

低强度半导体激光照射调节成纤维细胞时钟基因表达

朱 玲¹ 吴德峰¹ 王永庆² 刘承宜^{1*}

(¹华南师范大学体育科学学院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)
²中国科学院心理研究所, 北京 100101

摘要 研究了低强度 810 nm 半导体激光(LIDL)对肿瘤坏死因子 α (TNF- α)抑制的 NIH3T3 成纤维细胞时钟基因表达的调节作用。马血清休克 2 h 的细胞用质量浓度为 10 ng/mL 的 TNF- α 孵育, 分别用不同剂量的 LIDL 照射一次。结果表明 LIDL 可以调节 TNF- α 对 NIH3T3 成纤维细胞时钟基因表达的抑制作用, 而且这种调节作用可能是通过烟酰胺腺嘌呤二核苷酸辅酶与其还原形式的比值(NAD⁺/NADH)和 III 型组蛋白去乙酰化酶 1(SIRT1)实现的。

关键词 生物光学; 低强度激光; 时钟基因; 组蛋白去乙酰化酶

中图分类号 Q631 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL201138.0804001

Modulation of Low Intensity Laser Irradiation on Expression Suppression of Circadian Clock Genes in Cultured Fibroblasts

Zhu Ling¹ Wu Defeng¹ Wang Yongqing² Liu Chengyi¹

¹Laboratory of Laser Sports Medicine and Research Center of National Constitution and Health, School of Physical Education & Sports Science, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510006, China
²Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract The effects of low intensity 810 nm laser irradiation (LIDL) to the tumor necrosis factor (TNF)- α induced expression suppression of circadian clock genes in cultured NIH3T3 fibroblasts are investigated. The fibroblasts shocked by horse serum for 2 h are induced with TNF- α of 10 ng/mL, and then irradiated by different doses of LIDL once. The results show that TNF- α induced inhibition effect of the circadian clock gene expression can be modulated by LIDL, which may be mediated by nicotinamide adenine dinucleotide/ reduced form of nicotinamide adenine dinucleotid (NAD⁺/NADH) and sirtuin 1 (SIRT1).

Key words biotechnology; low intensity laser irradiation; circadian clock genes; sirtuin

OCIS codes 170.1530; 170.5380; 140.2020

1 引 言

生理节律研究被“Science”选为 1998 年的重要进展^[1], 其中两个重要突破就是血清休克条件下外周细胞节律基因表达节律的发现^[2]和生理节律非视觉光调节的发现^[3]。生物节律通常是由下丘脑的视交叉核(SCN)控制的。眼睛接受到的光线会通过视网膜细胞或视网膜神经节细胞调节 SCN 松果体中褪黑素的合成。全盲的人没有生理节律, 必须依赖于褪黑素的治疗^[4]。1998 年, Balsalobre 等^[2]报道 rat-1 成纤维细胞在血清休克情况下节律基因表达

呈现节律性变化。这个发现说明, 生理节律的控制不仅存在于 SCN 中, 身体的每个含有脱氧核糖核酸(DNA)的细胞都存在生理节律。最近, 没有 DNA 的红细胞也发现了一种称为 peroxiredoxins 的抗氧化蛋白的表达水平呈现节律性的变化^[5]。同样是在 1998 年, Campbell 等^[3]报道, 晚上利用蓝光照射膝盖后的腭窝部位 3 h 能够引起体温和唾液褪黑素的生理节律发生改变。这个发现说明, 腭窝的光照也可以调控生理节律。然而, 2002 年 Wright 等^[6]报道, 类似实验并不支持 Campbell 等^[3]的结论。这个

