國立臺灣大學理學院化學系

碩士論文

Department of Chemistry

College of Science

National Taiwan University

Master's Thesis

近紅外發光二極體光生物調節應用於糖尿病二型血糖調控

Photobiomodulation Using Near-Infrared Light-Emitting Diodes for Glycemic Regulation in Diabetes Mellitus Type II

張名揚

Ming-Yang Chang

指導教授：劉如熹 博士

Advisor: Ru-Shi Liu, Ph.D.

中華民國 一一五 年 六 月

June 2026

doi:10.6342/NTU202601320

口試委員審定書

國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書
NTU Master Thesis
Oral Defense Approval Form

近紅外發光二極體光生物調節應用於糖尿病二型血糖調控

Photobiomodulation Using Near-Infrared Light-Emitting Diodes for Glycemic Regulation in Diabetes Mellitus Type II

本論文係 張名揚 君（學號 R13223111）在國立臺灣大學化學系完成之碩士學位論文，於民國 115 年 5 月 21 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明。

The student Ming-Yang Chang (student no. R13223111) enrolled in the Master Program of the Department of Chemistry, NTU has satisfactorily passed the oral defense on 5/21/2026 with the approval of all committee members as follows.

口試委員 (Committee Members)：

（簽名 Signature）

（指導教授 Advisor）

朱家瑞　　余孔彬

詹明賢　　蘇昭瑾

系主任、所長 李弘文 （簽章）

(Dept./Institute Chair's Signature and Seal)

doi:10.6342/NTU202601320

誌謝

回首這兩年的碩士生涯，轉眼間已來到尾聲。首先，我要由衷感謝劉如熹老師在這段期間的悉心指導與不斷鼓勵，不僅在研究上給予我充分的支持與寶貴建議，使我得以完成許多原先未曾想像能夠達成的研究工作，也提供我赴海外交流與學習的機會，拓展視野並累積寶貴經驗。老師的教誨與身教，讓我在學術研究與待人處事方面皆獲益良多，並將成為我未來持續前進的重要養分。此外，謹向詹明賢教授、宋孔彬教授、蘇昭瑾教授及朱忠瀚教授致上誠摯的謝意，感謝各位教授於口試期間撥冗審閱論文，並提供寶貴且具啟發性的建議與指導，使我得以從不同面向重新檢視研究內容，進一步完善研究架構與論文品質。

這兩年的碩士生涯中，想感謝的人實在太多。首先要感謝子瑄學姐與庭怡學姐，在我剛加入實驗室時給予許多指導與協助，讓我能夠快速熟悉實驗室環境並順利展開研究工作。同時也要感謝約安、銓芳、于庭、郁倢及宗諺，無論是平日一起用餐、討論研究，或是課餘時間的出遊與聚會，都為忙碌的研究生活增添了許多歡樂與美好的回憶，讓這兩年的實驗室生活更加充實且難忘。此外，也要特別感謝諺輝學長、源廷學長跟各位學弟妹在行政事務與研究過程中提供許多協助與經驗分享，讓我受益良多。

最後，我要將最深的感謝獻給我的家人。感謝你們在我離開職場、決定重返校園攻讀碩士學位時，給予我最大的支持與鼓勵，讓我能夠無後顧之憂地投入研究與學習。雖然我並不常與你們分享研究上的壓力與挑戰，但你們始終以自己的方式默默關心著我、支持著我，成為我持續前進的重要力量。這份無條件的信任與陪伴，我始終銘記於心，並由衷地感謝你們。此外，也要特別感謝我的姪子，每次回家時，總能看見你燦爛的笑容迎接我，陪伴你的時光總能讓我暫時忘卻研究上的壓力與疲憊，帶給我最單純的快樂與溫暖。更令我欣慰的是，在這兩年間見證你順利脫離氣切，健康地成長，這份喜悅與感動對我而言格外珍貴。謝謝你為我的生活增添了許多幸福與力量。

doi:10.6342/NTU202601320

摘要

第二型糖尿病(type 2 diabetes mellitus; T2DM)為全球盛行率持續攀升之代謝性疾病，其核心病理機制與胰島素阻抗、粒線體功能失衡及慢性高血糖密切相關。現行治療方式多仰賴口服降血糖藥物或胰島素注射，然仍伴隨副作用、低血糖風險、長期依賴性等限制。故發展安全、非侵入性且具臨床應用潛力之新穎治療策略，已成為糖尿病研究之重要方向。本研究提出以近紅外光發光二極體(near-infrared light-emitting diode; NIR LED)進行光生物調節(photobiomodulation; PBM)，探討其於第二型糖尿病血糖調控之應用潛力。

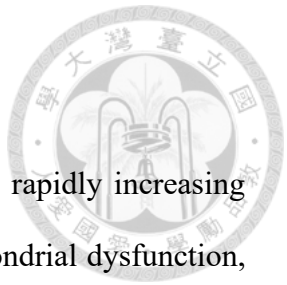
本研究首先以細胞色素 c 氧化酶(cytochrome c oxidase; CCO)吸收峰作為波長設計依據，建構 770、810 與 940 nm 三種近紅外光 LED 系統。於細胞實驗中，藉慢性胰島素暴露建立 C2C12 肌管細胞胰島素阻抗模型，結果揭示近紅外光照射可提升葡萄糖攝取能力、增加粒線體膜電位、提升 CCO 酵素活性、增加 ATP 與 NO 含量，並降低 ROS 與超氧化物累積，同時促進 PI3K/Akt 訊號傳遞。其中，以 770 nm 波長於改善胰島素阻抗相關指標之整體效果最為顯著。

於動物實驗中，本研究以 db/db 小鼠建立第二型糖尿病模型，並以 770 nm 近紅外光每日照射一週。結果顯示，照光後糖尿病小鼠之葡萄糖耐受性試驗與胰島素耐受性試驗明顯改善，且血清游離脂肪酸、三酸甘油酯與胰島素阻抗指數呈下降趨勢，顯示其可改善胰島素阻抗與脂質代謝異常。此外，於人體試驗中，受試者接受 770 nm 背部照射後進行口服葡萄糖耐受性試驗，結果揭示近紅外光處理可降低血糖峰值、曲線下面積及改善相對血糖變化，證實其於人體血糖調控亦具正向效益。

綜合上述結果，本研究證實近紅外光光生物調節可於細胞、動物及人體層級促進葡萄糖代謝並改善血糖恆定，其中 770 nm 為最具潛力之作用波長。此技術具非侵入性、安全性高、可重複使用等優勢，未來有望發展為第二型糖尿病之輔助治療策略與居家健康照護裝置。

關鍵字：第二型糖尿病、光生物調節、近紅外發光二極體、胰島素阻抗、血糖調控

doi:10.6342/NTU202601320



Abstract

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a metabolic disorder with rapidly increasing global prevalence and is closely linked to insulin resistance, mitochondrial dysfunction, and chronic hyperglycemia. Current treatments mainly rely on oral hypoglycemic agents or insulin injections, but these approaches are limited by side effects, hypoglycemia risk, and long-term dependence. Therefore, safe and non-invasive therapeutic strategies are needed. In this study, near-infrared light-emitting diode (NIR LED)-based photobiomodulation (PBM) was investigated for glycemic regulation in T2DM.

Three NIR LED systems (770, 810, and 940 nm) were designed according to the absorption peaks of cytochrome c oxidase. In insulin-resistant C2C12 myotubes, NIR irradiation enhanced glucose uptake, increased mitochondrial membrane potential, elevated CCO activity, promoted ATP and nitric oxide production, reduced reactive oxygen species accumulation, and activated PI3K/Akt signaling. Among the tested wavelengths, 770 nm showed the best overall performance. In db/db diabetic mice, daily treatment with 770 nm NIR light for one week significantly improved glucose tolerance test and insulin tolerance test results, while serum free fatty acid, triglyceride, and HOMA-IR values showed decreasing trends. In human studies, subjects receiving 770 nm back irradiation before an oral glucose tolerance test exhibited reduced peak glucose levels, lower area under the curve, and improved relative glucose responses.

In conclusion, NIR photobiomodulation effectively enhanced glucose metabolism and improved glycemic homeostasis at the cellular, animal, and human levels, with 770 nm identified as the most promising wavelength. Due to its non-invasive nature, safety, and reusability, this technology shows strong potential as an adjunct therapy and home healthcare device for the management of T2DM.

Keywords: T2DM, NIR-LED, PBM, insulin resistance, glycemic regulation

doi:10.6342/NTU202601320

目次

口試委員審定書 i
誌謝 ii
摘要 iii
Abstract iv
目次 v
圖次 ix
表次 xvi
第一章 緒論 1
1.1. 糖尿病(Diabetes Mellitus; DM) 1
1.1.1. 糖尿病成因與分類 2
1.1.2. 胰島素阻抗(Insulin Resistance; IR) 3
1.1.3. 糖尿病之診斷與治療 5
1.2. 血糖機 10
1.2.1. 指尖型血糖機(Blood Glucose Monitoring; BGM) 11
1.2.2. 連續血糖監測儀(Continuous Glucose Monitoring; CGM) 12
1.2.3. 非侵入式血糖機(Non-Invasive Blood Glucose Monitoring) 14
1.3. 粒線體(Mitochondrion) 14
1.3.1. 粒線體之生理作用 16
1.3.2. 粒線體失能(Mitochondrial Dysfunction)與胰島素阻抗 19
1.4. 光 24
1.4.1. 紅外光(Infrared; IR) 25
1.4.2. 發光二極體(Light-Emitting Diodes; LEDs) 26
1.5. 光生物調節(Photobiomodulation; PBM) 28
1.5.1. 光生物調節之機制 30

doi:10.6342/NTU202601320

1.5.2. 近紅外光之生物應用 34
1.6. 糖尿病模型 38
1.6.1. 胰島素阻抗之體外(*In Vitro*)模型 38
1.6.2. 糖尿病二型之活體(*In Vivo*)模型 40
1.7. 專利與論文回顧 43
1.7.1. 專利地圖 45
1.7.2. 論文地圖 49
1.8. 研究動機與目的 55
第二章 實驗步驟與儀器分析原理 57
2.1. 化學藥品 57
2.2. 細胞實驗 60
2.2.1. 細胞培養與分化 60
2.2.2. 細胞之胰島素阻抗誘導 61
2.2.3. 細胞生物相容性測試 62
2.2.4. 粒線體膜電位(Mitochondrial Membrane Potential; MMP)變化測試63
2.2.5. 細胞色素 c 氧化酶(Cytochrome c Oxidase; CCO)活性測試..... 65
2.2.6. 活性氧類(Reactive Oxygen Species; ROS)含量變化測試..... 66
2.2.7. 超氧化物(Superoxide)含量變化測試 67
2.2.8. 細胞三磷酸腺苷(Adenosine 5'-triphosphate; ATP)含量變化測試... 68
2.2.9. 細胞訊號通路分析 69
2.2.9.1. 西方墨點法(Western Blotting) 69
2.2.9.2. 磷脂醯肌醇-3,4,5-三磷酸(Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphos-phate; PIP_3)含量分析 70
2.2.10. 流式細胞儀分析 71
2.2.11. 共軛焦顯微鏡分析 72

doi:10.6342/NTU202601320

2.3. 動物實驗 74
2.3.1. 糖尿病二型小鼠模型建立 75
2.3.2. 葡萄糖耐受性試驗(Glucose Tolerance Test; GTT) 75
2.3.3. 胰島素耐受性試驗(Insulin Tolerance Test; ITT) 76
2.3.4. 血清(serum)分析 77
2.3.4.1. 三酸甘油酯(Triglyceride; TG)含量分析 77
2.3.4.2. 自由脂肪酸(Free Fatty Acid; FFA)含量分析 77
2.3.4.3. 胰島素含量分析 78
2.4. 人體試驗 79
2.4.1. 口服葡萄糖耐受性試驗(Oral Glucose Tolerance Test; OGTT) 79
2.5. 儀器原理 81
2.5.1. 光功率計(Optical Power Meter; OPM) 81
2.5.2. 光生物調節裝置 83
2.5.3. 血糖機 86
2.5.4. 多模式吸收與螢光光譜儀(Hybrid Multi-Mode Microplate Reader) 88
2.5.5. 雷射掃描共軛焦顯微鏡(Confocal Laser Scanning Microscopy; CLSM) 91
2.5.6. 流式細胞儀(Flow Cytometry; FC) 93
第三章 結果與討論 97
3.1. 近紅外光光生物調節參數鑑定 97
3.1.1. 應用於細胞之光生物調節燈板 97
3.1.2. 應用於小鼠之光生物調節燈板 99
3.1.3. 應用於人體之光生物調節燈板 100
3.2. 近紅外光光生物調節之細胞實驗 104
3.2.1 C2C12 肌管細胞之分化 105

doi:10.6342/NTU202601320

3.2.2 C2C12 肌管細胞之胰島素阻抗建立 106
3.2.3 光生物調節之細胞相容性分析 108
3.2.4 光生物調節之葡萄糖攝取變化分析 109
3.2.5 光生物調節之細胞粒線體膜電位變化分析 111
3.2.6 光生物調節之細胞色素 c 氧化酶活性分析 114
3.2.7 光生物調節之細胞三磷酸腺苷含量變化分析 117
3.2.8 光生物調節之細胞一氧化氮含量變化分析 119
3.2.9 光生物調節之細胞活性氧類含量變化分析 121
3.2.10 光生物調節之細胞訊號通路分析 125
3.3. 近紅外光光生物調節之動物實驗 128
3.3.1. 糖尿病二型小鼠模型建立 129
3.3.2. 葡萄糖耐受性試驗 133
3.3.3. 胰島素耐受性測試 136
3.3.4. 血清分析 138
3.4. 近紅外光光生物調節之人體實驗 141
3.4.1. 口服葡萄糖耐受性試驗 143
第四章 結論 148
參考文獻 150

doi:10.6342/NTU202601320

圖次

圖 1-1 糖尿病常見之症狀。 1
圖 1-2 第一型與第二型糖尿病之示意圖。 2
圖 1-3 胰島素於不同胰島素敏感組織之作用 3
圖 1-4 胰島素於正常骨骼肌細胞之作用機制。 5
圖 1-5 骨骼肌之胰島素阻抗機制。 5
圖 1-6 HOMA-IR 分級標準與胰島素阻抗程度之分類示意圖。 8
圖 1-7 二甲雙胍與磺醯脲類藥物之結構圖。 9
圖 1-8 治療糖尿病二型之藥物。 9
圖 1-9 與糖尿病相關之併發症 10
圖 1-10 酵素型與非酵素型之電化學量測法。 12
圖 1-11 指尖血糖量測與 CGM 量測位置比較圖。 13
圖 1-12 連續血糖監測之應用概覽圖。 13
圖 1-13 非侵入式血糖感測方法。 14
圖 1-14 粒線體結構之結構示意圖。 15
圖 1-15 菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸之氧化還原反應式。 16
圖 1-16 黃素腺嘌呤二核苷酸之氧化還原反應式。 16
圖 1-17 呼吸作用之示意圖。 17
圖 1-18 丙酮酸氧化之反應式。 17
圖 1-19 氧化磷酸化之機制流程圖。 18
圖 1-20 細胞色素 c 氧化酶之催化反應與該反應位點。 19
圖 1-21 粒線體失能與胰島素阻抗之關聯機制示意圖。 20
圖 1-22 自由基與非自由基之活性氧類。 21
圖 1-23 粒線體 ROS 產生位點與其抗氧化反應示意圖。 22
圖 1-24 ROS 於 PTEN 氧化還原調控與細胞訊號傳遞之示意圖。 22

doi:10.6342/NTU202601320

圖 1-25 粒線體膜電位之生理功能。 23
圖 1-26 電磁波全圖譜。 24
圖 1-27 近紅外光之劃分示意圖。 26
圖 1-28 順向偏壓下發光二極體之發光機制圖。 27
圖 1-29 不同光源與排列之傳遞方式示意圖 29
圖 1-30 近紅外光一區與二區之生物組織光學窗口。 30
圖 1-31 不同光波長於生物組織之穿透深度。 31
圖 1-32 細胞色素 c 氧化酶之反應示意圖。 32
圖 1-33 細胞色素 c 氧化酶之特徵吸收峰。 32
圖 1-34 CCO 吸收特徵峰與本研究使用之近紅外光波長匹配示意圖。 33
圖 1-35 照射近紅外光產生 ATP、ROS 及 NO 之示意圖。 34
圖 1-36 光生物調節之 NO 光解離示意圖。 35
圖 1-37 ATP/ADP 轉換循環示意圖。 36
圖 1-38 光生物調節主要發揮之作用。 37
圖 1-39 不同天數之 C2C12 肌管細胞分化圖。 39
圖 1-40 不同活體之糖尿病二型疾病建立方法。 42
圖 1-41 藉 NIR photobiomodulation 與 diabetes 關鍵詞之專利與論文年度數量統計趨勢圖。 43
圖 1-42 現今光生物調節應用於糖尿病之血糖調控關鍵挑戰之示意圖。 44
圖 1-43 藉 NIR photobiomodulation 與 Diabetes 關鍵詞之專利技術等高線地形圖。 48
圖 1-44 雙波長之 LED 光生物調節之(A)照射示意圖與(B)葡萄糖耐受性測試結果圖與紅光 OLED 導管光生物調節照射之(C)示意圖與(D)HOMA-IR 之長條圖。 .. 50
圖 1-45 (A)以 635 nm 之紅光短暫提升 ROS 含量、(B)670 nm 紅光照射健康人體之口服葡萄糖耐受性試驗結果及(C)670 nm 紅光照射胰島之存活率測試。 52

doi:10.6342/NTU202601320

圖 1-46 (A)以 810 nm 雷射照射小鼠胰臟正上方之示意圖與(B)藉量測 cytochrome c 之 550 nm 吸收度以揭示經 MRND 照射之 CCO 活性變化。 53
圖 1-47 藉 NIR photobiomodulation 與 Diabetes 關鍵詞之論文發展等高線地形圖。 54
圖 1-48 近紅外光之光生物調節於血糖調控之示意圖。 55
圖 1-49 本研究於細胞、動物及人體層級之光生物調節研究架構示意圖。 56
圖 2-1 C2C12 細胞生長與分化培養液之時間流程圖。 61
圖 2-2 葡萄糖示蹤劑 2-NBDG 之結構示意圖。 61
圖 2-3 胰島素誘導胰島素阻抗之優化實驗流程圖。 62
圖 2-4 阿爾瑪藍試劑之原理示意圖。 62
圖 2-5 細胞存活率之實驗流程圖。 63
圖 2-6 JC-10 試劑之原理示意圖。 64
圖 2-7 粒線體膜電位變化測試流程圖 64
圖 2-8 螢光試劑 H_2DCFDA 之工作原理。 66
圖 2-9 ROS 含量變化測試實驗流程圖。 67
圖 2-10 超氧化物含量變化測試流程圖。 67
圖 2-11 偵測細胞內 ATP 之原理示意圖。 68
圖 2-12 競爭法之原理示意圖。 70
圖 2-13 HRP 催化下 TMB 之顯色反應機制示意圖。 71
圖 2-14 DAF-FM DA 之工作原理示意圖。 72
圖 2-15 共軛焦雷射掃描顯微鏡之樣品製備流程示意圖。 73
圖 2-16 活體實驗流程示意圖。 74
圖 2-17 葡萄糖耐受性試驗之流程示意圖。 76
圖 2-18 胰島素耐受性試驗之流程示意圖 76
圖 2-19 人體試驗流程示意圖。 80

doi:10.6342/NTU202601320

圖 2-20 本研究所用之儀器圖。 81
圖 2-21 光功率計之控制器。 82
圖 2-22 光功率計之偵測器。 82
圖 2-23 應用於體外研究之光生物調節裝置。 84
圖 2-24 應用於動物研究之光生物調節裝置。 84
圖 2-25 應用於人體研究之光生物調節裝置。 85
圖 2-26 應用於人體研究之光生物調節裝置側面圖。 85
圖 2-27 一組 8 顆 LED 燈之出光示意圖。 86
圖 2-28 用於動物研究之羅氏逸智血糖機。 87
圖 2-29 (A)亞培之連續血糖監測儀與(B)其感測器。 87
圖 2-30 多模式吸收與螢光光譜儀之吸收度量測示意圖。 89
圖 2-31 螢光放射之能階示意圖。 89
圖 2-32 多模式吸收與螢光光譜儀螢光量測光學系統示意圖。 90
圖 2-33 多模式吸收與螢光光譜儀。 91
圖 2-34 共軛焦雷射掃描顯微鏡之光學路徑示意圖。 92
圖 2-35 共軛焦雷射掃描顯微鏡。 93
圖 2-36 前向散射光與側向散射光之偵測示意圖。 94
圖 2-37 流式細胞儀中螢光偵測與細胞分選之流程示意圖。 95
圖 2-38 流式細胞儀。 96
圖 3-1 細胞色素 c 氧化酶之吸收峰與燈板之電致發光光譜圖。 98
圖 3-2 (A)固定 LED 燈板並以鋁箔紙遮蔽其他 LED 燈源與(B)實際量測裝置圖。 99
圖 3-3 (A)遮蔽其他應用人體之光生物調節 LED 燈源與(B)實際量測裝置圖。 .. 101
圖 3-4 (A)光生物調節裝置組成示意圖與(B)其平均輻照度。 102
圖 3-5 (A)應用於人體之光生物調節裝置圖與(B)其平均輻照度。 102

doi:10.6342/NTU202601320

圖 3-6 近紅外光之光生物調節照射示意圖。 105
圖 3-7 (A)第 0 天之 C2C12 肌母細胞與(B)分化第 7 天之 C2C12 肌管細胞。 106
圖 3-8 不同濃度胰島素處理後之 2-NBDG 相對攝取量。 107
圖 3-9 (A)pAkt (Thr308)與(B)pAkt (Ser473)之磷酸化蛋白表達與量化結果。..... 108
圖 3-10 (A)正常與(B)具胰島素阻抗之肌肉細胞經不同波長近紅外光光源照射後之細胞存活率。 109
圖 3-11 正常與具胰島素阻抗之肌管細胞經不同處理之 2-NBDG 共軛焦顯微鏡影像圖。 110
圖 3-12 量化 2-NBDG 螢光強度之長條圖。 111
圖 3-13 肌肉細胞經不同近紅外光光生物調節照射後之粒線體膜電位變化。.....112
圖 3-14 正常與具胰島素阻抗之肌管細胞經近紅外光光生物調節之 JC-10 共軛焦顯微鏡影像圖。 113
圖 3-15 歸一化之細胞色素 c 吸光度之變化曲線圖。 114
圖 3-16 (A)–(C)假處理組之三樣本細胞色素 c 吸收度變化曲線圖。 115
圖 3-17 (A)–(C)770 nm 照光組之三樣本細胞色素 c 吸收度變化曲線圖。 115
圖 3-18 (A)–(C)810 nm 照光組之三樣本細胞色素 c 吸收度變化曲線圖。 115
圖 3-19 (A)–(C)940 nm 照光組之三樣本細胞色素 c 吸收度變化曲線圖。 116
圖 3-20 量化細胞色素 c 氧化酶活性之長條圖。 117
圖 3-21 ATP 含量與冷發光之標準曲線圖。 118
圖 3-22 假處理與照光處理後之 ATP 含量。 119
圖 3-23 經不同處理之 C2C12 肌管細胞 NO 含量之共軛焦螢光影像圖。 120
圖 3-24 不同處理條件下 C2C12 肌管細胞 NO 含量之定量分析圖。 120
圖 3-25 具胰島素阻抗之 C2C12 肌管細胞經光生物調節之活性氧類含量變化圖。 122
圖 3-26 藉(A)770 nm、(B)810 nm、(C)940 nm 之近紅外光波長調控胰島素阻抗細胞

doi:10.6342/NTU202601320

ROS 含量之時間分布圖及(D)其量化結果圖。 123
圖 3-27 經不同處理之 C2C12 肌管細胞超氧化物含量之共軛焦顯微鏡影像圖。124
圖 3-28 經不同處理之 C2C12 肌管細胞內超氧化物含量長條圖。 124
圖 3-29 PIP_3 之標準品濃度與其吸光度之趨勢線。 126
圖 3-30 經不同近紅外光光生物調節處理之 PIP_3 含量長條圖。 127
圖 3-31 經光生物調節之 pAkt (Ser 473)蛋白表達與其量化結果長條圖。 128
圖 3-32 770 nm 近紅外光光生物調節干預之(A)正常小鼠之未照光組、(B)正常小鼠之照光組、(C)db/db 小鼠之未照光組及(D)db/db 小鼠之照光組。 129
圖 3-33 八週齡之 db/db 與正常小鼠之(A)體重與(B)未禁食之血糖值。 130
圖 3-34 (A)游離脂肪酸標準品與吸收度之檢量線與(B)正常組與 db/db 小鼠血清 FFA 含量比較。 131
圖 3-35 (A)三酸甘油脂標準品與吸收度之檢量線與(B)正常組與 db/db 小鼠血清 TG 含量比較。 132
圖 3-36 不同組別小鼠胰島素阻抗指數分析圖。 132
圖 3-37 照光前之(A)正常與 db/db 小鼠之 GTT 血糖曲線圖與(B)其曲線下面積長條圖。 134
圖 3-38 照光一週後(A)正常小鼠之 GTT 血糖曲線圖與(B)其曲線下面積長條圖。 135
圖 3-39 照光一週後(A)db/db 小鼠之 GTT 血糖曲線圖與(B)其曲線下面積長條圖。 136
圖 3-40 照光前之(A)正常與 db/db 小鼠之 ITT 血糖曲線圖與(B)其曲線下面積長條圖。 137
圖 3-41 770 nm 近紅外光照射一週後於正常小鼠 ITT 之(A)血糖曲線圖與其(B)AUC 長條圖。 137
圖 3-42 770 nm 近紅外光照射一週後於 db/db 小鼠 ITT 之(A)血糖曲線圖與(B)其

doi:10.6342/NTU202601320

AUC 長條圖。 138
圖 3-43 近紅外光光生物調節干預一週後之 FFA 含量變化圖。 139
圖 3-44 近紅外光光生物調節干預一週後之 TG 含量變化圖。 140
圖 3-45 近紅外光光生物調節干預一週後之 HOMA-IR 指標變化圖。 141
圖 3-46 (A)應用於人體之近紅外光光生物調節裝置與(B)其實際照射示意圖。 .. 143
圖 3-47 (A)–(F)男性受試者照光前後 OGTT 之絕對血糖變化圖。 144
圖 3-48 (A)–(F)女性受試者照光前後 OGTT 之絕對血糖變化圖。 144
圖 3-49 (A)所有受試者 OGTT 之平均絕對血糖變化圖與(B)其曲線下面積。 145
圖 3-50 (A)–(F)男性受試者照光前後 OGTT 之相對血糖變化圖。 146
圖 3-51 (A)–(F)女性受試者照光前後 OGTT 之相對血糖變化圖。 146
圖 3-52 (A)所有受試者 OGTT 之平均相對血糖變化圖與(B)其曲線下面積。 147

doi:10.6342/NTU202601320

表次

表 1-1 糖尿病前期與第二型糖尿病之診斷表。 6
表 1-2 光療之照射參數與時長。 28
表 2-1 本研究使用之試劑。 57
表 3-1 光生物調節燈板之波峰與半寬高峰。 98
表 3-2 770、810 及 940 nm 之細胞 LED 燈板功率與輻照度。 99
表 3-3 770 nm 之動物 LED 光生物調節燈板之照射參數。 100
表 3-4 770 nm 人體近紅外光 LED 光生物調節燈板之功率與輻照度。 101
表 3-5 各點位測量之功率值與其換算之輻照度。 102
表 3-6 770 nm 人體之光生物調節裝置各 LED 陣列功率。 103
表 3-7 770 nm 人體之光生物調節裝置各 LED 陣列輻照度。 103
表 3-8、比較應用於細胞、動物及人體之光生物調節燈板。 104
表 3-9 各組之斜率、蛋白質含量及歸一化之 CCO 酵素活性。 116
表 3-10 男性與女性受試者之平均年齡、身高、體重及 BMI。 142

doi:10.6342/NTU202601320

第一章 緒論

1.1. 糖尿病(Diabetes Mellitus; DM)

糖尿病(diabetes mellitus; DM)以持續性高血糖為表現之代謝性疾病，其病理機制主要與胰島素分泌缺陷或作用受損有關。依據世界糖尿病聯盟(International Diabetes Federation; IDF)預估，全球成人糖尿病患者人數將持續攀升，至 2045 年時，罹患糖尿病之人口預計由 2017 年之 4.25 億人(約佔全球成人總人口之 8.4%)增至 6.93 億人(約佔 9.9%)，揭示糖尿病已成為日益嚴峻之全球公共衛生議題。[1]

糖尿病症狀主要源於血糖濃度持續升高，其常見之症狀涵蓋食慾增加(Increased appetite)、口渴感上升(Increased thirst)、體重減輕(Weight loss)、頻尿(Frequent urination)、視力模糊(Blurred vision)、疲倦(Fatigue)、噁心嘔吐(Nausea vomiting)等，如圖 1-1 所示。[2] 此些症狀不僅影響患者之日常生活與工作能力，亦隨疾病進展而加劇，於身心健康與整體生活品質造成長期且顯著之衝擊。[3]

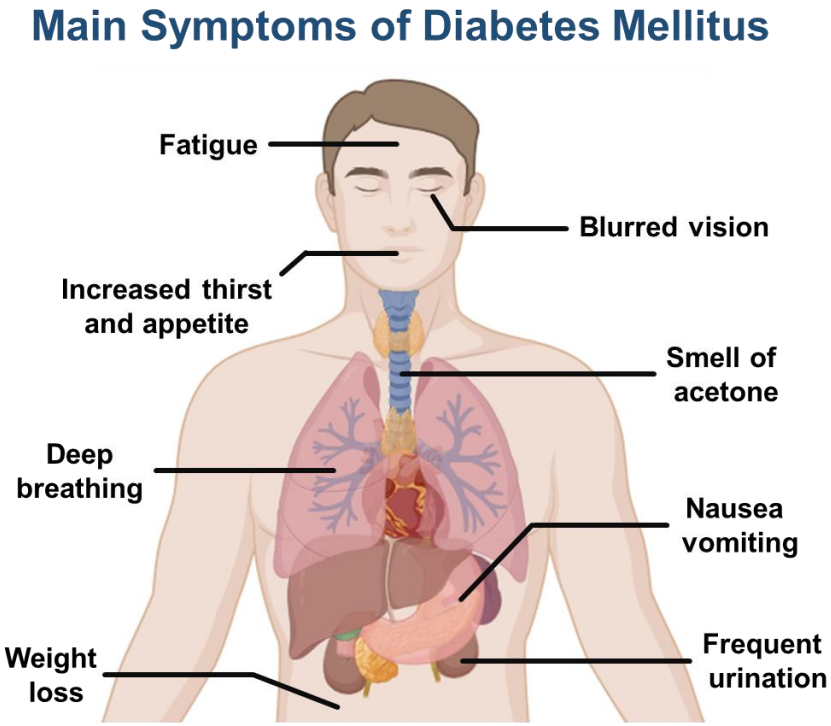


圖 1-1 糖尿病常見之症狀。(本圖於 BioRender.com 製作)

doi:10.6342/NTU202601320

1.1.1. 糖尿病成因與分類

糖尿病依其致病機制可概分為第一型糖尿病(type 1 diabetes mellitus; T1DM)與第二型糖尿病(type 2 diabetes mellitus; T2DM)，其中第二型糖尿病為最常見之類型。於健康人體中，胰島內之胰島 β 細胞分泌胰島素，其與胰島素受體結合後可引發一連串之訊號通路，使血液內之葡萄糖得以經葡萄糖轉運蛋白進入細胞內而維持血糖於正常範圍。第一型糖尿病約佔整體糖尿病病例之 5%至 10%，其主要源於自體免疫反應造成胰島 β 細胞遭受破壞，導致胰島素分泌不足，使胰島素訊號通路無法正常響應，故葡萄糖無法有效進入細胞內部。[4] 相較之下，第二型糖尿病約佔整體確診糖尿病病例之 90%至 95%，其病理特徵一般始於胰島素阻抗(insulin resistance; IR)，導致細胞於胰島素之訊號反應降低[5]，故胰島 β 細胞將代償性地增加胰島素分泌，然而，隨病程進展，胰臟逐漸無法分泌足夠胰島素以克服胰島素作用異常，最終將伴隨胰島 β 細胞功能衰退，如圖 1-2 所示。[6-8] 整體而言，無論為第一型或第二型糖尿病，其特徵皆為胰島素分泌不足、胰島素作用受損，或兩者兼具，進而導致血糖濃度持續升高。

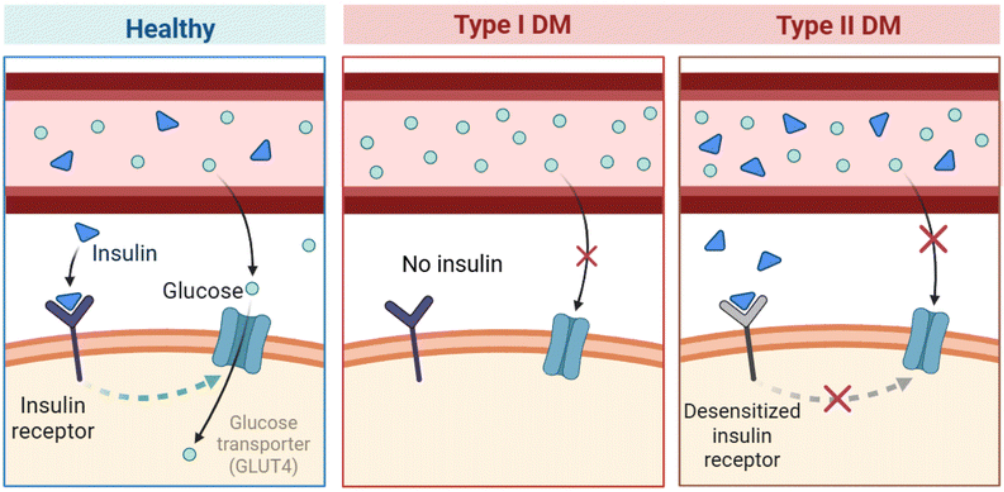


圖 1-2 第一型與第二型糖尿病之示意圖。[7]

doi:10.6342/NTU202601320

1.1.2. 胰島素阻抗(Insulin Resistance; IR)

第二型糖尿病之核心病理機制為胰島素阻抗，其病徵為細胞之胰島素敏感性下降。胰島素作為一種重要之內分泌激素，於骨骼肌、脂肪組織、肝臟、大腦等胰島素敏感組織中，發揮關鍵且多樣之調控作用，如圖 1-3 所示。於正常生理狀態下，胰島素可於骨骼肌中促進葡萄糖攝取並增加肝醣合成；於脂肪組織中則促進脂肪生成，同時抑制脂肪分解；於肝臟中，胰島素促進肝醣合成與抑制肝臟葡萄糖釋放；此外，於中樞神經系統中，胰島素參與調控食慾與能量平衡，並間接影響肝臟葡萄糖生成。當身體產生胰島素阻抗時，上述調控機制將受破壞。胰島素阻抗使肌肉細胞於胰島素刺激之反應能力下降，導致葡萄糖攝取減少；於脂肪組織中，胰島素阻抗將促進儲存之三酸甘油酯水解，進而增加游離脂肪酸之釋放；於肝臟中，胰島素阻抗將削弱胰島素促進肝醣合成之作用，導致肝臟葡萄糖輸出增加，進而促成血糖濃度升高；此外，於大腦中，胰島素訊號失衡亦影響食慾調控與能量平衡，進一步加劇全身性代謝異常。[5,9]

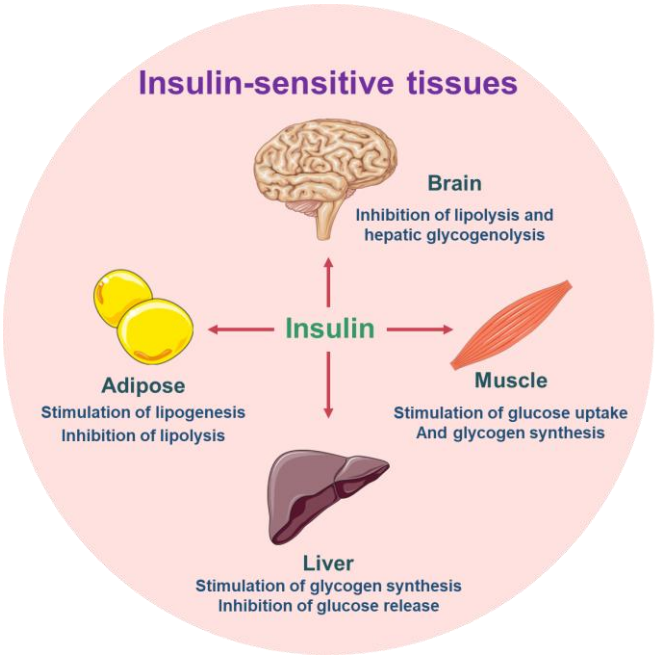


圖 1-3 胰島素於不同胰島素敏感組織之作用。(本圖於 BioRender.com 製作)

doi:10.6342/NTU202601320

各類胰島素敏感組織中，骨骼肌為人體質量最大之組織，亦於葡萄糖恆定調控中扮演核心角色，負責餐後循環中約 80%之葡萄糖攝取，故其於清除血液內之葡萄糖具重要地位。[10] 當胰島素與骨骼肌細胞表面之胰島素受體結合，促進胰島素受體受質-1(insulin receptor substrate-1; IRS-1)之酪胺酸(tyrosine)位點磷酸化，進而活化磷酸肌 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase; PI3K)，PI3K 可將磷脂酸肌醇 4,5-雙磷酸(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate; PIP_2)分子磷酸化而形成磷脂酸肌醇 3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate; PIP_3)，PIP_3 含量之提升進一步促進蛋白激酶 B(protein kinase B; PKB; 亦稱為 Akt)於絲氨酸位點(Ser473)磷酸化並被活化。最終，磷酸化之 Akt 促進葡萄糖轉運蛋白 4 型(glucose transporter type 4; GLUT4)轉位至細胞膜上，提升血液內之葡萄糖進入細胞內，上述訊號傳導途徑稱為 IRS-1/PI3K/Akt 訊號通路[11]，如圖 1-4 所示。目前普遍認為，骨骼肌胰島素阻抗之形成主要與脂質過度累積所誘導之代謝失衡有關，此類脂質將進一步干擾細胞內 PI3K/Akt 訊號通路，其中以二醯甘油(diacylglycerol; DAG)與神經醯胺(ceramide)最為關鍵。此外，粒線體失能將導致 β-氧化受阻亦加劇上述兩類脂質生成。[12] 於骨骼肌中，二醯甘油可活化新型蛋白激酶 C(novel protein kinase C; nPKC)家族成員，其中以 PKC-θ 為主要參與骨骼肌胰島素阻抗形成之關鍵激酶。二醯甘油誘導之 PKC-θ 活化可促進 IRS-1 於絲胺酸(Serine)位點之磷酸化，並抑制胰島素刺激下 IRS-1 之酪胺酸位點磷酸化，進而削弱下游 PI3K 與 Akt 活化。因 Akt 蛋白為調控 GLUT4 轉位至細胞膜與肝醣合成之重要訊號節點，其活性降低導致骨骼肌於葡萄糖之攝取能力下降，最終餐後血糖無法有效降低，使血糖維持於高位，形成胰島素阻抗，如圖 1-5 所示，脂肪酸過量攝取所誘導之脂質代謝失衡，為骨骼肌脂質誘導胰島素阻抗之重要上游機制。[13-15] 綜上所述，骨骼肌胰島素阻抗為第二型糖尿病發展過程中之關鍵病理環節，其形成涉及脂質代謝失衡、胰島素訊號傳導受損、粒線體功能異常等多重因素。因骨骼肌於餐後葡萄糖清除中至關重要，改善其胰島素敏感性被視為血糖調控之重要介入方向。

doi:10.6342/NTU202601320

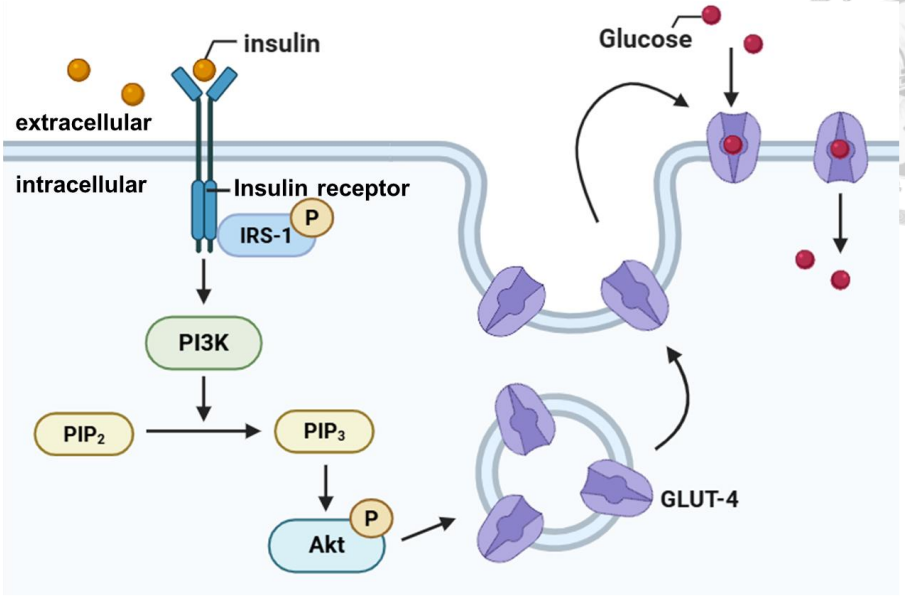


圖 1-4 胰島素於正常骨骼肌細胞之作用機制。(本圖於 BioRender.com 製作)

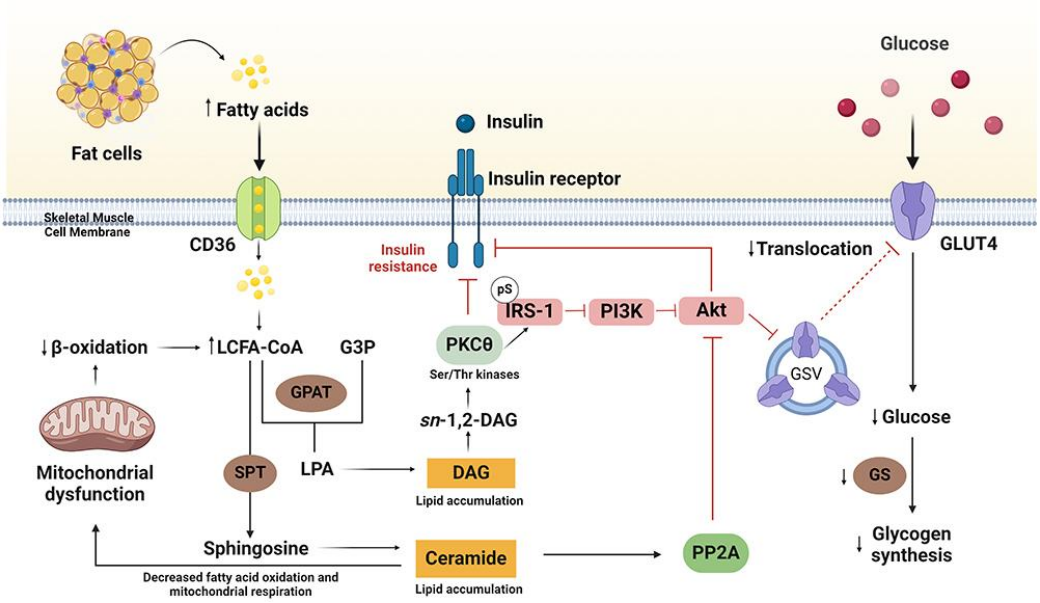


圖 1-5 骨骼肌之胰島素阻抗機制。[13]

1.1.3. 糖尿病之診斷與治療

第一型糖尿病多以急性且顯著之症狀表現，涵蓋多尿、口渴、體重減輕等，診斷一般不須設定血糖臨界值，相對而言，第二型糖尿病起病隱匿且早期症狀不明顯，臨床上須依賴明確之血糖診斷標準以進行疾病辨識與風險評估。目前第二型糖尿

doi:10.6342/NTU202601320

病診斷主要依據三項血糖相關指標，涵蓋空腹血糖值、口服葡萄糖耐受性試驗(oral glucose tolerance test; OGTT)後之血糖值及糖化血色素(hemoglobin A_{1c}; HbA_{1c})。空腹血糖檢測須至少禁食 8 小時以上，當測得血糖值介於 100–125 mg/dL 時，判定為糖尿病前期；若空腹血糖值達 126 mg/dL 以上，則可診斷為糖尿病。OGTT 為評估身體代謝葡萄糖能力之壓力測試，測試者須於空腹過夜至少 8 小時後口服 75 g 葡萄糖溶液，並於 2 小時後量測血糖值，當血糖值介於 140–199 mg/dL 時屬糖尿病前期，而血糖值達 200 mg/dL 以上則可診斷為糖尿病。近年，HbA_{1c} 亦被納入糖尿病診斷標準，其為血紅蛋白與葡萄糖結合後形成之產物，可反映過去約 2 至 3 個月之平均血糖狀態。相較於空腹血糖與 OGTT，HbA_{1c} 檢測無須空腹或定時採樣，具較佳之臨床益處，當 HbA_{1c} 值介於 5.7–6.4%時，可判定為糖尿病前期，而數值達 6.5%以上則可診斷為糖尿病。相關診斷標準彙整如表 1-1 所示。[16-19]

表 1-1 糖尿病前期與第二型糖尿病之診斷表。[16]

	空腹血糖值	口服葡萄糖耐受性試驗	糖化血色素
糖尿病前期	100–125 mg/dL	140–199 mg/dL	5.7–6.4%
糖尿病	≥ 126 mg/dL	≥ 200 mg/dL	≥ 6.5%

高胰島素正常血糖鉗夾試驗(hyperinsulinemic euglycemic clamp; HEC)為評估胰島素抗性之黃金標準，然此方法操作流程複雜、耗時且成本較高，臨床與大規模人群研究中之可行性受限，故多應用於小規模研究。相較之下，穩態模型評估胰島素阻抗(homeostasis model assessment of insulin resistance; HOMA-IR)僅須量測空腹血糖與空腹胰島素濃度即可推估胰島素阻抗程度，具操作簡易、侵入性低及成本較低之優點，特別適用於臨床實務與大規模流行病學研究。除此之外，HOMA-IR 已被證實與鉗夾試驗結果具良好相關性，故被廣泛作為胰島素阻抗之替代指標。HOMA-IR 最初於 1985 年被揭示，其理論基礎為模擬空腹狀態下葡萄糖與胰島素

doi:10.6342/NTU202601320

之間之動態平衡關係，藉以推估穩定條件下之胰島素阻抗程度與胰臟β細胞功能。於正常生理狀態下，胰臟將依身體需求分泌適量之胰島素以維持血糖濃度穩定，然而，當細胞之胰島素敏感性降低時，雖胰島素分泌量正常，仍無法有效促進葡萄糖攝取與抑制肝臟葡萄糖生成，導致血液內葡萄糖維持高濃度，然為維持血糖恆定，胰臟 β 細胞須分泌更多胰島素進行代償，最終導致血液內之胰島素呈現高濃度，故量測空腹血糖與空腹胰島素濃度並計算 HOMA-IR 可評估胰島素於血糖調控之效率，進而反映胰島素阻抗程度與胰臟 β 細胞之調節能力，作為偵測胰島素阻抗與評估胰島素功能之重要指標。HOMA-IR 之簡化計算公式為空腹胰島素(μU/mL)乘以空腹血糖(mmol/L)再除以 22.5，其中分母為根據正常空腹胰島素值(5 μU/mL)與正常空腹血糖值(4.5 mmol/L)進行推算而得，如式 1-1 所示。然若血糖之單位更改，則正常空腹血糖值為 81 mg/dL，故 HOMA-IR 之計算公式將轉變為空腹胰島素(μU/mL)乘以空腹血糖(mg/dL)再除以 405，如式 1-2 所示。[20]

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{fasting glucose}\left(\frac{\text{mmol}}{\text{L}}\right) \times \text{fasting insulin}\left(\frac{\mu\text{U}}{\text{L}}\right)}{22.5} \qquad \text{(式 1-1)}$$

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{fasting glucose}\left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}}\right) \times \text{fasting insulin}\left(\frac{\mu\text{U}}{\text{L}}\right)}{405} \qquad \text{(式 1-2)}$$

目前尚無全球一致認可之 HOMA-IR 臨界值，不同研究依族群特性與研究目的而有所差異。美國臨床與研究中一般以 2.0–3.0 作為胰島素阻抗之判定範圍，美國國家健康與營養調查(National Health and Nutrition Examination Survey; NHANES)則採用 HOMA-IR ≥ 2.5 作為判定標準[21]，相較之下，針對台灣成年族群之研究以 HOMA-IR ≥ 2.0 定義為嚴重胰島素阻抗，數值介於 1.5–2.0 為輕度胰島素阻抗，HOMA-IR ≤ 1.4 為胰島素敏感組，上述分類方式如圖 1-6 所示。

doi:10.6342/NTU202601320

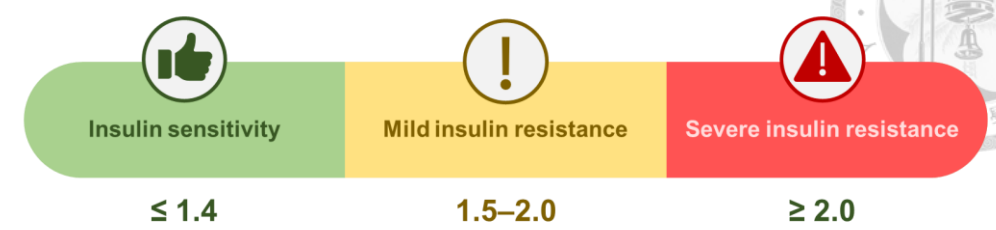


圖 1-6 HOMA-IR 分級標準與胰島素阻抗程度之分類示意圖。

隨第二型糖尿病盛行率持續攀升，相關研究積極投入高血糖藥物治療策略之開發與優化，現行治療指引普遍認為及早且持續之血糖控制為延緩糖尿病進展與降低併發症風險之關鍵，其治療目標為於確診後長期將血糖濃度維持於接近正常範圍。[22] 臨床上，第二型糖尿病之血糖控制主要藉注射胰島素或仰賴藥物治療介入，藉不同作用機制改善高血糖狀態，並依病程進展與個別病患進行調整。於藥物治療方面，促進胰島素分泌之藥物機制為藉刺激胰島 β 細胞釋放胰島素以降低血糖濃度，代表性藥物為磺醯脲類(sulfonylureas)[23]，相較之下，改善胰島素敏感性之藥物以二甲雙胍(metformin)為臨床一線用藥，其主要作用機制為抑制肝臟葡萄糖生成並提升周邊組織於胰島素之反應能力，進而改善胰島素阻抗與血糖控制之效果，因其相對安全性與額外代謝效益，metformin 亦被廣泛應用於早期第二型糖尿病治療[24]，上述兩藥物之結構如圖 1-7 所示。此外，腸泌素相關藥物藉調控腸泌素訊號路徑，增強葡萄糖依賴性之胰島素分泌，同時抑制升糖素之釋放，以改善餐後與空腹血糖調控。此類藥物涵蓋 GLP-1 受體促效劑(glucagon-like peptide-1 receptor agonists)、DPP-4 抑制劑(dipeptidyl peptidase-4 inhibitor)等策略，如圖 1-8 所示[25]，除藥物治療外，部分病患亦可考慮侵入性治療方式，如胃繞道手術，其已被證實相較於單純口服藥物治療，具較佳改善血糖調控之效果，並有助於胰島 β 細胞功能之恢復。[26]

doi:10.6342/NTU202601320

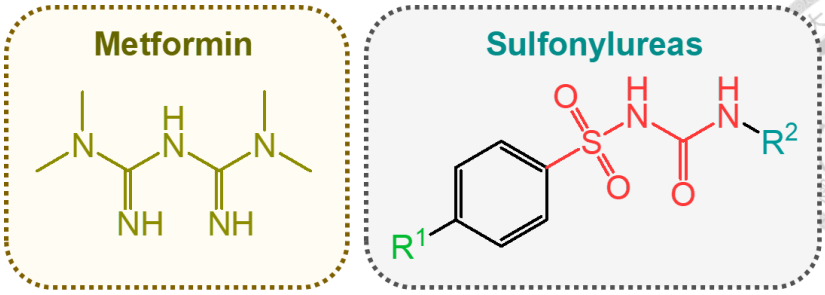


圖 1-7 二甲雙胍與磺醯脲類藥物之結構圖。

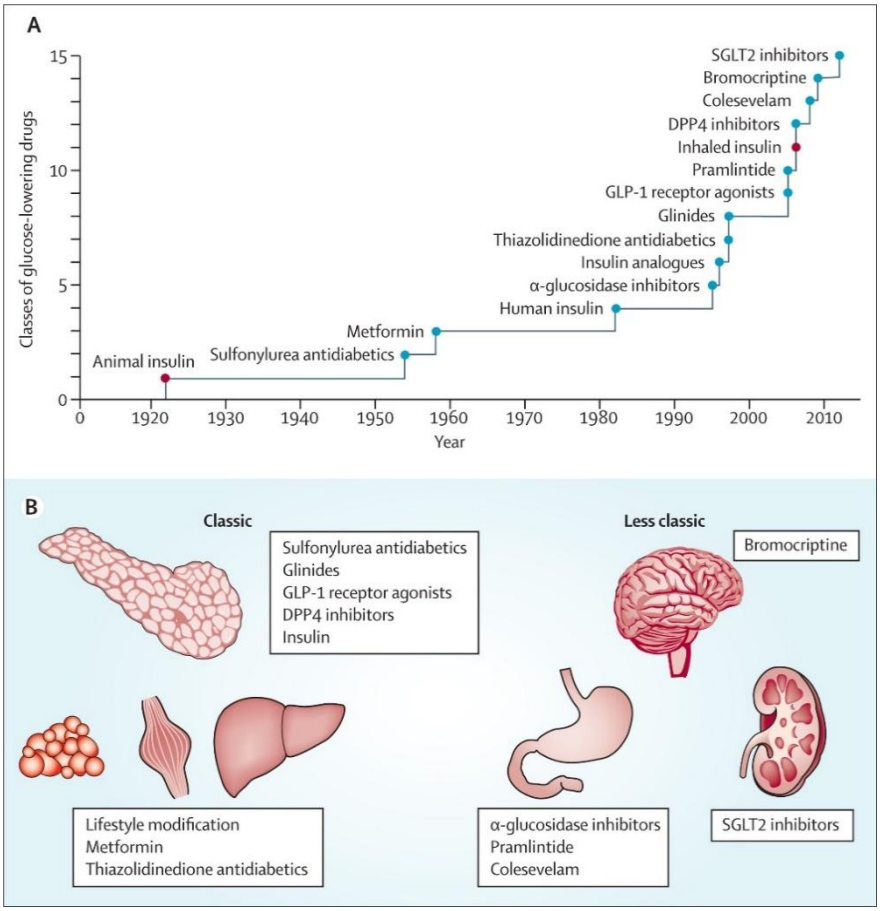


圖 1-8 治療糖尿病二型之藥物。[25]

雖現行臨床治療已涵蓋多種藥物與介入策略，然第二型糖尿病之血糖控制於實務仍面臨諸多挑戰[25]，例如，口服降血糖藥物與注射胰島素具副作用、低血糖風險及藥物依賴性，侵入性療法易造成患者之心理壓力與不適，故雖多種降血糖藥物可供選擇，仍具相當比例之患者無法長期維持正常之血糖濃度而導致多種相關併發症發生，其可分為微血管與大血管併發症，前者涵蓋糖尿病視網膜病變、腎病變、

doi:10.6342/NTU202601320

神經病變等，而後者則涵蓋心血管疾病、中風等[27]，如圖 1-9 所示。此些併發症不僅顯著影響患者日常生活，亦為糖尿病相關死亡與醫療負擔增加之重要原因，揭示現今治療策略於實際應用仍因副作用、治療負擔及心理壓力而限制其執行成效，故發展非口服且非侵入性之光生物調節療法，以提升治療之安全性與臨床可行性，以期為糖尿病之血糖控制提供不同於傳統治療之調控途徑。

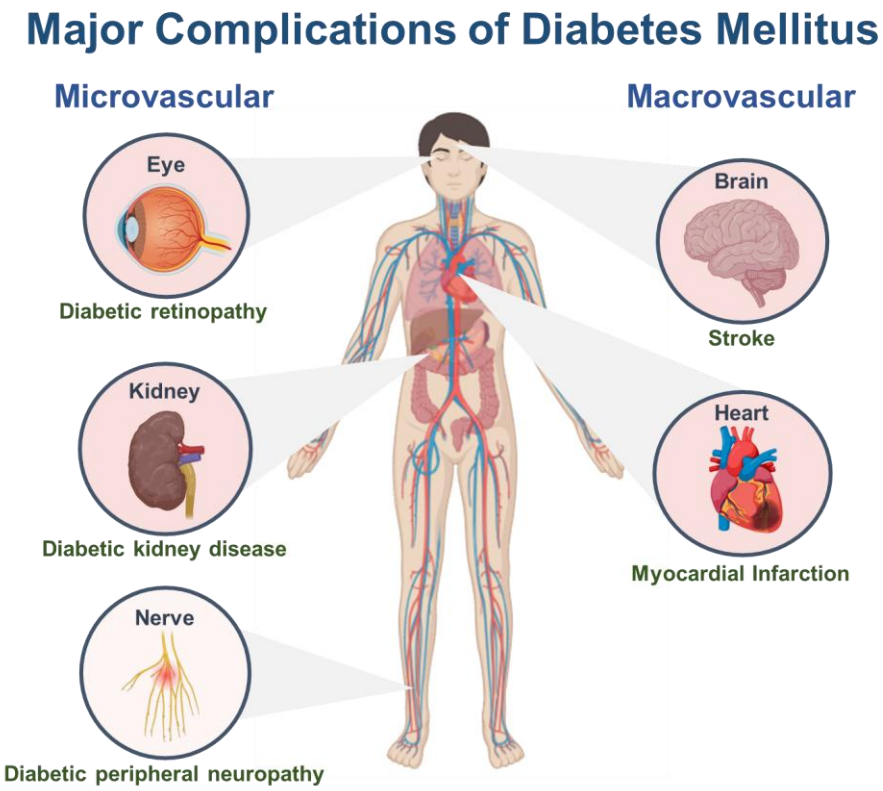


圖 1-9 與糖尿病相關之併發症。(本圖於 BioRender.com 製作)

1.2. 血糖機

血糖監測為糖尿病管理中不可或缺之關鍵環節，其可作為評估治療效果、調整治療策略及預防低血糖風險之重要依據。19 世紀中期，人們開始檢測尿液中之葡萄糖，為現代糖尿病治療奠定初步基礎。1945 年，基於本氏液改良之 Clinitest 試劑問世，尿液中葡萄糖之氧化還原反應引發顏色變化，並藉比色卡比對以提供半定量之尿糖分析。然而，尿糖檢測結果僅可反映一段時間前之血糖狀態，與即時血糖

doi:10.6342/NTU202601320

濃度之相關性並不穩定，於糖尿病長期監測上仍具顯著之侷限性。基於可直接反映循環系統中葡萄糖濃度，指尖毛細血管採血之血液逐漸成為監測樣本來源。隨臨床於即時與床邊血糖量測需求之提升，相關分析技術亦持續演進。1956 年，葡萄糖氧化酶(glucose oxidase)之串聯反應被引入葡萄糖定量分析，並逐步應用於臨床化學實驗室中血漿葡萄糖之手動與自動化量測。隨後，為提升血糖量測於臨床現場與日常照護中之可行性，1965 年發展以葡萄糖氧化酶與過氧化酶耦合反應為基礎之血糖試紙，並藉半透膜設計排除紅血球干擾，使葡萄糖得以進入試劑層進行反應。然而，早期血糖試紙多仰賴目視比色判讀，易受環境光源與個人視覺差異影響，因而限制其量測精確度與再現性，進而促使自動化電子讀取系統引入。至 1980 年代末期，酵素電極試紙與電化學量測技術逐漸取代傳統光學比色法，使血糖監測由半定量邁向即時且定量化之分析模式。此後，血糖監測系統除持續提升量測準確度外，亦逐步整合資料管理與操作便利性，例如結果圖形化呈現、長期平均值計算、數位資料儲存等功能。隨血糖機技術日趨成熟，2003 年國際制定 ISO 15197 性能標準，以規範血糖監測系統之量測誤差與臨床適用性。[28] 於此基礎上，近年技術發展重心已由單次侵入式量測轉向連續化與低侵入性監測。

1.2.1. 指尖型血糖機(Blood Glucose Monitoring; BGM)

