

文章编号: 0258-7025(2004)Supplement-0221-03

# 发光二极管技术在光生物及医学领域的应用

刘江<sup>1,2</sup>, 刘承宜<sup>1</sup>, 范广涵<sup>2</sup>, 王小菁<sup>3</sup>

(华南师范大学:<sup>1</sup>激光运动医学实验室; <sup>2</sup>光电子材料与技术研究所; <sup>3</sup>生命科学学院, 广东 广州 510631)

**摘要** 简要综述了近年来发光二极管(light emitting diode, LED)技术在植物、动物细胞、动物模型、人体临床、生物医学材料、环境保护等方面的研究与应用。

**关键词** 发光二极管; 细胞; 临床; 生物医学材料

中图分类号 R318.51

文献标识码 A

## Applications of Light Emitting Diode Technology in Photobiology and Medicine

LIU Jiang<sup>1,2</sup>, LIU Cheng-yi<sup>1</sup>, FAN Guang-han<sup>2</sup>, WANG Xiao-jing<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>Laboratory of Laser Sports Medicine; <sup>2</sup>MOCVD institute; <sup>3</sup>College of Life Science,  
South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510631)

**Abstract** The investigations and applications of light emitting diode (LED) technology in plant, animal cell, animal model, human clinical, biomaterial and environment protection are summarized in this paper.

**Key words** light emitting diode (LED); cell; clinic; biomaterial

### 1 发光二极管用于植物的太空研究

利用人工光源在外太空对植物在微重力环境下的研究已进行多年。美国和前苏联在以往进行的多次太空植物试验中,光源都是用荧光灯,它由红、蓝等光谱波段的单色光混合提供白光<sup>[1]</sup>。发光二极管第一次作为植物光源是在2001发射到国际空间站(International Space Station, ISS)的超前航天培养装置(ADVASC)装置里,它由美国威斯康星航天自动化控制中心研制,用蓝色和红色LED做光源,作物生长密闭室高34 cm<sup>2</sup>,面积486 cm<sup>2</sup>,用拟南芥在太空生长八周后将结出的豆芽种子带回了地面<sup>[2]</sup>。

### 2 发光二极管用于动物细胞的体外研究

在可见光抑制细胞生长方面,Ohara等对B16黑瘤细胞分别用红色LED(634 nm, 2.9 mW/cm<sup>2</sup>)光、黄色LED(518 nm, 2.3 mW/cm<sup>2</sup>)光和蓝色LED(470 nm, 5.7 mW/cm<sup>2</sup>)光,结合5-溴-2-脱氧尿苷

(BrdU)渗入进行DNA分析,用流式细胞仪对光照后该细胞周期进行分析,发现照射20 min后96 h,蓝色LED光可明显减少S期的细胞数,由43.60%下降到4.09%(同对照组相比),而相应增大G0/G1和G2/M期的细胞数,分别由42.92%上升到70.85%和由13.49%上升到25.06%(同对照组相比),从G1到S期过度的滞后和M期的延长导致了B16黑瘤细胞的生长抑制。从该B16细胞光照后克隆的形态、数量及每个克隆里的细胞数量表明,LED蓝光可增强B16黑瘤细胞的静止状况,但没有杀死效果。该试验还表明用塑料薄膜覆盖细胞培养器后再进行光照,可完全消除紫外光UV(320-380 nm)对B16细胞照射后克隆形态的抑制效果,而LED蓝光则不会受这一影响,说明这两种光对细胞的作用机制不同<sup>[3]</sup>。

在可见光抑制细胞凋亡方面,段锐等用红光LED(640-670 nm),对由淀粉样多肽(Amyloid  $\beta$ -peptide, A $\beta$ 25-35)诱导而凋亡的单层PC12细胞悬

**基金项目:** 国家科技部2000年重点攻关计划(00-068)、国家自然科学基金(60178003和6027812)、广东省自然科学基金团队项目(20003061)、重点项目(20011480)和一般项目(20031526)、激光技术国家实验室开放基金以及和广东省“千百十工程”优秀人才培养基金(Q02087)。

