

文章编号: 2095-4980(2024)04-0378-07

高灵敏度太赫兹超材料对于生物组织切片的研究

丛梦杨^{1,2}, 石文洁³, 邱建峰^{*2}

(1. 山东农业大学 机械与电子工程学院, 山东 泰安 271000; 2. 山东第一医科大学(山东省医学科学院) 放射学院, 山东 泰安 271000; 3. 北京卫生职业学院, 北京 100000)

摘要: 太赫兹波在生物医学领域具有非电离、无标签、实时等优点, 因此在该领域具有巨大的发展潜力。为了解决介电常数相近的生物组织之间的区分问题, 设计并制造了一种具有 Fano 共振特性的超材料, 并进行太赫兹反射成像实验。模拟和实验结果显示, 在 0.82 THz 下, 该超材料的反射灵敏度达到 132 GHz/RIU。该超材料不仅可以提高标准成像分辨率板的对比度, 还可以将肌肉组织和脂肪组织之间对比度提高约 7.5%。这些结果表明, 该超材料能够显著提高生物组织切片图像的对比度, 为今后太赫兹应用于临床组织样本奠定了实验和理论基础。

关键词: 太赫兹; 超表面; 灵敏度; 生物组织

中图分类号: O657.61

文献标志码: A

doi: 10.11805/TKYDA2023420

Terahertz metamaterials with high sensitivity for biological tissue slices study

CONG Mengyang^{1,2}, SHI Wenjie³, QIU Jianfeng^{*2}

(1.College of Mechanical and Electronic Engineering, Shandong Agricultural University, Taian Shandong 271000, China;
2.School of Radiology, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Taian Shandong 271000, China;
3.Beijing Health Vocational College, Beijing 100000, China)

Abstract: Terahertz (THz) wave has great development potential in biomedical science due to its nonionizing, labelless and real-time characteristics. To distinguish biological tissues with similar permittivity, a metamaterial with Fano resonance is designed and fabricated for THz reflection imaging. The simulation and experimental results show that the reflection sensitivity of the metamaterial is 132 GHz/RIU at 0.82 THz. The metamaterial not only enhances the contrast of imaging resolution plate, but also improves the contrast between the muscle and the fat tissues by approximately 7.5%, therefore, it can improve the contrast of biological tissue slice images. This work has established an experimental and theoretical foundation for future terahertz applications in clinical tissue samples.

Keywords: terahertz; metasurface; sensitivity; biological tissue

太赫兹波是一种介于 0.1~10 THz (波长为 30~3 000 μm) 频率范围内的电磁波, 其位于微波和红外波之间^[1]。生物大分子(如蛋白质等)的旋转和振动能级大多处于太赫兹波段内, 不同种类的细胞和生物分子也可以获得自己独特的指纹光谱^[2]。与此同时, 太赫兹辐射的光子能量很低, 仅为 X 射线的百万分之一, 因此不会对生物组织和 DNA 的特性造成破坏。综上所述, 太赫兹技术非常适用于生物组织切片的光谱和成像实验, 尤其是区分癌症组织和正常组织。太赫兹医学成像依赖于组织中的含水量差异和结构变化进行成像。癌变或病变组织由于组织水肿和细胞增多, 含水量较高, 从而导致太赫兹吸收有所不同。同时, 病变组织的微环境和细胞结构形态发生变化, 进而导致最终成像结果的差异^[3-4]。太赫兹成像技术已广泛应用于乳腺、大脑、皮肤、肝脏、结肠癌、糖尿病足、骨组织、宫颈癌等方面^[5-12]。然而, 由于太赫兹技术的灵敏度不够高, 对于一些介电常数相似的生物组织, 研究人员很难区分它们, 从而无法实现根据太赫兹图像快速判别是否存在癌症组织, 这是太赫兹技术无法真正应用于临床的原因之一。

为了增强太赫兹成像中介电常数相似生物组织的区别度, Quentin 等采用了形态学扩展和折射率阈值的结合

收稿日期: 2023-12-20; 修回日期: 2024-01-11

基金项目: 山东第一医科大学学术推广计划资助项目(2019QL009)