於現今血糖監測技術逐步成熟之過程中，指尖型血糖機已成為臨床照護與居家血糖管理中最為廣泛之量測工具，其多以電化學感測原理為基礎，藉一次性試紙上固定之生物感測元件，將血液樣本中之葡萄糖濃度轉換為可量測之電流訊號，並藉訊號強度推算即時血糖數值。此類血糖感測系統可依其電子由葡萄糖傳遞至電極之途徑與方式劃分為四個主要世代。前三世代皆屬於酵素式血糖機，其差異主要於酵素再生與電子傳遞機制不同，而第四代則為非酵素式血糖機，其捨棄生物酵素，改以具高電催化活性之材料直接催化葡萄糖氧化反應，如圖 1-10 所示。[29]

doi:10.6342/NTU202601320

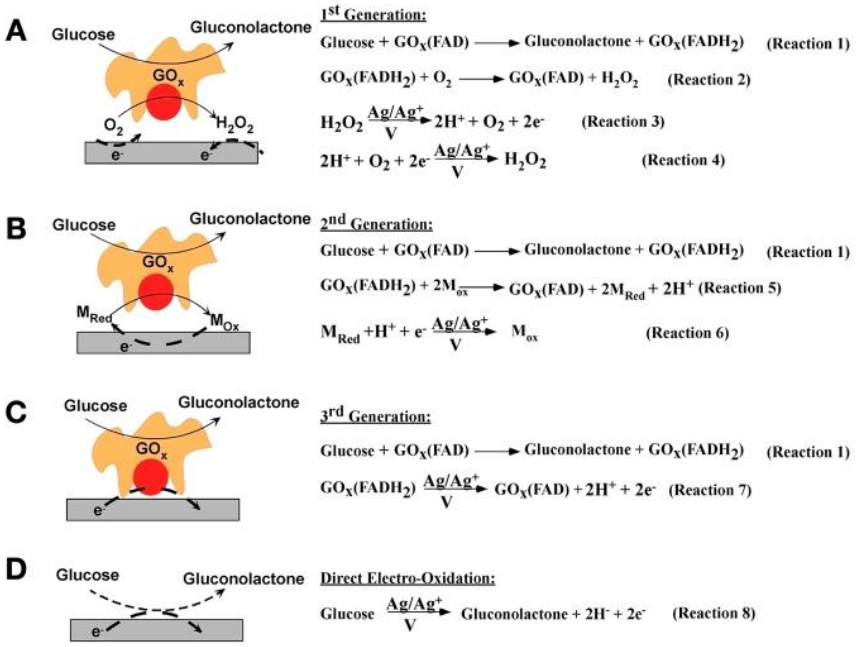


圖 1-10 酵素型與非酵素型之電化學量測法。[29]

雖指尖型血糖機之量測具高準確度，然其點狀分布之數據特性，難以捕捉血糖波動全貌，於長期與密集監測上亦具使用負擔，故突顯推動連續監測技術與非侵入性發展之趨勢。

1.2.2. 連續血糖監測儀(Continuous Glucose Monitoring; CGM)

連續血糖監測(continuous glucose monitoring; CGM)藉連續量測皮下組織液(interstitial fluid)中之葡萄糖濃度，間接推估血液中血糖變化，提供血糖趨勢與波動資訊，使血糖狀態得以更完整呈現，其與傳統指尖血糖機之差異如圖 1-11 所示。然而，因 CGM 為量測組織液而非直接反映血液葡萄糖，其量測結果受生理延遲、個體差異、校正機制等因素影響，臨床上，以平均絕對相對差異(mean absolute relative difference; MARD)作為該系統準確性之指標。其一般比較其他參考裝置(如臨床實驗室血糖分析或指尖血糖機)所得結果進行評估，藉計算各時間點之連續血糖監測值與相應參考血糖值之差異，將該差異轉化為相對百分比誤差並取其絕對值後進行平均，即可得 MARD 值，裝置之百分比越低揭示其準確度越高。[30]

doi:10.6342/NTU202601320

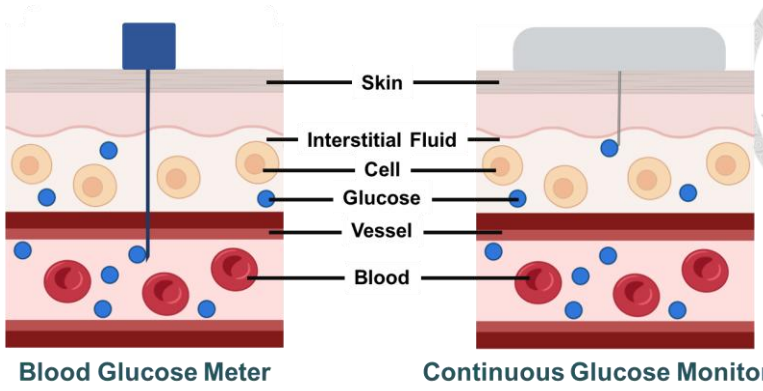


圖 1-11 指尖血糖量測與 CGM 量測位置比較圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

作為微創式血糖機，CGM 應用已延伸至多種領域，涵蓋血糖異常之早期偵測、臨床研究、個人化治療、自動化胰島素輸注系統(automated insulin delivery; AID)整合應用等，如圖 1-12 所示，揭示其於糖尿病管理中扮演重要角色。[31]

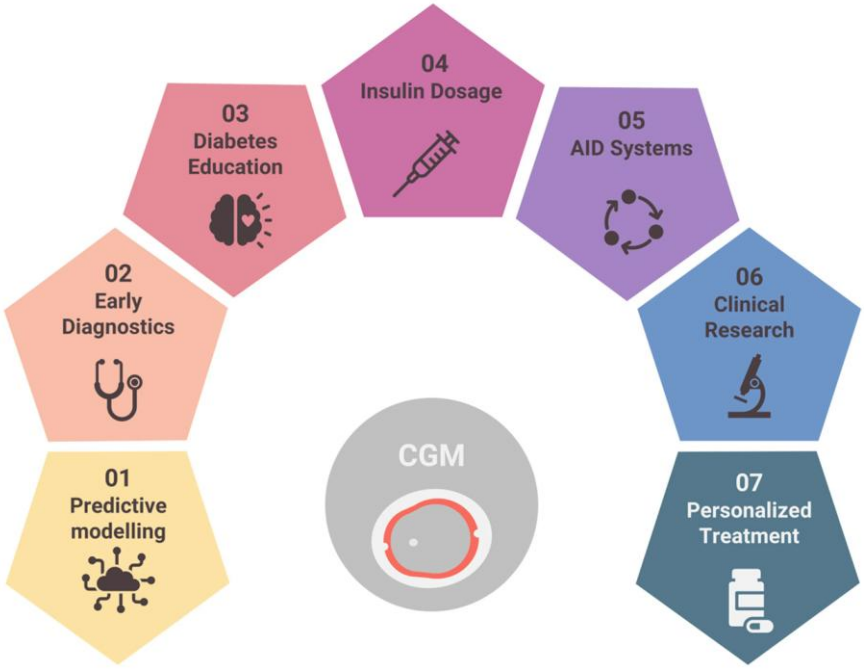


圖 1-12 連續血糖監測之應用概覽圖。[31]

doi:10.6342/NTU202601320

1.2.3. 非侵入式血糖機(Non-Invasive Blood Glucose Monitoring)

雖 CGM 已大幅提升血糖監測頻率，然其感測器仍須植入皮下組織，於部分患者而言仍具感染風險、皮膚過敏或心理排斥感。為進一步實現無痛且零負擔之生理監測，非侵入式血糖監測成為近年研究熱點。該技術旨於無須穿透皮膚之前提，藉光學、熱學、電磁學及電化學感測手段，偵測汗液、淚液、唾液、間質液或組織中之葡萄糖含量，進而換算為血液循環中之葡萄糖濃度，如圖 1-13 所示。[32]

然而，非侵入式技術目前仍面臨顯著挑戰，涵蓋信號雜訊比(signal-to-noise ratio; SNR)過低、易受體溫與濕度干擾、精確度不足等問題，基於上述瓶頸，截至目前為止，市場上尚未出現經驗證並可廣泛應用於臨床診斷之非侵入式血糖監測產品。[33]

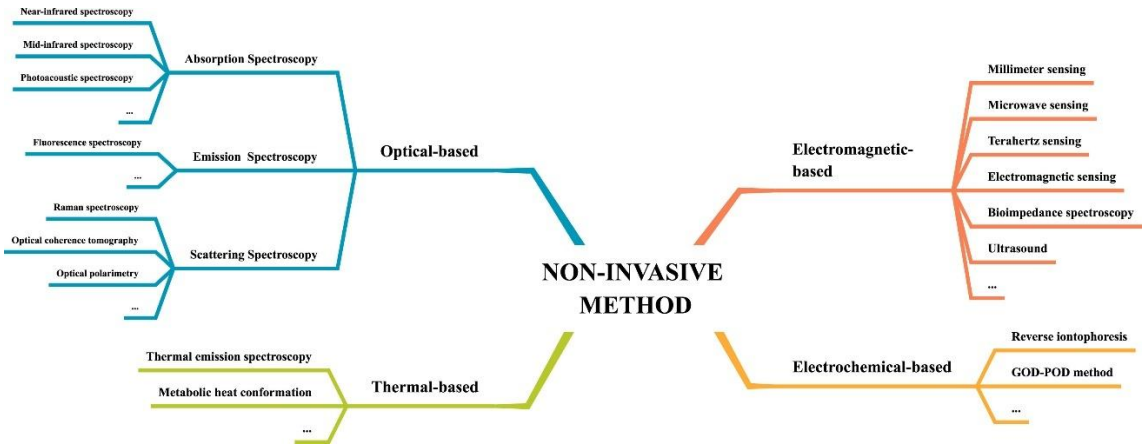


圖 1-13 非侵入式血糖感測方法。[32]

1.3. 粒線體(Mitochondrion)

粒線體為真核細胞中具雙層膜結構之重要亞細胞器，主要負責細胞能量代謝，其藉呼吸作用產生三磷酸腺苷(adenosine triphosphate; ATP)，以維持細胞各項生理活動之能量需求，故亦被稱為「能量工廠」。粒線體主要由外膜、內膜、膜間腔及基質所構成[34]，如圖 1-14 所示，不同結構區域各自承擔特定生理功能，並共同協

doi:10.6342/NTU202601320

調能量轉換與代謝反應。粒線體外膜(outer mitochondrial membrane; OMM)為一層富含脂質且表面平滑之雙層膜結構，電壓依賴性陰離子選擇性通道(voltage-dependent anion channel; VDAC)為 OMM 中最豐富之蛋白質，可運輸分子量高達 10 kDa 之分子，涵蓋離子、營養物質、代謝物及蛋白質[35]；膜間隙(intermembrane space; IMS)為粒線體中空間最小之區域，寬約為 6 至 8 nm，其於生理機能中具重要意義，藉參與蛋白質與脂質之生物合成、金屬離子穩態、氧化還原調節、氧化折疊及細胞凋亡訊號之啟動，同時於維持粒線體動力學與結構穩定中亦發揮關鍵作用[36]；粒線體內膜(inner mitochondrial membrane; IMM)為通透性極低之生物膜，呈高度摺疊形成嵴(cristae)之結構，因其為細胞進行氧化磷酸化與能量生成之主要場所，故內膜被視為粒線體之功能核心；粒線體基質(matrix)則涵蓋生物合成反應所須之酵素、粒線體 DNA(mitochondrial DNA; mtDNA)及核醣體(ribosome)，且為檸檬酸循環(citric acid cycle)之進行場所，該循環將菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide; NAD)與黃素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide; FAD)轉換為還原態輔酶 NADH 與 $FADH_2$，如圖 1-15 與 1-16 所示，兩輔酶可參與電子傳遞鏈並驅動 ATP 合成[37]，故其於粒線體功能維持具重要影響。

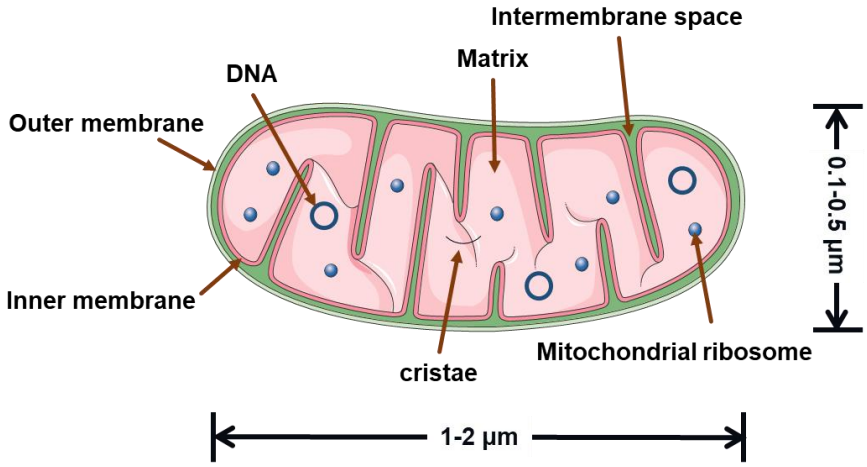


圖 1-14 粒線體結構之結構示意圖。(本圖之粒線體由 smart.service.com 提供)

doi:10.6342/NTU202601320

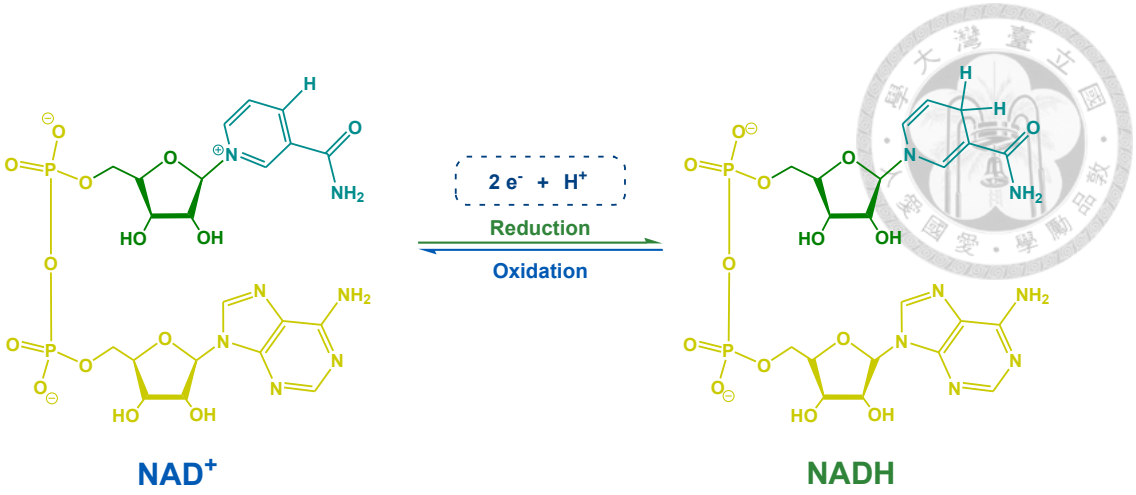


圖 1-15 菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸之氧化還原反應式。

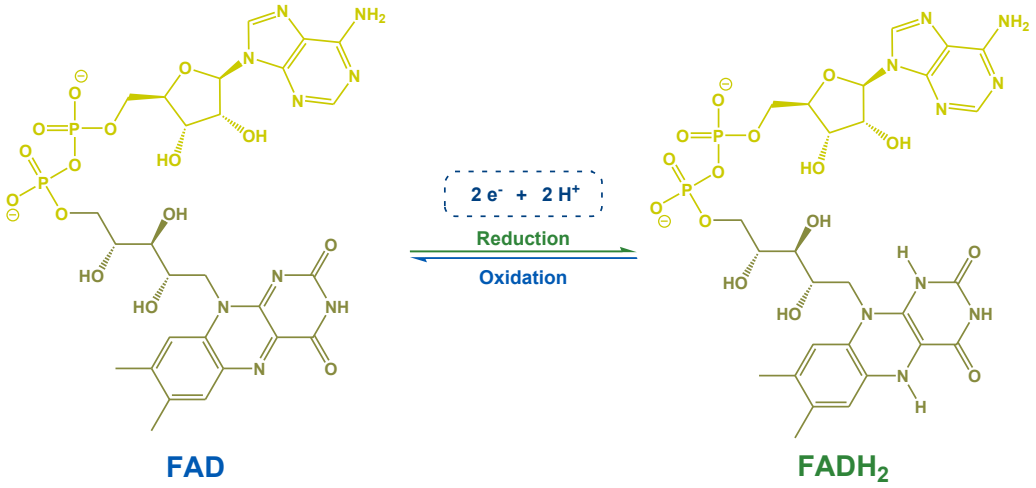


圖 1-16 黃素腺嘌呤二核苷酸之氧化還原反應式。

1.3.1. 粒線體之生理作用

於哺乳動物體內，體細胞所含粒線體數量與其代謝需求密切相關，代謝活動較為旺盛之細胞，如骨骼肌、心肌、肝臟及大腦，一般具較高之粒線體含量以確保經呼吸作用(cellular respiration)所產生之 ATP 足以支應其能量耗損[38]。呼吸作用涵蓋糖解作用(glycolysis)、檸檬酸循環(citric acid cycle)及氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)[39]，如圖 1-17 所示。葡萄糖進入細胞內經糖解作用生成丙酮酸(pyruvic acid)、少量 ATP 及還原型輔酶 NADH。丙酮酸經載體蛋白進入粒線體內

doi:10.6342/NTU202601320

並於丙酮酸去氫酶複合體(pyruvate dehydrogenase complex)催化下進行氧化脫羧反應(Oxidative decarboxylation)形成乙醯輔酶 A(acetyl coenzyme A; acetyl-CoA)[40]，如圖 1-18 所示，隨後，乙醯輔酶 A 進入檸檬酸循環反應並釋放少量 ATP、二氧化碳(carbon dioxide; CO_2)及電子載體(electron carriers)NADH，此電子載體將參與氧化磷酸化反應，作為合成大量 ATP 之關鍵電子來源。[41]

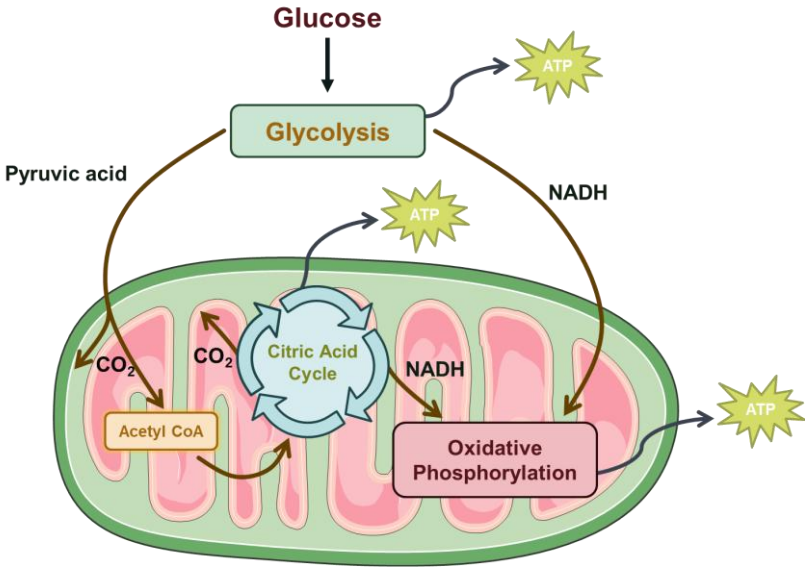


圖 1-17 呼吸作用之示意圖。(本圖之粒線體由 smart.service.com 提供)

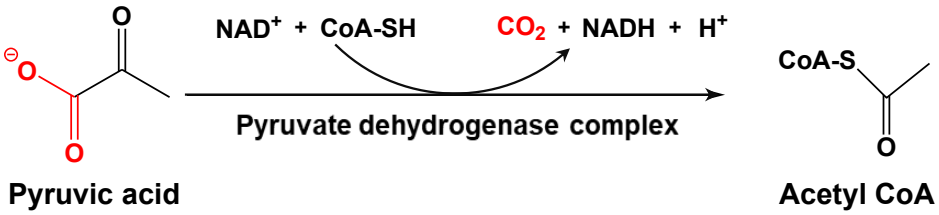


圖 1-18 丙酮酸氧化之反應式。

氧化磷酸化為粒線體能量代謝之核心機制，主要發生於粒線體內膜，供應 90%以上之細胞能量，此過程經電子於電子傳遞鏈中逐步傳遞，建立跨粒線體內膜之質子電化學梯度，並由 ATP 合成酶(ATP synthase)藉此梯度驅動二磷酸腺苷(adenosine diphosphate; ADP)磷酸化生成 ATP，如圖 1-19 所示。

doi:10.6342/NTU202601320

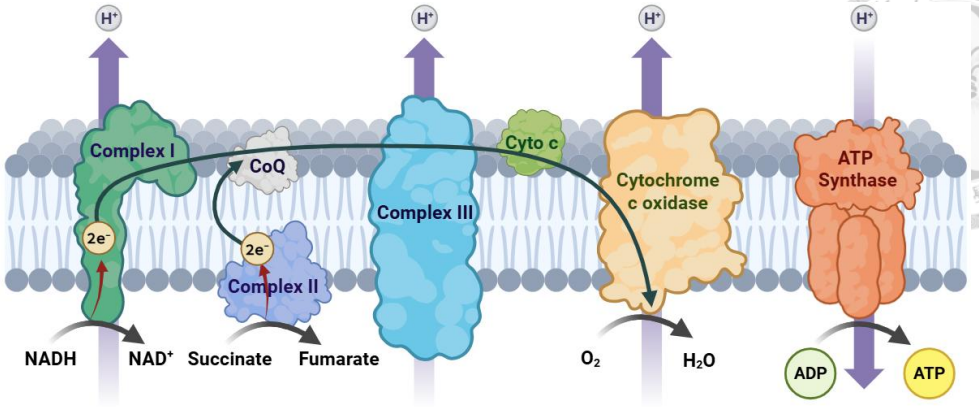


圖 1-19 氧化磷酸化之機制流程圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

電子傳遞鏈主要由呼吸鏈複合體 I–IV(respiratory complex I–IV)、輔酶 Q(Coenzyme Q; CoQ)及細胞色素 c(cytochrome c; Cyt c)組成。[42] 複合體 I，又稱 NADH 輔酶 Q 還原酶(NADH ubiquinone oxidoreductase)，其將催化 NADH 向電子載體 CoQ 轉移兩個電子，同時伴隨四個質子跨越粒線體內膜而產生質子動力勢(proton-motive force)[43]；複合體 II，又稱琥珀酸去氫酶(succinate dehydrogenase)，其為檸檬酸循環之一部分，將琥珀酸(succinate)氧化為延胡索酸(fumarate)，同時將輔酶 FAD 還原為 $FADH_2$，隨後電子再由 $FADH_2$ 傳遞至 CoQ 生成 $CoQH_2$[44]；複合體 III，又稱泛醌細胞色素 c 還原酶(ubiquinol cytochrome c reductase)，其可將 $CoQH_2$ 攜帶之電子傳遞至細胞色素 c(cytochrome c)，並將四個質子轉移至膜間隙中[45]；複合體 IV 為電子傳遞鏈之末端酵素，又稱細胞色素 c 氧化酶(cytochrome c oxidase; CCO)，其結構中具含鐵血基質 a_3(Heme a_3)與銅離子共同構成之雙核中心將接收細胞色素 c 所提供之電子，並於該雙核中心位點之分子氧還原生成水，於此過程中，每消耗四個電子可將四個質子由基質泵至膜間隙，其反應式如式 1-3 所示，而其結構與反應位點如圖 1-20 所示。[46-48] 電子傳遞鏈所建立之質子電動勢，將能量以電化學梯度之形式儲存於粒線體內膜，並為後續細胞能量轉換提供關鍵之位能基礎。

$$O_2 + 4\,H^+ + 4\,e^- + 4\,H_{in}{}^+ \rightarrow 2\,H_2O + 4\,H_{out}{}^+ \qquad \text{(式 1-3)}$$

doi:10.6342/NTU202601320

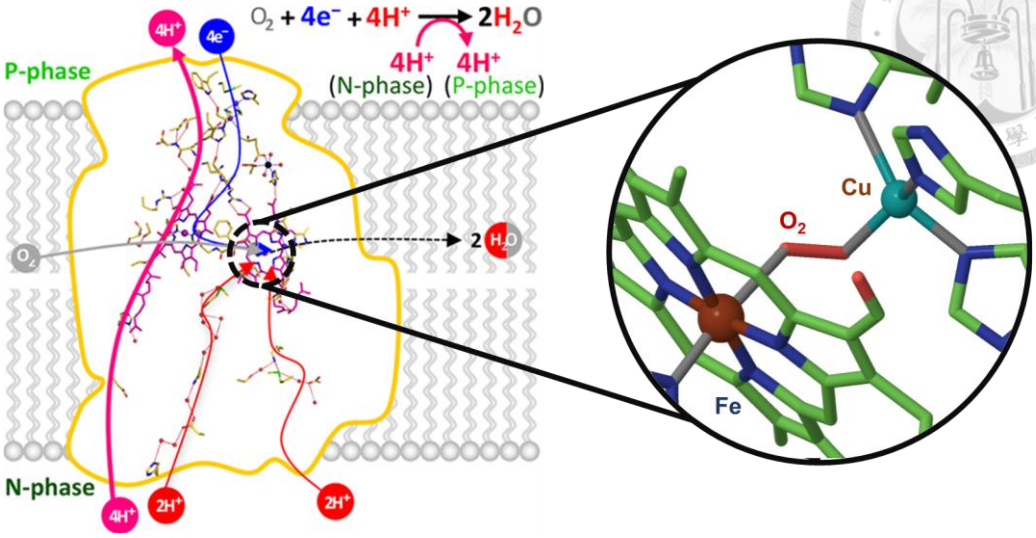


圖 1-20 細胞色素 c 氧化酶之催化反應與該反應位點。[48]

氧化磷酸化之終端酵素為 ATP 合成酶(ATP synthase)，其藉質子順其電化學梯度回流基質所釋放之能量催化 ADP 以生成 ATP。粒線體可藉此機制將氧化還原能量轉換為細胞可利用之能量。除生成 ATP 之外，粒線體亦參與多項關鍵代謝與調控功能，如其於脂肪酸 β-氧化(fatty acid β-oxidation)過程中將脂肪酸轉化為 Acetyl CoA，藉此供應檸檬酸循環與後續之氧化磷酸化反應，而此途徑亦加速有氧糖解作用之 ATP 生成。[49] 此外，粒線體於鈣離子恆定、氧化壓力(oxidative stress)、細胞凋亡路徑啟動及氧化還原平衡中亦扮演樞紐角色。[50] 綜上所述，粒線體之功能健全與否，為維持細胞能量恆定與細胞存活之重要決定因子。

1.3.2. 粒線體失能(Mitochondrial Dysfunction)與胰島素阻抗

粒線體結構完整性與功能協調性於維持細胞能量恆定中至關重要，故其失衡已被認為與多種代謝性疾病發生與進展密切相關。目前越來越多研究證據揭示胰島素阻抗狀態中具粒線體失能現象[13,51-54]，如圖 1-21 所示，當粒線體功能受損時，粒線體之氧化磷酸化與脂肪酸β-氧化效率下降，導致細胞內 ATP 含量供應不足[55]，並促使脂質代謝中間產物 DAG 堆積，其導致 PKC 活化進而抑制 IRS-1/PI3K/Akt

doi:10.6342/NTU202601320

胰島素訊號通路，此一訊號失衡除抑制 GLUT4 向細胞膜轉位、減少骨骼肌葡萄糖攝取外，亦伴隨一氧化氮(nitric oxide; NO)生物可利用性下降，進而影響血管舒張與代謝調控功能。[56,57]

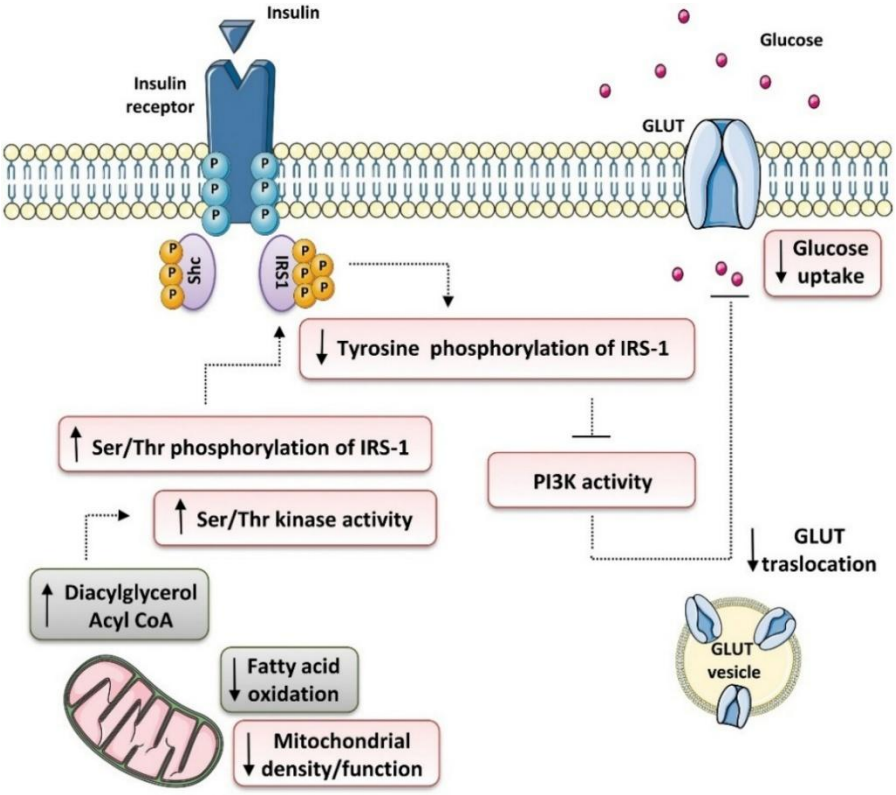


圖 1-21 粒線體失能與胰島素阻抗之關聯機制示意圖。[57]

粒線體為活性氧化物質(reactive oxygen species; ROS)主要產生之場所，其於生物體中為高活性之反應物質，主要可分為自由基(radicals)與非自由基(non-radicals)兩大類，自由基種類涵蓋羥基自由基(hydroxyl radical; ·OH)、超氧化自由基(superoxide anion radical; $O_2^{\cdot-}$)、超氧化氫自由基(Peroxyl radical; ROO·)、烷氧自由基(alkoxyl radical; RO·)等，而非自由基種類則涵蓋過氧化氫(hydrogen peroxide; H_2O_2)、臭氧(ozone; O_3)、單態氧(singlet molecular oxygen; $^1O_2$)、有機過氧化物(Organic hydroperoxides; ROOH)等[58]，如圖 1-22 所示。當氧化磷酸化之電子傳遞於複合體 I 與 III 不完全時，部分電子將逃逸並還原氧氣導致超氧化自由基生成，

doi:10.6342/NTU202601320

而粒線體中錳型超氧化物歧化酶(manganese superoxide dismutase; MnSOD)可催化超氧化自由基之歧化反應並生成過氧化氫，隨後，其可於過氧化氫酶(catalase)或穀胱甘肽過氧化物酶(glutathione peroxidase; GPx)之作用下被還原為水，如圖 1-23 所示。[59] 若 ROS 過度產生或清除機制失衡時將產生氧化壓力，其導致粒線體功能異常並減少 IRS-1 之磷酸化，抑制胰島素訊號通路，最終減少 GLUT4 之轉位與葡萄糖攝取[57]，然 ROS 具雙重作用，其亦可作為二級信號分子(secondary messengers)參與多項細胞內之調控機制，如磷酸酯酶與張力蛋白同源物(Phosphatase and tensin homolog; PTEN)為胰島素訊號通路之負調控因子，其可去磷酸化 PIP_3，進而抑制 Akt 之磷酸化，而 ROS 可將其活性位點之半胱胺酸(cysteine; Cys)還原成雙硫鍵並抑制 PTEN 活性，最終活化胰島素訊號通路並改善骨骼肌胰島素敏感性，如圖 1-24 所示。[60-62]

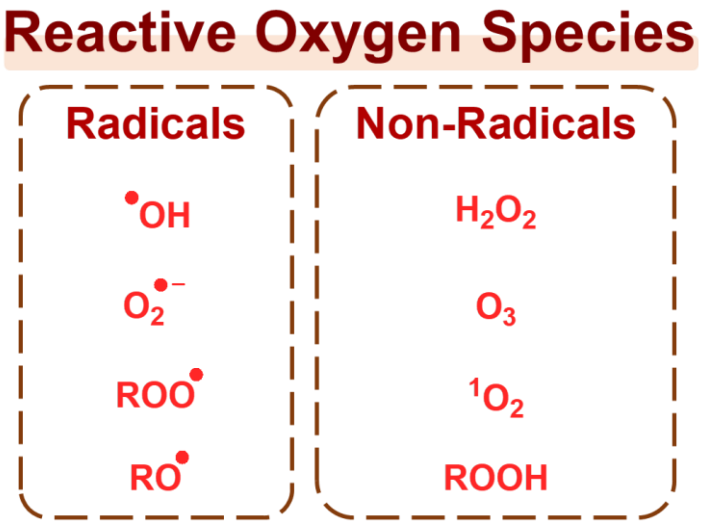


圖 1-22 自由基與非自由基之活性氧類。

doi:10.6342/NTU202601320

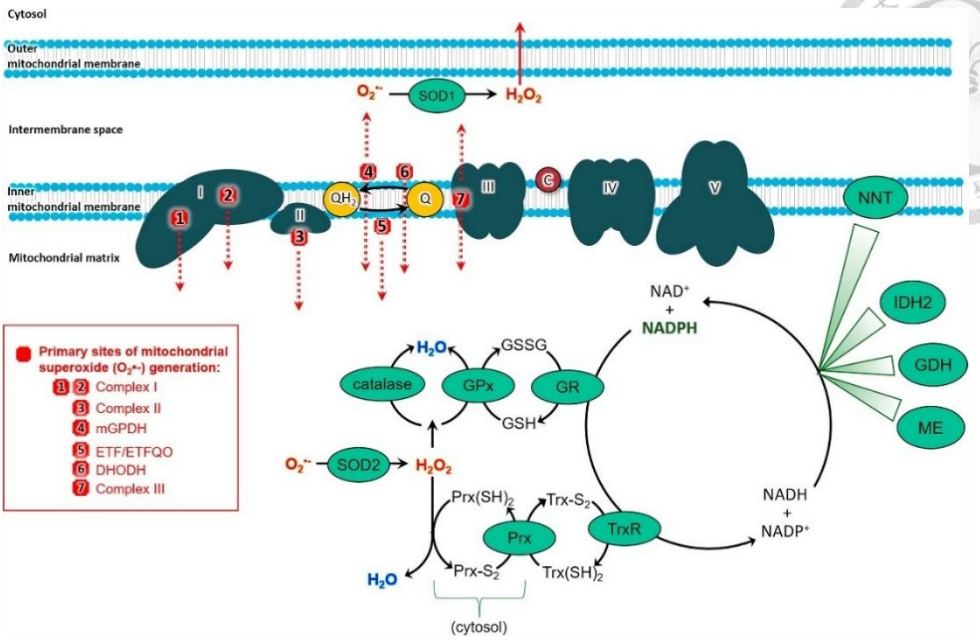


圖 1-23 粒線體 ROS 產生位點與其抗氧化反應示意圖。[59]

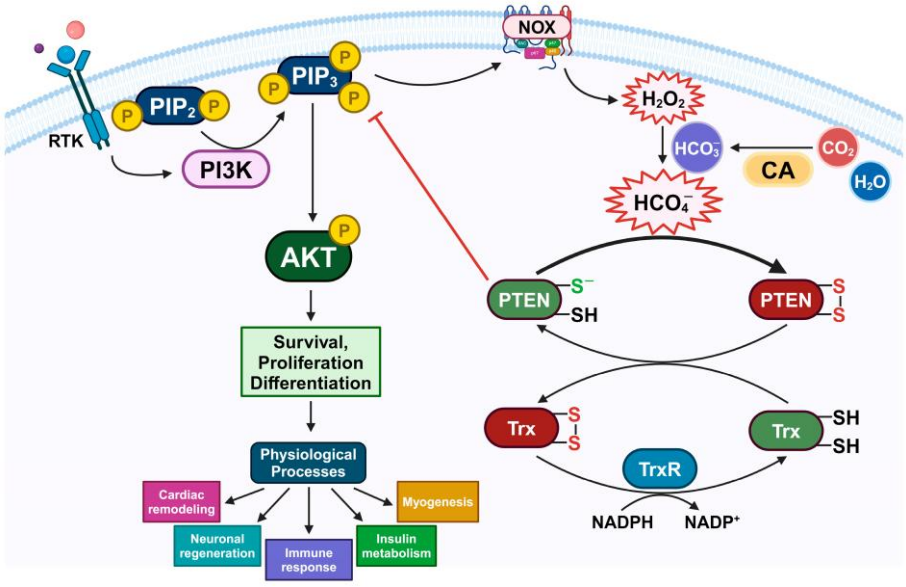


圖 1-24 ROS 於 PTEN 氧化還原調控與細胞訊號傳遞之示意圖。[60]

由質子幫浦(複合體 I、III 及 IV)產生之粒線體膜電位(mitochondrial membrane potential; MMP; $\Delta\Psi_m$)為氧化磷酸化能量儲存過程中之關鍵要素。$\Delta\Psi_m$ 與質子梯度(proton gradient)共同構成跨粒線體內膜之質子電化學梯度，該梯度所儲存之能量隨

doi:10.6342/NTU202601320

後被用以驅動 ATP 合成，同時影響離子運輸、訊號傳遞及粒線體自噬(Mitophagy)機制之關鍵信號。於正常生理狀態下，細胞內 $\Delta\Psi_m$ 與 ATP 水平可維持於相對穩定範圍，僅伴隨有限幅度之波動以反映正常代謝活動。然而，當 $\Delta\Psi_m$ 過高時，粒線體電子傳遞鏈將大量生成 ROS 並引發氧化壓力，進而損害 DNA、蛋白質及脂質結構，故長期維持過高之 $\Delta\Psi_m$ 於粒線體與細胞本身皆具危害性。另一方面，持續過低之 $\Delta\Psi_m$ 亦具傷害性，不僅因 ATP 產能不足，更將因 ROS 產量過低而導致與氧化壓力相對之還原壓力(Reductive stress)，其同樣可破壞細胞氧化還原恆定，於細胞功能造成不利影響，故 $\Delta\Psi_m$ 須維持於適當動態平衡區間，方可兼顧能量生成、氧化還原調控、粒線體品質控制等生理作用，如圖 1-25 所示。[63]

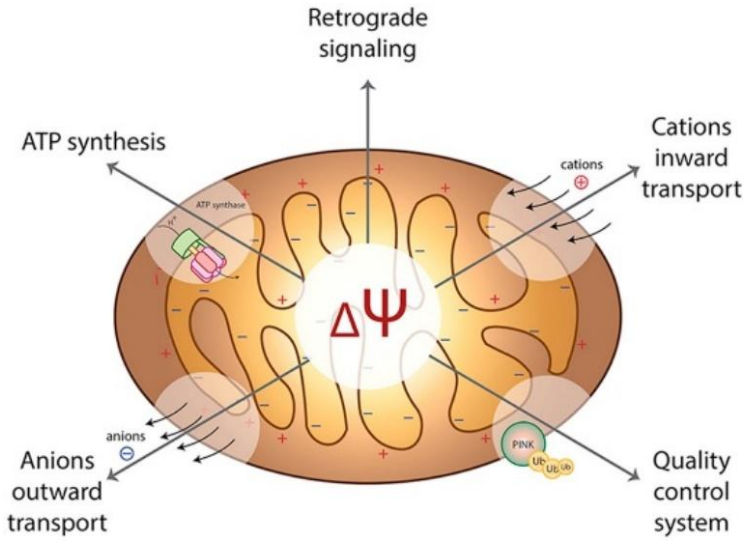


圖 1-25 粒線體膜電位之生理功能。[63]

鑑於傳統降血糖藥物、注射胰島素及代謝手術之具副作用、低血糖風險、患者心理不適等局限，粒線體失能進行非口服與非侵入性之光療介入逐漸受關注，被認為可藉調節粒線體功能，影響細胞能量代謝與相關訊號傳遞途徑，並提供不同於既有治療模式之潛在選項。

doi:10.6342/NTU202601320

1.4. 光

英國物理學家馬克士威(Maxwell)於 19 世紀中藉馬克士威方程組(Maxwell's equations)將光學與電磁學加以整合，闡明光本質上為一種電磁波，該方程組不僅描述電場與磁場之相互關係，更精確計算光於真空中以約每秒三十萬公里速度之恆定傳播速率前進。[64,65] 然而，20 世紀初，古典物理學於解釋黑體輻射(black body radiation)實驗結果時遭遇重大挑戰，為解決理論與實驗間之落差，德國物理學家普朗克(Planck)提供嶄新觀點，其主張能量並非連續變化而以離散之最小能量單位整數倍呈現，即能量量子化概念。1905 年，愛因斯坦(Einstein)進一步借鑒此概念解釋光電效應(photoelectric effect)，定義光為具特定能量之光子(photon)所構成，且光子能量與其輻射頻率呈現線性正相關，揭示光可展現波動性與粒子性之雙重特徵，即波粒二象性(wave-particle duality)理論，其有效整合過去於光性質之分歧見解，並揭開現代量子力學發展之序幕。隨相關理論逐步成熟，現今依據波長、頻率及能量大小，將電磁輻射進行完整分類，其範圍涵蓋高能與短波長之伽馬射線，延伸至低能與長波長之無線電波。於此電磁波譜中，僅可見光區段可被人眼感知，其波長約介於 380 至 780 nm 之間，如圖 1-26 所示。

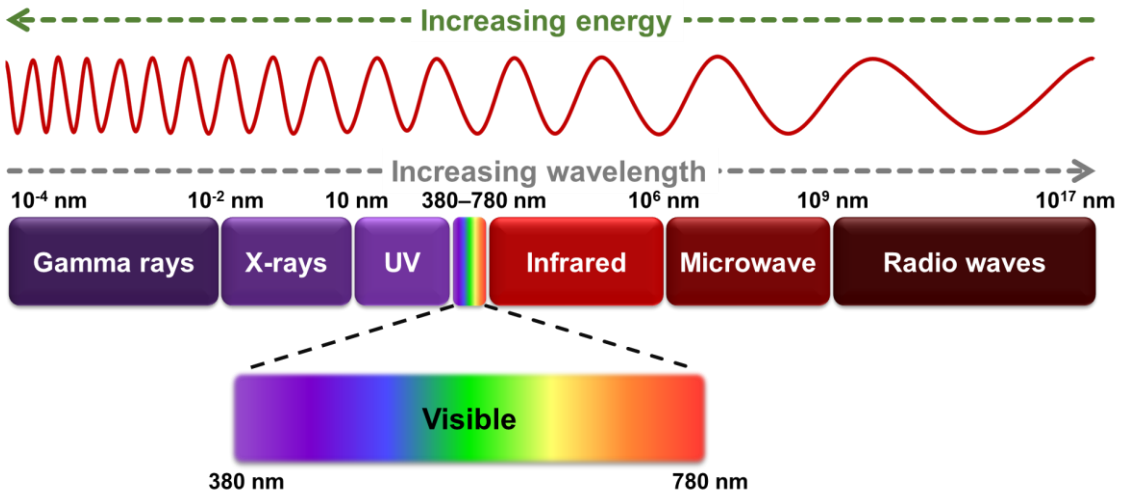


圖 1-26 電磁波全圖譜。

doi:10.6342/NTU202601320

1.4.1. 紅外光(Infrared; IR)

1800 年，英國天文學家威廉·赫歇爾(William Herschel)藉溫度計量測位於可見光譜外低於紅光能量之輻射熱，揭示肉眼不可見之紅外光輻射(infrared irradiation)存在。紅外光波長介於可見光與微波波段之間，其範圍涵蓋 780–10^6 nm 波長，根據國際標準化(International Organization for Standardization; ISO)組織發佈《光學與光子光譜波段》，其將紅外光依波長可區分為 0.78–3 μm 之近紅外光(near-infrared; NIR)、3–50 μm 之中紅外光(middle infrared; MIR)及 50–1000 μm 遠紅外光(far infrared; FIR)。不同紅外光波段與物質之交互作用機制具顯著差異，各波段因而發展截然不同之應用方向，近紅外光多涉及分子高階泛音與組合振動，穿透能力佳，廣泛應用於光纖通訊、近紅外光譜分析及生醫檢測與成像中，因水之羥基於 1450 nm 具強烈之振動吸收，故可進行含水樣本之定量分析。[66-71] 相較之下，中紅外光涵蓋分子基態振動之主要吸收區域，可提供不同分子之指紋光譜(spectral fingerprint)，一般用於物質鑑別、熱影像分析及氣體成分監測。[71-74] 遠紅外光可探測低能量之分子旋轉與晶格振動，其輻射特性使其成為天文觀測、地球物理研究及低溫物體量測中之重要工具。[75-78] 紅外光之分區反映光與物質作用機制與實際技術需求之差異，並奠定其於現代科學與生醫工程領域中之關鍵角色。

生物醫學應用中，近紅外光依其於生物組織中之光學行為細分為不同波段，近紅外光一區(700–1000 nm; NIR-I)、近紅外光二區(1000–1700 nm; NIR-II)[79]及近紅外光三區(1700–2500 nm; NIR-III)為目前最常使用之分類方式，如圖 1-27 所示。此一劃分主要源於不同波長之光於生物組織中所表現之穿透深度、散射係數及特徵吸收差異，一般而言，隨波長增加，近紅外光將展現較佳之組織穿透能力。本研究藉近紅外光一區波長應用於生物醫療領域中，將於後續章節詳述此區段之生物應用。

doi:10.6342/NTU202601320

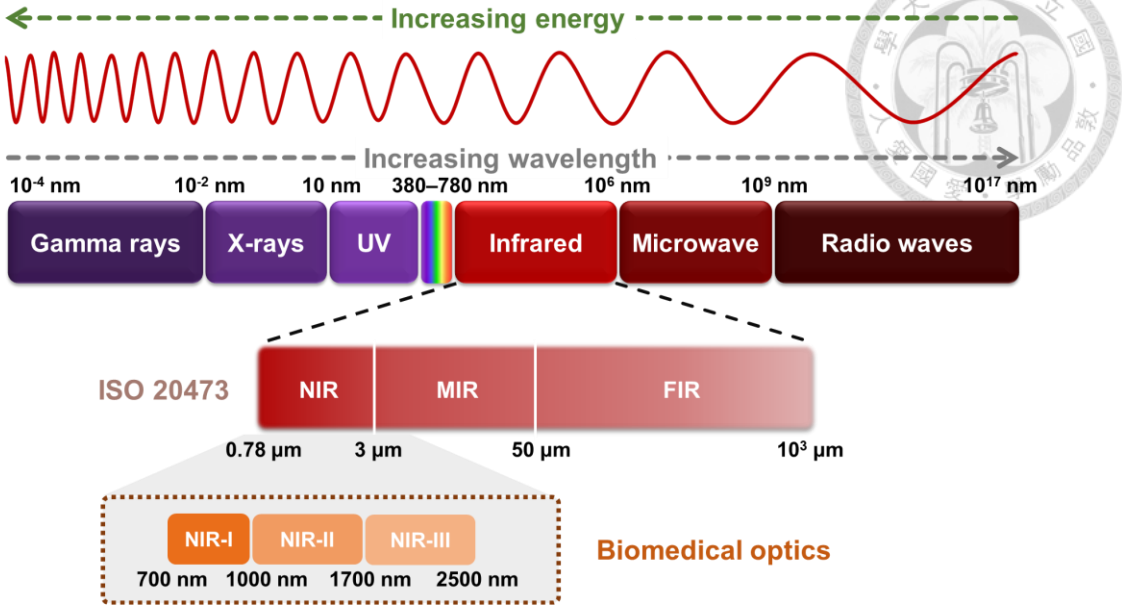


圖 1-27 近紅外光之劃分示意圖。

1.4.2. 發光二極體(Light-Emitting Diodes; LEDs)

發光二極體(Light-Emitting Diodes; LEDs)為一種以半導體(semiconductor)材料作為基礎之發光元件，於外加電壓下驅動半導體內部載子(carrier)移動並發生復合(recombination)，最終將輸入之電能轉換為可控波長之光輻射。半導體材料因其能帶(band gap)結構藉摻雜(doping)不同種類之元素與濃度加以調控，得以呈現多樣化之電性表現。以 4A 族元素之矽(Si)為例，藉摻入較多價電子之 5A 族元素，如磷(P)或砷(As)時，因多餘之價電子而形成以自由電子(free electron)為主要載子之 n 型半導體(n-type)；相對而言，摻雜較少價電子之 3A 族元素，如硼(B)與鋁(Al)，則因價電子缺陷形成電洞，使電洞(electron hole)成為主要載子，展現 p 型半導體(p-type)之特性。

當兩類性質截然不同之半導體構成 p-n 接面(p-n junction)時，因載子受濃度梯度影響，自由電子與電洞將朝濃度較低之一側擴散，並於接面處形成具內建電場之空乏區(Depletion region)，於未施加外壓之熱平衡狀態下，接面兩側之費米能階(fermi level)趨於一致，阻斷載子擴散。然而，於此結構施加順向偏壓(forward bias)時，外加電場將削弱原有內建電場，使空乏區縮減，促進電子與電洞再次向接面區

doi:10.6342/NTU202601320

域遷移。於此條件下，載子將於接面附近復合並以光子形式釋放能量，完成 LED 之發光過程，如圖 1-28 所示。

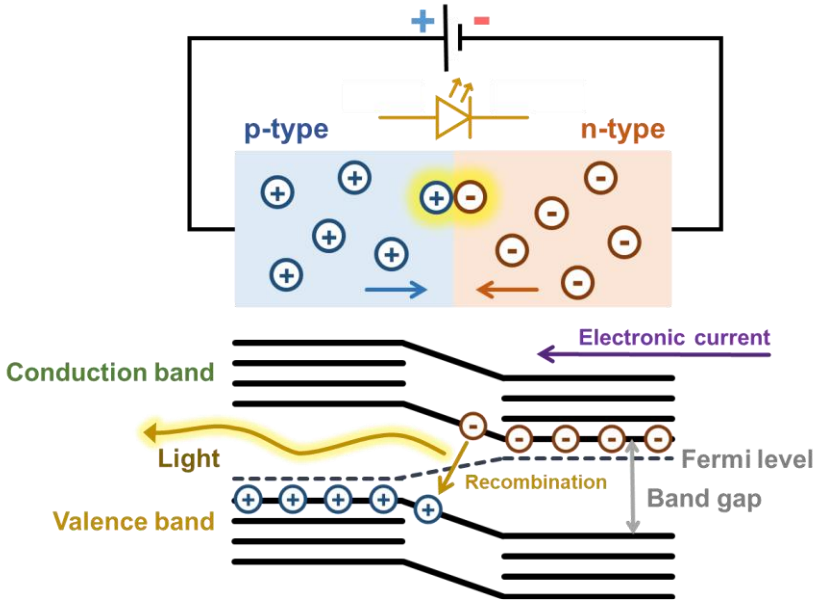


圖 1-28 順向偏壓下發光二極體之發光機制圖。

LED 所發射光之波長主要取決於半導體材料之能隙大小。當材料能隙較大時，載子復合所釋放之能量較高，所產生之光子波長較短；反之，能隙較小之材料則可實現較長波長之發光，故藉選擇適當之半導體組成與能隙設計，可實現涵蓋可見光至近紅外光範圍之 LED 光源，得以針對特定生物分子之吸收峰，進行精確且具選擇性之波長介入。此外，LED 具效率高、成本較低、結構簡單、體積小、安全性高、壽命長、可穿戴式裝置應用、適合於大範圍組織之均勻光照等優勢，可有效降低熱效應、眼部傷害風險及應用於長時間或重複性照射之治療模式。近年，柔性且可貼附於皮膚表面之 LED 陣列技術持續發展，進一步提升慢性疾病管理與個人化治療上之可行性，亦使 LED 成為當前光生物調節研究與應用中廣泛採用之光源選擇。

doi:10.6342/NTU202601320

1.5. 光生物調節(Photobiomodulation; PBM)

19 世紀末，丹麥醫師尼爾斯・呂貝里・芬森(Niels Ryberg Finsen)揭示藍光與紅光可用於治療皮膚疾病，並成功將光照應用於紅斑性狼瘡之臨床治療，開啟光療法(phototherapy)於醫學領域之發展。1960 年，物理學家西奧多・梅曼(Theodore Maiman)發明首台紅寶石雷射(ruby laser)，醫學界隨後聚焦於其生物效應與安全性之研究。1967 年，被譽為「光生物調節之父」之匈牙利外科醫師安德烈・梅斯特(Endre Mester)進行低功率紅寶石雷射照射試驗時，揭示於低劑量照射未將腫瘤抑制，卻意外加速毛髮生長與改善傷口癒合之現象，後續實驗亦闡明隨照射劑量提高時，促進效果將減弱甚至轉為抑制作用，呈現雙相劑量反應(biphasic dose response)，相關研究闡明於能量密度約 1–20 J/cm^2 與輻照度約 5–50 mW/cm^2 之條件下較易產生正面效應。[80,81] 起初，研究多以低能量雷射療法(low-level laser therapy; LLLT)稱之，並類比於傳統藥物，將其藥理成分之於其照射參數，涵蓋波長(wavelength)、輻照度(irradiation)及相干性(coherence)，而服用劑量對應於照射時長，涵蓋能量密度(power density)、照射時間(duration)及治療間隔(treatment interval)[82]，如表 1-2 所示，能量密度可藉式 1-4 計算得之，其中μ為能量密度，I為輻照度，t為時間。

表 1-2 光療之照射參數與時長。

照射參數		照射時長	
參數	單位	參數	單位
波長	奈米(nm)	能量密度	焦耳/每平方公分(J/cm^2)
輻照度	瓦/每平方公分(W/cm^2)	照射時間	秒(s)
相干性	相干長度(m)	治療間隔	數小時、數週或數日

$$\mu\left(\frac{J}{cm^2}\right) = I\left(\frac{W}{cm^2}\right) \times t\,(s) \qquad \text{(式 1-4)}$$

doi:10.6342/NTU202601320

於低能量雷射療法實際應用中，除雷射作為常見之光源外，LED 亦為具發展潛力之選擇。兩光源之光場特性與使用情境各有差異，雷射可產生具高度方向性與相干性之聚焦光束，可用於精確控制照射位置與能量輸送，並穿透較深層之組織；相對而言，LED 所發射之光束具較寬之發散角與較低之空間相干性，單一 LED 可提供範圍較廣而強度較低之照射區域。藉多顆 LED 組成之陣列設計，可使光束於組織中相互重疊並增加散射效應，進而於較大範圍內形成相對均勻且足夠之光子密度，如圖 1-29 所示。[83]

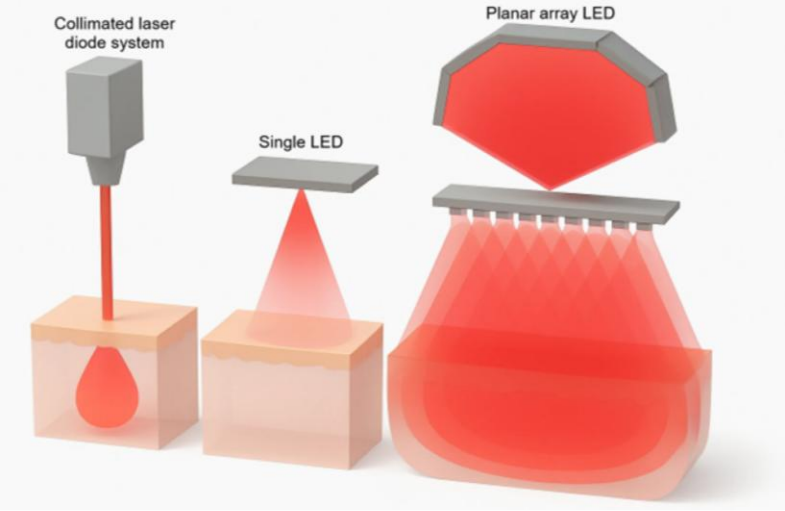


圖 1-29 不同光源與排列之傳遞方式示意圖。[83]

隨相關研究闡明光照所引發之生物效應並不仰賴雷射之相干性，於波長與照射劑量相近條件中，作為非相干光源之 LED 亦可產生相似之生物反應。此外，「低強度」含義模糊，難以準確定義，而「雷射」一詞亦已不再適用，故現今以「光生物調節(photobiomodulation; PBM)」闡明一種藉非電離光源之光療法，其中光源涵蓋可見光與紅外光譜範圍內之雷射、LED 及寬譜光，以更完整地描述光與生物組織之生理反應與能量傳導機制調節生物體功能與其生理狀態。

doi:10.6342/NTU202601320

1.5.1. 光生物調節之機制

光生物調節(photobiomodulation; PBM)以特定波長之可見光與近紅外光照射生物組織，於細胞與分子層級產生一連串生化反應。當光照射於皮膚並穿透生物組織時，將產生吸收(Absorption)與散射(Scattering)現象，其中，散射為光與生物組織交互作用之主要形式，使光子於組織中傳播路徑延長[84]，此外，組織內具各類發光團(chromophores)，涵蓋細胞色素(cytochromes)、氧合血紅素(oxyhemoglobin; HbO_2)、血紅素(hemoglobin; Hb)、黑色素(melanin)等，此些發光團將吸收特定波長光，故光於生物組織中之有效穿透深度主要受限於其吸收行為，一般而言，短波長端主要受血紅素、氧合血紅素及脂肪之限制，而長波長端則受水分子吸收影響，尤以約 970 nm 以上波段較為顯著。

基於上述吸收與散射特性，光於生物組織中可達較佳穿透深度之波長範圍，被稱為生物組織光學窗口(biological tissue optical windows)，且其範圍一般位於近紅外光波段，其中，近紅外光一區與二區之生物組織光學窗口分別介於約 650–950 nm 與 1000–1350 nm，如圖 1-30 所示。[85]

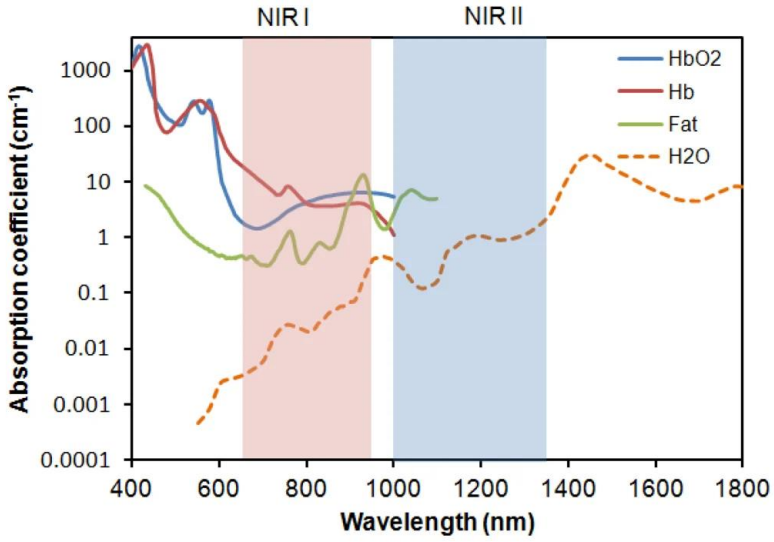


圖 1-30 近紅外光一區與二區之生物組織光學窗口。[85]

doi:10.6342/NTU202601320

另外，波長大小亦為影響光於組織中穿透深度之關鍵因素，較短波長之紅光(約 600–700 nm)較適用於表層組織，而較長波長之近紅外光(約 750–950 nm)具較佳組織穿透能力，適合應用於較深層組織，如圖 1-31 所示。[86] 然而，隨波長進一步增加，水分子之吸收逐漸成為主導因素，其將限制近紅外光有效穿透深度。[87] 鑑於光學窗口理論，本研究將以近紅外光一區之 750–1000 nm 作為光生物調節應用波段，並考量水分子於 970 nm 以上之吸收特性，最終選擇 750–970 nm 作為實際照射範圍進行研究。

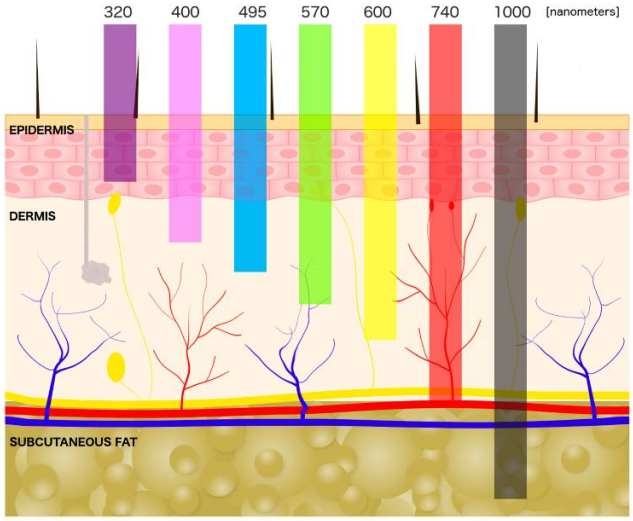


圖 1-31 不同光波長於生物組織之穿透深度。[86]

近年，光生物調節獲得廣泛接受，與其作用機制逐漸闡明密切相關。俄羅斯光生物學家蒂娜·卡魯(Tiina Karu)等人[88-92]之研究揭示粒線體電子傳遞鏈中之細胞色素 c 氧化酶(cytochrome c oxidase; CCO)為關鍵光受體(Photoacceptor)蛋白。CCO 具四種氧化還原位點，涵蓋兩種銅原子中心(雙核 Cu_A 與 Cu_B)、含鐵離子之血基質 a(heme a)及血基質 a_3(heme a_3)，雙核 Cu_A 將接收源自細胞色素 c 之電子，並傳遞至血基質 a，最終遞送至血基質 a_3 與 Cu_B 之催化中心，電子傳遞過程如式 1-5 所示，氧氣將於該催化中心之位點接收電子並還原為水[93]，如圖 1-32 所示。

doi:10.6342/NTU202601320

Cytochrome c → Cu_A → heme a → O_2 binding [heme a_3-Cu_B] (式 1-5)