**作者简介:** 刘江(1965-),华南师范大学信息光电子科技学院博士研究生,现主要从事低强度激光和LED在生物及生物医学方面的应用研究。

浮液,施加不同的照射剂量,强度  $0.5\sim 10\text{ W/m}^2$ ,时间  $30\sim 60\text{ min}$  不等,用荧光显微镜、流式细胞仪和 DNA 电泳断层分析仪,对凋亡细胞进行确定。发现在 PC12 细胞培养液加入 30 毫摩尔的  $A\beta_{25-35}$  后,24 h 后该细胞的凋亡率由 7% 上升到 42%,而如果用  $0.9\text{ W/m}^2$  强度的 LED 红光照射 60 min 后,该 PC12 细胞的凋亡率在 24 小时后仅达到 15%。用琼脂糖胶进行的 DNA 电泳断层分析也得出了同样的结果,用 LED 红光照射后 DNA 电泳断层明显减少,细胞凋亡得到抑制。该试验得出的另一个结论是,在相对高的光强度下,用不同的照射时间来进行光照,对细胞的凋亡影响没有显著差别<sup>[4]</sup>。

### 3 发光二极管用于动物模型的试验

利用小型 LED 作为刺激光源,置入活鼠头内,再配合置入的记录电极和参考电极,Robert 等获得了 Wistar 鼠在不同睡眠阶段的 ERG。发现在慢波睡眠(SWS)时的 ERG 振幅要高于醒目(W)状况下的 ERG 振幅两倍以上;慢波睡眠(SWS)和深度睡眠(REM)时的 ERG 图不同;被 LED 激发的视皮层电位响应同 ERG 的电位变化非常相似<sup>[5-6]</sup>。最近 Robert 等又将记录电极分别置入活鼠角膜、交叉视神经束和视皮层附近,通过记录这些部位在醒目、SWS 和 REM 阶段的 ERG,来研究大脑不同部位在不同睡眠阶段对神经节细胞的反应和调节<sup>[7]</sup>。

Wiltshcko 等还用一种澳大利亚侯鸟银眼(silvereye),研究了在夜里绿光 LED(565 nm)的强度对该鸟的磁场接受体定向能力的影响。该研究发现,在  $0.0021\sim 0.0075\text{ W/m}^2$  范围强度下,该鸟的磁场定向功能正常,如光强低于  $0.002\text{ W/m}^2$  该鸟表现为缺乏活性,但仍能基本正确定向,比正常定向方向反时针偏差  $12^\circ$  以内,但在高光强  $0.015\text{ W/m}^2$  时,该鸟的磁场定向会比正常定向方向反时针偏差近  $70^\circ$ <sup>[8]</sup>。

### 4 发光二极管应用于人体临床医疗

LED 红光可促进细胞的生长和增殖<sup>[9]</sup>,在临床上用 LED 阵列对患者的大面积创伤进行恢复治疗已收到很好效果,利用 LED 光谱分布的半峰全宽比激光宽 20 nm 左右,可以激发更多的光敏剂,用 LED 内置球型光源在光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)食道癌,以及用 LED 阵列治疗皮肤癌已取得一定临床效果。

Miyake 等发明了一种新型 ERG 测试系统,用来监测在玻璃体摘除和其它人眼外科手术时视网膜

功能的变化,该系统是将红、绿、蓝 LED 置入接触透镜中,该透镜外围的金属圈相当于记录电极,用这种透镜接触近人眼时,它既是记录电极又是刺激光源。用该系统记录下了人眼手术时玻璃体出血、非导电物质进入眼体空穴、不同内眼压和患细菌性眼膜炎时的 ERG,结果说明在进行玻璃体摘除手术时,改变眼体空穴内的注入介质和剧烈提升内眼压都会使 ERG 图形发生改变<sup>[10]</sup>。