收稿日期: 2011-03-03; 收到修改稿日期: 2011-04-18

基金项目: 国家自然科学基金(60878061)资助课题。

作者简介: 朱 玲(1979—), 女, 博士, 讲师, 主要从事光生物调节作用方面的研究。E-mail: zhuling9@qq.com

* 通信联系人。E-mail: liutcy@senu.edu.cn

公案一直没有得到解决。

大量实验发现^[7~11],激光(LI)或单色光可以调节细胞的功能,称为光生物调节作用(PBM)。这里的LI称为低水平LI(LLI),包括低强度LI(LIL)(约10 mW/cm²)和作用时间较短的中等强度LI(MIL)(0.1~1.0 W/cm²)。这里的细胞功能可以根据功能内稳态(FSH)^[8~10]分为处于FSH的功能和远离FSH的功能两种情况。FSH用负反馈的方式抵抗内外干扰,维持生物功能充分稳定发挥。FSH由烟酰胺腺嘌呤二核苷酸辅酶(NAD⁺)依赖的Ⅲ型组蛋白去乙酰化酶1(SIRT1)活性维持^[9,11]。NAD⁺与其还原形式NADH的比值(NAD⁺/NADH)越高,SIRT1的活性越高^[12]。不同细胞和组织的SIRT1表达和活性都是不同的^[12],每个FSH有其特异的SIRT1活性(FSSA1)^[9]。

LLI只是一种很弱的干扰,不能调节处于FSH的功能。远离FSH的功能对外界很敏感,当然可以受到LLI的调节,直至FSH建立。生理节律也是人体和细胞的一种功能。健康人或细胞的生理节律由节律内稳态(RSH)来维持。从RSH的角度可以阐明Campbell等^[3]和Wright等^[6]两个报道不一致的原因。Campbell等的实验对象处于微弱的灯光下,实验对象的睡眠并没有处于RSH。Wright等的实验对象是在全黑的条件下进行的,实验对象的睡眠处于RSH。人体是否处于RSH与髓窝细胞是否处于RSH是相关的。人体处于RSH,髓窝细胞也处于RSH,LLI不能调节处于RSH的细胞就是Wright等观察不到阳性结果的根本原因,LLI可以调节远离RSH的细胞就是Campbell等观察到阳性结果的根本原因。为了证实这个推论,本文用NIH3T3成纤维细胞节律基因表达的LLI调节来进行研究。Cavadini等^[13]发现,肿瘤坏死因子 α (TNF- α)可以抑制NIH3T3成纤维细胞节律基因的表达。本文用TNF- α 诱导NIH3T3成纤维细胞远离RSH,考察低强度810 nm半导体激光(LIDL)对节律基因的调节作用和NAD⁺/NADH与SIRT1的介导机制。

2 材料与方法

2.1 实验材料

NIH3T3成纤维细胞购自中国科学院上海细胞库。细胞培养基(DMEM)购自Gibco公司,胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料公司,马血清购自Hyclone公司,Trizol购自Invitrogen公司,逆转录酶

(MMLV)购自Promega公司,重组鼠TNF- α 购自Sigma公司。810 nm Ga-Al-As半导体激光器(SUNDOM-3001)由北京三顿公司提供,辐射照度功率计(FieldMax-TOP)购自美国Coherent Inc公司。

2.2 实验分组

NIH3T3细胞培养于体积分数为10%的胎牛血清的DMEM高糖培养基(100 mg/mL质量浓度青霉素和100 U/mL质量浓度链霉素),37℃,体积分数为5%的CO₂,饱和湿度。将细胞按 2×10^5 个/皿接种于35 mm细胞培养皿,生长2天后用体积分数为50%的马血清的DMEM培养基孵育2 h进行马血清休克处理^[13],处理起始为实验0 h。处理完毕,用质量浓度为10 ng/mL TNF- α 的无血清DMEM继续孵育,并立刻予以LIDL照射处理。随机分组见表1。

表1 实验分组

Table 1 Experimental groups

Groups	Treatment	Number of samples
Control	Control	6
TNF- α	10 ng/mL	6
Dose 1	5 mW/cm ² × 5 min	6
Dose 2	5 mW/cm ² × 10 min	6
Dose 3	10 mW/cm ² × 5 min	6
Dose 4	10 mW/cm ² × 10 min	6
Dose 5	10 mW/cm ² × 20 min	6

