



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103212162 A

(43) 申请公布日 2013. 07. 24

(21) 申请号 201210016876. 6

(22) 申请日 2012. 01. 19

(71) 申请人 福华电子股份有限公司

地址 中国台湾台北市

(72) 发明人 杜明杰 萧翊玮 李钟沛 张荣监

曹育嘉

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任

公司 11021

代理人 周长兴

(51) Int. Cl.

A61N 5/06 (2006. 01)

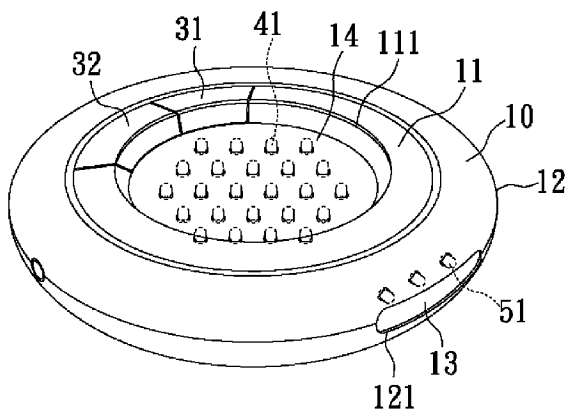
权利要求书1页 说明书7页 附图3页

## (54) 发明名称

混合光刺激方法及混合光刺激装置

## (57) 摘要

一种混合光刺激方法及装置,该方法包括以下步骤:提供一发光二极管光源,该发光二极管光源为一黄光发光二极管与一红光发光二极管的组合光源;以及将该发光二极管光源照射于一主体,以促进胶原蛋白合成,其中,该黄光发光二极管的照度为 1000 至 3500 勒克司 (lux),该红光发光二极管的照度为 6000 至 9500 勒克司,且该黄光发光二极管与该红光发光二极管的数量比为 0.5-2 : 0.5-2。



1. 一种混合光刺激方法,包括以下步骤:

提供一发光二极管光源,该发光二极管光源为一黄光发光二极管与一红光发光二极管的组合光源;以及

将该发光二极管光源照射于一主体,以促进胶原蛋白合成,其中,该黄光发光二极管的照度为 1000 至 3500 勒克司,该红光发光二极管的照度为 6000 至 9500 勒克司,且该黄光发光二极管与该红光发光二极管的数量比为 0.5-2 : 0.5-2。

2. 如权利要求 1 所述的混合光刺激方法,其中,该主体为一纤维母细胞、一巨噬细胞或其组合。

3. 如权利要求 2 所述的混合光刺激方法,其中,该黄光发光二极管的光波长范围介于 570nm 至 590nm 之间,该红光发光二极管的光波长范围介于 620nm 至 750nm。

4. 如权利要求 3 所述的混合光刺激方法,其中,该发光二极管光源的照射时间介于 5 分钟至 90 分钟。

5. 一种混合光刺激装置,包括:

一壳体,形成一容置空间且具有一顶面以及一侧缘,该顶面设有一出光口;

一散光片,覆盖该壳体的该出光口;

一第一光源模块,其设置于该壳体的该容置空间内且具有一第一发光二极管,该第一发光二极管设于该散光片下方,且该第一发光二极管为一黄光发光二极管与一红光发光二极管的组合光源,其中,该黄光发光二极管的照度为 1000 至 3500 勒克司,该红光发光二极管的照度为 6000 至 9500 勒克司,且该黄光发光二极管与该红光发光二极管的数量比为 0.5-2 : 0.5-2;以及

