

www.pibb.ac.cn



# 太赫兹刺激听神经的测试平台搭建

谭晓轩<sup>1,2)\*</sup>杨 霄<sup>1)</sup>陈 硕<sup>1)</sup> 尹俊凯<sup>1)</sup> 冯逸飞<sup>1)</sup> 袁一方<sup>1)</sup> 吴开结<sup>1)</sup> (<sup>1)</sup> 国防科技创新研究院太赫兹生物物理学创新工作站,北京 100071; <sup>2)</sup> 中国航天员科研训练中心,北京 100094)

**摘要 目的** 近年来,用于脑功能调控的神经调控技术蓬勃发展,很多方法已在临床上被推广应用,主要包括电极深部脑 刺激、经颅磁刺激、光遗传技术、超声深脑刺激等。但是这些调控技术存在刺激靶点改变灵活性差、空间分辨率不足、需 要注射病毒转染等问题。与这些技术相比,太赫兹波调控则能以较高的时空分辨率、无需引入外源基因的方式对神经活动 进行干预。激光神经刺激是一种具有较明确靶向性的刺激方法,可以通过调整不同激光参数(激光波长、脉冲能量等)控 制引起神经兴奋或者抑制。但是由于该研究方向的实验手段和实验平台的缺乏,相关研究开展较少。**方法** 针对这个问题, 从听觉神经入手,在分子、细胞和在体不同层面为相关领域的研究搭建了不同的测试平台。结果 实验结果表明,这些系 统在时间和空间上具有良好的耦合性和靶向性,测得的信号受噪音干扰小。结论 这些系统可以有效测试神经系统对太赫 兹刺激的响应并精确控制刺激时间和位置。

关键词 太赫兹波,神经调控,听觉 中图分类号 Q6

太赫兹 (terahertz, THz) 波介于微波和红外 之间,是电子学向光子学过渡的特殊区域。20世 纪90年代之前,太赫兹波段两侧的微波和红外的 研究相对已较成熟,但是由于缺乏太赫兹波段的发 射源和检测技术,这一波段一直被称为"太赫兹间 隙"。随着光学太赫兹技术在高频段太赫兹波研究 中取得的巨大进步,以及微波技术向低频段太赫兹 波研究中的延伸, 太赫兹源与检测技术均取得了突 破性的进展,太赫兹波的应用也迅速扩展到了航空 航天、环境科学、生物医学等多个领域, 尤其在生 物医学领域, 太赫兹波作为战略性资源, 将对生命 科学和临床医学产生重大贡献。与其他波段的电磁 波相比,太赫兹波具有瞬态性、宽带性、低能量 性、对非极性物质的高穿透性和极性分子的高吸收 性等优势。生物大分子的转动和振动频率大多位于 这一频段内,根据这一特性发展出来的太赫兹光谱 分析技术已经在生物医学检测领域得到了广泛的应 用<sup>[1-2]</sup>。在分子层面,由于极性分子对太赫兹波具 有强烈的共振吸收,因此太赫兹波可用于检测不同 极性的氨基酸分子、DNA等信息<sup>[3]</sup>;在组织层面, 可利用太赫兹波对水分敏感的特性检测病变组织并 辨别病变区域的大小和形态<sup>[4]</sup>;在器官层面,太 赫兹波可有效检测龋齿等器官病变<sup>[5]</sup>。

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0389

而在神经调控领域,太赫兹技术仍处于起步阶 段。电磁波谱中其他波段电磁辐射与生物体的相互 作用已有多年研究历史,作为最后一个被发现的电 磁波段,太赫兹波在未来有着极大的应用空间<sup>[68]</sup>。 太赫兹波特殊生物效应的利用将成为重要的研究领 域,而神经效应的研究则是重中之重。由于神经效 应的复杂性,以太赫兹波为主的电磁辐射引起的神 经系统应答目前仍处于未知阶段。麦克斯韦方程组 的提出极大促进了电磁场的研究,然而关于生物组 织特别是神经组织电磁特性的研究相对不足。有学 者提出, 生物神经信号的物理场应为太赫兹到红外 的高频电磁场,最可能频率范围应在 THz 到百 THz, 生物神经中电磁信号的产生、传输和耦合等 是微纳尺度上的,有些甚至是单分子结构水平上 的,应符合电磁场和量子理论<sup>[9]</sup>。但一直以来, 从分子、细胞到在体层面的电磁场活动及其作用尚 未得到充分研究。内源性太赫兹波等高频电磁信号 神经通讯或生理信号转导机制则成为了更具颠覆性 的值得验证的科学假说<sup>[10-13]</sup>。太赫兹波等高频电 磁信号的神经机制或神经效应的发现和阐明,将成