激光束从皿底部射入,之后继续培养,于24 h收取细胞样品进行反转录酶-聚合酶链锁反应(RT-PCR)检测。

2.3 RT-PCR检测

在冰上收取细胞样品,吸出培养液,用4℃预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞2次,加入1 mL Trizol。按试剂说明书操作步骤提取细胞总核糖核酸(RNA)并进行逆转录反应、PCR反应。PCR引物序列引自文献^[14],时钟基因Per1,Per2,Per3,Dbp的反应过程:94℃,1 min;94℃,30 s,60℃,30 s,72℃,1 min,循环42次;72℃,10 min;内参基因G3PDH的退火温度56℃,循环34次。

2.4 作用机制研究

本文的初衷是用细胞模型验证Campbell等^[3]发现的LIL对人体生物节律的康复作用。预实验发现剂量4(10 mW/cm² × 10 min)的LIDL对TNF- α 抑制的节律基因表达有康复作用。为了进一步阐明LIL对细胞节律基因康复的机制,实验选择剂量4开展了进一步的机制研究。对于剂量4组,LIDL照射完毕后细胞仍置于含TNF- α 的无血清DMEM培养基,常规条件孵育培养,并于第6,

12,8,24,30 和 36 h 时间点收取细胞样品,用 RT-PCR 检测 SIRT1^[15] 的 mRNA 表达,用酶循环法^[16] 检测 NAD⁺/NADH。

2.5 结果采集和统计分析

将 PCR 反应产物进行质量分数为 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳,利用凝胶成像分析系统对电泳图谱拍照,并对电泳条带灰度值进行分析(待测基因的相对含量=待测基因密度/G3PDH 密度)。实验数据用 SPSS10.0 统计软件包进行统计学处理,组间差异进行 ANOVA 的 Tukey-t 检验。

3 结 果

3.1 mRNA 提取和 PCR 结果

提取的细胞总 RNA 通过琼脂糖凝胶电泳及紫外分光光度法进行检测和定量,电泳图谱如图 1 所示。可见明显的 5,18 和 28 s 三条带,条带整齐清晰,边缘锐利光滑,条带间亦无明显弥散。经紫外分光光度计分析,A260/A280 值在 1.6~1.8 之间,表明本实验所提取的总 RNA 纯度良好,无明显降解。RNA 浓度($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)=(A260×稀释倍数×40)/1000。

目的基因 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结

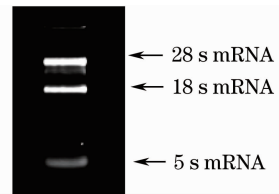


图 1 NIH3T3 细胞总 RNA

Fig. 1 Total RNA of NIH3T3 fibroblasts

果如图 2 所示,其中 1 为 DNA Marker (DL2,000), 2 为 mPer1 (317 bp), 3 为 mPer2 (482 bp), 4 为 mPer3 (291 bp), 5 为 mDbp (412 bp), 6 为 mG3PDH (452 bp), PCR 扩增产物电泳无明显非特异产物带,产物条带单一,与 DNA Markers DL2,000 对照,扩增条带分子量大小与预期一致。

