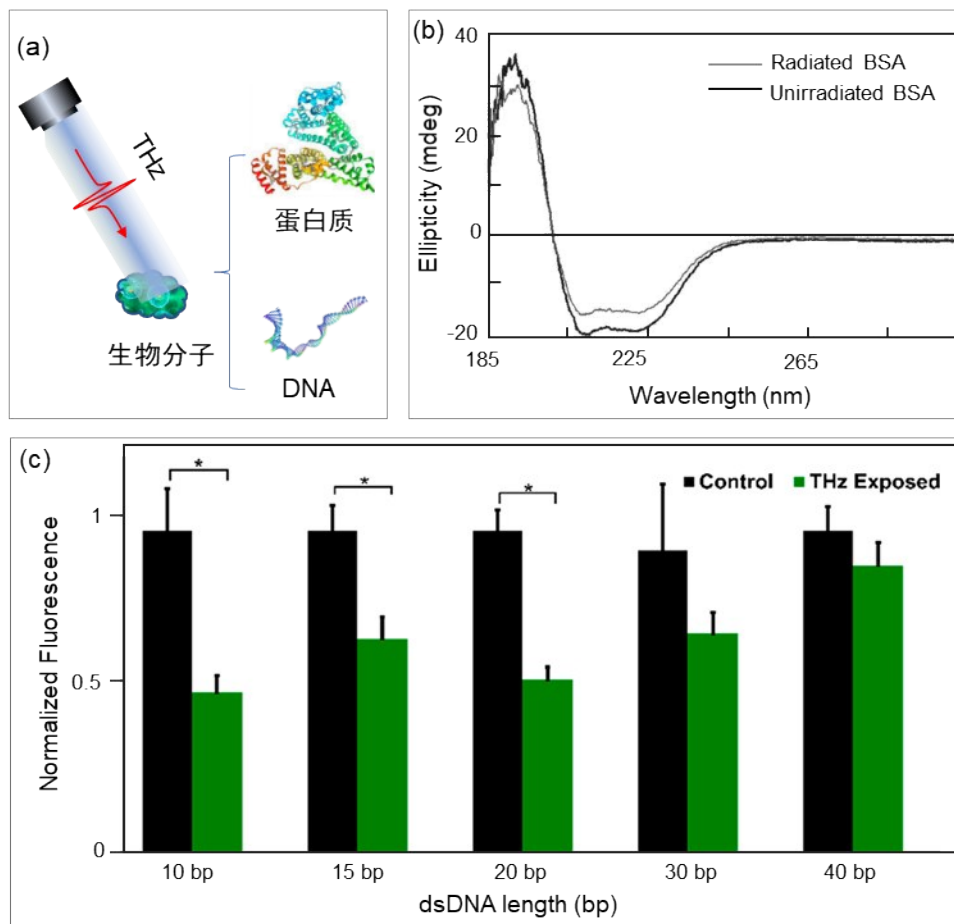


图5 THz波辐照对生物分子产生的效应。(a)THz波辐照生物分子示意图;(b)BSA蛋白溶液在THz波辐照前后的圆二色谱图;(c)在THz波辐照后,dsDNA长度对链交换实验荧光恢复的影响,* $p < 0.05$ 。图(b)和(c)经授权转载自参考文献[79]和[81]。

Fig. 5 Effects of THz radiation on biomolecules. (a) Schematic of THz radiation on biomolecules. (b) Circular dichroism spectra of BSA solution before and after THz radiation. (c) After the exposure to THz radiation, the effect of dsDNA length on the fluorescence recovery in the strand exchange experiment, * $p < 0.05$. Images reproduced with permission from Ref. [79] (b), and Ref. [81] (c).

5 mW/cm² 的连续 THz 波辐照人角膜上皮细胞 (HCE-T) 24 小时后,发现 HCE-T 细胞的形态热休克蛋白表达均未发生显著性变化,且没有明显的遗传毒性^[93]。

在生物组织及个体层次,已有研究发现 THz 波可能会引起的变化主要包括局部升温、炎症反应以及肿瘤减小等^[94, 95]。例如,Hwang 团队使用自由电子激光器产生频率为 2.7 THz、平均功率密度为 260 mW/cm² 的脉冲 THz 波(脉宽 4 μ s, 每脉冲能量 61.4 μ J, 重复频率 3 Hz)对活体小鼠耳部皮肤组织辐照 30 min,通过荧光免疫染色的方法观察到辐照后组织中的中性粒细胞数量明显增加,表明 THz 辐射引发了皮肤的炎症反应(图 7b)^[96];Yu 团队采用气体 THz 源产生的频率为 0.22 THz、功率密度为 50 mW/