<sup>\*</sup> 通讯联系人。

Tel: 010-66716384, E-mail:t15822082707@163.com 收稿日期: 2021-12-13, 接受日期: 2022-02-28

为脑科学领域颠覆性突破,将对生命科学基础理论 产生重构性的影响,并引导众多生物医学学科的研 究思路和技术方法变革。然而,要比较准确地研究 太赫兹辐射与神经组织相互作用的机理以及指导未 来采取医学防护的措施,除了理论计算外<sup>[1415]</sup>, 还需要大量的在细胞、组织、在体等不同层面的实 验。基于这些需要,设计一些可以比较科学地测试 不同强度、不同方式太赫兹辐射效应的实验装置, 同时结合传统神经科学检测手段的实验系统十分 必要。

## 1 系统构成与搭建

## 1.1 细胞测试实验系统

该系统主要包括可调频太赫兹激光器、光束整 形单元、多维度微调平台和细胞培养箱等,其中, 可调频太赫兹激光器用于产生太赫兹波段的高频电 磁脉冲,光束整形单元用于将太赫兹波扩束、整形 并聚焦至细胞培养皿底部(反射镜:金镜,扩束 器:GBE10-E3, Thorlabs),多维度微调平台用于 调节细胞培养皿位置,将目标区域和光斑微调对 准,细胞培养箱放置在辐照系统旁边,方便细胞的 取放和活性的维持,细胞培养皿放置在多维度微调 平台上,光束经45°反射镜后辐照到细胞培养皿底 部,功率可达500 mW,光斑大小可根据实验需求 利用光束整形单元进行调节。细胞测试系统基本装 置如图1,2所示。

#### 1.2 膜片钳电生理-太赫兹联合检测系统

该系统主要包括可调谐高峰值功率太赫兹辐照 系统和膜片钳电生理检测系统。其中可调谐高峰值 功率太赫兹辐照系统包括可调频太赫兹激光器、光 束整形单元、光纤耦合器、多维度微调平台和光 纤,可调频太赫兹激光器和光束整形单元的作用与 细胞测试实验系统一致,光纤耦合器用于固定光纤 输入端,多维度微调平台用于调节光纤耦合器位 置,将光纤输入端和光斑微调对准,从而控制输出 功率,光纤输入端接收太赫兹波,光纤输出端将太 赫兹波导入生物细胞或组织,光纤为柔性光纤,因 此刺激靶点改变具有很好的灵活性。光纤位置和电 生理检测用电极的位置分别用不同电机控制(图 3),可以根据目标细胞灵活调节两者之间的相对位 置,将可调谐高峰值功率太赫兹辐照系统和膜片钳 电生理检测系统进行了一体化联合和集成,可以实 时检测辐照前后神经组织的各项生理活性。







Fig. 2 Schematic diagram of terahertz optical path

#### 1.3 双光子-太赫兹联合在体检测系统

该系统主要包括可调谐高峰值功率太赫兹辐照 系统和在体双光子检测系统。可调谐高峰值功率太 赫兹辐照系统与膜片钳电生理-太赫兹联合检测系 统一致,包括可调频太赫兹激光器、光束整形单 元、光纤耦合器、多维度微调平台和光纤。本课题 组沿用了经典的双光子成像系统,在不改变光路结 构的前提下,将太赫兹光纤直接从电磁屏蔽罩上引 入小鼠头部暴露位置,太赫兹光纤、小鼠固定装置 和透镜分别由不同的电极控制,可以随意调节水平 位置以及成像深度(图4a)。还设计了小鼠头部固



Fig. 3 Physical photo (a) and schematic diagram (b) of patch-clamp electrophysiology-terahertz joint detection system



Fig. 4 Physical photo of two-photo-terahertz joint detection system *in vivo* (a) Physical photo of test system; (b) calcium imaging.