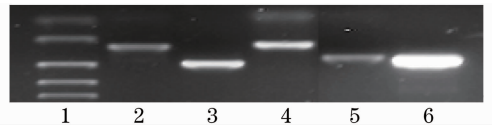


图 2 各时钟摆基因 PCR 扩增产物

Fig. 2 PCR products of circadian clock gene

3.2 不同光照剂量对时钟基因 mRNA 表达的影响

图 3(a)为琼脂糖凝胶电泳结果,比较目的基因

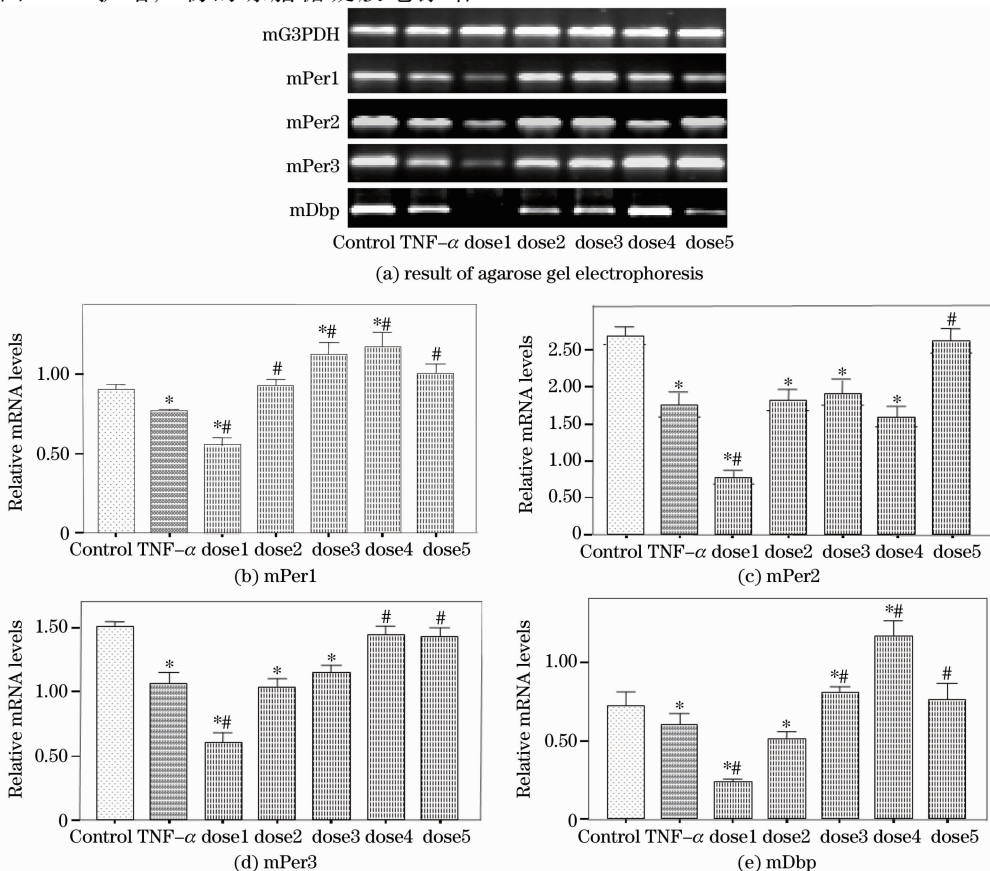


图 3 低强度激光对时钟基因 mRNA 表达的影响

Fig. 3 Effects of low intensity laser irradiation on circadian gene expression

mRNA 的表达水平,发现 LIDL 照射对 TNF- α 抑制的各时钟基因表达有不同程度的调节作用。对电泳条带灰度值进行比较分析[图 3(b)~(e),表 1],其中 * 为与控制组比较, # 为与 TNF- α 比较,剂量 1 的各基因表达水平都比 TNF- α 抑制组还要显著降低($P < 0.01$),而剂量 5 的表达水平均得到显著提高($P < 0.01$),基本接近对照组。其余 3 组剂量的照射基本对 mPer 2 基因没有显著调节作用[图 3(c)]。剂量 2 只对 mPer1 基因有促表达作用[$P < 0.01$,图 3(b)],

剂量 3 对 mPer1 和 mDbp 基因有促表达作用[$P < 0.01$,图 3(b),(e)]。而剂量 4 除 mPer2 基因之外均有促表达作用[$P < 0.01$,图 3(b),(d),(e)],且效果最明显,最高可使 mDbp 基因表达至正常水平 1.6 倍(表 1)。因此,在光照剂量 5 mW/cm² × 10 min 至 10 mW/cm² × 20 min 范围内,LIDL 对 TNF- α 抑制 mPer1,mPer3,mDbp 基因表达具有普遍的拮抗作用,其中 10 mW/cm² × 10 min 效果最佳。

表 2 基因表达百分比

Table 2 Percentage of gene expression

	Control /%	TNF- α /%	Dose 1 /%	Dose 2 /%	Dose 3 /%	Dose 4 /%	Dose 5 /%
mPer1	100	85 *	62.2 * #	103.1 #	124.9 * #	129.9 * #	111.5 #
mPer2	100	65.4 *	28.6 * #	67.7 *	71.4 *	59.5 *	97.8 #
mPer3	100	70.7 *	40.6 * #	68.7 *	76.6 *	96.1 #	95 #
mDbp	100	83.9 *	32.9 * #	71.2 *	111.6 * #	161.7 * #	105.1 #

* : comparing with control ($P < 0.01$), # : comparing with TNF- α ($P < 0.01$).