*通信作者: 邱建峰 email:jfqi100@gmail.com

方法，分别实现了80%的乳腺癌组织分类敏感性和82%的特异性^[13]。但此方法并未从太赫兹技术方面解决问题。超材料作为一种人工合成的电磁材料，可以与太赫兹技术相结合，增强局部电场，从而增强太赫兹波与组织样本之间的相互作用，进而降低痕量物质的检测下限以及提高图像对比度^[14]。郑卓锐等人将太赫兹和超材料相结合构建了牛血清白蛋白传感器，其最低浓度检测限为0.3 mg/mL^[2]。徐文道利用单层石墨烯超材料实现了甲基毒死蜱检测下限达到0.2 ng^[15]。与此同时，研究人员将太赫兹成像技术与超材料相结合，提高了脑组织切片轮廓的清晰度，并改善了对海马体等不同区域的分类的准确度^[16-17]。因此，本研究设计并制作了一款新型双方形裂隙状超材料，旨在放大不同信号，提高太赫兹图像的对比度，并为解决介电常数相近的生物组织之间边缘性不准确的问题提供了理论基础。

本文提出了一种高灵敏度的太赫兹超表面，可用于生物组织切片的成像。该器件是由周期性排列的裂隙方形结构构成。模拟和实验结果显示，在反射模式下，该器件共有0.67 THz和0.82 THz两个共振频率，其中在0.82 THz下获得最高反射率灵敏度为132 GHz/RIU。对成像分辨率板和生物组织切片进行了太赫兹反射成像实验，实验结果表明，太赫兹超材料能够显著提高不同组织之间的对比度。本次研究结果为提高太赫兹成像技术在癌症组织切片等领域的图像对比度奠定了基础，同时也推动了太赫兹技术在临床样本检测方面的应用。

1 实验材料与方法

1.1 器件的设计、制造

为了实现对生物组织样本的快速高灵敏度检测，本文制作了如图1(a)所示的单元结构的超表面。图1(b)中结构单元中标注的优化后的结构参数如下：结构周期 $p=100\ \mu\text{m}$ ；裂隙宽 $g=6\ \mu\text{m}$ ；内环裂隙金属宽度 $6\ \mu\text{m}$ ；外环裂隙金属宽度 $5\ \mu\text{m}$ 。采用CST Microwave Studio软件的有限元法进行数值模拟和分析，太赫兹波垂直入射到超材料表面上，边界条件设置为： x 、 y 方向上设置周期边界条件， z 方向上设置开放边界条件，金的电导率 $\sigma=4.561\times 10^7\ \text{S/m}$ ，衬底为厚度 $15\ \mu\text{m}$ 的硅(相对介电常数为11.9)。在制备工艺方面，首先在尺寸为4 in、厚度为 $300\ \mu\text{m}$ 的硅(相对介电常数11.2)上方磁控溅射镀膜Cr 50 nm/Au 200 nm，利用传统的光刻技术对金属层进行图案加工。为方便后续实验，将制作的超材料进行切割，每块超材料的尺寸为 $2\ \text{cm}\times 2\ \text{cm}$ ，实物如图1(c)所示。