定的专用装置,可以将清醒状态下小鼠皮层抖动降 至最低。图4b为大尺度成像视野下转基因小鼠神 经元接收辐照时的实物图。

# 1.4 听觉脑干反应 (auditory brainstem response, ABR) -太赫兹联合检测系统

该系统主要包括可调谐高峰值功率太赫兹辐照 系统和ABR检测系统。可调谐高峰值功率太赫兹 辐照系统与膜片钳电生理-太赫兹联合检测系统一 致,包括可调频太赫兹激光器、光束整形单元、光 纤耦合器、多维度微调平台和光纤。ABR测试使 用的是传统的听觉脑干反应测试系统,使用听觉电 生理测量装置(TDT system,USA)来记录并测量 ABR。每次使用前进行声音强度校准,一个麦克 风(Model 7016,ACO Pacific,Inc.,USA)接收 到声音信号并转换成电信号,由TDT系统采集并 传送到计算机,经计算确定实际声压级。使用闭合 声场来播放声音,声音由扬声器EC1发出,并通 过一根聚合物材料制成的细管将声音传送到动物耳 朵,太赫兹波由光纤导入豚鼠耳蜗(图5)。



Fig. 5 Physical photo of ABR-terahertz combined detection system

# 2 使用与结果

#### 2.1 细胞检测系统

太赫兹波与 DNA、RNA、蛋白质等重要生物 大分子的转动和振动能级最为吻合。根据"中心法 则",太赫兹波与生物大分子的相互作用结果,终 将影响细胞乃至组织的功能和结构,产生太赫兹波 独有的生物效应。通过对使用该系统辐照后的细胞 进行病理或生理上分子水平的检测,可以获得生物 样品经太赫兹波作用后本身的变化,获得生物性质 变化指标,以研究太赫兹生物效应及其安全性或开 发特殊的应用方式,并且可以为神经通讯、生理信 号转导机制的研究提供实验依据。

## 2.2 膜片钳联合检测系统

由于膜片钳系统对电磁屏蔽要求较高,为了验 证膜片钳电生理-太赫兹联合检测系统的工作能力, 本文首先测试了系统噪音。该实验使用野生型C57 小鼠(雌雄随机),实验小鼠年龄为2~3个月。腹 腔注射麻醉剂戊巴比妥钠(注射量:10 mg/kg), 深度麻醉后(无足痛反应),迅速断头取脑并置于 预冷至0℃的人工脑脊液中,使用振动切片机 (VT-1200s Leica)将脑组织切片,脑薄片厚度为 250 μm,切片完成后,立即将切片转移至充分充 氧的人工脑脊液中进行孵育,孵育温度为34.5℃。 时间为45~60 min,之后置于室温待记录。使用电 压钳模式(图6),将神经元膜电位控制在静息电 位-70 mV附近,记录了10 s神经元的膜电位。实 验结果表明,联合检测系统记录到的神经细胞的电 信号和电学性质不会被噪音淹没。



Fig. 6 Cell membrane potential recorded when the terahertz laser is switched on

接下来使用该系统测试了太赫兹辐照对脑片中 神经元兴奋性突触后电流的影响,分别记录了辐照 前(黑色部分)和辐照时(红色部分)的兴奋性突 触后电流的发放情况(图7),可见系统能稳定长 时间记录辐照前后电流发放的信号并比较辐照对神 经信号产生和传导的影响。



Fig. 7 Excitatory postsynaptic currents in neurons before (black) and after (red) terahertz irradiation

可以看到,此双光子-太赫兹联合在体检测系统可 以实时探测太赫兹波对神经元钙活动影响的瞬时变 化,反映太赫兹刺激对神经活动的影响<sup>[16]</sup>。



Fig. 8 Calcium signal release during terahertz irradiation (between the red dotted lines)<sup>[16]</sup>

#### 2.3 双光子联合检测系统

该实验在普通C57小鼠上进行(雌雄随机), 实验小鼠年龄2~3个月。通过体外注射带有钙指示 剂GCaMP的AAV病毒到目标区域对神经元进行标 记。在病毒携带的基因表达后,用钙成像的方式对 神经元进行钙活动记录,图8为小鼠在辐照前、辐 照时(橙色阴影部分)、辐照后自发活动的对比。

#### 2.4 听觉脑干反应检测系统

该实验在普通成年豚鼠上进行(雌雄随机), 体重250~350g。首先进行豚鼠耳后开窗手术,然 后进行ABR测试。测试前首先将豚鼠麻醉(腹腔 注射2%戊巴比妥钠0.1 ml),确认动物处于麻醉状 态后,将动物置于加热垫上,在动物双耳中点、耳 后和大腿内侧皮肤下分别插入记录电极、参比电极 和接地电极,确保电极电阻小于1KΩ。原始信号 ABR采样率为25kHz,记录300~3000Hz的信号。 在实验过程中,对动物的呼吸、心跳、体温等生命 体征进行监测,以确保动物处于正常状态,每个刺 激连续进行512次,以提高平均信噪比。所有的操 作均在电磁屏蔽的隔音室中进行。由实验结果得 出,该系统的ABR采集效果良好,成功得到了辐 照期间豚鼠的ABR信号(图9),可以检测太赫兹 辐照对动物听力阈值的影响,符合实验研究的 要求。