3.3 光照对 SIRT1 表达和活性的影响

如图 4 所示,其中 * 为 TNF- α 组与对照组有显著性差异($P < 0.05$); ** 为 TNF- α 组与对照组有极显著性差异($P < 0.005$); ※ 为 LIDL 组与对照组有显著性差异($P < 0.05$); ※※ 为 LIDL 组与对照组有极显著性差异($P < 0.005$); ★ 为 LIDL 组与 TNF- α 组有显著性差异($P < 0.05$); ★★ 为 LIDL 组与 TNF- α 组有极显著性差异($P < 0.005$)。对于剂量 4(10 mW/cm² × 10 min)组,TNF- α 组与对照相比较表明,TNF- α 在第 18 h 和第 24 h 抑制了 SIRT1 ($P < 0.05$) 的 mRNA 表达,并且在第 6 h、第

12 h、第 18 h 和第 30 h 降低了 NAD⁺/NADH ($P < 0.005$) 的比值。LIL 组和 TNF- α 组比较表明,LIDL 抑制了 TNF- α 在第 18 h 对 SIRT1 ($P < 0.005$) mRNA 表达的抑制作用,并且抑制了 TNF- α 在第 6 h ($P < 0.005$)、第 12 h ($P < 0.05$) 和第 18 h ($P < 0.05$) 对 NAD⁺/NADH 比值的降低作用。LIL 组和对照组比较表明,SIRT1 的 mRNA 表达在第 18 h ($P < 0.05$) 高于对照组,胞内 NAD⁺/NADH 的比值在第 6 h ($P < 0.05$)、第 12 h ($P < 0.005$)、第 18 h ($P < 0.05$) 和第 30 h ($P < 0.005$) 低于对照组。

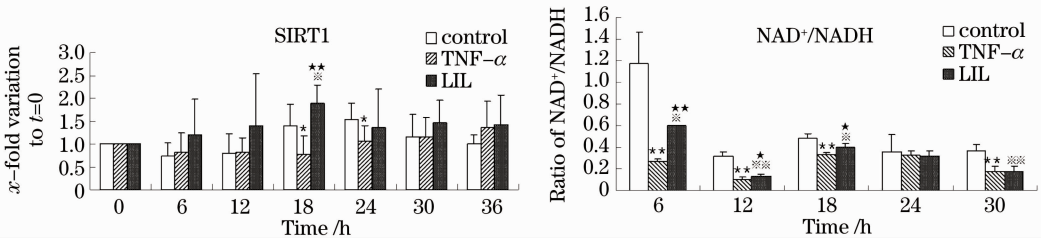


图 4 LIDL (10 mW/cm² × 10 min)对 TNF- α 引起的 NIH3T3 细胞时钟基因表达抑制模型中 SIRT1 基因的表达及胞内 NAD⁺/NADH 的影响

Fig. 4 Effects of low intensity laser irradiation on SIRT1 gene expression and intracellular NAD⁺/NADH in NIH3T3 cells inhibited by TNF-alpha

4 讨 论

Cavadini 等^[13]发现,TNF- α 抑制时钟基因的表达;本课题组进一步发现,TNF- α 还抑制 SIRT1 的 mRNA 表达,降低了 NAD⁺/NADH。研究表明,LIDL 可以调节 TNF- α 抑制的时钟基因表达,并选