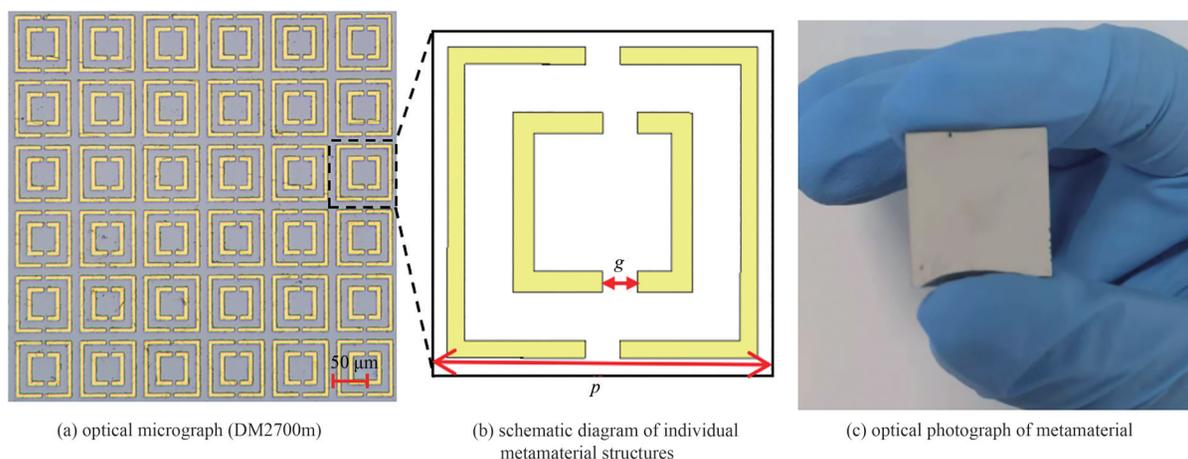


Fig.1 Schematic representation of the metamaterial structure
图1 超材料结构示意图

1.2 实验测试

本次实验所使用的为全光纤太赫兹时域光谱成像系统，其成像设备原理如图2所示。太赫兹实验频率范围为0.1~4 THz，光谱分辨率8 GHz，扫描精确度为 $2\ \mu\text{m}$ ，动态范围 $>70\ \text{dB}$ ，成像速度最大约为 $20\ \text{mm/s}$ 。根据样品所在样品台的位置，调节 X 、 Y 轴范围，步距设置为 $0.1\ \text{mm}$ ，对照实验采用裸硅进行。太赫兹光谱处理：获取光谱数据后利用Matlab软件将时域数据经过傅里叶变换获得频域数据，并且根据太赫兹图像处理方式：待扫描完成后储存实验数据，运行Matlab软件处理扫描数据并获得频谱动图，根据动图选取图像最清晰的共振频率，保存获取经过傅里叶变换的频谱图。

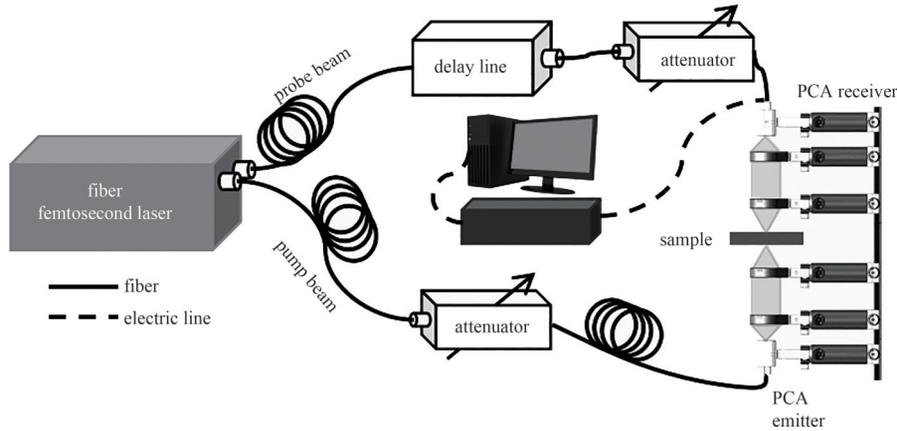


Fig.2 Schematic diagram of an all-fiber terahertz time-domain spectral imaging system(PCA:photoconductive antenna)
图2 全光纤太赫兹时域光谱成像系统原理图(PCA:光电导天线)

2 结果和讨论

2.1 超材料数值模拟实验

超材料的模拟($S_{11}(\omega)$ 为模拟的反射系数^[18])和实验反射率如图3所示,在0.2~1.0 THz范围内共有0.67 THz和0.82 THz两个反射共振频率。实验和模拟之间的差距主要源于以下几个因素:制造误差、实验过程中太赫兹波的损耗以及制作的衬底比模拟时的衬底厚导致内部折射。模拟的表面电流和电场、磁场结果分别如图4所示。如图4(a)所示,在0.67 THz频率下,内外裂隙环的表面电流方向相同,其共振频率为偶极共振。在0.82 THz频率下(图4(d)),发现内环的表面电流方向相反,此频率是通过打破结构对称性,获得了Fano共振,其共振可以等效为电容-电感共振。并且通过电场(如图4(b)、(e))和磁场(如图4(c)、(f))发现,在0.82 THz下,电场增强较为明显。为了评估超表面的传感性能,定义了传感器的光谱灵敏度(S)如下^[19]:

$$S = \Delta f / \Delta n \tag{1}$$

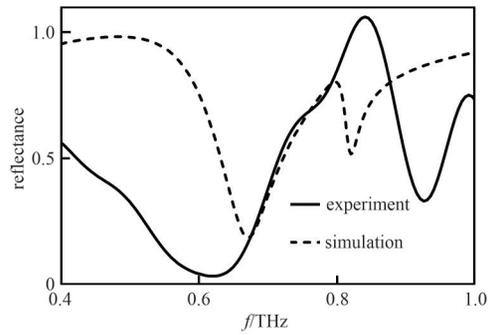


Fig.3 Reflectance of metamaterial
图3 超材料的反射率

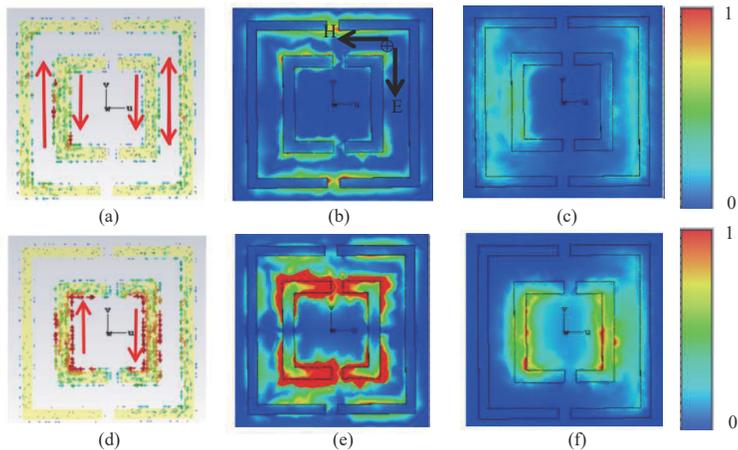


Fig.4 The numerical simulation of the metamaterial. (a)~(c) are the schematics of the surface current, electric field, magnetic field at 0.67 THz; (d)~(f) are the schematics of the surface current, electric field, and magnetic field at 0.82 THz.

图4 超材料的数值模拟图。(a)~(c)是0.67 THz下的表面电流、电场、磁场示意图;(d)~(f)是0.82 THz下的表面电流、电场、磁场示意图

式中： Δf 为反射率的共振频移； Δn 是样品折射率的变化。在其他条件一定的情况下，传感器的灵敏度越大，对于一些微弱物质的检测能力越强，对物质的信号放大效果越好。

通过数据模拟可以获得超材料的谐振频率随被覆盖物的折射率变化而变化，如图 5(a)所示。通过结果可以发现，当覆盖不同折射率的物质时，超材料的共振频移会出现不同程度的红移。绘制两个共振频率下的频移和折射率变化的曲线，如图 5(b)所示。通过上述公式模拟计算可知，在 0.1~1.0 THz 频率范围内，在 0.82 THz 频率下，反射率灵敏度为 132 GHz/RIU。反射率定义为^[20]：

$$R(\omega) = \left| \frac{E(\omega)}{E_{\text{ref}}(\omega)} \right|^2 \quad (2)$$

式中 $E(\omega)$ 和 $E_{\text{ref}}(\omega)$ 分别为样品信号和参考信号。

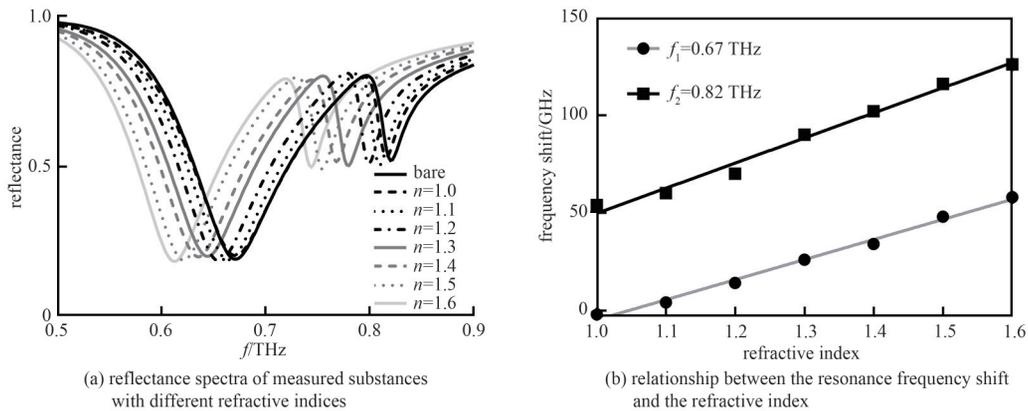


Fig.5 Sensitivity of the metamaterial

图5 超材料的灵敏度

2.2 生物组织切片实验

进行生物组织切片实验之前，首先对标准件——成像分辨率板进行了太赫兹成像实验。选择 1.5 mm 分辨率条，对其进行太赫兹成像对比实验，结果如图 6(b)、6(c)所示，图 6(b)是利用裸硅进行成像，图 6(c)是利用超材料进行成像。通过对比可以发现，在设备、环境等条件相同的情况下实验，加上超材料进行成像的左侧两个分辨率条的中间部分的颜色偏蓝，即频域幅值更小。因此得出结论，超材料可以提高太赫兹成像的对比度，边界更加清晰。

