

基于基底细胞癌的太赫兹波光谱分析^①

何明霞^{a,b} 陈涛^{②a,b} 杨吉龙^c

^a(天津大学精密仪器与光电子工程学院精密测试技术及仪器国家重点实验室 天津市南开区卫津路92号 300072)

^b(天津大学太赫兹中心 天津市南开区卫津路92号 300072)

^c(天津医科大学附属肿瘤医院骨与软组织肿瘤科 天津市河西区体院北环湖西路 300060)

摘要 获得了基底细胞癌变组织的太赫兹(THz)光谱和图像,并进行了组织病理学的分析。采用太赫兹时域光谱技术,对石蜡包埋的基底细胞癌组织进行透射式实验研究,获得了透过率和吸收系数的光谱,并利用癌变组织和健康组织区分度明显的1.3THz的吸收系数进行成像得到了与宏观组织较符合的THz图像。从组织病理学的角度阐述了太赫兹谱线及图像的成因,结合生物大分子的THz光谱,分别讨论了细胞密度、DNA的含量、水化作用对太赫兹光谱和成像的影响。实验结果表明:癌变组织与健康组织相比对THz吸收较多。太赫兹光谱和成像技术有望用于术前基底细胞癌的轮廓诊断。

关键词 太赫兹光谱;成像;组织病理学分析;基底细胞癌

中图分类号:TN29;O433.4

文献标识码:A

文章编号:1004-8138(2013)02-0546-04

1 引言

太赫兹波(Terahertz Wave, THz),也称作T射线,通常是指频率范围为0.1—10THz之间的电磁波,在频谱中位于微波和红外线之间。与其他波段的电磁波相比,太赫兹波有其独特的性质,包括:(1)穿透性强:可对微波或光波波段不透明的物体进行透视成像;(2)光谱分辨能力高:由于波长较小所以成像时能够获得足够的空间分辨率;(3)良好的生物特性:生物分子的振动和转动能级大多处于太赫兹波段,通过太赫兹光谱和成像技术能够探测和区分不同的生物组织^[1]。

太赫兹波医学应用的首次报道是在1999年。当时,Mittleman等人利用太赫兹时域光谱系统(Terahertz Time Domain Spectroscopy, THz-TDS)对鸡烧伤的胸部进行成像。烧伤组织与正常组织的水含量和构成成分不同导致了介电常数发生了变化。从那时起,太赫兹时域光谱技术在医学成像领域的应用不断深入,尤其是在癌症诊断方面的研究方兴未艾。

在对癌症的成像研究中报道较多的为对基底细胞癌(Basal Cell Carcinoma)的诊断。2002年Woodward等人首先使用太赫兹脉冲成像技术对基底细胞癌开展了活体与体外组织的研究,利用不同组织对太赫兹波的吸收特性不同区分健康组织和癌变组织^[2]。在这些研究中,一些影响太赫兹波吸收的因素(水含量或水状态等)被提及但尚有争议。为此,有必要从组织病理学的角度对太赫兹波光谱与成像进行解释,从而为其真正应用于临床医学奠定基础。这也是从一个全新的角度解读太赫兹光谱。

① 国家自然科学基金(60977064);天津市应用基础及前沿技术研究基金(10JCYBJC01400)

② 联系人,手机:(0)15522609878;传真:(022)27404778;E-mail:chentao2010@tju.edu.cn

作者简介:何明霞(1965—),女,天津市人,副教授,博士,主要从事光电检测技术、太赫兹光谱和成像的研究工作。

收稿日期:2012-07-17;接受日期:2012-09-14

本文采用 THz-TDS 系统对石蜡包埋的基底细胞癌组织与正常皮肤组织进行频谱分析与成像，并与显微镜下的组织病理学图像比较，以期对得到的太赫兹光谱和图像进行组织病理学解释。