择其中的康复剂量发现了 NAD⁺/NADH 和 SIRT1 的介导作用。

4.1 光生物调节作用的剂量关系

研究了 mPer1,mPer2,mPer3 和 mDbp 4 个时钟基因。Cavadini 等发现 TNF- α 抑制这些时钟基

因的表达。由表1和图3发现,剂量1促进TNF- α 对所有基因的抑制,但剂量5抑制TNF- α 对所有基因的抑制,剂量2,3和4则只能抑制TNF- α 对部分基因的抑制。这说明,一次LIDL照射的PBM有很大的剂量依赖性。本组将进一步研究LIDL长期照射的效果。

光照剂量 It 是光照强度 I 和光照时间 t 的乘积。研究光照剂量的方法有3种,分别是固定 t ,改变 I ;固定 I ,改变 t ;固定 It ,改变 I 和 t 。本实验同时使用了3种研究方法,选取了5个剂量(I mW/cm 2 \times t min)(1:5 \times 5,2:5 \times 10,3:10 \times 5,4:10 \times 10和5:10 \times 20)进行研究。

第一种,固定 t ,改变 I 。此时PBM的剂量关系满足线性关系,存在剂量段效应,每个剂量段的效应不一样^[17]。剂量1与3和剂量2与4分别采用相同的照射时间。剂量1的光照不但没有拮抗TNF- α 对时钟基因的抑制效应,反而进一步予以促进[$P < 0.01$,图3(b)~(e)],这与后面的剂量3,4和5的效果截然相反。显然,LIDL的PBM分为两个剂量段,剂量1代表的剂量段促进TNF- α 的效应,剂量3,4和5代表的剂量段抑制TNF- α 的效应。

第二种,固定 I ,改变 t 。此时PBM的剂量关系满足正弦函数关系,存在一个最大值^[16]。剂量1与2和剂量3,4与5分别选取相同的照射强度。剂量3,4和5满足正弦函数关系,居中的剂量4正是本实验中的最佳光照剂量。

第三种,固定 It ,改变 I 和 t 。此时PBM的剂量存在一个极大值,有一个最佳光照强度或者光照时间^[17]。剂量2和3所选取的剂量相同,剂量3的拮抗效果更佳[图3(b)~(e)],剂量2有本实验中最佳照射时间10 min,剂量3有本实验中最佳照射强度10 mW/cm 2 ,显然是照射强度的影响大过照射时间。

4.2 组蛋白去乙酰化酶

研究了TNF- α 和LIDL(10 mW/cm 2 \times 10 min)对NAD $^+$ /NADH和SIRT1的mRNA表达的影响(图4)。TNF- α 作用后在第6,12,18和30 h降低了NAD $^+$ /NADH,在第18 h和24 h抑制了SIRT1的mRNA表达,说明TNF- α 抑制了SIRT1的活性,导致细胞SIRT1活性低于维持基因表达内稳态(GeSH)所需要的SIRT1活性(GeSSA1),因此时钟基因的表达远离GeSH,基因表达受到抑制。LIDL(10 mW/cm 2 \times 10 min)照射在第6,12和18 h提高了NAD $^+$ /NADH,但因为只照射了一次,还没有恢

复到对照组的比值。LIDL(10 mW/cm 2 \times 10 min)照射在第18 h促进了SIRT1的mRNA表达。以上实验表明,无论是TNF- α 单独作用,还是TNF- α 与LIDL(10 mW/cm 2 \times 10 min)联合作用,NAD $^+$ /NADH的变化都发生在SIRT1的mRNA表达变化之前,后者的变化可能是前者变化引起的。对于TNF- α 单独作用,NAD $^+$ /NADH下降导致SIRT1的mRNA表达下降,导致时钟基因表达远离GeSH。对于TNF- α 与LIDL(10 mW/cm 2 \times 10 min)联合作用,NAD $^+$ /NADH上升导致SIRT1的mRNA表达上升,促进时钟基因表达恢复GeSH。SIRT1的活性依赖于NAD $^+$ /NADH^[12]。因此,LIDL(10 mW/cm 2 \times 10 min)通过增加NAD $^+$ /NADH和SIRT1活性康复被TNF- α 抑制了的时钟基因表达。