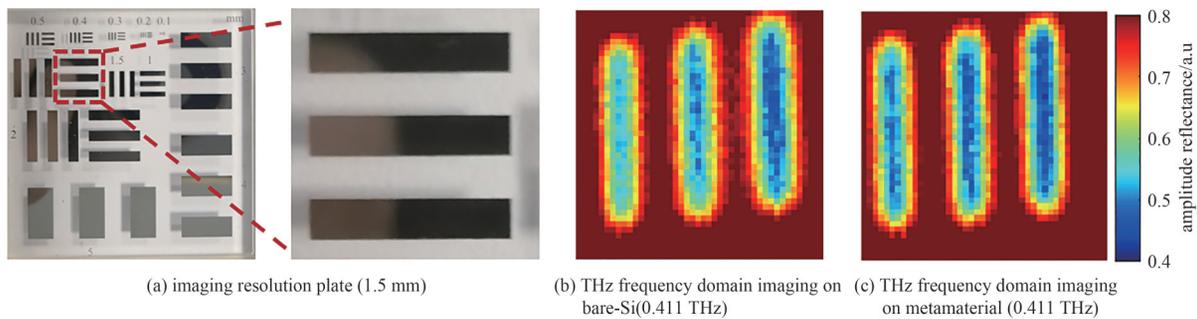


Fig.6 Experiment of imaging resolution plate

图6 成像分辨率板实验

为了使生物组织切片与超材料充分接触，根据文献[21]制作了一款样本夹持装置。为了最大限度地减少夹板对于信号的影响，选择了聚丙烯(PP)、聚四氟乙烯(PTFE)、聚苯乙烯(GPPS)3种材料进行太赫兹反射光谱实验，最终获得反射率如图 7(a)所示。介电常数 $GPPS > PP > PTFE$ ，根据理论公式计算发现，反射率 $GPPS > PP > PTFE$ ，根据实验的反射率计算(参考信号为透射空气)，可以发现在 0.25 THz 之前符合理论值，GPPS 在 1 THz 之前均为最大值，符合理论情况，其他情况不符合可能是因为制作工艺或其中掺杂某些杂质造成的。最终选择 GPPS 作为样本夹板的材料。主要原因有以下 2 点：1) GPPS 属于透明材料，可以在组织夹持过程中对样品进行观察，以防止压力过大导致的组织变形严重以及组织液渗出；2) 3 种材料的反射率差值较小，研究学者们均采用 GPPS 作为样本夹^[22-23]。最终样本夹板如图 7(b)所示。在实验过程中，将超材料放置在下方的 GPPS 上，并将组织样品平铺在超

材料表面上。使用4个螺栓连接,以确保样本与GPPS均匀贴合。在连接过程中,要注意观察组织是否被挤压过度。在实验过程中,只需确保样品底部与GPPS轻轻贴合即可,不需过度挤压。本次实验中样品尺寸较小,水分含量对最终脂肪-肌肉组织的分界线影响不大,并且太赫兹设备成像速度较快,因此本次实验并未考虑样品失水问题。

