

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.09.010

文章编号: 1005-8982(2020)09-0055-05

低强度激光疗法对肿瘤细胞凋亡影响的研究进展*

李振鹏¹, 杨小红², 任镜清², 罗辉兴², 刘少杰²

(1. 贵州医科大学 临床医学院, 贵州 贵阳 550004; 2. 广州市红十字会医院
胃肠肛肠外科, 广东 广州 510220)

摘要: 随着人口老龄化的进展, 恶性肿瘤的发病率逐年递增, 根据2017年全国肿瘤登记中心收集的資料, 我国恶性肿瘤发病率约为278.07/10万。随着细胞生物学的发展, 通过诱导凋亡来治疗肿瘤已被认可并进行实验和临床研究, 光动力治疗指在光照时发生的光敏剂和氧分子可参与光动力效应, 使肿瘤细胞受损甚至坏死, 低强度激光(LLLT)疗法凭借其可参与调节代谢、操作简便、易获得等特点, 逐渐应用在肿瘤的基础研究和临床实践中, 成为继手术治疗、化学治疗及放射治疗之后的又一种肿瘤治疗方法。该文综述LLLT对肿瘤凋亡不同途径的理论基础和临床验证。

关键词: 低强度激光; 肿瘤; 凋亡

中图分类号: R73

文献标识码: A

Research progress on effect of low-level laser therapy on apoptosis of tumor cells*

Zhen-peng Li¹, Xiao-hong Yang², Jing-qing Ren², Hui-xing Luo², Shao-jie Liu²

(1. Department of Clinical Studies, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China;

2. Department of Gastrointestinal and Anal Surgery, Guangzhou Red Cross Hospital,
Guangzhou, Guangdong 510220, China)

Abstract: With the development of population aging, the incidence of malignant tumor is increasing year by year. According to the data collected by the National Cancer Registration Center in 2017, the incidence of malignant tumor in China is about 278.07/100 Thousand. With the development of cell biology, the treatment of tumor by inducing apoptosis has been recognized and studied in experiment and clinic. Photodynamic therapy means that sensitizer and oxygen molecules can participate in photodynamic effect. Damage or even necrosis of tumor cells, Because of its ability to regulate metabolism, simple operation and easy to obtain, Low-level laser has been gradually applied to the basic research and clinical practice of tumor, and has become another method of tumor treatment after surgical treatment, chemotherapy and radiotherapy. In this review, the theoretical basis and clinical verification of LLLT for different pathways of tumor apoptosis were reviewed. It is summarized as follows.

Keywords: low-level light therapy; neoplasms; apoptosis

在过去10年的统计数据中, 男性和女性的癌症病死率每年下降约1.5%, 总体癌症病死率下降了25%^[1], 但肿瘤患者的发病率及诊治情况仍不理想, 因

此, 对肿瘤进行进一步临床和基础研究, 改进检测和治疗方法有重要意义。当前, 肿瘤的主要治疗方式有手术、化学治疗和放射治疗, 这些治疗方法仍有一定

收稿日期: 2019-11-14

* 基金项目: 广东省科技计划项目(No: 2016A050503003)

[通信作者] 刘少杰, E-mail: Hhyypwlsj@126.com

局限性。光动力疗法是 19 世纪末兴起并快速发展的一种治疗恶性肿瘤的新的辅助方法^[2]，在此基础上，低强度激光疗法（low-level laser therapy, LLLT）因具有易获得、危害小、无毒性、可重复，可导致细胞损伤、凋亡、坏死，可破坏恶性细胞且不产生系统治疗（如化疗）副作用等^[3]优势，逐渐被发现并应用到肿瘤患者的治疗当中。

1 LLLT 的应用及其参与细胞凋亡的途径

1.1 LLLT 及其应用

LLLTT 是利用波长在 600 ~ 1 000 nm、能量在 1 ~ 20 J/cm² 的红光或近红外光对病损进行治疗的方式^[4]。随着研究进展，逐渐发现 LLLT 对人体正常组织无不可逆损伤，不会造成局部温度的明显升高，能对细胞和组织产生一系列的生物刺激作用，由于 LLLT 存在上述优势，该方法被用于治疗包括创伤、关节炎、肌肉骨骼疾病等疾病。在肿瘤研究和治疗方面，LIU 等^[5]认为光动力疗法在治疗癌症方面有许多优点，其通过实验证实：在波长 680 nm 光照射下（156 mW/cm²，10 min），内化在线粒体中的纳米粒子（NPs）被有效激活，在移植瘤小鼠模型中癌细胞被完全消融；CHANG 等^[6]通过研究认为光动力联合一种基于三聚合物混合物（CTS、BPEI、PVA）的新型活性氧反应平台，可以有效地结合化学治疗以提高杀死肿瘤细胞的功效；LI 等^[7]研究证实：0.65 W/cm²，波长为 980 nm 激光照射，对宫颈癌细胞（HeLa 细胞）和人肝癌细胞（HepG2 细胞）均有明显的杀伤作用。基于已有研究认为，LLLTT 可利用特定波长的光选择性照射靶区，与局部分子氧相互作用，产生单线态氧和其他活性氧，直接或间接导致肿瘤细胞死亡^[8]，这为 LLLT 参与肿瘤细胞的凋亡途径提供理论基础。