在图3中,LIDL(10 mW/cm 2 \times 10 min)属于剂量4,剂量2(5 mW/cm 2 \times 10 min),3(10 mW/cm 2 \times 5 min)和5(10 mW/cm 2 \times 20 min)的情况与剂量4类似,LIDL通过增加NAD $^+$ /NADH和SIRT1活性康复被TNF- α 抑制了的时钟基因表达。与剂量4不同的是,剂量1(5 mW/cm 2 \times 5 min)进一步促进TNF- α 对时钟基因表达的抑制作用。这是与文献[9]研究不一致的地方。这说明,当功能远离FSH时,LLL不但可以增加NAD $^+$ /NADH和SIRT1活性,而且可以降低NAD $^+$ /NADH和SIRT1活性。当然,这个发现有待实验的进一步证实。

4.3 细胞状态

LIDL对细胞功能的调节依赖于细胞的状态。LLL不能调节处于FSH的细胞功能,但可以调节远离FSH的细胞功能。细胞节律基因的表达由GeSH维持。借鉴Cavadini等^[13]的发现,本组用TNF- α 打破了NIH3T3成纤维细胞的GeSH,抑制了节律基因的表达。实验发现,LIDL的各种剂量都可以调节节律基因的表达。

研究结果的进一步分析发现,剂量3和4对mPer1和mDbp两个时钟基因表达的促进超过了对照组(表1和图3),剂量4对SIRT1基因表达的促进超过了对照组(图4),这说明对照组时钟基因的表达并没有处于GeSH。实际上,体积分数为10%胎牛血清的DMEM培养基才能使NIH3T3细胞的时钟基因表达处于GeSH。对照组采用的是体积分数为50%马血清的DMEM培养基处理2 h再换为无血清DMEM培养基,显然细胞时钟基因的表达远离GeSH。

本组的实验结果支持 Campbell 等的实验结果。Campbell 等在实验中发现利用蓝光照射膝盖后的腠窝部位 3 h 能够引起体温和唾液褪黑素的生理节律发生改变,但 Wright 等的类似实验并不支持 Campbell 等的结论。腠窝后主要的穴位为委中穴。类似的情况也发生在内关穴的激光刺激。Hübscher 等^[18]用光刺激没有吸烟习惯的健康男性的内关穴,没有观察到心律变异性(HRV)的变化。Wu 等^[19]用剂量为 9.7 J/cm² 的 830 nm 激光照射内关穴 10 min,用 HRV 研究激光针灸对 45 名健康男性夜班工人植物神经的影响。他们发现高频(HF)HRV、低频(LF)HRV 和两者的比值 LF/HF 都有改善,LIL 增加了迷走神经的兴奋和心脏交感神经的抑制。Hübscher 等的实验对象与 Wright 等一样处于 RSH,两种情况下都观察不到 LIL 的调节作用。夜班工人的生物节律受到干扰,远离 RSH。Wu 等的实验对象与 Campbell 等一样远离 RSH,两种情况下都观察到了 LIL 的调节作用。本组用 TNF- α 处理 NIH3T3 细胞,使时钟基因的表达远离 GeSH,LIDL 照射对其就有光生物调节作用。显然,LIL 只作用于生理功能不正常的个体,对健康人无影响,是一种绿色健康无不良反应的疗法。

5 结 论

NIH3T3 成纤维细胞时钟基因表达由 SIRT1 活性表征的 GeSH 维持。TNF- α 通过降低 NAD⁺/NADH 抑制 SIRT1 活性,促使时钟基因表达远离 GeSH,抑制时钟基因的表达。LIDL 可以调节 TNF- α 对 NIH3T3 成纤维细胞时钟基因表达的抑制作用。其中 5 mW/cm² × 5 min 的 LIDL 通过提高 NAD⁺/NADH 康复 SIRT1 活性,促进 GeSH 的建立和时钟基因的表达。

参 考 文 献

- 1 Science News and Editorial Staffs. Breakthrough of the year. The runners-up[J]. *Science*, 1998, **282**(5397): 2157~2161
- 2 A. Balsalobre, F. Damiola, U. Schibler. A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells[J]. *Cell*, 1998, **93**(6): 929~937
- 3 S. S. Campbell, P. J. Murphy. Extraocular circadian phototransduction in humans[J]. *Science*, 1998, **279**(5349): 396~399
- 4 D. J. Skene, J. Arendt. Circadian rhythm sleep disorders in the

