

文章编号: 0258-7025(2009)10-2485-08

# 组蛋白去乙酰化酶介导的动物非视觉细胞的光康复机制

刘承宜 李方晖 朱 玲

(华南师范大学激光运动医学实验室和民族健康与体质研究中心, 广东 广州 510006)

**摘要** 功能内稳态(FSH)通过利用负反馈机制维持功能特异的条件来实现功能的充分发挥。低水平光(LLL)所定义的单色光或激光对处于 FSH 的功能没有调节作用,但可以调节远离 FSH 的功能。FSH 的品质包括功能的复杂性和 FSH 的稳定性。FSH 的稳定性由介导寿命延长作用的长寿因子维持。功能复杂性与 FSH 稳定性之间彼此适应,因此存在 FSH 特异的长寿因子活性。对研究最多的长寿因子组蛋白去乙酰化酶(SIRT<sub>s</sub>),也存在 FSH 特异的 SIRT<sub>s</sub> 活性(FSSA)。FSH 的品质越高,FSSA 越高。如果细胞的 SIRT<sub>s</sub> 活性低于 FSSA,LLL 可以提高 SIRT<sub>s</sub> 活性直到达到 FSSA。如果 SIRT<sub>s</sub> 活性稍高于 FSSA 但细胞能够回复到 FSH,LLL 可以通过提高其他细胞的 SIRT<sub>s</sub> 活性促进这些细胞康复到 FSH。如果 SIRT<sub>s</sub> 活性远远高于 FSSA,LLL 促进具有更高 FSSA 的新的 FSH 的建立。总之,LLL 的细胞康复作用是由 SIRT<sub>s</sub> 介导的。

**关键词** 医用光学;内稳态;长寿因子;低强度激光

中图分类号 Q631 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL20093610.2485

## Sirtuins-Mediated Mechanism of Optical Rehabilitation of Animal Non-Vision Cells

Liu Chengyi Li Fanghui Zhu Ling

(Laboratory of Laser Sports Medicine and Research Center of National Constitution and Health, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510006, China)

**Abstract** Function-specific homeostasis (FSH) is a negative-feedback response of a biosystem to maintain the function-specific conditions inside the biosystem so that the function is perfectly performed. Low level light (LLL) is so defined that it can not modulate the function in its FSH, but it can modulate the function far from its FSH. FSH quality is represented by function complexity and FSH stability. The FSH stability is maintained by longevity factors which mediate longevity extension. The function complexity and FSH stability are specific with each other so that there is FSH-specific longevity factor activity for each one. Among the longevity factors, sirtuins (SIRT<sub>s</sub>) are the most famous family. There is FSH-specific SIRT activities (FSSA). The FSSA increase as the FSH quality goes up. For the cells which SIRT activities are lower than FSSA, LLL may increase SIRT activities until the SIRT activities arrive at FSSA, respectively. For the cells which SIRT activities are higher than FSSA, respectively, but they can be back in FSH, LLL may increase the SIRT activities of the other cells, which promotes the rehabilitation of the cells so that they may be back in FSH. For the cells which SIRT activities are much higher than FSSA, respectively, LLL may promote the establishment of a new FSH of higher FSSA. In summary, the cellular optical rehabilitation may be mediated by SIRT<sub>s</sub>.

**Key words** medical optics; homeostasis; longevity factor; low intensity laser irradiation

## 1 引 言

光生物调节作用(PBM)是激光或单色光(LI)

对生物系统的一种调节作用,它刺激或抑制生物功能,但不会产生不可逆损伤<sup>[1,2]</sup>。用于 PBM 的 LI

收稿日期:2009-07-09;收到修改稿日期:2009-09-04

基金项目:国家自然科学基金(60878061)资助项目。

作者简介:刘承宜(1963—),男,博士,教授,博士生导师和博士后合作导师,主要从事光生物调节作用、功能内稳态的机制和它们在激光医学、生物医学和体育科学中的应用。E-mail:liutcy@scnu.edu.cn(中国光学学会会员号:S040420623S)

通常是低强度 LI(LIL)(大约 $10 \text{ mW/cm}^2$ )。但是只要辐射时间足够短,不会损伤细胞或细胞器,中等强度 LI(MIL)( $10^2 \sim 10^3 \text{ mW/cm}^2$ )也具有 PBM。LIL 和 MIL 的 PBM 分别简称为 LPBM 和 MPBM。LI 的作用途径很多,体表的局部照射、创面直接照射、穴位照射,体内有血管内<sup>[3]</sup>、鼻腔内<sup>[4,5]</sup>、支气管内、口腔内和肛门内照射等。文献[1,2]从功能内稳态(FSH)总结了 PBM 的细胞康复特征,提出了低水平 LI(LLL)和 LLL 治疗(LLLT)的统一定义。本文进一步讨论 LLL 的细胞康复机制。

## 2 功能内稳态

内稳态是生理学的经典概念,本实验室将其发展为 FSH<sup>[1,2]</sup>。FSH 通过利用负反馈机制维持功能特异的条件来实现功能的充分发挥。一个生物系统处于 FSH 就是其功能处于相应的 FSH,处于 FSH 的功能可以充分得以发挥。一个生物系统远离 FSH 就是其功能远离相应的 FSH,远离 FSH 的功能不能得到正常发挥,称为功能失调或功能障碍。运动员的项目运动就是运动员的功能,项目运动能力的稳定发挥是由项目特异的内稳态(SSH)来保持的。细胞的功能包括增殖、分化、静息和凋亡等,每一项功能都有一个相应的 FSH 来维持,这些 FSH 分别为增殖特异的内稳态(PSH)、分化特异的内稳态(DSH)、静息特异的内稳态(QSH)和凋亡特异的内稳态(ASH)。处于 PSH,DSH 或 ASH 的细胞增殖、分化或凋亡的速率达到局部最大。