2 实验设计与数据采集

2.1 实验装置

实验所用的装置如图 1 所示，为天津大学太赫兹中心自行搭建的光电导式 THz-TDS 系统。光源采用自锁模掺钛蓝宝石激光器，中心波长为 800nm，重复频率为 82MHz。飞秒激光器发射的激光脉冲被分束器分成两束，一束为抽运光(Fs laser1)经过载波器(Chopper)和硅透镜(SL)后照射到光电导天线上，产生 THz 波。在经过四个离轴抛面镜所构成的 8F 系统后传送到第二个硅透镜。其中斩波器的调制频率为 70Hz。另一束为探测光(Fs laser2)经过光学延迟系统聚焦到 THz 探测天线上，即抽运光和探测光交汇后同轴通过光电导探测天线。这样携带样品信息的信号经过电流放大器(Current Amplifier)、锁相放大器(Lock in Amplifier)后进入数据采集系统(Computer)进行采集处理。上位机采用 Labview 软件进行时域和频域的实时采集和显示^[3]。

2.2 实验样品及过程

样品为福尔马林固定、石蜡包埋的基底细胞癌组织，由天津市肿瘤医院提供。组织厚度为 0.5mm，石蜡规格为 20mm×15mm×3mm。该样品右侧为癌变组织，切面呈灰色、质硬，边界尚清。如图 2a 所示。将样品置于样品池中，悬置在第二和第三抛面镜中间束腰处，使用二维平移台进行扫描。扫描步长为 1.25mm×1.25mm，点数为 8×8。上位机时域采集点数为 512 个，扫描速度设置为 20μm/s。测量时装置内一直通入干燥空气，使湿度降至并保持在 14%，最大限度的减少环境中的水蒸气对太赫兹的吸收。

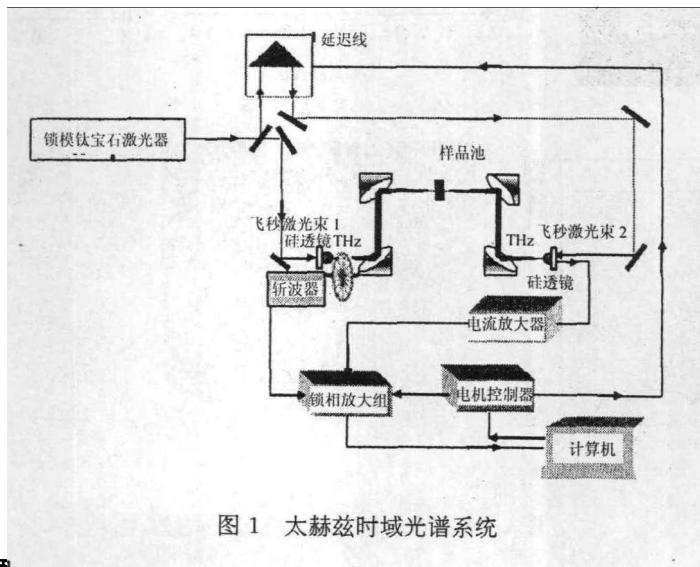


图 1 太赫兹时域光谱系统

2.3 实验数据处理

实验获得的数据包含了透过样品的太赫兹强度和相位的信息，这与样品的空间密度分布、折射率等密切相关。数据处理部分在 Original8.5 软件中进行，获得癌变区域和健康区域的谱线和图像以便比较。将时域和频域的信号分别取平均值计算癌变区域和健康区域的透过率和吸收系数。其中透过率为透过样品的频域信号与透过石蜡的参考信号的比值。吸收系数的理论计算在文献[3]中已有详尽的描述。

3 结果与讨论

3.1 实验结果

图 2 展示了样品的 THz 图像, 透过率与吸收系数的谱线分别如图 2b, 2c 所示。癌变组织和正常组织的透过率和吸收系数曲线具有差异, 要得到对比明显的图像就需要选择一个幅值差异最大的频率。可以看出在 1.1—1.3 THz 时纵坐标幅值差异较大且稳定。在此选择 1.3 THz 的吸收系数进行成像, 如图 2d 所示。图中暗红色对应癌变区域, 表明吸收系数较大, 透过率较低。黄色和橙色区域对应正常组织, 吸收系数较小, 透过率较高。右侧垂直色标尺由下到上分别对应吸收系数由小到大, 透过率由高到低。图中颜色的渐变代表细胞密度或大分子含量等数量的不同。该图与经过 HE 染色的组织吻合较好。癌变组织和健康组织的病理图片分别如图 2e 和图 2f 所示。