cm² 的连续 THz 波照射小鼠皮肤组织 5 min,发现皮肤的平均温度迅速升高 2 $^{\circ}$ C 以上,并出现上皮脱落及出血等病理损伤特征(图 7c)^[97];Miyoshi 团队分别使用回旋管 CW 源产生的频率为 0.203 THz 和 0.107 THz、能量密度为 4.67 kJ/cm² 的连续 THz 波照射小鼠皮下肿瘤,并保持每天以一定温度(43 \pm 1 $^{\circ}$ C)辐照 20 min,结果发现这两种频率的 THz 波均会引起肿瘤逐渐减小,且肿瘤在 15 天后消失,说明 THz 波具有消除肿瘤的作用^[98]。

由上述内容可以看出,THz 波辐照对生物体系产生的影响与 THz 源类型、频率范围、辐照功率、辐照时间以及生物体系本身性质等因素密切相关,既可以产生不良影响,也可以产生有利的作用。

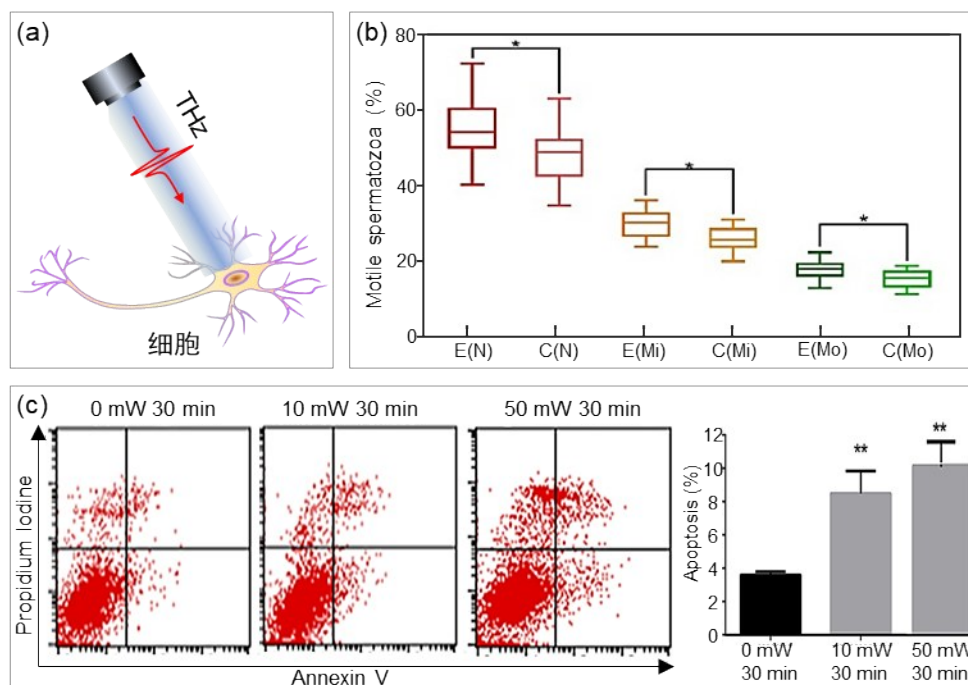


图6 THz波辐照对细胞产生的生物效应。(a)THz波辐照神经细胞示意图;(b)THz波辐照对精子活力影响的统计图,实验组(E)接受了THz辐照,而对照组(C)未接受。测试结果以中位数和平均值的标准差表示,“N”表示正常人的精子样本,“Mi”表示轻度弱精症患者的精子样本,“Mo”代表中度弱精症患者的精子样本,* $p < 0.05$;(c)利用流式细胞术分析太赫兹波辐照对大鼠原发性海马神经元凋亡的影响,左侧为代表性图像,右侧为统计分析结果图,** $p < 0.01$ 。图(b)和(c)经授权转载自参考文献[89]和[90]。

Fig. 6 Effects of THz radiation on cells. (a) Schematic of THz radiation on nerve cells. (b) Statistical results for the effects of THz radiation on sperm motility. The experimental groups (E) received THz irradiation, while the control groups (C) did not. The results are presented as median with the standard error of the mean, “N” stands for results from normal patients, “Mi” stands for results from mild asthenospermia patients, and “Mo” stands for results from moderate asthenospermia patients, * $p < 0.05$. (c) Effects of THz radiation on the apoptosis of primary hippocampal neurons of rats analyzed by flow cytometry. The representative images are presented on the left while the statistical analysis shown on the right, ** $p < 0.01$. Images reproduced with permission from Ref. [89] (b), and Ref. [90] (c).