1.2 LLLT 与细胞凋亡途径

LLLTT 主要通过其特殊的生物刺激，促使生物体或细胞产生一系列生理生化改变，从而产生效应^[9]，LLLTT 的生物学效应产生方式为细胞凋亡的加速或减缓提供新的研究方向。不同波长、剂量、强度的 LLLTT 可参与到细胞凋亡的途径中产生不同效果。THUNSHELLE 等^[10]研究提示 LLLTT 可能是组织损伤过程中重要的细胞凋亡诱导因子。细胞凋亡是一种允许细胞自杀的遗传程序机制，最终导致细胞死亡的过程，细胞凋亡主要途径有外源性凋亡途径和内源性凋亡途径。不同凋亡途径涉及许多酶和调控基因，就肿

瘤细胞而言，其特性之一是可以避免凋亡，肿瘤细胞生存的重要因素是细胞凋亡控制的丧失，通过促进肿瘤细胞凋亡以控制肿瘤的发展，达到临床治疗肿瘤的目的。以往研究已证实 LLLTT 作用于凋亡途径中的酶和调控基因时，会产生不同影响。RAMOS 等^[11]研究显示剂量不同的激光能促进成纤维细胞的增殖，对癌细胞的凋亡也有相应的影响。

细胞凋亡过程是多细胞有机体发育、动态平衡和免疫调节过程中的一个重要过程^[12]。目前许多肿瘤治疗策略依赖完整的细胞凋亡信号通路调控来获得治疗，重新激活癌细胞中的细胞死亡程序可能会为更有效、更有选择性、更少毒性的抗肿瘤治疗开辟新的前景^[13]。不同强度和时间的 LLLTT 对细胞凋亡会产生两方面影响，即加强凋亡或抑制凋亡，同时，LLLTT 更具有针对性，这为进一步研究肿瘤细胞的凋亡提供基础，使研究 LLLTT 在细胞凋亡途径中的作用逐渐有了新的方向。

2 LLLT 对肿瘤细胞不同凋亡途径的影响

肿瘤是一类以不受控制的细胞生长为特征的疾病，具有全身传播或转移的能力。了解肿瘤细胞在 LLLTT 作用后可能产生的效果有助于肿瘤研究的进展，并有可能使许多肿瘤患者受益^[14]。

2.1 LLLT 对肿瘤细胞外源性凋亡途径的影响

细胞外源性凋亡途径是由肿瘤坏死因子 α 家族介导的，包括 TNFR、Fas 和 TRAIL，其中，经典受体为 Fas 和 TNFR。该受体的激活引发凋亡酶 8、凋亡酶 3 等的合成和激活。作为新的肿瘤治疗方式，LLLTT 参与细胞外源性凋亡途径，并产生一定影响，WU 等^[15]通过细胞及动物实验得出：脂质体介导的 LLLTT 可快速稳定地穿透细胞膜，增强细胞内摄取能力，引发乳腺癌细胞凋亡。

在 TNFR 通路中，TNF- α 与相应受体（TNFR1、TNFR2）结合，随后与蛋白 TRADD 结合。TRADD 可激活 FADD 通路，形成凋亡复合体，激活凋亡酶，诱导细胞凋亡；同时，TRADD 可引起肿瘤坏死因子受体相关蛋白 2（TRAF-2）和诱导转录因子（RIP）活化，随后引起 NF- κ B 诱导激酶（NIK）活化，NIK 使 NF- κ B 抑制蛋白发生磷酸化，使其降解和释放，激活相应基因，导致细胞凋亡^[16]。

体外研究表明：2.5 J/cm²，波长为 685 nm 的激光介导的锌基酞菁经照射后，对黑色素瘤细胞产生出一

定的促凋亡特性, 如直接诱导(早期凋亡)和长期诱导(晚期凋亡)。其结论指出光动力学疗法可通过诱导的凋亡途径杀伤黑色素瘤细胞, 是治疗黑色素瘤细胞的有效方法, 且对正常成纤维细胞的杀伤作用较小。