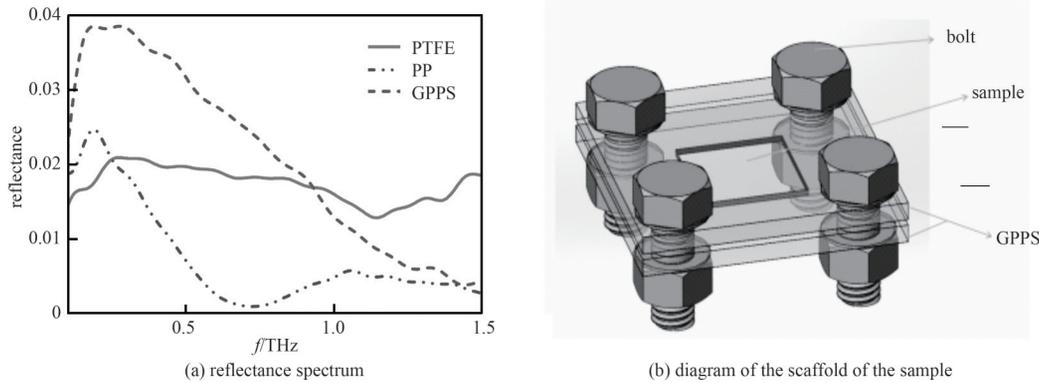


Fig.7 Splint device for sample

图7 样品夹持装置

首先获取了新鲜猪肉组织样品切片(含脂肪和肌肉组织),未使用夹持装置进行了太赫兹成像实验。其脂肪-肌肉组织的实验结果如图8所示。肌肉的介电常数、含水量均大于脂肪,理论上肌肉的反射率大于脂肪,从图8(b)、8(d)所示的实验结果发现,0.59 THz和0.68 THz频率下,肌肉组织的频谱平均数值均大于脂肪组织,在参考信号相同的情况下,可以计算获得肌肉组织的反射率大于脂肪组织,其结果与理论相符合。然而通过结果发现,两种组织之间的分界线非常明显,但外轮廓结果不明显。造成这种现象的主要原因是样品在外暴露太久导致水分流失,肌肉部分已经出现干瘪情况,肌肉外轮廓翘起,无法与材料相贴合,从而导致了上半部分外轮廓的缺失。

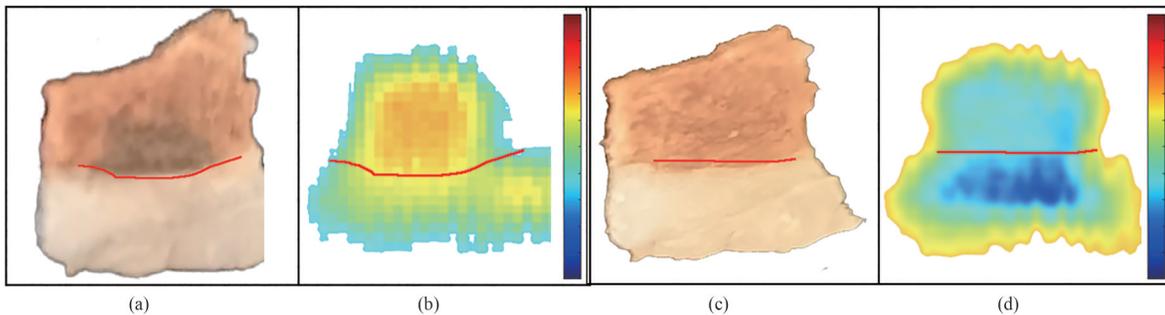


Fig.8 (a) and (c) are visible light images of the same pork tissue on bare-silicon and metamaterial, respectively; (b) and (d) are THz images on bare-silicon and metamaterial, respectively. The red lines show the dividing between muscle tissue and fat tissue

图8 (a)和(c)分别是相同组织在裸硅和超材料上的可见光图像;(b)和(d)分别是组织在裸硅和超材料上的太赫兹图像。红线表示肌肉组织和脂肪组织的分界线。

随后重新获取一块新鲜猪肉组织样品切片(含脂肪和肌肉组织),使用夹持装置进行了太赫兹成像实验。实验结果(0.377 THz 频率)如图9所示,无论在裸硅还是超材料上进行成像,肌肉组织的频谱平均数值均大于脂肪组织,与理论相符合,并且使用夹持装置后,其组织变得更加清晰,减少了组织翘边现象。如图9(b)所示,生物组织在裸硅表面上进行太赫兹成像时,肌肉组织的平均值约为0.482 8,脂肪组织之间的平均值约为0.141,两者相差0.341。当采用超材料作为组织成像时(如图9(c)所示),肌肉组织的平均值(0.769)与脂肪组织的平均值(0.353)之间的差值约为0.416,根据两组数据对比,利用超材料进行太赫兹成像时,肌肉-脂肪组织之间的对比度有所提高。实验结果验证了超材料对于提高不同组织之间对比度的性能,为今后鉴别相同介电常数的组织打下了基础。