4 THz生物医学应用发展前景及未来挑战

THz生物医学是一个新兴且快速发展的多种科学技术高度交叉融合的研究领域,通过研究THz波与生物体系的作用机制并建立精准的THz探测和分析方法,结合生物学和医学知识,揭示生命活动规律和发展疾病诊疗技术,为生物医学研究和诊疗提供了新视角和新手段。然而在THz生物医学的快速发展过程中,仍面临着一些挑战和问题亟待解决:

(1)水对THz波的强吸收影响。由于水分子对THz波有很强的吸收,生物样品中的水分会对THz探测产生影响。因此需要在实验设计和样品处理中采取措施,以减小水对THz信号的干扰。将性能良好的高功率THz源和高灵敏THz探测器结合使用可以提高对样品探测的信噪比和灵敏度(如采用气

体激光器THz源和GeGa探测器),有望在一定程度上缓解水对THz波强吸收的影响。虽然目前THz TD-ATR技术可以用来检测生物溶液样品,但是其灵敏度及分辨率有限,难以对痕量样品进行检测,也无法对单生物分子或单细胞样品检测,因而需要进一步发展高灵敏和高分辨的液相THz检测技术。

(2)频谱分辨率不足。目前常用于生物检测的THz光谱和光谱成像系统的频谱分辨率通常在GHz量级,难以满足有效区分生物样品可能具有的特征峰的要求,可以考虑把具有高频谱分辨的THz光梳技术应用到THz生物医学检测领域^[99, 100]。

(3)数据分析及解读方法欠缺。虽然目前已经将小波分析、主成分分析、支持向量机、神经网络等方法应用到了THz数据分析,但是还比较初步,仍然需要发展高效和准确的数据分析方法,系统性地加

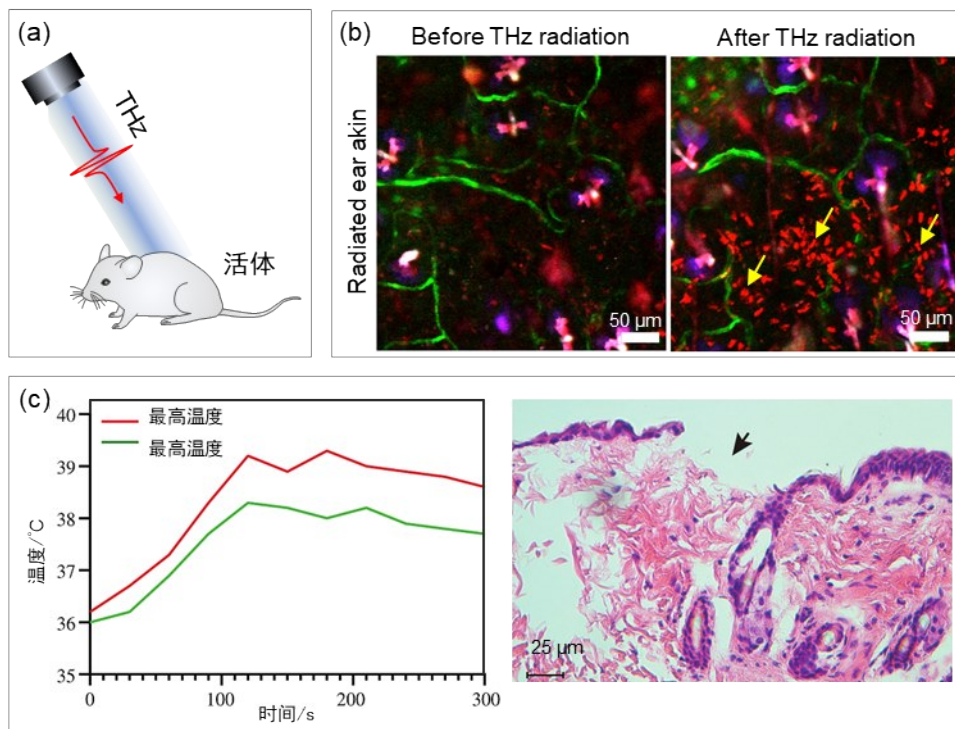


图7 THz波辐照对活体组织产生的效应。(a)THz波辐照小鼠示意图;(b)THz波辐照前后活鼠耳皮肤中性粒细胞分布的荧光图像,红色表示中性粒细胞,绿色表示血管,品红色表示毛囊;(c)THz波辐照后小鼠皮肤的升温曲线(左)及组织切片HE染色图(右)。图(b)和(c)经授权转载自参考文献[96]和[97]。

Fig. 7 Effects of THz radiation on tumors in living organisms. (a) Schematic of THz radiation on a mouse. (b) Fluorescence images of neutrophil distribution in the ear skin of a live mouse before and after THz radiation. Red, green, and magenta colors indicate neutrophils, blood vessels, and hair follicles, respectively. (c) Temperature rise curves of the skin (left) and a HE stained image of a skin tissue slice (right) after THz radiation. Images reproduced with permission from Ref. [96] (b), and Ref. [97] (c).