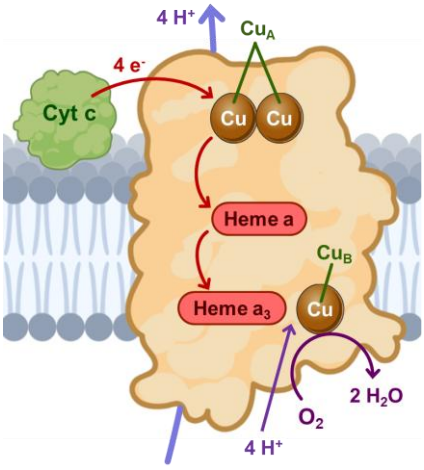


圖 1-32 細胞色素 c 氧化酶之反應示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

CCO 內四種主要氧化還原活性位點皆具對應之特徵性光吸收峰。heme a 之主要吸收峰位於 605 nm，而 heme a_3 則於 655 nm 附近呈現顯著吸收。此外，兩銅金屬中心因其氧化態與還原態之不同，展現差異化之吸收特性，Cu_A 於還原態與氧化態下之吸收峰分別位於 620 nm 與 820 nm，而 Cu_B 則分別於 760 nm 與 680 nm 分別展現還原與氧化之特徵吸收峰[92]，如圖 1-33 所示。

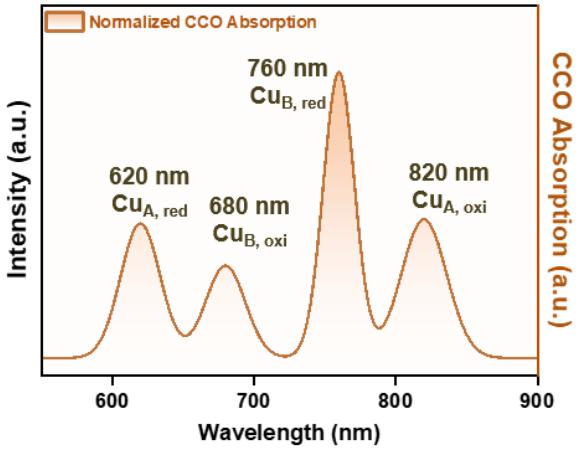


圖 1-33 細胞色素 c 氧化酶之特徵吸收峰。

doi:10.6342/NTU202601320

CCO 之電子傳遞步驟中，電子於 Cu_A 傳遞 heme a 之間與催化中心傳遞至氧氣間具較高效率，一般於微秒(microsecond; μs)內完成，而 heme a 傳遞至催化中心耗時約數毫秒(millisecond; ms)，故為式 1-5 之速率決定步驟(rate-limiting step)。[94] 光生物調節之介入可針對性地增強此一速率限制步驟。照射過程賦予酵素內部電子更高之可用性，進而加速催化中心內氧氣之還原反應，故當細胞內電子供應不足以支撐還原氧氣反應時，光輻射照射所增加之電子可用性為改善細胞電子傳遞鏈之關鍵因子。[89]

綜合前述生物組織光學窗口之物理特性與 CCO 之光生物機制，為精確誘發光生物調節效應，並探討不同波長與 CCO 特徵吸收峰之匹配關係，本研究最終選擇 770 nm 與 810 nm 作為主要實驗波長，另以 940 nm 作為對照組，以比較未明顯匹配 CCO 特徵吸收峰之近紅外光所產生之生物效應差異，如圖 1-34 所示。其中，770 nm 與 CCO 中 Cu_B 金屬中心之還原態特徵吸收峰高度匹配，光子吸收後可能改變催化中心之氧化還原狀態或促進一氧化氮自 CCO 解離，進而促進粒線體電子傳遞鏈之運作並提升細胞代謝效率。相較之下，810 nm 較符合 CCO 中 Cu_A 金屬中心於氧化態下之吸收特性，且其於生物組織中具較佳之穿透深度，另外，940 nm 雖具更長之波長，然其因接近水分子吸收帶，其光能於生物組織中較易被吸收，故其有效穿透深度未必優於 770 nm 與 810 nm，基於上述考量，本研究以 770、810 及 940 nm 三種近紅外光波長進行比較，探討 CCO 吸收峰匹配程度與組織穿透特性對光生物調節效果之影響，進一步評估其於第二型糖尿病血糖調控之應用潛力。

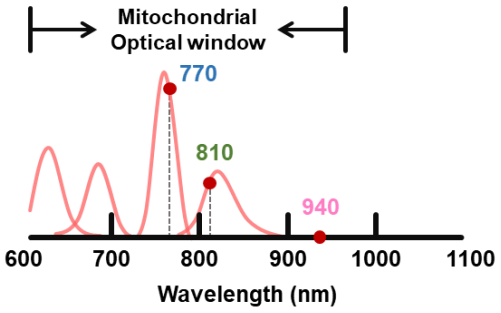


圖 1-34 CCO 吸收特徵峰與本研究使用之近紅外光波長匹配示意圖。

doi:10.6342/NTU202601320

1.5.2. 近紅外光之生物應用

近紅外光因其於生物組織中具較佳之穿透深度，得以藉非侵入之條件下與細胞內之光受體產生交互作用，當低功率密度之近紅外光照射生物組織時，光子可傳遞至較深層組織，進而被粒線體內關鍵酵素 CCO 所吸收，進而誘發一系列生化反應，且無顯著之熱傷害、不適等副作用。此類光生物調節效應主要為促進粒線體電子傳遞鏈之運作以提升 ADP 磷酸化為 ATP 之生成效率，同時調節 ROS、NO 等訊號分子之生成與釋放，如圖 1-35 所示，進而影響多條與細胞存活、代謝平衡及訊息傳遞相關之細胞內路徑。[82,95]

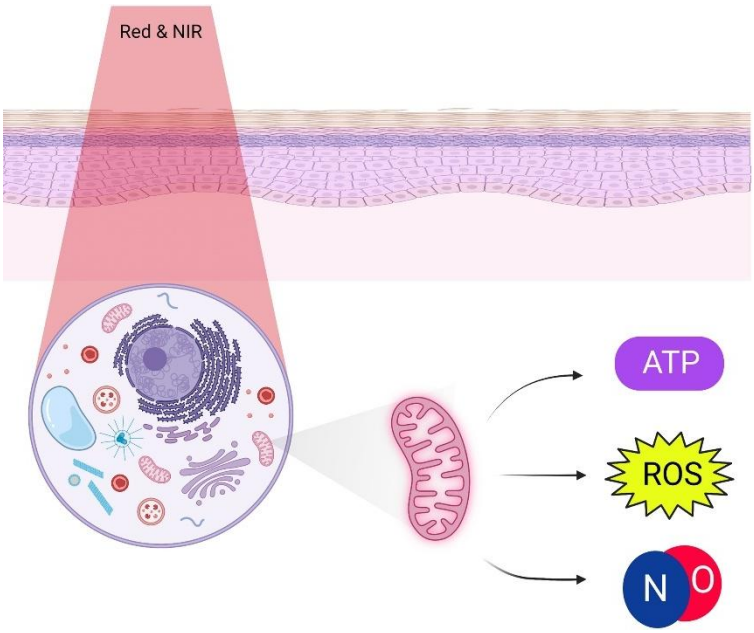


圖 1-35 照射近紅外光產生 ATP、ROS 及 NO 之示意圖。[95]

近紅外光之光生物調節照射將促進 NO 之釋放，其可藉三種途徑釋放，第一種機制為細胞內儲存型 NO 之解離並釋放[96]，其來源涵蓋血紅素、肌紅蛋白及 CCO 之雙核金屬中心形成可逆性結合，並於光照作用下發生光解離(photodissociation)[97-99]，如圖 1-36 所示。第二種 NO 生成機制則為光照促進 CCO 之亞硝酸鹽還原酶(nitrite reductase)活性增加，進而促使亞硝酸鹽轉換為 NO。第三種則為藉光照可提

doi:10.6342/NTU202601320

升細胞內鈣離子含量，進而增強一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase; NOS)同工酶(isozyme)之活性。[100] 上述光照誘導低濃度 NO 生成可藉細胞訊號傳遞途徑發揮有益之生理調控作用。[101] 其中，NO 與 CCO 之雙核中心結合位點具高度親和性，其與氧分子產生競爭性結合，暫時性抑制細胞之電子傳遞鏈活性。當近紅外光照射時發生之 NO 光解離使 CCO 之催化位點重新與氧氣結合，可消除代謝封鎖，加速電子傳遞鏈運作並提升 ATP 合成效率。

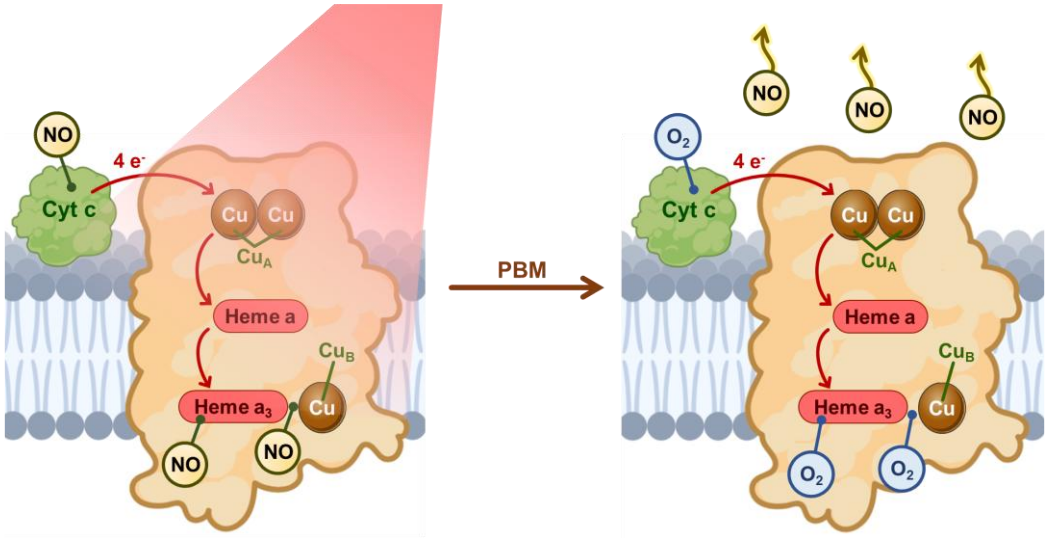


圖 1-36 光生物調節之 NO 光解離示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

三磷酸腺苷(adenosine triphosphate; ATP)被譽為細胞內之「能量貨幣」，作為生物體內之能量載體與轉化中樞，其分子結構由腺嘌呤(adenine)、核糖(ribose)及三個相連之磷酸基團組成，並將能量儲存於高能磷酸鍵中，當細胞進行生理活動而須能量時，ATP 將藉水解反應脫去一個磷酸基轉變為二磷酸腺苷(adenosine diphosphate; ADP)，並釋放可供利用之自由能。當近紅外光促進 NO 解離後，CCO 催化位點得以重新與氧氣結合，使電子可順利傳遞至氧分子，進而恢復粒線體電子傳遞鏈正常運作，隨電子傳遞鏈活性之提升，粒線體內膜上之質子幫浦作用得以加強，促使跨膜電化學梯度重新建立並維持。此一由質子濃度差與膜電位所構成之質子動力勢

doi:10.6342/NTU202601320

將驅動 ATP 合成酶之運作[102]，促進氧化磷酸化反應之進行，最終將 ADP 與無機磷酸重新磷酸化生成 ATP，以作為細胞能量儲存形式，如圖 1-37 所示。

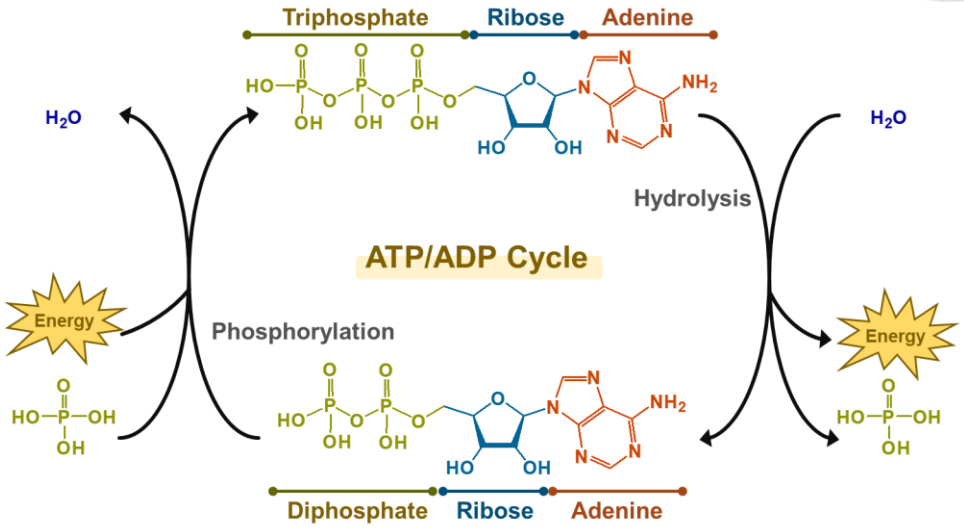


圖 1-37 ATP/ADP 轉換循環示意圖。

光生物調節刺激正常健康細胞中之 CCO 活性時，粒線體膜電位可短暫上升至高於正常基線之水平，並伴隨短暫且幅度有限之 ROS 增加。[103] ROS 之生理效應主要取決於其生成速率與抗氧化系統間之平衡。當粒線體內超氧化自由基生成速率適中，且可被超氧化物歧化酶有效轉換為過氧化氫時，其將擴散至粒線體外，作為訊號分子參與並活化有益之細胞訊息傳遞路徑[104]；相對而言，當超氧化自由基生成速率或濃度大於超氧化物歧化酶之處理能力時，則其將於粒線體內累積，進而導致氧化壓力與細胞損傷。[105]

雖光生物調節可於正常細胞中誘發短暫之 ROS 增加，但光生物調節作為氧化壓力模型之治療策略時，反而可降低氧化壓力相關指標[106-108]，故 PBM 於 ROS 之調控具高度情境依賴性，依細胞原始粒線體功能與氧化還原狀態而呈現雙相調控特性，進而決定其生理效應為訊號調節或氧化壓力緩解。

doi:10.6342/NTU202601320

隨研究闡明光生物調節之機制與療效，其於醫學與生醫研究領域中逐漸發展為一種具潛力之非侵入性治療策略。目前，光生物調節於醫學臨床實務中，主要具三大面向，涵蓋促進傷口癒合與組織修復、緩解慢性疾病或傷害引起發炎反應與其相關疼痛及緩解神經源性疼痛與各類神經系統疾患[109]，涵蓋創傷性腦損傷[110]、缺血性腦中風[111]、阿茲海默症[112]及帕金森氏症[113]，如圖 1-38 所示。

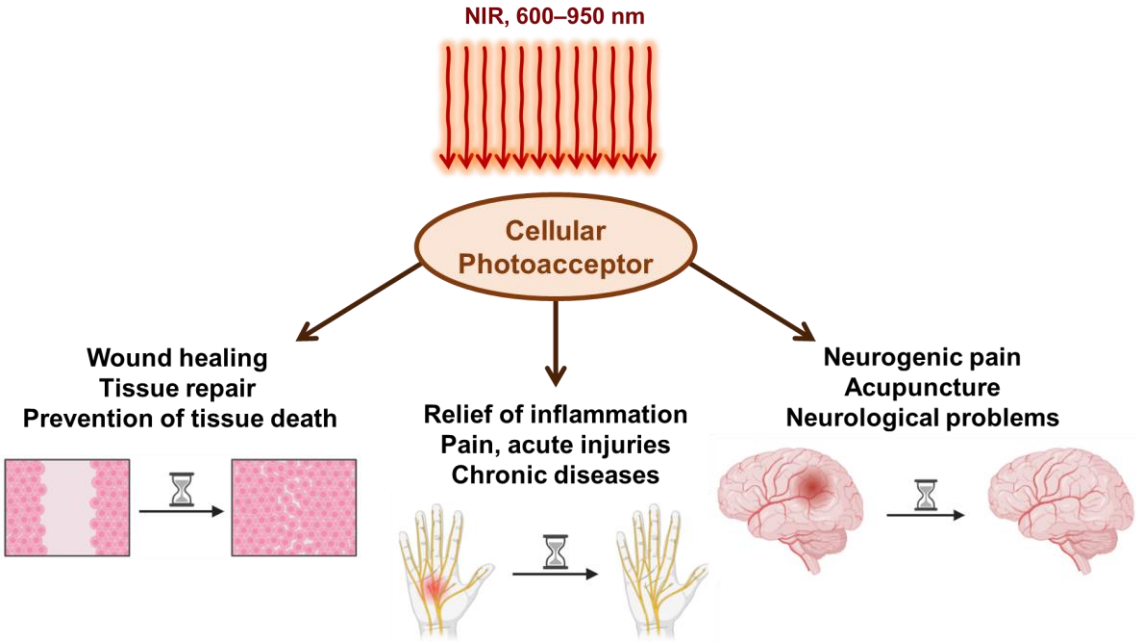


圖 1-38 光生物調節主要發揮之作用。(本圖於 BioRender.com 製作)

糖尿病為一種典型之慢性代謝性疾病，其病理特徵不僅涉及胰島素分泌不足或胰島素作用異常，亦伴隨粒線體能量代謝失衡、慢性低度發炎反應、氧化壓力升高等現象。上述病理變化將進一步影響細胞於葡萄糖之利用效率，並干擾能量恆定機制，形成惡性循環，最終導致血糖調控失常與多器官功能受損。粒線體功能障礙於糖尿病之進程中扮演關鍵角色，鑑於光生物調節可藉調控 CCO 活性，促進粒線體電子傳遞鏈之運作效率，並提升細胞 ATP 含量，其於改善細胞能量代謝狀態具潛在助益。

doi:10.6342/NTU202601320

1.6. 糖尿病模型

因糖尿病之發生與進展橫跨分子、細胞、組織乃至整體生理系統層級，單一實驗平台難以完整呈現其複雜病理特徵，故建立合適之實驗模型，於釐清疾病機制與評估新興治療策略具重要性。

現行糖尿病相關研究中，一般藉細胞模型與動物模型相互搭配，以分別探討特定分子機制與整體代謝表現。細胞模型可解析胰島素訊號傳遞、葡萄糖攝取、粒線體功能變化等細胞層級反應；動物模型則可反映全身性血糖調控、胰島素阻抗及組織間代謝交互作用。[114] 基於上述考量，本研究分別藉胰島素阻抗之細胞模型與第二型糖尿病小鼠之動物模型，以系統性評估光生物調節於不同生物層級中之代謝調控效果。

1.6.1. 胰島素阻抗之體外(*In Vitro*)模型

於眾多胰島素敏感組織中，骨骼肌、脂肪組織及肝臟為全身葡萄糖代謝之主要調控部位，故針對上述組織建立具代表性之細胞模型，於解析胰島素阻抗之細胞與分子機制具重要研究價值。相較於動物模型，胰島素阻抗之細胞模型可於高度可控之實驗環境下進行操作，可精確調控細胞外營養條件、荷爾蒙刺激及處理時間，並避免多組織間交互作用所造成之干擾[115]，故藉細胞模型探討胰島素訊號傳遞、葡萄糖運輸蛋白表現、粒線體能量代謝、氧化還原狀態等細胞層級反應，亦廣泛應用於胰島素阻抗相關藥物與介入策略之初步評估。

目前常用之體外胰島素阻抗模型，主要依據其來源組織可分為脂肪細胞、骨骼肌細胞及肝臟細胞模型。其中，以 3T3-L1 脂肪細胞(adipocytes)模擬脂肪組織之胰島素反應[116]，C2C12 骨骼肌細胞(skeletal muscles)則廣泛應用於研究骨骼肌中葡萄糖攝取與能量代謝[117]，而 HepG2 肝臟細胞(hepatocytes)則可反映肝臟葡萄糖生成與脂質代謝相關機制。[118] 上述細胞模型已被證實可於特定處理條件下呈現胰島素訊號傳遞受損、葡萄糖攝取下降、粒線體功能異常等胰島素阻抗特徵。

doi:10.6342/NTU202601320

骨骼肌為全身葡萄糖攝取與利用之主要組織，約負責胰島素刺激下大部分葡萄糖之清除，故其於胰島素敏感性之改變與全身血糖恆定具關鍵影響。C2C12 為來源自小鼠之骨骼肌前驅細胞，經分化後可形成具肌管(myotube)特徵之成熟肌細胞，如圖 1-39 所示[119]，並表現完整之胰島素訊號傳遞路徑與葡萄糖轉運機制，已被廣泛應用於骨骼肌代謝、胰島素訊號及胰島素阻抗相關研究中。

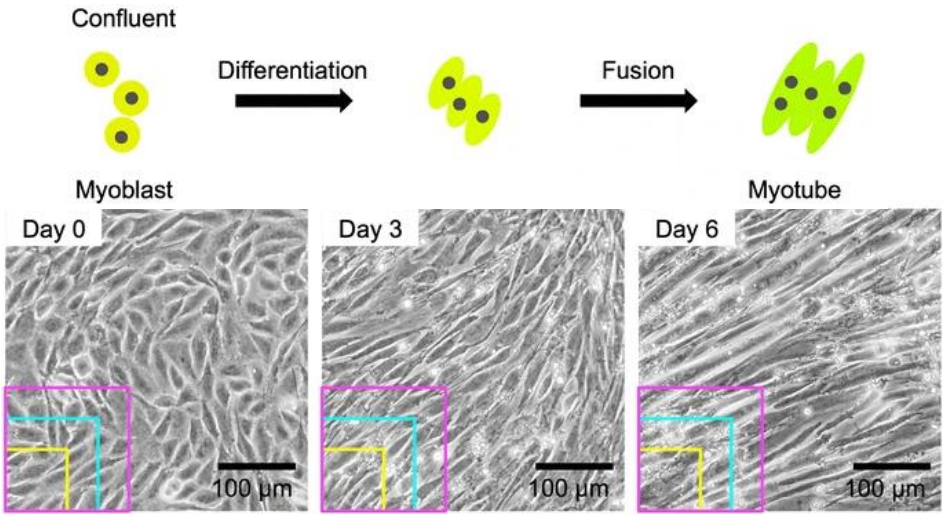


圖 1-39 不同天數之 C2C12 肌管細胞分化圖。[119]

於胰島素阻抗之誘導方面，涵蓋長期胰島素暴露[120]、游離脂肪酸處理[121]、高葡萄糖環境[122]等方式。慢性胰島素暴露(chronic insulin exposure)為一種經典且具代表性之方法，其主要藉模擬細胞於胰島素刺激逐漸產生反應遲鈍之病理情境。長時間暴露於胰島素環境中，一般伴隨粒線體功能障礙與 ROS 之過度堆積，並導致胰島素受體與其下游訊號傳遞分子之敏感性下降，進而抑制 PI3K/Akt 路徑活性，使 GLUT4 無法運作，最終造成細胞葡萄糖攝取能力下降。

基於上述考量，本研究選擇以 C2C12 肌管細胞並藉慢性胰島素暴露建立胰島素阻抗模型，作為探討近紅外光光生物調節骨骼肌細胞中於胰島素敏感性、葡萄糖攝取及能量代謝調控效果之基礎模型。

doi:10.6342/NTU202601320

1.6.2. 糖尿病二型之活體(*In Vivo*)模型

第二型糖尿病之活體模型主要用於模擬人類代謝紊亂之複雜生理環境，其核心病徵為胰島素阻抗與胰島 β 細胞代償不足。於疾病早期，生物體一般藉 β 細胞增生與胰島素分泌增加進行代償，然隨疾病進展，β 細胞功能逐漸失衡甚至衰竭，最終導致持續性高血糖，故糖尿病二型之動物疾病模型多以胰島素阻抗與 β 細胞功能障礙作為建模主軸，並伴隨肥胖、血脂異常、發炎反應等共病表徵以貼近人類臨床之代謝狀態。[123] 如圖 1-40 所示，糖尿病二型疾病模型可概分為以下種類：

（一）基因肥胖模型

基因肥胖模型之成因歸於基因突變，其與人類第二型糖尿病由多基因遺傳與複雜生活環境交互作用所致之病理機制具顯著差異，然其可穩定呈現肥胖、代謝紊亂及可重現性高，仍廣泛用於各類干預策略之生理效應。

瘦素(leptin)訊號缺陷模型與涉及飽足感訊號之瘦素缺陷相關，當瘦素或其受體功能缺失時，動物易過度進食(hyperphagia)而嚴重肥胖並誘發糖脂代謝異常。$Lep^{ob/ob}$ 小鼠為一種典型之嚴重肥胖動物模型，其亦稱為 ob 小鼠，源自於 1949 年於近交系小鼠中所揭示之自發性突變，後續該表型被導入 C57BL/6 背景品系中培育，並於 1994 年確認其突變基因所編碼之蛋白質為瘦素。[124] 此模型之小鼠自約 2 週齡具顯著增重，並伴隨高胰島素血症，至約 4 週齡時，高血糖現象較為顯著，血糖濃度隨週齡持續上升，並於 3–5 個月大時達至高峰。$Lepr^{db/db}$ 小鼠之表型由瘦素受體(leptin receptor)之體染色體隱性突變所致，其亦稱為 db 小鼠。[125] 此模型小鼠具過度攝食、肥胖、高胰島素血症、高血糖等代謝異常特徵，一般於 3–4 週齡時具肥胖表型，高血糖則多於 4–8 週齡間逐漸發展。New Zealand Obese(NZO)小鼠具多基因肥胖特徵，早期即具高胰島素血症與肝臟胰島素阻抗，並隨週齡增長而加重葡萄糖耐受異常。[126] 其瘦素相關調控異常並非源於瘦素缺乏，而與瘦素穿越血腦屏障(blood brain barrier; BBB)效率降低或中樞瘦素訊號傳遞失衡有關，導致飽足感調控受損與肥胖表型。[127]

doi:10.6342/NTU202601320

Kuo Kondo(KK)小鼠為一種具輕至中度肥胖之多基因第二型糖尿病模型。該模型表現顯著之高胰島素血症與胰島素阻抗，其主要發生於骨骼肌與脂肪組，隨疾病進展，KK 小鼠將持續性高血糖並伴隨胰島肥大與去顆粒化等結構性變化[128]，其較易發展腎臟、視網膜及神經相關之糖尿病併發症，揭示其於病理表現上與人類第二型糖尿病具一定相似性。[123] 於此基礎上，KK-A^Y 小鼠將致肥胖之 A^Y(agouti yellow)基因引入 KK 小鼠背景以建立疾病模型[129]，因 A^Y 基因可干擾下視丘中黑皮質素受體(melanocortin receptor)相關訊號傳遞，KK-A^Y 小鼠相較於原始 KK 小鼠呈現更嚴重之肥胖、顯著高血糖、高胰島素血症及葡萄糖耐受不良。

TallyHo/Jng(TH)小鼠為一種自然發生之肥胖型第二型糖尿病模型，由研究人員將具高血糖與高胰島素血症表型之小鼠進行選育而建立。[130] 該模型易呈現脂肪堆積增加、血脂異常、高胰島素血症、高血糖等代謝特徵，其中高血糖表型於雄性小鼠中尤為顯著，同時，其胰島組織具胰島肥大與去顆粒化之變化，顯示胰島β細胞於長期代償壓力狀態。

（二）飲食誘發之第二型糖尿病小鼠模型：高脂飲食(high-fat diet; HFD)

高脂飲食誘發模型以環境因素推動肥胖與代謝失衡，一般被視為較可反映人類生活型態導致代謝疾病之情境。[131] 藉提高飲食中脂肪熱量比例至 60%，小鼠可於短時間內展現體重上升、胰島素阻抗及葡萄糖耐受異常，若胰島 β 細胞代償不足，其將持續進展為高血糖。

（三）胰島β細胞功能失衡之非肥胖模型：

臨床上並非糖尿病二型患者皆肥胖，故須評估以胰島 β 細胞功能障礙為主或非肥胖背景下之高血糖模型。此類模型更可探討胰島 β 細胞不足與胰島功能退化於疾病進程之影響或於降低肥胖相關干擾(如脂肪發炎)下評估特定治療策略。[132]

糖尿病二型另一病徵為胰島內類澱粉蛋白(amyloid)生成，而一般鼠源不易形成類澱粉蛋白，故可藉表現人類胰島類澱粉多胜肽(human islet amyloid polypeptide; hIAPP)之基因轉殖小鼠[133]，重現胰島類澱粉沉積與其於胰島 β 細胞毒性之影響，

doi:10.6342/NTU202601320

且其表現量提高將加重胰島 β 細胞損傷，並限制胰島 β 細胞於高胰島素需求下之適應能力。

Goto–Kakizaki(GK)大鼠為一種非肥胖型第二型糖尿病動物模型。該模型不具顯著肥胖表型，其高血糖主要源於胰島 β 細胞功能障礙，而非胰島素阻抗所致。[134] GK 大鼠自幼年期即表現葡萄糖耐受不良，並伴隨葡萄糖刺激性胰島素分泌減弱，隨週齡增長逐漸發展為持續性高血糖。因 GK 大鼠之代謝異常並非由肥胖或高胰島素血症所驅動，該模型一般被用以探討胰島 β 細胞功能失衡於第二型糖尿病發展中之角色。

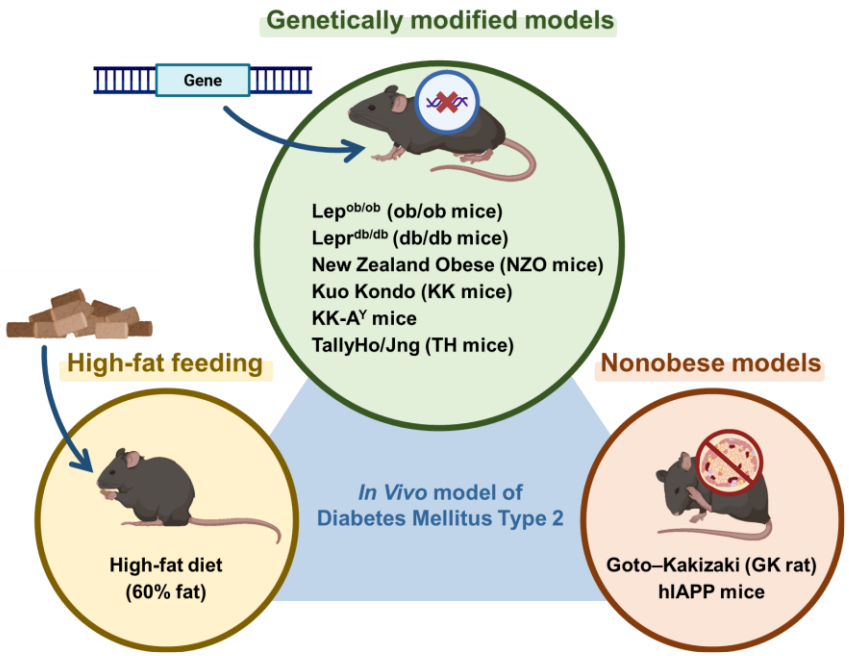


圖 1-40 不同活體之糖尿病二型疾病建立方法。(本圖於 BioRender.com 製作)

相較於以飲食誘發或非肥胖之第二型糖尿病模型，Lepr$^{db/db}$ 小鼠可快速且穩定發展胰島素阻抗、高胰島素血症、高血糖等典型代謝異常表型，故本研究選擇以 Lepr$^{db/db}$ 小鼠作為第二型糖尿病之活體模型，以探討近紅外光光生物調節干預於代謝失衡之調控效果。

doi:10.6342/NTU202601320

1.7. 專利與論文回顧

近年，隨光生物調節相關研究日益矚目，其於醫學與生物領域之應用亦持續拓展。相關專利已揭示藉可見光至近紅外光波段之雷射與發光二極體系統進行光生物調節之技術與裝置。同時，許多研究亦探討不同波長光源於細胞功能、粒線體能量代謝及氧化壓力調控之影響，並進一步應用於傷口癒合、神經修復、代謝性疾病等治療領域，故藉整理現今之專利技術與研究論文，可更瞭解光生物調節於相關疾病治療之發展現況與研究趨勢。

本研究藉 Derwent Innovation 智慧財產分析系統彙整近十年相關資料，關鍵詞設置為“NIR photobiomodulation AND Diabetes”進行專利與學術文獻之檢索與交叉比對分析，如圖 1-41 所示，其結果揭示相關專利申請數與學術論文發表量均呈現顯著增長之趨勢。此一現象不僅反映光生物調節於代謝疾病治療具應用潛力，亦可掌握當前之技術佈局路徑與學術研究演進方向。

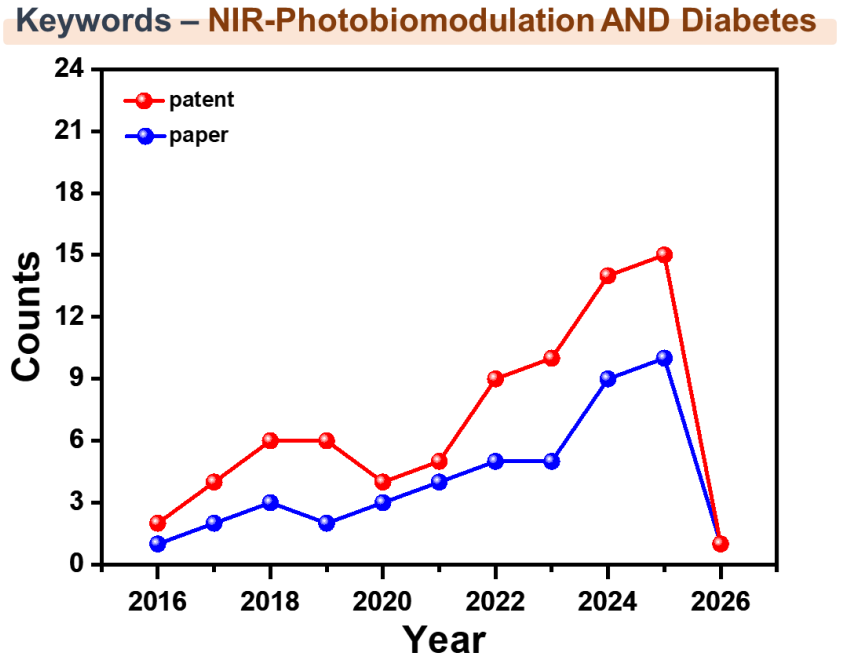


圖 1-41 藉 NIR photobiomodulation 與 diabetes 關鍵詞之專利與論文年度數量統計趨勢圖。

doi:10.6342/NTU202601320

然而，進一步分析相關研究內容可揭示目前光生物調節於糖尿病治療之研究仍呈現若干侷限，多數研究主要聚焦於神經保護、傷口癒合或局部組織修復等應用領域，而針對代謝調控與血糖調節之研究仍相對有限。此外，現今研究於光源波段選擇、照射組織位置、治療策略等方面仍缺乏系統性探討。

目前光生物調節治療亦受限於光於生物組織中之穿透深度，使光較難以有效傳達至較深層之組織，如胰臟、十二指腸等器官，故部分研究仍以侵入式光照進行代謝調控之策略；其次，部分研究使用之光源波段未必對應於粒線體內 CCO 酵素之主要近紅外光吸收區域，而影響其生物調節效率；此外，目前相關研究集中於眼睛、皮膚及大腦組織之照射，於骨骼肌等主要葡萄糖代謝組織之光生物調節仍缺乏深入探討，如圖 1-42 所示。

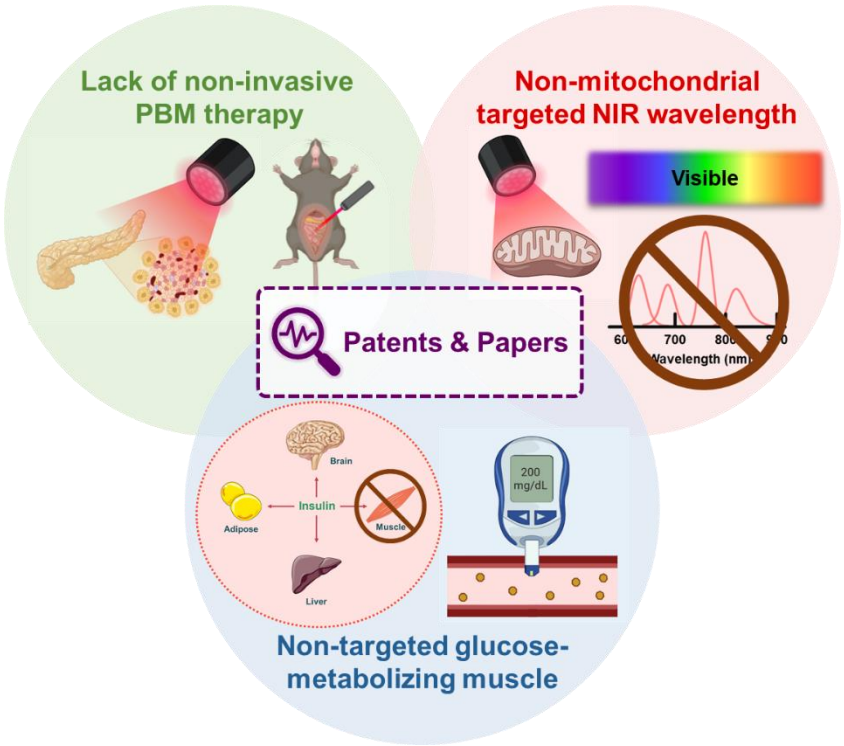


圖 1-42 現今光生物調節應用於糖尿病之血糖調控關鍵挑戰之示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

doi:10.6342/NTU202601320

下節將依專利申請與論文發表時間之發展脈絡，針對上述三項關鍵挑戰進行系統性整理與比較分析，以歸納目前技術之侷限與其後續改善需求。

1.7.1. 專利地圖

(一) 以侵入式方式進行光生物調節干預

依專利申請時間進行分析可揭示侵入式光生物調節技術逐步由腔道型裝置發展至智慧化植入系統。

於 2021 年，Baldwin 等人[135]主要申請可於人體腔道內運作之光生物調節裝置，其系統涵蓋光輸送裝置、光偵測器及訊號處理模組，並結合無線通訊功能，使裝置可量測光生物調節作用所產生之反射率訊號並傳輸至外部裝置進行分析，此裝置可隨人體胃腸道移動並於特定部位輸出光照，以進行局部光生物調節治療。

2022 年，Park 與 Kwon[136]申請之專利闡明一可吞服之膠囊型光生物調節裝置，其內部涵蓋多種光源、控制電路及電池系統，當膠囊進入胃腸道後即可輸出紅光或近紅外光進行局部光照治療，此類裝置亦可藉控制電路調整光源之波長、輸出強度及照射模式，以提升治療之靈活性。同年，Dayyeh[137]則進一步申請揭示多種胃腸道光生物調節裝置設計之專利，其中涵蓋將具 LED 光源裝置之內視鏡系統導入胃腸道內部，並藉夾持機構將裝置固定於目標組織，以提供持續之光生物調節作用。另外，由 DeBeer[138]揭示之專利為結合內視鏡與導管之光生物調節裝置。此裝置於內視鏡帽或導管末端配置多組 LED 光源，可輸出不同波段之光，例如 600–700 nm 紅光與 800–900 nm 近紅外光，將光直接照射於胃腸道黏膜、十二指腸等特定部位。期望藉多波段光源提升光生物調節於局部組織之治療效果。

Moffitt 等人[139]則於 2024 年發展智慧化植入式光生物調節系統，此系統涵蓋可植入人體之導線與光發射裝置，並整合生物感測器以即時監測生物標誌物或神經訊號變化，系統將以感測結果由處理器動態調整光照輸出參數，形成閉環控制之光生物調節治療模式。

doi:10.6342/NTU202601320

綜合上述專利發展脈絡可闡明侵入式光生物調節技術逐漸以腔道式裝置、小型化光源及智慧化閉環控制系統之方向發展。然而，此類技術仍須藉吞服裝置、內視鏡操作、植入式手術等方式將裝置導入人體內部，具一定程度之侵入性與臨床應用限制，故如何藉組織穿透能力較佳之近紅外光以非侵入式方式進行光生物調節治療，仍為目前相關研究之重要發展方向。

(二) 無對應粒線體 CCO 酵素吸收峰之近紅外光

光生物調節技術並非皆以對應光受體 CCO 主要吸收區段之近紅外光作為核心設計，其中亦藉非典型波段進行相關應用。於 2013 年，Dunning 等人[140]申請之專利闡明以 550–625 nm 可見光照射缺氧組織，且特別排除 630–700 nm 波段，可藉提升粒線體 NO 生成、增加血流及降低氧化壓力進而改善缺氧與糖尿病相關病理狀態。而同一團隊於 2014 年則將此概念發展為可穿戴貼片式裝置，其輸出波段擴展至 375–625 nm，亦排除 650–700 nm 區域，並應用於缺血、氧化壓力、神經退化及糖尿病併發症等治療。[141] 此階段之專利技術闡明相關設計並未以 CCO 之紅光與近紅外吸收峰作為主要依據，而以可見光誘導 NO 調控、血流改善及組織保護作為理論基礎。Castel 等人[142]則於 2021 年專利申請以 380–560 nm 之脈衝藍光並結合高頻脈衝、低平均輻照度及柔性光源設計以應用於肌肉疲勞降低、組織修復及疼痛緩解。

劉三林等人[143]於 2025 年申請之專利揭示寬頻整合式光生物調節 LED 光源，其光譜範圍涵蓋 300–1400 nm，並整合 725–735 nm、900–920 nm 及 1010–1040 nm 之近紅外放光成分，形成由可見光延伸至近紅外之連續光譜輸出，然其近紅外光波段並未對應於 CCO 之 760 nm 與 825 nm 之吸收峰。

基於前述背景，現今光生物調節技術中，部分專利雖具組織保護、血流改善、代謝調節等生物效應，然其波段設計並未明確對應粒線體 CCO 之近紅外光吸收區域，揭示目前專利佈局仍具作用機制分散與波段選擇未完全聚焦之現象，亦闡明以對應粒線體光受體吸收特性為基礎進行近紅外光源設計之研究仍具重要性。

doi:10.6342/NTU202601320

(三) 非照射於主要代謝葡萄糖之肌肉組織

以專利申請範圍之發展脈絡可闡明目前光生物調節應用於代謝疾病、血糖調控、胰島素阻抗及糖尿病相關病症之技術，其照射部位多未聚焦於主要負責葡萄糖攝取與代謝之骨骼肌組織，而優先選擇其他與能量代謝或疾病表徵相關之組織作為作用標的。

Ginggen[144]於 2013 年申請之專利即揭示以約 600–900 nm 之紅光至近紅外光照射棕色脂肪組織，可藉活化粒線體電子傳遞鏈與促進非顫抖性產熱作用以應用於肥胖治療，其作用核心於提升熱生成與能量消耗，而非直接增強骨骼肌於葡萄糖之攝取與利用。2018 年，Jo 等人[145]則將藍光照射於棕色脂肪組織鄰近皮膚區域以活化棕色脂肪內之交感神經纖維並降低血糖濃度，闡明其血糖調控概念仍主要建立於脂肪組織活化，而非主要葡萄糖代謝肌肉組織之直接調節。

2020 年，Bicknell[146]主要申請以 809–1050 nm 近紅外光照射腹部區域之專利，其設計目的於改變腸道菌相(microbiome)，進而應用於第二型糖尿病、肥胖、高血脂及發炎性疾病之預防或治療。此技術揭示光生物調節可由局部組織治療延伸至腸道微生物環境調控，然其照射位置仍集中於腹部，並非直接作用於骨骼肌。

Zonneveld 等人[147]於 2021 年揭示應用於眼部組織之光生物調節裝置，藉光學透鏡與預設光分布設計，將 500–1000 nm 之光照射眼內周邊組織，以應用於糖尿病視網膜病變、黃斑部病變、糖尿病黃斑水腫等糖尿病相關眼科併發症之治療，反映此時之技術布局以糖尿病併發症之局部照射治療為大宗，而非針對全身葡萄糖代謝之核心組織進行調控。

於 2024 年，由黃文澤等人[148]闡明 770 nm 或 810 nm 近紅外光經顱骨、耳、鼻、口、眼或身體表面輸入能量可活化神經細胞。隔年，Berends 等人[149]揭示之專利技術為以近紅外光大面積照射臉部、頸部或至少 350 cm^2 皮膚表面之系統以提供全身性光生物調節刺激。整體而言，此階段之技術發展已朝向系統性、大面積及智慧化控制方向前進，然照射標的仍未明確集中於主要代謝葡萄糖之肌肉組織。

doi:10.6342/NTU202601320

綜上所述，目前光生物調節應用於代謝疾病與糖尿病相關治療之技術雖已涵蓋棕色脂肪組織、腹部腸道菌相、眼部組織、口腔、廣泛皮膚表面等多種照射標的，然於胰島素刺激下負責大部分葡萄糖攝取與利用之關鍵肌肉組織，其相關專利布局仍相對不足。此一現象亦揭示以骨骼肌作為主要照射部位，探討近紅外光生物調節於糖尿病血糖調控之影響，具明確之研究必要性與技術發展價值。

此外，藉 Derwent Innovation 系統生成之專利等高線地形圖，可直觀呈現近紅外光生物調節與糖尿病相關技術之佈局態勢。圖中等高線之疏密程度代表專利數量之密集程度，峰值越高且顏色越深之區域，象徵該領域為目前研發活動最為熱絡之技術核心區。整體而言，光生物調節相關技術具多種研究主題並行發展之趨勢，其應用範圍涵蓋細胞生理調控、能量代謝、神經修復、各類疾病治療等領域，闡明此技術於生物醫學應用上具高度發展潛力。然而，如圖 1-43 所示，目前技術主題多集中於特定組織、特定疾病表徵、局部治療應用、促進細胞增殖等應用，以肌肉組織作為核心照射標的之研究仍相對不足。此結果亦反映目前光生物調節於代謝疾病應用之研究仍具一定之發展空間，以骨骼肌作為核心照射部位以調控葡萄糖代謝之研究仍待進一步探討。

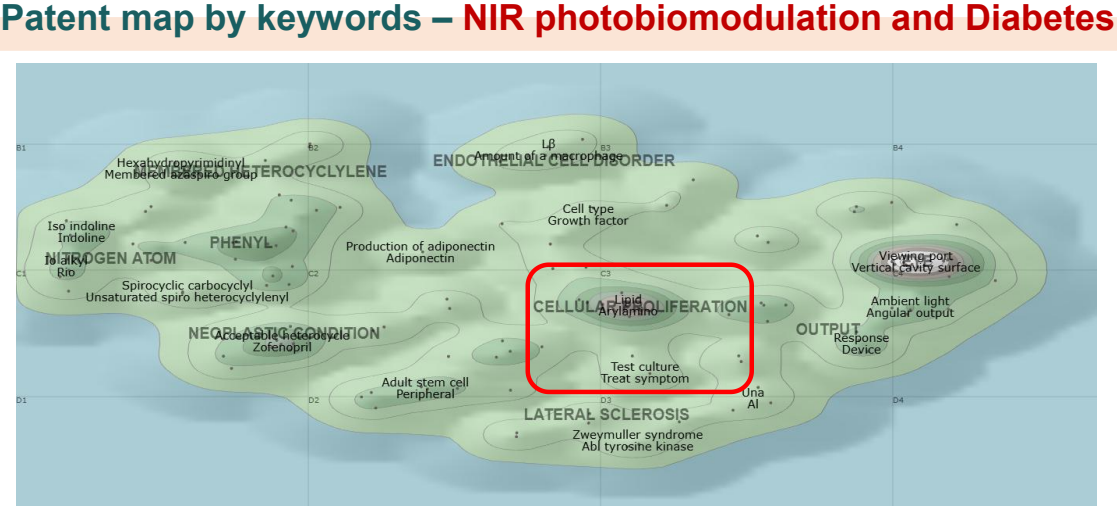


圖 1-43 藉 NIR photobiomodulation 與 Diabetes 關鍵詞之專利技術等高線地形圖。

doi:10.6342/NTU202601320

1.7.2. 論文地圖

(一) 以侵入式方式進行光生物調節干預

為克服體外光照於深層器官穿透效率不足之限制，部分研究藉侵入式方式將光源直接導入體內目標組織，以提升光生物調節於代謝疾病治療之作用效率。Min 等人[150]於 2022 年之研究將 GK 大鼠作為第二型糖尿病之活體模型，於十二指腸部位進行以雙波長 LED 光生物調節照射，其研究所用之波長涵蓋紅光 630 nm 與近紅外光 850 nm，如圖 1-44(A)所示，並比較單一波長與雙波長照射之效果，其結果闡明單次光生物調節可於後續 1 週至 4 週內持續改善血糖，如圖 1-44(B)所示。隔年，同一團隊進一步發展侵入式柔性有機發光二極體(organic light-emitting diode; OLED)導管，同樣以 GK 大鼠作為第二型糖尿病模式，將圓柱結構之 OLED 光源照射於十二指腸腔內 10 分鐘，如圖 1-44(C)所示。[151] 此研究所使用之波長主要位於 600–700 nm 之紅光區段，其中裝置之放光峰值約為 641 nm，半高寬約為 102 nm。研究結果揭示單次 OLED 照射十二指腸之光生物調節可顯著降低 HOMA-IR 值，如圖 1-44(D)所示，且實際照射 10 分鐘後裝置表面最高溫僅約 35.8°C，未造成顯著熱傷害風險。

綜合上述研究可得知，侵入式光生物調節干預於代謝疾病治療之發展，以十二指腸為主要照射部位之 LED 照射，延伸至具高柔性、低熱效應及均勻放光特性之 OLED 導管系統，其使用波長主要涵蓋 630 nm、641 nm 及 850 nm 之紅光至近紅外波段，照射方式則以單次與低功率密度照射為主，照射標的聚焦於十二指腸黏膜與其周邊代謝調控相關組織。雖此侵入式治療策略可有效提升深層組織之光照效率，並於血糖調控、胰島素阻抗及肝臟代謝具正向影響，然其仍須仰賴手術、導管插入或內視鏡平台進行治療，故於臨床重複操作與普遍應用上仍具限制。此亦闡明若可於維持治療效益之前提下，進一步發展非侵入式且可有效作用於代謝相關組織之光生物調節策略，將更具臨床價值。

doi:10.6342/NTU202601320

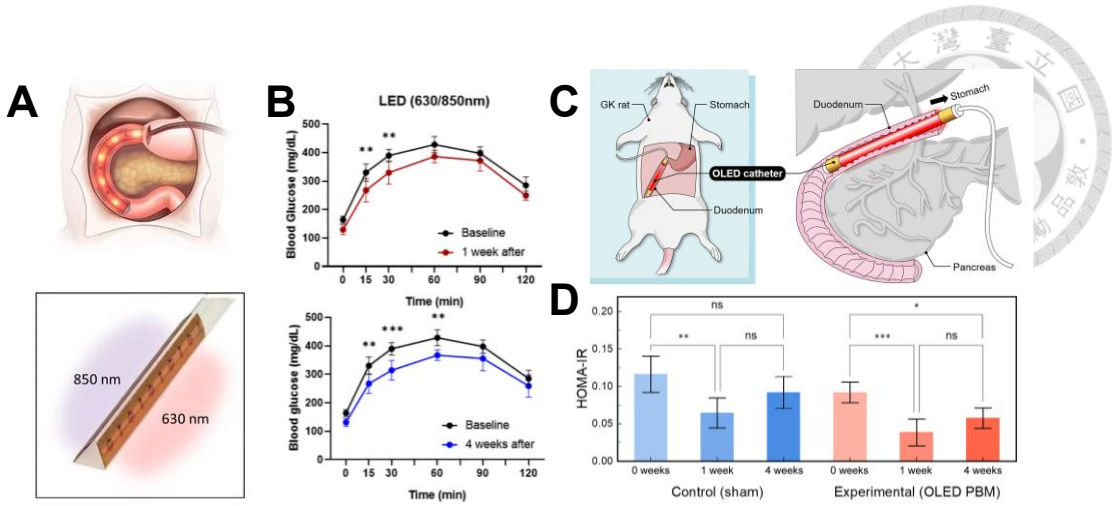


圖 1-44 雙波長之 LED 光生物調節之(A)照射示意圖與(B)葡萄糖耐受性測試結果圖與紅光 OLED 導管光生物調節照射之(C)示意圖與(D)HOMA-IR 之長條圖。[150,151]

(二) 無對應粒線體 CCO 酵素吸收峰之近紅外光

依近年相關研究之發展可得知，光生物調節應用於糖尿病與代謝異常之研究，雖多以紅光或近紅外光作為介入光源，然其所採用之波長選擇並未皆對應 CCO 之典型吸收峰，亦具不少研究著重於整體治療效應之驗證，而非以光受體吸收特性作為主要設計依據。於 2019 年，Silva 等人[152]之研究以高脂飲食誘導小鼠胰島素阻抗模型，採用紅光 630 nm、輻照度 779.5 mW/cm^2 及劑量為 31.2 J/cm^2 之光生物調節，其治療程序藉規律性介入，以每週 5 次、持續 4 週之頻率進行，總計完成 20 次照射療程，其結果揭示該干預可改善葡萄糖耐受不良、高胰島素血症、脂肪組織發炎、全身胰島素阻抗等正面效應。隔年，Moradi 等人[153]以 890 nm、1 mW/cm^2 之輻照度及劑量為 0.3 J/cm^2 之近紅外光生物調節照射第二型糖尿病大鼠之皮膚傷口，其結果揭示此近紅外光波長雖可縮小傷口面積，然於血糖調控並無正面效應。此類研究反映近紅外光於糖尿病治療之應用，多以傷口與局部修復用途，隨後，研究逐漸由局部傷口癒合延伸至代謝調控機制探討。Gong 等人[62,154]之研究以 635 nm 紅光、輻照度為 72.1 mW/cm^2 及劑量 8.0 J/cm^2 之光生物調節照射小鼠腹部區域，其研究揭示紅光照射可提升 CCO 活性、增加粒線體 ATP 及短暫 ROS 生成，如圖 1-45(A)所示，並活化 PTEN/Akt 之訊號路徑以降低自由脂肪酸之釋放、促進骨骼肌

doi:10.6342/NTU202601320

葡萄糖攝取及肝醣合成，改善高脂飲食與 db/db 小鼠之高血糖與胰島素阻抗，然該研究並未探討紅光干預後 ROS 生成之長期生物效應與潛在氧化壓力影響。

由 da Silva Tonetto 等人[155]於 2023 年揭示之研究聚焦於第二型糖尿病大鼠體內之氧化壓力與抗氧化活性變化，藉 660 nm、輻照度 571.2 mW/cm^2 及劑量 21.0 J/cm^2 之光生物調節照射大鼠後，可提升抗氧化酵素 SOD，然此照射條件未顯著降低血糖值。

於 2024 年，Powner 等人[156]探討光生物調節於人體葡萄糖代謝之潛在影響。該研究以 670 nm 紅光、輻照度為 40.0 mW/cm^2 及 36.0 J/cm^2 之劑量進行光生物調節照射於健康受試者之背部，可於口服葡萄糖耐受測試中顯著降低葡萄糖攝取後之血糖峰值，如圖 1-45(B)所示，揭示光照具抑制餐後血糖急遽上升之作用，然該研究係以健康受試者為對象，於糖尿病族群之實際治療效果仍待研究釐清。同年，Perrier 等人[157]研究探討光生物調節於 MIN6 胰島 β 細胞、大鼠胰島及胰島移植之安全性，藉 670 nm 之 LED 光源與輻照度為 2.8 mW/cm^2 之光生物調節照射時間自 5 秒至 24 小時不等，對應劑量範圍為 14 mJ/cm^2 至 241.9 J/cm^2。其結果揭示長時間之光生物調節於胰島 β 細胞存活率、胰島素分泌、粒線體膜電位、ATP/ADP 比值及體內血糖控制並無顯著毒性或促進效果，如圖 1-45(C)所示。該研究推測 CCO 為主要光受體，然研究中揭示經紅光之光生物調節後，CCO 氧消耗率並未具顯著變化，反映紅光之生物效應未必皆可以 CCO 活化充分解釋。

綜觀近年光生物調節於糖尿病與代謝異常之研究進展，可闡明研究已由局部傷口修復與組織再生，逐步延伸至全身性代謝調控與相關分子傳導機制之探討，然現今研究於波長選擇、照射條件及作用機制仍具顯著差異之問題。此外，儘管 CCO 被普遍視為光生物調節之主要光受體，其於不同波長、照射輻照度及劑量之作用機制仍未完全釐清。因近紅外光具較佳之組織穿透能力，可利於影像深層代謝相關組織，探討其於代謝調控與能量代謝相關作用機制之影響，仍具重要研究價值。

doi:10.6342/NTU202601320

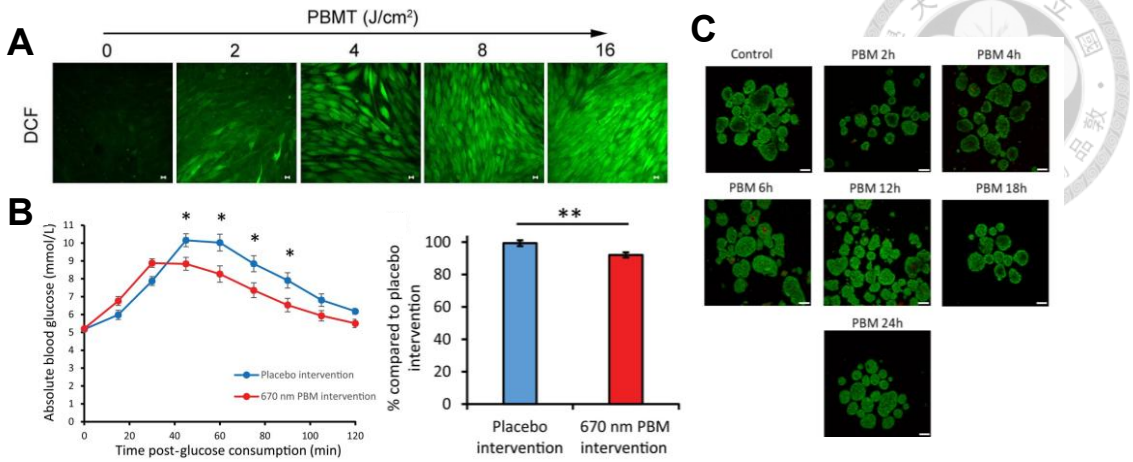


圖 1-45 (A)以 635 nm 之紅光短暫提升 ROS 含量、(B)670 nm 紅光照射健康人體之口服葡萄糖耐受性試驗結果及(C)670 nm 紅光照射胰島之存活率測試。[62,156,157]

(三) 非照射於主要代謝葡萄糖之肌肉組織

於 2020 年，Hakami 等人[158]藉健康受試者之血清樣本探討 810 nm、輻照度為 1 W/cm^2 及劑量為 60 J/cm^2 之光生物調節於照射血清後其生化指標之影響，結果揭示僅於部分樣本中具葡萄糖或血脂濃度之升降波動，闡明光生物調節之影響具個體差異，然相關機制未深入探究。同年，Guo 等人[159]之研究以 635 nm、輻照度為 72.1 mW/cm^2 及劑量為 8.0 J/cm^2 之光生物調節照射高脂飲食誘導肥胖與第二型糖尿病小鼠腹部，其治療週期為每日照射且維持 8 週，其研究推測光生物調節可藉 ROS 增加與 Ca^{2+}釋放以活化 CaMKKβ/AMPK 路徑，進而改善肥胖、高血糖、高血脂、肝臟脂肪堆積及胰島素阻抗，然該條件於肌肉組織之效應仍進一步須探討。

隔年，Bonifacio 等人[160]之研究探討 810 nm 之近紅外光、輻照度為 3.6 W/cm^2 及劑量 30.0 J/cm^2 之光生物調節照射高脂飲食誘導之糖尿病小鼠胰臟正上方之區域 4 週，以探討其於血糖恆定之影響。其結果揭示該條件可改善葡萄糖耐受與胰島素耐受，加速血糖較控制組更快回復至基線值，然其未顯著改變體重與脂肪墊重量。於 2023 年，同一團隊藉相同之參數照射藉鏈佐黴素(streptozotocin; STZ)誘導之糖尿病小鼠胰臟正上方區域，如圖 1-46(A)所示，其結果揭示可增加胰島 β 細胞數目，然其於葡萄糖耐受之改善效果仍未具顯著差異。[161]

doi:10.6342/NTU202601320

Perrier 等人[162]於 2024 年之研究將人類胰島於分離後靜置期間以 2 mW/cm^2 之 670 nm 之光生物調節照射，可於 24 小時後顯著提升胰島存活率與葡萄糖刺激下之胰島素分泌指數(insulin stimulation index)，此結果揭示此條件之光生物調節於胰島細胞保護與功能維持具應用潛力，然其於骨骼肌葡萄糖代謝之改善策略仍具差異。

於 2025 年，Nam 等人[163]之研究揭示同時整合 630 nm 紅光與約 850 nm 近紅外光之光生物調節裝置(merged red/NIR device; MRND)。研究中以 3 mW/cm^2 之功率密度、每日 2 J/cm^2 之能量密度，連續照射 9 天，結果闡明雙波長之光生物調節可顯著改善糖尿病慢性傷口癒合與活化 CCO 酵素，如圖 1-46(B)所示，然其照射期間之體重與血糖值並未明顯改變。

綜上可得知目前光生物調節於血糖代謝研究之照射目標仍具非主要負責葡萄糖攝取之骨骼肌組織。雖光生物調節可藉肝臟、胰臟、胰島等路徑於糖尿病相關病理具改善作用，然以骨骼肌作為核心照射標的，探討其於葡萄糖攝取、肝醣合成及胰島素敏感性之影響，相關研究仍相對不足。此亦揭示以骨骼肌為主要照射部位，探討近紅外光之光生物調節於糖尿病血糖控制之應用，仍具研究必要性與發展價值。