3.2 组织病理学分析

组织病理学是肿瘤诊断的“金标准”, 但有时病理诊断需借助经验判断及主观认识, 有一定的偏差。因此如果对 THz 光谱找到病理学依据, 那么结合二者的诊断既减少了主观经验判断带来的偏差, 又可使患者免于活体组织病理检查的创伤。

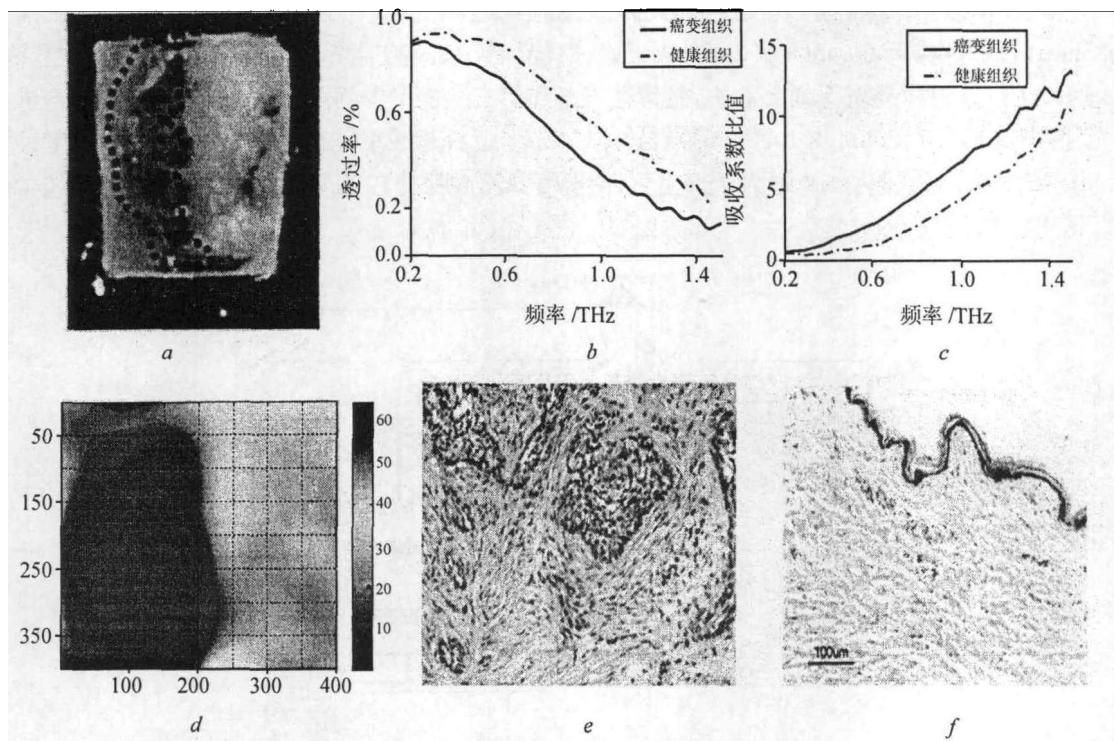


图 2 基底细胞癌变组织的 THz 成像

e, f——50 倍放大

从细胞生物学角度讲, 肿瘤细胞新陈代谢旺盛, 细胞器较多, DNA 和 RNA 的含量也较正常组织较多。在 1986 年 Wittlin A 等人就研究发现 Li-DNA 在 1.35 THz, Na-DNA 在 1.23 THz 具有包括低频模式在内的 5 种振动模式, 这与本研究所选的成像频率 1.30 THz 较为接近^[4]。2008 年 Li X W 等人通过分子动力学的模拟证实了 DNA 双链中存在着大量的活跃的低频声子模式^[5]。可见癌变组织中 DNA 不但数量多而且频繁发生结构的变化, 在这个过程中对 THz 的吸收较多。另外比较图 2e 和 2f 可看出癌变组织真皮内有基底样细胞团块, 细胞密度较大且蛋白质含量较高进一步加剧了对 THz 的吸收。