强对THz数据的分析能力。与此同时,对于THz信号所反映生物学信息的深层次理解的研究还比较匮乏。已有的初步研究表明,将分子动力学模拟引入到THz生物检测研究,将有助于从探测到的THz信号中解读生物学信息。

(4)三维成像需求。现有的THz生物成像通常是利用透射模式获得样品的整体图像信息,或者是通过反射/散射模式获取样品的表面信息,关于生物样品的三维成像技术的研究还比较匮乏。虽然目前已经出现了THz计算机辅助和光学相干层析等三维成像技术,但是由于生物样品的复杂性,相关技术还难以用于生物样品的三维成像,需要进一步在成像速度、分辨率、图像重构算法等方面进行技术突破^[101]。

(5)THz波生物效应研究不充分。目前THz波生物效应的研究尚不充分,还需要进一步深入研究。在将来的研究中,需要特别注意以下几方面:首先,目前大多数实验给出的辐照功率密度是从THz源出射的功率密度,不是真正到达样品的功率

密度,为了能够准确地评估辐射效应,应该给出作用在生物样品的辐照功率密度;其次,THz辐照的热效应和非热效应都有可能对生物体系产生影响,在排除热效应影响时,需要仔细地考虑THz辐照对样品局部的影响,而不是仅通过监测样品的宏观温度变化就得出结论;最后,现有辐照实验所采用的THz源、辐照参数、辐照方式、生物样品多种多样,不同研究团队的实验很难在不同团队之间重复开展,不利于系统化的THz波生物效应研究,因而急需建立标准的THz波生物效应研究规范。

综上所述,THz技术在生物医学领域展现出巨大的应用前景。尽管当前THz生物医学发展仍然很不充分,面临着多方面的挑战。但是随着现代科技的发展,优质的THz源和探测器不断地被开发出来,先进探测方法和计算光学技术也在蓬勃发展。因此我们有理由相信,上述THz技术挑战将会逐渐得到解决,THz生物医学研究将进一步发展,并在国民经济发展和人民健康水平提升中发挥重要作用。