Fig. 9 ABR test results before and after irradiation

#### 3 讨 论

当前国内外针对电磁场的生物效应研究主要集 中在以微波、毫米波为代表的低频电磁场和以红外 为代表的高频电磁场所产生的对模式动物影响的实 验研究<sup>[17-19]</sup>,而几乎所有的生物分子的转动和振 动跃迁都在介于毫米波和红外之间的太赫兹波频段 表现出强烈的吸收和色散<sup>[20-22]</sup>。目前,国际上很 多国家如美国、日本、俄罗斯等已经开始着手太赫 兹辐射的生物效应装置、系统或样机的研究,应用 对象包括细胞、组织、动物等<sup>[23-25]</sup>,以期突破太 赫兹辐射源技术和辐射条件对太赫兹生物效应研究 的限制,但均还处在初级阶段。中国整体太赫兹技 术和太赫兹应用研究起步较晚,设计制作以太赫兹 为主的电磁辐射装置,研究太赫兹刺激对神经系统 的进展。

#### 4 结 论

本文利用自主搭建的可调谐高峰值功率太赫兹 辐照系统,分别在细胞、组织和在体层面研制了太 赫兹生物效应检测系统,均已投入使用,经实验测 试可以有效地在不同尺度上检测太赫兹波对神经系 统不同生理活动的影响<sup>[16,26]</sup>。实验结果证实,该 系统设计精巧、操作简单,而且应用广泛,不仅可 以应用于神经系统的测试,还可以根据需求测试太 赫兹波对其他组织(例如皮肤、血液、心肌细胞) 的影响,有利于解析太赫兹波对不同生命活动的效 应,以此探寻太赫兹波对生物多功能集群的影响。

#### 参考文献

- Shi W, Wang Y Z, Hou L, *et al.* Detection of living cervical cancer cells by transient terahertz spectroscopy. J Biophotonics, 2020, 14(1): e202000237
- [2] Peng Y. Terahertz imaging and spectroscopy in cancer diagnostics: a technical review. BME Frontiers, 2020, 2020: 2547609
- Yang X, Zhao X, Yang K, *et al.* Biomedical applications of terahertz spectroscopy and imaging. Trends Biotechnol, 2016, 34:810-824
- [4] Woodward R M, Cole B E, Wallace V P, et al. Terahertz pulse imaging in reflection geometry of human skin cancer and skin tissue. Phys Med Biol, 2002, 47(21): 3853-3863
- [5] Crawley D, Longbottom C, Wallace V P, et al. Three-dimensional terahertz pulse imaging of dental tissue. J Biomed Opt, 2003, 8(2): 303-307
- [6] Wu K J, Qi C H, Zhu Z, et al. Terahertz wave accelerates DNA unwinding: a molecular dynamics simulation study. J Phys Chem Lett, 2020, 11: 7002-7008
- [7] Tonouchi M. Cutting-edge terahertz technology. Nat Photonics, 2007, 1(2): 97-105
- [8] Zhang C, Jing X X, Guo L J, *et al*. Romote photothermal control of DNA origami assembly in cellular environments. Nano Lett, 2021, 21(13): 5834-5841
- [9] 刘国治.关于生物神经系统物理机理的若干猜想.科学通报, 2018, **63**(36): 3864-3866

LIU G Z. Chinese Science Bulletin, 2018, 63(36): 3864-3866

- [10] Xiang Z, Tang C X, Chang C, et al. A primary model of THz and far-infrared signal generation and conduction in neuron systems based on the hypothesis of the ordered phase of water molecules on the neuron surface I: signal characteristics. Sci Bull, 2020, 65(4): 308-317
- [11] Liu G Z, Chang C, Qiao Z, et al. Myelin sheath as a dielectric waveguide for signal propagation in the mid-infrared to terahertz spectral range. Adv Funct Mater, 2019, 29(7): 1807862
- [12] Song B, Shu Y S. Cell vibron polariton resonantly self-confined in