3 结论

本文设计并制作了一款具有高灵敏度的太赫兹超材料,并将其应用于生物组织样本。实验结果表明,通过

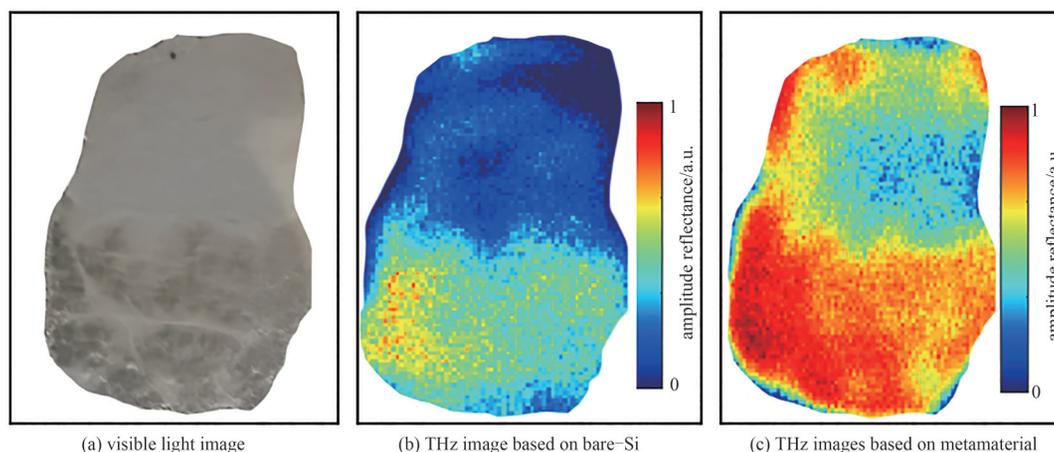


Fig.9 THz imaging experiment

图9 太赫兹成像实验

使用超材料可以提高标准成像分辨率板的对比。脂肪-肌肉组织之间的图像对比度明显提高，验证了本文所设计制作的超材料具有灵敏度高、操作简单等优点。后续通过进一步优化超材料生物材料和结构，获得具有更高灵敏度的超材料，进而可以对介电常数相近的组织切片进行区分。本次研究的结果推动了今后太赫兹技术应用于临床医学，为医生提供一种快速有效的诊断方法。

参考文献：

- [1] YANG Ke, LI Jining, LAMY DE LA CHAPELLE M, et al. A terahertz metamaterial biosensor for sensitive detection of microRNAs based on gold-nanoparticles and Strand displacement amplification[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021(175): 112874. doi:10.1016/j.bios.2020.112874.
- [2] 郑卓锐, 钟慧, 聂勇潇, 等. 基于太赫兹超材料的牛血清白蛋白传感器研究[J]. *中国激光*, 2023, 50(17): 200-207. (ZHENG Zhuorui, ZHONG Hui, NIE Yongxiao, et al. Research of bovine serum albumin sensor based on terahertz metamaterials[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2023, 50(17): 200-207.) doi:10.3788/CJL230881.
- [3] YANG Xiang, ZHAO Xiang, YANG Ke, et al. Biomedical applications of terahertz spectroscopy and imaging[J]. *Trends in Biotechnology*, 2016, 34(10): 810-824. doi:10.1016/j.tibtech.2016.04.008.
- [4] CHEN Hua, CHEN T H, TSENG T F, 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): 21552-21562. doi:10.1364/OE.19.021552.
- [5] CHEN Hua, HAN Juan, WANG Dan, et al. In vivo estimation of breast cancer tissue volume in subcutaneous xenotransplantation mouse models by using a high-sensitivity fiber-based terahertz scanning imaging system[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021(12): 700086. doi:10.3389/fgene.2021.700086.
- [6] KUCHERYAVENKO A S, CHERNOMYRDIN N V, GAVDUSH A A, et al. Terahertz dielectric spectroscopy and solid immersion microscopy of ex vivo glioma model 101.8: brain tissue heterogeneity[J]. *Biomedical Optics Express*, 2021, 12(8): 5272-5289. doi: 10.1364/BOE.432758.
- [7] NIKITKINA A I, BIKMULINA P Y, GAFAROVA E R, et al. Terahertz radiation and the skin: a review[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2021, 26(4): 043005. doi:10.1117/1.JBO.26.4.043005.
- [8] VAFAPOUR Z, KESHAVARZ A, GHAHRALOUH H. The potential of terahertz sensing for cancer diagnosis[J]. *Heliyon*, 2020, 6(12): e05623. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05623.
- [9] RONG Lu, LATYCHEVSKAIA T, CHEN Chunhai, et al. Terahertz in-line digital holography of human hepatocellular carcinoma tissue[J]. *Scientific Reports*, 2015(5): 8445. doi:10.1038/srep08445.
- [10] 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. doi:10.1038/srep42124.
- [11] FREER S, SUI Cong, HANHAM S M, et al. Hybrid reflection retrieval method for terahertz dielectric imaging of human bone[J]. *Biomedical Optics Express*, 2021, 12(8): 4807-4820. doi:10.1364/BOE.427648.
- [12] SHI Wei, WANG Yuezheng, HOU Lei, et al. Detection of living cervical cancer cells by transient terahertz spectroscopy[J]. *Journal of Biophotonics*, 2021, 14(1): e202000237. doi:10.1002/jbio.202000237.