References

- [1] Ferguson B, Zhang X-C. Materials for terahertz science and technology [J]. *Nature Materials*, 2002, **1**(1): 26-33.
- [2] Zhang J W, Chen X Z, Mills S, *et al.* Terahertz nanoimaging of graphene [J]. *ACS Photonics*, 2018, **5**(7): 2645-2651.
- [3] Yang X, Zhao X, Yang K, *et al.* Biomedical applications of terahertz spectroscopy and imaging [J]. *Trends in Biotechnology*, 2016, **34**(10): 810-824.
- [4] Son J-H. Terahertz biomedical science and technology [M]. Boca Raton, Florida, CRC Press, 2014, pp. 1-5.
- [5] Hu B B, Nuss M C. Imaging with terahertz waves [J]. *Optics Letters*, 1995, **20**(16): 1716-1718.
- [6] Köhler R, Tredicucci A, Beltram F, *et al.* Terahertz semiconductor-heterostructure laser [J]. *Nature*, 2002, **417**(6885): 156-159.
- [7] Sherwin M. Terahertz power [J]. *Nature*, 2002, **420**(6912): 131-133.
- [8] Donald D A, Craig M C, Alessandra C, *et al.* Applications of terahertz (THz) technology to medical imaging [J]. *Proceedings of SPIE*, 1999, 3828.
- [9] Bryan E C, Ruth M W, David A C, *et al.* Terahertz imaging and spectroscopy of human skin in vivo [J]. *Proceedings of SPIE*, 2001, 4276.
- [10] Woodward R M, Wallace V P, Pye R J, *et al.* Terahertz pulse imaging of ex vivo basal cell carcinoma [J]. *Journal of Investigative Dermatology*, 2003, **120**(1): 72-78.
- [11] Scarf M R, Roman M, Di Pietro R, *et al.* THz exposure of whole blood for the study of biological effects on human lymphocytes [J]. *Journal of Biological Physics*, 2003, **29**(2): 171-176.
- [12] Chen X Q, Lindley-Hatcher H, Stantchev R I, *et al.* Terahertz (THz) biophotonics technology: Instrumentation, techniques, and biomedical applications [J]. *Chemical Physics Reviews*, 2022, **3**(1): 011311.
- [13] Chernomyrdin N V, Musina G R, Nikitin P V, *et al.* Terahertz technology in intraoperative neurodiagnostics: A review [J]. *Opto-Electronic Advances*, 2023, **6**(5): 220071.
- [14] Peng Y, Shi C J, Wu X, *et al.* Terahertz imaging and spectroscopy in cancer diagnostics: A technical review [J]. *BME Frontiers*, 2020, **2020**: 2547609.
- [15] Hu M D, Tang M J, Wang H B, *et al.* Terahertz, infrared and Raman absorption spectra of tyrosine enantiomers and racemic compound [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, **254**: 119611.
- [16] Brunner F D J, Schneider A, Günter P. A terahertz time-domain spectrometer for simultaneous transmission and reflection measurements at normal incidence [J]. *Optics Express*, 2009, **17**(23): 20684-20693.
- [17] Wang W N, Li H Q, Zhang Y, *et al.* Correlations between terahertz spectra and molecular structures of 20 standard α -amino acids [J]. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 2009, **25**(10): 2074-2079. (王卫宁, 李洪起, 张岩, 等. 20种 α -氨基酸的太赫兹光谱及其分子结构的相关性 [J]. *物理化学学报*), 2009, **25**(10): 2074-2079.
- [18] Zhu Z, Zhang J B, Song Y S, *et al.* Broadband terahertz signatures and vibrations of dopamine [J]. *Analyst*, 2020, **145**(18): 6006-6013.
- [19] Zhu Z, Cheng C, Chang C, *et al.* Characteristic fingerprint spectrum of neurotransmitter norepinephrine with broadband terahertz time-domain spectroscopy [J]. *Analyst*, 2019, **144**(8): 2504-2510.
- [20] Cheng C, Zhu Z J, Li S P, *et al.* Broadband terahertz recognizing conformational characteristics of a significant neurotransmitter γ -aminobutyric acid [J]. *RSC Advances*, 2019, **9**(35): 20240-20247.
- [21] Arora A, Luong T Q, Krüger M, *et al.* Terahertz-time domain spectroscopy for the detection of PCR amplified DNA in aqueous solution [J]. *Analyst*, 2012, **137**(3): 575-579.
- [22] Chen J-Y, Knab J R, Ye S, *et al.* Terahertz dielectric assay of solution phase protein binding [J]. *Applied Physics Letters*, 2007, **90**(24): 243901.
- [23] Liu B W, Peng Y, Jin Z M, *et al.* Terahertz ultrasensitive biosensor based on wide-area and intense light-matter interaction supported by QBIC [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, **462**: 142347.
- [24] Fischer B M, Walther M, Jepsen P U. Far-infrared vibrational modes of DNA components studied by terahertz time-domain spectroscopy [J]. *Physics in Medicine & Biology*, 2002, **47**(21): 3807-3814.
- [25] Zhang J, Mu N, Liu L H, *et al.* Highly sensitive detection of malignant glioma cells using metamaterial-inspired THz biosensor based on electromagnetically induced transparency [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, **185**: 113241.
- [26] Berrier A, Schaafsma M C, Nonglaton G, *et al.* Selective detection of bacterial layers with terahertz plasmonic antennas [J]. *Biomedical Optics Express*, 2012, **3**(11): 2937-2949.
- [27] Liu H-B, Plopper G, Earley S, *et al.* Sensing minute changes in biological cell monolayers with THz differential time-domain spectroscopy [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2007, **22**(6): 1075-1080.
- [28] Yang K, Yang X, Zhao X, *et al.* THz Spectroscopy for a rapid and label-free cell viability assay in a microfluidic chip based on an optical clearing agent [J]. *Analytical Chemistry*, 2019, **91**(1): 785-791.
- [29] Png G, Flook R, Ng B, *et al.* Terahertz spectroscopy of snap-frozen human brain tissue: An initial study [J]. *Electronics Letters*, 2009, **45**(7): 343-345.
- [30] Zhao H L, Wang Y Y, Chen L Y, *et al.* High-sensitivity terahertz imaging of traumatic brain injury in a rat model [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2018, **23**(3): 036015.
- [31] Li D D, Yang Z B, Fu A L, *et al.* Detecting melanoma with a terahertz spectroscopy imaging technique [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, **234**: 118229.
- [32] Guo Y S, Wang S, Chen T N, *et al.* Detecting mouse glioma tissues with a terahertz time-domain spectroscopy technique [J]. *Proceedings of SPIE*, 2021, 11909.
- [33] 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.
- [34] Reid C B, Fitzgerald A, Reese G, *et al.* Terahertz pulsed