一控制模块,其电性连接该第一光源模块与一电源模块。

6. 如权利要求 5 所述的混合光刺激装置,其中,该电源模块为一外部电源或设置于该壳体的该容置空间内。

7. 如权利要求 6 所述的混合光刺激装置,其中,该控制模块包括:一充电孔,以供该电源模块电性连接该控制模块。

8. 如权利要求 5 所述的混合光刺激装置,其中,该控制模块包括:一电源开关,设置于该壳体表面,以控制该电源模块供应电源。

9. 如权利要求 5 所述的混合光刺激装置,其中,该壳体的该侧缘设有一出光孔。

10. 如权利要求 9 所述的混合光刺激装置,其中,包括:一透光片,覆盖该出光孔;以及一第二光源模块,对应透光片设置并发出光线穿过该透光片。

11. 如权利要求 10 所述的混合光刺激装置,其中,该控制模块包括:一模式切换开关,皆设置于该壳体表面,以启动该第一光源模块或该第二光源模块。

## 混合光刺激方法及混合光刺激装置

### 技术领域

[0001] 本发明是关于一种混合光刺激方法以及混合光刺激装置,尤其指一种可促进胶原蛋白合成的混合光刺激方法以及混合光刺激装置。

### 背景技术

[0002] 在皮肤科诊断中,常以药物治疗患者皮肤疾病,如青春痘等,但长期以来,药物治疗的结果多伴随着副作用,长期服用会造成身体代谢上的负担,且治疗效果不尽理想,常会复发,无法有效改善患者的皮肤问题。

[0003] 近年来,医疗美容产业日益兴盛,研究指出:波长介于 400nm 至 475nm 的蓝光可用于青春痘治疗,因蓝光会与痤疮杆菌 (*Propionibacterium acnes*) 或组织细胞中光感性内紫质 (coproporphyrin) 作用而产生毒性单相氧与自由基,进而破坏细菌及部份皮脂腺组织细胞,改善青春痘的红肿发炎。另一方面,波长介于 600nm 至 750nm 的红光、波长介于 550nm 至 600nm 的黄光、及波长介于 500nm 至 570nm 的绿光,能够刺激真皮层的纤维母细胞,进而促进胶原蛋白合成,防止皮肤老化。

[0004] 不过,为达到上述功效,目前业界大多使用激光或脉冲光,因此两种光的能量或强度才足以达到上述效果,但却容易造成细胞损伤。近来便积极发展一般光源或发光二极管光源来取代上述高强度光源,但目前发光二极管光源由于能量较弱,急需要找到适当的光照度才足以达到效果,否则光线照度过低会无法发挥疗效;反之,光线照度过高时,除了会造成细胞受损之外,同时亦会使装置体积提升,无法发展体积小且重量轻的可携式光疗装置,而且所使用的光源皆为单一种光源。

[0005] 据此,若可以发产出一种混合光刺激方法及混合光刺激装置,其中利用不同颜色且特定照度范围的发光二极管组合,达到提升胶原蛋白合成,并可节省人力与时间成本,使患者能快速拥有美丽的肌肤。

### 发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种混合光刺激方法。

[0007] 本发明的另一目的在于提供一种混合光刺激装置。

[0008] 为实现上述目的,本发明提供的混合光刺激方法,包括以下步骤:

[0009] 提供一发光二极管光源,该发光二极管光源为一黄光发光二极管与一红光发光二极管的组合光源;以及

[0010] 将该发光二极管光源照射于一主体,以促进胶原蛋白合成,其中,该黄光发光二极管的照度为 1000 至 3500 勒克司 (Lux),该红光发光二极管的照度为 6000 至 9500 勒克司,且该黄光发光二极管与该红光发光二极管的数量比为 0.5-2 : 0.5-2。

[0011] 所述的混合光刺激方法,其中,该主体为一纤维母细胞、一巨噬细胞或其组合。

[0012] 所述的混合光刺激方法,其中,该黄光发光二极管的光波长范围介于 570nm 至 590nm 之间,该红光发光二极管的光波长范围介于 620nm 至 750nm。