### 5 LED 光源用于生物医学材料加工

Jandt 等人用 27 个蓝色 LED 做成光源,总功率  $350\text{ mW/cm}^2$ ,钨卤灯功率为  $755\text{ mW/cm}^2$ ,用这两种光源分别对一种以樟脑醌为光敏剂的牙科材料(Spectrum TPH)的 A2 和 A4 面光固化 40 s 后,固化深度(cure depth)和材料的耐压强度测试结果表明,钨卤灯固化深度(6.4 mm A2, 5.19 mm A4)和 LED 固化深度(5.33 mm A2, 4.27 mm A4)都超过了 ISO4049 要求,三种方差统计分析结果显示,用这两种光源处理后的材料耐压强度没有显著差异,并都超过了人体牙白在自然咀嚼时所承受的压力,符合临床要求。由于 LED 光发射峰完全在的樟脑醌的吸收峰包裹之内,所以低功率 LED 光源的固化效果相当于二倍功率的钨卤灯的固化效果,显示了 LED 在这方面更大的优势<sup>[11]</sup>。

Hofmann 等对三种聚合树脂材料(Herculite XRV, Filtek Z 250, Definite)用钨卤灯( $800\text{ mW/cm}^2$ )和两种光强的 LED 灯 ( $320\text{ mW/cm}^2$ ,  $160\text{ mW/cm}^2$ ),采用固定光强照射和逐渐增大光强两种照射方式,照射时间总共都为 40 秒,使用一种圆盘倾斜技术(deflecting disc technique)<sup>[12]</sup>,同时测定光聚合反应后这些树脂材料的收缩应变动力学参量和温度的变化。硬度测试表明,对 Herculite XRV 和 Filtek Z 250(两种材料只含樟脑醌 CQ 为光引发剂),经钨卤灯和高光强的 LED 照射后会产生相同的硬度,而 Definite(除 CQ 外还含有另一种光活性剂吸收更低波段的光)经 LED 照射后硬度降低。同钨卤灯相比,经 LED 照射后的这三种树脂材料在聚合反应中升高的温度和由于光照而产生的热都低于前者。三种树脂材料光聚合后最快的聚合体积收缩都发生在经钨卤灯固定光强照射后,随后是高光强的 LED 和低光强的 LED,采用逐渐增大光强照射则可降低聚合反应的体积收缩。对 Herculite XRV 和 Definite 经钨卤灯光聚合后 60 min 所产生的收缩应变均高于两种 LED 光聚合后的收缩应变,而对 Filtek Z250

用三种光源光聚合后 60 min 所产生的收缩应变大致接近<sup>[13]</sup>。

## 6 在环境监测和科研中的 LED 新器械

在环境监测方面, Tao 等利用紫外 LED 的发射波谱峰与六价铬离子的吸收峰非常重合这一特点, 用紫外 LED 作为激发光源, 折射率在 1.29 至 1.31 的聚四氟乙烯(Teflon AF 2400)为材料, 做成内径 0.9 mm 外径 1.17 mm 的两米长细管。测定时将检测样品直接注入细管内, 形成以水为核芯的光纤, 由于检测时光程大大高于通常的 1 cm 长度, 因此可大大提高检测的灵敏度, 同时由于激发光的发射峰与被检测物  $\text{Cr}^{6+}$  的吸收峰非常吻合, 因此可省去滤波器等附加的光学器件, 该仪器用电池供电, 小巧便于携带, 可在野外作业, 在 pH 高于 8 时, 对  $\text{Cr}^{6+}$  的最低检出限量为 0.1 ppb, 在通常的水质 pH6 左右,  $\text{Cr}^{6+}$  最低检出限量为 0.2 ppb<sup>[14]</sup>。

在利用 LED 改进科研仪器方面也做了大量工作, 如植物中的痕量元素钼对调节植物中固氮酶的活性十分重要, 为了在  $\mu\text{g l}^{-1}$  的含量上检出钼, Ana 等设计出多通道液流抽取检测系统, 用微机控制六个阀门的开关和进入螺线管反应器的液体量, 475 nm 的 LED 做激发光源, 光电二极管做探测器, 该装置在钼的含量为 25 到 150  $\mu\text{g l}^{-1}$  之间, 检出结果的线性响应相关系数为 0.999, 最低检出限量为 4.6  $\mu\text{g l}^{-1}$ <sup>[15]</sup>。而 Sean 等将光纤与各波段的 LED 耦合后形成激发光源, 导入体积为 721 nl 的流动微室, 该微室有四个相互垂直的接口, 被检测荧光是在与激发光垂直的方向, 通过滤波片和微透镜后由光纤导出, 微室的另两个接口分别接入毛细微管以注入和排出分析试液, 这个毛细流动注入分析系统, 可通过光纤耦合不同波段的 LED 来检测不同的荧光信号<sup>[16]</sup>。