- imaging of freshly excised human colonic tissues [J]. *Physics in Medicine & Biology*, 2011, **56**(14): 4333–4353.
- [35] Chen H, Ma S H, Wu X, *et al.* Diagnose human colonic tissues by terahertz near-field imaging [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2015, **20**(3): 036017.
- [36] Sun Y W, Zhang Y T, Pickwell-MacPherson E. Investigating antibody interactions with a polar liquid using terahertz pulsed spectroscopy [J]. *Biophysical Journal*, 2011, **100**(1): 225–231.
- [37] Zhang Z Y, Yang G, Fan F, *et al.* Terahertz circular dichroism sensing of living cancer cells based on microstructure sensor [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2021, **1180**: 338871.
- [38] Zhang Z Y, Zhang T R, Fan F, *et al.* Terahertz polarization sensing of bovine serum albumin proteolysis on curved flexible metasurface [J]. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2022, **338**: 113499.
- [39] Zaitsev K I, Chernomyrdin N V, Kudrin K G, *et al.* Terahertz spectroscopy of pigmentary skin nevi in vivo [J]. *Optics and Spectroscopy*, 2015, **119**(3): 404–410.
- [40] Huang S Y, Wang Y X J, Yeung D K W, *et al.* Tissue characterization using terahertz pulsed imaging in reflection geometry [J]. *Physics in Medicine & Biology*, 2009, **54**(1): 149–160.
- [41] Yamaguchi S, Fukushi Y, Kubota O, *et al.* Brain tumor imaging of rat fresh tissue using terahertz spectroscopy [J]. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 30124.
- [42] Bowman T, El-Shenawee M, Campbell L K. Terahertz transmission vs reflection imaging and model-based characterization for excised breast carcinomas [J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, **7**(9): 3756–3783.
- [43] Jung E, Lim M, Moon K, *et al.* Terahertz pulse imaging of micro-metastatic lymph nodes in early-stage cervical cancer patients [J]. *Journal of The Optical Society of Korea*, 2011, **15**: 155–160.
- [44] Huang H C, Liu Q, Zhu L G, *et al.* Dual-prism based terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy and its application to characterise the hydration state of L-threonine in solution [J]. *Optics Communications*, 2019, **437**: 133–138.
- [45] Shiraga K, Suzuki T, Kondo N, *et al.* Quantitative characterization of hydration state and destructuring effect of monosaccharides and disaccharides on water hydrogen bond network [J]. *Carbohydrate Research*, 2015, **406**: 46–54.
- [46] Shiraga K, Ogawa Y, Kondo N, *et al.* Evaluation of the hydration state of saccharides using terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy [J]. *Food Chemistry*, 2013, **140**(1): 315–320.
- [47] Wang Y Y, Wang G Q, Xu D G, *et al.* Terahertz spectroscopic diagnosis of early blast-induced traumatic brain injury in rats [J]. *Biomedical Optics Express*, 2020, **11**(8): 4085–4098.
- [48] Liao Y S, Zhang M K, Tang M J, *et al.* Label-free study on the effect of a bioactive constituent on glioma cells in vitro using terahertz ATR spectroscopy [J]. *Biomedical Optics Express*, 2022, **13**(4): 2380–2392.
- [49] Zou Y, Liu Q, Yang X, *et al.* Label-free monitoring of cell death induced by oxidative stress in living human cells using terahertz ATR spectroscopy [J]. *Biomedical Optics Express*, 2018, **9**(1): 14–24.
- [50] Fu Y, Chen T N, Chen L G, *et al.* Terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy integrated with a microfluidic chip [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, **11**: 1143443.
- [51] Tang M J, Zhang M K, Xia L P, *et al.* Detection of gene mutation responsible for Huntington's disease by terahertz attenuated total reflection microfluidic spectroscopy [J]. *Journal of Biophotonics*, 2021, **14**(1): e202000315.
- [52] Tang M J, Zhang M K, Fu Y, *et al.* Terahertz label-free detection of nicotine-induced neural cell changes and the underlying mechanisms [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2023, **241**: 115697.
- [53] Zhao H L, Wang Y Y, Chen L Y, *et al.* High-sensitivity terahertz imaging of traumatic brain injury in a rat model [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2018, **23**(3): 036015.
- [54] Duan F, Wang Y Y, Xu D G, *et al.* Feasibility of terahertz imaging for discrimination of human hepatocellular carcinoma [J]. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 2019, **11**(2): 153–160.
- [55] Bowman T, Vohra N, Bailey K, *et al.* Terahertz tomographic imaging of freshly excised human breast tissues [J]. *Journal of Medical Imaging (Bellingham)*, 2019, **6**(2): 023501.
- [56] 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.
- [57] Chen A, Virk A, Harris Z, *et al.* Non-contact terahertz spectroscopic measurement of the intraocular pressure through corneal hydration mapping [J]. *Biomedical Optics Express*, 2021, **12**(6): 3438–3449.
- [58] Bowman T, Wu Y H, Gauch J, *et al.* Terahertz imaging of three-dimensional dehydrated breast cancer tumors [J]. *Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*, 2017, **38**(6): 766–786.
- [59] Ji Y B, Kim J M, Lee Y H, *et al.* Investigation of keratinizing squamous cell carcinoma of the tongue using terahertz reflection imaging [J]. *Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*, 2019, **40**(2): 247–256.
- [60] Bowman T C, El-Shenawee M, Campbell L K. Terahertz imaging of excised breast tumor tissue on paraffin sections [J]. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*, 2015, **63**(5): 2088–2097.
- [61] Wu L M, Xu D G, Wang Y Y, *et al.* Horizontal-scanning attenuated total reflection terahertz imaging for biological tissues [J]. *Neurophotonics*, 2020, **7**(2): 025005.
- [62] Bajwa N, Sung S, Ennis D B, *et al.* Terahertz imaging of cutaneous edema: correlation with magnetic resonance imaging in burn wounds [J]. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2017, **64**(11): 2682–2694.
- [63] Fan S T, Ung B S Y, Parrott E P J, *et al.* In vivo terahertz reflection imaging of human scars during and after the healing process [J]. *Journal of Biophotonics*, 2017, **10**(9): 1143–1151.
- [64] 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**(2):