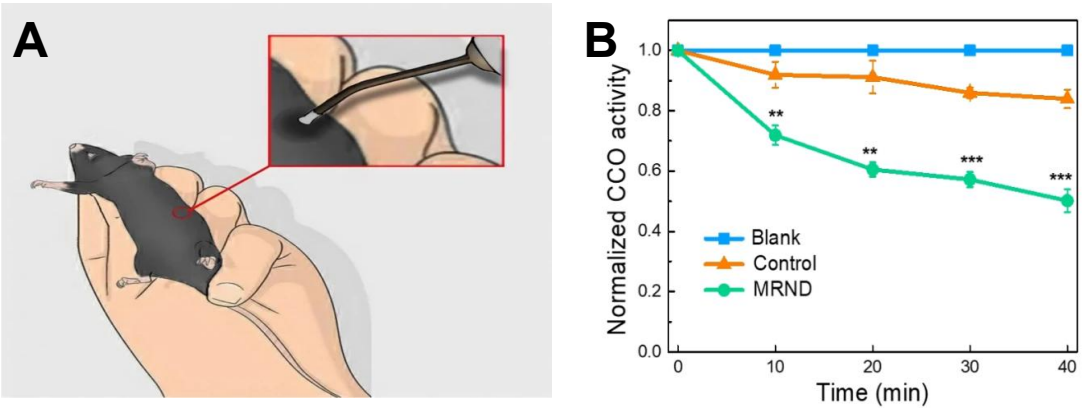


圖 1-46 (A)以 810 nm 雷射照射小鼠胰臟正上方之示意圖與(B)藉量測 cytochrome c 之 550 nm 吸收度以揭示經 MRND 照射之 CCO 活性變化。[160,163]

doi:10.6342/NTU202601320

另一方面，藉 Derwent Innovation 智慧財產分析系統所建構之論文關鍵詞聚類密度圖可揭示近紅外光之光生物調節(NIR photobiomodulation)於糖尿病相關研究之學術發展脈絡，如圖 1-47 所示。由圖中關鍵詞分布狀況可得知，現今研究主題多集中於細胞增殖(cellular proliferation)、脂質代謝(lipid metabolism)、內皮功能調控(endothelial disorder)等相關生理機制，其闡明光生物調節之研究已逐漸由光生物調節之療效驗證與現象敘述，延伸至細胞層級與代謝調控機制之探討。

然而，由密度分布亦可揭示目前研究熱區多集中於光生物調節於細胞生長、傷口癒合、組織修復、發炎相關反應等影響。相較之下，針對近紅外光之光生物調節於葡萄糖代謝相關機制之探討仍相對侷限，尤以細胞層級之葡萄糖攝取機制與人體光照後之代謝反應等層面，尚未形成明確之研究主軸。此結果揭示光生物調節已被證實可影響多種細胞生理反應，然其於葡萄糖代謝調控相關分子機制之研究仍具進一步探討之空間。

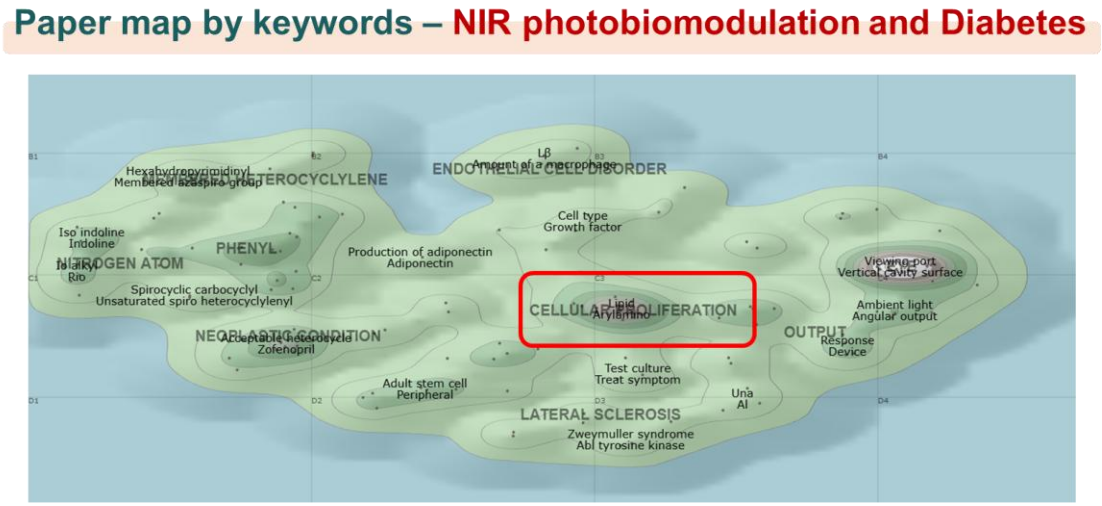


圖 1-47 藉 NIR photobiomodulation 與 Diabetes 關鍵詞之論文發展等高線地形圖。

doi:10.6342/NTU202601320

1.8. 研究動機與目的

近年，T2DM 與代謝症候群盛行率持續上升，已成為全球重要公共衛生議題。其核心病理機制與胰島素阻抗、葡萄糖利用能力下降、粒線體功能失衡及慢性高血糖密切相關，若控制不佳，將進一步引發心血管疾病、腎病變及神經病變等多重併發症。現行治療方式多以口服降血糖藥物、胰島素注射及生活型態調整為主，然仍伴隨副作用、低血糖風險及長期治療負擔等限制，故發展安全、非侵入性且具應用潛力之新穎代謝調控策略，已成為糖尿病研究之重要方向。

此外，骨骼肌為人體最主要之葡萄糖利用組織，於胰島素刺激下負責大部分葡萄糖攝取與利用，對維持血糖恆定具關鍵角色。然而，目前光生物調節於糖尿病研究多著重於傷口修復、胰臟功能或發炎改善，以骨骼肌細胞與骨骼肌組織探討近紅外光對葡萄糖利用與能量代謝影響之研究仍較缺乏。故本研究擬以非侵入式近紅外光照射骨骼肌作為策略，並結合粒線體 CCO 吸收峰進行波長設計，系統性探討近紅外光光生物調節於葡萄糖代謝調控之應用潛力。

本研究之目的，首先以 C2C12 肌管細胞建立胰島素阻抗模型，分別使用 770、810 及 940 nm 三種近紅外光波長進行照射，比較不同波長對葡萄糖攝取能力、粒線體膜電位、ATP 生成、ROS 含量及 PI3K/Akt 訊號傳遞之影響，並篩選具最佳代謝調控效果之作用波長，研究示意圖如圖 1-48 所示。

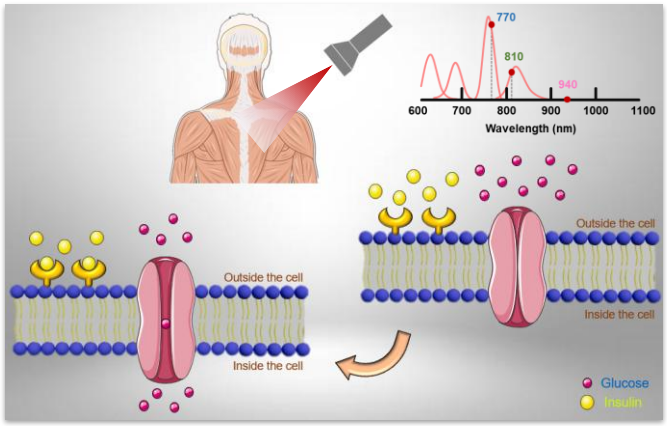


圖 1-48 近紅外光之光生物調節於血糖調控之示意圖。

doi:10.6342/NTU202601320

其次，於確立最佳作用波長後，進一步應用於健康小鼠與 db/db 第二型糖尿病小鼠，評估其於葡萄糖耐受性、胰島素敏感性及血清代謝指標之影響，以探討近紅外光於活體層級之代謝調控潛力。最後，本研究亦進行健康人體照射試驗，以初步驗證近紅外光介入對人體血糖調節之可能效益。整體研究架構涵蓋細胞、動物與人體三個層級，如圖 1-49 所示。

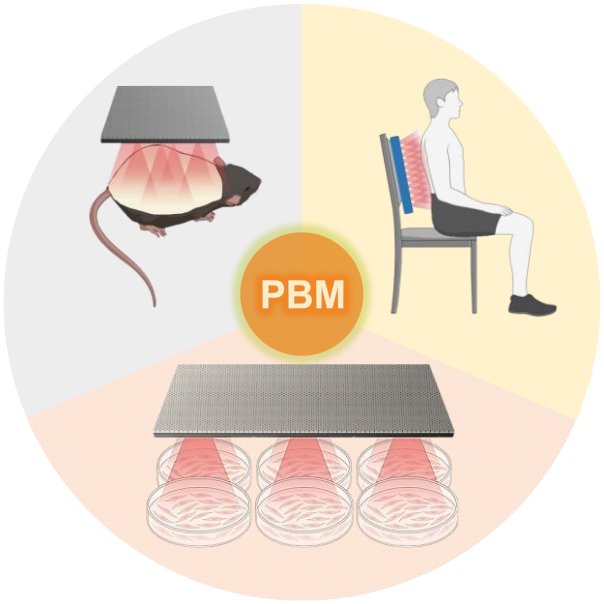


圖 1-49 本研究於細胞、動物及人體層級之光生物調節研究架構示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

本研究之新穎性於建立跨細胞、動物與人體之整合性研究模式，系統性探討近紅外光光生物調節於葡萄糖代謝調控之生物效應與應用潛力。本研究以骨骼肌細胞作為主要葡萄糖利用組織模型，深入探討不同近紅外光波長對代謝功能之影響，並進一步延伸至糖尿病動物模型與人體驗證。此外，本研究亦比較不同波長之生物效應差異，提出具最佳調控效果之作用波長，可作為未來近紅外光代謝調控裝置開發及臨床轉譯應用之重要依據。期望藉本研究成果，提供 T2MD 非藥物介入之新方向。

doi:10.6342/NTU202601320

第二章 實驗步驟與儀器分析原理

2.1. 化學藥品

本研究所使用之試劑、分子式、純度及供應商整理如表 2-1 所示。所有試劑均依廠商提供之條件與指南使用，未進一步純化或處理。

表 2-1 本研究使用之試劑。

細胞實驗使用之試劑			
試劑名稱	**分子式**	**純度/規格**	**廠牌**
阿爾瑪藍試劑 Alamar Blue reagent	N/A	N/A	Invitrogen
牛血清白蛋白 Bovine Serum Albumin (BSA)	N/A	≥ 98%	BioShop
ATP 檢測試劑盒 ATP detection assay kit	N/A	N/A	Cayman
4-胺基-5-甲基胺基-2',7'-二氟螢光素二乙酸酯 4-Amino-5-methylamino-2',7'-difluorofluorescein diacetate (DAF-FM Diacetate)	$C_{25}H_{20}F_2N_2O_7$	≥ 98%	Invitrogen
BCA 蛋白定量試劑盒 BCA protein assay kit	N/A	N/A	SMART
細胞色素 c 氧化酶活性檢測試劑盒 Cytochrome c oxidase assay kit	N/A	N/A	Abcam

doi:10.6342/NTU202601320

2-N-[(7-硝基-2,1,3-苯并噁二唑-4-基)胺基]-2-脫氧-D-葡萄糖 2-deoxy-2-[(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-yl)amino]-D-glucose (2-NBDG)	$C_{12}H_{14}N_4O_8$	≥ 98%	Cayman
2',7'-二氯二氫螢光素二乙酸酯 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate (H_2DCFDA)	$C_{24}H_{16}Cl_2O_7$	≥ 97%	Sigma-Aldrich
杜爾貝科改良鷹培養基 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)	N/A	含 HEPES 與高葡萄糖 (High glucose, with HEPES)	Gibco
杜爾貝科磷酸鹽緩衝鹽水 Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline (DPBS)	N/A	無鈣與鎂離子 Without Ca^{2+} and Mg^{2+}	Capricorn
胎牛血清 Fetal Bovine Serum (FBS)	N/A	N/A	Gibco
胰島素 Insulin	$C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$	> 99%	ChemScene
JC-10 粒線體膜電位試劑盒 JC-10 Mitochondrial membrane potential assay kit	N/A	N/A	APExBIO
粒線體超氧離子螢光探針 MitoSOX™ Red mitochondrial superoxide indicator	$C_{43}H_{43}IN_3P$	N/A	Invitrogen

doi:10.6342/NTU202601320

4%多聚甲醛磷酸緩衝溶液 4% Paraformaldehyde phosphate buffer solution	N/A	N/A	FUJIFILM
青黴素-鏈黴素抗生素混合液 Penicillin–Streptomycin (P/S)	N/A	N/A	Gibco
鬼筆環肽 Phalloidin	N/A	N/A	Invitrogen
磷脂酰肌醇三磷酸酯酶聯免疫吸附分析試劑盒 PIP_3 ELISA kit	N/A	N/A	ELK Bio-technology
曲拉通 X-100 Triton X-100	N/A	N/A	Cayman
二甲基亞碸 Dimethyl sulfoxide (DMSO)	C_2H_6OS	≥ 99.9%	Sigma-Aldrich

活體實驗使用之試劑

試劑名稱	**分子式**	**純度/規格**	**廠牌**
葡萄糖注射液 D-Glucose injection	$C_6H_{12}O_6$	20% (w/v)	信東
胰島素酶聯免疫吸附分析試劑盒 Insulin ELISA Kit	N/A	N/A	Mercodia
三酸甘油酯檢測試劑盒 Triglycerides Assay Kit	N/A	N/A	Cayman

doi:10.6342/NTU202601320

2.2. 細胞實驗

為探討近紅外光之光生物調節於葡萄糖代謝調控之潛力，本研究選用小鼠肌母細胞株 C2C12，並誘導分化為肌管細胞，進一步建立胰島素阻抗模型，以評估不同波長近紅外光於細胞能量代謝與胰島素訊號傳遞之調控能力。

2.2.1. 細胞培養與分化

C2C12 細胞株之生長培養液由具高糖與 2-[4-(2-羥乙基)哌嗪-1-基]乙烷-1-磺酸(2-[4-(2-Hydroxyethyl)piperazin-1-yl]ethane-1-sulfonic acid; HEPES) 之 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)培養基、10%胎牛血清(fetal bovine serum; FBS)及 1%青黴素/鏈黴素混合溶液(penicillin/streptomycin; P/S)組成，細胞培養於 T-75 培養瓶中，加入 10 mL 培養液，並置於 37°C 與 5% CO_2 之細胞培養箱中進行培養，且生長培養液每兩天更換一次。當細胞至高密度匯合度時進行繼代(passaging)，培養液移除後，以磷酸鹽緩衝液(phosphate buffer solution; PBS)清洗細胞一次，加入適量胰蛋白酶(trypsin)於 37°C 孵育 2–3 分鐘使細胞脫附，隨後加入含血清培養液中和胰蛋白酶作用，並將細胞離心收集後重新接種於新培養容器中持續培養，為降低不同繼代次數於實驗結果之影響，本研究皆使用第 6 代之細胞進行。

當細胞匯合度達約 80–90%時，更換生長培養液為分化培養液以分化細胞為肌管細胞。分化培養液由具高糖與 HEPES 之 DMEM、2%馬血清(horse serum)及 1% P/S 組成，並持續培養 7 天，期間每 2 天更換培養液，如圖 2-1 所示。為觀察分化完成後之細胞形態與細胞骨架分布，以鬼筆環肽(phalloidin)進行纖維形肌動蛋白(filamentous actin; F-actin) 染色，並以共軛焦雷射掃描顯微鏡藉激發波長 490 nm 與放射波長 515 nm 進行影像擷取。已完成分化之 C2C12 肌管細胞以每毫升 1×10^5 個細胞之密度接種於 96-well 或 6-well 培養盤中，並於 37°C 與 5%二氧化碳之細胞培養箱中培養 24 小時以用於後續胰島素阻抗模型建立與不同條件(Sham、770 nm、810 nm 及 940 nm)之近紅外光光生物調節研究。

doi:10.6342/NTU202601320

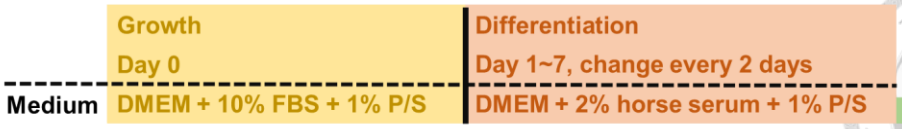


圖 2-1 C2C12 細胞生長與分化培養液之時間流程圖。

2.2.2. 細胞之胰島素阻抗誘導

本研究藉慢性暴露於胰島素誘導細胞之胰島素阻抗模型，為評估適當之胰島素處理濃度以建立穩定之模型，先進行 2-N-[(7-硝基-2,1,3-苯并噁二唑-4-基)胺基]-2-脫氧-D-葡萄糖 (2-deoxy-2-[(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-yl)amino]-D-glucose; 2-NBDG)攝取測試，其為一具螢光標記之葡萄糖類似物，如圖 2-2 所示，可經由葡萄糖轉運蛋白進入細胞內，且將不進一步被代謝而累積於細胞中，其螢光訊號可用於反映細胞之葡萄糖攝取能力。

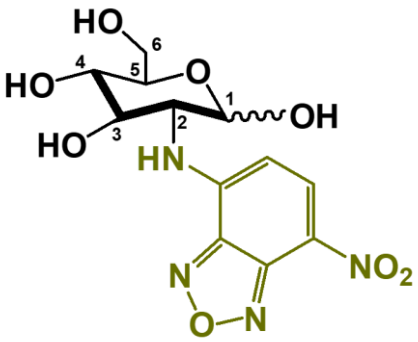


圖 2-2 葡萄糖示蹤劑 2-NBDG 之結構示意圖。

將已分化之 C2C12 肌管細胞暴露於含不同濃度胰島素(0、15、30、60、120 及 240 nM)之培養液，並持續培養 24 小時以誘導胰島素阻抗模型之建立。更換培養基為無血清之培養基並培養 16 小時以模擬飢餓狀態，隨後加入 100 nM 胰島素進行短期刺激，同時加入 2-NBDG 並孵育 1 小時，最後以多模式吸收與螢光光譜儀量測其螢光訊號(激發波長 465 nm 與放射波長 540 nm)以評估細胞葡萄糖攝取能力之變化，並據此判定胰島素阻抗模型是否成功建立，其實驗流程如圖 2-3 所示。

doi:10.6342/NTU202601320

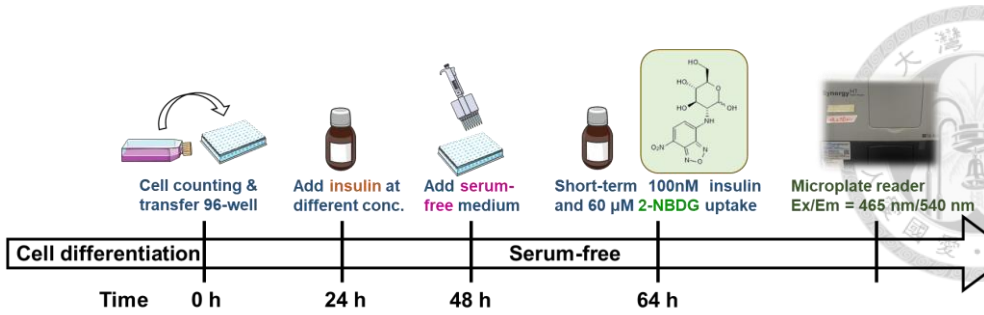


圖 2-3 胰島素誘導胰島素阻抗之優化實驗流程圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

2.2.3. 細胞生物相容性測試

為評估近紅外光之光生物調節於細胞層級之生物相容性，本研究進行細胞存活率測試，藉阿爾瑪藍(Alamar Blue)試劑以藍色且無螢光之刃天青(resazurin)於活細胞代謝作用下可被還原為粉紅色且具螢光之試鹵靈(resorufin)，以反映細胞之存活率，如圖 2-4 所示。

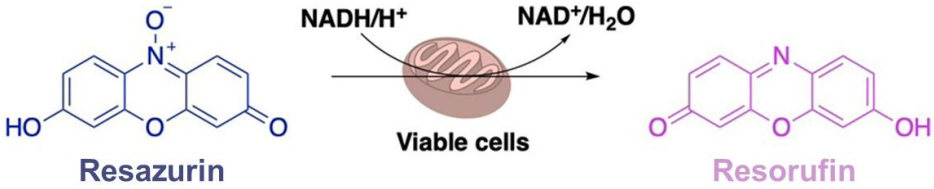


圖 2-4 阿爾瑪藍試劑之原理示意圖。

以 770、810 及 940 nm 三種不同波長之近紅外光發光二極體照射正常或具胰島素阻抗模型之細胞，照射時間為 5 分鐘，以得劑量為 9.0 J/cm^2，處理完成後，將細胞置於培養箱中培養 24 小時。其後加入體積比為 10%之 Alamar Blue 溶液，於 37°C 培養 1 小時，並以多模式吸收與螢光光譜儀量測其螢光訊號(激發波長 530 nm 與放射波長 590 nm)，以評估細胞存活率，該測試流程如圖 2-5 所示。

doi:10.6342/NTU202601320

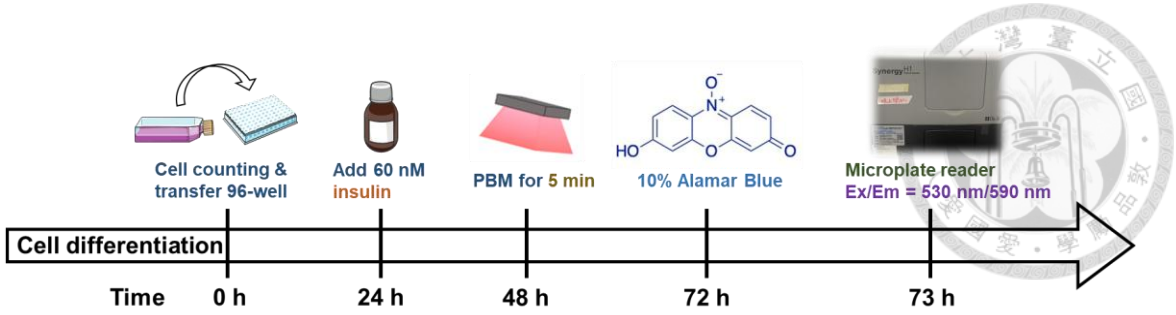


圖 2-5 細胞存活率之實驗流程圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

2.2.4. 粒線體膜電位(Mitochondrial Membrane Potential; MMP)變化測試

本研究量測粒線體膜電位之變化以評估近紅外光之光生物調節於細胞粒線體功能之影響。粒線體於正常生理狀態下進行呼吸作用，其電子傳遞鏈所產生之電化學位能可儲存於粒線體內膜兩側，形成粒線體膜電位，並作為 ATP 合成之重要驅動力。此時粒線體內膜外側帶正電，而內側帶負電，呈現極化(polarized)狀態。當粒線體功能受損時，膜電位將發生去極化(depolarization)，即膜電位負值降低，表明粒線體內外電位差減少，進而影響電子傳遞鏈效率與 ATP 生成。

粒線體膜電位之變化可藉螢光探針 JC-10 進行分析，其工作原理如圖 2-6 所示。JC-10 為具正電性之親脂性螢光染劑，可依粒線體膜電位之高低具不同型態分布，當粒線體膜電位維持於較高狀態時，JC-10 於粒線體內膜形成聚集體(aggregate)，並發射紅色螢光；反之，當膜電位下降時，JC-10 則以單體(monomer)形式存在，並發射綠色螢光，故可藉量測紅色與綠色螢光強度之比值變化，以評估粒線體膜電位之變動狀況，其中較高之螢光比值代表粒線體處於較健康之能量代謝狀態，而較低之比值則反映粒線體功能受損或能量代謝異常。

doi:10.6342/NTU202601320

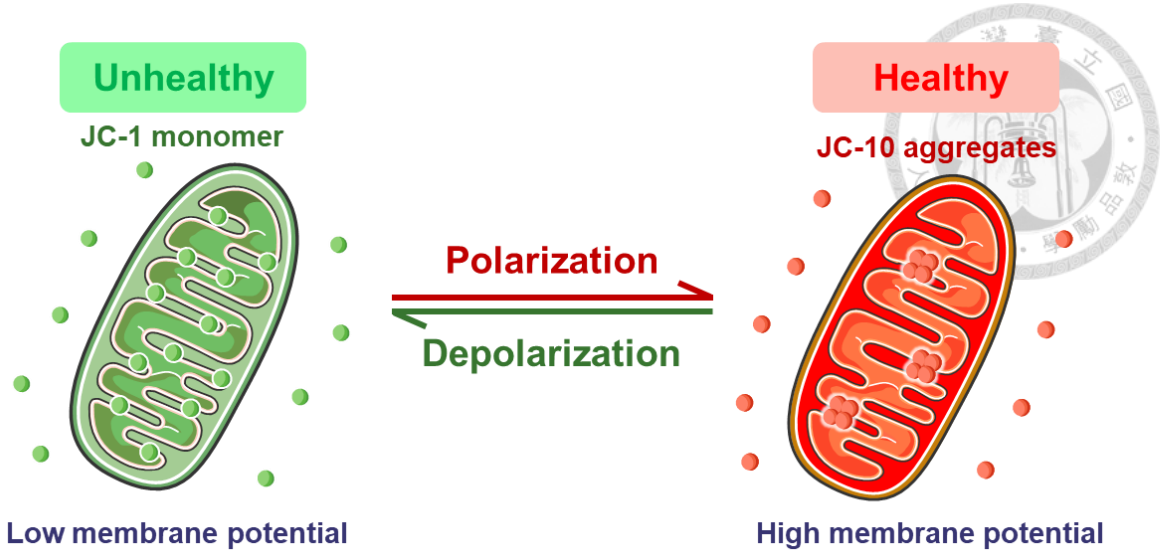


圖 2-6 JC-10 試劑之原理示意圖。(本圖之粒線體由 smart.service.com 提供)

將分化後且具胰島素阻抗 C2C12 肌管細胞以 770、810 及 940 nm 三種不同波長之近紅外光進行照射處理。處理完成後，將細胞置於培養箱中培養 24 小時。根據廠商提供之指南，加入 JC-10 染劑並於 37°C 孵育 20 分鐘，以廠商提供之染色緩衝劑(staining buffer)清洗細胞後，藉多模式吸收與螢光光譜儀量測其螢光訊號(綠色螢光訊號為激發波長 490 nm 與放射波長 525 nm；紅光螢光訊號則為激發波長 540 nm 與放射波長 590 nm)，並計算紅光與綠光螢光強度之比值以評估粒線體膜電位之變化，其實驗流程如圖 2-7 所示。

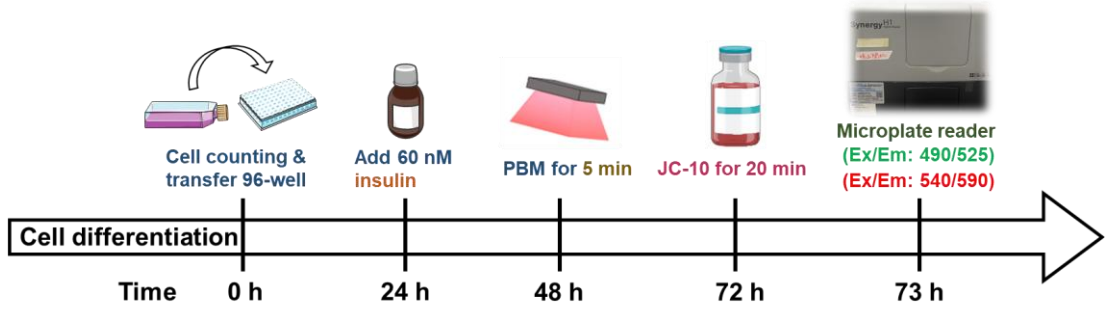


圖 2-7 粒線體膜電位變化測試流程圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

doi:10.6342/NTU202601320

2.2.5. 細胞色素 c 氧化酶(Cytochrome c Oxidase; CCO)活性測試

為評估近紅外光之光生物調節於細胞色素 c 氧化酶活性之影響，本研究使用 CCO 活性分析試劑盒進行測定，其基於還原型細胞色素 c(reduced cytochrome c; cytochrome c_{red})可於 CCO 催化下被氧化為氧化型細胞色素 c(oxidase cytochrome c; cytochorme c_{oxi})，可寫為式 2-1，此過程伴隨吸收光譜之變化。

$$4\ \text{cytochrome}\ c_{red} + 4\ H^{+} + 4\ H^{+}_{in} + O_2 \rightarrow 4\ \text{cytochrome}\ c_{oxi} + 2\ H_2O + 4\ H^{+}_{out} \quad (式\ 2\text{-}1)$$

因還原型細胞色素 c 於 550 nm 具特徵吸收峰，當其被氧化時吸光度將隨時間下降，故可藉多模式吸收與螢光光譜儀連續監測 550 nm 波長下吸光度隨時間之變化，以評估 CCO 之酵素活性，吸光度下降速率越快，代表樣品中 CCO 活性越高，如式 2-2 所示，其中ΔOD 為吸光度變化，Δt 為單位時間變化，E 為莫耳吸光係數，protein 代表加入之蛋白質含量。

$$\text{Cytochrome c oxidase activity}\left(\frac{\text{unit}}{\text{protein}}\right) = \frac{\frac{\Delta OD}{\Delta t}}{E \times \text{protein (mg)}} \quad (式\ 2\text{-}2)$$

取進行光生物調節干預後萃取之細胞蛋白樣品，依試劑盒操作說明進行分析。首先，將細胞色素 c 試劑以細胞色素氧化酶檢測緩衝液(cytochrome oxidase assay buffer)重溶，並加入 1 M 之二硫蘇糖醇(dithiothreitol; DTT)溶液進行還原反應，於室溫下反應 15 分鐘，以製備還原型細胞色素 c，隨後將其與檢測緩衝液(assay buffer)依 1:6 比例混合，作為反應試劑。

將 5 μL 蛋白質樣品加入 96-well 培養盤中，並以酵素稀釋緩衝液(enzyme dilution buffer)作為空白對照組，並於各孔中加入 120 μL 反應試劑並輕微混勻後，立即置入多模式吸收與螢光光譜儀中進行量測。於 550 nm 波長下，每 5 分鐘量測一次吸光值，持續 30 分鐘，以記錄反應過程中吸光度之變化。

doi:10.6342/NTU202601320

2.2.6. 活性氧類(Reactive Oxygen Species; ROS)含量變化測試

本研究為揭示近紅外光之光生物調節於 ROS 含量變化之影響，藉 H_2DCFDA 量測細胞內部之 ROS 含量，其為一螢光探針且不具螢光訊號，其作用原理如圖 2-8 所示，該探針可滲透至細胞內部並藉酯酶催化進行水解反應，產生無螢光之 H_2DCF，若細胞內存在活性氧類，H_2DCF 將與活性氧類反應，生成具高螢光之二氯螢光素，故細胞內 ROS 含量越高，所測得之螢光強度亦越高，藉激發波長 485 nm 與發射波長 535 nm 偵測該螢光分子，分析偵測之螢光值，即可得知細胞內部 ROS 含量變化。

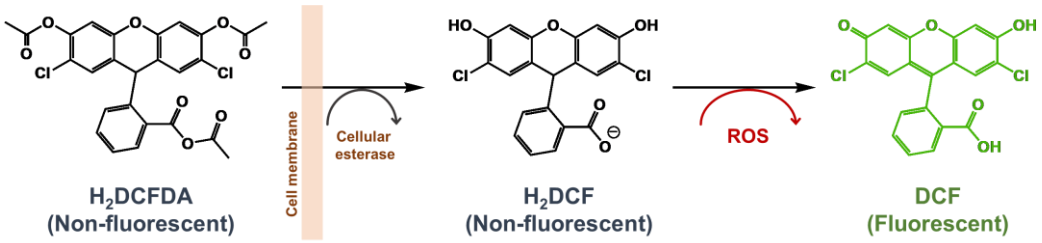


圖 2-8 螢光試劑 H_2DCFDA 之工作原理。

將完成分化之 C2C12 肌管細胞均勻播種於 96-well 培養板內，隨後置於維持 37°C 且具 5% CO_2 之培養環境中培養 24 小時。隨後進行胰島素處理 24 小時以建立胰島素阻抗模型，隨後更換為不含酚紅之培養基並加入 20 μM H_2DCFDA，將培養盤轉移至細胞培養箱中培養 30 分鐘，使染劑可進入細胞內部並充分反應，藉 770 nm、810 nm 及 940 nm 三種不同波長之近紅外光光生物調節干預 5 分鐘後，立即將細胞培養盤置於多模式吸收與螢光光譜儀並藉激發波長 485 nm 與發射波長 535 nm 進行測量，分析測得之螢光強度以揭示經不同處理之 ROS 含量變化，如圖 2-9 所示。

doi:10.6342/NTU202601320

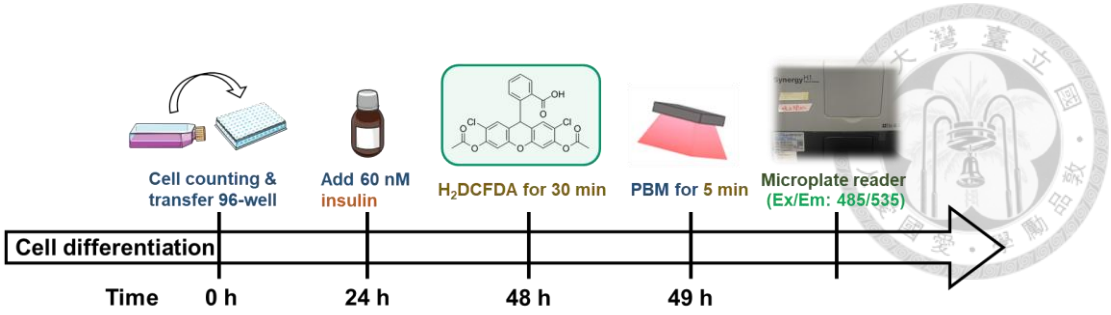


圖 2-9 ROS 含量變化測試實驗流程圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

2.2.7. 超氧化物(Superoxide)含量變化測試

本研究旨於評估近紅外光之光生物調節於粒線體超氧化物含量之影響，藉 MitoSOX™ Red 粒線體超氧化物螢光探針進行偵測，該探針之分子結構涵蓋三苯基膦(triphenylphosphonium; TPP^+)基團，具親脂性且帶正電，可選擇性累積於粒線體內，並與粒線體內之超氧化物反應產生螢光訊號。將分化後之 C2C12 肌管細胞播種於 96-well 培養板內，並置於 37°C 與具 5% CO_2 之培養環境中。其後以胰島素處理 24 小時以建立胰島素阻抗模型。處理完成後，更換為不含酚紅之培養基，並加入 5 μM MitoSOX™ Red mitochondrial superoxide indicator，於細胞培養箱中避光孵育 10 分鐘。隨後以不同波長(770 nm、810 nm 及 940 nm)進行光生物調節照射 5 分鐘，可得劑量為 9.0 J/cm^2，照射後將培養盤置於多模式吸收與螢光光譜儀中，於激發波長 396 nm 與發射波長 610 nm 條件下進行量測，流程如圖 2-10 所示，最後藉分析螢光強度，以評估不同處理條件下粒線體超氧化物之變化狀況。

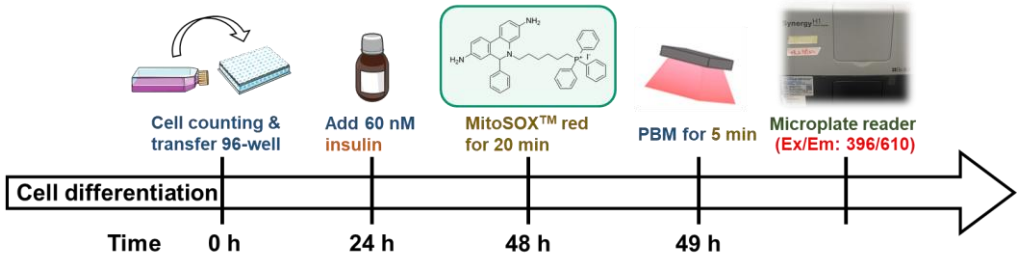


圖 2-10 超氧化物含量變化測試流程圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

doi:10.6342/NTU202601320

2.2.8. 細胞三磷酸腺苷(Adenosine 5'-triphosphate; ATP)含量變化測試

本研究藉冷發光(luminescence)法之 ATP 檢測試劑盒(ATP detection assay kit)進行分析，其原理藉螢火蟲螢光素(D-luciferin)、ATP 及氧氣可於螢光素酶(luciferase)與鎂離子(Mg^{2+})催化下進行反應，生成氧化螢光素(oxyluciferin)、二氧化碳、腺苷單磷酸(adenosine monophosphate; AMP)及焦磷酸鹽(pyrophosphate; PP_i)，並同時釋放冷發光訊號，其工作原理如圖 2-11 所示。該發光強度與 ATP 濃度呈正相關，故可藉多模式吸收與螢光光譜儀量測其冷發光訊號以定量細胞內 ATP 含量。

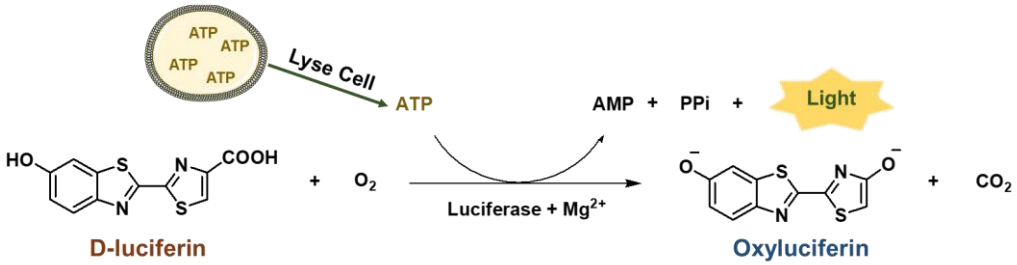


圖 2-11 偵測細胞內 ATP 之原理示意圖。

將分化完成之 C2C12 肌管細胞接種於 96-well 培養盤中，並於 37°C 與 5% CO_2 之培養環境下培養至穩定狀態後，加入 60 nM 胰島素進行慢性處理 24 小時以建立胰島素阻抗細胞模型。隨後，分別以波長 770 nm、810 nm 及 940 nm 之近紅外光進行光生物調節照射 5 分鐘，其對應能量劑量為 9 J/cm^2，照射結束後，加入 100 µL 之檢測樣品緩衝液(detection sample buffer)裂解細胞，使細胞內 ATP 釋放至溶液中，接著依試劑盒說明將檢測反應緩衝液(detection assay buffer)、ATP 檢測用螢光素(ATP detection D-luciferin)及 ATP 檢測用螢光素酶(ATP detection luciferase)以 1：5：1 比例混合配製為反應混合液(reaction mixture)。取 10 µL 細胞裂解液與 100 µL reaction mixture 混合後，於室溫避光條件下反應 15 分鐘，最後以多模式吸收與螢光光譜儀量測其冷發光訊號，並依發光強度推算細胞內 ATP 含量之變化。

doi:10.6342/NTU202601320

2.2.9. 細胞訊號通路分析

為探討近紅外光之光生物調節於胰島素訊號傳遞之影響，本研究以西方墨點法(Western blotting)與酶聯免疫吸附測定(enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA)分析關鍵訊號蛋白之表現變化，著重於 IRS-1/PI3K/Akt 訊號通路之調控。

2.2.9.1. 西方墨點法(Western Blotting)

將已分化之 C2C12 肌管細胞接種於 6-well 培養盤中並培養至穩定狀態，隨後加入含 60 nM 胰島素之培養基進行慢性處理 24 小時以建立胰島素阻抗模型。處理完成後，進行光生物調節處理 5 分鐘可得劑量為 9.0 J/cm^2 或加入 100 nM 胰島素進行短期刺激，並於培養箱中培養 15 分鐘。其後加入具蛋白酶抑制劑(protease inhibitor)與磷酸酶抑制劑(phosphatase inhibitor)之 RIPA 裂解緩衝液(radioimmunoprecipitation assay buffer)，使細胞充分裂解並釋放胞內蛋白質，經刮取細胞後將裂解液收集於離心管中，於 4°C 條件下震盪反應並進一步以高速離心分離細胞碎片，最後取其上清液作為總蛋白樣品。

為確保後續分析中各樣品之蛋白質上樣量一致，藉 BCA 蛋白質定量試劑測定其濃度，並依據測得之蛋白質濃度計算各樣品之上樣量。將各樣品加入含 DTT 之上樣緩衝液後進行高溫變性處理，使蛋白質完全展開，隨後藉十二烷基硫酸鈉-聚丙烯醯胺凝膠電泳(sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis; SDS-PAGE)使不同分子量之蛋白質依其大小分離，因凝膠結構較為脆弱且不易直接進行抗體反應，故將分離後之蛋白質轉印至聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene difluoride; PVDF)上以提升操作穩定性與偵測效率。轉印完成後，先以含 5%脫脂奶粉之 TBST 溶液進行封閉處理，以降低非特異性結合，接著依序加入目標蛋白之一級抗體(如 phospho-Akt Ser473 兔子多株抗體 1:100 稀釋液與 total Akt 兔子多株抗體 1:1000 稀釋液)與內參蛋白(GAPDH 小鼠單株抗體 1:2000 稀釋液)於 4°C 條件下反應過夜，經洗滌後再加入對應之二級抗體(山羊抗兔 IgG 與山羊抗鼠 IgG)進行孵育。最終藉

doi:10.6342/NTU202601320

化學冷光法(enhanced chemiluminescence; ECL)顯影，並使用影像系統擷取蛋白訊號，以分析各組別間之蛋白表現差異。

2.2.9.2.磷脂醯肌醇-3,4,5-三磷酸(Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate; PIP_3)含量分析

本研究以酵素結合免疫吸附分析法(enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA)探討近紅外光之光生物調節於細胞內 PIP_3 含量之影響，因 PIP_3 屬於分子量較小之脂質分子，無法同時與兩抗體形成「三明治結構」，故適用競爭型分析。其原理如圖 2-12 所示，樣品中之 PIP_3 與具辣根過氧化酶(horseradish peroxidase; HRP)標記之 PIP_3 共同競爭固著抗體之結合位。當樣品中 PIP_3 含量較高時，HRP 標記抗原之結合量降低；反之，當樣品中 PIP_3 含量較低時，HRP 標記抗原之結合量增加。於洗滌去除未結合物後，加入顯色受質 3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine; TMB)，於 HRP 催化下產生藍色產物，並於加入終止液後轉為黃色之二亞胺(diamine)，如圖 2-13 所示。最終於 450 nm 測定吸光值，且其訊號與 PIP_3 濃度呈反比關係。

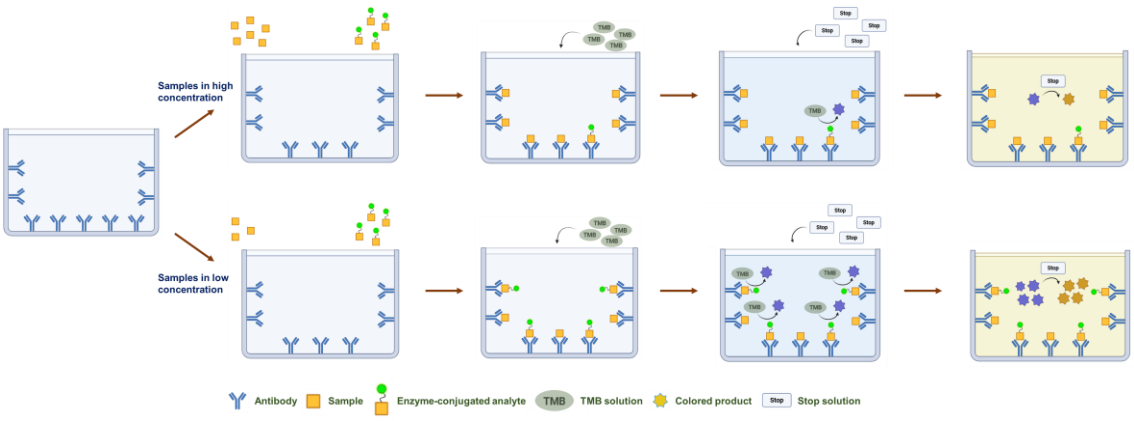


圖 2-12 競爭法之原理示意圖。

doi:10.6342/NTU202601320

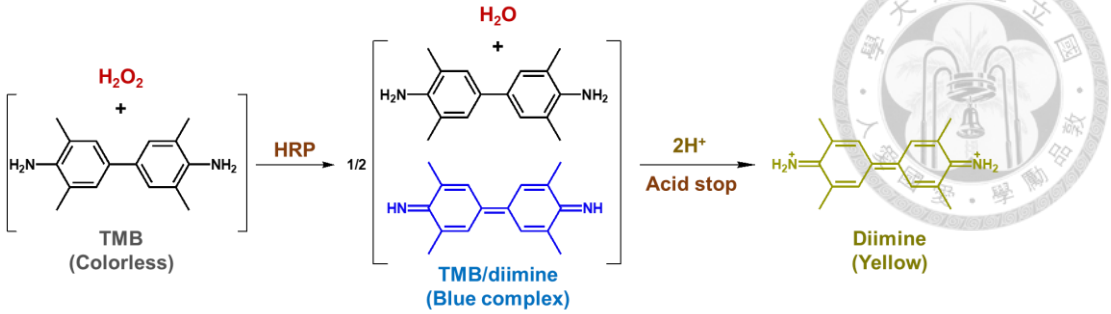


圖 2-13 HRP 催化下 TMB 之顯色反應機制示意圖。

將已分化之 C2C12 肌管細胞接種於 96-well 培養盤，並於 37°C 與 5% CO_2 之培養箱中培養 24 小時。隨後以胰島素處理 24 小時以建立胰島素阻抗模型。處理完成後，依不同波長(770 nm、810 nm 及 940 nm)進行光生物調節照射 5 分鐘，得劑量為 9.0 J/cm^2。於照射後收集細胞樣品，依試劑盒操作流程加入至預先包被(coating)抗體之微孔盤中，並加入 HRP 標記抗原進行競爭反應。經洗滌與顯色反應後，藉多模式吸收與螢光光譜儀於 450 nm 量測吸光值，並藉由標準曲線換算各組樣品中 PIP_3 之含量，以比較不同處理條件下之變化。

2.2.10. 流式細胞儀分析

將已分化之 C2C12 肌管細胞以每毫升 1×10^6 顆細胞之濃度於 6-well 培養盤中於 37°C 與 5% CO_2 之細胞培養箱中培養 24 小時，隨後進行胰島素處理 24 小時，以建立胰島素阻抗模型。處理完成後，進行不同波長之光生物調節照射 5 分鐘，以得總能量密度為 9.0 J/cm^2。照射完成後於不同單位時間加入 H_2DCFDA 於細胞中進行染色，並於 37°C 培養箱中孵育 30 分鐘，以 trypsin 將細胞自培養盤中分離，並經 1500 rpm 離心與 PBS 重懸步驟去除殘留雜質，最後將細胞懸浮液置於流式細胞儀進行量測，並分析細胞內螢光訊號強度，以評估不同處理條件下之活性氧類含量變化。

doi:10.6342/NTU202601320

2.2.11. 共軛焦顯微鏡分析

共軛焦雷射掃描顯微鏡樣品之製備為將已分化之 C2C12 肌管細胞以每毫升 1×10^6 顆細胞之濃度接種於具蓋玻片之 6-well 培養盤中，並於 37°C 與 5% CO_2 之細胞培養箱中培養 24 小時。隨後進行胰島素處理 24 小時以建立胰島素阻抗模型，並進行不同波長(770 nm、810 nm 及 940 nm)之光生物調節照射 5 分鐘，可得劑量為 9.0 J/cm^2。照射完成後，依研究需求加入不同螢光探針進行染色，涵蓋粒線體膜電位探針 JC-10、葡萄糖攝取探針 2-NBDG、一氧化氮檢測探針及粒線體超氧化物探針 MitoSOX Red，以評估細胞能量代謝、葡萄糖利用及氧化壓力相關變化。各染劑依其建議條件於 37˚C 培養箱中孵育適當時間後，以 PBS 清洗以去除未結合染劑。

其中，一氧化氮量測採用螢光探針 4-氨基-5-甲氨基-2',7'-二氟螢光素二乙酸酯(4-amino-5-methylamino-2',7'-difluorofluorescein diacetate; DAF-FM DA)，其工作原理如圖 2-14 所示，該試劑不具螢光訊號，然可滲透至細胞內部並藉酯酶催化進行水解反應，產生不具穿透細胞膜之能力與較低螢光之 4-氨基-5-甲氨基-2',7'-二氟螢光素(4-amino-5-methylamino-2',7'-difluorofluorescein; DAF-FM)。若細胞內存在一氧化氮，DAF-FM 將與一氧化氮反應，生成具高螢光之三氮唑衍生物(Benzotriazole derivative)，藉激發波長 485 nm 與發射波長 515 nm 偵測該具螢光之分子，分析偵測之螢光值，即可得知細胞內部一氧化氮含量變化。

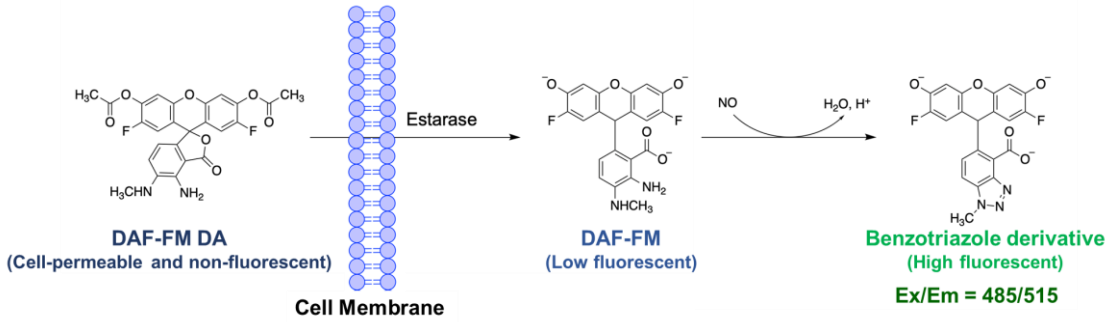


圖 2-14 DAF-FM DA 之工作原理示意圖。

doi:10.6342/NTU202601320

其後，藉 4%多聚甲醛(paraformaldehyde; PFA)溶液於室溫下固定 10 分鐘以維持細胞結構，再以 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole; DAPI)進行細胞核染色。將培養盤中之蓋玻片取出，並將具細胞之面反轉覆蓋於具螢光封片膠(mounting medium)之載玻片上以完成樣品製備，藉共軛焦雷射掃描顯微鏡進行影像擷取與分析，流程如圖 2-15 所示，最終，藉 ImageJ 軟體進行螢光強度之定量分析。

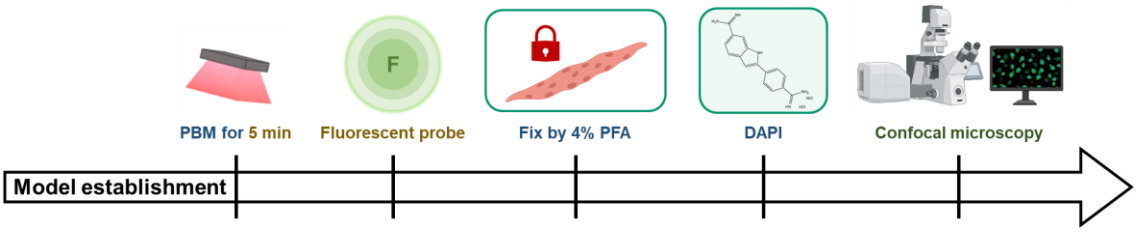


圖 2-15 共軛焦雷射掃描顯微鏡之樣品製備流程示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

此外，本研究亦藉細胞免疫螢光染色(Immunofluorescence staining)揭示目標蛋白於細胞內之表現與分布狀況。待建立胰島素阻抗與光照處理後，加入 4% PFA 於室溫固定細胞 10 分鐘，以 PBS 清洗細胞 3 次以去除殘餘固定液，隨後，加入 0.1% Triton X-100 於室溫進行細胞膜通透化處理 5 分鐘，以利抗體進入細胞內部，再次以 PBS 清洗 3 次。藉 1%牛血清白蛋白(bovine serum albumin; BSA)之 PBS 溶液於室溫封閉非特異性結合位點約 60 分鐘，封閉完成後，加入適當稀釋之一級抗體於 4°C 下避光孵育過夜，使其專一性結合目標蛋白。翌日以 PBS 清洗 3 次，每次 5 分鐘以去除未結合抗體，隨後加入對應之螢光標記二級抗體與 DAPI 進行細胞核染色，於室溫避光孵育 1 小時。二級抗體反應完成後，再以 PBS 清洗 3 次，將樣品封片並置於共軛焦雷射掃描顯微鏡下進行影像擷取，分析目標蛋白之表現與細胞內定位。

doi:10.6342/NTU202601320

2.3. 動物實驗

本研究為評估近紅外光光之生物調節於第二型糖尿病之血糖調控與代謝功能影響，藉實驗小鼠作為動物模型進行活體實驗分析。所有動物實驗程序皆依據相關動物實驗倫理規範進行，並經國立陽明交通大學實驗動物照護與使用委員會(Institutional Animal Care and Use Committee; IACUC)審核通過(核准編號：No. 1141205)。

實驗動物選用第二型糖尿病模型小鼠 $Lepr^{db/db}$ 小鼠，並以同品系正常小鼠作為對照組。所有小鼠飼養於標準動物房環境(溫度約 22±2°C，相對濕度 50–60%，12 小時明暗循環)，並提供自由取食與飲水。

於研究期間，依研究設計對小鼠進行假處理與 770 nm 之近紅外光照射處理一週且每天進行一次照射，並評估其於血糖調控能力與胰島素敏感性之影響。相關代謝功能測試涵蓋葡萄糖耐受性試驗(glucose tolerance test; GTT)、胰島素耐受性試驗(insulin tolerance test; ITT)及血液分析，研究流程如圖 2-16 所示。以下各節將分別說明糖尿病動物模型建立、各項生理及血液分析方法。

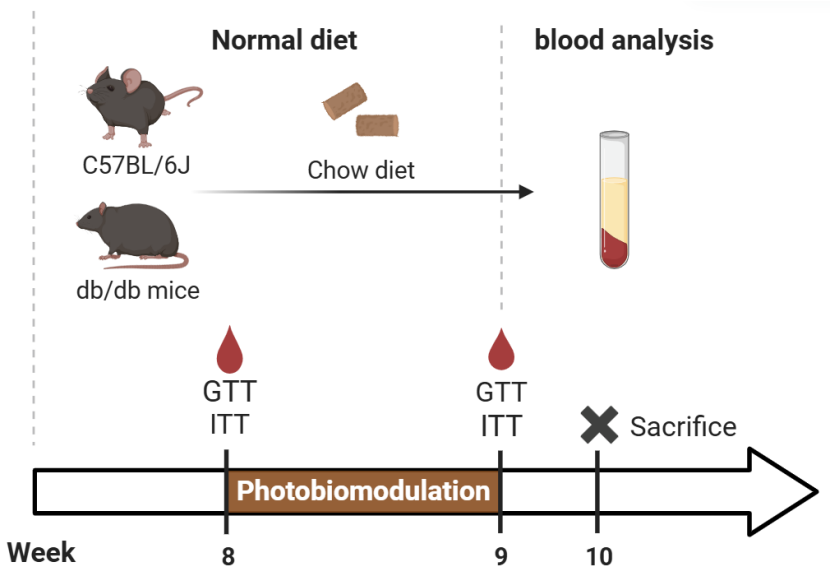


圖 2-16 活體實驗流程示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

doi:10.6342/NTU202601320

2.3.1. 糖尿病二型小鼠模型建立

本研究以 db/db 小鼠作為第二型糖尿病之動物模型，並以同品系之 C57BL/6J 正常小鼠作為對照組，db/db 小鼠因瘦素受體(leptin receptor)基因突變，導致攝食增加，而具肥胖、高胰島素血症、高血糖等典型第二型糖尿病表型。db/db 小鼠於第 7 週齡時購入，適應性飼養一週後開始進行研究。於非禁食狀態下藉羅氏逸智血糖機(Accu-Chek instant)以尾靜脈採血偵測小鼠之血糖濃度，以評估糖尿病模型之建立狀況，當隨機血糖值(random blood glucose level)穩定高於 300 mg/dL 時，即判定為具第二型糖尿病，並進行後續實驗處理與分析。

2.3.2. 葡萄糖耐受性試驗(Glucose Tolerance Test; GTT)

為評估近紅外光之光生物調節對小鼠葡萄糖代謝能力之影響，本研究進行葡萄糖耐受性試驗(glucose tolerance test; GTT)。於研究前將小鼠背部毛髮剃除後以利後續光生物調節照射，於測試前，小鼠須禁食 16 小時並可自由飲水，以降低食物於血糖之干擾。禁食後，進行假處理 5 分鐘，隨後立即測量基準血糖值。依小鼠體重以 2 mg/g 之劑量進行腹腔注射(intraperitoneal injection) 20% (w/v)葡萄糖溶液，可藉式 2-3 計算所須之微升數。於葡萄糖注射後，分別於 15、30、60 及 120 分鐘自小鼠尾靜脈採血，並藉羅氏逸智血糖機測量血糖濃度。

$$10 \times \text{body weight (g)} = \text{Volume of injection (μL)} \qquad \text{(式 2-3)}$$

隨後開始近紅外光之光生物調節照射小鼠背部 5 分鐘，可得出光劑量為 18.0 J/cm^2，於第一週與第四週後再次進行 GTT 並依據各時間點之血糖變化，繪製血糖變化曲線，並進一步計算曲線下面積(area under the curve; AUC)，以評估各組間葡萄糖耐受能力之差異，該流程如圖 2-17 所示。

doi:10.6342/NTU202601320

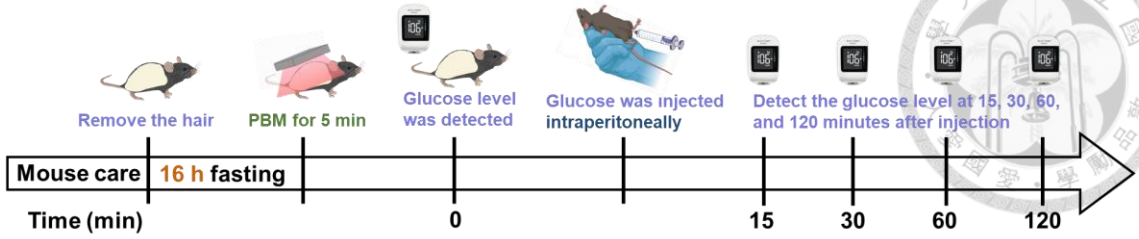


圖 2-17 葡萄糖耐受性試驗之流程示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

2.3.3. 胰島素耐受性試驗(Insulin Tolerance Test; ITT)

為評估近紅外光之光生物調節於小鼠胰島素敏感性之影響，本研究進行胰島素耐受性試驗(insulin tolerance test; ITT)。於測試前，小鼠須禁食 4 小時以降低進食於血糖之干擾，隨後進行假處理 5 分鐘，並立即測量基準血糖值，依小鼠體重以 0.6 U/kg 之劑量進行腹腔注射胰島素。注射後，分別於 15、30、60 及 120 分鐘自小鼠尾靜脈採血，並藉羅氏逸智血糖機測量血糖濃度。隨後開始近紅外光之光生物調節照射小鼠背部 5 分鐘，可得出光劑量為 18.0 J/cm^2，於第一週與第四週後再次進行 ITT 並依據各時間點之血糖變化，繪製血糖下降曲線，並計算曲線下面積，以評估各組間胰島素敏感性之差異，流程如圖 2-18 所示。

一般而言，血糖下降幅度越大或 AUC 數值越低，代表小鼠於胰島素之反應越佳，即胰島素敏感性較高。該實驗流程與 GTT 相似，僅於施打之藥物種類與生理意義存在差異。

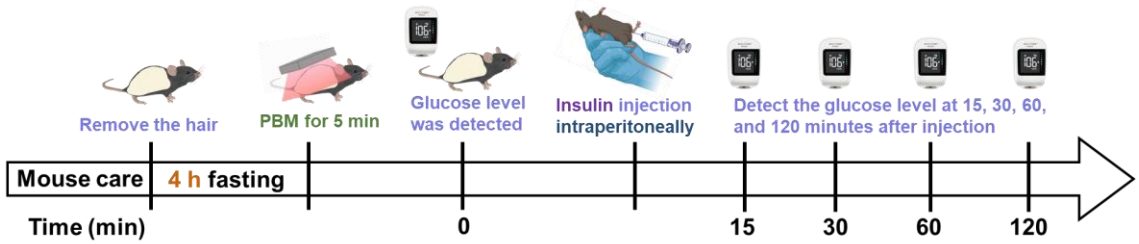


圖 2-18 胰島素耐受性試驗之流程示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

doi:10.6342/NTU202601320

2.3.4. 血清(serum)分析

本研究藉血清分析經近紅外光之光生物調節後，三酸甘油酯(triglyceride)、自由脂肪酸(free fatty acid)及胰島素濃度變化。首先，採集以頷下取血收集照光前、維持光生物調節一週及四週之血液，置於室溫 30 分鐘使血液凝固，以 3000 rpm 離心 10 分鐘，取上澄清溶液並保存於−20°C，待樣品收集完畢後，進行後續生化分析，以評估不同處理條件下之代謝指標變化。

2.3.4.1. 三酸甘油酯(Triglyceride; TG)含量分析

三酸甘油酯(triglyceride; TG)之含量係使用三酸甘油酯比色分析試劑盒進行測定。其原理為藉脂肪酶(lipase)將樣品中之三酸甘油酯水解為甘油(glycerol)與自由脂肪酸(free fatty acid; FFA)，所釋放之甘油再藉耦合酵素反應系統進行定量分析。首先，甘油經甘油激酶(glycerol kinase)轉換為甘油-3-磷酸(glycerol-3-phosphate; G3P)，隨後由甘油磷酸氧化酶(glycerol phosphate oxidase)氧化生成二羥基丙酮磷酸與過氧化氫(H_2O_2)。最後，於過氧化酶(peroxidase)催化下，H_2O_2、4-胺基安替比林(4-aminoantipyrine; 4-AAP)及 N-乙基-N-(3-磺丙基)-m-苯甲氧基苯胺(N-Ethyl-N-(3-sulfopropyl)-m-anisidine sodium; ESPA)反應生成紫色產物，並於 540 nm 波長下量測其吸光值。為進行定量分析，配置不同濃度之標準品建立校正曲線(standard curve)，以吸光值對應濃度進行線性回歸分析，並據此換算樣品中三酸甘油酯之濃度，以評估近紅外光之光生物調節於血清內三酸甘油脂含量變化之影響。