FSH 的品质包括功能的复杂性和功能发挥的稳定性<sup>[1,2]</sup>。对于 SSH,项目的运动成绩就表征了功能的复杂性,成绩越高,复杂性越高;项目成绩的可重复性就代表了功能发挥的稳定性,可重复性越好,功能发挥的稳定性越高。世界级优秀运动员在世界各地都可以重复运动成绩,但普通优秀运动员只能在少数几个地方可以重复运动成绩,前者的 SSH 品质显然高于后者。

FSH 是通过利用负反馈机制抵抗生物系统内外的亚阈值干扰来实现功能的充分发挥的<sup>[1,2]</sup>。对于环境的变化或随机干扰,处于 FSH 的系统可以产生同等大小但方向相反的修正。FSH 品质越高,生物系统能够抵抗的干扰的阈值越高。免疫系统可以处于免疫特异内稳态(ISH)。处于 ISH 的个体对猪源甲型 H1N1 流感病毒(S-OIV)<sup>[5]</sup>等病原微生物具有抵抗能力。ISH 的品质越高,免疫系统对病原微生物的抵抗能力越强。免疫系统能够监控入侵机体

的 S-OIV。只要免疫系统处于 ISH,入侵鼻腔内的 S-OIV 没有超过 ISH 的阈值,白细胞具有杀死 S-OIV 的能力<sup>[5]</sup>。ISH 品质越高,白细胞能够杀死的 S-OIV 病毒滴度越高。目前猪源甲型 H1N1 流感流行,但只有不处于 ISH 的免疫功能低下患者才会受到感染。因此,鼻腔内低强度激光照射治疗(ILILT)可以通过康复鼻腔内免疫系统的 ISH 来实现对猪源甲型 H1N1 流感的预防<sup>[5]</sup>。

根据 FSH 的演化可以讨论个体寿命<sup>[2]</sup>。FSH 的品质可以用  $Q$  来表征。一个人可以同时有多个功能,也可以同时有多个 FSH,即  $\{FSH_i, i=1, 2, \dots, n\}$ 。每个 FSH 都有自己的品质,即  $\{Q_i, i=1, 2, \dots, n\}$ 。品质集合的最高值用  $Q_{\max}$  表示,即  $Q_{\max} = \max\{Q_i, i=1, 2, \dots, n\}$ 。显然,  $Q_{\max}$  表征了个人的健康水平。衰老过程当然受遗传控制,但也可以考虑为损伤累计造成的 FSH 衰退。因此,  $Q_{\max}$  可以表征人生的演化,成长期  $Q_{\max}$  逐渐变高,衰老期  $Q_{\max}$  逐渐变低。  $Q_{\max}$  达到最高值对应的年龄称为最佳年龄  $h$ 。假定成长和衰老是对称的,一个人的最可几寿命(几率最大的寿命)  $y$  可以表示为  $y = 2h + 1$ 。实际寿命围绕最可几寿命形成正态分布。这个结果表明,最佳年龄的  $Q_{\max}$  越高,寿命就越长。研究表明,终身职业的从业者的寿命较长<sup>[2]</sup>;世界级优秀男运动员的寿命较长<sup>[6]</sup>。

## 3 长寿因子

FSH 的稳定性对寿命延长有重要贡献。FSH 的稳定性越高,机体抵抗干扰的能力越强。因此,机体寿命越长,抵抗干扰的能力越强。无论是细胞、微生物或动物,都可以用各种手段延长寿命。图 1 中列出了各种饮食节制(DR)方法对线虫寿命的延长

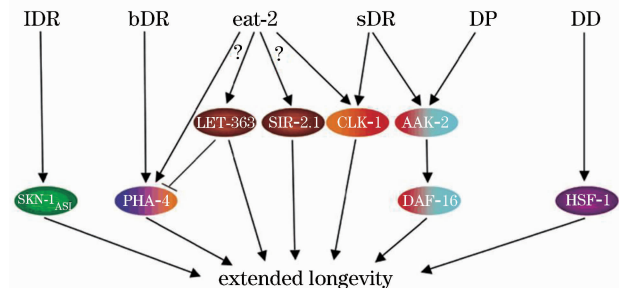


图 1 长寿因子(中间部分)介导的各种饮食节制方法(顶部)对寿命的延长作用(根据文献[7]修改)

Fig. 1 Longevity factor (middle part) mediated longevity extension of dietary restriction (top part) (modified from Ref. [7])

作用<sup>[7]</sup>。DR 的方法包括液体 DR (bDR/IDR)、用基因突变的方法降低进食率 (eat-2)、固体 DR (sDR)、蛋白胨稀释 (DP) 和饮食剥夺 (DD) 等。一系列介导寿命延长作用的转录因子被统一称为长寿因子, 长寿因子过表达或可以提高长寿因子活性的白藜芦醇和槲皮素等活性物质都可能延长机体寿命。图 1 中部列出了介导各种 DR 寿命延长作用的长寿因子。显然, 长寿因子是一个大家族。其中被研究最多的是哺乳动物中与沉默信息调节因子 2 (Sir2) 对应的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸辅酶 (NAD<sup>+</sup>) 依赖的组蛋白去乙酰化酶 (SIRT6)。SIRT6 有 7 个成员, 即 SIRT<sub>n</sub>, n = 1, 2, ..., 7。其中 SIRT1, SIRT6 和 SIRT7 在细胞核中, SIRT2 在细胞质中, SIRT3, SIRT4 和 SIRT5 在线粒体中, 它们各自存在大量的

生理功能<sup>[8]</sup>。文献 [4, 5] 介绍了 SIRT1 对氧化、炎症、凋亡、缺氧和热应激等应激因子的抵抗作用。图 2 列出了 SIRT1 更详细的生理功能<sup>[8]</sup>。

长寿因子可以维持基因稳定性。其中研究最多的就是 SIRT6s。SIRT6s 延长寿命的机制还很不清楚。酵母 Sir2 已知能够使组蛋白 H4 的赖氨酸-16 残基脱去乙酰基, 但不清楚这是否与 Sir2 的抗衰老功能有关。W. W. Dang 等<sup>[9]</sup>发现 Sir2 蛋白丰度与年龄相关的下降, 这种下降与 H4 的赖氨酸-16 乙酰化和组蛋白的失去有关, 使得从复制角度来讲比较老的酵母细胞中特定亚端粒区域转录沉默作用减弱。这一组蛋白乙酰化通道代表着 SIRT6s 从演化角度来讲一个保守的功能, 即通过使端粒染色质保持不变来调控复制性衰老。