- [0013] 所述的混合光刺激方法,其中,该发光二极管光源的照射时间介于5分钟至90分钟。
- [0014] 本发明提供的混合光刺激装置,包括:
- [0015] 一壳体,形成一容置空间且具有一顶面以及一侧缘,该顶面设有一出光口;
- [0016] 一散光片,覆盖该壳体的该出光口;
- [0017] 一第一光源模块,其设置于该壳体的该容置空间内且具有一第一发光二极管,该第一发光二极管设于该散光片下方,且该第一发光二极管为一黄光发光二极管与一红光发光二极管的组合光源,其中,该黄光发光二极管的照度为1000至3500勒克司,该红光发光二极管的照度为6000至9500勒克司,且该黄光发光二极管与该红光发光二极管的数量比为0.5-2 : 0.5-2;以及
- [0018] 一控制模块,其电性连接该第一光源模块与一电源模块。
- [0019] 所述的混合光刺激装置,其中,该电源模块为一外部电源或设置于该壳体的该容置空间内。
- [0020] 所述的混合光刺激装置,其中,该控制模块包括:一充电孔,以供该电源模块电性连接该控制模块。
- [0021] 所述的混合光刺激装置,其中,该控制模块包括:一电源开关,设置于该壳体表面,以控制该电源模块供应电源。
- [0022] 所述的混合光刺激装置,其中,该壳体的该侧缘设有一出光孔。
- [0023] 所述的混合光刺激装置,其中,包括:一透光片,覆盖该出光孔;以及一第二光源模块,对应透光片设置并发出光线穿过该透光片。
- [0024] 所述的混合光刺激装置,其中,该控制模块包括:一模式切换开关,皆设置于该壳体表面,以启动该第一光源模块或该第二光源模块。
- [0025] 本发明采用发出特定照度范围的红光发光二极管以及黄光发光二极管的混合光源,以期达到刺激纤维母细胞,增加胶原蛋白合成,同时促进血液循环、加快老废细胞代谢

#### 附图说明

- [0026] 图1为本发明实施例一混合光刺激装置的结构示意图
- [0027] 图2为本发明实施例一混合光刺激装置的侧面图
- [0028] 图3为本发明实施例一混合光刺激装置的系统方块图。
- [0029] 图4显示本发明实施例二的人类纤维母细胞存活率与胶原蛋白合成率。
- [0030] 图5显示本发明实施例二中每单位人类纤维母细胞的胶原蛋白合成率。
- [0031] 图6显示本发明实施例三的人类纤维母细胞存活率与胶原蛋白合成率。
- [0032] 图7显示本发明实施例三中每单位人类纤维母细胞的胶原蛋白合成率。
- [0033] 附图中主要组件符号说明:
- [0034] 壳体10;
- [0035] 顶面11,出光口111;
- [0036] 侧缘12,出光孔121;
- [0037] 透光片13;
- [0038] 散光片14;

- [0039] 电源模块 20 ;
- [0040] 控制模块 30, 电源开关 31 ; 模式切换开关 32, 充电孔 33 ;
- [0041] 第一光源模块 40, 第一发光二极管 41 ;
- [0042] 第二光源模块 50, 第二发光二极管 51。

### 具体实施方式

[0043] 本发明的一态样提供一种混合光刺激方法, 包括以下步骤: 提供一发光二极管光源, 该发光二极管光源为一黄光发光二极管与一红光发光二极管的组合光源; 以及将该发光二极管光源照射于一主体, 以促进胶原蛋白合成, 其中, 该黄光发光二极管的照度为 1000 至 3500 勒克司 (lux), 该红光发光二极管的照度为 6000 至 9500 勒克司, 且该黄光发光二极管与该红光发光二极管的数量比为 0.5-2 : 0.5-2。

[0044] 公知技术通常使用不同波长的激光或脉冲光达到青春痘治疗、刺激真皮层的纤维母细胞提升胶原蛋白合成, 不过因激光或脉冲光强度极高且设备庞大, 一般消费者难以拥有。近来, 虽有使用发光二极管做为光源, 期望可以达到上述提升胶原蛋白的效果, 但由于未有公知技术研究针对发光二极管发光的照度以及混合光源对于细胞的影响, 因在未设定特定照度的前提下, 公知方法是否可以达到上述效果实属未知。反观, 本发明所述方法, 利用发出黄光与红光的发光二极管做为混合光源, 并将其限定于不同照度范围, 因此可以确保达到刺激纤维母细胞提升胶原蛋白合成。