2.3.4.2. 自由脂肪酸(Free Fatty Acid; FFA)含量分析

自由脂肪酸(free fatty acid; FFA)之含量測量係藉分析試劑盒進行測定。為進行定量分析，以棕櫚酸(palmitic acid)標準品配製不同濃度之標準溶液，建立校正曲線。各標準品與樣品均調整至 50 μL 體積，並加入 ACS 試劑後於 37°C 反應 30 分鐘，

doi:10.6342/NTU202601320

隨後加入反應混合液並於避光條件下進一步反應 30 分鐘。反應完成後，藉多模式吸收與螢光光譜儀於 570 nm 波長下量測吸光值，並藉線性回歸分析計算樣品中自由脂肪酸含量，以評估近紅外光之光生物調節於血清內自由脂肪酸含量變化之影響。

2.3.4.3. 胰島素含量分析

血清中胰島素濃度藉酵素連結免疫吸附分析法試劑盒(enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA)進行測定。本試驗採用夾心式免疫分析法(sandwich ELISA)，藉固定於微孔盤表面之捕捉抗體專一性結合樣品中之胰島素分子，並以酵素標記抗體進一步形成抗體-抗原-抗體之複合結構，最終藉顯色反應進行定量分析。

實驗前所有試劑與樣品均回溫至室溫，將標準品、對照組及樣品各取 10 µL 加入微孔盤中，隨後加入 100 µL 酵素結合物溶液，於室溫條件下以震盪器(700–900 rpm)孵育 2 小時，使反應充分進行並提升結合效率。孵育完成後，以洗滌液進行多次清洗去除未結合之物質，以降低背景訊號干擾。隨後加入 200 µL 之 TMB 受質進行顯色反應，並於室溫下反應 15 分鐘後加入 50 µL 終止液終止反應，使顏色由藍色轉為黃色。最後於 450 nm 波長下量測吸光值，並於 30 分鐘內完成讀值，以確保數據準確性。

為進行定量分析，依據標準品建立校正曲線，並以吸光值對應濃度進行回歸分析，以換算樣品中胰島素之實際濃度。本研究進一步比較不同處理條件下之胰島素濃度變化，以評估近紅外光光生物調節對血清中胰島素濃度之影響，並探討其於葡萄糖代謝調控中之潛在作用機制。此外，所測得之空腹胰島素濃度可結合空腹血糖值進行 HOMA-IR 計算，以評估胰島素阻抗程度，藉比較不同處理組之 HOMA-IR 變化，可進一步探討近紅外光光生物調節於改善胰島素阻抗之影響。

doi:10.6342/NTU202601320

2.4. 人體試驗

本研究為評估近紅外光之光生物調節於人體之血糖調控與代謝功能影響，進行人體試驗分析。所有人體試驗皆依據相關倫理規範執行，並經國立臺灣大學行為與社會科學研究倫理委員會(institutional review board; IRB)審核通過(核准編號：No. 202507HM053)，所有受試者於參與研究前均充分瞭解研究目的、流程及可能風險，並於自願情況下簽署知情同意書後始納入本研究。

2.4.1. 口服葡萄糖耐受性試驗(Oral Glucose Tolerance Test; OGTT)

本研究於人體試驗中進行口服葡萄糖耐受性試驗(oral glucose tolerance test; OGTT)，以評估近紅外光之光生物調節於人體血糖調控之影響。受試者於納入研究前須確認無代謝相關疾病史，若於研究期間具異常血糖表現(如空腹血糖值大於 100 mg/dL 或 OGTT 2 小時血糖值大於 140 mg/dL)，則予以排除，以維持研究族群之同質性並提升實驗結果之準確性與可解釋性。

本研究期間為 14 日，以連續血糖監測儀(continuous glucose monitoring; CGM)即時記錄血糖變化。受試者須於上臂外側穿戴亞培廠牌之 CGM 裝置，並藉手機應用程式(LibreLink)進行啟動與數據紀錄，於裝置啟動後每 8 小時進行掃描以獲取血糖數據。研究人員可藉 LibreLinkUp 系統接收血糖資訊，並以編碼方式管理受試者資料，以確保個人隱私與數據安全。

於 CGM 啟動後第三日，受試者須進行至少 8 小時之隔夜空腹，並於隔日上午進行 OGTT 試驗。開始前，受試者於未啟動近紅外光照射之條件下，將背部貼附於光照裝置並靜置 15 分鐘作為假處理組。隨後受試者須於 5 分鐘內飲畢具 75 g 葡萄糖之 250 mL 水溶液，並持續監測 2 小時內血糖變化。

於間隔 7 日後，受試者再次進行相同實驗流程，惟於實驗開始前進行近紅外光照射背部肌肉 15 分鐘作為光照組(波長 770 nm，平均輻照度 18.4 mW/cm^2，能量密度約 16.6 J/cm^2)，再進行 OGTT 測試並比較其血糖反應。為降低個體差異於實

doi:10.6342/NTU202601320

驗結果之影響，本研究採以同一受試者於不同時間點接受假處理與光照處理之設計，試驗流程如圖 2-19 所示。

此外，為降低外在干擾因素於血糖結果之影響，受試者於試驗前應避免劇烈運動、酒精攝取及含咖啡因或高糖飲食，並於研究期間維持規律作息與飲食習慣。血糖數據將用於後續分析，涵蓋血糖變化曲線、峰值血糖(peak glucose)、曲線下面積(area under the curve; AUC)等指標，以全面評估近紅外光之光生物調節於葡萄糖代謝之影響。

綜上所述，本研究藉比較假處理組與光照組之血糖動態變化，進一步探討近紅外光之光生物調節於人體葡萄糖耐受性與代謝功能調控能力，並評估其於代謝相關疾病應用之可行性。預計招募受試者共 12 人，以進行相關分析。

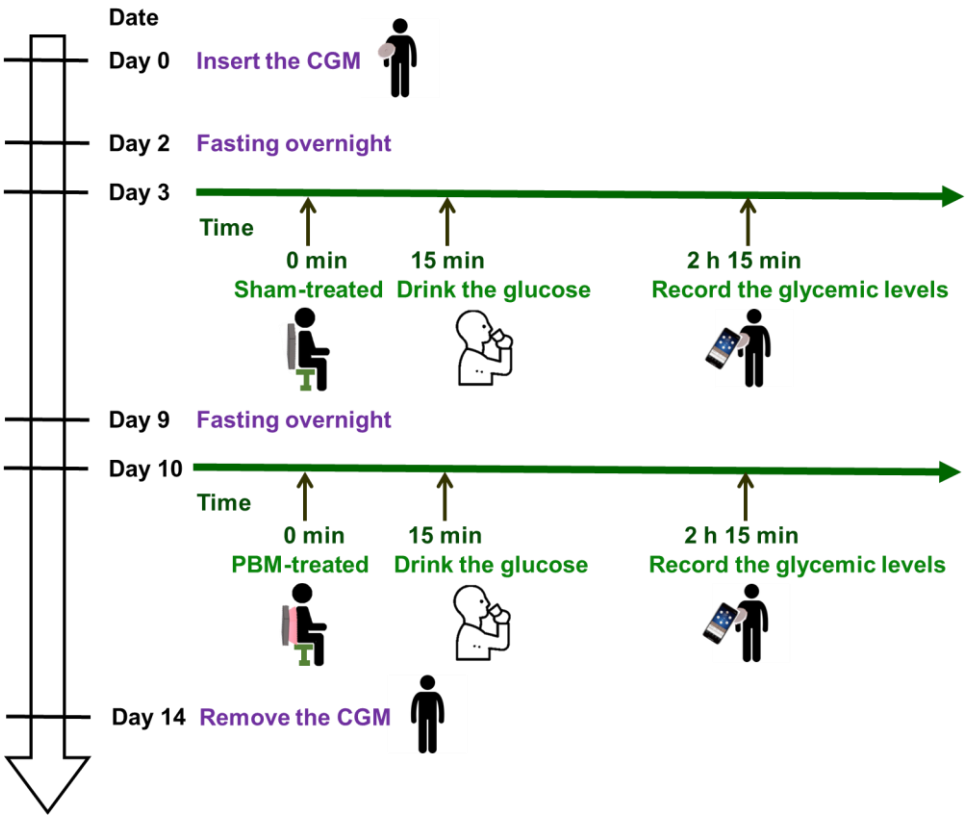


圖 2-19 人體試驗流程示意圖。

doi:10.6342/NTU202601320

2.5. 儀器原理

本研究藉各儀器分析技術以系統性評估近紅外光之光生物調節於胰島素阻抗之代謝相關指標與細胞訊號傳遞之影響。本節將針對各項實驗所使用之儀器設備，其基本操作原理與量測機制進行介紹，涵蓋吸光值量測原理、酵素反應偵測機制、免疫分析技術、影像分析方法等，以利後續研究結果之理解與討論，所使用之儀器如圖 2-20 所示。

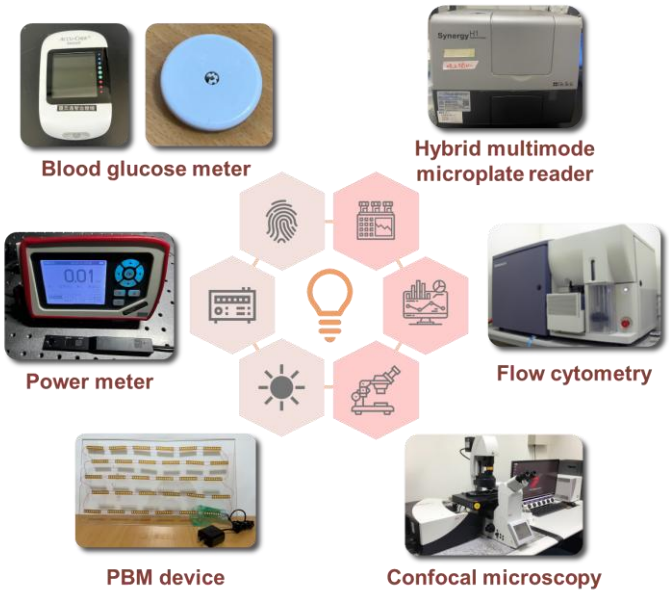


圖 2-20 本研究所用之儀器圖。

2.5.1. 光功率計(Optical Power Meter; OPM)

光功率計(optical power meter; OPM)由宋孔彬教授實驗室提供，主要由控制器(console)與偵測器(sensor)兩部分組成。控制器負責訊號處理、數據轉換及結果顯示，而偵測器則負責接收入射光並轉換為電訊號，兩者搭配使用可完成光功率之量測。

本研究所使用之光功率計控制器型號為 Thorlabs 公司之 PM100A 機型，如圖 2-21 所示，其為一可攜式量測主機，具類比指針與數位顯示雙重輸出功能。控制器可接收自不同類型感測器(如光電二極體或熱感測器)之電訊號，並藉偵測器所產生

doi:10.6342/NTU202601320

之電流或電壓訊號進行訊號放大、濾波及類比至數位轉換(analog-to-digital conversion; ADC)，並藉內建之校正資料換算為實際光功率讀值。

此外，PM100A 控制器可提供不同量測模式，涵蓋絕對功率(absolute power)、相對功率(relative power)等功能，並具最大值與最小值紀錄、統計分析等操作，以利光源輸出穩定性之評估。其亦支援多種感測器之快速更換，並可自動讀取感測器內建之校正資訊，以確保不同量測條件下之準確性與一致性。



圖 2-21 光功率計之控制器。

光功率計偵測器為 Thorlabs 公司之 S130VC 型光感測探頭，如圖 2-22 所示，其為一採用矽光電二極體(silicon photodiode)之感測器，具延伸至紫外光區之量測能力，可涵蓋 200–1100 nm 之波長範圍，適用於本研究所使用之近紅外光(770 nm、810 nm 及 940 nm)量測。



圖 2-22 光功率計之偵測器。

doi:10.6342/NTU202601320

S130VC 偵測器於 450–1100 nm 波段之量測範圍為 500 pW 至 0.5 mW(搭配中性濾光片時可提升至 50 mW)，並具良好之線性度與高靈敏度。其量測不確定度於可見光至近紅外區域(440–980 nm)約為 ±3%，顯示其於本研究波段具有良好之量測準確性。

該偵測器之量測原理係基於光電效應(photoelectric effect)，當入射光照射至矽光電二極體表面時，光子能量激發電子產生電流訊號，其大小與入射光之功率成正比。此電流訊號經由控制器進行放大與校正後，可轉換為光功率數值。其受光面為圓形，有效受光半徑為 0.475 cm，故可得知其受光面積約為 0.709 cm^2，進一步可依據量測所得之光功率(W)換算輻照度(irradiance; R)，其計算方式如式 2-4：

$$R = \frac{W}{A} \qquad \text{(式 2-4)}$$

其中 R 為輻照度(mW/cm^2)、W 為量測之光功率(mW)及 A 為受光面積(cm^2)。於本研究中，將近紅外光源垂直照射於偵測器之受光面，量測其輸出功率，並依據探頭之有效受光面積換算為功率密度，進一步計算出光之能量密度，作為光生物調節研究中之重要劑量參數。

2.5.2. 光生物調節裝置

本研究依據不同尺度之需求，分別設計適用於細胞、動物及人體之近紅外光發光二極體照射裝置，且所有燈板皆由億光電子股份有限公司客製化製作，以確保各系統於照射範圍、劑量控制及操作方面上皆可符合實驗條件。

其中，於體外細胞研究由多顆表面貼裝型 LED 所構成 3 × 4 之陣列均勻配置於印刷電路板上，整體尺寸為長 27 mm 與寬 36 mm，如圖 2-23 所示。此燈板之設計重點主要於使其照射範圍可有效對應 96-well 培養盤之培養區域，以確保各孔位皆可接受一致且均勻之光照條件，避免因照射範圍不足或分布不均而導致誤差。

doi:10.6342/NTU202601320

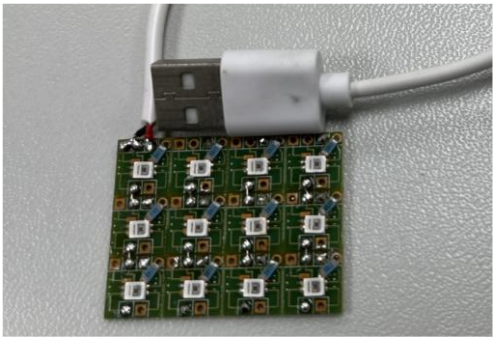


圖 2-23 應用於體外研究之光生物調節裝置。

於動物研究中所使用之燈板尺寸較細胞研究所使用之燈板進行放大設計，以符合動物模型之實際需求，如圖 2-24 所示，整體尺寸為長 36 mm 與寬 44 mm。此燈板之設計重點於提供足夠之照射範圍，使近紅外光可完整涵蓋小鼠背部區域，確保目標組織於照射過程中可接受全面且連續之光照。藉此可提升光生物調節於小鼠背部照射後於肌肉組織作用之完整性，並降低因照射範圍不足所導致之局部效應差異，進而有助於提升實驗結果之穩定性與可信度。

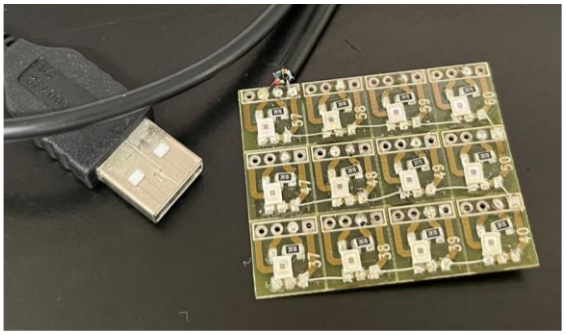


圖 2-24 應用於動物研究之光生物調節裝置。

於人體研究之近紅外光 LED 照射裝置，其整體尺寸約為 30.5 cm × 25.0 cm，並由多列 LED 光源以約 5 cm 之固定間距規則排列構成，如圖 2-25 所示，以形成大面積且分布均勻之照射範圍，可有效涵蓋人體之背部區域，使照射過程中光得以穩定且連續地作用於組織表面。

doi:10.6342/NTU202601320

為提升裝置穩定性與實際使用之貼合性，於燈板表面加裝厚度約 0.2 cm 之壓克力板，使整體厚度約為 1.0 cm，如圖 2-26 所示，不僅可提供保護並維持照射面平整，亦有助於裝置與人體表面之緊密接觸。本研究進一步於燈板與人體貼合條件下量測其輻照度，以確認實際輸出之光劑量符合實驗設定，作為後續人體試驗之依據。

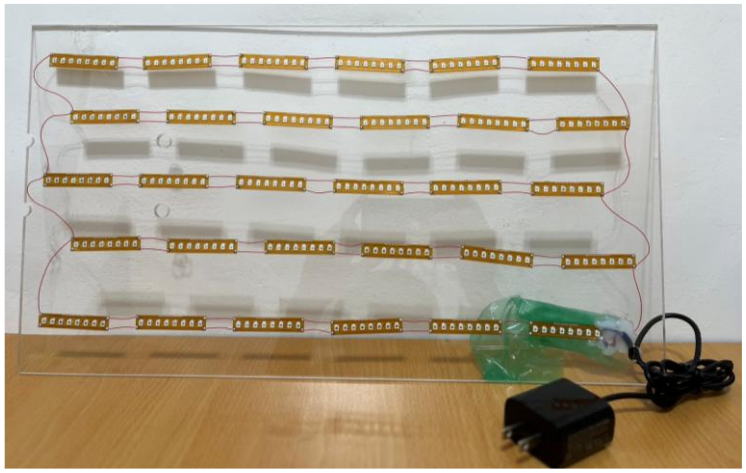


圖 2-25 應用於人體研究之光生物調節裝置。

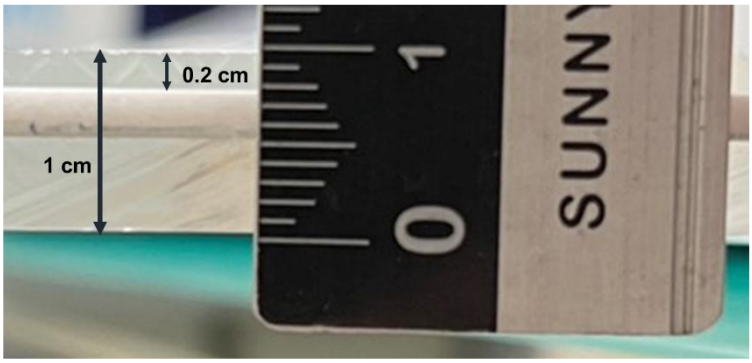


圖 2-26 應用於人體研究之光生物調節裝置側面圖。

此外，如圖 2-27 所示，單一列陣模組由 8 顆 LED 所構成，因 LED 燈板之出光角度為 120°C，故各 LED 晶片之光源將具重疊現象。當多光源之光束於組織表面產生重疊時，可提高局部區域之光強度，進而增加入射至組織之總光能量。光於

doi:10.6342/NTU202601320

生物組織中之穿透深度主要仍受波長、組織吸收及散射特性所主導，並不因光源配置而改變其本質穿透能力，然較高之入射光強可使更多光子進入組織內部，提升深層組織所接收之有效光劑量。整體而言，此種多點光源之排列設計除可提升照射均勻性外，亦有助於優化光能於組織內之分布效率，進而強化近紅外光光生物調節之作用表現。



圖 2-27 一組 8 顆 LED 燈之出光示意圖。

2.5.3. 血糖機

於本研究中，血糖濃度之量測分別應用於動物與人體試驗，以評估光生物調節於葡萄糖代謝之影響。

於動物實驗中之血糖量測採用羅氏(Roche)逸智血糖機(Accu-Chek Instant)，如圖 2-28 所示。該裝置具良好之量測準確性，並符合國際標準 ISO 15197 之規範，當參考血糖值低於 100 mg/dL 時，95%之測量結果落於 ±15 mg/dL 之範圍內；而當參考值高於 100 mg/dL 時，則須落於 ±15%之誤差範圍內。其量測原理藉試紙中之葡萄糖去氫酶(glucose dehydrogenase)與血液中之葡萄糖進行反應，產生電子轉移並轉換為電流訊號，且該訊號強度與血糖濃度呈正相關，進而換算為血糖數值。此裝置之量測時間小於 4 秒，所須血量約為 0.6 μL，適用於微量採血之動物實驗，其量測範圍為 10–600 mg/dL，並適用於血容比(hematocrit, HCT)10–65%之樣本，表明其於不同生理條件下皆具良好之適用性與穩定性。

doi:10.6342/NTU202601320



圖 2-28 用於動物研究之羅氏逸智血糖機。

本研究於人體試驗中採用亞培(Abbott)之微創式連續血糖監測儀(Continuous Glucose Monitoring: CGM)，如圖 2-29(A)所示，用以即時追蹤血糖變化趨勢。該系統藉配戴於上臂皮下之感測器，如圖 2-29(B)所示，持續量測組織間液(interstitial fluid; ISF)中之葡萄糖濃度，以反映體內血糖動態變化。

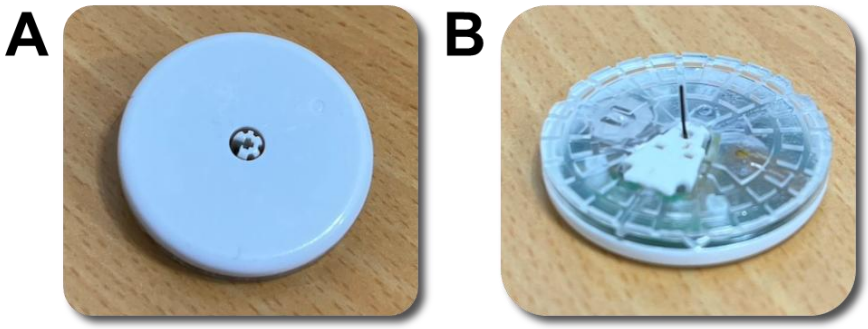


圖 2-29 (A)亞培之連續血糖監測儀與(B)其感測器。

其量測原理主要基於葡萄糖氧化酶(glucose oxidase)催化葡萄糖氧化反應所產生之電化學訊號，並經由內建演算法轉換為葡萄糖濃度數值。感測器約每 1 分鐘進行一次葡萄糖濃度量測，並每 15 分鐘自動儲存一筆資料，當使用者以讀取裝置或智慧型手機進行掃描時，系統可顯示當下之即時葡萄糖數值，並同步提供過去 8 小時之血糖變化趨勢曲線，進而呈現血糖之變化方向與波動狀況。

doi:10.6342/NTU202601320

相較於傳統指尖採血僅提供單一時間點之血糖數據，CGM 具備連續監測與趨勢分析之優勢，並可記錄長時間之血糖變化，有助於評估代謝狀態與介入措施之影響。然而，CGM 所量測之為組織間液中之葡萄糖濃度，其變化相較於血液中之血糖濃度具時間延遲。當血糖快速上升或下降時，感測器讀值一般落後血糖數分鐘，而於血糖穩定狀態下，兩者差異則相對較小。

整體而言，CGM 具微創、連續監測等特點，適用於本研究中人體試驗之即時血糖動態追蹤，其可補足傳統血糖機於連續性資料取得上之限制，並降低受試者於試驗期間之壓力。

2.5.4. 多模式吸收與螢光光譜儀(Hybrid Multi-Mode Microplate Reader)

多模式吸收與螢光光譜儀(hybrid multi-mode microplate reader)為一多功能之光學量測儀器，並涵蓋吸收、螢光、冷發光等量測模式。本研究採用該儀器進行樣品之吸光度、螢光及冷發光訊號量測，以分析細胞內相關生物分子之變化，該儀器適用於 96-well 培養盤之量測，可有效提升研究效率。

如圖 2-30 所示，於吸收光譜量測模式中，儀器光源發射特定波長之紫外光或可見光，光束穿越細胞培養盤中各孔樣品後，部分光被樣品吸收，讀取器偵測透射光強度，並藉入射光(I_0)與透射光(I)計算吸光度(absorbance)，此外，基於比耳–朗伯定律(Beer–Lambert law)，吸光度與樣品中吸光物質之濃度呈正相關，故可用於定量分析特定分子或酵素反應產物之濃度變化，如式 2-5 所示，其中 A 代表吸光度，ε 為莫耳吸光係數，其單位將隨濃度表示方式而改變，當濃度以質量濃度表示時，其單位為 L/g·cm；當濃度以莫耳濃度(mol/L)表示時，則其單位為 L/mol·cm，b 代表吸收介質之光徑長度，單位為 cm，c 為吸光物質之濃度，單位可為 g/L 或 mol/L。

doi:10.6342/NTU202601320

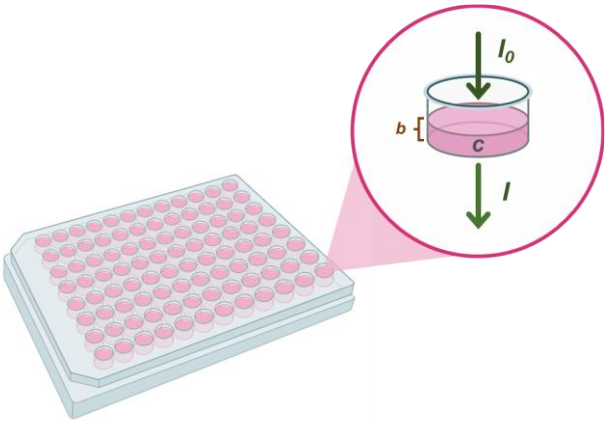


圖 2-30 多模式吸收與螢光光譜儀之吸收度量測示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

$$\log\left(\frac{I_0}{I}\right) = A = \varepsilon bc \qquad \text{(式 2-5)}$$

於螢光(fluorescence)量測模式中，細胞樣品須經螢光標記物染色，並設定特定激發波長(excitation wavelength)，當激發光照射樣品後，螢光分子被激發至較高能階，隨後返回基態並釋放出較長波長之螢光(emission wavelength)，如圖 2-31 所示。

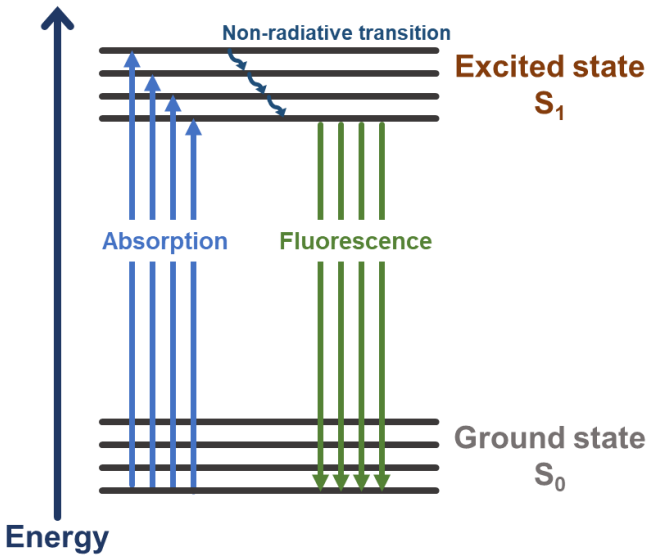


圖 2-31 螢光放射之能階示意圖。

doi:10.6342/NTU202601320

儀器偵測其放射光之強度與波長，並據以進行定量分析與繪製螢光光譜圖。螢光訊號強度一般與目標分子濃度或細胞內特定生理狀態呈正相關，並具高靈敏度與高選擇性之優勢。

於冷發光(luminescence)量測模式中，樣品不須外加激發光源，其訊號來源為化學反應(chemiluminescence)或生物反應(bioluminescence)過程中所釋放之光子。當反應產生處於激發態之分子時，其返回基態過程中將釋放光訊號，儀器藉光電倍增管(photomultiplier tube; PMT)可直接偵測此發光並進行定量分析。因量測過程中無須外部光源，可有效降低背景雜訊與自體螢光干擾，故具較高之靈敏度與訊噪比，常應用於 ATP 定量、基因表現分析、細胞活性評估等實驗。

此外，該儀器可藉由濾光片或單色器(monochromator)進行波長切換，並結合微孔盤進行多樣本同步量測，廣泛應用於細胞生物學與生醫研究中，其量測光學系統如圖 2-32 所示。其中，分光鏡(dichroic mirror)為關鍵光學元件，可依據不同波長之光進行選擇性反射與透射。激發光經濾光後由分光鏡反射至樣品，而樣品所發射之較長波長螢光則可穿透分光鏡進入偵測系統。藉此種光路設計，可有效分離激發光與螢光訊號，避免強激發光於偵測器造成干擾，並提升量測之靈敏度與準確性。

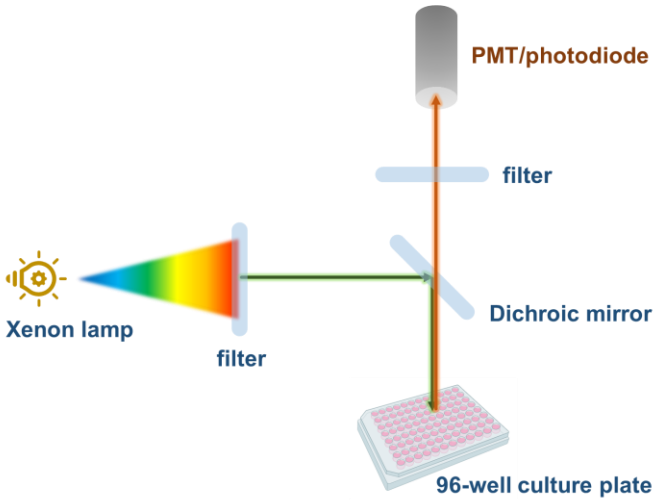


圖 2-32 多模式吸收與螢光光譜儀螢光量測光學系統示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

doi:10.6342/NTU202601320

本研究使用之儀器為 BioTek 公司之 Synergy H1 Hybrid Reader，其光源為氙氣閃光燈，吸收訊號由光電二極體(photodiode)偵測，而螢光與冷發光訊號則由光電倍增管偵測，儀器外觀如圖 2-33 所示。藉其多模式量測功能，分別進行酵素反應分析、細胞螢光探針、螢光素產生之冷光等訊號偵測，以評估不同處理條件下之生物反應變化。

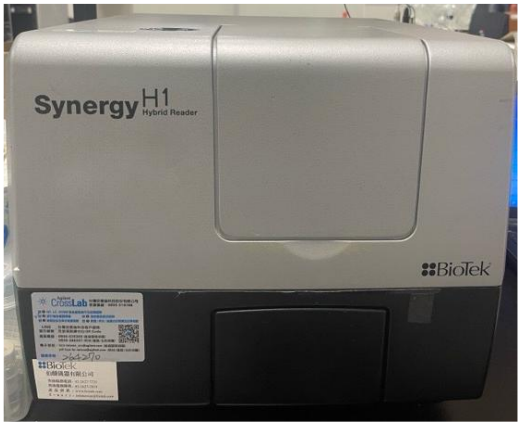


圖 2-33 多模式吸收與螢光光譜儀。

2.5.5. 雷射掃描共軛焦顯微鏡(Confocal Laser Scanning Microscopy; CLSM)

雷射掃描共軛焦顯微鏡(confocal laser scanning microscope; CLSM)為一具高解析度與高對比度之光學成像技術，廣泛應用於細胞與組織之螢光影像觀測，可有效克服傳統螢光顯微鏡中因非焦面之光線所造成影像模糊問題。本研究藉雷射掃描共軛焦顯微鏡觀察細胞內螢光訊號之分布，以評估不同處理條件下之細胞內生理變化。

其成像原理基於「共軛焦(confocal)」之光學設計，當雷射光經物鏡聚焦於樣品時，僅於特定焦平面形成最強之激發區域，而樣品中螢光分子吸收光能後進入激發態，隨後返回基態並釋放出螢光訊號。共軛焦系統與傳統螢光顯微鏡之主要差異為其於光路中設置針孔(pinhole)，僅允許源於焦平面之螢光穿越，並有效阻擋來自非

doi:10.6342/NTU202601320

焦平面之散射光與離焦訊號，進而大幅降低背景雜訊並提升影像之空間解析度與對比度。於光學系統中，雷射光源提供單色性佳且高強度之激發光，並經分光鏡進行光路分離，使激發光被反射至樣品，而樣品所放射之較長波長螢光則可穿越分光鏡進入偵測系統。此外，放射光一般將再經發射濾光片(emission filter)進一步篩選後，由光電倍增管進行高靈敏度之訊號偵測，以提升成像品質與訊噪比，如圖 2-34 所示。

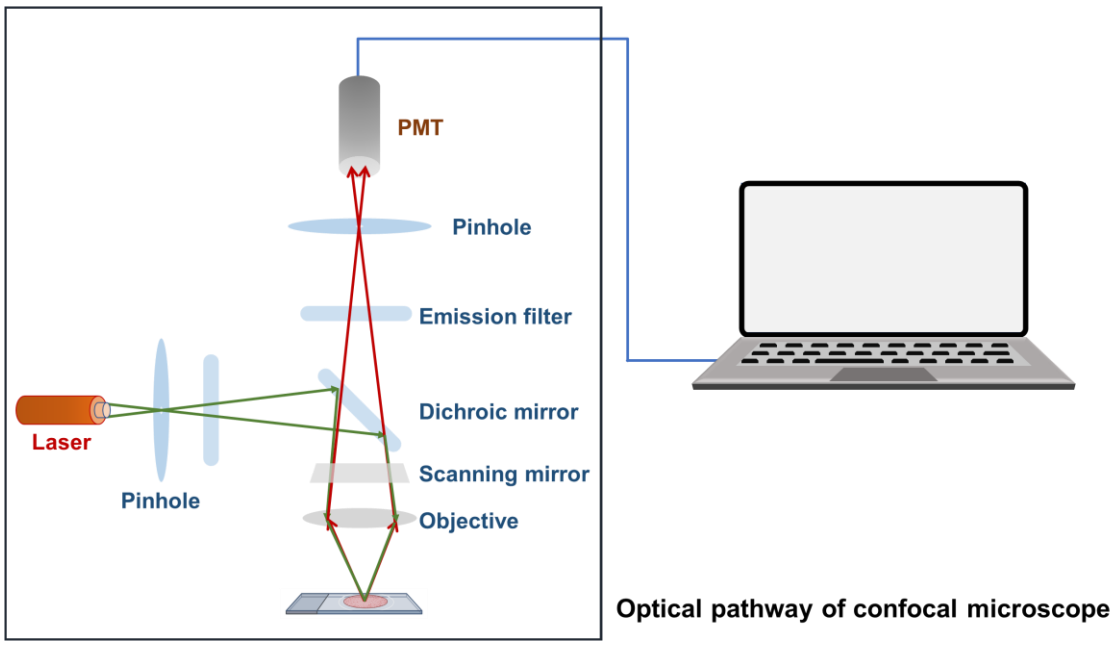


圖 2-34 共軛焦雷射掃描顯微鏡之光學路徑示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

此外，系統中之掃描鏡(scanning mirrors)藉改變反射角度，使激發光於樣品表面進行逐點掃描(point scanning)，並依序收集各位置之螢光訊號，經電腦重建形成高解析度之二維影像。藉由改變焦平面位置(z-axis scanning)，可取得不同深度之光學切片(optical section)，進一步進行三維影像重建(3D reconstruction)。針孔尺寸可影響光訊號收集量與光學切片厚度，須依實驗需求進行調整。

依掃描方式不同，可分為針孔掃描式與轉盤式系統，其中針孔掃描式具有較高解析度，而轉盤式則具較快之掃描速度，適用於動態樣品之觀測。此外，依觀測需

doi:10.6342/NTU202601320

求可選擇不同類型之物鏡，如水浸物鏡適用於活體細胞觀測，而油浸物鏡則可提供較高之光學解析度。

本研究所使用之共軛焦顯微鏡為 Leica 公司之 DMI 8 倒立式螢光顯微鏡，搭配 TCS SP8X 共軛焦光譜成像系統，其具多波長雷射光源與光譜偵測模組，可進行多重螢光訊號之高靈敏度量測與分析，儀器外觀如圖 2-35 所示。

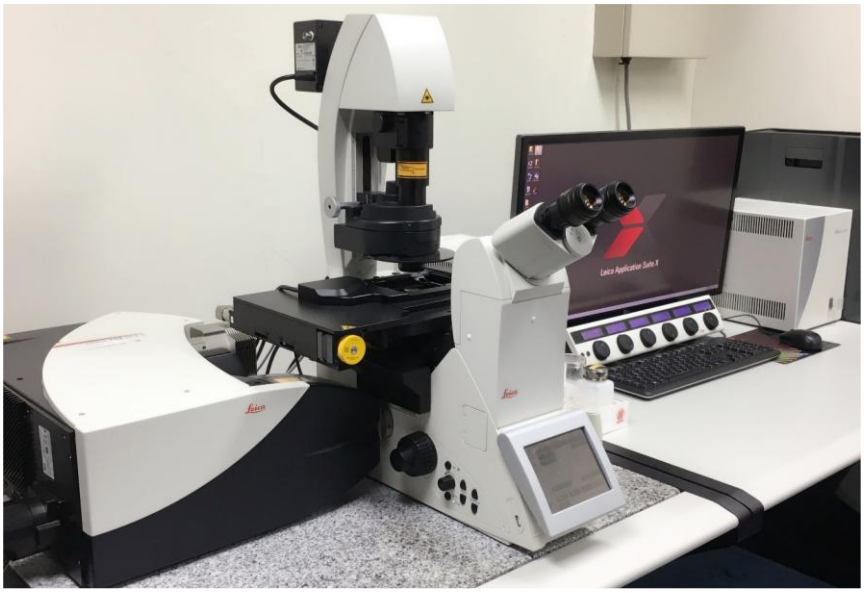


圖 2-35 共軛焦雷射掃描顯微鏡。

2.5.6. 流式細胞儀(Flow Cytometry; FC)

流式細胞儀(flow cytometer; FC)為一結合光學、電子學、流體力學及細胞生物學之多功能分析儀器，具高速偵測、多參數量測及高通量分析之特性，可短時間內於大量細胞進行定量分析

其基本原理可分為流體系統(fluidics)、光學系統(optics)及電子系統(electronics)三部分。首先，經螢光染色之細胞懸浮液置於樣品管中，並於氣體壓力驅動下進入流動室。其中，流體系統之主要功能為利用鞘液(sheath fluid)於樣品進行流體聚焦，使原本隨機分布於三維空間中之細胞或顆粒排列成單列，並依序經雷射光束之偵

doi:10.6342/NTU202601320

測區域並產生散射光與螢光訊號，由光學系統之透鏡與濾光片進行收集與分光，再導引至不同偵測器進行訊號擷取。

流式細胞儀所量測之主要訊號涵蓋散射光與螢光訊號。散射光訊號可反映細胞之物理特性，其中前向散射光(forward scatter; FSC)主要源自入射雷射光經細胞產生之繞射(diffracted light)，並沿入射光方向被偵測，其訊號強度一般與細胞表面積或體積相關；而側向散射光(side scatter; SSC)則主要源自光於細胞內部結構中之反射與折射(reflected and refracted light)，並於與雷射光束約 90°方向被偵測，其強度與細胞內部結構之複雜度及顆粒性(granularity)相關，如圖 2-36 所示。藉 FSC 與 SSC 之雙參數分析，可初步區分不同細胞族群，並有效排除碎片(debris)或異常細胞。螢光訊號則源自細胞內或細胞表面之螢光分子(fluorochrome)，可藉不同波長之雷射激發並放射特定波長之螢光，以分析細胞中特定分子之表現或生理狀態。

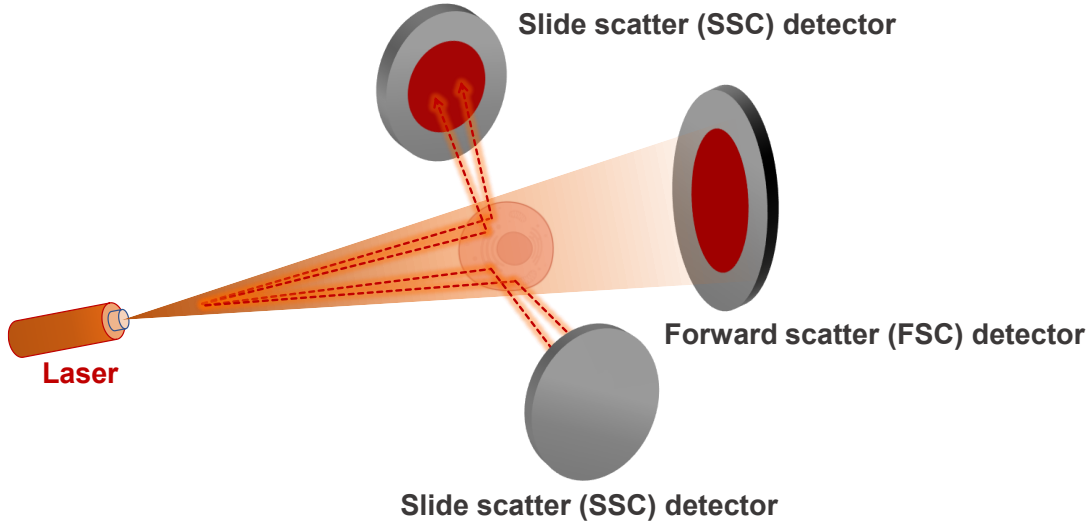


圖 2-36 前向散射光與側向散射光之偵測示意圖。(本圖於 BioRender.com 製作)

於光學偵測部分，散射光一般由光電二極體偵測，而不同波長之螢光訊號則經濾光片分光後，由光電倍增管進行高靈敏度偵測。各項光訊號隨後轉換為電訊號，並經電子系統進行放大與數位化處理，再由電腦系統進行資料分析，可獲得細胞之尺寸、形狀、顆粒性、特定生物分子表現等資訊。

doi:10.6342/NTU202601320

此外，流式細胞儀亦具細胞分選(cell sorting)功能。當細胞經偵測區並完成訊號分析後，系統可依設定之條件判定目標細胞。流體於噴嘴處於振動作用下形成均勻液滴，當具目標細胞之液滴形成時，系統將施加特定電荷，使該液滴帶電，未被選定之液滴則不帶電。帶電液滴經高壓靜電偏轉場時，將依其電荷性質產生偏轉，進而被收集至指定容器中，而未帶電液滴則進入廢液槽。此一機制可達高效率且高純度之細胞分選，如圖 2-37 所示。[164]

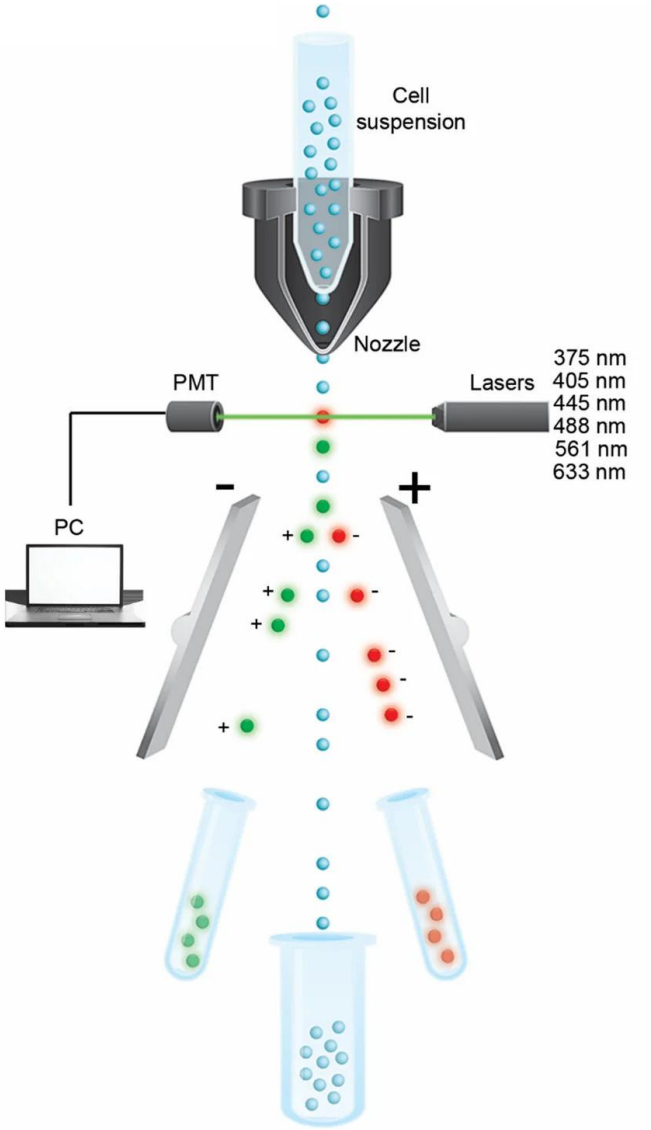


圖 2-37 流式細胞儀中螢光偵測與細胞分選之流程示意圖。[164]

doi:10.6342/NTU202601320

綜上所述，流式細胞儀可同時提供單細胞層級之多參數分析與精準分選能力，廣泛應用於細胞生物學、免疫學及生醫研究中。本研究使用之流式細胞儀為 BD Biosciences 公司之 FACSAria™ III cell sorter，如圖 2-38 所示，其具多雷射與多通道偵測系統，可同時進行多重螢光訊號之分析以評估不同處理條件於細胞生理狀態之影響。

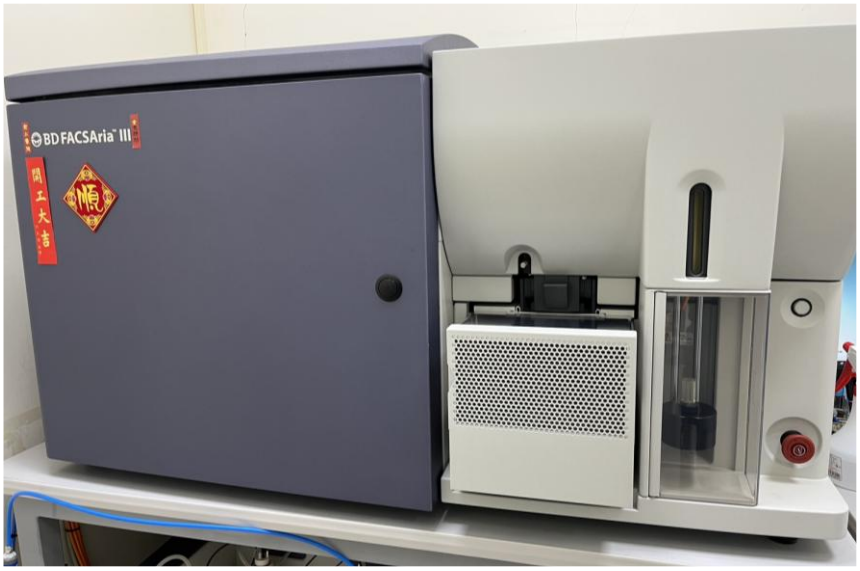


圖 2-38 流式細胞儀。

doi:10.6342/NTU202601320

第三章 結果與討論

3.1. 近紅外光光生物調節參數鑑定

本研究為探討不同近紅外光波長於光生物調節之生物效應差異，於固定能量劑量條件下，比較不同波長之照射效果。因光生物調節效益與光學參數密切相關，為確保實驗條件之一致性與可比性，進一步對光源之電致發光特性與實際輸出功率進行量測與分析，以作為後續生物效應評估之基礎。

3.1.1. 應用於細胞之光生物調節燈板

為探討不同近紅外光波長於光生物調節之作用機制，首先藉電致發光(electroluminescence; EL)結果比較燈板之放射光譜與粒線體中細胞色素 c 氧化酶之吸收光譜，如圖 3-1 所示。因細胞色素 c 氧化酶為光生物調節之主要光受體，其於特定波長光之吸收能力將影響後續生物反應，故分析光源放射光譜與其吸收特性之重疊程度，於理解不同波長之效應差異具重要意義。

細胞色素 c 氧化酶於可見光至近紅外光區域具四個主要吸收峰，分別位於 620 nm(對應於 Cu_B 之氧化態)、680 nm(對應於 Cu_A 之還原態)、760 nm(對應於 Cu_B 之還原態)及 820 nm(對應於 Cu_A 之氧化態)。本研究所使用之三種光生物調節燈板，經量測其實際發光波峰分別位於 770 nm、810 nm 及 940 nm，半高寬(full width at half maximum; FWHM)則分別為 20.8 nm、30.6 nm 及 43.3 nm，如表 3-1 所示。由光譜重疊結果可得知 770 nm 燈板之放射光譜與細胞色素 c 氧化酶於 760 nm 之主要吸收峰具較佳重疊，810 nm 燈板則對應於 820 nm 吸收峰。相對而言，940 nm 燈板之放射光譜與細胞色素 c 氧化酶之四個主要吸收峰皆無明顯重疊，揭示其於藉細胞色素 c 氧化酶介導之光生物調節機制中較不具優勢。

doi:10.6342/NTU202601320

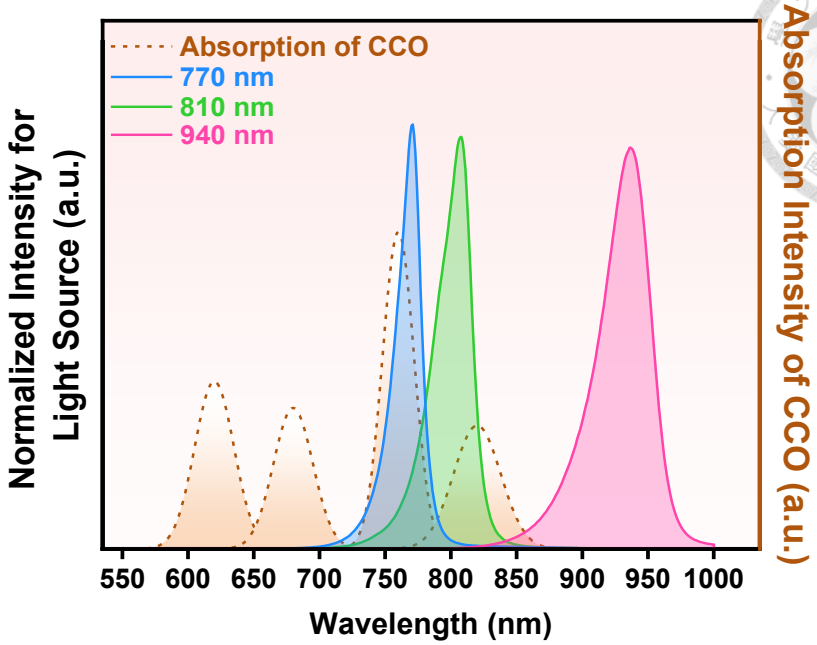


圖 3-1 細胞色素 c 氧化酶之吸收峰與燈板之電致發光光譜圖。

表 3-1 光生物調節燈板之波峰與半寬高峰。

Peak wavelength	770 nm	810 nm	940 nm
full width at half maximum	20.8 nm	30.6 nm	43.3 nm

藉 Thorlabs 廠牌之手持式光功率計量測光生物調節燈板之輸出功率，以評估其實際光學參數。配置如圖 3-2(A)所示，將 LED 燈板藉膠帶固定於量測平台上，以確保量測過程中光源位置穩定。為避免多顆 LED 同時發光所造成之干擾，藉鋁箔紙遮蔽其他 LED 光源，僅保留單一 LED 進行量測，其量測配置如圖 3-2(B)所示，確保量測結果可準確反映單一光源之輸出特性。於相同操作條件下，分別量測 770 nm、810 nm 及 940 nm 三種波長 LED 燈板之輸出功率，量測所得之光功率再除以偵測器之有效受光面積，換算為出光輻照度，如表 3-2 所示，經計算可得知三種波長之細胞 LED 燈板於實驗條件下之輻照度皆約為 30.0 mW/cm^2，揭示各光源於輸出強度上具良好一致性，以利不同波長間之比較與後續實驗參數設定。

doi:10.6342/NTU202601320

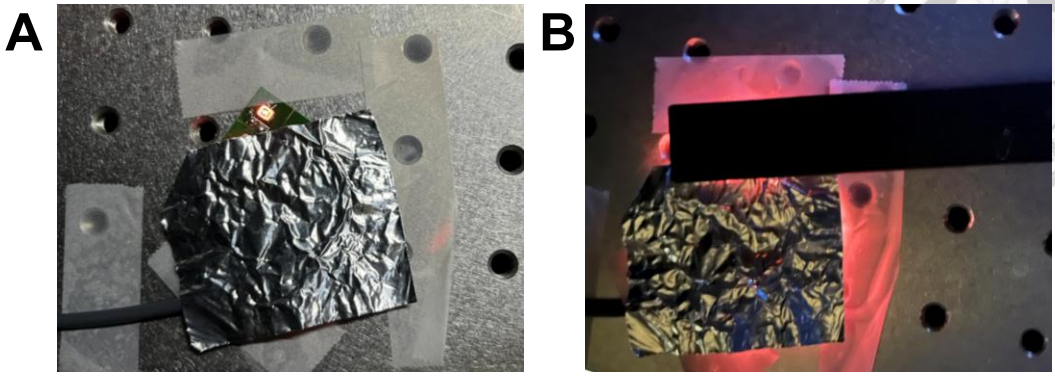


圖 3-2 (A)固定 LED 燈板並以鋁箔紙遮蔽其他 LED 燈源與(B)實際量測裝置圖。

表 3-2 770、810 及 940 nm 之細胞 LED 燈板功率與輻照度。

	770 nm	810 nm	940 nm
Power	21.3 mW	21.3 mW	21.3 mW
Irradiation	30.0 mW/cm^2	30.0 mW/cm^2	30.0 mW/cm^2

由量測結果可得知三種不同波長(770 nm、810 nm 及 940 nm)之光生物調節燈板具相同輻照度，後續將以此燈板照射 5 分鐘，使劑量達至 9.0 J/cm^2 以進行細胞試驗，進一步評估不同波峰之近紅外光於細胞層面之效應。

3.1.2. 應用於小鼠之光生物調節燈板

為進一步驗證近紅外光於體內環境之生物效應，將依據細胞實驗結果，選擇具較佳調控能力之波長，應用於小鼠之光生物調節研究。相較於體外細胞實驗，動物模式可更完整反映組織穿透性、血液循環、整體代謝等複雜生理條件，故有助於評估光生物調節於實際生物體中之作用效果與應用潛力。基於此，藉應用於小鼠之近紅外光光生物調節燈板進行照射，以探討其對葡萄糖代謝與相關生理指標之影響，相關照射參數將於下文詳細說明。

表 3-3 呈現 770 nm 應用於動物實驗之 LED 燈板光學參數。由量測結果可得知

doi:10.6342/NTU202601320

該燈板之輸出功率為 42.6 mW，經換算後其出光輻照度為 60.0 mW/cm^2，當照射小鼠背部 5 分鐘，可得出光劑量為 18.0 J/cm^2。此結果揭示相較於細胞實驗所使用之燈板，動物燈板具較高之輸出強度，以補償近紅外光於生物組織中之散射與吸收效應，確保光能可傳遞至目標組織。

表 3-3 770 nm 之動物 LED 光生物調節燈板之照射參數。

Wavelength	770 nm
Power	42.6 mW
Irradiation	60.0 mW/cm^2
Time	5 minutes
Dose	18.0 J/cm^2

3.1.3. 應用於人體之光生物調節燈板

為評估近紅外光之光生物調節於人體之應用潛力，於完成細胞與動物實驗後，進一步延伸至人體試驗。相較於細胞與動物模型，人體試驗更可直接反映實際臨床應用情境，涵蓋皮膚與肌肉組織之光穿透特性、血液循環、個體間生理差異等因素，故於評估光生物調節之可行性與安全性具關鍵意義。本研究藉此應用於人體之近紅外光生物調節燈板進行照射，以探討其於人體層級對葡萄糖代謝之影響，相關裝置與照射條件將於下文進一步說明。

藉 Thorlabs 之手持式光功率計量測照射人體之光生物調節燈板之輸出功率，以獲得其實際之光學參數。量測配置如圖 3-3(A)所示，藉鋁箔遮蔽其餘 LED 光源，僅保留單一 LED 進行測試，並將偵測器緊貼於 LED 出光面，以完整接收其發射光訊號，其實際量測示意如圖 3-3(B)所示。將 770 nm 之近紅外光光生物調節燈板進行輸出功率量測，並將量測所得之光功率除以偵測器之有效受光面積，以換算近紅外光穿越 0.2 cm 壓克力板後之出光輻照度，其結果如表 3-4 所示。由數據可得知

doi:10.6342/NTU202601320

單顆 LED 光源之輸出功率為 9.8 mW，對應之輻照度為 13.8 mW/cm^2。

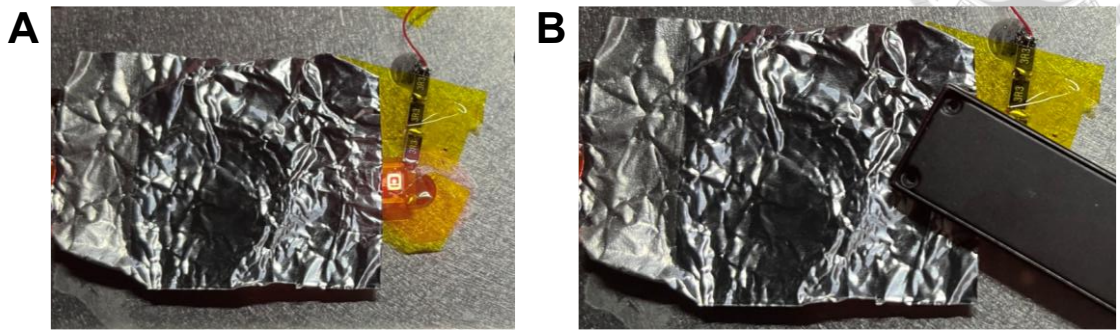


圖 3-3 (A)遮蔽其他應用人體之光生物調節 LED 燈源與(B)實際量測裝置圖。

表 3-4 770 nm 人體近紅外光 LED 光生物調節燈板之功率與輻照度。

Wavelength	770 nm
Power	9.8 mW
Irradiation	13.8 mW/cm^2

由圖 3-4(A)可得知應用於人體之光生物調節裝置由 30 組每組 8 顆波長為 770 nm 之 LED 晶片組成，並量測點位 1 至 8 之 LED 功率，各量測數值如表 3-5 所示，可揭示此組 LED 之平均功率為 12.3 mW，平均輻照度為 17.3 mW/cm^2，如圖 3-4(B)所示。美國國家標準協會(American National Standards Institute; ANSI)定義人體可承受之最大許可暴露量值(maximum permissible exposure; MPE)於近紅外光波段(700 nm 至 1400 nm)為 332 mW/cm^2，而平板式之光生物調節裝置之輻照度均遠小於該值，揭示本裝置於人體皮膚為無害之設備。其中，單顆 LED 之輻照度與無遮蔽之 LED 之輻照度結果不同，因 LED 燈板之出光角度為 120°，故各 LED 晶片之光源將具重疊現象，使無遮蔽 LED 之輻照度較高。

doi:10.6342/NTU202601320

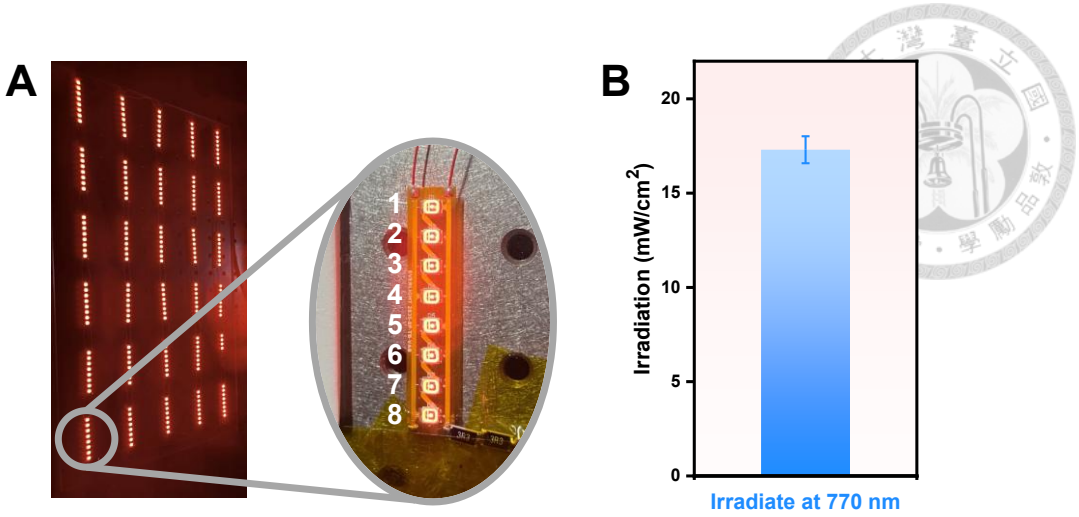


圖 3-4 (A)光生物調節裝置組成示意圖與(B)其平均輻照度。

表 3-5 各點位測量之功率值與其換算之輻照度。

Position	1	2	3	4	5	6	7	8
Power (mW)	12.2	12.5	13.3	12.6	12.1	11.6	12.0	11.8
Irradiation (mW/cm^2)	17.2	17.6	18.8	17.8	17.1	16.4	16.9	16.6