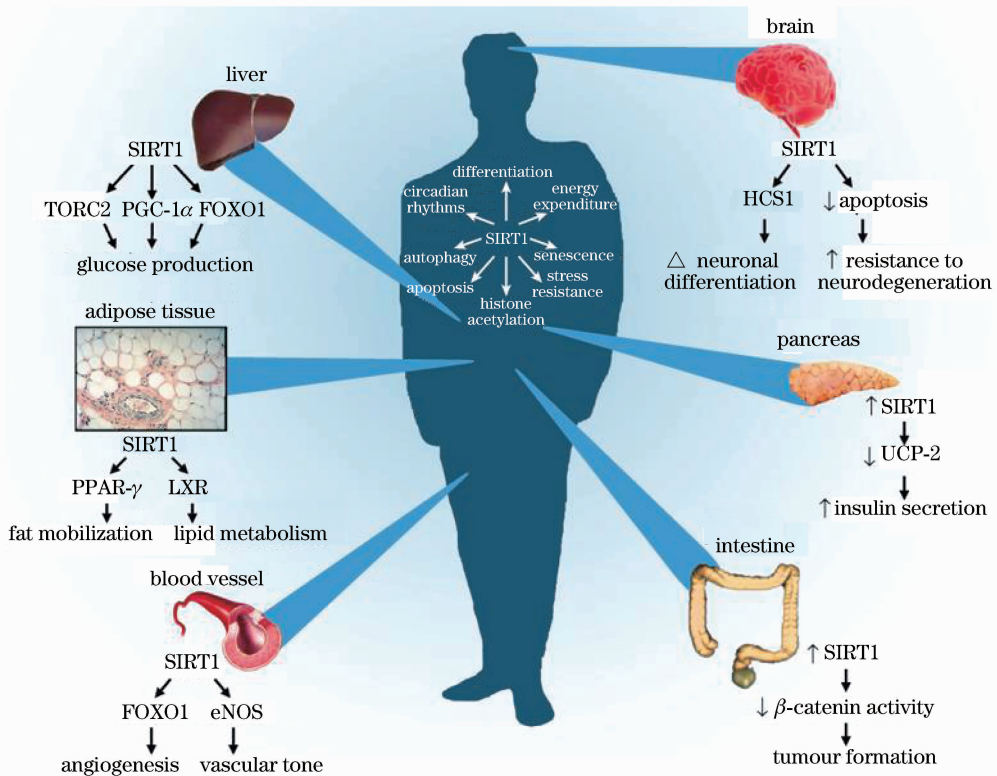


图 2 SIRT1 的生理功能<sup>[8]</sup>

Fig. 2 Diverse physiological roles of the sirtuins<sup>[8]</sup>

长寿因子维持蛋白质的稳定性。蛋白质特异的内稳态称为蛋白质内稳态 (proteostasis)<sup>[10]</sup>, 它用于维持蛋白质的结构和功能的稳定。图 3 表明蛋白质内稳态受到长寿因子的调控<sup>[10]</sup>。过度进食启动的胰岛素通路抑制休眠状态幼虫形成因子 16 (DAF-16) 和热休克因子 (HSF1) 两种长寿因子的表达, 引起蛋白质凝聚或代谢综合征。节制饮食则上调长寿因子活性, 促进蛋白质内稳态的建立和维持。本实

验室用园二色谱研究了高低糖培养 C2C12 成肌细胞对相关蛋白质构型的影响, 发现低糖形成的热量限制有利于保持蛋白质构型<sup>[2]</sup>。A. Ben-Zvi 等<sup>[11]</sup>发现蛋白质折叠错误是线虫衰老的早期分子事件。线虫的平均寿命为 21 天, 蛋白质折叠错误一般发生在第 4 天。A. Ben-Zvi 等在蛋白质折叠错误发生以前就补充增加 HSF1 表达的维生素, 可以将蛋白质折叠错误的发生时间延迟到第 12 天。

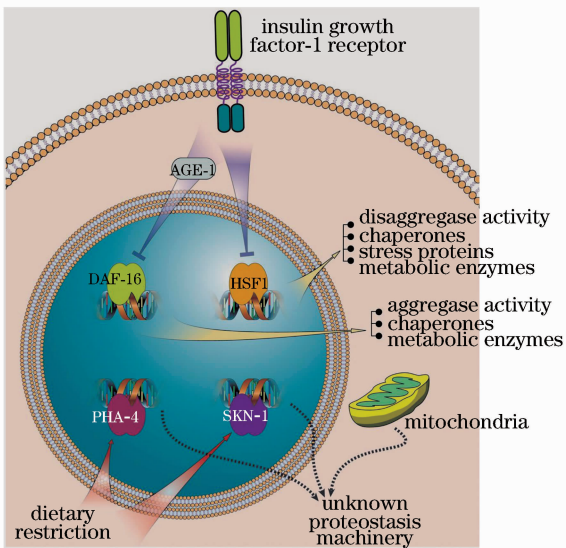


图 3 细胞核中的长寿因子对蛋白质内稳态的控制<sup>[10]</sup>

Fig. 3 Control of longevity factors in nuclei on proteostasis<sup>[10]</sup>

长寿因子维持功能稳定性。运动训练可以建立高水平的运动功能,营养补充对 SIRT1 活性的提高则可以维持功能的稳定性。T. Murase 等<sup>[12]</sup>发现,快速老化小鼠(SAMP1)的耐力会在 12 个星期之内显著降低,但同时补充可以提高 SIRT1 活性的白藜芦醇可以保持 SAMP1 的耐力。J. N. Feige 等<sup>[13]</sup>发现可以激活 SIRT1 的 SRT1720 能提高小鼠耐力成绩。J. M. Davis 等<sup>[14]</sup>的研究表明,可以提高 SIRT1 的 mRNA 表达的槲皮素能增加小鼠最大耐力和自愿转轮运动能力。果糖可以增加 NAD<sup>+</sup> 和其还原形式 NADH 的比值 NAD<sup>+</sup>/NADH 和心脏 SIRT1 水平<sup>[15]</sup>。G. Okano 等<sup>[16]</sup>发现运动员在训练前 60 min 补充果糖可以显著增加运动员达到力竭的时间。