the myelin sheath of nerve. Nano Res, 2020, 13(1): 38-44

- [13] Liu Y S, Wu K J, Liu C L, *et al*. Amplification of terahertz/infrared field at the nodes of Ranvier for myelinated nerve. Sci China Phys Mech Astron, 2020, 63(7): 274211
- [14] Zhu Z P, Wang D Y, Tian Y, *et al.* Ion/molecule transportation in nanopores and nanochannels: from critical principles to diverse functions. JAm Chem Soc, 2019, **141**(22): 8658-8669
- [15] Lu D Y, Li Y, Ravaioli U, *et al.* Ion-nanotube terahertz oscillator. Phys Rev Lett, 2005, 95(24): 246801
- [16] Zhang J X, He Y, Liang S S, *et al.* Non-invasive, opsin-free midinfrared modulation activates cortical neurons and accelerates associative learning. Nat Commun, **12**(1): 2730
- [17] Richard L F. Laser stimulation of nerve cells in apply. Science, 1971, 171(3974): 907-908
- [18] McCaughey R G, Chlebicki C, Wong B J F. Novel wavelengths for laser nerve stimulation. Lasers Surg Med, 2010, 42(1): 69-75
- [19] Xia Q, Nyberg T. Inhibition of cortical neural networks using infrared laser. J Biophotonics, 2019, 12(7): e201800403
- [20] Payandeh J, Scheuer T, Zheng N, et al. The crystal structure of a

voltage-gated sodium channel. Nature, 2011, 475(7356): 353-359

- [21] Cai P Q, Leow W R, Wang X Y, et al. Programmable nano-bio interfaces for functional biointegrated devices. Adv Mater, 2017, 29(26): 1605529
- [22] Xiao K, Tu B, Chen L, *et al.* Photo-driven ion transport for a photodetector based on an asymmetric carbon nitride nanotube membrane. Angew Chem Int Ed Engl, 2019, 58(36): 12574-12579
- [23] Cayce J M, Wells J D, Malphrus J D, et al. Infrared neural stimulation of human spinal nerve roots in vivo. Neurophotonics, 2015, 2(1):015007
- [24] Walsh A J, Tolstykh G P, Martens S, et al. Action potential block in neurons by infrared light. Neurophotonics, 2016, 3(4): 040501
- [25] Huang L, Xi Y, Peng Y F, et al. A visual circuit related to habenula underlies the antidepressive effects of light therapy. Neuron, 2019, 102(1), 128-142
- [26] Liu X, Qiao Z, Chai Y M, et al. Nonthermal and reversible control of neuronal signaling and behavior by midinfrared stimulation. Proc Natl Acad Sci USA, 2021, 118(10): e2015685118

# The Establishment of Test Platforms for Terahertz Stimulation of Auditory Nerve

TAN Xiao-Xuan<sup>1,2)\*</sup>, YANG Xiao<sup>1</sup>, CHEN Shuo<sup>1</sup>, YIN Jun-Kai<sup>1</sup>, FENG Yi-Fei<sup>1</sup>, YUAN Yi-Fang<sup>1</sup>, WU Kai-Jie<sup>1</sup>

(<sup>1)</sup>Innovation Laboratory of Terahertz Biophysics, National Innovation Institute of Defense Technology, Beijing 100071, China; <sup>2)</sup>Astronaut Center of China, Beijing 100094, China)

**Abstract Objective** In recent years, neuromodulation techniques for brain function regulation have developed vigorously, and many methods have been popularized and applied in clinical practice, mainly including electrode deep brain stimulation, transcranial magnetic stimulation, photogenetic technology, ultrasonic deep brain stimulation, *etc.* However, these regulatory techniques have some problems, such as poor flexibility of stimulating target change, insufficient spatial resolution, and need to inject virus transfection. Compared with these techniques, terahertz (THz) wave regulation can intervene neural activity with higher spatial and temporal resolution without introducing foreign genes. Laser nerve stimulation is a specifically targeted stimulation method, which can control the excitation or inhibition of nerve by adjusting different laser parameters (laser wavelength, pulse energy, *etc.*). However, due to the lack of experimental means and platforms in this research direction, few relevant studies have been carried out. **Methods** To sum up, this paper sets up different testing platforms for related researches at molecular, cellular and somatic levels, starting from auditory nerve. **Results** The experimental results show that these systems have good coupling and targeting properties in time and space, and the measured signals are less disturbed by noise. **Conclusion** These systems can effectively test the response to terahertz stimulation and precisely control the timing and location of the stimulus.

**Key words** terahertz wave, neural regulation, auditory **DOI:** 10.16476/j.pibb.2021.0389

<sup>\*</sup> Corresponding author.

Tel: 86-10-66716384, E-mail: t15822082707@163.com

Received: December 13, 2021 Accepted: February 28, 2022