依前述 LED 陣列之量測方式，進一步對其餘 29 組 LED 陣列進行量測，如圖 3-5(A)所示，各陣列之輸出功率量測結果如表 3-6 所示，並將其換算為輻照度，如表 3-7 所示。將各數值平均可得平均輻照度為 18.4 mW/cm^2，如圖 3-5(B)所示。

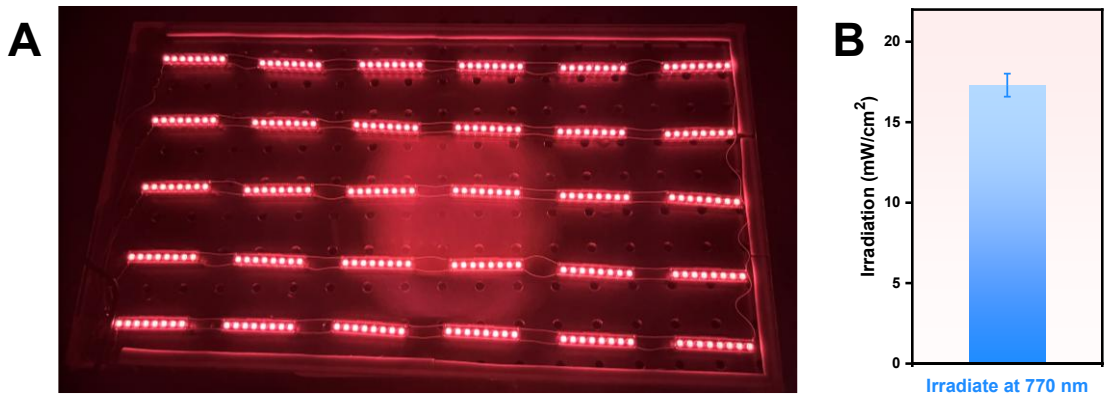


圖 3-5 (A)應用於人體之光生物調節裝置圖與(B)其平均輻照度。

doi:10.6342/NTU202601320

表 3-6 770 nm 人體之光生物調節裝置各 LED 陣列功率。

功率 (mW)					
12.4	12.3	12.4	12.1	12.5	12.3
15.2	13.7	14.1	13.5	13.0	11.7
14.4	12.4	14.4	14.1	14.2	11.7
13.2	13.2	14.4	14.0	13.4	11.2
16.5	14.1	12.7	11.5	11.1	10.4

表 3-7 770 nm 人體之光生物調節裝置各 LED 陣列輻照度。

輻照度 (mW/cm^2)					
17.5	17.3	17.5	17.1	17.6	17.3
21.3	19.3	19.9	19.0	18.3	16.5
20.3	17.5	20.3	19.9	20.0	16.5
18.6	18.6	20.3	19.7	18.9	15.8
23.3	19.9	17.9	16.2	15.7	14.7

後續人體試驗將藉此光生物調節裝置對受試者背部進行連續 15 分鐘之照射，於平均輻照度 18.4 mW/cm^2 之條件下，對應之能量劑量約為 16.6 J/cm^2。以作為評估 770 nm 之近紅外光光生物調節於人體代謝影響之參數條件。

表 3-8 統整應用於細胞、動物及人體光生物調節燈板之使用福照度、照射時間及照射能量。本研究於細胞、動物及人體實驗中採用不同之輻照度與照射時間，主要考量不同實驗模型之組織結構、光穿透深度及安全性需求。於細胞實驗中，光源可直接作用於培養皿中之 C2C12 肌管細胞，幾乎不受皮膚、脂肪或其他組織吸收與散射影響，故採用 30.0 mW/cm^2、5 分鐘之條件，即可提供 9.0 J/cm^2 之能量密度以誘發細胞層級之光生物調節效應。

doi:10.6342/NTU202601320

相較之下，動物實驗須使近紅外光穿透皮膚、皮下組織、肌肉等多層組織，實際至目標組織之能量將因吸收與散射而降低，故採用較高之輻照度 60.0 mW/cm^2，以補償體內組織造成之光能衰減，並於 5 分鐘內提供 18.0 J/cm^2 之劑量。

人體實驗則須進一步考量受試者安全性、舒適度及長時間照射下之熱效應風險，故雖人體組織厚度較大，仍採用較低輻照度 18.4 mW/cm^2，並藉延長照射時間至 15 分鐘，使總能量密度達 16.6 J/cm^2。此設計可避免過高瞬時能量造成不適或熱累積之前提下，提供接近動物實驗之總劑量，以評估近紅外光於人體中之光生物調節效果。固本研究以各實驗系統之光穿透條件與安全性需求，調整輻照度與照射時間，使各模型皆可於非熱效應範圍內接受足以誘發光生物調節反應之能量劑量。

表 3-8、比較應用於細胞、動物及人體之光生物調節燈板。

	Cell	Mice	Human
Irradiation	30.0 mW/cm^2	60.0 mW/cm^2	18.4 mW/cm^2
Exposure Time	5.0 minutes	5.0 minutes	15 minutes
Dose	9.0 J/cm^2	18.0 J/cm^2	16.6 J/cm^2

3.2. 近紅外光光生物調節之細胞實驗

完成近紅外光生物調節燈板之光學參數鑑定後，將進一步於細胞層級探討不同波長之光生物調節效應。藉建立胰島素阻抗之細胞模型，評估近紅外光於細胞葡萄糖代謝、粒線體功能及相關訊號傳遞之影響，以釐清其作用機制，本節將揭示各項細胞實驗之結果與分析，並比較不同波長近紅外光於細胞功能之影響。

如圖 3-6 所示，為應用於細胞之近紅外光光生物調節照射示意圖。本研究將細胞接種於 96 孔培養盤中之 A1–A4、B1–B4 及 C1–C4 位，使其對應於光生物調節裝置之有效照射區域，以確保各實驗組別接受均勻且一致之光照條件，於建立胰島素阻抗模型後，進一步進行近紅外光照射處理。

doi:10.6342/NTU202601320

光生物調節之操作條件設定為光功率密度 30 mW/cm^2，照射時間 5 分鐘，對應之總光劑量為 9.0 J/cm^2。實驗組分別藉 770 nm、810 nm 及 940 nm 之近紅外光進行照射，以比較不同波長之生物效應差異，而假處理組(Sham)則使用相同之 770 nm 光源裝置，然不進行實際照射，以排除裝置本身於實驗結果之影響，並將其作為對照基準。

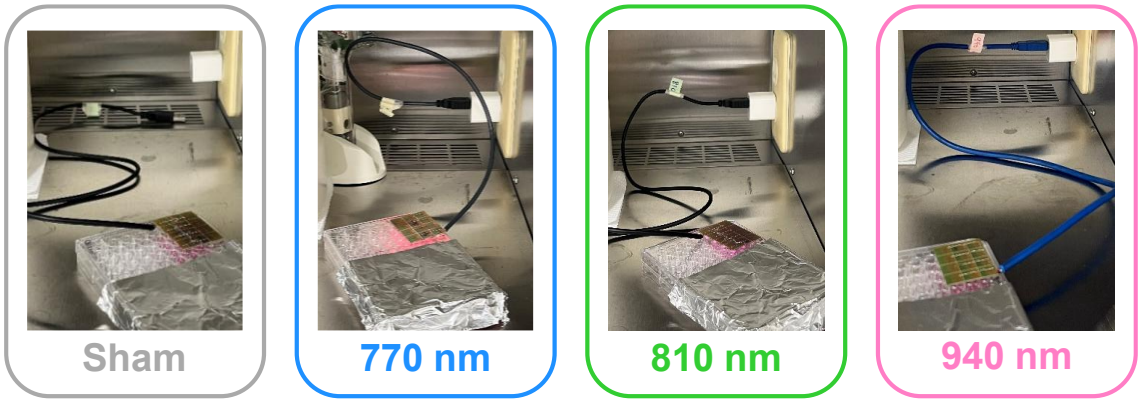


圖 3-6 近紅外光之光生物調節照射示意圖。

3.2.1 C2C12 肌管細胞之分化

藉共軛焦顯微鏡觀察細胞形貌變化，如圖 3-7(A)所示，於第 0 天時，C2C12 肌母細胞之細胞核經 DAPI 染色呈現藍色，F-actin 經 Phalloidin 染色顯示為綠色，此時細胞骨架結構較為鬆散且缺乏顯著方向性，細胞形態多呈扁平且展開狀。相較之下，經 2%馬血清誘導培養 7 天後，如圖 3-7(B)所示，C2C12 細胞之 F-actin 結構呈現緻密且具方向性之排列，細胞形貌轉為細長並呈現平行排列之特徵。此結果揭示細胞骨架已趨於成熟並伴隨細胞間融合，證實 C2C12 細胞已成功分化為肌管細胞，並可應用於後續細胞實驗。

doi:10.6342/NTU202601320

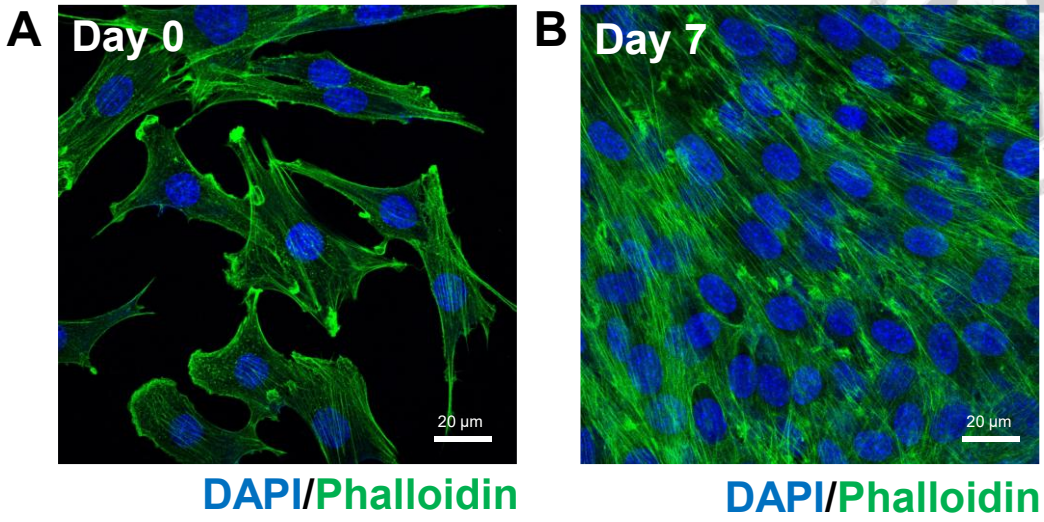


圖 3-7 (A)第 0 天之 C2C12 肌母細胞與(B)分化第 7 天之 C2C12 肌管細胞。

3.2.2 C2C12 肌管細胞之胰島素阻抗建立

為建立胰島素阻抗之細胞模型，以不同濃度胰島素(0、15、30、60、120 及 240 nM)慢性暴露處理分化完成之 C2C12 肌管細胞 24 小時，以模擬生物體內因代償性分泌所導致之高胰島素環境，藉此模型可評估長時間胰島素刺激於細胞葡萄糖代謝功能之影響。如圖 3-8 所示，隨胰島素濃度增加，C2C12 肌管細胞之 2-NBDG 攝取量呈現下降趨勢。與未處理組(0 nM)相比，15 與 30 nM 組雖呈現攝取量下降現象，然未達統計顯著差異，當胰島素濃度提升至 60 nM 後，2-NBDG 攝取量則顯著下降(***$p < 0.001$)，且 120 與 240 nM 組維持相似之抑制程度。此結果揭示慢性胰島素刺激 24 小時將降低細胞於葡萄糖之攝取能力，且 60 nM 胰島素已可有效誘導顯著之葡萄糖攝取下降，而後續提高濃度之抑制效果趨於平緩，故後續實驗選擇 60 nM 作為建立胰島素阻抗模型之處理條件。數據以平均值 ± 標準差表示(n = 6)，並以 Student's t-test 進行統計分析。

doi:10.6342/NTU202601320

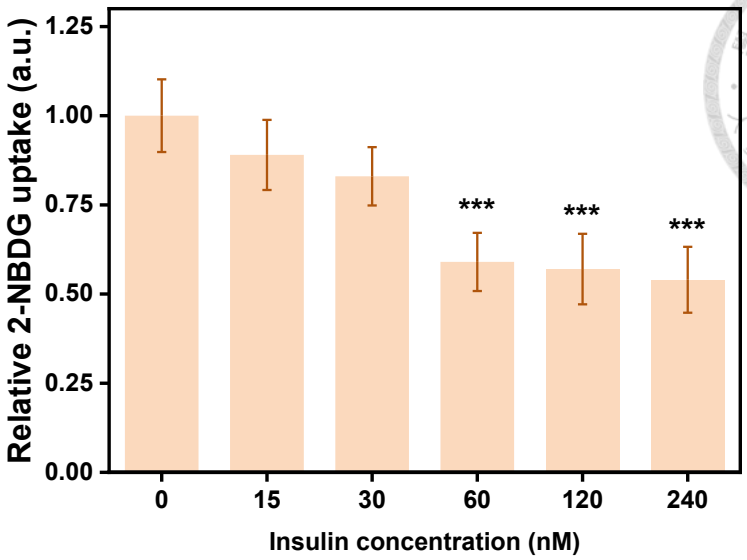


圖 3-8 不同濃度胰島素處理後之 2-NBDG 相對攝取量。

為進一步確認胰島素訊號傳遞途徑是否於本研究所建立之模型中受抑制，藉西方墨點法分析 Akt 於 Thr308 與 Ser473 位點之磷酸化表現，以評估 PI3K/Akt 訊號路徑之活化程度。如圖 3-9(A)與(B)所示，於正常 C2C12 肌管細胞中，經 30 分鐘之短時間胰島素刺激後，可觀察 pAkt (Thr308)與 pAkt (Ser473)表現上升，揭示細胞於胰島素具良好之反應性。然而，經 60 nM 胰島素慢性處理 24 小時後，即便再給予更高濃度之胰島素短期刺激，C2C12 肌管細胞之 pAkt (Thr308)與 pAkt (Ser473)表現仍低於正常細胞。藉 ImageJ 軟體進行蛋白條帶之定量分析並歸一化處理後，可得知 Akt 於 Thr308 與 Ser473 位點之磷酸化分別下降約 44%與 66%。此結果揭示長時間高胰島素暴露已導致細胞於胰島素刺激之反應能力降低，使關鍵訊號節點 Akt 活化受抑制，展現典型之胰島素阻抗現象並影響下游多項與葡萄糖代謝相關之生理功能，涵蓋抑制 GLUT4 轉位至細胞膜與降低葡萄糖攝取效率。

綜合上述結果，以 60 nM 胰島素處理 24 小時不僅可顯著降低 C2C12 肌管細胞之葡萄糖攝取能力，亦抑制 Akt 之磷酸化活性，證實本研究已成功建立具生理意義之胰島素阻抗細胞模型。此模型可作為後續探討近紅外光光生物調節於胰島素訊號傳遞與細胞代謝功能影響之研究模型。

doi:10.6342/NTU202601320

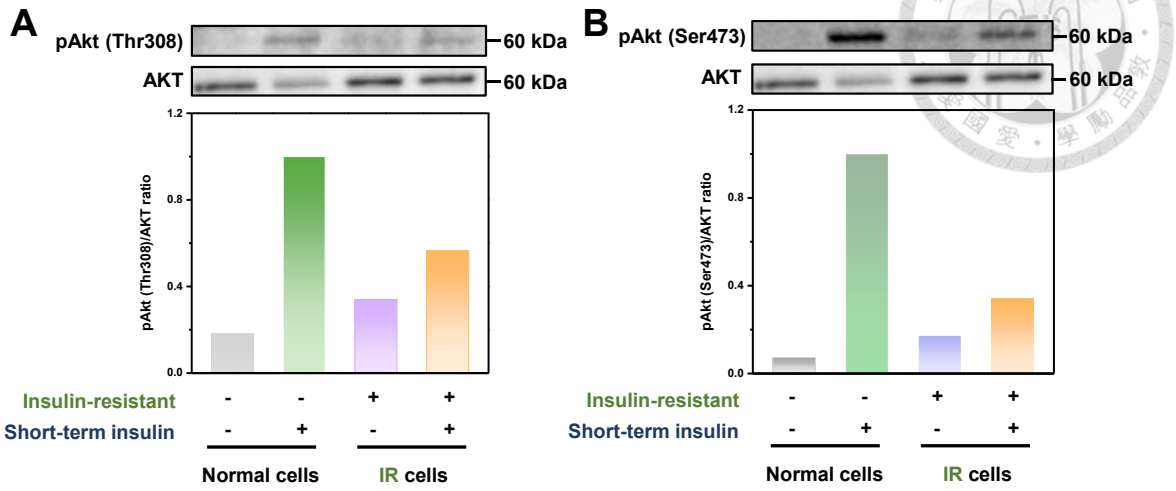


圖 3-9 (A)pAkt (Thr308)與(B)pAkt (Ser473)之磷酸化蛋白表達與量化結果。

3.2.3 光生物調節之細胞相容性分析

為評估 770 nm、810 nm 及 940 nm 三種近紅外光光生物調節之細胞相容性，探討以 30.0 mW/cm^2 照射 5 分鐘之 9.0 J/cm^2 劑量是否對細胞造成毒性影響，以確認其應用於後續研究之安全性與可行性。將肌肉細胞置於 96-well 之細胞培養盤上，照射三種不同光源於正常肌肉細胞(無胰島素阻抗疾病模型建立，以 − 記號標記)，於照射 24 小時後，藉阿爾瑪藍試劑測量細胞存活率，結果如圖 3-10(A)所示，三種光源組別與假處理組相比皆無顯著性差異。相對而言，藉濃度為 60 nM 之胰島素慢性暴露後所誘導之胰島素阻抗肌肉細胞(以 + 記號標記)照射三種不同光源 24 小時後，其細胞存活率與假處理組相比亦無顯著差異，如圖 3-10(B)所示。此結果揭示，於 30.0 mW/cm^2 照射 5 分鐘之 9.0 J/cm^2 劑量之光生物調節條件，不同波長之近紅外光照射並未對細胞造成明顯毒性或抑制其生長，故後續可作為探討近紅外光於葡萄糖代謝與相關生理機制影響之研究條件，並確保所揭示之生物效應主要源自於光生物調節作用，而非細胞毒性所致。

doi:10.6342/NTU202601320

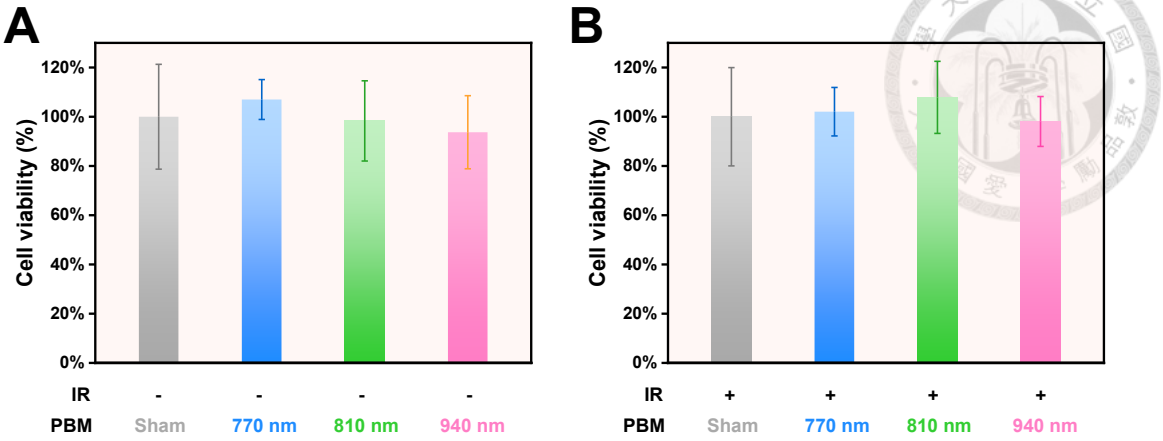


圖 3-10 (A)正常與(B)具胰島素阻抗之肌肉細胞經不同波長近紅外光光源照射後之細胞存活率。

3.2.4 光生物調節之葡萄糖攝取變化分析

於確認光生物調節照射條件具良好細胞相容性後，本研究進一步評估近紅外光對細胞葡萄糖攝取能力之影響。葡萄糖攝取為細胞能量供應與胰島素反應之關鍵表現之一，故其變化可直接反映細胞代謝功能之改善程度。

藉 2-NBDG 染色之共軛焦顯微鏡影像觀察 C2C12 肌管細胞之葡萄糖攝取狀況，如圖 3-11 所示，其中比例尺為 20 μm，呈現七組不同處理條件下之細胞螢光分布。於正常 C2C12 肌管細胞中，經 30 分鐘之 100 nM 短期胰島素刺激後，其 2-NBDG 綠色螢光訊號顯著提升，闡明細胞葡萄糖攝取能力增加，相較之下，未經胰島素刺激之組別則呈現較低之螢光訊號。於 60 nM 慢性胰島素暴露 24 小時之胰島素阻抗疾病細胞中，不論是否進行短期胰島素刺激，其 2-NBDG 累積量皆顯著低於正常細胞，揭示細胞於葡萄糖之攝取能力下降，反映胰島素訊號傳遞受損，經三種不同波長之近紅外光照射後，胰島素阻抗細胞之 2-NBDG 螢光訊號皆提升，其中以 770 nm 處理組最為顯著，其次為 810 nm，而 940 nm 提升幅度較低。此結果顯示近紅外光可改善胰島素阻抗所導致之葡萄糖攝取能力下降，且不同波長之調控效果具差異性。

doi:10.6342/NTU202601320

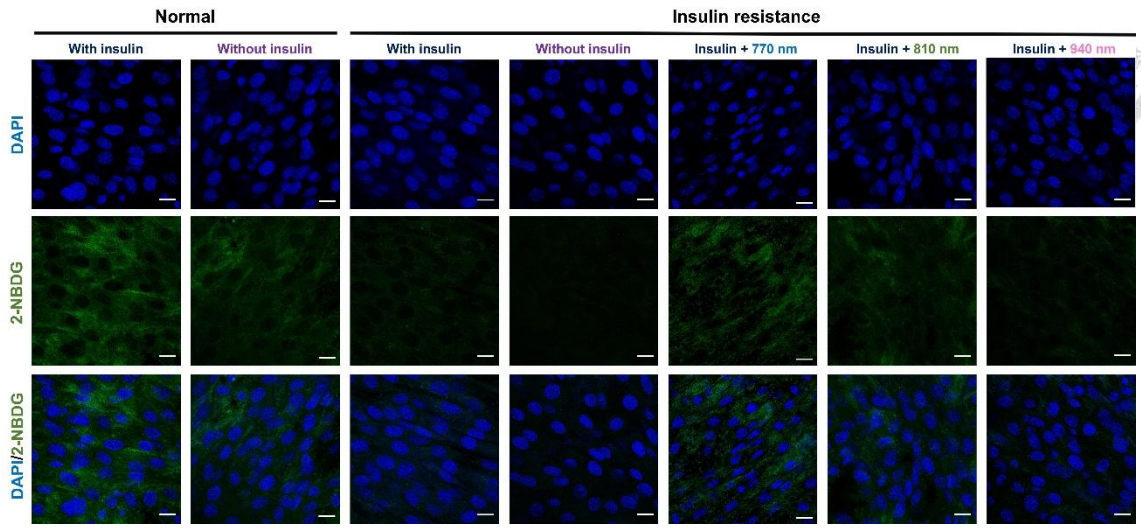


圖 3-11 正常與具胰島素阻抗之肌管細胞經不同處理之 2-NBDG 共軛焦顯微鏡影像圖。

為進一步量化上述結果，本研究藉 ImageJ 軟體進行影像分析，各組別由兩片玻片中隨機選取三個視野進行定量。所有數據以平均值 ± 標準差表示，並藉 Student's t-test 進行統計分析。如圖 3-12 結果顯示，於正常細胞中，短期胰島素刺激可使 2-NBDG 攝取量相較於未接受胰島素刺激之組別顯著提升 81% ($\#p < 0.05$)。於胰島素阻抗細胞中，雖短期胰島素刺激仍可使 2-NBDG 攝取量提升約 36% ($*p < 0.05$)，然相較於短期胰島素刺激之正常細胞，其攝取量顯著下降 229% ($*p < 0.05$)，揭示胰島素阻抗細胞具葡萄糖攝取能力下降之情況。此外，相較於胰島素阻抗對照組(具胰島素阻抗與假處理組)，770 nm 照射可提升葡萄糖攝取約 127% ($*p < 0.05$)，810 nm 提升 84% ($*p < 0.05$)，940 nm 則提升 69% ($*p < 0.05$)，揭示近紅外光之光生物調節照射可有效改善具胰島素阻抗之 C2C12 肌管細胞葡萄糖攝取功能，其中以 770 nm 效果最佳。

doi:10.6342/NTU202601320

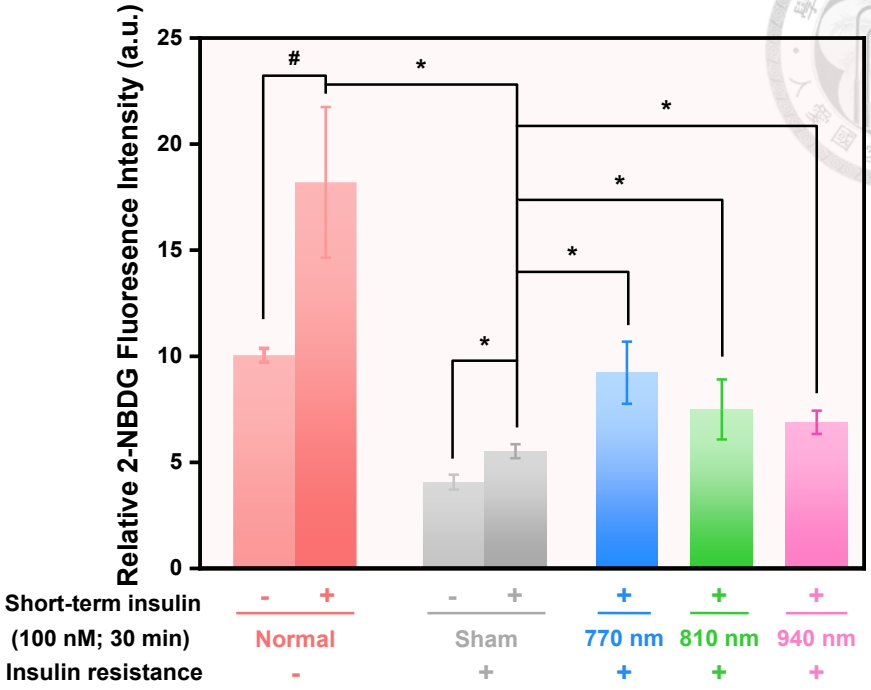


圖 3-12 量化 2-NBDG 螢光強度之長條圖。

3.2.5 光生物調節之細胞粒線體膜電位變化分析

鑑於粒線體膜電位為反映粒線體功能與能量代謝狀態之關鍵指標，故藉粒線體膜電位之變化，以揭示不同波長近紅外光光生物調節於粒線體功能之調控效果。

藉五組肌肉細胞評估粒線體膜電位變化，涵蓋一組正常細胞(以 – 記號標記)與四組具胰島素阻抗之肌肉細胞(以 + 記號標記)，其中三組以 770、810 及 940 nm 之近紅外光照射具胰島素阻抗細胞。藉粒線體膜電位探針 JC-10 染劑揭示細胞之粒線體膜電位變化，因細胞於一般狀態時，JC-10 將聚集於粒腺體內並發射紅色螢光訊號，當粒線體發生異常，JC-10 染劑將作為單聚體發射綠色螢光訊號，故可藉比較紅色與綠色螢光訊號強度之比值揭示粒線體之健康狀態。藉多模式吸收與螢光光譜儀量測之結果如圖 3-13 所示，將正常之肌肉細胞作為標準，藉 60 nM 慢性胰島素暴露所建立之胰島素阻抗細胞螢光訊號比值下降 45%，揭示此條件所建立之胰島素阻抗將導致粒線體膜電位降低，使粒線體功能受損。當細胞於三種不同之

doi:10.6342/NTU202601320

近紅外光光源照射後，分別可提升螢光訊號比值，其中以 770 nm 光源效果最佳，具 34%之顯著提升，810 nm 光源效果次之，亦顯著性提升 21%，而 940 nm 效果最不理想，僅上升 16%，且無統計上之意義。所有數據均以平均值 ± 標準差表示，且 n = 6，並以 Student's t-test 進行統計分析，其中$^{**}p < 0.005$ 與$^{***}p < 0.001$ 顯示與具胰島素阻抗與未照光之組相比，統計上具顯著差異。

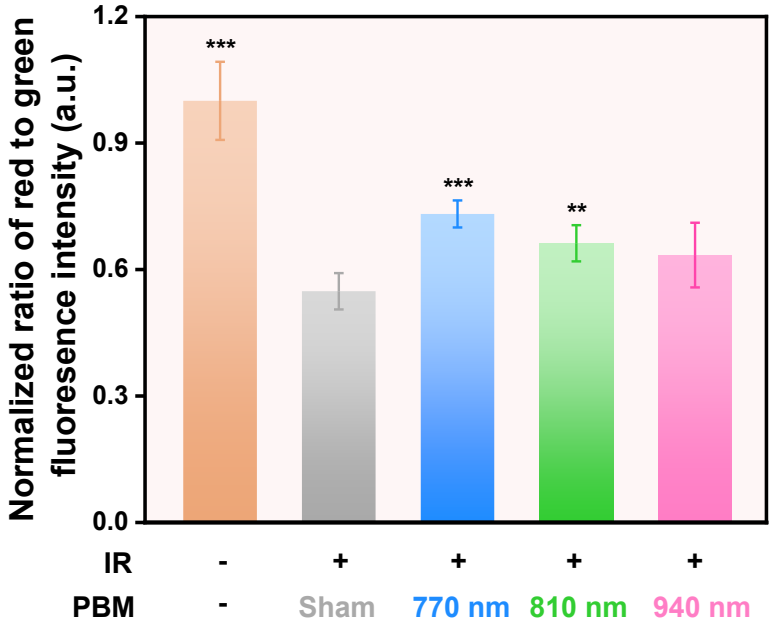


圖 3-13 肌肉細胞經不同近紅外光光生物調節照射後之粒線體膜電位變化。

為進一步驗證上述粒線體膜電位之變化趨勢，本研究藉 JC-10 染色之共軛焦顯微鏡影像進行觀察，其結果如圖 3-14 所示。於正常細胞中，可揭示 JC-10 主要以聚集型態存於粒線體中，呈現較強之紅色螢光訊號，顯示粒線體膜電位處於較高且穩定之狀態。相較之下，胰島素阻抗細胞之紅色螢光訊號明顯降低，而綠色螢光訊號增加，揭示 JC-10 以單聚體形式存在，反映粒線體膜電位下降及功能受損。

藉近紅外光照射後，胰島素阻抗細胞之紅色螢光訊號均具不同程度之恢復，其中以 770 nm 組別最為顯著，揭示其可有效提升粒線體膜電位，810 nm 組別亦呈現顯著改善，而 940 nm 組別則僅具有限程度之提升。此影像觀察結果與前述多模式

doi:10.6342/NTU202601320

吸收與螢光光譜儀之定量分析趨勢一致，闡明近紅外光光生物調節可改善胰島素阻抗所造成之粒線體功能異常。

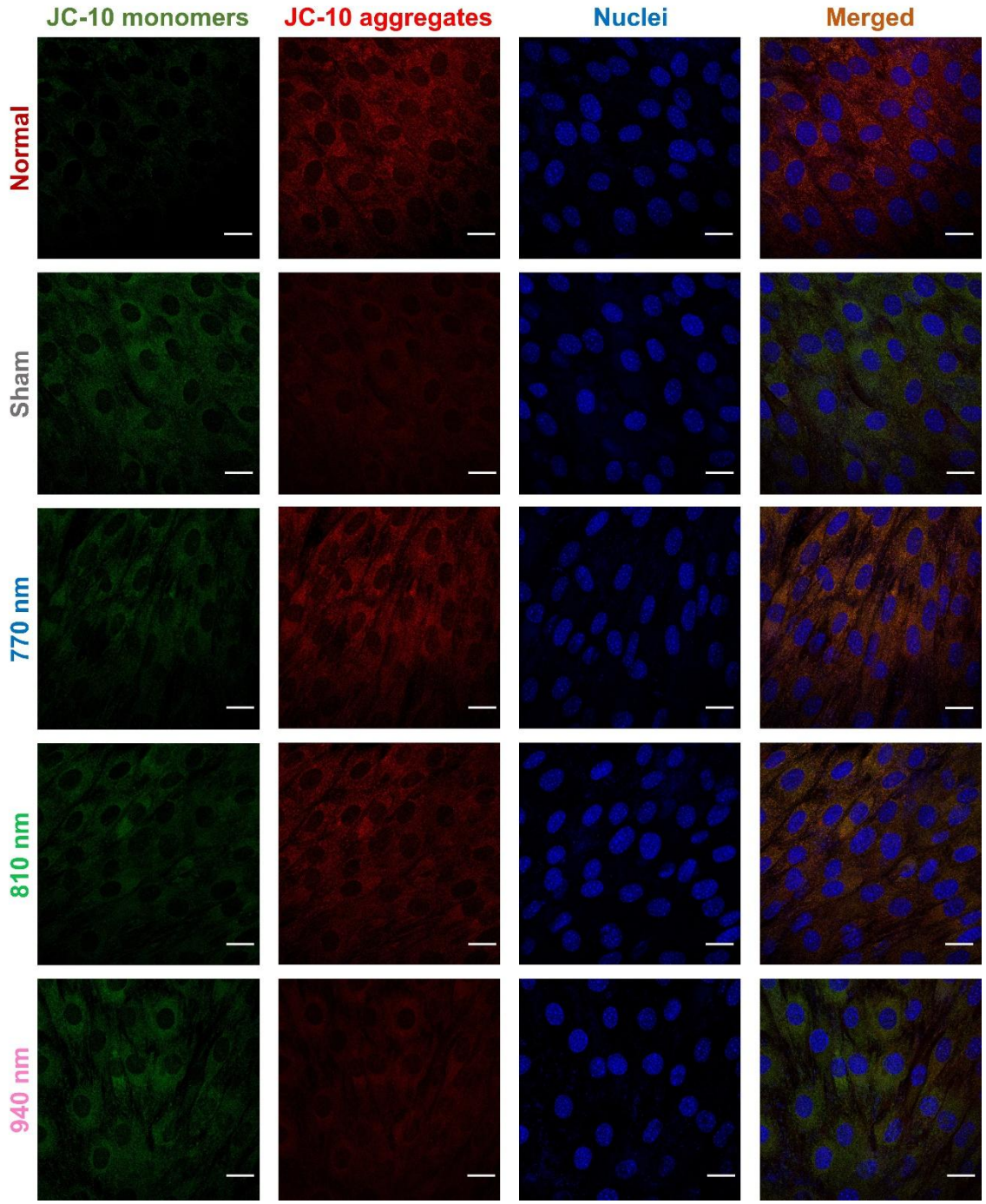


圖 3-14 正常與具胰島素阻抗之肌管細胞經近紅外光光生物調節之 JC-10 共軛焦顯微鏡影像圖。

doi:10.6342/NTU202601320

3.2.6 光生物調節之細胞色素 c 氧化酶活性分析

於確認近紅外光之光生物調節可改善粒線體膜電位與細胞葡萄糖攝取後，本研究進一步探討其對粒線體電子傳遞鏈關鍵酵素 CCO 活性之影響。鑑於 CCO 被視為近紅外光之主要光受體，故分析三種不同波長之近紅外光於此酵素活性之調控效果，以釐清其作用機制。

本研究藉細胞色素 c 氧化酶活性測定試劑組進行分析，結果如圖 3-15 所示，為經歸一化後之細胞色素 c 吸收度之變化曲線，各組數據以平均值 ± 標準差表示，且 n = 3，比較假處理組與不同波長近紅外光光生物調節(770 nm、810 nm 及 940 nm)照射 5 分鐘後之酵素活性變化。依 2.2.5 節所述之原理，反應過程中吸收度下降速率越快，代表 CCO 活性越高。由結果可揭示相較於假處理組，經近紅外光照射之各組皆呈現較快之吸收度下降趨勢，顯示 CCO 活性提升。其中以 770 nm 組別之下降幅度最大，顯示其於 CCO 活性之提升效果最佳，810 nm 組別次之，而 940 nm 組別則呈現相對較低之提升效果。

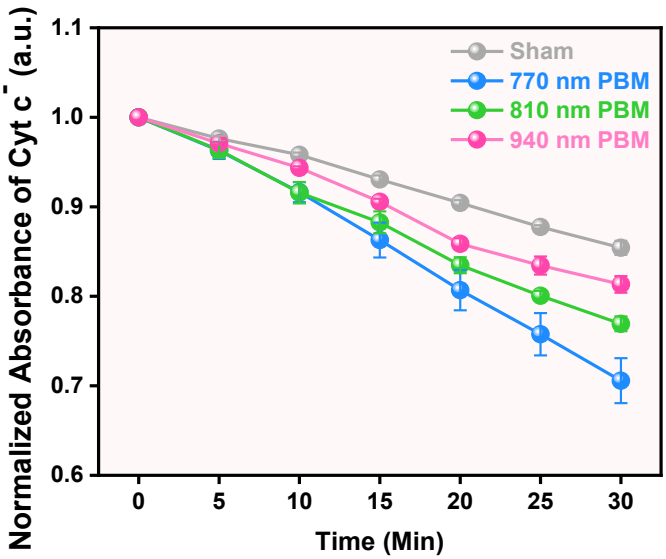


圖 3-15 歸一化之細胞色素 c 吸光度之變化曲線圖。

doi:10.6342/NTU202601320

如圖 3-16(A)–(C)至圖 3-19(A)–(C)分別為假處理組、770 nm、810 nm 及 940 nm 光生物調節照射組之細胞色素 c 吸收度於 30 分鐘內變化，將各數據結果建立一趨勢線，該趨勢線之斜率即為單位時間吸光度之變化，再依式 2-2 與上樣之蛋白質量計算 CCO 活性並進行歸一化，結果如表 3-9 所示。

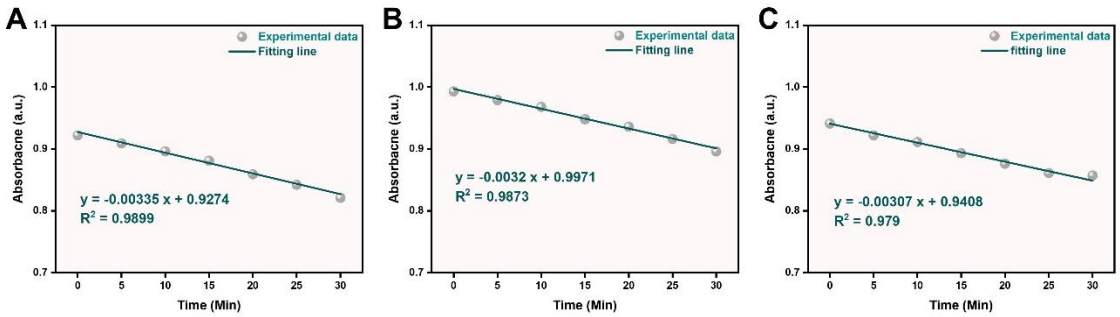


圖 3-16 (A)–(C)假處理組之三樣本細胞色素 c 吸收度變化曲線圖。

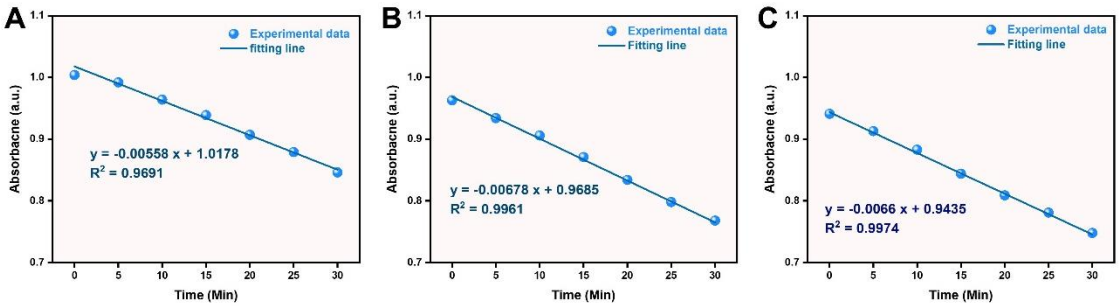


圖 3-17 (A)–(C)770 nm 照光組之三樣本細胞色素 c 吸收度變化曲線圖。

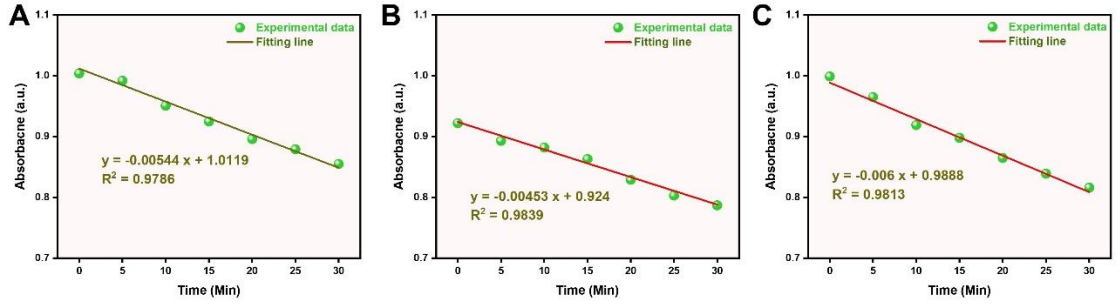


圖 3-18 (A)–(C)810 nm 照光組之三樣本細胞色素 c 吸收度變化曲線圖。

doi:10.6342/NTU202601320

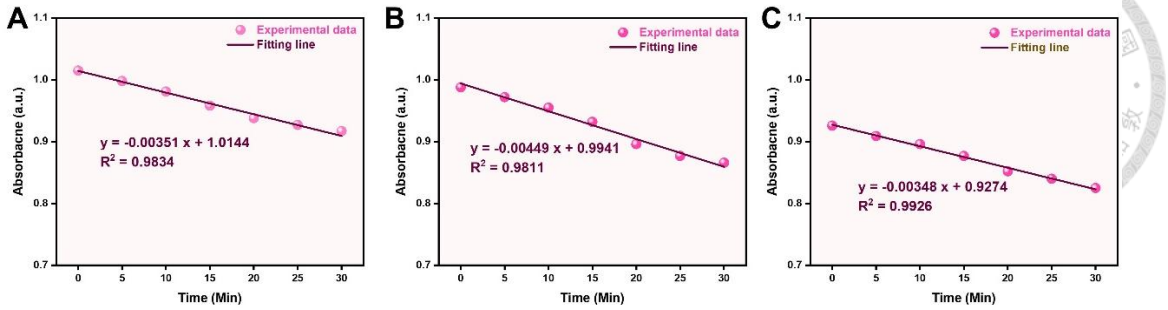


圖 3-19 (A)–(C)940 nm 照光組之三樣本細胞色素 c 吸收度變化曲線圖。

表 3-9 各組之斜率、蛋白質含量及歸一化之 CCO 酵素活性。

	Slope	Protein (mg)	Normalized CCO activity (a.u.)
Sham-1	-0.00335	0.674	1.000
Sham-2	-0.00320	0.620	1.038
Sham-3	-0.00307	0.641	0.963
770 nm-1	-0.00558	0.621	1.807
770 nm-2	-0.00678	0.672	2.029
770 nm-3	-0.00660	0.570	2.328
810 nm-1	-0.00544	0.621	1.761
810 nm-2	-0.00453	0.628	1.450
810 nm-3	-0.00600	0.770	1.567
940 nm-1	-0.00351	0.568	1.243
940 nm-2	-0.00449	0.600	1.505
940 nm-3	-0.00348	0.548	1.277

量化結果如圖 3-20 所示，將預先之建立胰島素阻抗模型中假處理組之 CCO 酵素活性標準化為 1，比較不同波長近紅外光照射後之 CCO 酵素活性變化。各組數

doi:10.6342/NTU202601320

據以平均值 ± 標準差表示，並藉 Student's t-test 進行統計分析，各照光組與假處理組相比皆具統計上顯著差異(**$p < 0.005$ 與*$p < 0.05$)。其結果可揭示相較於假處理組，770 nm 照光組之 CCO 活性顯著提升約 105%，810 nm 組別提升約 59%，而 940 nm 組別則提升約 34%。此結果揭示近紅外光於 CCO 活性之調控具波長依賴性，雖 770 nm 與 810 nm 波長皆與 CCO 酵素之吸收光譜具相近程度之重疊，然其對應之吸收區域不同。770 nm 主要對應於約 760 nm 之吸收峰，該區域與 heme a_3 與 Cu_B 組成之活性中心相關，為電子傳遞鏈中之速率決定步驟，亦為進行氧還原反應之關鍵位置，相較之下，810 nm 則對應於約 820 nm 之吸收區域，主要涉及電子傳遞之前段，故即便兩者光譜重疊程度相近，770 nm 可更直接影響 CCO 之催化核心，展現較佳之生物效應，而 940 nm 因與 CCO 主要吸收峰之重疊程度較低，導致其於酵素活性之促進效果最為有限。

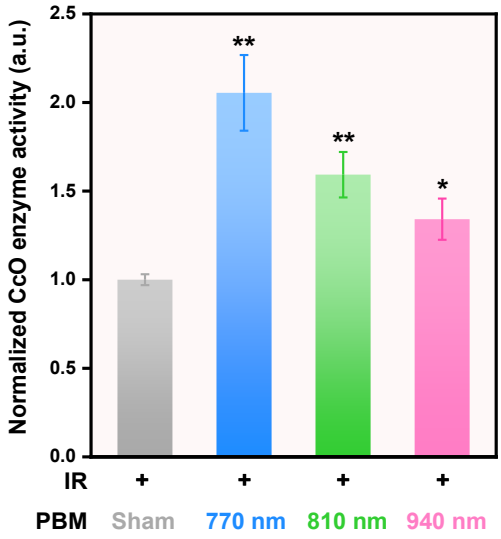


圖 3-20 量化細胞色素 c 氧化酶活性之長條圖。

3.2.7 光生物調節之細胞三磷酸腺苷含量變化分析

鑑於 CCO 為粒線體電子傳遞鏈末端之關鍵酵素，其於 ATP 生成過程中扮演重要角色，故本研究進一步分析不同波長之近紅外光光生物調節於細胞內 ATP 含量

doi:10.6342/NTU202601320

之影響，以評估其於細胞能量代謝之調控作用。

本研究藉 ATP 檢測試劑盒進行分析，如圖 3-21 所示，以不同濃度之 ATP 標準品(12、36、112、343、1056、3250 及 10000 fmol)與 D-luciferin 反應產生之冷發光，建立 ATP 含量與冷發光之標準曲線。由結果可得知其線性回歸方程式，如式 3-1 所示，其中 y 表示為冷發光訊號，x 表示為 ATP 含量，且判定係數 $R^2 = 0.9982$，表示其具良好之線性關係與定量準確性(n = 3)。

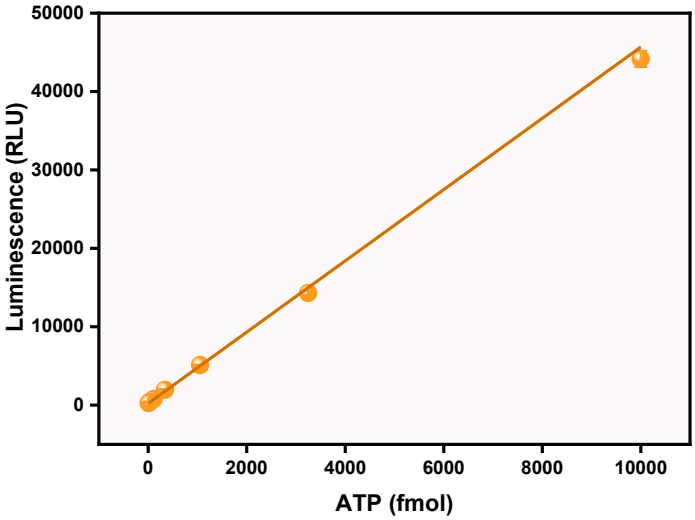


圖 3-21 ATP 含量與冷發光之標準曲線圖。

$$y = 4.55x + 221.13 \quad \text{(式 3-1)}$$

各組細胞皆預先建立胰島素阻抗模型，並分別經假處理或不同波長近紅外光(770 nm、810 nm 及 940 nm)照射 5 分鐘後進行細胞裂解，將樣品與 D-luciferin 反應，所得之冷發光訊號代入標準曲線進行換算，以獲得細胞內 ATP 含量，其結果如圖 3-22 所示，各組數據以平均值 ± 標準差表示，其中 n = 6，並藉 Student's t-test 進行統計分析，結果顯示各照光組與假處理組相比皆達統計上顯著差異(*p < 0.05 與***p < 0.001)。結果揭示近紅外光照射可顯著提升細胞內 ATP 含量，相較

doi:10.6342/NTU202601320

於假處理組，770 nm 照光組之 ATP 含量顯著提升 165%，而 810 nm 組別提升約 133%，940 nm 組別則僅提升約 20%。比較不同波長之調控效果，可揭示 770 nm 組別於 ATP 生成之促進效果最佳，其次為 810 nm，而 940 nm 則呈現相對較低之提升幅度。此結果與前述 CCO 活性與粒線體膜電位之變化趨勢一致，進一步支持近紅外光可藉促進粒線體功能與電子傳遞鏈活性，提升細胞能量代謝。

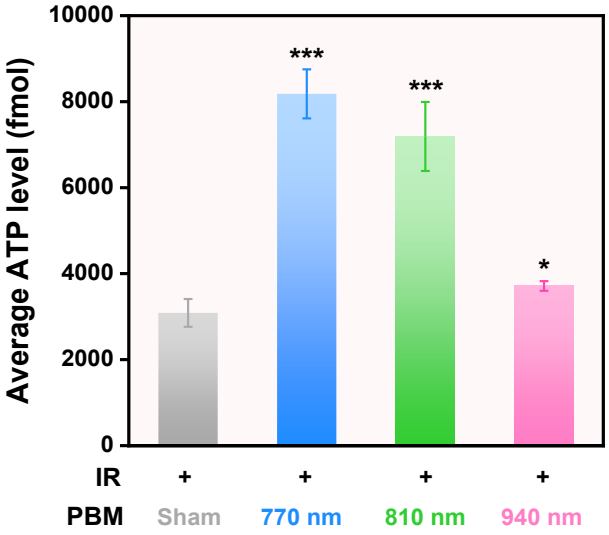


圖 3-22 假處理與照光處理後之 ATP 含量。

3.2.8 光生物調節之細胞一氧化氮含量變化分析

近紅外光光生物調節除可提升 CCO 酵素活性並促進 ATP 生成外，亦可調控細胞內一氧化氮之生成。鑑於 NO 可與 CCO 結合並抑制其活性，故分析不同波長近紅外光於 NO 含量之調控，以釐清其於光生物調節機制中之角色。

藉 DAF-FM Diacetate 染色之共軛焦顯微鏡影像分析，結果如圖 3-23 所示，其中比例尺為 20 μm。藉 ImageJ 軟體進行定量分析(n = 6)，各組數據以平均值 ± 標準差表示，並以 Student's t-test 進行統計分析，量化結果如圖 3-24 所示，與正常細胞相比，經 60 nM 胰島素處理 24 小時後所建立之胰島素阻抗細胞(Sham 組)，其 NO 含量顯著下降約 39% (*$p < 0.05$)，揭示胰島素阻抗狀態下細胞內 NO 生成能力

doi:10.6342/NTU202601320

受抑制。經近紅外光照射後，NO 含量皆呈現回升趨勢，其中以 770 nm 組別提升最為顯著，NO 含量約增加 66%，並具統計上顯著差異(*$p < 0.05$)，相較之下，810 nm 與 940 nm 組別分別僅提升約 21%與 16%，然統計上未具顯著差異。

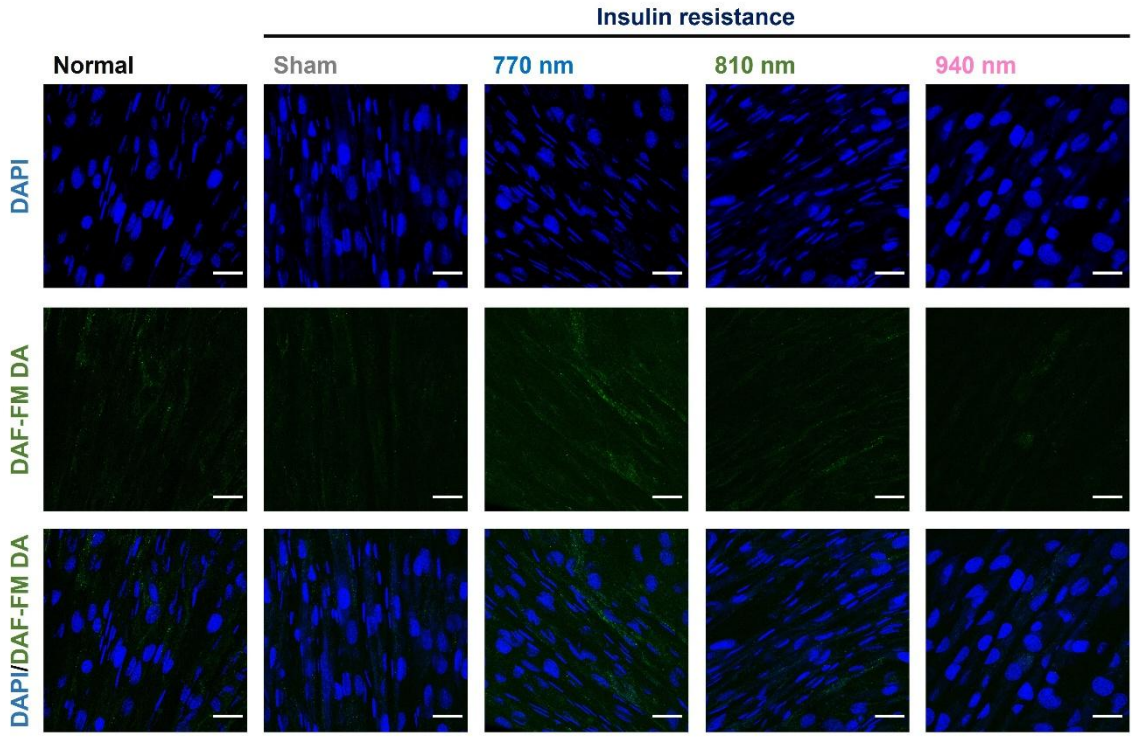


圖 3-23 經不同處理之 C2C12 肌管細胞 NO 含量之共軛焦螢光影像圖。

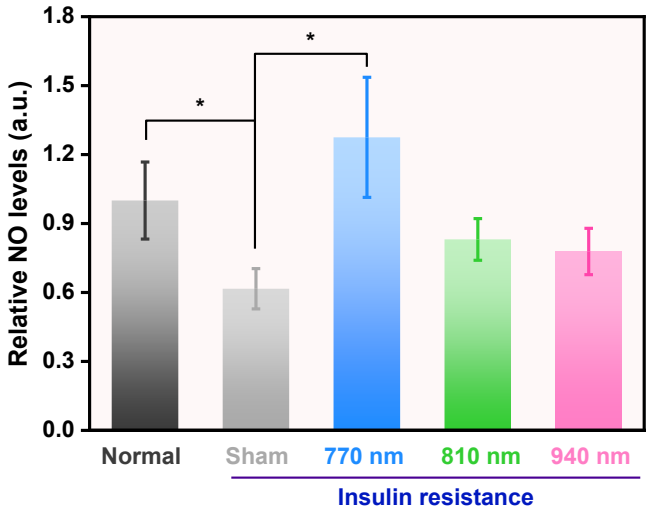


圖 3-24 不同處理條件下 C2C12 肌管細胞 NO 含量之定量分析圖。

doi:10.6342/NTU202601320

此結果揭示近紅外光之光生物調節可調控細胞內 NO 含量，且具波長依賴性，其中以 770 nm 效果最佳。NO 除為重要之細胞訊號分子外，亦與粒線體功能密切相關，其濃度變化將影響 CCO 酵素活性與電子傳遞鏈效率。本研究結果推測，近紅外光藉調節 NO 動態平衡，可使 NO 由 CCO 進行光解離，以促進 CCO 活性恢復與粒線體功能提升，進而改善細胞能量代謝狀態，亦與前述 ATP 與葡萄糖攝取之結果相互呼應。

3.2.9 光生物調節之細胞活性氧類含量變化分析

於確認近紅外光之光生物調節可促進 CCO 酵素活性並提升粒線體功能後，本研究進一步探討其餘細胞內活性氧類含量之影響。鑑於 ROS 為粒線體電子傳遞鏈運作過程中之副產物，其濃度變化與細胞氧化壓力與能量代謝密切相關，故分析不同波長近紅外光於 ROS 含量之調控，以評估其於光生物調節機制中之角色。

首先，藉多模式吸收與螢光光譜儀量測經近紅外光光生物調節後之 C2C12 肌管細胞內 ROS 含量變化，量測結果如圖 3-25 所示，各組數據以平均值 ± 標準差表示，其中 n = 6，各組間經 Student's t-test 分析皆具統計上顯著之差異(***$p < 0.001$)。結果可揭示，相較於正常組別，經 60 nM 慢性胰島素暴露所建立之胰島素阻抗與未經照光組之 ROS 含量顯著上升約 19.5%，揭示胰島素阻抗可導致細胞內氧化壓力增加。進一步比較三種不同波長近紅外光光生物調節之影響，可揭示所有照射組別皆可有效降低 ROS 含量。相較於假處理組，經 770 nm 照射後 ROS 含量下降 16%，810 nm 照射後亦下降 16%，而 940 nm 照射後則下降 15%。整體而言，不同波長之光生物調節皆具降低細胞內 ROS 之能力，其中以 770 nm 與 810 nm 之效果最為顯著，而 940 nm 之效果相對較弱。

doi:10.6342/NTU202601320

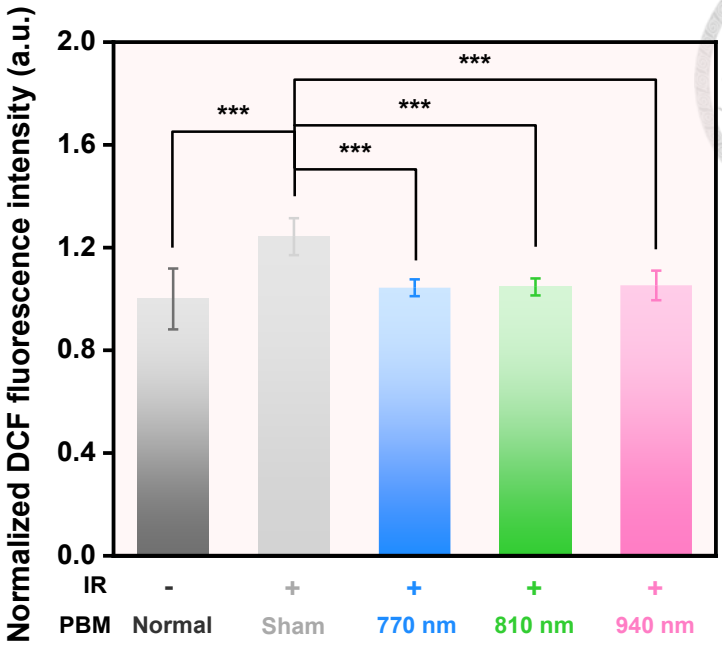


圖 3-25 具胰島素阻抗之 C2C12 肌管細胞經光生物調節之活性氧類含量變化圖。

隨後，利用流式細胞儀分析不同近紅外波長照射後具胰島素阻抗之 C2C12 細胞於 0、2、12 及 24 小時之活性氧類螢光強度分布變化。如圖 3-26 (A)–(C)所示，三組近紅外光照射後之螢光峰值皆隨時間逐漸向低螢光強度區域位移，顯示細胞內 ROS 水平隨時間下降。相較之下，770 nm 組之峰值左移幅度最為明顯，810 nm 組亦呈現顯著下降趨勢，而 940 nm 組雖可降低 ROS 訊號，然其變化幅度相對較小。進一步針對平均螢光強度進行量化分析，結果顯示 770 nm 組於照射後 2、12 及 24 小時分別下降 52%、62%及 80%；810 nm 組分別下降 30%、68%及 42%；940 nm 組則下降 22%、27%及 44%。其中 770 nm 組於 24 小時後呈現最大降幅，而 940 nm 組下降幅度相對較低，顯示較接近 CCO 吸收峰之波長具有較佳之氧化壓力調控能力。

doi:10.6342/NTU202601320

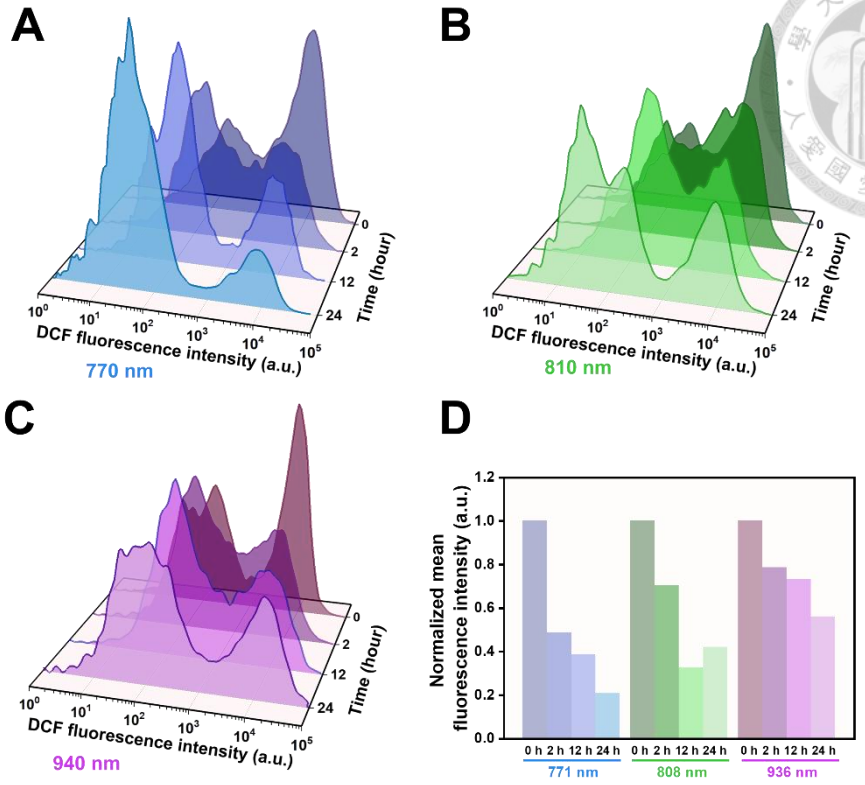


圖 3-26 藉(A)770 nm、(B)810 nm、(C)940 nm 之近紅外光波長調控胰島素阻抗細胞 ROS 含量之時間分布圖及(D)其量化結果圖。

另外，粒線體內生成之超氧化物亦為一種 ROS，並可藉 MitoSOX 指示劑染色，其染色後之共軛焦顯微鏡影像如圖 3-27 所示，於正常 C2C12 肌管細胞中，幾乎未觀察顯著之 MitoSOX 紅色螢光訊號，揭示於生理狀態下細胞內超氧化物生成量維持於低水平。然於建立胰島素阻抗模型且未經任何處理之組別可顯著觀察紅色螢光訊號大幅增加，揭示胰島素阻抗將促進粒線體超氧化物生成，進而導致氧化壓力上升。進一步比較不同波長之近紅外光光生物調節效果，結果揭示於 770 nm、810 nm 及 940 nm 照射 5 分鐘後，皆可降低 MitoSOX 螢光強度，代表粒線體超氧化物含量下降。其中，以 770 nm 與 810 nm 波長之改善效果較為顯著，而 940 nm 則相對較弱。藉多模式吸收與螢光光譜儀進行定量分析結果如圖 3-28 所示(各組數據以平均值 ± 標準差表示，n = 6)，所有組別間經 Student's t-test 分析皆具統計上顯著之差異(*$p < 0.05$、**$p < 0.005$ 及***$p < 0.001$)。以正常組之螢光強度作為基準，假

doi:10.6342/NTU202601320

處理組之超氧化物含量顯著增加 34%，揭示胰島素阻抗顯著提升粒線體氧化壓力。經近紅外光照射後，各組皆呈現下降趨勢，其中 770 nm 組降低 23%，810 nm 組降低 22%，而 940 nm 組僅降低 14%。此結果揭示 770 nm 具最佳抑制粒線體超氧化物生成之效果，其次為 810 nm，而 940 nm 之效果最為有限。