#### 4 功能复杂性

从细胞到人体,各级生物系统都具有多种生物功能。这些生物功能可以根据复杂性进行分类。生物系统发育的过程是逐渐启动更加复杂的功能。每个功能的稳定发挥都需要一个 FSH 来维持。生物系统的发育过程是 FSH 不断升级的过程。FSH 所维持的功能的复杂性是 FSH 的重要品质之一。需要指出的是,FSH 的稳定性与功能复杂性是相匹配的,存在一个 FSH 特异的长寿因子活性(FSLA)。长寿因子活性低于 FSLA 时,生物功能远离 FSH,属于生物功能低下。但长寿因子活性超过 FSLA 时,系统呈现新的生物功能,向新的 FSH 过渡。功

能的复杂性越高,FSH 所需要抵抗的外界干扰越强,维持 FSH 稳定性所需要的 FSLA 越高。

SIRT1s 是被研究最多的长寿因子。存在一个 FSH 特异的 SIRT1s 活性(FSSA<sub>n</sub>, n=1,2,⋯,7)。细胞通常是从增殖走向分化,增殖功能的复杂性低于分化功能,PSH 的 FSSA1(PSSA1)低于 DSH 的 FSSA1(DSSA1)。G. Blander 等<sup>[17]</sup>研究了增殖条件下角化细胞的增殖和分化功能,发现 SIRT1 活性升高有利于分化,但抑制增殖;SIRT1 活性降低则有利于增殖,但不利于分化。显然,角化细胞的 SIRT1 活性处于 PSSA1 和 DSSA1 之间,SIRT1 活性增加接近 DSSA1,有利于分化;SIRT1 活性降低接近 PSSA1,有利于增殖。

不同功能的 FSSA<sub>n</sub> 是不同的。对 SIRT1s 活性不同程度的升高,将影响不同的生物功能。细胞死亡是细胞生命的最后阶段。中性粒细胞(PMN)可以通过自杀产生胞外网络(NETs),存在一个产生 NETs 特异的内稳态(NSH)和相应的 FSSA<sub>n</sub>(NSSA<sub>n</sub>)。本实验室的研究发现,运动员的 NSSA2 高于普通人<sup>[18]</sup>。无论是一般细胞凋亡,还是 PMNs 产生 NETs,都是由 DNA 控制的细胞死亡形式的,属于细胞的最复杂的生物功能,其 FSSA<sub>n</sub> 应该是该种细胞 FSH 中最高的。白藜芦醇可以提高 SIRT1 的活性,低剂量(0.1 ~ 1.0 μg/mL)促进细胞增殖,但高剂量(10.0 ~ 100.0 μg/mL)促进细胞凋亡<sup>[19]</sup>。W. H. Chan 等<sup>[20]</sup>研究了白藜芦醇对乙醇诱导的细胞凋亡的影响。他们的研究发现,低剂量的白藜芦醇(10 ~ 25 μmol/L)抑制凋亡,但高剂量(200 μmol/L)会促进凋亡。J. Y. Chan 等<sup>[21]</sup>研究了白藜芦醇对 5-氟尿嘧啶(5-FU)诱导的大肠癌细胞凋亡的影响。他们发现无论 p53 是否敲出,高剂量(200 μmol/L)都促进细胞凋亡,但低剂量(25 或 50 μmol/L)只能抑制 p53 没有敲出的细胞的凋亡。J. Dudley 等<sup>[22]</sup>研究了大鼠喂食白藜芦醇对缺血性心肌的调节作用。他们发现,低剂量的白藜芦醇(2.5 mg/kg 或 5 mg/kg)具有抗凋亡作用,但高剂量(大于 25 mg/kg)则促进细胞凋亡。染料木素可以增加 SIRT1 活性<sup>[23]</sup>,低剂量(10 nmol/L)会促进<sup>[24]</sup>乳腺癌细胞增殖,但高剂量(10 ~ 100 μmol/L)抑制<sup>[25]</sup>乳腺癌细胞增殖。进一步研究发现,高剂量染料木素会引起神经细胞凋亡<sup>[26]</sup>。

对 SIRT1 活性同一程度的升高对不同的细胞状态产生的影响也是不同的。槲皮素可以提高



SIRT1 活性。M. Kapiszewska 等<sup>[27]</sup>发现槲皮素可以抑制依托泊甙引起的 DNA 损伤,但促进依托泊甙对 PMNs 产生活性氧(ROS)的抑制。他们进一步发现,1 mol/L 的槲皮素可以抑制 25 mol/L 的依托泊甙引起的细胞凋亡,但促进更高浓度的依托泊甙引起的细胞凋亡。因此,槲皮素可以延长低浓度依托泊甙外周血液中的 PMNs 的寿命。槲皮素抑制 PMNs 产生 ROS,说明槲皮素所维持的 SIRT1 活性适合维持 PMNs 的 QSH。低浓度依托泊甙只是对 QSH 的干扰,PMNs 还可以康复到 QSH。槲皮素对 SIRT1 活性的升高促进 QSH 的康复,抑制细胞凋亡。高浓度依托泊甙对 PMNs 的作用使其无法再康复到 QSH,槲皮素只能促进 ASH 的建立,促进细胞凋亡。