- 424–432.
- [65] Hernandez-Cardoso G G, Rojas-Landeros S C, Alfaro-Gomez M, *et al.* Terahertz imaging for early screening of diabetic foot syndrome: A proof of concept [J]. *Scientific Reports*, 2017, **7**(1): 42124.
 - [66] Liu H X, Yao J Q, Wang Y Y, *et al.* Review of THz near-field imaging [J]. *Journal of Infrared & Millimeter Waves*, 2016, **35**(3): 300–309. (刘宏翔, 姚建铨, 王与桦, *et al.* 太赫兹波近场成像综述 [J]. *红外与毫米波学报*), 2016, **35**(3): 300–309.
 - [67] Wächter M, Nagel M, Kurz H. Tapered photoconductive terahertz field probe tip with subwavelength spatial resolution [J]. *Applied Physics Letters*, 2009, **95**(4): 041112.
 - [68] Sun W D, Geng G S, Yang Z B, *et al.* Imaging porcine tissue using a near-field terahertz microscopy technique [J]. *Journal of Infrared & Millimeter Waves*, 2018, **37**(6): 769–774. (孙卫东, 耿国帅, 杨忠波, 等. 猪肉组织的近场太赫兹成像检测研究 [J]. *红外与毫米波学报*), 2018, **37**(6): 769–774.
 - [69] Geng G S, Dai G B, Li D D, *et al.* Imaging brain tissue slices with terahertz near-field microscopy [J]. *Biotechnology Progress*, 2019, **35**(2): e2741.
 - [70] Li Z X, Yan S H, Zang Z Y, *et al.* Single cell imaging with near-field terahertz scanning microscopy [J]. *Cell Proliferation*, 2020, **53**(4): e12788.
 - [71] Heo C, Ha T, You C, *et al.* Identifying fibrillization state of A β protein via near-field THz conductance measurement [J]. *ACS Nano*, 2020, **14**(6): 6548–6558.
 - [72] Serita K, Mizuno S, Murakami H, *et al.* Scanning laser terahertz near-field imaging system [J]. *Optics Express*, 2012, **20**(12): 12959–12965.
 - [73] Kazunori S, Hironaru M, Iwao K, *et al.* Evaluation of human hairs with terahertz wave [J]. *Optical Engineering*, 2013, **53**(3): 031205.
 - [74] Okada K, Serita K, Zang Z R, *et al.* Scanning laser terahertz near-field reflection imaging system [J]. *Applied Physics Express*, 2019, **12**(12): 122005.
 - [75] Okada K, Cassar Q, Murakami H, *et al.* Label-free observation of micrometric inhomogeneity of human breast cancer cell density using terahertz near-field microscopy [J]. *Photonics*, 2021, **8**(5): 151.
 - [76] Yuan T, Park H, Xu J Z, *et al.* Field-induced THz wave emission with nanometer resolution [J]. *Proceedings of SPIE*, 2005, 5649.
 - [77] Yang Z B, Tang D Y, Hu J, *et al.* Near-field nanoscopic terahertz imaging of single proteins [J]. *Small*, 2021, **17**(3): 2005814.
 - [78] Zhang X Q Y, Hu M, Zhao X, *et al.* Biomedical applications of terahertz near-field imaging [C]. 2021 46th International Conference on Infrared, Millimeter and Terahertz Waves (IRMMW-THz), 2021: 1–2.
 - [79] 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.
 - [80] Zhang X X, He M X, Chen Y, *et al.* Non-thermal effects of 0.1 THz radiation on intestinal alkaline phosphatase activity and conformation [J]. *Chinese Physics B*, 2019, **28**(12): 128702.
 - [81] Greschner A A, Ropagnol X, Kort M, *et al.* Room-temperature and selective triggering of supramolecular DNA assembly/disassembly by nonionizing radiation [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, **141**(8): 3456–3469.
 - [82] Khamoyan A G, Shevela E Y, Chernykh E R. Investigation of possibility of submillimeter laser using as instrument for diagnostics in medicine [J]. *Proceedings of SPIE*, 2007, **6734**: 673404.
 - [83] Perera P G T, Appadoo D R T, Cheeseman S, *et al.* PC 12 pheochromocytoma cell response to super high frequency terahertz radiation from synchrotron source [J]. *Cancers*, 2019, **11**(2): 162.
 - [84] Gerald J W, Bennett L I, Caleb L R, *et al.* Determination of death thresholds and identification of terahertz (THz)-specific gene expression signatures [J]. *Proceedings of SPIE*, 2010, **7562**: 75620K.
 - [85] Tan S Z, Tan P C, Luo L Q, *et al.* Exposure effects of terahertz waves on primary neurons and neuron-like cells under nonthermal conditions [J]. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2019, **32**(10): 739–754.
 - [86] Shang S, Wu X J, Zhang Q, *et al.* 0.1 THz exposure affects primary hippocampus neuron gene expression via alternating transcription factor binding [J]. *Biomedical Optics Express*, 2021, **12**(6): 3729–3742.
 - [87] 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.
 - [88] Lin Y Y, Wu X J, Wang K C, *et al.* Spectral characteristics and functional responses of phospholipid bilayers in the terahertz band [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, **24**(8): 7111.
 - [89] 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.
 - [90] Zhao L, Yi R H, Liu S, *et al.* Biological responses to terahertz radiation with different power density in primary hippocampal neurons [J]. *PLoS One*, 2023, **18**(1): e0267064.
 - [91] Tsurkan M V, Smolyanskaya O A, Bespalov V G, *et al.* Changing growth of neurites of sensory ganglion by terahertz radiation [J]. *Proceedings of SPIE*, 2012, 8261.
 - [92] 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**(1): 7749.
 - [93] 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): 793.
 - [94] Wilmsink G J, Grundt J E. Invited review article: Current state of research on biological effects of terahertz radiation [J]. *Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*, 2011, **32**(10): 1074–1122.
 - [95] Danielle R D, Jill M, Rebecca V, *et al.* Damage thresh-