[0045] 因此, 以适当光照度红光与黄光发光二极管的混合光源且持续适当时间进行照射时, 会刺激巨噬细胞 (macrophage) 释放细胞激素 (cytokine), 促进纤维母细胞分裂; 同时亦会刺激纤维母细胞合成 DNA 及分泌生长因子 (fibroblast growth factor, FGF), 进而增加胶原蛋白合成。若该主体为体内细胞, 例如真皮层内的纤维母细胞或者巨噬细胞, 则可以直接透光, 照射皮肤达到促进伤口愈合以及抗衰老的效果; 或者, 若该主体为体外细胞, 则可先经过上述处理后, 再将经处理的细胞植回生物体达到上述功效。由此可知, 本发明所述的主体, 是指受光照刺激的物体。

[0046] 于本发明上述的混合光刺激方法中, 该主体较佳为一纤维母细胞、一巨噬细胞或其组合。于本发明一较佳具体实例中, 该主体为一纤维母细胞。此外, 该黄光发光二极管的光波长范围可介于 570nm 至 590nm 之间, 该红光发光二极管的光波长范围可介于 620nm 至 750nm。此外, 该红光与黄光发光二极管的混合光源, 在照射时间上没有特殊限制, 只要能够达到上述功效而且不会对该主体造成伤害即可, 可以根据该红光发光二极管与该黄光发光二极管所发出光线的预定照度而有所调整, 当照度较高时, 便能用较短的照射时间就达到相同效果; 反之, 当照度较低时, 则可用较长的照射时间达到相同的效果。

[0047] 举例而言, 在红光发光二极管发出 6000 至 9500 勒克司与黄光发光二极管的发出 1000 至 3500 勒克司的光照度下, 照射时间可以介于 5 分钟至 90 分钟。若高于上述照度范围, 短时间内虽然不会有太大的影响, 但长时间下来却会因照度过高造成细胞受损; 反之, 若照度过低, 即使长时间使用也难以有效达到效果。

[0048] 本发明提供的混合光刺激装置, 其中采用发出特定照度范围的红光发光二极管以及黄光发光二极管的混合光源, 以期达到刺激纤维母细胞, 增加胶原蛋白合成, 同时促进血液循环、加快老废细胞代谢。

[0049] 本发明的另一态样提供一种混合光刺激装置,包括:一壳体,形成一容置空间且具有一顶面以及一侧缘,该顶面设有一出光口;一散光片,覆盖该壳体的该出光口;一第一光源模块,其设置于该壳体的该容置空间内且具有一第一发光二极管,该第一发光二极管设于该散光片下方,且该第一发光二极管为一黄光发光二极管与一红光发光二极管的组合光源,其中,该黄光发光二极管的照度为 1000 至 3500 勒克司 (lux),该红光发光二极管的照度为 6000 至 9500 勒克司,且该黄光发光二极管与该红光发光二极管的数量比为 0.5-2 : 0.5-2;以及一控制模块,其电性连接该第一光源模块与一电源模块。

[0050] 由上述可知,本发明混合光刺激装置中组合发出黄光与红光的发光二极管做为混合光源,且不同颜色的光线皆限定于对应的照度范围,因此经本发明的混合光刺激装置照射后,可刺激纤维母细胞,确保胶原蛋白合成提升。

[0051] 于本发明上述混合光刺激装置中,该电源模块可为一外部电源或设置于该壳体的该容置空间内。若该电源模块设置于该壳体的该容置空间内,其可包含可充式电池或者可容纳一般的干电池或者微型电池,达到供应电源的效果。另一方面,若电源模块为一外部电源或者为设置于该壳体的该容置空间内的可充式电池,该控制模块可具有选择性地包括:一充电孔,以供该电源模块电性连接该控制模块。