文献<sup>[4,5,8]</sup>发现  $\text{NAD}^+$  是长寿因子的上游,而且  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  对系统的寿命有重要影响。烟硷是 SIRT1 的抑制剂。J. Sporty 等<sup>[28]</sup>研究了 0.5% 和 2.0% 两种葡萄糖浓度对酿酒酵母菌寿命的影响,发现低糖通过升高  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  延长酿酒酵母菌的寿命。H. T. Kang 等<sup>[29]</sup>研究了 5 mmol/L 烟硷对 10% 小牛血清中培养的正常人成纤维细胞群体倍增数(PD)的影响,发现烟硷只能影响 PD70 以后的 PD,可以将细胞复制寿命从 PD86 延长到 PD125。在 PD30 时,烟硷就可以增加  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ 。从 PD86 和 PD100 以后不加烟硷,细胞的复制寿命只能分别达到 PD110 和 PD121。而在 PD64 以后才加入烟硷,对复制寿命基本上没有影响。在衰老以前,10% 小牛血清中培养的正常人成纤维处于 PSH,5 mmol/L 烟硷对其没有影响。当细胞开始衰老时,细胞远离 PSH,5 mmol/L 烟硷通过提高  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  促进细胞增殖,延长细胞的复制寿命。

## 5 光康复机制

LLL 对处于 FSH 的功能无效,但促进远离 FSH 的功能恢复 FSH<sup>[1,2]</sup>。T. Karu<sup>[30]</sup>从氧化还原电位的角度探讨了 LIL 的细胞康复机制,这里从 SIRTs 的角度来开展进一步研究。

LIL 可以增加  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ <sup>[30]</sup>,因此可以延长细胞寿命。用  $\lambda > 500$  nm 的宽带蓝光每周一至三次照射细胞(所用剂量为  $10^4$  J/m<sup>2</sup>),可以促进来源于成人皮肤(HU-274)、混合胎儿(HU-278)和胎儿肺(WI-38)的双倍体纤维细胞增殖并延长寿命<sup>[31,32]</sup>。用冷荧光每天照射 2 h,共照射 150 天,可

发现人胎儿肺的纤维细胞寿命增加,照射细胞共进行了 70 次分裂,而未照射细胞只有 53 次<sup>[33]</sup>。

$\text{NAD}^+/\text{NADH}$  越大,SIRTs 的活性越高<sup>[8]</sup>。LIL 可以提高  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ <sup>[30]</sup>,因此 LIL 也可以增加 SIRTs 的活性。本实验室用地塞米松诱导 PMNs 远离 NSH,研究了来自发光二极管的  $640 \pm 15$  nm 红色光(RLED640)对 NETs 形成的康复作用。处于 NSH 的 PMNs 的 NETs 形成功能正常。地塞米松作用后,PMNs 远离 NSH,其 NETs 形成功能降低。发现 RLED640 可以促进 NETs 的形成,并且这种康复作用是通过升高 SIRT2 活性实现的<sup>[18]</sup>。用过氧化氢刺激分化的 PC12 细胞建立一个分化远离 DSH 的细胞凋亡模型,研究发现 RLED640 可以促进酪氨酸羟化酶和脑源性神经营养因子表达的上调抑制细胞凋亡<sup>[34]</sup>。进一步研究发现这些过程是通过升高 SIRT1 活性实现的,ILILT 可以改善血液流变学指标和血脂指标康复血液的功能,这些康复过程也是由升高 SIRT1 活性实现的<sup>[4]</sup>。

低能量激光血管内照射治疗(ILELT)是 MPBM 在血管内的应用。MIL 是由 ROS 介导的<sup>[2]</sup>。由于被 MIL 照射的是流动的血细胞,照射时间很短,MIL 所产生的 ROS 很少,不足以打破血细胞的 FSH,因此 ILELT 对健康人无效,属于 LLL 的范畴。ROS 可以促进 NADH 的氧化,增加  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ ,因此 ILELT 与 ILILT<sup>[4]</sup>具有类似的由 SIRTs 介导的康复作用。利用有关 ILELT 的一手文献资料,本实验室用荟萃分析方法研究了 ILELT 在辅助药物治疗疾病的临床研究<sup>[3]</sup>。研究发现 ILELT 在辅助药物治疗脑梗塞、脑血管、糖尿病疾病上效果明显;ILELT 降低了胆固醇、低密度脂蛋白、甘油三酯、红细胞聚集指数、全血比粘度、全血高切粘度、全血粘度、血沉、血浆比粘度、总胆固醇等的含量,但升高了高密度脂蛋白的含量。这些研究结果表明 ILELT 可以通过改善血液参数用于脑梗塞、心脑血管病和糖尿病疾病的辅助治疗。

根据 T. Karu 从氧化还原电位提出的模型<sup>[30]</sup>,上述现象可以总结为图 4。细胞的特性包括氧化还原电位, $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  和 SIRTs 活性。处于 FSH 的细胞具有 FSH 特异的氧化还原电位(FSR), $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ (FSN)和 FSSAn。LLL 对处于 FSH 的细胞没有 PBM。远离 FSH 的细胞具有的氧化还原电位, $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  和 SIRTs 活性分别低于 FSR,FSN 和 FSSAn,LLL 可以提高氧化还原

电位,  $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$  和 SIRT<sub>s</sub> 活性,但其上限分别为 FSR, FSN 和 FSSA<sub>n</sub>。文献[4, 5]讨论 ILILT 的作用机理时也得到类似图 4 的示意图,但需要注意它们之间的区别。文献[4, 5]的示意图中出现的是 SIRT<sub>s</sub> 的水平,图 4 中是 SIRT<sub>s</sub> 的活性。从 SIRT<sub>s</sub> 的水平到 SIRT<sub>s</sub> 的活性是本文的发展,也是更加接近问题的本质。SIRT<sub>s</sub> 的活性依赖于  $\text{NAD}^+$  的水平。LLL 对  $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$  的提高,不能提高 SIRT<sub>s</sub> 的水平,但可以提高 SIRT<sub>s</sub> 的活性。