2.2 LLLT 对肿瘤细胞内源性凋亡途径的影响

肿瘤细胞内源性凋亡途径主要围绕线粒体和/或受线粒体调控, 一般内源性凋亡途径由应激介导。即在促凋亡的应激引导下, 细胞色素 C(Cytc) 等促凋亡活性蛋白释放至胞浆内, ATP 提供能量, 与凋亡蛋白酶活化因子-1(Apaf-1) 形成多聚复合体, 即凋亡小体, 凋亡小体激活启动子凋亡酶 9, 随后激活凋亡酶 3, 之后发生以凋亡酶 3 为关键蛋白酶的与细胞外凋亡通路相同的凋亡反应。

有报道指出, LLLT 可增加细胞 ATP, 增加细胞内活性氧含量, LLLT 诱导的呼吸链亦可增加细胞毒性, 开始凋亡级联反应, 增加细胞死亡率^[17]。这为肿瘤细胞内源性凋亡提供了依据, 在临床中 LLLT 也具有潜在应用前景。

作为对凋亡刺激, Bcl-2 家族控制着线粒体外膜和内膜的通透性, 在肿瘤细胞内源性凋亡通路中起到主要调控作用。Bcl-2 家族的促凋亡成员(bax 和 bak) 可破坏线粒体膜通透性, 诱导 Cytc 的释放, 从而参与线粒体通路的细胞凋亡。有文献报道, 在 3 J/cm² 时 Bcl-2 基因在细胞中表达增加, 而在 30 J/cm² 时下降, 即表明 LLLT 参与改变蛋白 Bcl-2 表达的平衡, 并参与凋亡^[18]。光动力学损伤后可使线粒体膜通透性受到 Bcl-2 家族成员的控制。

3 LLLT 在肿瘤细胞的临床和实验中的应用

对患者而言, 新方法研究的最终目的是治疗, LLLT 为肿瘤的治疗拓展了途径, 肿瘤治疗方向的最终目标是选择特定的波长和强度。现阶段光动力学治疗, 尤其是低强度激光治疗已涵盖多个肿瘤类型。在消化系统的食管癌方面, 日本以波长 630 nm 光对浅表食管癌患者进行临床试验并取得了良好效果, 可能有助于通过食管保留提高食管癌患者的生活质量^[19]; 在支气管肺癌方面, KIMURA 等^[20] 通过临床应用得出, LLLT 是治疗晚期肺癌合并气管狭窄的有效方法, 经治疗后, 所有患者的症状和生活质量均有改善, 且 LLLT 没有额外毒性; BAXTER 等^[21] 通过系统性回顾分析得出: LLLT 可能被认为是治疗妇女乳腺癌相关淋巴水肿的有效方法。KUANGDA 等^[22] 通过

实验指出, 光动力学疗法对脑肿瘤患者安全, 在恶性脑胶质瘤患者中, 光动力学疗法能提高存活率, 而较低强度即 LLLT 更有效。另外, 实验和临床实践表明激光疗法对肿瘤的治疗有一定效果, 能延长无法手术治疗的癌症患者的生存期, CORTI 等^[23] 使用波长 630 nm, 功率 300 ~ 800 mW, 能量 200 ~ 300 J/cm² 的低强度激光治疗 Tis、T₁、T₂ 病变期食管癌得出: LLLT 是早期食管癌的有效治疗方案, 其在长期局部控制及总生存率具有良好效果; AKOPOV 等^[24] 对 45 例中心性非小细胞肺癌患者应用波长 662 nm 低强度激光进行周期性脉冲治疗, 其结果提示 LLLT 在肺癌治疗方面有延长生存期效果。KRIEGMAIR 等^[25] 使用能量为 15、30 和 60 J/cm² 激光, 经尿道对顽固性浅表性膀胱癌进行膀胱内照射, 经 10 ~ 12 周治疗后, 约 40% 患者膀胱癌症状全缓解, 20% 例部分缓解; CONSTANTIN 等^[26] 通过神经母细胞瘤系的实验证实, LLLT 具有良好的毒理学特征, 其结果发现新的机制, 即激光可参与复杂的细胞内途径, 触发肿瘤细胞死亡, 延长患者生存。HIRSCHBERG 等^[27] 指出, 光激活将能量传递给分子氧产生单线态氧, 与导致氧化损伤的细胞组分快速反应, 参与并最终导致脑肿瘤细胞死亡, 与无法手术切除的肿瘤相比较, LLLT 可减轻患者痛苦, 显著提高生活质量, 而对正常组织最小毒性, 提高了生存率。