[0052] 除此之外,于本发明上述混合光刺激装置中,该控制模块也可具选择性地包括:一电源开关,设置于该壳体表面,以控制该电源模块供应电源。此外,该壳体较佳是由透光率低材料所构成,如反射性高或密度高的材料,以减少混合光刺激装置的漏光现象。此外,本领域人士亦可由各种结构设计,增加混合光刺激装置整体结构的密合度,以降低混合光刺激装置的漏光现象。

[0053] 另一方面,于本发明上述混合光刺激装置中,该壳体的该侧缘可选择性设有一出光孔。此情况下,混合光刺激装置可以还包括:一透光片,覆盖该出光孔;以及一第二光源模块对应透光片设置并发出光线穿过该透光片。此情况下,该控制模块亦可再包括:一模式切换开关,皆设置于该壳体表面,以启动该第一光源模块或该第二光源模块,换言之,即切换第一光源模块与第二光源模块之间的作动。此外,该第一光源模块与该第二光源模块内所采用的发光二极管,可为相同颜色或不同颜色。

[0054] 于本发明上述混合光刺激装置中,设于该出光口的该散光片,可以有利于均匀出光,避免诊疗光直接照射使用者眼睛,并提高装置光刺激效果的均匀性,换言之即将原本属于点光源的发光二极管,经过散光作用后,在出光口处形成面光源;另外,设于该出光孔的该透光片,则不一定需为散光片,若为散光片则可以达到上述效果,若非为散光片,则可以传递点光源所提供的光线。

[0055] 于本发明上述混合光刺激装置中,该第一光源模块与该第二光源模块可以设计成可替换式,换言之使用红光发光二极管与黄光发光二极管组成该第一光源模块与该第二光源模块。若需要较高比例的红光进行照射时,则增加发光模块中红光发光二极管的数量。除此之外,亦可以将该第一光源模块与该第二光源模块中所使用的发光二极管设计成可替换式,换言之若需要较高比例黄光照射时,则将光源模块上的发光二极管拆换成黄光发光二极管。

[0056] 综上所述,本发明的混合光刺激方法与混合光刺激装置,可以通过采用不同颜色的发光二极管,例如红光与黄光发光二极管的组合,进行光刺激作用,因此可以达到提升胶

原蛋白合成,进而达到抗老化的功效。

[0057] 以下是由特定的具体实施例说明本发明的实施方式,熟习此技艺的人士可由本说明书所揭示的内容轻易地了解本发明的其他优点与功效。本发明亦可由其他不同的具体实施例加以施行或应用,本说明书中的各项细节亦可基于不同观点与应用,在不悖离本发明的精神下进行各种修饰与变更。

[0058] 本发明的实施例中该些附图均为简化的示意图。惟该些图标仅显示与本发明有关的组件,其所显示的组件非为实际实施时的态样,其实际实施时的组件数目、形状等比例为一选择性的设计,且其组件布局型态可能更复杂。

[0059] 实施例一

[0060] 参考图 1 至图 3,其中图 1 为本发明混合光刺激装置的结构示意图,图 2 为本发明混合光刺激装置的侧面图,图 3 为本发明混合光刺激装置的系统方块图。

[0061] 如图 1 至图 3 所示,本发明的混合光刺激装置包括:一壳体 10、一透光片 13、一散光片 14、一第一光源模块 40、一第二光源模块 50 以及一控制模块 30。

[0062] 该壳体 10 形成一容置空间,可以容纳各个模块。此外,该壳体 10 具有一顶面 11 以及一侧缘 12,该顶面 11 设有一出光口 111,该侧缘 12 设有一出光孔 121。

[0063] 位于该顶面 11 的该出光口 111 处,使用该散光片 14 覆盖;位于该侧缘 12 的该出光孔 121,使用该透光片 13 覆盖。此外,该第二光源模块 50 对应透光片 13 设置于该壳体 10 的该容置空间,并发出光线穿过该透光片 13,且具有至少一第二发光二极管 51。于此,若该透光片 13 仅单纯用于透光而非用于散光,则第二光源模块 50 则成为点光源。