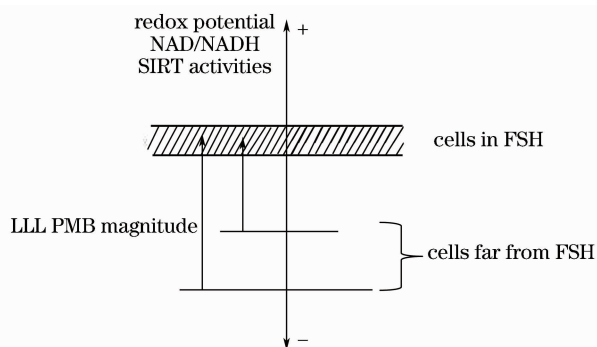


图 4 LLL 的 PMB 大小与氧化还原电位,  $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$  和长寿因子水平(根据文献[3, 4]修改)

Fig. 4 LLL PMB and redox potential,  $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$  and longevity factor level (modified from Refs. [3, 4])

如果远离 FSH 的细胞所具有的氧化还原电位,  $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$  或 SIRT<sub>s</sub> 活性分别高于 FSR, FSN 或 FSSA<sub>n</sub>, 情况会复杂一些。如果这些细胞的状态可以康复到该 FSH, LLL 可能通过对其他细胞的其他 FSH 的康复帮助这些细胞的康复。PSSA1 低于 DSSA1。降低增殖培养基中血清的浓度可以升高 SIRT1 活性, 导致其活性介于 PSSA1 和 DSSA1 之间。杨小红等[35]研究了用低强度氦氖激光(LHNL)照射对低血清培养的兔软骨细胞增殖的影响, 发现 LHNL 通过促进 II 型胶原合成促进软骨细胞增殖。M. Dvir-Ginzberg 等[36]对来自骨关节炎患者的软骨细胞的研究发现, 增加  $\text{NAD}^+$  水平会提高 SIRT1 的活性, 后者通过转录因子 PGC1 和 Sox9 的去乙酰基化促进 II 型胶原的合成。根据 T. Karu 的模型[30], LHNL 可以通过增加  $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$  提高 SIRT1 的活性, 进一步通过促进 II 型胶原的合成促进软骨细胞增殖。显然, LHNL 是通过提高 SIRT1 活性促进一些细胞 DSH 的建立, 后者分泌的 II 型胶原进一步促进其他细胞 PSH 的建立。当然这有待实验的进一步证实。

如果远离 FSH 的细胞所具有的氧化还原电位,  $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$  或 SIRT<sub>s</sub> 活性分别远远高于 FSR,

FSN 或 FSSA<sub>n</sub>, LLL 只能促进新的具有更高 FSR, FSN 和 FSSA<sub>n</sub> 的 FSH 的建立。本实验室研究了 LPBM 对力竭性运动引起的大鼠骨骼肌损伤的康复作用[37]。力竭运动模型以骨骼肌损伤。ROS 产生和炎症为特征。发现  $71 \text{ mW/cm}^2$  的 LHNL 照射 10 min 升高了一氧化氮合酶(NOS)和超氧化物歧化酶的活性, 抑制了炎症作用。SIRT1 活性的升高可以诱导 NOS 的表达[38], 提高抗氧化能力[39], 抑制炎症[40]。显然, LHNL 可能是通过提高 SIRT1 活性来实现的。当然这个机理有待进一步实验的证实。力竭性运动前大鼠的骨骼肌具有完整的结构和功能, 处于相应的 FSH。力竭性运动引起大鼠骨骼肌肌节的断裂, 损伤的康复是在肌节断裂的地方长出新的肌节, 骨骼肌增长了[41], 功能也增加了, 骨骼肌进入了新的 FSH。力竭性运动引起 SIRT1 活性的升高[42]。LHNL 进一步促进 SIRT1 活性的升高, 促进骨骼肌损伤的康复, 帮助骨骼肌建立了新的 FSH。

## 6 讨 论

LLL 和多酚类物质[43]都可以提高 SIRT1 活性, 前者只能将 SIRT1 提高到 FSSA1, 但后者没有这个限度。因为可以调节 SIRT1 的活性, 多酚类物质得到广泛的研究[43]。大量研究发现[43], 多酚类物质的浓度越高, SIRT1 活性提高的程度也越高, 但多酚类物质浓度与 SIRT1 的活性之间不是简单的线性关系。ASH 的 FSSA1 (ASSA1) 比 PSSA1, DSSA1 或 QSH 的 FSSA1 (QSSA1) 高。如果作用于 DSH 的凋亡诱导剂的浓度足够低, 细胞还可以康复到 PSH, DSH 或 QSH, RLED640 可以通过促进 DSH 的康复抑制细胞凋亡[34], 低浓度的多酚类物质可以将 SIRT1 活性提高到 PSSA1, DSSA1 或 QSSA1, 通过促进 PSH[19], DSH 或 QSH[27] 的康复抑制凋亡[20~22], 但高浓度的多酚类物质则可以将 SIRT1 活性进一步提高到 ASSA1, 通过促进 ASH 的康复促进凋亡[20~22, 26]。因此, 使用多酚类物质提高 SIRT1 活性必须有精细的剂量调节。大多数植物类中药中都有多酚类物质。中医对证下药的剂量功夫有赖于长期的经验积累。相比之下, LLL 则简单易行。

当前流感流行中受到 S-OIV 感染的患者都是源于免疫功能远离 ISH[5]。多酚类物质可以直接杀死甲型 H1N1 流感病毒[44], 但用于预防必须在鼻腔内保持一定的浓度, 医从性太低。服用的多酚类物

质可以通过提高 SIRT1 活性康复 ISH, 但剂量过量容易引起免疫抑制, 而且有雌激素副作用。建议采用 ILILT 直接康复 ISH。ILILT 没有毒副作用<sup>[2]</sup>, 可以用于长期预防。

无论是 ILILT<sup>[2]</sup> 和 ILELT<sup>[3]</sup> 等临床 LLLT, 还是细胞 PBM<sup>[2,30]</sup>, LLL 都有大量的功能调节作用。尤其是临床 LLLT 对大量疾病的辅助治疗作用似乎与现代医学的药物特异性原则相矛盾。本文提出的 SIRTs 介导机理给出了一个很好的解释。处于各种 FSH 是健康的标志。一种或多种功能远离 FSH 则是疾病的标志。两者的差别可以从 SIRTs 活性的高低区别开来。图 2 清楚地表明, SIRT1 有大量的生理功能。因此 LLLT 对 SIRTs 活性的提高可以调节大量的生理功能。