从病理及病理生理学角度讲,细胞癌变的病因在于细胞的异常增殖,细胞的代谢速度加快,细胞器含量增加,细胞内外物质交流速度加快,并造成周围组织的挤压、缺血、坏死、水肿、出血、炎症等。早在1989年Martin van Exter等人就证实了水在0.2—1.45THz范围内存在9个吸收峰^[6]。从此研究癌变组织的THz光谱多数是在讨论水含量差异。随着THz产生和探测技术的发展以及THz与生物组织作用机理的研究的深入,可以对表层的现象进行更为微观的解释。水含量对THz的影响实际上是水分子与生物大分子的水化作用造成的。水分子之间以氢键相连,因此生物大分子(糖类、蛋白质等)与水结合时,在溶剂化的过程中破坏了原来的水网络结构,在其周围形成一定的水分子层,称为水化作用。内外层的水分子不断的进行交换,氢键也相应的重排。这个过程中需要的能量正位于THz波段,因此对THz的吸收较为强烈^[7]。

4 结论

本文首先研究了基底细胞癌变组织与正常组织对THz的透过率和吸收系数的谱线,利用区分度明显的1.3THz的吸收系数进行成像得到了与宏观组织较符合的图像。然后根据对应的显微镜下观察到的组织图解释了太赫兹谱线及图像。本文的结论主要有以下几点:(1)癌变组织的细胞密度较大,与THz作用的接触面较多;(2)DNA和RNA的含量较高且频繁发生结构的变化,这一过程对THz的吸收较为强烈;(3)癌变组织中水含量较高,糖类和蛋白质等生物大分子在水环境中的溶剂化时发生水化作用,使氢键不断的重排,因此对THz的吸收较多。这是分析癌变组织的THz光谱的关键所在。

参考文献

- [1] 杨鹏飞,姚建铨等.太赫兹波及其常用源[J].激光与红外,2011,41(2):125—131.
- [2] Woodward R M, Cole B E, Wallace V P et al. Terahertz Pulse Imaging in Reflection Geometry of Human Skin Cancer and Skin Tissue[J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2002, 47(21):3853.
- [3] 何明霞.生物组织与微纳材料太赫兹时域光谱特性研究[D].天津:天津大学,2007.19—38.
- [4] Wittlin A, Genzel L et al. Far-infrared Spectroscopy on Oriented Films of Dry and Hydrated DNA[J]. *Phys. Rev A*, 1986, 34(1): 493.
- [5] Li X W, Globus T, Gelmont B et al. Terahertz Absorption of DNA Decamer Duplex[J]. *J. Physical Chemistry A*, 2008, 112(47): 12090—12096.
- [6] Martin van Exter, Grischkowsky D et al. Terahertz Time-Domain Spectroscopy of Water Vapor[J]. *Optics Letters*, 1989, 14(20): 1128—1130.
- [7] Bründermann E, Born B, Funkner S et al. Terahertz Spectroscopic Techniques for the Study of Proteins in Aqueous Solutions[J]. *Proceedings of SPIE*, 2009, 7215:72150E1-72150E9.

Analysis of Terahertz-Wave Spectroscopy for Basal Cell Carcinoma Tissue

HE Ming-Xia^{a,b} CHEN Tao^{a,b} YANG Ji-Long^c

^a(State Key Laboratory of Precision Measuring Technology and Instruments, Tianjin University, Tianjin 300072, P. R. China)

^b(Terahertz Center, Tianjin University, Tianjin 300072, P. R. China)

^c(Department of Bone and Soft Tissue Tumor, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, P. R. China)

Abstract Spectra and images of basal cell carcinoma were obtained and analyzed based on histopathology. Choosing the Basal Cell Carcinoma (BCC) tissue embedded in paraffin as the sample, the transmittance and absorption coefficient spectrum were obtained based on terahertz time domain spectroscopy system. Then THz imaging was performed at 1.3 THz, which reached a maximum coefficient, and compared with the histological features detected by microscopy. From the perspective of histopathology, the effect of tissue/cell density, content of DNA and hydration on terahertz imaging was analyzed. The experimental results show that: cancer region showed higher absorption than normal region. Intraoperative delineation of non-melanoma skin cancers using terahertz spectroscopy and imaging is feasible.

Key words Terahertz-Wave Spectroscopy; Imaging; Histopathology Analysis; Basal Cell Carcinoma