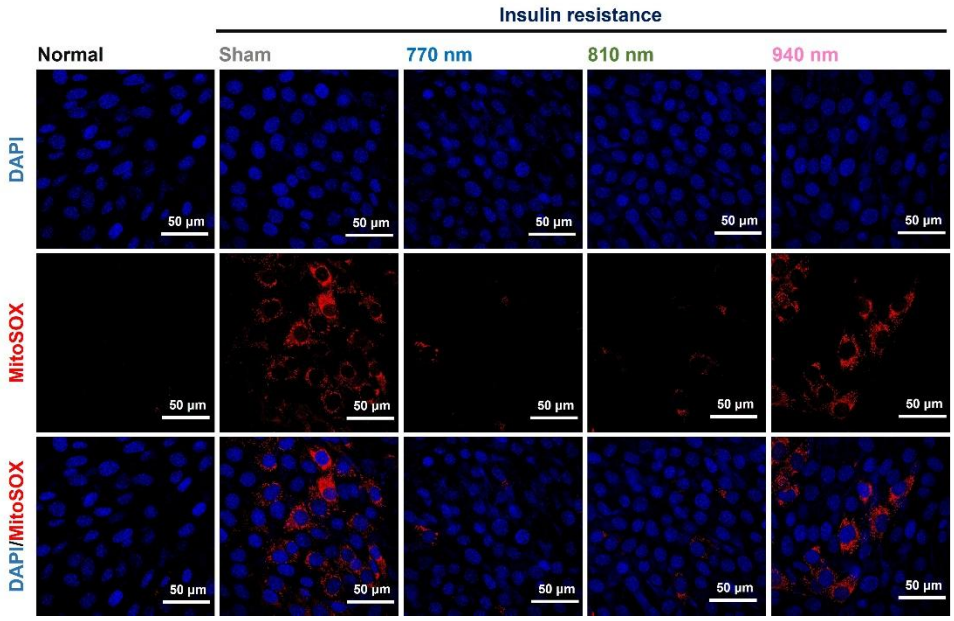


圖 3-27 經不同處理之 C2C12 肌管細胞超氧化物含量之共軛焦顯微鏡影像圖。

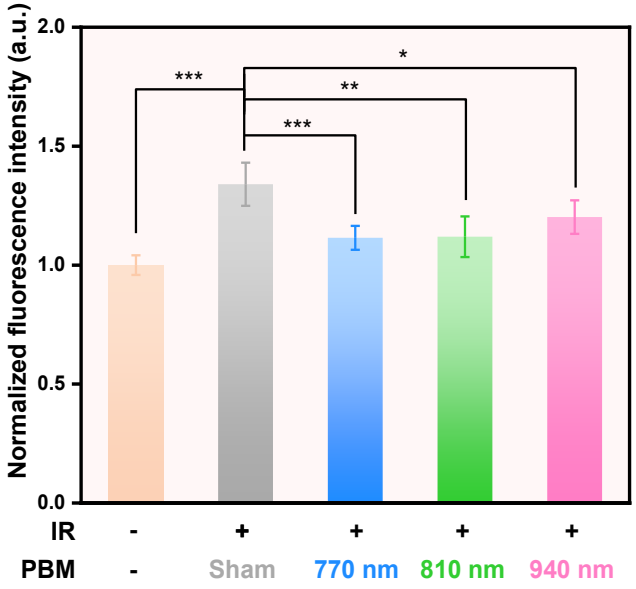


圖 3-28 經不同處理之 C2C12 肌管細胞內超氧化物含量長條圖。

doi:10.6342/NTU202601320

綜合上述結果，近紅外光光生物調節可有效降低胰島素阻抗細胞中之粒線體超氧化物含量，且其效果亦具波長依賴性，其中 770 nm 表現最佳，此趨勢亦與先前 ROS 總量分析結果一致，進一步支持其於調控氧化壓力與改善細胞代謝功能之潛在機制。

3.2.10 光生物調節之細胞訊號通路分析

於前述結果中已揭示，近紅外光之光生物調節可顯著改善胰島素阻抗 C2C12 肌管細胞之葡萄糖攝取能力，並調控粒線體功能與氧化壓力相關指標，涵蓋 ATP 生成與活性氧類含量之變化。然而，上述生理效應之分子機制仍須釐清，為探討近紅外光對胰島素訊號傳遞之影響，本節將進一步分析相關細胞訊號通路之變化。胰島素訊號主要藉 PI3K/Akt 路徑調控葡萄糖代謝，其中 Akt 之磷酸化為關鍵調控節點，並進一步影響 GLUT4 轉位與細胞於葡萄糖之攝取能力。本研究將藉西方墨點法、酵素連結免疫吸附法及免疫細胞染色分析相關訊號蛋白之表現變化，以評估不同波長近紅外光照射後於胰島素訊號傳遞之調節效果，並探討其作用機制。

本研究藉 ELISA 測量具胰島素阻抗之 C2C12 肌管細胞經不同近紅外光光生物調節照射後之 PIP_3 含量變化。圖 3-29 為以 PIP_3 標準液之不同濃度對應其量測吸光度(OD 值)與標準差所繪製之標準曲線，可揭示吸光度隨濃度增加呈現指數衰減趨勢，經非線性迴歸分析後可建立其標準曲線方程式，如式 3-2 所示。

$$y = 0.38 \times e^{-\left(\frac{x}{43.45}\right)} + 0.056 \qquad \text{(式 3-2)}$$

其中，y 為吸光度，x 為 PIP_3 濃度，其單位為 ng/mL。該擬合曲線之決定係數為 0.992，顯示此模型具良好之擬合度與可靠性，將用於後續樣品中 PIP_3 含量之定量分析。

doi:10.6342/NTU202601320

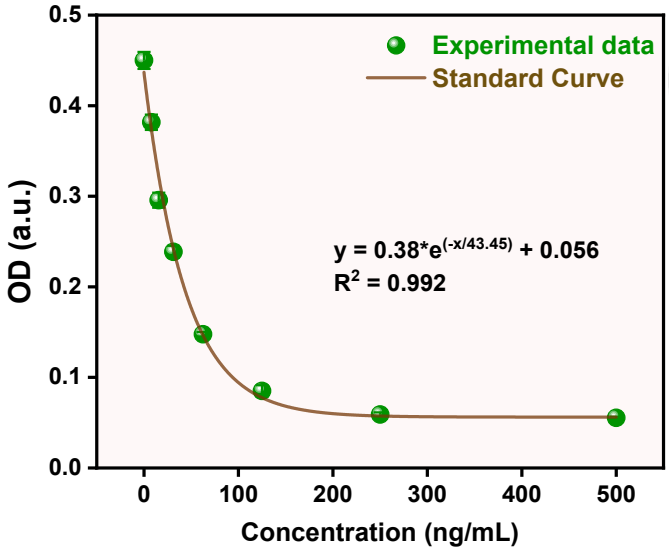


圖 3-29 PIP_3 之標準品濃度與其吸光度之趨勢線。

不同處理組別(Sham、770 nm、810 nm 及 940 nm)經近紅外光光生物調節後之 C2C12 肌管細胞於裂解後進行 PIP_3 含量分析，其結果如圖 3-30 所示(各組數據以平均值 ± 標準差表示，n = 6)。各照光組與假處理組之間經 Student's t-test 分析皆具統計上之顯著差異(*p < 0.05、**p < 0.005 及***p < 0.001)，揭示近紅外光之光生物調節於細胞內 PIP_3 含量具顯著影響。相較於假處理組，經 770 nm 波長照射 5 分鐘(光劑量為 9.0 J/cm^2)後，可使具胰島素阻抗之 C2C12 肌管細胞內 PIP_3 含量顯著提升 30%，810 nm 波長照射組亦呈現顯著上升，可提升 23%，而 940 nm 波長照射組之提升幅度相對較低，僅為 19%。整體而言，不同波長之近紅外光皆可促進 PIP_3 生成，其中以 770 nm 之提升效果最為顯著，其次為 810 nm，而 940 nm 則相對較弱。PIP_3 為 PI3K/Akt 訊號傳遞路徑之訊號分子，其含量增加代表上游 PI3K 活性提升，並有助於 Akt 之磷酸化與活化。

基於上述結果，為進一步評估近紅外光於下游訊號傳遞之影響，後續將針對 Akt 之磷酸化表現進行分析，以釐清其於胰島素訊號路徑中之調控狀況。

doi:10.6342/NTU202601320

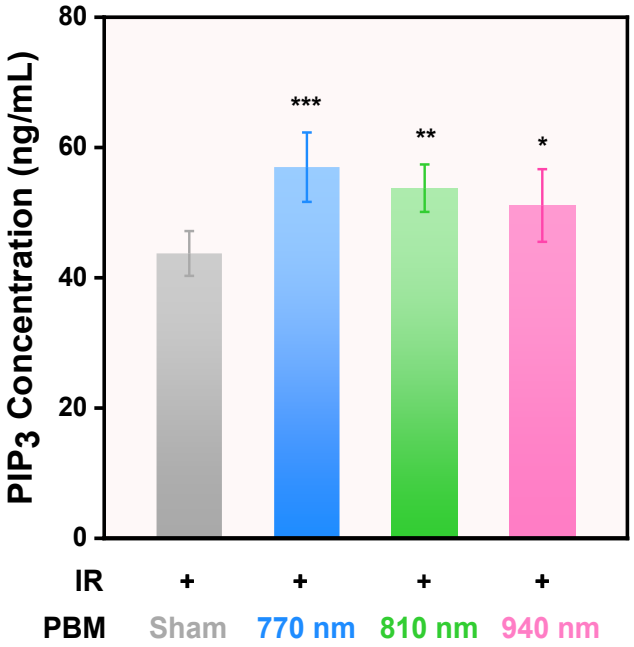


圖 3-30 經不同近紅外光光生物調節處理之 PIP_3 含量長條圖。

藉 60 nM 之慢性暴露胰島素 24 小時建立胰島素阻抗模型後，分別給予假處理、770 nm、810 nm 及 940 nm 之近紅外光光生物調節處理，並分析 Akt 於 Ser473 位點之磷酸化表現，其結果如圖 3-31 所示。由西方墨點法結果可揭示各照光組之 pAkt(Ser473)蛋白表現相較於假處理組皆具明顯提升。

藉 ImageJ 軟體進行蛋白條帶之定量分析並歸一化後可得，770 nm 照射組之 pAkt(Ser473)/Akt 比值提升較高，其次為 810 nm，而 940 nm 組提升量較低。整體趨勢可揭示不同波長之近紅外光皆可促進 Akt 於 Ser473 位點之磷酸化，表明其於胰島素訊號傳遞相關蛋白活化具正向影響。

此外，770 nm 照射組於 pAkt (Ser473)表現之提升幅度優於其他波長，揭示其於促進 Akt 活化之效果最佳。綜合 PIP_3 與 pAkt (Ser473)之分析結果可得知，近紅外光光生物調節處理可提升細胞內 PIP_3 含量與 Akt 之磷酸化表現，且其變化趨勢一致。此結果亦揭示不同波長之近紅外光可藉調控相關訊號分子之表現，進而影響胰島素訊號傳遞路徑之活化。

doi:10.6342/NTU202601320

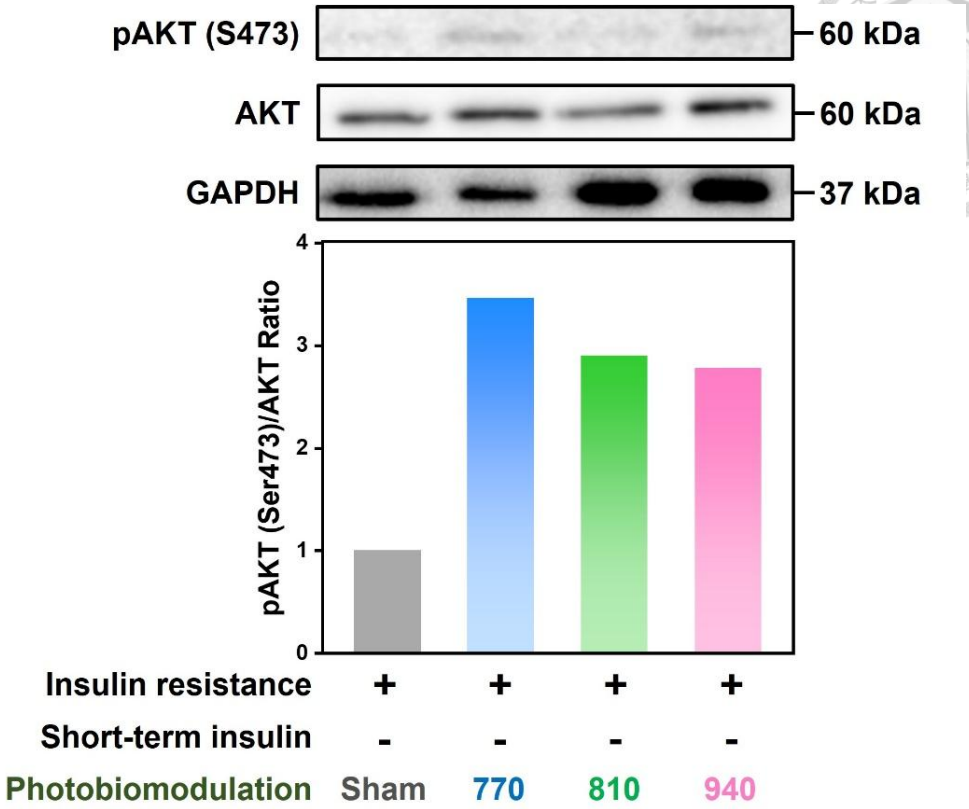


圖 3-31 經光生物調節之 pAkt (Ser 473)蛋白表達與其量化結果長條圖。

3.3. 近紅外光光生物調節之動物實驗

於前述細胞實驗中已證實近紅外光光生物調節可於胰島素阻抗之 C2C12 肌管細胞中調控葡萄糖攝取能力、改善粒線體狀態、增加 CCO 酵素之活性、降低活性氧類含量、提升 ATP 含量及促進 NO 之釋放，並影響 PI3K/Akt 相關訊號傳遞分子之表現，顯示其於細胞能量代謝與訊號傳遞具調節潛力。細胞層級之結果尚無法完整反映生物體內多重器官協同作用與整體代謝調控之複雜性，故進一步藉動物模型進行驗證，以評估其於體內之實際生理效應。

本研究藉 db/db 小鼠建立肥胖且具高血糖之糖尿病動物模型，以 C57BL/6 正常小鼠作為對照，依是否接受光照處理分為照光組與未照光組，共設置四組實驗條件，並探討其於血糖調控、胰島素敏感性及相關代謝指標之影響。依前述細胞實驗結果，不同波長之近紅外光皆於細胞中產生調節作用，並以 770 nm 於促進葡萄糖

doi:10.6342/NTU202601320

攝取、降低氧化壓力及調控訊號分子表現之整體表現最為顯著，故於後續動物實驗中，將以 770 nm 之近紅外光作為主要研究波長，評估其於體內之調控效果，以進一步釐清近紅外光之光生物調節於代謝相關疾病之應用潛力。為確保近紅外光照射之穩定性，小鼠皆於麻醉狀態進行假處理與近紅外光照射，使其背部目標區域對準 LED 光源。如圖 3-32(A)與(C)所示，當正常小鼠與 db/db 小鼠進行假處理時，光生物調節裝置並未通電而無發光，而進行照射時，770 nm 之近紅外光源由裝置內部均勻輸出，並覆蓋於正常與 db/db 小鼠背部肌肉區域，如圖 3-32(B)與(D)所示。

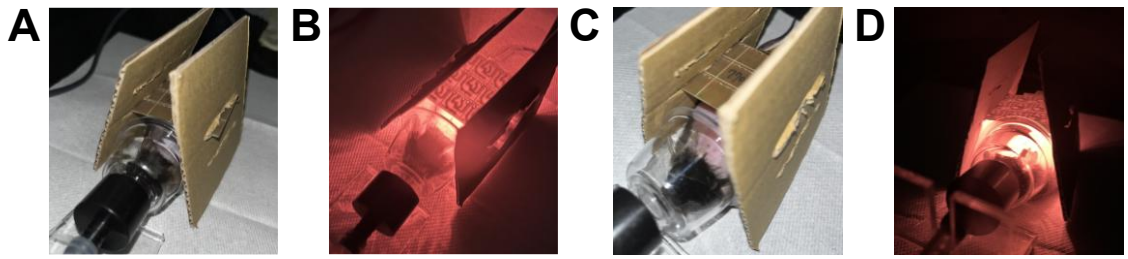


圖 3-32 770 nm 近紅外光光生物調節干預之(A)正常小鼠之未照光組、(B)正常小鼠之照光組、(C)db/db 小鼠之未照光組及(D)db/db 小鼠之照光組。

3.3.1. 糖尿病二型小鼠模型建立

本研究自國家實驗動物中心訂購 7 週齡、體重約 33.6 g 之 db/db 小鼠，小鼠到達後先於動物房暫留室適應飼養一週，再開始後續研究。為確認第二型糖尿病動物模型建立之有效性，本研究比較八週齡之 db/db 小鼠與 C57BL/6 正常小鼠於未禁食狀態下之體重與血糖表現。如圖 3-33(A)所示，db/db 小鼠之平均體重為 37.0 g，而正常小鼠為 21.3 g，各組數據以平均值 ± 標準差表示，其中 n = 6，結果揭示 db/db 小鼠之體重顯著高於正常組(***$p < 0.001$)，呈現明確之肥胖表型。此外，如圖 3-33(B)所示，db/db 小鼠之平均血糖值為 565 mg/dL，而正常小鼠為 163 mg/dL，揭示其血糖水準顯著升高(***$p < 0.001$)，並呈現穩定之高血糖狀態，相較之下，正常小鼠之血糖則維持於生理範圍內。

doi:10.6342/NTU202601320

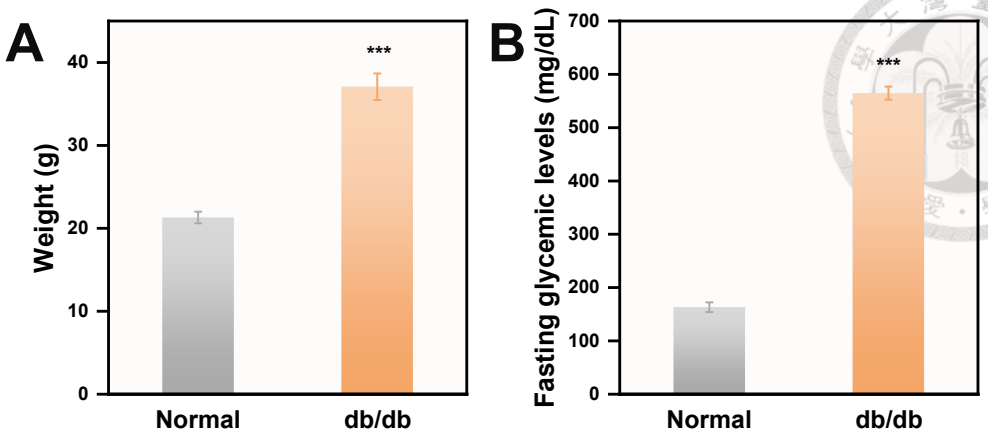


圖 3-33 八週齡之 db/db 與正常小鼠之(A)體重與(B)未禁食之血糖值。

除體重與血糖外，本研究進一步分析血清游離脂肪酸(free fatty acid; FFA)與三酸甘油酯(triglyceride; TG)濃度，以評估脂質代謝之狀況。如圖 3-34(A)所示，藉標準品建立 FFA 含量與吸收度之檢量線，如式 3-3 所示，其判定係數 $R^2 = 0.9913$，表示其線性關係良好，並可作為後續定量分析之依據。

$$y = 0.05989x + 0.00249 \qquad \text{(式 3-3)}$$

依據檢量線結果計算後，如圖 3-34(B)所示，與正常小鼠相比，db/db 小鼠之血清 FFA 含量顯著提升 222%。數據以平均值 ± 標準差表示，且 n = 6，並以 Student's t-test 進行統計分析，$***p < 0.001$ 顯示與正常小鼠組相比，統計上具顯著差異。

doi:10.6342/NTU202601320

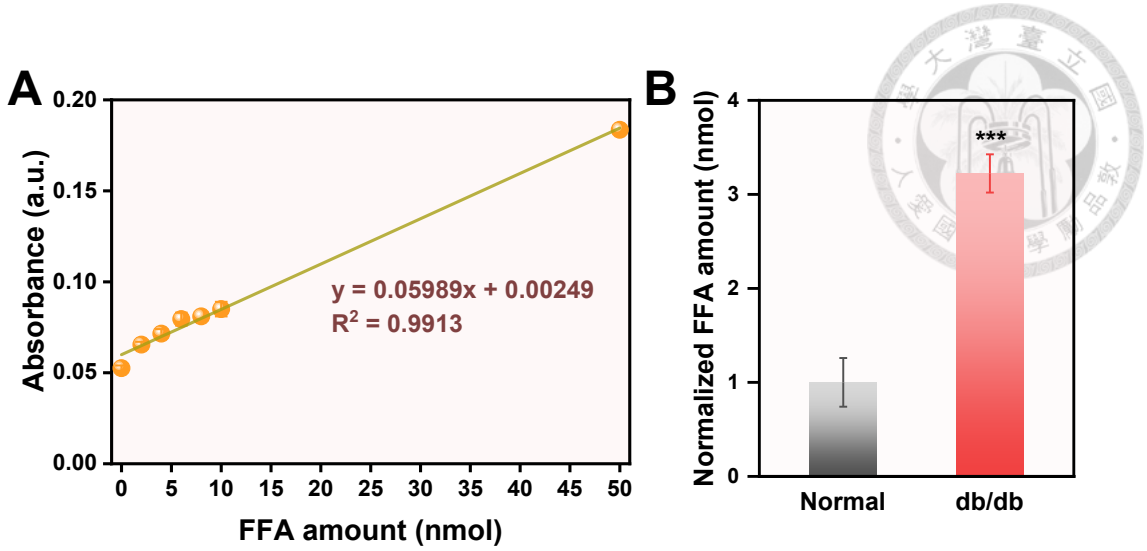


圖 3-34 (A)游離脂肪酸標準品與吸收度之檢量線與(B)正常組與 db/db 小鼠血清 FFA 含量比較。

如圖 3-35(A)所示，藉三酸甘油脂標準品建立 TG 與吸光度之檢量線，如式 3-4 所示，其判定係數為 $R^2 = 0.9964$，顯示兩者具良好之線性關係，可作為後續定量分析之依據。

$$y = 0.07029x + 0.00343 \qquad \text{(式 3-4)}$$

圖 3-35(B)為依檢量線計算之 TG 濃度長條圖，與正常小鼠相比，db/db 小鼠之血清 TG 含量顯著提升 234%。數據以平均值 ± 標準差表示(n = 6)，並藉 Student's t-test 進行統計分析，$***p < 0.001$ 代表與正常小鼠組相比具統計顯著差異。綜合 FFA 與 TG 含量之變化結果，可揭示 db/db 小鼠伴隨與第二型糖尿病常見之脂解增加、脂肪酸循環上升及脂質代謝失衡。

doi:10.6342/NTU202601320

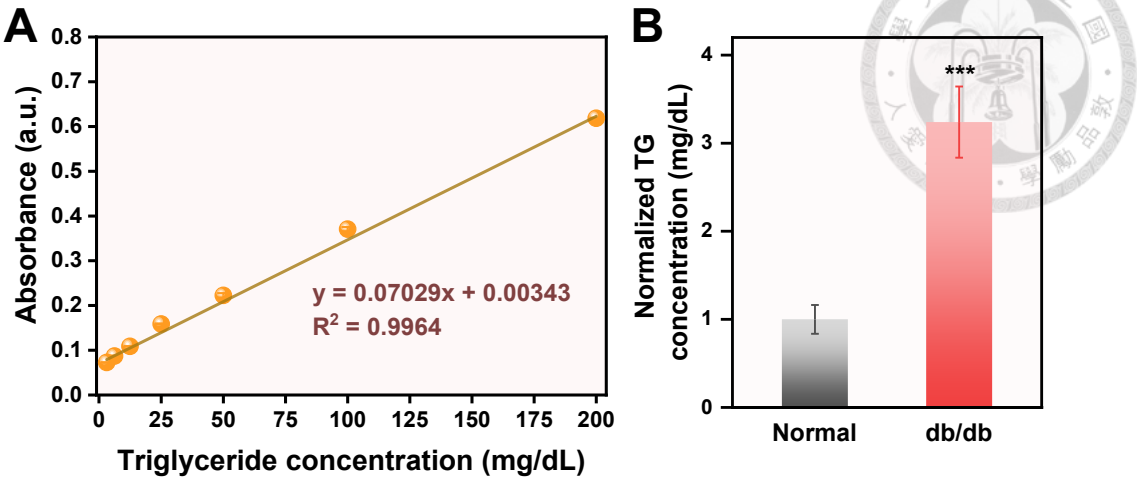


圖 3-35 (A)三酸甘油脂標準品與吸收度之檢量線與(B)正常組與 db/db 小鼠血清 TG 含量比較。

為評估正常小鼠與 db/db 小鼠之整體胰島素阻抗程度，本研究依據空腹血糖與空腹胰島素數值計算 HOMA-IR 指數，其結果如圖 3-36 所示。db/db 小鼠之 HOMA-IR 數值顯著高於正常小鼠 380%，顯示其已形成明確之胰島素阻抗特徵，此結果與第二型糖尿病病理表現一致，數據以平均值 ± 標準差表示(n = 6)，並藉 Student's t-test 進行統計分析，***$p < 0.001$ 代表與正常小鼠組相比具統計顯著差異。

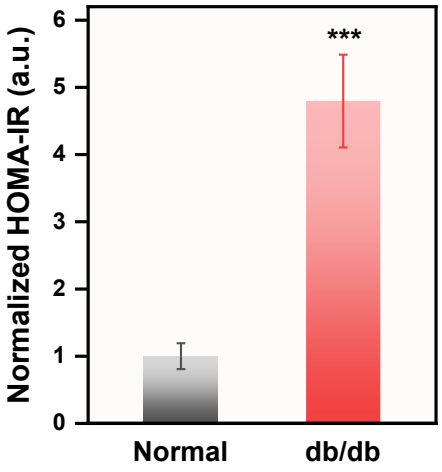


圖 3-36 不同組別小鼠胰島素阻抗指數分析圖。

doi:10.6342/NTU202601320

綜合上述結果，本研究已建立具肥胖、高血糖、高血脂及胰島素阻抗特徵之第二型糖尿病動物模型，可作為後續近紅外光光生物調節介入之基礎，並進一步評估其於照射一週後於葡萄糖耐受性、胰島素耐受性及血清代謝相關指標之影響。

3.3.2. 葡萄糖耐受性試驗

為評估近紅外光之光生物調節對體內葡萄糖代謝能力之影響，本研究進行葡萄糖耐受性試驗，以分析不同處理條件下小鼠對外源性葡萄糖負荷之清除能力。GTT 為評估整體血糖調控功能之方法，主要反映胰島素分泌與周邊組織於葡萄糖之利用能力。

於進行光生物調節介入前，對 db/db 與正常小鼠進行 GTT，結果如圖 3-37(A)所示，各組數據以平均值 ± 標準差表示，其中 n＝4，於注射外源性葡萄糖後，各組小鼠之血糖值皆隨時間迅速上升，並於第 30 分達至高峰。相較於正常小鼠，db/db 小鼠於各時間點之血糖值皆維持較高水準，且於第 30 與 60 分時呈現統計上差異 (*$p < 0.05$)。此外，正常小鼠之血糖於後續時間逐漸下降並接近基準值，而 db/db 小鼠之血糖下降幅度較小，揭示其於葡萄糖之清除能力較差。進一步將血糖變化曲線進行曲線下面積分析，如圖 3-37(B)所示，db/db 小鼠之曲線下面積顯著高於正常組 63% (*$p < 0.05$)，揭示其整體葡萄糖耐受能力顯著受損。

綜合上述結果，db/db 小鼠於外源性葡萄糖之調控能力下降，揭示其具明確之葡萄糖耐受不良現象，進一步驗證本研究所建立之糖尿病模型具典型之胰島素阻抗特徵。

doi:10.6342/NTU202601320

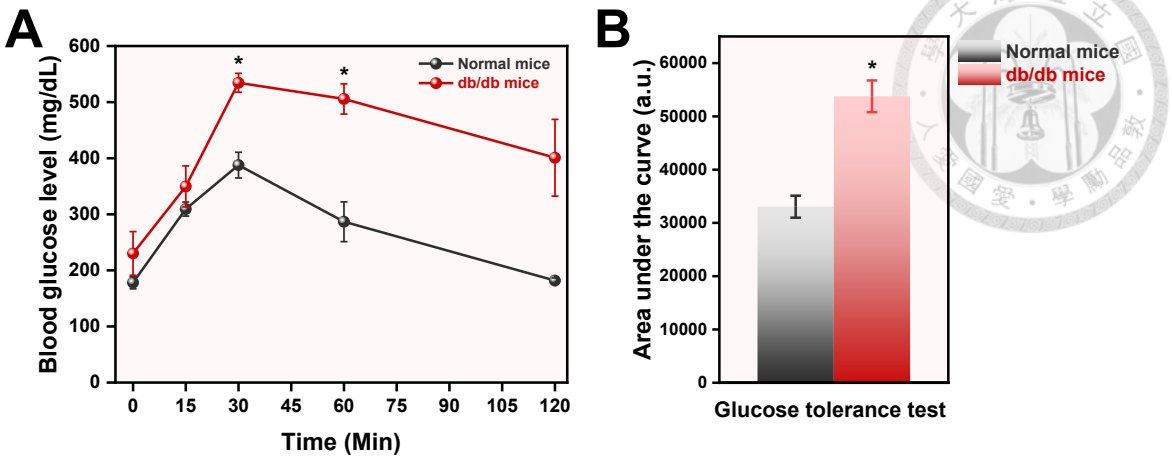


圖 3-37 照光前之(A)正常與 db/db 小鼠之 GTT 血糖曲線圖與(B)其曲線下面積長條圖。

於每日接受 770 nm 近紅外光光生物調節干預一週後，本研究再次進行葡萄糖耐受性試驗，以評估其對體內葡萄糖代謝功能之影響。首先，正常小鼠之結果如圖 3-38(A)所示，未照光組與照光組於葡萄糖負荷後之血糖值皆迅速上升，於第 30 分鐘達至峰值，並隨時間逐漸下降，顯示外源性葡萄糖注射後之生理調控反應。其中，經 770 nm 近紅外光光生物調節干預後，小鼠整體血糖上升幅度顯著降低。與未照光組相比，照光組於第 30 分鐘之血糖峰值下降 35%，並具統計顯著差異(**$p < 0.005$)，顯示近紅外光處理可有效抑制葡萄糖負荷後之急遽升糖反應。此外，於第 60 分鐘時，其血糖值亦顯著下降 33% (**$p < 0.005$)，揭示照光組小鼠於後續葡萄糖清除階段具較佳之代謝效率。至第 120 分鐘時，各組血糖值皆逐漸回復至接近初始水平。進一步將血糖變化曲線進行曲線下面積分析，如圖 3-38(B)所示，照光組相較正常對照組顯著下降 20% (*$p < 0.05$)，代表於相同葡萄糖負荷條件下，經近紅外光處理之小鼠整體血糖暴露量較低。各組數據以平均值 ± 標準差表示（n = 3），並以 Student's t-test 進行統計分析。

doi:10.6342/NTU202601320

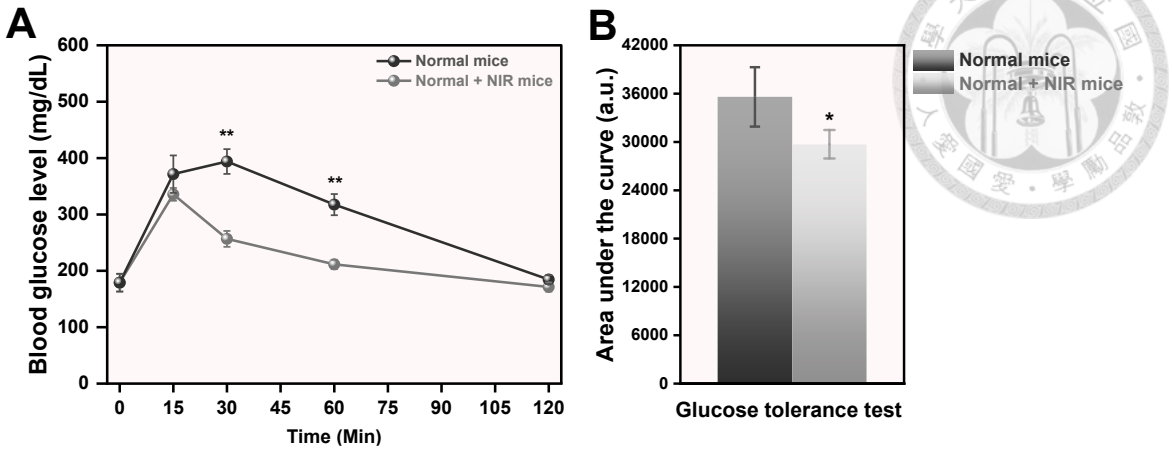


圖 3-38 照光一週後(A)正常小鼠之 GTT 血糖曲線圖與(B)其曲線下面積長條圖。

此外，db/db 小鼠亦於每日接受 770 nm 近紅外光光生物調節干預一週後進行 GTT，其結果如圖 3-39(A)所示。糖尿病未照光組與照光組小鼠於葡萄糖負荷後之血糖值皆於第 30 分鐘達至峰值，惟照光組之血糖上升幅度明顯較低，揭示近紅外光處理可有效緩解葡萄糖負荷後之急遽升糖反應。與未照光組相比，照光組於第 30 分鐘之血糖峰值下降 13%，並具統計顯著差異(**$p < 0.005$)。於第 60 分鐘時，其血糖值亦顯著下降 18% (**$p < 0.005$)，顯示照光處理可促進葡萄糖之清除效率。此外，至第 120 分鐘時，照光組血糖值持續下降，並較假處理組顯著降低 30% (*$p < 0.05$)，揭示經近紅外光處理後，db/db 小鼠血糖回復速度明顯提升。

進一步將血糖變化曲線進行曲線下面積分析，如圖 3-39(B)所示，照光組相較未照光組顯著下降 17% (**$p < 0.005$)，代表於相同葡萄糖負荷條件下，經近紅外光處理之 db/db 小鼠整體血糖暴露量明顯降低。各組數據以平均值 ± 標準差表示，且 n = 3，並以 Student's t-test 進行統計分析。綜合正常小鼠與 db/db 小鼠之結果可知，770 nm 近紅外光光生物調節可有效降低葡萄糖負荷後之血糖峰值，縮短血糖回復時間，並減少整體血糖暴露量，顯示其具促進體內葡萄糖利用與維持血糖恆定之能力，說明近紅外光光生物調節於改善第二型糖尿病相關代謝異常具潛在應用價值。

doi:10.6342/NTU202601320

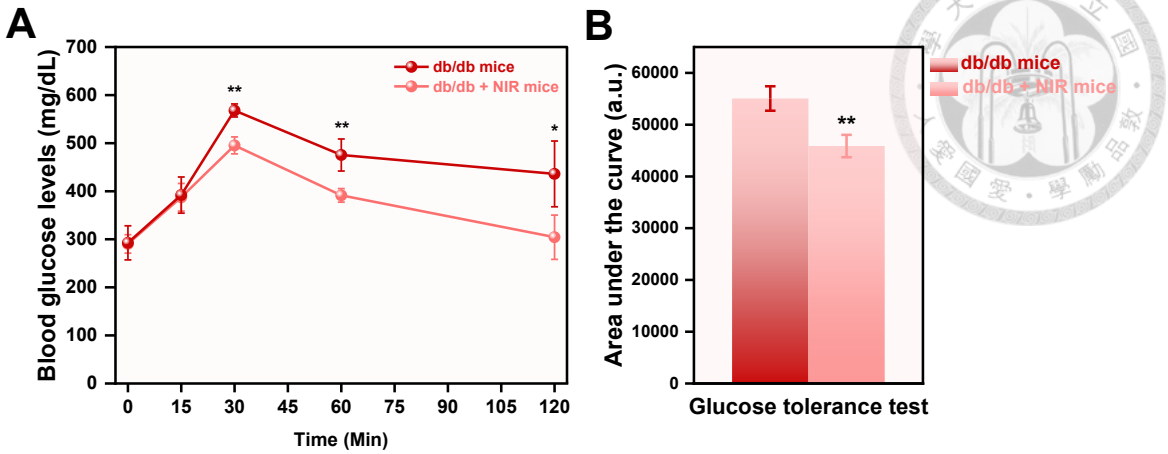


圖 3-39 照光一週後(A)db/db 小鼠之 GTT 血糖曲線圖與(B)其曲線下面積長條圖。

3.3.3. 胰島素耐受性測試

為進一步評估近紅外光之光生物調節對胰島素敏感性之影響，本研究進行胰島素耐受性試驗，藉外源性胰島素介入，評估小鼠體內葡萄糖恆定之調控效率。此試驗可反映周邊組織於胰島素訊號之反應程度，進而判斷其胰島素阻抗狀態。

於 770 nm 之近紅外光照射前，對 db/db 與正常小鼠進行 ITT，結果如圖 3-40(A)所示，各組數據以平均值 ± 標準差表示，其中 n＝4，於胰島素注射後，各組小鼠之血糖值皆呈現下降趨勢，惟其變化動態具差異。正常小鼠之血糖於第 15 分時達最低點，隨後逐漸回升。相對而言，db/db 小鼠之血糖值下降幅度較小，且於第 30 分方達最低點，揭示其於胰島素反應較為遲緩。此外，於第 15 分之時間點兩組間呈現統計上差異(*$p < 0.05$)，進一步顯示 db/db 小鼠之胰島素敏感性降低。進一步進行曲線下面積分析，如圖 3-40(B)所示，db/db 小鼠之曲線下面積顯著高於正常組 8% (*$p < 0.05$)，顯示其整體血糖下降能力較差。

綜合上述結果，db/db 小鼠於胰島素刺激下之血糖調控反應較慢且下降幅度受限，揭示其具明確之胰島素阻抗現象。

doi:10.6342/NTU202601320

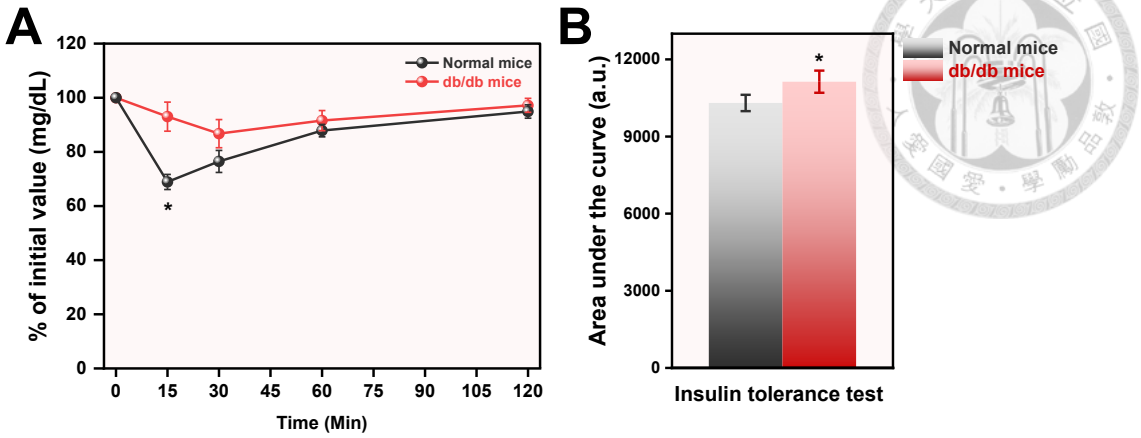


圖 3-40 照光前之(A)正常與 db/db 小鼠之 ITT 血糖曲線圖與(B)其曲線下面積長條圖。

於每日光生物調節處理一週後，本研究進行正常小鼠之 ITT，結果如圖 3-41(A)所示。相較於正常未照光組，經 770 nm 近紅外光照射之小鼠於胰島素刺激後呈現較為顯著之血糖下降反應，其中於第 30 與 60 分時具顯著性差異(**p <0.005)，揭示近紅外光光生物調節可增強胰島素介導之葡萄糖攝取能力。如圖 3-41(B)所示，其曲線下面積分析可得知照射組之 AUC 低於對照組 23% (**p < 0.01)，代表於相同胰島素刺激條件下，其整體血糖較低，顯示胰島素作用效率具顯著提升。

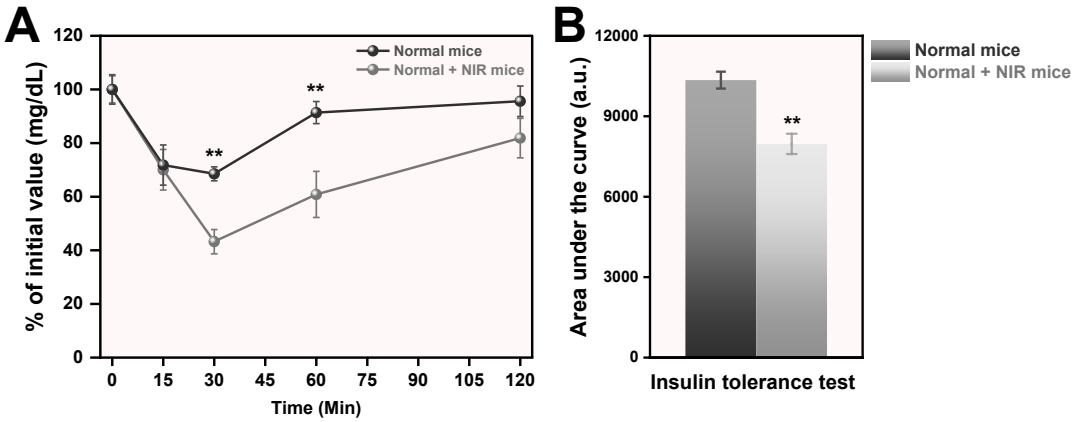


圖 3-41 770 nm 近紅外光照射一週後於正常小鼠 ITT 之(A)血糖曲線圖與其(B)AUC 長條圖。

doi:10.6342/NTU202601320

除正常小鼠外，本研究亦評估 db/db 小鼠於胰島素刺激下之血糖變化，如圖 3-42(A)結果所示，未經照光之 db/db 小鼠整體血糖變化幅度有限，且血糖最低峰位於第 60 分，呈現胰島素敏感性不佳之特徵，相對而言，經 770 nm 近紅外光照射後，小鼠之血糖變化幅度顯著提升，顯示 770 nm 之近紅外光光生物調節於胰島素刺激之反應能力有所提升，此外，照射組於血糖變化過程中，於第 15 與 30 分時具統計意義之下降趨勢(*p <0.05)，反映其葡萄糖攝取能力獲改善。整體血糖變化狀況亦可由曲線下面積分析進一步佐證，如圖 3-42(B)所示，照射組之 AUC 低於未處理組 19%(*p < 0.05)，揭示光生物調節有助於提升胰島素反應性。

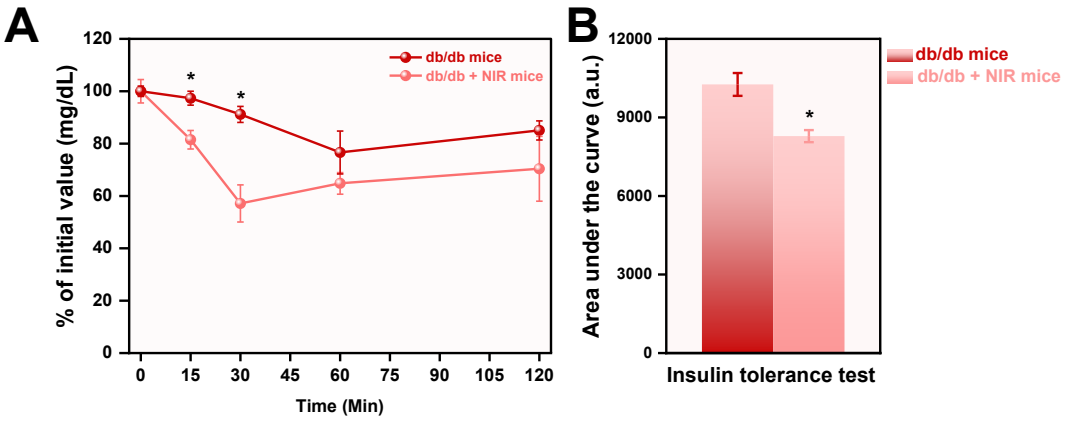


圖 3-42 770 nm 近紅外光照射一週後於 db/db 小鼠 ITT 之(A)血糖曲線圖與(B)其 AUC 長條圖。

綜合而言，770 nm 近紅外光介入可提升正常與 db/db 小鼠之胰島素敏感性，不僅增強正常生理狀態下之血糖攝取能力，亦可於病理條件下改善其代謝失衡。

3.3.4. 血清分析

為進一步評估 770 nm 近紅外光光生物調節對第二型糖尿病小鼠整體脂質代謝狀態之影響，本研究於每日照射一週後，收集正常小鼠與 db/db 小鼠血清樣本，分析 FFA 與 TG 濃度，以探討近紅外光介入對周邊代謝異常之調控能力。FFA 與 TG

doi:10.6342/NTU202601320

為反映脂肪分解、肝臟脂質輸出及胰島素阻抗程度之重要代謝指標，其濃度變化可作為評估糖尿病代謝改善情形之依據。

首先，如圖 3-43 所示，正常小鼠於未照光組與照光組之血清 FFA 含量並無明顯差異，揭示近紅外光處理於正常生理狀態下之脂質代謝影響有限。相較之下，db/db 小鼠未照光組之血清 FFA 含量顯著高於正常組 526% (*p < 0.05)，且與八週齡之血清 FFA 含量相比則上升 94% (*p < 0.05)，反映 db/db 小鼠隨週齡增長伴隨 FFA 增加與脂質代謝失衡加劇現象。經 770 nm 近紅外光光生物調節干預後，db/db 小鼠之血清 FFA 含量明顯下降 52%，與未照光組相比具統計顯著差異(*p < 0.05)，顯示近紅外光介入有助於降低過度脂解所導致之游離脂肪酸累積，並改善周邊代謝異常。其中，各組數據以平均值 ± 標準差表示(n = 3)。

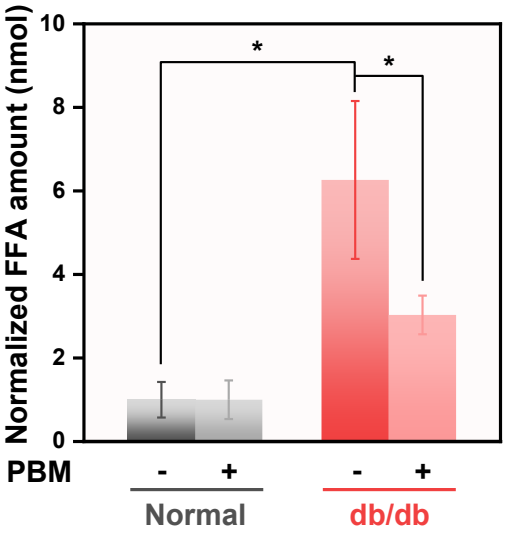


圖 3-43 近紅外光光生物調節干預一週後之 FFA 含量變化圖。

此外，如圖 3-44 所示，正常小鼠之血清 TG 濃度於假處理組與照光組間未呈現顯著差異，揭示近紅外光照射於正常脂質恆定狀態影響較小。db/db 小鼠未照光組之血清 TG 濃度顯著高於正常組 216% (***p < 0.001)，顯示其具明確高三酸甘油酯血症特徵，然而與八週齡之血清 TG 濃度相比並無差異。經一週 770 nm 近紅外

doi:10.6342/NTU202601320

光處理後，db/db 小鼠之血清 TG 濃度顯著下降 48%，與未照光組相比具統計顯著差異(*$p < 0.05$)，顯示近紅外光光生物調節可有效改善糖尿病小鼠之脂質堆積與三酸甘油酯代謝異常。其中各組數據以平均值 ± 標準差表示(n = 3)。

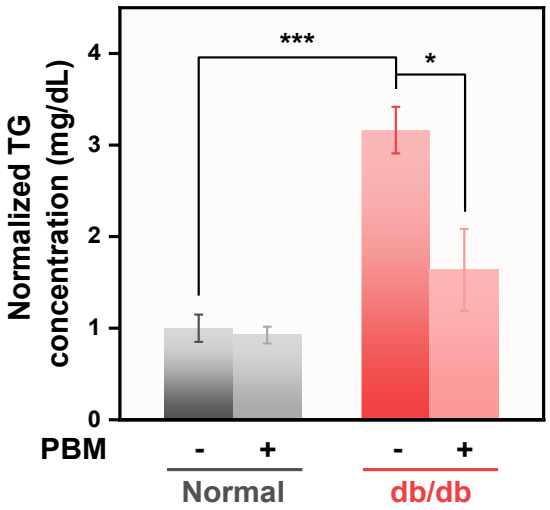


圖 3-44 近紅外光光生物調節干預一週後之 TG 含量變化圖。

綜合上述結果，770 nm 近紅外光光生物調節於正常小鼠之血脂指標影響有限，然可顯著降低 db/db 小鼠之 FFA 與 TG 含量，顯示其具改善第二型糖尿病相關脂質代謝失衡之潛力，推測可藉提升胰島素敏感性、抑制脂肪分解、促進脂質利用等機制參與代謝調控。

隨後，為進一步評估 770 nm 近紅外光光生物調節於整體胰島素阻抗程度之影響，本研究依據空腹血糖與空腹胰島素數值計算各組小鼠之 HOMA-IR 指數，其結果如圖 3-45 所示。各組數據以平均值 ± 標準差表示(n = 3)。

正常小鼠於假處理組與照光組間之 HOMA-IR 值皆維持於低水平，兩組間未見明顯祝差異，揭示近紅外光處干預正常生理狀態下之 HOMA-IR 數值影響有限。相較之下，db/db 小鼠假處理組之 HOMA-IR 顯著高於正常組 597% (*p < 0.05)，與八週齡之 HOMA-IR 值相比則提升 45%，反映其具明確之胰島素阻抗特徵，與第二

doi:10.6342/NTU202601320

型糖尿病病理狀態相符，且隨週齡增長，db/db 小鼠之胰島素阻抗狀況加劇。

經每日接受 770 nm 近紅外光光生物調節干預一週後，db/db 小鼠之 HOMA-IR 數值呈下降趨勢，由約 7.0 降至 5.0，降幅約 29%，顯示近紅外光介入後可改善其胰島素阻抗狀態。雖照光組與假處理組間未達統計顯著差異，惟其下降趨勢與前述 GTT、ITT 及血清脂質分析結果相互呼應，顯示 770 nm 近紅外光光生物調節具提升胰島素敏感性與改善代謝異常之潛力。

綜合上述結果，770 nm 近紅外光光生物調節對正常小鼠之 HOMA-IR 影響有限，然可降低 db/db 小鼠之胰島素阻抗指數，顯示其於第二型糖尿病相關胰島素阻抗具正向調控效果。

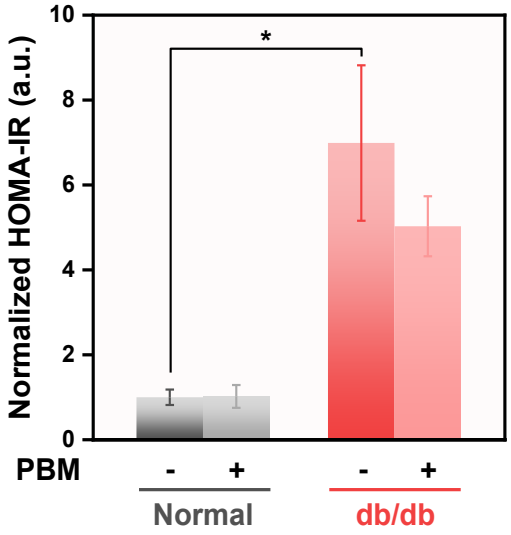


圖 3-45 近紅外光光生物調節干預一週後之 HOMA-IR 指標變化圖。

3.4. 近紅外光光生物調節之人體實驗

基於前述細胞與動物實驗結果可得知近紅外光之光生物調節有效改善葡萄糖代謝功能並提升胰島素敏感性，顯示其於代謝相關疾病治療具潛在應用價值，故本研究進一步將光生物調節技術延伸至人體層級，以評估其於實際生理環境下之調控效果與可行性。

doi:10.6342/NTU202601320

本節以健康受試者為研究對象，招募 6 位男性與 6 名女性，並藉 770 nm 近紅外光進行光生物調節干預，觀察其對血糖變化之影響，以初步探討其於人體葡萄糖代謝調控之作用，並作為未來應用於臨床或代謝疾病治療之基礎。

表 3-10 顯示本研究受試者依性別分組之基本資料並以平均值 ± 標準差表示。男性受試者(n = 6)之平均年齡為 30.2 ± 6.7 歲，身高為 171.7 ± 6.0 cm，體重為 65.2 ± 9.5 kg，身體質量指數(body mass index; BMI)為 22.1 ± 2.7 kg/m^2；女性受試者(n = 6)之平均年齡為 28.5 ± 6.1 歲，身高為 159.0 ± 5.6 cm，體重為 48.3 ± 7.1 kg，BMI 為 19.0 ± 1.7 kg/m^2。整體而言，受試者之年齡分布集中，身高、體重及 BMI 皆落於正常範圍內，顯示受試族群具一般健康體位，將作為評估近紅外光光生物調節對人體生理影響之研究族群。

表 3-10 男性與女性受試者之平均年齡、身高、體重及 BMI。

Gender	Male (n = 6)	Female (n = 6)
Age (year)	30.2 ± 6.7	28.5 ± 6.1
Height (cm)	171.7 ± 6.0	159.0 ± 5.6
Weight (kg)	65.2 ± 9.5	48.3 ± 7.1
BMI (kg/m^2)	22.1 ± 2.7	19.0 ± 1.7

為進行人體之近紅外光光生物調節，本研究採用 770 nm 近紅外光 LED 陣列裝置，並將其置於座椅上如圖 3-46(A)所示。考量背部具較大之肌肉組織，選擇此區域進行照射有助於提升光與組織之交互作用，進而影響全身性代謝調控，於實際操作中，將裝置貼合於受試者背部進行近紅外光照射，如圖 3-46(B)所示，使光源可順應人體曲面並覆蓋背部區域，以達穩定且均勻之光生物調節效果。

doi:10.6342/NTU202601320

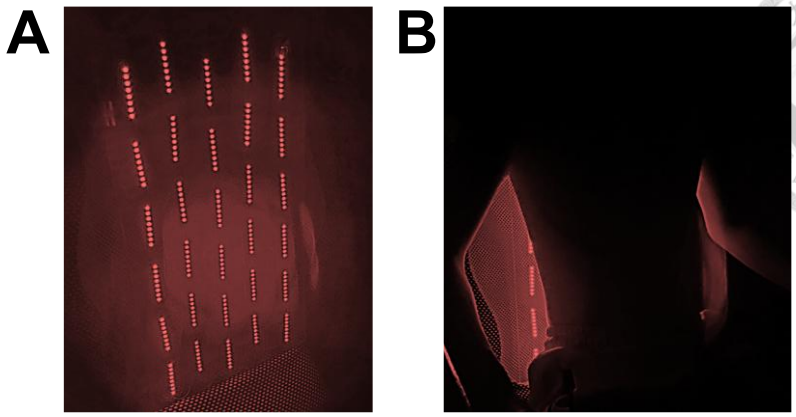


圖 3-46 (A)應用於人體之近紅外光光生物調節裝置與(B)其實際照射示意圖。

3.4.1. 口服葡萄糖耐受性試驗

為觀察近紅外光光生物調節於人體葡萄糖處理過程中之即時影響，本研究藉口服葡萄糖耐受性試驗評估受試者於外源性葡萄糖負荷下之血糖變化情況。當人體攝取一定劑量之葡萄糖後，血糖濃度將隨之上升，並藉胰島素分泌與周邊組織利用逐漸回復至基準狀態，此一動態變化可反映整體代謝調控能力。

於本研究中，受試者於標準化條件下攝取葡萄糖溶液，並配合近紅外光之光生物調節照射背部 15 分鐘後，藉 CGM 連續監測其 2 小時內血糖變化，隨後觀察血糖之變動趨勢以評估光生物調節於人體葡萄糖調控過程之影響。