肿瘤组织一般处于 PSH。2009 年美国激光医学年会 PBM 分会专门讨论了 LLL 对肿瘤组织的作用, 最后的结论是 LLL 对肿瘤组织没有任何效应。肿瘤组织的快速生长会引起疼痛、睡眠不足和疲劳等一系列并发症。ILILT 可以用于这些并发症的辅助治疗<sup>[2]</sup>。胚胎的正常发育处于各种 DSH, 同样不受 LLL 的影响<sup>[2]</sup>, 但胎儿的发育会引起母体不适。为了预防各种治疗措施对胎儿的不良影响, 孕妇的各种疾病受到很大限制。LLL 可以用于分娩前血液高凝状态<sup>[2]</sup>等孕妇各种不适的调节和各种疾病的辅助治疗。

受到用药限制的人群还包括运动员和慢性病患者。运动训练也会影响肝肾功能。运动员的用药受到兴奋剂检测的限制。兴奋剂用于打破 SSH, 但 LLL 只会帮助 SSH 的建立和维持。慢性病患者用药受到肝肾损伤的限制。LLL 没有任何代谢负担, 不但不会损伤肝肾, 而且对肝肾功能有辅助维护作用<sup>[2]</sup>。因此, LLL 非常适合运动员和慢性病患者的调理和辅助治疗。

## 参 考 文 献

- 1 T. C. Liu, R. Liu, J. Yuan *et al.*. Homeostatic photobiomodulation [J]. *Front Optoelectron China*, 2009, **2** (1):1~8
- 2 C. Y. Liu, P. Zhu (Ed.). *Intranasal Low Intensity Laser Therapy* [M]. Beijing: People's Military Medical Press, 2009. 50~413  
刘承宜, 朱平主编. 鼻腔内低强度激光治疗[M]. 北京: 人民军医出版社, 2009. 50~413
- 3 S. D. Zhao, T. C. Liu, Y. F. Wang *et al.*. Meta-analysis on intravascular low energy laser therapy [J]. *Progress in Biomedical Optics and Imagine*, 2009, **10**(42):728012
- 4 Liu Chengyi, Wang Yanfang, Zhu Jian *et al.*. The mechanism of intranasal low intensity laser therapy [J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36** (to be published)
- 5 刘承宜, 王艳芳, 朱健等. 鼻腔内低强度激光照射疗法的机理研究[J]. *中国激光*, 2009, **36**(待发表)
- 5 Liu Chengyi, Cai Qing, Wang Yanfang *et al.*. Prophylaxis and rehabilitation effects of intranasal low intensity laser therapy on influenza A(H1N1) [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2009, **46** (to be published)
- 6 刘承宜, 蔡庆, 王艳芳等. 低强度激光鼻腔内照射疗法对甲型 H1N1 病毒流行性感冒的预防和康复作用[J]. *激光与光电子学进展*, 2009, **46**(待发表)
- 6 S. Sarna, T. Sahi, M. Koskenvuo *et al.*. Increased life expectancy of world class male athletes [J]. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 1993, **25**(2):237~244
- 7 E. L. Greer, A. Brunet. Different dietary restriction regimens extend lifespan by both independent and overlapping genetic pathways in *C. elegans* [J]. *Aging Cell*, 2009, **8**(2):113~127
- 8 T. Finkel, C. X. Deng, R. Mostoslavsky. Recent progress in the biology and physiology of sirtuins [J]. *Nature*, 2009, **460** (7255):587~591
- 9 W. W. Dang, K. K. Steffen, R. Perry *et al.*. Histone H4 lysine 16 acetylation regulates cellular lifespan [J]. *Nature*, 2009, **459**(7248):802~807
- 10 W. E. Balch, R. I. Morimoto, A. Dillin *et al.*. Adapting proteostasis for disease intervention [J]. *Science*, 2008, **319** (5865):916~919
- 11 A. Ben-Zvi, E. A. Miller, R. I. Morimoto. Collapse of proteostasis represents an early molecular event in *Caenorhabditis elegans* aging [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, **106**(36):14914~14919
- 12 T. Murase, S. Haramizu, N. Ota *et al.*. Suppression of the aging-associated decline in physical performance by a combination of resveratrol intake and habitual exercise in senescence-accelerated mice [J]. *Biogerontology*, 2009, **10**(4):423~434
- 13 J. N. Feige, M. Lagouge, C. Canto *et al.*. Specific SIRT1 activation mimics low energy levels and protects against diet-induced metabolic disorders by enhancing fat oxidation [J]. *Cell Metab.*, 2008, **8**(5):347~358
- 14 J. M. Davis, E. A. Murphy, M. D. Carmichael *et al.*. Quercetin increases brain and muscle mitochondrial biogenesis and exercise tolerance [J]. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2009, **296**(4):R1071~R1077
- 15 J. B. Pillai, M. Chen, S. B. Rajamohan *et al.*. Activation of SIRT1, a class III histone deacetylase, contributes to fructose feeding-mediated induction of the alpha-myosin heavy chain expression [J]. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2008, **294**(3):H1388~H1397
- 16 G. Okano, H. Takeda, I. Morita *et al.*. Effect of pre-exercise fructose ingestion on endurance performance in fed men [J]. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 1988, **20**(2):105~109
- 17 G. Blander, A. Bhimavarapu, T. Mammone *et al.*. SIRT1 promotes differentiation of normal human keratinocytes [J]. *J. Invest. Dermatol.*, 2009, **129**(1):41~49
- 18 Wu Min. Studies on mechanism of the promotion of neutrophil extracellular traps formation by low intensity 640 nm red light emitting diode irradiation[D]. South China Normal University Ph. D. thesis, 2009  
吴敏. 低强度发光二极管 650nm 红光照射促进中性粒细胞胞外网络形成的机制研究[D]. 华南师范大学博士论文, 2009
- 19 B. Szende, K. E. Tyihá, Z. Király-Véghely. Dose-dependent effect of resveratrol on proliferation and apoptosis in endothelial and tumor cell cultures [J]. *Exp. Mol. Med.*, 2000, **32**(2):88~92
- 20 W. H. Chan, Y. J. Chang. Dosage effects of resveratrol on ethanol-induced cell death in the human K562 cell line [J].