- olds for terahertz radiation [J]. *Proceedings of SPIE*, 2010, **7562**: 75620M.
- [96] 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.
- [97] Chen C H, Ma Q L, Tao J W, *et al.* Effects of terahertz exposure on skin injury in mouse model[J]. *Journal of Third Military Medical University*, 2020, **43**(23): 2282–2289. (陈纯海, 马秦龙, 陶嘉雯, 等. 太赫兹辐射暴露致小鼠皮肤损伤效应研究 [J]. *第三军医大学学报*), 2020, **43**(23): 2282–2289.
- [98] Miyoshi N, Idehara T, Khutoryan E, *et al.* Combined hyperthermia and photodynamic therapy using a sub-THz gyrotron as a radiation source [J]. *Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*, 2016, **37**(8): 805–814.
- [99] Liao X Y, Li Z P, Zhou K, *et al.* Broadband terahertz quantum cascade laser dual-comb sources under off-resonant microwave injection [J]. *Advanced Photonics Research*, 2022, **3**(10): 2100361.
- [100] Li H, Li Z P, Wan W J, *et al.* Toward compact and real-time terahertz dual-comb spectroscopy employing a self-detection scheme [J]. *ACS Photonics*, 2020, **7**(1): 49–56.
- [101] Wang Y Y, Chen L Y, Xu D G, *et al.* Advances in terahertz three-dimensional imaging techniques [J]. *Chinese Optics*, 2019, **12**(1): 1–18. (王与焯, 陈霖宇, 徐德刚, 等. 太赫兹波三维成像技术研究进展 [J]. *中国光学*), 2019, **12**(1): 1–18.