4 LLLT 的发展前景

LLLTT 需要将光照强度、增量值等调节到合适大小, 作为一种临床治疗方法, 被用于治疗浅表癌, 也可作为晚期癌症的姑息性缓解治疗方法。在保持高效率的同时, 使患者副作用降至最小, 激光利用适当波长的可见光激发全身或局部并应用光敏剂, 在分子氧的存在下, 形成活性氧, 刺激信号通路导致细胞凋亡和细胞坏死, 即对肿瘤靶点的破坏^[28]。因体内不同种细胞具有相对特异性, 这也致使 LLLT 在治疗不同肿瘤时需要选择不同光照强度。虽然这种新的治疗肿瘤的方法还未被普遍接受, 但增加了肿瘤治疗方式。LLLTT 对细胞的刺激和抑制作用是剂量依赖性和波长依赖性, 出现矛盾结果主要原因在于使用不同的能量强度和暴露时间。HOPKINS 等^[29] 通过不同激光照射细胞发现, 光照调节对生物组织和细胞的影响依照射剂量产生不同的作用, 随剂量增加而提高光调节活性达到高峰后, 增加剂量后效果会下降, 甚至有破坏作

用,这通常被定义为“二相应答”。LLLTT 实验研究就是要寻找叠加的最佳作用效应,从而获取所需的效果,对不同条件下的细胞和组织做特异性的研究,以期达到最佳治疗效果。虽然对细胞凋亡的认识有了很大的提高,但 LLLTT 对肿瘤细胞凋亡的具体方式及所涉及的因子,需要更多的研究来支持。同时,凋亡本身会导致一些疾病和病理生理学的功能改变,不同的肿瘤患者具有多种特殊的肿瘤细胞类型,随着技术的进步,通过实验设计的改进,LLLTT 可作为治疗肿瘤的新方法并应用于临床,从而成为肿瘤非手术治疗新的发展方向。

5 小结

LLLTT 的兴起是对于肿瘤治疗的一种新的尝试。通过以上的探讨可以发现,LLLTT 对肿瘤细胞凋亡的研究结果具有实用意义,也存在互相矛盾的地方。现阶段,在图像引导下将光源植入人体深部的实体器官是可行的^[30]。对不同类型肿瘤的治疗、波长、脉冲、功率密度、频率等方面的参数的设置有待进一步优化,已经发表的细胞学领域研究报告证实,LLLTT 可对细胞产生影响,随着技术进步,将 LLLTT 治疗肿瘤的适用范围扩大切实可行。现阶段,LLLTT 对肿瘤干预效果得到很大的提高,LLLTT 未来的方向将通过改进脉冲频率、光敏剂特异性、植入方式等,实现精准化和个性化治疗,这将为肿瘤的治疗增添新的方案。

参 考 文 献:

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, DVM A J. Cancer statistics, 2017[J]. *Ca A Cancer Journal for Clinicians*, 2017, 67(1): 7-30.
- [2] KIM H S, LEE D Y. Near-Infrared-Responsive cancer photothermal and photodynamic therapy using gold nanoparticles[J]. *Polymers (Basel)*, 2018, 10(9): 961.
- [3] BANSAL A, YANG F, XI T, et al. In vivo wireless photonic photodynamic therapy[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(7): 201717552.
- [4] 尹侃. 低强度激光 (LLL) 对间充质干细胞 (MSCs) 的生物学效应研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2017.
- [5] LIU H, ZHAO M, WANG J, et al. Photodynamic therapy of tumors with pyropheophorbide a loaded polyethylene glycol poly (lactic-coglycolic acid) nanoparticles[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2016, 11: 4905-4918.
- [6] CHANG Y C, del VALLE A C, YEH H P, et al. Development of photo-activated ROS-responsive nanoplatform as a dual functional drug carrier in combinational chemo photodynamic therapy[J]. *Front Chem*, 2018, 6: 647.
- [7] LI G L, WANG W H, SONG S X, et al. Anticancer effects and cell death pathways in ultralow-power 980 nm laser-triggered photodynamic therapy by Gd₂O₃: Yb, Tm nanoparticles[J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2019, 15(3): 462-476.
- [8] LI Y N, WANG Y Q, PAN T C, et al. Theoretical basis and treatment strategies of photodynamic therapy for tumor: a review[J]. *Chinese Journal of Laser Medicine & Surgery*, 2014, 23(2): 98-106.
- [9] 沈洁, 杜培花, 赵文凤. 弱激光照射治疗急性慢性疼痛的疗效观察 [J]. *激光杂志*, 2017(2): 152-155.
- [10] THUNSHELLE C, HAMBLIN M R. Transcranial low-level laser (Light) therapy for brain injury[J]. *Photomedicine & Laser Surgery*, 2016, 34(12): 587-598.
- [11] RAMOS S C, CABRAL F V, de CAMARGO C F, et al. Exploring the effects of low-level laser therapy on fibroblasts and tumor cells following gamma radiation exposure[J]. *Journal of Biophotonics*, 2016, 9(11/12): 1157-1166.
- [12] 张少龙, 樊竑治. 凋亡细胞清除过程中相关信号及机制的研究进展 [J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 34(6): 150-154.
- [13] FULDA S. Targeting apoptosis for anticancer therapy[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2015, 31: 84-88.
- [14] BASKAR R. Biological response of cancer cells to radiation treatment[J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2014, 1: 24.
- [15] WU P T, LIN C L, LIN C W, et al. Methylene blue encapsulated liposomes as photodynamic therapy nano agents for breast cancer cells[J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2018, 9(14): 1-12.
- [16] NACKIEWICZ J, KLIBER-JASIK M, SKONIECZNA M. A novel pro-apoptotic role of zinc octacarboxyphthalocyanine in melanoma me 45 cancer cell's photodynamic therapy (PDT)[J]. *J Photochem Photobiol B*, 2019, 190: 146-153.
- [17] TSAI S R, YIN R, HUANG Y Y, et al. Low-level light therapy potentiates NPe6-mediated photodynamic therapy in a human osteosarcoma cell line via increased ATP[J]. *Photodiagnosis & Photodynamic Therapy*, 2015, 12(1): 123-130.
- [18] dos ANJOS L M J, da FONSECA A de S, GAMEIRO J, et al. Apoptosis induced by low-level laser in polymorphonuclear cells of acute joint inflammation: comparative analysis of two energy densities[J]. *Lasers in Medical Science*, 2017, 32(5): 975-983.
- [19] YANO T, HATOGAI K, MORIMOTO H, et al. Photodynamic therapy for esophageal cancer[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2014, 2(3): 29.
- [20] KIMURA M, MIYAJIMA K, KOJIKI M, et al. Photodynamic therapy (PDT) with chemotherapy for advanced lung cancer with airway stenosis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(10): 25466-25475.
- [21] BAXTER G D, LIU L, PETRICH S, et al. Low level laser therapy (Photobiomodulation therapy) for breast cancer related lymphedema: a systematic review[J]. *Bmc Cancer*, 2017, 17(1): 833.
- [22] KUANGDA L, CHUNBAI H, WENBIN L. Nanoscale metal-organic framework for highly effective photodynamic therapy of resistant head and neck cancer[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014. 136(48): 16712-16715.

- [23] CORTI L, SKARLATOS J, BOSO C, et al. Outcome of patients receiving photodynamic therapy for early esophageal cancer[J]. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 2016, 47(2): 419-424.
- [24] AKOPOV A L, RUSANOV A A, PAPAYAN G V, et al. Endobronchial photodynamic therapy under fluorescence control: Photodynamic theranostics[J]. *Photodiagnosis & Photodynamic Therapy*, 2017, 19: 73-77.
- [25] KRIEGMAIR M, BAUMGARTNER R, LUMPER W, et al. Early clinical experience with 5-aminolevulinic acid for the photodynamic therapy of superficial bladder cancer[J]. *British Journal of Urology*, 2015, 77(5): 667-671.
- [26] CONSTANTIN C, LUPU A R, FERTIG T E, et al. Unveiling Ga (III) phthalocyanine-a different photosensitizer in neuroblastoma cellular model[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(2): 1086-1094.
- [27] HIRSCHBERG H, BERG K, PENG Q. Photodynamic therapy mediated immune therapy of brain tumors[J]. *Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2018, 5: 27.
- [28] MAEDING N, VERWANGER T, KRAMMER B. Boosting tumor specific immunity using PDT[J]. *Cancers (Basel)*, 2016, 8(10): 91.
- [29] HOPKINS S L, SIEWERT B, ASKES S H, et al. An in vitro cell irradiation protocol for testing photopharmaceuticals and the effect of blue, green, and red light on human cancer cell lines[J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2016, 15(5): 644-653.
- [30] VINES J B, LIM D J, PARK H. Contemporary polymer-based nanoparticle systems for photothermal therapy[J]. *Polymers (Basel)*, 2018, 10(12): 1357.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 李振鹏, 杨小红, 任镜清, 等. 低强度激光疗法对肿瘤细胞凋亡影响的研究进展 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(9): 55-59.