- Toxicol. Lett.*, 2006, **161**(1):1~9
- 21 J. Y. Chan, M. S. Phoo, M. V. Clement *et al.*. Resveratrol displays converse dose-related effects on 5-fluorouracil-evoked colon cancer cell apoptosis: the roles of caspase-6 and p53 [J]. *Cancer Biol. Ther.*, 2008, **7**(8):1305~1312
  - 22 J. Dudley, S. Das, S. Mukherjee *et al.*. Resveratrol, a unique phytoalexin present in red wine, delivers either survival signal or death signal to the ischemic myocardium depending on dose [J]. *J. Nutr. Biochem.*, 2009, **20**(6):443~452
  - 23 K. A. Rasbach, R. G. Schnellmann. Isoflavones promote mitochondrial biogenesis [J]. *J. Pharmacol Exp. Ther.*, 2008, **325**(2):536~543
  - 24 P. M. Martin, K. B. Horwitz, D. S. Ryan *et al.*. Phytoestrogen interaction with estrogen receptors in human breast cancer cells [J]. *Endocrinology*, 1978, **103**(5):1860~1867
  - 25 D. Dixon-Shanies, N. Shaikh. Growth inhibition of human breast cancer cells by herbs and phytoestrogens [J]. *Oncol. Rep.*, 1999, **6**(6):1383~1387
  - 26 N. J. Linfood, Y. Yang, D. G. Cook *et al.*. Neuronal apoptosis resulting from high doses of the isoflavone genistein; role for calcium and p42/44 mitogen-activated protein kinase [J]. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, **299**(1):67~75
  - 27 M. Kapiszewska, A. Cierniak, M. Elas *et al.*. Lifespan of etoposide-treated human neutrophils is affected by antioxidant ability of quercetin [J]. *Toxicol in Vitro*, 2007, **21**(6):1020~1030
  - 28 J. Sporty, S. J. Lin, M. Kato *et al.*. Quantitation of NAD<sup>+</sup> biosynthesis from the salvage pathway in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Yeast.*, 2009, **26**(7):363~369
  - 29 H. T. Kang, H. I. Lee, E. S. Hwang. Nicotinamide extends replicative lifespan of human cells [J]. *Aging Cell*, 2006, **5**(5):423~436
  - 30 T. Karu. The Science of Low-Power Laser Therapy [M]. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers, 1998. 95~226
  - 31 R. Parshad, K. K. Sanford. Intermittent exposure to fluorescent light extends lifespan of human diploid fibroblasts in culture [J]. *Nature*, 1977, **268**(5622):736~737
  - 32 R. Parshad, K. K. Sanford. Proliferative response of human diploid fibroblasts to intermittent light exposure [J]. *J. Cell Physiol.*, 1977, **92**(3):481~485
  - 33 J. Litwin. The effect of light on the aging of human diploid fibroblasts [J]. *Exp. Geront.*, 1972, **7**(6):381~386
  - 34 L. Zhu, X. Y. Li, T. C. Liu *et al.*. Protective effects of red light on differentiated PC12 cells against hydrogen peroxide induced oxidative stress [J]. *Lasers Surg. Med.*, 2009, **41**(S21):60~60
  - 35 Yang Xiaohong, Liu Chengyi, Liu Shaojie *et al.*. Photobiomodulation on chondrocyte proliferation: in vitro evaluation [J]. *Chinese J. Lasers*, 2006, **33**(12):1692~1698  
杨小红,刘承宜,刘少杰等. 软骨细胞光生物调节作用的体外实验[J]. 中国激光, 2006, **33**(12):1692~1698
  - 36 M. Dvir-Ginzberg, V. Gagarina, E. J. Lee *et al.*. Regulation of cartilage-specific gene expression in human chondrocytes by Sirt1 and nicotinamide phosphoribosyltransferase [J]. *J. Biol. Chem.*, 2008, **283**(52):36300~36310
  - 37 Liu Xiaoguang. Therapeutic effects of low intensity laser irradiation on exercise-induced muscle damage and its mechanism [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2009  
刘晓光. 低强度激光对运动引起的肌肉损伤的治疗效应及其机理[D]. 武汉:华中科技大学, 2009
  - 38 I. Mattagajasingh, C. S. Kim, A. Naqvi *et al.*. SIRT1 promotes endothelium-dependent vascular relaxation by activating endothelial nitric oxide synthase [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, **104**(37):14855~14860
  - 39 P. T. Pfluger, D. Herranz, S. Velasco-Miguel *et al.*. Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, **105**(28):9793~9798
  - 40 S. Lavu, O. Boss, P. J. Elliott *et al.*. Sirtuins—novel therapeutic targets to treat age-associated diseases [J]. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2008, **7**(10):841~853
  - 41 J. G. Yu, L. Carlsson, L. E. Thornell. Evidence for myofibril remodeling as opposed to myofibril damage in human muscles with DOMS: an ultrastructural and immunoelectron microscopic study [J]. *Histochem. Cell Biol.*, 2004, **121**(3):219~227
  - 42 C. Cantó, Z. Gerhart-Hines, J. N. Feige *et al.*. AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD<sup>+</sup> metabolism and SIRT1 activity [J]. *Nature*, 2009, **458**(7241):1056~1060
  - 43 K. T. Howitz, K. J. Bitterman, H. Y. Cohen *et al.*. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan [J]. *Nature*, 2003, **425**(6954):191~196
  - 44 K. Yamada, H. Ogawa, A. Hara. Mechanism of the antiviral effect of hydroxytyrosol on influenza virus appears to involve morphological change of the virus [J]. *Antiviral Res.*, 2009, **83**(1):35~44