如圖 3-47 與 48(A)至(F)所示，以絕對血糖值呈現男性與女性受試者於照光前後之 OGTT 結果。整體觀察可得知多數受試者於光生物調節介入後，其血糖變化曲線呈現較快速恢復之趨勢，顯示近紅外光可於人體葡萄糖調控能力具正向影響。進一步分析個別受試者之反應，可發現 5 名男性與 5 名女性於照光後，其血糖上升幅度相對降低，或於後續時間點呈現較快之下降趨勢，反映其可提升對血液內葡萄糖代謝能力。然而，少數受試者(各 1 名男性與女性)於照光後血糖變化未呈現明顯改善，個體間之皮下脂肪厚度、肌肉組成及局部血流狀況可能影響近紅外光於組織內之實際穿透深度與能量分布，進而造成生物效應之差異，顯示不同個體於 770 nm 之近紅外光光生物調節仍具差異。

doi:10.6342/NTU202601320

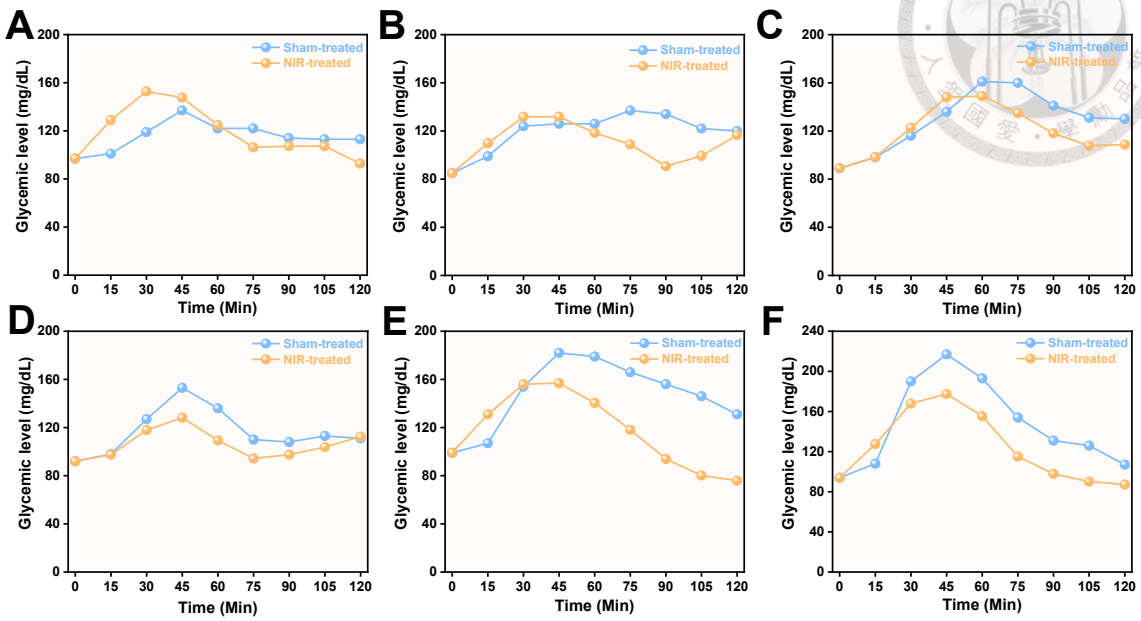


圖 3-47 (A)–(F)男性受試者照光前後 OGTT 之絕對血糖變化圖。

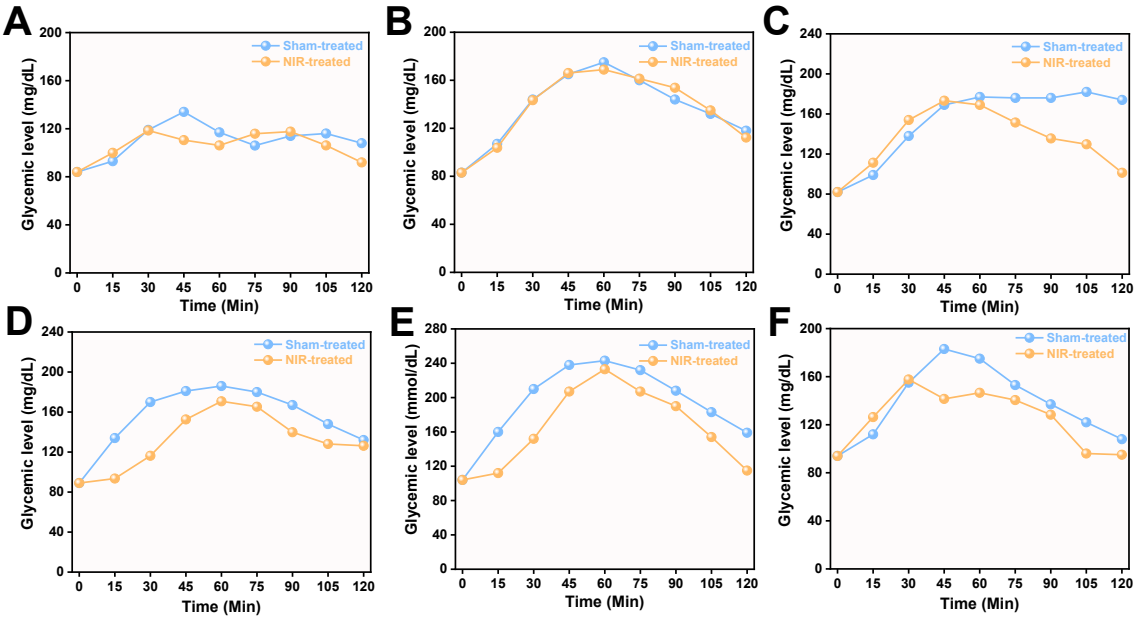


圖 3-48 (A)–(F)女性受試者照光前後 OGTT 之絕對血糖變化圖。

如圖 3-49(A)所示，彙整所有受試者於 OGTT 中之平均血糖變化狀況，各組數據以平均值 ± 標準差表示，結果顯示於服下葡萄糖後，兩組血糖皆隨時間上升並於約第 45 分鐘時達至高峰，隨後逐漸下降，然較於假處理組，經 770 nm 近紅外

doi:10.6342/NTU202601320

光照射受試者背部 15 分鐘後之血糖曲線整體呈現較低之變化趨勢，特別於中後期時間點(第 60 至 120 分)較顯著之下降狀況，經 Wilcoxon signed-rank test 分析達統計上差異(*$p < 0.05$ 與**$p < 0.005$)，揭示其於血糖調控具正面效應。此外，照射組之血糖峰值相較於假處理組降低約 9%，反映其於葡萄糖負荷之反應幅度受調節。進一步以曲線下面積進行整體血糖變化評估，如圖 3-49(B)所示，由結果可得知近紅外光處理組之 AUC 較假處理組降低約 10%，且具統計上差異(*$p < 0.05$)。此結果揭示於相同葡萄糖刺激條件下，經光生物調節處理後之整體血糖負荷下降，闡明其葡萄糖代謝調控能力有所提升。

綜合而言，770 nm 近紅外光之光生物調節可於人體層級降低血糖上升幅度並改善整體血糖變化表現，揭示其於葡萄糖代謝調控具正向影響，並與前述動物實驗結果呈現一致趨勢。

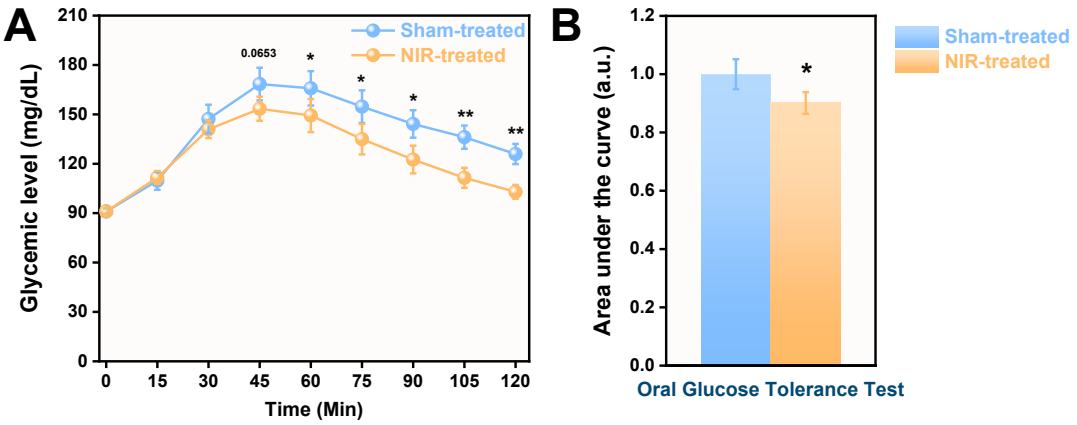


圖 3-49 (A)所有受試者 OGTT 之平均絕對血糖變化圖與(B)其曲線下面積。

如圖 3-50 與 51(A)–(F)所示，將 OGTT 之血糖數值扣除空腹血糖值，以呈現受試者於葡萄糖負荷後之相對血糖變化狀況(Δglycemic level)。此表示方式可更清楚反映不同時間點血糖上升之幅度，並降低個體間基準血糖差異於結果判讀之影響。由結果可得知各受試者於攝取含 75 g 葡萄糖之溶液後，其血糖上升幅度介於約 50 至 140 mg/dL 間，顯示不同個體具代謝反應差異。進一步比較照光前後之變化趨

doi:10.6342/NTU202601320

勢，可得知多數受試者於近紅外光光生物調節後，其血糖上升幅度有所降低，且於後續時間之下降趨勢亦較為顯著，揭示光生物調節可有助於減緩血糖上升並促進其恢復。

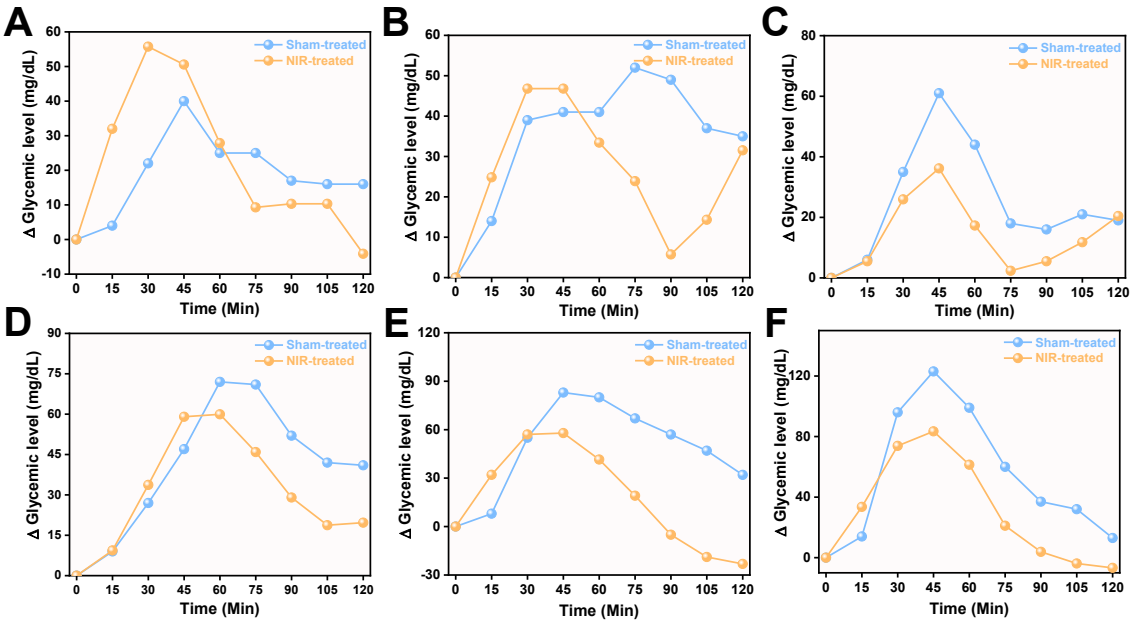


圖 3-50 (A)–(F)男性受試者照光前後 OGTT 之相對血糖變化圖。

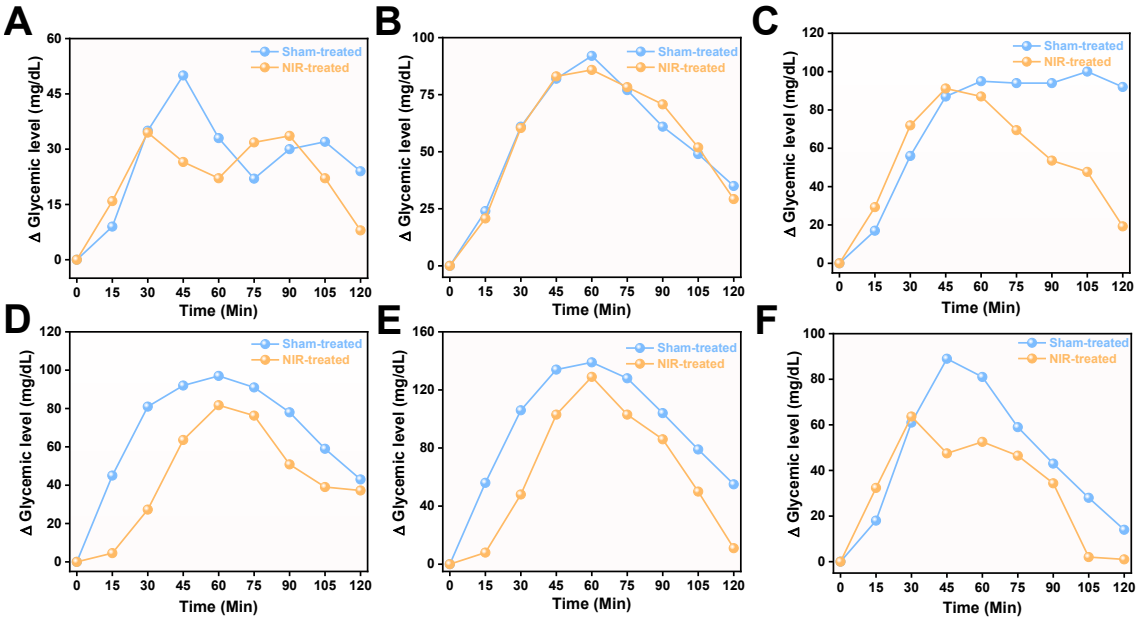


圖 3-51 (A)–(F)女性受試者照光前後 OGTT 之相對血糖變化圖。

doi:10.6342/NTU202601320

如圖 3-52(A)所示，將受試者之血糖變化扣除空腹基準值後，分析其相對血糖變化之平均趨勢，各組數據以平均值 ± 標準差表示。由結果可得知於服下葡萄糖後，各組血糖上升幅度隨時間增加並於約 45 分鐘達到高峰，隨後逐漸下降，然而，相較於假處理組，經 770 nm 近紅外光照射後之相對血糖變化降低，於第 60 至 120 分鐘時呈現較為顯著之下降趨勢，揭示其可有效抑制血糖上升幅度並促進血糖恢復。

進一步比較血糖峰值變化，可得知近紅外光處理後之相對血糖峰值較假處理組降低 19.4%，揭示其可減緩葡萄糖負荷所引起之血糖急遽上升。此外，藉曲線下面積進行整體血糖變化評估，如圖 3-52(B)所示，可得知近紅外光處理組之 AUC 較假處理組降低 27.9%，且具統計之差異(*$p < 0.05$)，反映其於整體血糖調控表現上具顯著改善。

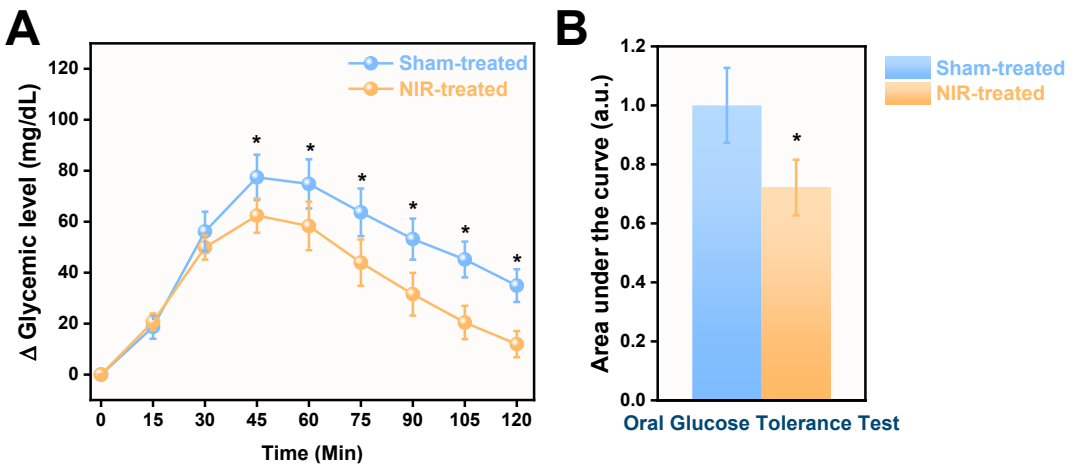


圖 3-52 (A)所有受試者 OGTT 之平均相對血糖變化圖與(B)其曲線下面積。

綜合上述結果，770 nm 近紅外光之光生物調節可同時降低血糖上升幅度與整體血糖負荷，顯示其可有效提升健康人體之葡萄糖調控能力，進一步支持其於代謝調控應用之潛在價值。

doi:10.6342/NTU202601320

第四章 結論

本研究成功建立以近紅外光發光二極體為核心之光生物調節系統，並探討其於第二型糖尿病血糖調控之應用潛力。藉整合細胞、動物及人體三個層級之研究結果，證實近紅外光可作為非侵入性代謝調控工具，對改善胰島素阻抗與維持血糖恆定具明確效益。

首先，於波長設計方面，本研究依據細胞色素 c 氧化酶之特徵吸收峰，建構 770、810 與 940 nm 三種近紅外光系統，並比較其生物作用差異。結果顯示，不同波長皆可對細胞代謝產生正向影響，然而以 770 nm 波長之整體效果最為顯著，顯示光譜匹配與粒線體光受體吸收特性，為影響光生物調節效率之重要關鍵。

於細胞層級研究中，本研究以慢性胰島素暴露建立 C2C12 肌管細胞胰島素阻抗模型，模擬第二型糖尿病骨骼肌對胰島素反應下降之病理狀態。結果揭示，770 nm 近紅外光可顯著提升葡萄糖攝取能力、增加粒線體膜電位、提升 CCO 酵素活性、促進 ATP 與一氧化氮生成，同時降低活性氧類與超氧化物累積。此外，光生物調節可促進 PI3K/Akt 訊號路徑活化，顯示其可同時由粒線體能量代謝與胰島素訊號傳遞兩條路徑改善細胞代謝失衡。此結果證實近紅外光不僅具能量刺激作用，更可直接調控與胰島素敏感性相關之分子機制。

於動物實驗中，本研究以 db/db 小鼠建立第二型糖尿病模型，並以 770 nm 近紅外光每日照射一週。結果揭示經光生物調節處理後，小鼠之葡萄糖耐受性試驗與胰島素耐受性試驗皆顯著改善，展現血糖峰值下降、血糖回復速度提升及曲線下面積降低。此外，血清游離脂肪酸、三酸甘油酯及 HOMA-IR 指數亦呈下降趨勢，顯示近紅外光可同步改善高血糖、高血脂、胰島素阻抗等第二型糖尿病核心病徵。

於人體試驗中，本研究進一步驗證光生物調節之臨床可行性。受試者接受 770 nm 背部照射後進行口服葡萄糖耐受性試驗，結果揭示照光後之血糖峰值、絕對曲線下面積及相對血糖變化皆顯著下降，證實近紅外光介入可提升人體對葡萄糖負

doi:10.6342/NTU202601320

荷之調節效率。此成果代表光生物調節具由基礎研究走向人體應用之潛力，並支持其未來發展為糖尿病前期、代謝症候群或第二型糖尿病患者之輔助治療策略。

綜合而言，本研究首次完整建立近紅外光光生物調節於血糖調控之跨層級驗證模式，並證實 770 nm 為最具潛力之作用波長。其優勢涵蓋非侵入性、安全性高、可重複使用、操作便利及具居家應用潛力，可望突破現行藥物治療之限制，提供新興代謝疾病調控方法。

doi:10.6342/NTU202601320

參考文獻

[1] Cho, N. H.; Shaw, J. E.; Karuranga, S.; Huang, Y.; da Rocha Fernandes, J. D.; Ohlrogge, A.; Malanda, B. IDF Diabetes Atlas: Global Estimates of Diabetes Prevalence for 2017 and Projections for 2045. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2018**, *138*, 271–281.

[2] Dwivedi, M.; Pandey, A. R. Diabetes Mellitus and Its Treatment: An Overview. *J. Adv. Pharmacol.* **2020**, *1*, 48–58.

[3] Rubin, R. R.; Peyrot, M. Quality of Life and Diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **1999**, *15*, 205–218.

[4] Paschou, S. A.; Papadopoulou-Marketou, N.; Chrousos, G. P.; Kanaka-Gantenbein, C. On Type 1 Diabetes Mellitus Pathogenesis. *Endocr. Connect.* **2018**, *7*, R38–R46.

[5] Yee, L. D.; Mortimer, J. E.; Natarajan, R.; Dietze, E. C.; Seewaldt, V. L. Metabolic Health, Insulin, and Breast Cancer: Why Oncologists Should Care about Insulin. *Front. Endocrinol.* **2020**, *11*, 58.

[6] DeFronzo, R. A.; Ferrannini, E.; Groop, L.; Henry, R. R.; Herman, W. H.; Holst, J. J.; Hu, F. B.; Kahn, C. R.; Raz, I.; Shulman, G. I. Type 2 Diabetes Mellitus. *Nat. Rev. Dis.* **2015**, *1*, 15019.

[7] Umar, M.; Sherazi, T. A.; Talha, M.; Ramadan, M. F.; Ahmed, A. E.; Taha, R.; Naqvi, S. A. R. Nanoliposome-Based Drug Delivery Systems for the Treatment of Diabetes Mellitus: A Review. *RSC Adv.* **2025**, *15*, 49119–49143.

[8] Roden, M.; Shulman, G. I. The Integrative Biology of Type 2 Diabetes. *Nature* **2019**, *576*, 51–60.

[9] Bunner, A. E.; Chandrasekera, P. C.; Barnard, N. D. Knockout Mouse Models of Insulin Signaling: Relevance Past and Future. *World J. Diabetes* **2014**, *5*, 146.

[10] Merz, K. E.; Thurmond, D. C. Role of Skeletal Muscle in Insulin Resistance and Glucose Uptake. *Compr. Physiol.* **2020**, *10*, 785–809.

doi:10.6342/NTU202601320

[11] Makker, A.; Goel, M. M.; Mahdi, A. A. PI3K/PTEN/Akt and TSC/mTOR Signaling Pathways, Ovarian Dysfunction, and Infertility: An Update. *J. Mol. Endocrinol.* **2014**, *53*, R103–R118.

[12] Vieira-Lara, M. A.; Bakker, B. M. The Paradox of Fatty-Acid β-Oxidation in Muscle Insulin Resistance: Metabolic Control and Muscle Heterogeneity. *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Basis Dis.* **2024**, *1870*, 167172.

[13] Elkanawati, R. Y.; Sumiwi, S. A.; Levita, J. Impact of Lipids on Insulin Resistance: Insights from Human and Animal Studies. *Drug des. dev. ther.* **2024**, *18*, 3337–3360.

[14] Kirwan, J. P. Plasma Ceramides Target Skeletal Muscle in Type 2 Diabetes. *Diabetes* **2013**, *62*, 352.

[15] Gusev, E.; Sarapultsev, A.; Zhuravleva, Y. Insulin Resistance and Inflammation. *Int. J. Mol. Sci.* **2026**, *27*, 1237.

[16] Nathan, D. M. Diabetes: Advances in Diagnosis and Treatment. *Jama* **2015**, *314*, 1052–1062.

[17] Nathan, D. M.; Kuenen, J.; Borg, R.; Zheng, H.; Schoenfeld, D.; Heine, R. J.; Group, A. c.-D. A. G. S. Translating the A1C Assay into Estimated Average Glucose Values. *Diabetes care* **2008**, *31*, 1473–1478.

[18] Petersmann, A.; Müller-Wieland, D.; Müller, U. A.; Landgraf, R.; Nauck, M.; Freckmann, G.; Heinemann, L.; Schleicher, E. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **2019**, *127*, S1–S7.

[19] Malkani, S.; Mordes, J. P. Implications of Using Hemoglobin A1C for Diagnosing Diabetes Mellitus. *Am. J. Med.* **2011**, *124*, 395–401.

[20] Tahapary, D. L.; Pratisthita, L. B.; Fitri, N. A.; Marcella, C.; Wafa, S.; Kurniawan, F.; Rizka, A.; Tarigan, T. J. E.; Harbuwono, D. S.; Purnamasari, D. Challenges in the

doi:10.6342/NTU202601320

Diagnosis of Insulin Resistance: Focusing on the Role of HOMA-IR and Tryglyceride/Glucose Index. *Diabetes. Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* **2022**, *16*, 102581.

[21] Shashaj, B.; Luciano, R.; Contoli, B.; Morino, G. S.; Spreghini, M. R.; Rustico, C.; Sforza, R. W.; Dallapiccola, B.; Manco, M. Reference Ranges of HOMA-IR in Normal-Weight and Obese Young Caucasians. *Acta Diabetol.* **2016**, *53*, 251–260.

[22] Tahrani, A. A.; Barnett, A. H.; Bailey, C. J. Pharmacology and Therapeutic Implications of Current Drugs for Type 2 Diabetes Mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol.* **2016**, *12*, 566–592.

[23] Yu, O.; Azoulay, L.; Yin, H.; Filion, K. B.; Suissa, S. Sulfonylureas as Initial Treatment for Type 2 Diabetes and the Risk of Severe Hypoglycemia. *Am. J. Med.* **2018**, *131*, 317. e311–317. e322.

[24] Caturano, A.; Nilo, D.; Nilo, R.; Sircana, M. C.; Erul, E.; Zielińska, K.; Russo, V.; Santonastaso, E.; Sasso, F. C. Old Drug, New Science: Metformin and the Future of Pharmaceutics. *Pharmaceutics* **2026**, *18*, 77.

[25] Kahn, S. E.; Cooper, M. E.; Del Prato, S. Pathophysiology and Treatment of Type 2 Diabetes: Perspectives on the Past, Present, and Future. *Lancet* **2014**, *383*, 1068–1083.

[26] Kashyap, S. R.; Bhatt, D. L.; Wolski, K.; Watanabe, R. M.; Abdul-Ghani, M.; Abood, B.; Pothier, C. E.; Brethauer, S.; Nissen, S.; Gupta, M. Metabolic Effects of Bariatric Surgery in Patients with Moderate Obesity and Type 2 Diabetes: Analysis of a Randomized Control Trial Comparing Surgery with Intensive Medical Treatment. *Diabetes care* **2013**, *36*, 2175–2182.

[27] Zhao, L.; Yuan, J.; Yang, Q.; Ma, J.; Yang, F.; Zou, Y.; Liu, K.; Liu, F. Diabetes and Its Complications: Molecular Mechanisms, Prevention and Treatment. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2026**, *11*, 22.

doi:10.6342/NTU202601320

[28] Clarke, S.; Foster, J. A History of Blood Glucose Meters and Their Role in Self-Monitoring of Diabetes Mellitus. *Br. J. Biomed. Sci.* **2012**, *69*, 83–93.

[29] Vaddiraju, S.; Burgess, D. J.; Tomazos, I.; Jain, F. C.; Papadimitrakopoulos, F. Technologies for Continuous Glucose Monitoring: Current Problems and Future Promises. *J. Diabetes Sci. Technol.* **2010**, *4*, 1540–1562.

[30] Kovatchev, B. P.; Patek, S. D.; Ortiz, E. A.; Breton, M. D. Assessing Sensor Accuracy for Non-Adjunct Use of Continuous Glucose Monitoring. *Diabetes Technol. Ther.* **2015**, *17*, 177–186.

[31] Bender, C.; Vestergaard, P.; Cichosz, S. L. The History, Evolution and Future of Continuous Glucose Monitoring (CGM). *Diabetol.* **2025**, *6*, 17.

[32] Li, T.; Wang, Q.; An, Y.; Guo, L.; Ren, L.; Lei, L.; Chen, X. Infrared Absorption Spectroscopy-Based Non-Invasive Blood Glucose Monitoring Technology: A Comprehensive Review. *Biomed. Signal Process. Control.* **2025**, *106*, 107750.

[33] Wu, J.; Liu, Y.; Yin, H.; Guo, M. A New Generation of Sensors for Non-Invasive Blood Glucose Monitoring. *Am. J. Transl. Res.* **2023**, *15*, 3825.

[34] Pieczenik, S. R.; Neustadt, J. Mitochondrial Dysfunction and Molecular Pathways of Disease. *Exp. Molec. Path.* **2007**, *83*, 84–92.

[35] Suomalainen, A.; Nunnari, J. Mitochondria at the Crossroads of Health and Disease. *Cell* **2024**, *187*, 2601–2627.

[36] Chatzi, A.; Manganas, P.; Tokatlidis, K. Oxidative Folding in the Mitochondrial Intermembrane Space: A Regulated Process Important for Cell Physiology and Disease. *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Biol. Lipids* **2016**, *1863*, 1298–1306.

[37] Srere, P. A. The Infrastructure of the Mitochondrial Matrix. *Trends Biochem. Sci.* **1980**, *5*, 120–121.

doi:10.6342/NTU202601320

[38] Veltri, K. L.; Espiritu, M.; Singh, G. Distinct Genomic Copy Number in Mitochondria of Different Mammalian Organs. *J. Cell. Physiol.* **1990**, *143*, 160–164.

[39] Koutroulis, I.; Batabyal, R.; McNamara, B.; Ledda, M.; Hoptay, C.; Freishtat, R. J. Sepsis Immunometabolism: from Defining Sepsis to Understanding How Energy Production Affects Immune Response. *Crit. care explor.* **2019**, *1*, e0061.

[40] Lunt, S. Y.; Vander Heiden, M. G. Aerobic Glycolysis: Meeting the Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2011**, *27*, 441–464.

[41] Martínez-Reyes, I.; Chandel, N. S. Mitochondrial TCA Cycle Metabolites Control Physiology and Disease. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 102.

[42] Zhao, R. Z.; Jiang, S.; Zhang, L.; Yu, Z. B. Mitochondrial Electron Transport Chain, ROS Generation and Uncoupling. *Int. J. Mol. Med.* **2019**, *44*, 3–15.

[43] Kampjut, D.; Sazanov, L. A. The Coupling Mechanism of Mammalian Respiratory Complex I. *Science* **2020**, *370*, eabc4209.

[44] Esteban-Amo, M. J.; Jiménez-Cuadrado, P.; Serrano-Lorenzo, P.; de la Fuente, M. Á.; Simarro, M. Succinate Dehydrogenase and Human Disease: Novel Insights into a Well-Known Enzyme. *Biomedicines* **2024**, *12*, 2050.

[45] Bénit, P.; Lebon, S.; Rustin, P. Respiratory-Chain Diseases Related to Complex III Deficiency. *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Biol. Lipids* **2009**, *1793*, 181–185.

[46] Scott, R. A. Functional Significance of Cytochrome C Oxidase Structure. *Structure* **1995**, *3*, 981–986.

[47] Michel, H.; Behr, J.; Harrenga, A.; Kannt, A. Cytochrome C Oxidase: Structure and Spectroscopy. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1998**, *27*, 329–356.

[48] Yoshikawa, S.; Shimada, A. Reaction Mechanism of Cytochrome C Oxidase. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 1936–1989.

doi:10.6342/NTU202601320

[49] Panov, A. V.; Mayorov, V. I.; Dikalov, S. I. Role of Fatty Acids β-Oxidation in the Metabolic Interactions between Organs. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 12740.

[50] Giorgi, C.; Baldassari, F.; Bononi, A.; Bonora, M.; De Marchi, E.; Marchi, S.; Missiroli, S.; Patergnani, S.; Rimessi, A.; Suski, J. M. Mitochondrial Ca^{2+} and Apoptosis. *Cell calcium* **2012**, *52*, 36–43.

[51] Morino, K.; Petersen, K. F.; Dufour, S.; Befroy, D.; Frattini, J.; Shatzkes, N.; Neschen, S.; White, M. F.; Bilz, S.; Sono, S. Reduced Mitochondrial Density and Increased IRS-1 Serine Phosphorylation in Muscle of Insulin-Resistant Offspring of Type 2 Diabetic Parents. *J. Clin. Investig.* **2005**, *115*, 3587–3593.

[52] Mogensen, M.; Sahlin, K.; Fernstrom, M.; Glintborg, D.; Vind, B. F.; Beck-Nielsen, H.; Højlund, K. Mitochondrial Respiration is Decreased in Skeletal Muscle of Patients with Type 2 Diabetes. *Diabetes* **2007**, *56*, 1592–1599.

[53] Ritov, V. B.; Menshikova, E. V.; He, J.; Ferrell, R. E.; Goodpaster, B. H.; Kelley, D. E. Deficiency of Subsarcolemmal Mitochondria in Obesity and Type 2 Diabetes. *Diabetes* **2005**, *54*, 8–14.

[54] Petersen, K. F.; Befroy, D.; Dufour, S.; Dziura, J.; Ariyan, C.; Rothman, D. L.; DiPietro, L.; Cline, G. W.; Shulman, G. I. Mitochondrial Dysfunction in the Elderly: Possible Role in Insulin Resistance. *Science* **2003**, *300*, 1140–1142.

[55] Patti, M.-E.; Corvera, S. The Role of Mitochondria in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes. *Endocr. Rev.* **2010**, *31*, 364–395.

[56] Bogan, J. S. Regulation of Glucose Transporter Translocation in Health and Diabetes. *Annu. Rev. Biochem.* **2012**, *81*, 507–532.

[57] Apostolova, N.; Vezza, T.; Muntane, J.; Rocha, M.; Victor, V. M. Mitochondrial Dysfunction and Mitophagy in Type 2 Diabetes: Pathophysiology and Therapeutic Targets. *Antioxid. Redox Signal.* **2023**, *39*, 278–320.

doi:10.6342/NTU202601320

[58] Sies, H.; Jones, D. P. Reactive Oxygen Species (ROS) as Pleiotropic Physiological Signalling Agents. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2020**, *21*, 363–383.

[59] Nolfi-Donegan, D.; Braganza, A.; Shiva, S. Mitochondrial Electron Transport Chain: Oxidative Phosphorylation, Oxidant Production, and Methods of Measurement. *Redox Biol.* **2020**, *37*, 101674.

[60] Trinh, V. H.; Choi, J.-M.; Nguyen Huu, T.; Sah, D. K.; Yoon, H.-J.; Park, S.-C.; Jung, Y.-S.; Ahn, Y.-K.; Lee, K.-H.; Lee, S.-R. Redox Regulation of Phosphatase and Tensin Homolog by Bicarbonate and Hydrogen Peroxide: Implication of Peroxymonocarbonate in Cell Signaling. *Antioxidants* **2024**, *13*, 473.

[61] Loh, K.; Deng, H.; Fukushima, A.; Cai, X.; Boivin, B.; Galic, S.; Bruce, C.; Shields, B. J.; Skiba, B.; Ooms, L. M. Reactive Oxygen Species Enhance Insulin Sensitivity. *Cell Metab.* **2009**, *10*, 260–272.

[62] Gong, L.; Zou, Z.; Liu, L.; Guo, S.; Xing, D. Photobiomodulation Therapy Ameliorates Hyperglycemia and Insulin Resistance by Activating Cytochrome C Oxidase-Mediated Protein Kinase B in Muscle. *Aging* **2021**, *13*, 10015.

[63] Zorova, L. D.; Popkov, V. A.; Plotnikov, E. Y.; Silachev, D. N.; Pevzner, I. B.; Jankauskas, S. S.; Babenko, V. A.; Zorov, S. D.; Balakireva, A. V.; Juhaszova, M. Mitochondrial Membrane Potential. *Anal. Biochem.* **2018**, *552*, 50–59.

[64] Maxwell, J. C. III. On Physical Lines of Force. *Philos. Mag.* **1862**, *23*, 12–24.

[65] Maxwell, J. C. II. A Dynamical Theory of the Electromagnetic Field. *Proc. R. Soc.* **1864**, *13*, 531–536.

[66] Gan, X.; Tian, B.; Wang, Z.; Xu, Y.; Li, L.; Wang, L.; Xu, C. Fabrication of Er^{3+}: $YAlO_3$ Fibers by Electrospinning Method for Upconversion Luminescence Applications. *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* **2024**, *21*, 1199–1207.

doi:10.6342/NTU202601320

[67] Hsiao, Y. H.; Chen, K. C.; Chien, C. L.; Huang, W. T.; Majewska, N.; Kamiński, M.; Mahlik, S.; Leniec, G.; Mijowska, E.; Huang, S. L. Broadband Near-Infrared Cr^{4+}-Doped Garnet Phosphors through Divalent Calcium Charge Compensation for Advanced Crystal Fiber Amplifiers. *Adv. Opt. Mater.* **2024**, *12*, 2401543.

[68] Oparin, R.; Kiselev, M. Near Infrared Spectroscopy as an Effective Way of Studying Hydrogen Bonding in a LiCl–H_2O–CO_2 Ternary Mixture. *Russ. J. Phys. Chem. A* **2022**, *96*, 724–731.

[69] Marin, T.; Moore, J. Understanding Near-Infrared Spectroscopy. *Adv. Neonatal Care* **2011**, *11*, 382–388.

[70] Tan, X.; Zhang, H.; Li, J.; Wan, H.; Guo, Q.; Zhu, H.; Liu, H.; Yi, F. Non-Dispersive Infrared Multi-Gas Sensing via Nanoantenna Integrated Narrowband Detectors. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 5245.

[71] Popa, D.; Udrea, F. Towards Integrated Mid-Infrared Gas Sensors. *Sensors* **2019**, *19*, 2076.

[72] Ishigane, G.; Toda, K.; Tamamitsu, M.; Shimada, H.; Badarla, V. R.; Ideguchi, T. Label-Free Mid-Infrared Photothermal Live-Cell Imaging beyond Video Rate. *Light Sci. Appl.* **2023**, *12*, 174.

[73] Leitis, A.; Tseng, M. L.; John-Herpin, A.; Kivshar, Y. S.; Altug, H. Wafer-Scale Functional Metasurfaces for Mid-Infrared Photonics and Biosensing. *Adv. Mater.* **2021**, *33*, 2102232.

[74] Mendes, E.; Duarte, N. Mid-Infrared Spectroscopy as a Valuable Tool to Tackle Food Analysis: A Literature Review on Coffee, Dairies, Honey, Olive Oil and Wine. *Foods* **2021**, *10*, 477.

doi:10.6342/NTU202601320

[75] Liang, A.; Turnbull, R.; Bandiello, E.; Yousef, I.; Popescu, C.; Hebboul, Z.; Errandonea, D. High-Pressure Spectroscopy Study of $Zn(IO_3)_2$ Using Far-Infrared Synchrotron Radiation. *Crystals* **2020**, *11*, 34.

[76] Farrah, D.; Smith, K. E.; Ardila, D.; Bradford, C. M.; Dipirro, M.; Ferkinhoff, C.; Glenn, J.; Goldsmith, P.; Leisawitz, D.; Nikola, T. Far-Infrared Instrumentation and Technological Development for the Next Decade. *J. Astron. Telesc. Instrum. Syst.* **2019**, *5*, 020901.

[77] Harries, J.; Carli, B.; Rizzi, R.; Serio, C.; Mlynczak, M.; Palchetti, L.; Maestri, T.; Brindley, H.; Masiello, G. The Far-Infrared Earth. *Rev. Geophys.* **2008**, *46*, 1–34.

[78] Tamura, Y.; Mawatari, K.; Hashimoto, T.; Inoue, A. K.; Zackrisson, E.; Christensen, L.; Binggeli, C.; Matsuda, Y.; Matsuo, H.; Takeuchi, T. T. Detection of the Far-Infrared [O III] and Dust Emission in a Galaxy at Redshift 8.312: Early Metal Enrichment in the Heart of the Reionization Era. *Astrophys. J.* **2019**, *874*, 27.

[79] Huang, W. T.; Chen, K. C.; Huang, M. H.; Liu, R. S. Tunable Spinel Structure Phosphors: Dynamic Change in Near-Infrared Windows and Their Applications. *Adv. Opt. Mater.* **2023**, *11*, 2301166.

[80] Hamblin, M. R. Photobiomodulation or Low-Level Laser Therapy. *J. Biophotonics* **2016**, *9*, 1122.

[81] Arany, P. R. Photobiomodulation Therapy. *JADA Found. Sci.* **2025**, *4*, 100045.

[82] Huang, Y.-Y.; Chen, A. C.-H.; Carroll, J. D.; Hamblin, M. R. Biphasic Dose Response in Low Level Light Therapy. *Dose-Response* **2009**, *7*, 602–618.

[83] Mahato, S.; Hardhienata, H.; Birowosuto, M. D. Perovskites to Photonics: Engineering NIR LEDs for Photobiomodulation. *Micromachines* **2025**, *16*, 1002.

[84] Chan, M.-H.; Huang, W.-T.; Chen, K.-C.; Su, T.-Y.; Chan, Y.-C.; Hsiao, M.; Liu, R.-S. The Optical Research Progress of Nanophosphors Composed of Transition Elements

doi:10.6342/NTU202601320

in the Fourth Period of Near-Infrared Windows I and II for Deep-Tissue Theranostics. *Nanoscale* **2022**, *14*, 7123–7136.

[85] Quek, C.-H.; Leong, K. W. Near-Infrared Fluorescent Nanoprobes for *In Vivo* Optical Imaging. *Nanomater.* **2012**, *2*, 92–112.

[86] Cios, A.; Ciepielak, M.; Szymański, Ł.; Lewicka, A.; Cierniak, S.; Stankiewicz, W.; Mendrycka, M.; Lewicki, S. Effect of Different Wavelengths of Laser Irradiation on the Skin Cells. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 2437.

[87] Lima, A. M. C. T.; da Silva Sergio, L. P.; De Souza da Fonseca, A. Photobiomodulation via Multiple-Wavelength Radiations. *Lasers Med. Sci.* **2020**, *35*, 307–316.

[88] Karu, T. I.; Pyatibrat, L. V.; Kolyakov, S. F.; Afanasyeva, N. I. Absorption Measurements of a Cell Monolayer Relevant to Phototherapy: Reduction of Cytochrome C Oxidase under Near IR Radiation. *J. Photochem. Photobiol. B* **2005**, *81*, 98–106.

[89] Karu, T. I. Multiple Roles of Cytochrome C Oxidase in Mammalian Cells under Action of Red and IR-A Radiation. *IUBMB life* **2010**, *62*, 607–610.

[90] Karu, T. I. Mitochondrial Signaling in Mammalian Cells Activated by Red and Near-IR Radiation. *Photochem. Photobiol.* **2008**, *84*, 1091–1099.

[91] Karu, T. I.; Pyatibrat, L. V.; Afanasyeva, N. I. A Novel Mitochondrial Signaling Pathway Activated by Visible-to-near Infrared Radiation. *Photochem. Photobiol.* **2004**, *80*, 366–372.

[92] Karu, T. I. Cellular and Molecular Mechanisms of Photobiomodulation (Low-Power Laser Therapy). *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* **2013**, *20*, 143–148.

[93] Tsukihara, T.; Aoyama, H.; Yamashita, E.; Tomizaki, T.; Yamaguchi, H.; Shinzawa-Itoh, K.; Nakashima, R.; Yaono, R.; Yoshikawa, S. Structures of Metal Sites of Oxidized Bovine Heart Cytochrome C Oxidase at 2.8 Å. *Science* **1995**, *269*, 1069–1074.

doi:10.6342/NTU202601320

[94] Brunori, M.; Giuffre, A.; Sarti, P. Cytochrome C Oxidase, Ligands and Electrons. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 324–336.

[95] Barolet, A. C.; Villarreal, A. M.; Jfri, A.; Litvinov, I. V.; Barolet, D. Low-Intensity Visible and Near-Infrared Light-Induced Cell Signaling Pathways in the Skin: A Comprehensive Review. *Photobiomodul. Photomed. Laser. Surg.* **2023**, *41*, 147–166.

[96] Shiva, S.; Gladwin, M. T. Shining a Light on Tissue NO Stores: Near Infrared Release of NO from Nitrite and Nitrosylated Hemes. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2009**, *46*, 1–3.

[97] Lohr, N. L.; Keszler, A.; Pratt, P.; Bienengraber, M.; Warltier, D. C.; Hogg, N. Enhancement of Nitric Oxide Release from Nitrosyl Hemoglobin and Nitrosyl Myoglobin by Red/Near Infrared Radiation: Potential Role in Cardioprotection. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2009**, *47*, 256–263.

[98] Zhang, R.; Mio, Y.; Pratt, P. F.; Lohr, N.; Warltier, D. C.; Whelan, H. T.; Zhu, D.; Jacobs, E. R.; Medhora, M.; Bienengraeber, M. Near Infrared Light Protects Cardiomyocytes from Hypoxia and Reoxygenation Injury by a Nitric Oxide Dependent Mechanism. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2009**, *46*, 4–14.

[99] Lane, N. Cell Biology: Power Games. *Nature* **2006**, *443*, 901–903.

[100] Poyton, R. O.; Ball, K. A. Therapeutic Photobiomodulation: Nitric Oxide and a Novel Function of Mitochondrial Cytochrome C Oxidase. *Discov. Med.* **2011**, *11*, 154–159.

[101] Ball, K. A.; Castello, P. R.; Poyton, R. O. Low Intensity Light Stimulates Nitrite-Dependent Nitric Oxide Synthesis but not Oxygen Consumption by Cytochrome C Oxidase: Implications for Phototherapy. *J. Photochem. Photobiol. B* **2011**, *102*, 182–191.

[102] Passarella, S.; Casamassima, E.; Molinari, S.; Pastore, D.; Quagliariello, E.; Catalano, I.; Cingolani, A. Increase of Proton Electrochemical Potential and ATP

doi:10.6342/NTU202601320

Synthesis in Rat Liver Mitochondria Irradiated *In Vitro* by Helium-Neon Laser. *FEBS Lett.* **1984**, *175*, 95–99.

[103] Hamblin, M. R. Mechanisms and Applications of the Anti-Inflammatory Effects of Photobiomodulation. *AIMS Biophys.* **2017**, *4*, 337.

[104] Chen, A. C.; Arany, P. R.; Huang, Y.-Y.; Tomkinson, E. M.; Sharma, S. K.; Kharkwal, G. B.; Saleem, T.; Mooney, D.; Yull, F. E.; Blackwell, T. S. Low-Level Laser Therapy Activates NF-kB via Generation of Reactive Oxygen Species in Mouse Embryonic Fibroblasts. *PLoS One* **2011**, *6*, e22453.

[105] Sharma, S. K.; Kharkwal, G. B.; Sajo, M.; Huang, Y. Y.; De Taboada, L.; McCarthy, T.; Hamblin, M. R. Dose Response Effects of 810 nm Laser Light on Mouse Primary Cortical Neurons. *Lasers Surg. Med.* **2011**, *43*, 851–859.

[106] Tatmatsu-Rocha, J. C.; Ferraresi, C.; Hamblin, M. R.; Maia, F. D.; do Nascimento, N. R. F.; Driusso, P.; Parizotto, N. A. Low-Level Laser Therapy (904 nm) can Increase Collagen and Reduce Oxidative and Nitrosative Stress in Diabetic Wounded Mouse Skin. *J. Photochem. Photobiol. B* **2016**, *164*, 96–102.

[107] De Marchi, T.; Leal Junior, E. C. P.; Bortoli, C.; Tomazoni, S. S.; Lopes-Martins, R. Á. B.; Salvador, M. Low-Level Laser Therapy (LLLT) in Human Progressive-Intensity Running: Effects on Exercise Performance, Skeletal Muscle Status, and Oxidative Stress. *Lasers Med. Sci.* **2012**, *27*, 231–236.

[108] Fillipin, L. I.; Mauriz, J. L.; Vedovelli, K.; Moreira, A. J.; Zettler, C. G.; Lech, O.; Marroni, N. P.; González-Gallego, J. Low-Level Laser Therapy (LLLT) Prevents Oxidative Stress and Reduces Fibrosis in Rat Traumatized Achilles Tendon. *Lasers Surg. Med.* **2005**, *37*, 293–300.

[109] Hamblin, M. R.; Demidova, T. N. Mechanisms of Low Level Light Therapy. *Proc. SPIE* **2006**, *6140*, 61001–61012.

doi:10.6342/NTU202601320

[110] Ando, T.; Xuan, W.; Xu, T.; Dai, T.; Sharma, S. K.; Kharkwal, G. B.; Huang, Y.-Y.; Wu, Q.; Whalen, M. J.; Sato, S. Comparison of Therapeutic Effects between Pulsed and Continuous Wave 810-nm Wavelength Laser Irradiation for Traumatic Brain Injury in Mice. *PLoS One* **2011**, *6*, e26212.

[111] Yip, K.; Lo, S.; Leung, M.; So, K.; Tang, C. Y.; Poon, D. The Effect of Low-Energy Laser Irradiation on Apoptotic Factors following Experimentally Induced Transient Cerebral Ischemia. *Neuroscience* **2011**, *190*, 301–306.

[112] De Taboada, L.; Yu, J.; El-Amouri, S.; Gattoni-Celli, S.; Richieri, S.; McCarthy, T.; Streeter, J.; Kindy, M. S. Transcranial Laser Therapy Attenuates Amyloid-β Peptide Neuropathology in Amyloid-β Protein Precursor Transgenic Mice. *J. Alzheimer's Dis.* **2011**, *23*, 521–535.

[113] Oueslati, A.; Lovisa, B.; Perrin, J.; Wagnières, G.; van den Bergh, H.; Tardy, Y.; Lashuel, H. A. Photobiomodulation Suppresses Alpha-Synuclein-Induced Toxicity in an AAV-Based Rat Genetic Model of Parkinson's Disease. *PLoS One* **2015**, *10*, e0140880.

[114] Khairnar, R.; Islam, M. A.; Fleishman, J.; Kumar, S. Shedding Light on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Pathogenesis, Molecular Mechanisms, Models, and Emerging Therapeutics. *Life Sci.* **2023**, *312*, 121185.

[115] Doke, S. K.; Dhawale, S. C. Alternatives to Animal Testing: A Review. *Saudi Pharm. J.* **2015**, *23*, 223–229.

[116] Vishwanath, D.; Srinivasan, H.; Patil, M. S.; Seetarama, S.; Agrawal, S. K.; Dixit, M.; Dhar, K. Novel Method to Differentiate 3T3-L1 Cells *In Vitro* to Produce Highly Sensitive Adipocytes for a GLUT4 Mediated Glucose Uptake Using Fluorescent Glucose Analog. *J. Cell Commun. Signal.* **2013**, *7*, 129–140.

[117] Huang, X.; Liu, G.; Guo, J.; Su, Z. The PI3K/AKT Pathway in Obesity and Type 2 Diabetes. *Int. J. Biol. Sci.* **2018**, *14*, 1483.

doi:10.6342/NTU202601320

[118] Molinaro, A.; Becattini, B.; Solinas, G. Insulin signaling and Glucose Metabolism in Different Hepatoma Cell Lines Deviate from Hepatocyte Physiology toward a Convergent Aberrant Phenotype. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 12031.

[119] Niioka, H.; Asatani, S.; Yoshimura, A.; Ohigashi, H.; Tagawa, S.; Miyake, J. Classification of C2C12 Cells at Differentiation by Convolutional Neural Network of Deep Learning Using Phase Contrast Images. *Hum. Cell* **2018**, *31*, 87–93.

[120] Jakovljevic, N. K.; Pavlovic, K.; Zujovic, T.; Kravic-Stevovic, T.; Jotic, A.; Markovic, I.; Lalic, N. M. *In Vitro* Models of Insulin Resistance: Mitochondrial Coupling is Differently Affected in Liver and Muscle Cells. *Mitochondrion* **2021**, *61*, 165–173.

[121] Zhang, Q.; Kong, X.; Yuan, H.; Guan, H.; Li, Y.; Niu, Y. Mangiferin Improved Palmitate-Induced-Insulin Resistance by Promoting Free Fatty Acid Metabolism in HepG2 and C2C12 Cells via PPARα: Mangiferin Improved Insulin Resistance. *J. Diabetes Res.* **2019**, *2019*, 2052675.

[122] Luo, W.; Ai, L.; Wang, B.-f.; Zhou, Y. High Glucose Inhibits Myogenesis and Induces Insulin Resistance by Down-Regulating AKT Signaling. *Biomed. Pharmacother.* **2019**, *120*, 109498.

[123] King, A. J. The Use of Animal Models in Diabetes Research. *Br. J. Biomed. Sci.* **2012**, *166*, 877–894.

[124] Zhang, Y.; Proenca, R.; Maffei, M.; Barone, M.; Leopold, L.; Friedman, J. M. Positional Cloning of the Mouse Obese Gene and Its Human Homologue. *Nature* **1994**, *372*, 425–432.

[125] Chen, H.; Charlat, O.; Tartaglia, L. A.; Woolf, E. A.; Weng, X.; Ellis, S. J.; Lakey, N. D.; Culpepper, J.; More, K. J.; Breitbart, R. E. Evidence that the Diabetes Gene Encodes the Leptin Receptor: Identification of a Mutation in the Leptin Receptor Gene in *db/db* Mice. *Cell* **1996**, *84*, 491–495.

doi:10.6342/NTU202601320

[126] Leiter, E. H.; Reifsnyder, P. C. Differential Levels of Diabetogenic Stress in Two New Mouse Models of Obesity and Type 2 Diabetes. *Diabetes* **2004**, *53*, S4–S11.

[127] Andrikopoulos, S.; Rosella, G.; Gaskin, E.; Thorburn, A.; Kaczmarczyk, S.; Zajac, J. D.; Proietto, J. Impaired Regulation of Hepatic Fructose-1,6-Bisphosphatase in the New Zealand Obese Mouse Model of NIDDM. *Diabetes* **1993**, *42*, 1731–1736.

[128] Ikeda, H. KK Mouse. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **1994**, *24*, S313–S316.

[129] Chakraborty, G.; Thumpayil, S.; Lafontant, D.-E.; Woubneh, W.; Toney, J. H. Age Dependence of Glucose Tolerance in Adult KK-Ay Mice, a Model of Non–Insulin Dependent Diabetes Mellitus. *Lab. Anim.* **2009**, *38*, 364–368.

[130] Kim, J. H.; Stewart, T. P.; Zhang, W.; Kim, H. Y.; Nishina, P. M.; Naggert, J. r. K. Type 2 Diabetes Mouse Model TallyHo Carries an Obesity Gene on Chromosome 6 that Exaggerates Dietary Obesity. *Physiol. Genomics* **2005**, *22*, 171–181.

[131] Lozano, I.; Van der Werf, R.; Bietiger, W.; Seyfritz, E.; Peronet, C.; Pinget, M.; Jeandidier, N.; Maillard, E.; Marchioni, E.; Sigrist, S. High-Fructose and High-Fat Diet-Induced Disorders in Rats: Impact on Diabetes Risk, Hepatic and Vascular Complications. *Nutr. metab.* **2016**, *13*, 15.

[132] Weir, G.; Marselli, L.; Marchetti, P.; Katsuta, H.; Jung, M.; Bonner-Weir, S. Towards Better Understanding of the Contributions of Overwork and Glucotoxicity to the β-Cell Inadequacy of Type 2 Diabetes. *Diabetes Obes. Metab.* **2009**, *11*, 82–90.

[133] Matveyenko, A. V.; Butler, P. C. Islet Amyloid Polypeptide (IAPP) Transgenic Rodents as Models for Type 2 Diabetes. *ILAR J.* **2006**, *47*, 225–233.

[134] Östenson, C. G.; Efendic, S. Islet Gene Expression and Function in Type 2 Diabetes: Studies in the Goto-Kakizaki Rat and Humans. *Diabetes Obes. Metab.* **2007**, *9*, 180–186.

[135] Baaldwin, A. B.; LIU, C.-P.; Wang, P.-M.; Lo, Y.-K. Method and System for Therapeutic Gastrointestinal Photobiomodulation. US2023/0233068A1, 2023.

doi:10.6342/NTU202601320

[136] Park, D. H.; Kwon, J. H. Low-Level Laser Therapy Device Using LED Endoscope Cap. US20240342504A1, 2024.

[137] Dayyeh, B. K. A. Photobiomodulation of the Gastrointestinal Tract. US20230027861A1, 2023.

[138] DeBeer, B.; DeBeer, B. Ingestible Red, Infrared, Near-Infrared Light Emitting Capsule for Human and Animal Therapeutic Use. US20230381531A1, 2023.

[139] Moffitt, M. A.; Subramanian, H. H.; Carbunaru, R. Photobiomodulation Systems Utilizing Monitoring or Electrical Stimulation and Methods of Making and Using. US20250152961A1, 2025.

[140] Dunning, J.; Dullien, V.; Poyton, R. O.; Murdoch, R. S. Visible Light Modulation of Mitochondrial Function in Hypoxia and Disease. US8845704B2, 2014.

[141] Dunning, J.; Poyton, R. O.; Stowell, M. H. B. Methods and Devices for Visible Light Modulation of Mitochondrial Function in Hypoxia and Disease. US20160008627A1, 2016.

[142] Castel, J. C. Method and System for Irradiating Tissue with Pulsed Blue and Red Light to Reduce Muscle Fatigue, Enhance Wound Healing and Tissue Repair, and Reduce Pain. US11896842B2, 2024.

[143] 刘三林；陈小燕；程鸣；肖瑞斌；刘栋. Integrated LED Light Source for Photobiomodulation and Preparation Method Therefor. WO2025251795A1, 2025.

[144] Ginggen, A. Modulation of the Activity of Mitochondria in Brown Adipose Tissue By Photobiomodulation for the Treatment of Obesity. US20140243933A1, 2013.

[145] Jo, Y.-H.; Jeong, J. H.; Streamson Chua, J. Non-Invasive Optogenetic Stimulation Method to Regulate Glucose Metabolism in the Liver and Brown Adipose Tissue. US12121743B2, 2024.

doi:10.6342/NTU202601320

[146] Bicknell, B. Use of Photobiomodulation Therapy to Treat Inflammatory and/or Metabolic Conditions. US20220105361A1, 2022.

[147] Zonneveld, A.; Greszler, A.; Kerns, M.; Guzik, C.; Thotagamuwa, D. Phototherapy and Photobiomodulation Device. US20230120782A1, 2023.

[148] 黃文澤; 詹明賢; 蘇庭怡; 劉如熹; 蕭宏昇; 呂佻懋; 程鼎華. Near-Infrared Photobiomodulation Device and Method for Activating Nerve Cells. TW202504655A, 2024.

[149] Berends, A.; Krames, M.; Hilgerink, T. Lighting to Provide Photobiomodulation. WO2025168535A1, 2025.

[150] Min, S. H.; Kwon, J.; Do, E.-J.; Kim, S. H.; Kim, E. S.; Jeong, J.-Y.; Bae, S. M.; Kim, S.-Y.; Park, D. H. Duodenal Dual-Wavelength Photobiomodulation Improves Hyperglycemia and Hepatic Parameters with Alteration of Gut Microbiome in Type 2 Diabetes Animal Model. *Cells* **2022**, *11*, 3490.

[151] Sim, J. H.; Kwon, J.; Chae, H.; Kim, S.-B.; Cho, H.; Lee, W.; Kim, S. H.; Byun, C.-W.; Hahn, S.; Park, D. H. OLED Catheters for Inner-Body Phototherapy: A Case of Type 2 Diabetes Mellitus Improved via Duodenal Photobiomodulation. *Sci. Adv.* **2023**, *9*, eadh8619.

[152] Silva, G.; Ferraresi, C.; de Almeida, R. T.; Motta, M. L.; Paixao, T.; Ottone, V. O.; Fonseca, I. A.; Oliveira, M. X.; Rocha-Vieira, E.; Dias-Peixoto, M. F. Insulin Resistance is Improved in High-Fat Fed Mice by Photobiomodulation Therapy at 630 nm. *J. Biophotonics* **2020**, *13*, e201960140.

[153] Moradi, A.; Zare, F.; Mostafavinia, A.; Safaju, S.; Shahbazi, A.; Habibi, M.; Abdollahifar, M.-A.; Hashemi, S. M.; Amini, A.; Ghoreishi, S. K. Photobiomodulation Plus Adipose-Derived Stem Cells Improve Healing of Ischemic Infected Wounds in Type 2 Diabetic Rats. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 1206.

doi:10.6342/NTU202601320

[154] Gong, L.; Zou, Z.; Huang, L.; Guo, S.; Xing, D. Photobiomodulation Therapy Decreases Free Fatty Acid Generation and Release in Adipocytes to Ameliorate Insulin Resistance in Type 2 Diabetes. *Cell. Signal.* **2020**, *67*, 109491.

[155] da Silva Tonetto, L.; da Silva, C. C. F.; Gonzatti, N.; Guex, C. G.; Hartmann, D. D.; Boschi, E. S.; Lago, P. D.; Trevisan, M. E.; de Freitas Bauermann, L.; Jaenisch, R. B. Effects of Photobiomodulation on Oxidative Stress in Rats with Type 2 Diabetes Mellitus. *Lasers Med. Sci.* **2023**, *38*, 90.

[156] Powner, M. B.; Jeffery, G. Light Stimulation of Mitochondria Reduces Blood Glucose Levels. *J. Biophotonics* **2024**, *17*, e202300521.

[157] Perrier, Q.; Cottet-Rousselle, C.; Lamarche, F.; Tubbs, E.; Tellier, C.; Veyrat, J.; Vial, G.; Bleuet, P.; Durand, A.; Pitaval, A. Long-Term Safety of Photobiomodulation Exposure to Beta Cell Line and Rat Islets *In Vitro* and *In Vivo*. *Sci. Rep.* **2024**, *14*, 26874.

[158] Hakami, A. R.; Alasmari, S.; Makkawi, M.; Mansour, A. A.; Ahmad, I.; Al Shahrani, M.; Alkhathami, A.; Dera, A. A.; Tedla, J. S.; Almane, S. Effects of Photobiomodulation Therapy on Glycemic and Lipid Profiles *In Vitro*. *Med. Lasers* **2020**, *9*, 172–178.

[159] Guo, S.; Gong, L.; Shen, Q.; Xing, D. Photobiomodulation Reduces Hepatic Lipogenesis and Enhances Insulin Sensitivity through Activation of CaMKKβ/AMPK Signaling Pathway. *J. Photochem. Photobiol. B* **2020**, *213*, 112075.

[160] Bonifacio, M.; Benfato, I. D.; de Almeida Cruz, M.; de Sales, D. C.; Pandolfo, I. L.; Quintana, H. T.; Carvalho, C. P. d. F.; de Oliveira, C. A. M.; Renno, A. C. M. Effects of Photobiomodulation on Glucose Homeostasis and Morphometric Parameters in Pancreatic Islets of Diabetic Mice. *Lasers Med. Sci.* **2022**, *37*, 1799–1809.

[161] Pandolfo, I. L.; Bonifacio, M.; Benfato, I. D.; de Almeida Cruz, M.; Nagaoka, M. R.; Carvalho, C. P. d. F.; de Oliveira, C. A. M.; Renno, A. C. M. Photobiomodulation in

doi:10.6342/NTU202601320

Diabetic Rats: Effects on Morphological, Pancreatic Parameters, and Glucose Homeostasis. *J. Biophotonics* **2023**, *16*, e202300182.

[162] Perrier, Q.; Tubbs, E.; Benhamou, P.-Y.; Moro, C.; Lablanche, S. Photobiomodulation Promotes the Functionality and Viability of Human Pancreatic Islets in Basal Conditions and under Cytokine Stress Conditions. *Am. J. Transplant.* **2024**, *24*, 506–508.

[163] Nam, N.; Lee, T.; Shin, H.; Lee, H.; Chae, H.; Kim, M.; Jo, D.; Cho, S. Merged Red and NIR Light Sources for Photobiomodulation Therapy in Diabetic Wound Healing. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2025**, *17*, 5771–5783.

[164] Hodne, K.; Weltzien, F.-A. Single-Cell Isolation and Gene Snalysis: Pitfalls and Possibilities. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 26832–26849.

doi:10.6342/NTU202601320