[0064] 该第一光源模块 40 设置于该壳体 10 的该容置空间内且具有数组排列的复数个第一发光二极管 41,该第一发光二极管 41 设于该散光片 14 下方,且该第一发光二极管 41 是红光发光二极管与黄光发光二极管的组合光源,其中,该黄光发光二极管经过该散光片 14 发出的光线照度为 1000 至 3500 勒克司(lux),该黄光发光二极管经过该散光片 14 发出的光线照度为 6000 至 9500 勒克司,且该黄光发光二极管与该红光发光二极管的数量比为 0.5-2 : 0.5-2。于本实施例中,该黄光发光二极管与红光发光二极管的数量比为 1 : 1。

[0065] 该控制模块 30 电性连接该第一光源模块 40 与一电源模块 20,且该控制模块 30 包括:一充电孔 33,以供该电源模块 20 电性连接该控制模块 30;一电源开关 31,设置于该壳体 10 表面,以控制该电源模块 20 供应电源;以及一模式切换开关 32,皆设置于该壳体 10 表面,以启动该第一光源模块 40 或该第二光源模块 50。

[0066] 该电源模块 20 可为一外部电源或设置于该壳体 10 的该容置空间内。当该电源模块 20 设置于该壳体 10 的该容置空间内,该电源模块 20 可含可充式电池或者可容纳一般的干电池或者微型电池,达到供应电源的效果。

[0067] 因此,上述混合光刺激装置采用发出特定照度范围的红光发光二极管与黄光发光二极管的混合光源,便可达到刺激纤维母细胞,增加胶原蛋白合成,同时促进血液循环、加快老废细胞代谢。

[0068] 实施例二

[0069] 利用发光二极管发出照度为 7,800lux 的红光,探讨其对于人类纤维母细胞存活率与分泌胶原蛋白的影响。

[0070] 首先,将含人类纤维母细胞的 DMEM 细胞培养液,加至 48 孔培养盘内,所接种的细

胞数为  $2 \times 10^4$  个 / 孔, 48 孔中每一孔内培养液的总体积 (含细胞) 共 0.5ml, 置于 CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 小时。之后, 取出全部培养液, 再加入 PBS 缓冲液 0.5ml, 并使用红光发光二极管 (Lux 7, 800) 照射 5、10、15、30 分钟后, 取出孔内全部的 PBS 缓冲液再加入 0.5ml 的培养液, 再培养 24 小时, 并重复一次上述光刺激步骤。

[0071] 而后, 更换新的培养基 0.5ml 及加入 0.125ml 的 MTT 试剂, 放至 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱内反应 4 小时后, 再将全部培养基取出, 加入 0.5ml 的 DMSO 溶解甲臞 (formazan), 取 0.2ml 至 96 孔内利用 ELISA 微量盘分析仪, 测量其在 OD<sub>570nm</sub> 时的吸光值。细胞存活率的计算为: 细胞存活率 (%) = (照光后 OD<sub>570</sub> / 控制组 OD<sub>570</sub>) × 100%, 其中控制组是指未使用混合光刺激装置照射的细胞。

[0072] 另外, 对于胶原蛋白检测方面, 首先将含人类纤维母细胞的 DMEM 细胞培养液, 加至 48 孔培养盘内, 所接种的细胞数为  $2 \times 10^4$  个 / 孔, 48 孔中每一孔内培养液的总体积 (含细胞) 共 0.5ml, 置于 CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 小时。之后, 取出全部培养液, 再加入 PBS 缓冲液 0.5ml, 并使用红光发光二极管 (Lux 7, 800) 照射 5、10、15、30 分钟后, 取出孔内全部的 PBS 缓冲液再加入 0.5ml 的培养液, 再培养 24 小时, 并重复一次上述光刺激步骤。