## 参 考 文 献

- 1 G. E. Bingham, M. A. Levinskikh, V. N. Sychev *et al.*. Effects of Gravity on Plant Growth [J]. *Journal of Gravitational PhysioZogy*, 2000, 7(2): 5-8
- 2 P. Kostov, T. Ivanova, I. Dandolov *et al.*. Adaptive Environmental Control for Optimal Results during Plant Microgravity Experiments [J]. *Acta Astronautica*, 2002, 51(1): 213-220
- 3 M. Ohara, Y. Kawashima, O. Katoh *et al.*. Blue Light Inhibits the Growth of B16 Melanoma Cells [J]. *Jpn. J. Cancer Res.*, 2002, 93(5):551-558
- 4 Duan R, Zhu L, Liu TCY *et al.*. Light emitting diode irradiation protect against the amyloid beta 25-35 induced apoptosis of PC12 cell in vitro [J]. *Lasers Surg. Med.*, 2003, 33(3):199-203
- 5 J. T. Eells, M. M. Henry, P. Summerfelt *et al.*. Therapeutic photobiomodulation for methanol-induced retinal toxicity [J]. *PNAS*, 2003, 100(6): 3439-3444
- 6 G. Robert, J. Gabor, K. K. Adrienna *et al.*. Natural sleep modifies the rat electroretinogram [J]. *Neurobiology*, 1994, 91(5): 5153-5157
- 7 G. Robert, S. S. Orsolya, S. Erzsebet *et al.*. Sleep modifies retinal ganglion cell responses in the normal rat [J]. *PNAS*, 2001, 98(4): 2083-2088
- 8 W. Wiltschko, R. Wiltschko. Light-dependent magnetoreception in birds: does directional information change with light intensity? [J]. *Naturwissenschaften*, 2000, 87: 36-40
- 9 LIU J, Jiao JL, Liu TCY *et al.*. The Applications and Prospects of Light Emitting Diode in Biology and Medicine [J]. *Laser J.*, 2002, 23(6): 1-4(in Chinese).
- 10 Y. Miyake, M. Horiguchi. Electroretinographic alterations during vitrectomy in human eyes [J]. *Graefes Arch Clin. Exp. Ophthalmol.* 1998, 236(1):13-7
- 11 K.D. Jandta, R.W. Millsa, G.B. Blackwellb *et al.*. Depth of cure and compressive strength of dental composites cured with blue light emitting diodes (LEDs) [J]. *Dental Materials*, 2000, 16: 41-47
- 12 D. C. Watts, A. J. Cash. Determination of polymerization shrinkage kinetics in visible-light-cured materials: methods development [J]. *Dent. Mater*, 1991, 7: 281-287
- 13 N. Hofmann, B. Hugo, B. Klaiber. Effect of irradiation type (LED or QTH) on photoactivated composite shrinkage strain kinetics, temperature rise, and hardness [J]. *European Journal of Oral Sciences*, 2002, 110: 471-479
- 14 Tao Shiquan, B. W. Christopher, Hui Xian *et al.*. A highly sensitive hexachromium monitor using water core optical fiber with UV LED [J]. *J. Environ. Monit.*, 2002, 4: 815-818
- 15 A. L. D. Comitre, B. F. Reis. Liquid-liquid extraction procedure exploiting multicommution in flow system for the determination of molybdenum in plants[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2003, 479: 185-190
- 16 J. Sean, R. D. Jiji. A simple, low-cost, remote fiber-optic micro volume fluorescence flowcell for capillary flow-injection analysis [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, 374: 385-389