- blind and their treatment with melatonin[J]. *Sleep Med.*, 2007, **8**(6): 651~655
- 5 J. S. O'Neill, A. B. Reddy. Circadian clocks in human red blood cells[J]. *Nature*, 2011, **469**(7331): 498~503
- 6 K. P. Wright, C. A. Czeisler. Absence of circadian phase resetting in response to bright light behind the knees[J]. *Science*, 2002, **297**(5581): 571
- 7 N. Lane. Cell biology: power games [J]. *Nature*, 2006, **443**(7114): 901~903
- 8 T. C. Y. Liu, R. Liu, L. Zhu *et al.*. Homeostatic photobiomodulation [J]. *Front. Optoelectron. China*, 2009, **2**(1): 1~8
- 9 Liu Chengyi, Li Fanghui, Zhu Ling. Sirtuin-mediated mechanism of optical rehabilitation of animal non-vision cells[J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(10): 2485~2492
刘承宜,李方晖,朱玲.组蛋白去乙酰化酶介导的动物非视觉细胞的光康复机制[J]. *中国激光*, 2009, **36**(10): 2485~2492
- 10 Liu Chengyi, Zhu Ping. Laser Function Medicine and Its Applications [M]. Hongkong: Outstanding Publication Ltd., 2011. 16~420
刘承宜,朱平.激光功能医学及其应用[M].香港:精英出版社,2011. 16~420
- 11 Liu Chengyi, Wang Yanfang, Zhu Jian *et al.*. Mechanism of intranasal low intensity laser therapy [J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(11): 2799~2804
刘承宜,王艳芳,朱健等.鼻腔内低强度激光照射疗法的机理[J]. *中国激光*, 2009, **36**(11): 2799~2804
- 12 T. Finkel, C. X. Deng, R. Mostoslavsky. Recent progress in the biology and physiology of sirtuins [J]. *Nature*, 2009, **460**(7255): 587~591
- 13 G. Cavadini, S. Petrzilka, P. Kohler. *et al.*. TNF-alpha suppresses the expression of clock genes by interfering with E-box-mediated transcription [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, **104**(31): 12843~12848
- 14 K. Oh-hashi, Y. Naruse, M. Tanaka. Intracellular calcium mobilization induces period genes via MAP kinase pathways in NIH3T3 cells[J]. *FEBS Lett.*, 2002, **56**(1-3): 101~105
- 15 Jt. Rodgers, C. Lerin, W. Haas *et al.*. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 alpha and SIRT1 [J]. *Nature*, 2005, **434**(7029): 113~118
- 16 K. Menzel, K. Ahrens, A. Zeng *et al.*. Kinetic, dynamic, and pathway studies of glycerol metabolism by *Klebsiella pneumoniae* in anaerobic continuous culture; IV. Enzymes and fluxes of pyruvate metabolism [J]. *Biotechnol. Bioeng.*, 1998, **60**(5): 617~626
- 17 Liu Chengyi, Zhu Ling, Duan Rui *et al.*. Phenomena and mechanism of laser irradiation or monochromatic light induced extraocular phototransduction [J]. *Chinese J. Lasers*, 2006, **36**(9): 2251~2256
刘承宜,朱玲,段锐等.激光或单色光引起非视觉细胞信号转导的现象及机理[J]. *中国激光*, 2009, **36**(9): 2251~2256
- 18 M. Hübscher, L. Vogt, W. Banzer. Laser needle acupuncture at Neiguan (PC6) does not mediate heart rate variability in young, healthy men [J]. *Photomed. Laser Surg.*, 2007, **25**(1): 21~25
- 19 J. H. Wu, H. Y. Chen, Y. J. Chang *et al.*. Study of autonomic nervous activity of night shift workers treated with laser acupuncture [J]. *Photomed. Laser Surg.*, 2009, **27**(2): 273~279