- [13] CASSAR Q,CARAVERA S,MACGROGAN G,et al.Terahertz refractive index-based morphological dilation for breast carcinoma delineation[J]. Scientific Reports, 2021(11):6457. doi:10.1038/s41598-021-85853-8.
- [14] HAHNEL D,GOLLA C,ALBERT M,et al. A multi-mode super-Fano mechanism for enhanced third harmonic generation in silicon metasurfaces[J]. Light,Science & Applications, 2023,12(5):847-854.
- [15] 徐文道. 太赫兹-超材料-纳米材料联用的农产品安全检测机理与方法[D]. 杭州:浙江大学, 2018. (XU Wendao. Agro-product safety detection by integrating terahertz spectroscopy,metamaterials and nanomaterials:mechanisms and methods[D]. Hangzhou,Zhejiang,China:Zhejiang University, 2018.)
- [16] LEE S H,SHIN S,ROH Y,et al. Label-free brain tissue imaging using large-area terahertz metamaterials[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2020(1)170:112663. doi:10.1016/j.bios.2020.112663.
- [17] ROH Y,LEE S H,KWAK J,et al. Terahertz imaging with metamaterials for biological applications[J]. Sensors and Actuators B, Chemical, 2022(352):130993. doi:10.1016/j.snb.2021.130993.
- [18] 张向,王玥,张晓菊,等. 可用于农药传感的多带太赫兹超材料吸收器[J]. 太赫兹科学与电子信息学报, 2022,20(11):1107-1112. (ZHANG Xiang,WANG Yue,ZHANG Xiaojun,et al. Multiband terahertz metamaterial absorber for pesticide sensing[J]. Journal of Terahertz Science and Electronic Information Technology, 2022,20(11):1107-1112.) doi: 10.11805/TKYDA2021393.
- [19] 葛宏义,李丽,蒋玉英,等. 基于双开口金属环的太赫兹超材料吸波体传感器[J]. 物理学报, 2022,71(10):433-445. (GE Hongyi, LI Li,JIANG Yuying,et al. Double-opening metal ring based terahertz metamaterial absorber sensor[J]. Acta Physica Sinica, 2022,71(10):433-445.) doi:10.7498/aps.71.20212303.
- [20] SUN Ran, LI Wenyu, MENG Tianhua, et al. Design and optimization of terahertz metamaterial sensor with high sensing performance[J]. Optics Communications, 2021(494):127051. doi:10.1016/j.optcom.2021.127051.
- [21] ASHWORTH P C,PICKWELL-MACPHERSON E,PROVENZANO E,et al. Terahertz pulsed spectroscopy of freshly excised human breast cancer[J]. Optics Express, 2009,17(15):12444-12454. doi:10.1364/oe.17.012444.
- [22] BOWMAN T,EL-SHENAWE 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. doi:10.1364/BOE.7.003756.
- [23] VOHRA N,BOWMAN T,BAILEY K,et al. Terahertz imaging and characterization protocol for freshly excised breast cancer tumors[J]. Journal of Visualized Experiments, 2020,(158):e61007. doi:10.3791/61007.

作者简介:

丛梦杨(1994-),女,在读博士研究生,主要研究方向为太赫兹生物成像及超材料. email: Mengyang_Cong@163.com.

石文洁(1986-),女,硕士,讲师,主要研究方向为卫生信息管理.

邱建峰(1977-),男,博士,教授,博士生导师,主要研究方向为医学影像、太赫兹技术.