[0073] 而后, 将孔中的培养基全部取出, 并放入 1.5ml 离心管, 之后培养过细胞的孔各别加入 0.5ml 0.5M 的醋酸水溶液 (4℃), 放置 20 分钟溶解其中的胶原蛋白后, 取出孔中全部的水溶液并放入 1.5ml 离心管中, 离心管再先后分别加入 50 μl 酸中和剂 (acid neutralizing reagent, Biocolor)、4℃ 100 μl 的分离浓缩剂 (Isolation & Concentration Reagent, Biocolor), 并于 4℃ 冰箱中放置过夜。之后, 将离心管取出并以 12000rpm 离心 10 分钟, 移除上清液, 再于离心管中加入 1ml 呈色剂 (Sircol Dye Reagent, Biocolor) 加入离心管中并震荡 30 分钟, 再以 12000rpm 离心 10 分钟后, 移除上清液, 再加入 4℃ 750 μl 的酸盐清洗剂 (Acid-Salt Wash Reagent, Biocolor), 再以 12000rpm 离心 10 分钟后, 移除上清液, 离心管再加入 250 μl 碱剂 (Alkali Reagent, Biocolor), 最后每管中各取出 200 μl 加入 96 孔盘中, 测量 555nm 的吸光值。针对胶原蛋白生成率 (%) = (照光后的胶原蛋白生成量 / 控制组胶原蛋白生成量) × 100%, 其中控制组是指未使用混合光刺激装置照射的细胞。

[0074] 上述实验结果参考图 4 与图 5, 其中图 4 是照度为 7,800lux 的红光发光二极管照射人类纤维母细胞后, 细胞存活率与胶原蛋白生成率; 图 5 是照射后每单位细胞的胶原蛋白生成率。如图 4 所示, 显示在照射 5 分钟后, 即有促进纤维母细胞增殖的效果, 且胶原蛋白的含量亦随着细胞数量增加而增加。另外, 如图 5 所示, 可知虽然一开始因纤维母细胞数量增殖提高而使得每单位细胞的胶原蛋白生成量降低, 但随着照射时间增加, 每单位纤维母细胞的胶原蛋白生成量则逐渐提升。

[0075] 实施例三

[0076] 利用发光二极管发出照度为 2290lux 的黄光, 探讨其对于人类纤维母细胞存活率与分泌胶原蛋白的影响。

[0077] 首先, 将含人类纤维母细胞的 DMEM 细胞培养液, 加至 48 孔培养盘内, 所接种的细胞数为  $2 \times 10^4$  个 / 孔, 48 孔中每一孔内培养液的总体积 (含细胞) 共 0.5ml, 置于 CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 小时。之后, 取出全部培养液, 再加入 PBS 缓冲液 0.5ml, 并使用黄光发光二极管 (Lux 2290) 照射 5、10、15、30 分钟后, 取出孔内全部的 PBS 缓冲液再加入 0.5ml 的培养液,



再培养 24 小时,并重复一次上述光刺激步骤。

[0078] 而后,更换新的培养基 0.5ml 及加入 0.125ml 的 MTT 试剂,放至 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱内反应 4 小时后,再将全部培养基取出,加入 0.5ml 的 DMSO 溶解甲臞 (formazan),取 0.2ml 至 96 孔内利用 ELISA 微量盘分析仪,测量其在 OD<sub>570nm</sub> 时的吸光值。细胞存活率的计算为:细胞存活率(%) = (照光后 OD<sub>570</sub>/ 控制组 OD<sub>570</sub>) × 100%,其中控制组是指未使用混合光刺激装置照射的细胞。

[0079] 另外,对于胶原蛋白检测方面,首先将含人类纤维母细胞的 DMEM 细胞培养液,加至 48 孔培养盘内,所接种的细胞数为 2 × 10<sup>4</sup> 个 / 孔,48 孔中每一孔内培养液的总体积(含细胞)共 0.5ml,置于 CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 小时。之后,取出全部培养液,再加入 PBS 缓冲液 0.5ml,并使用黄光发光二极管 (Lux 2290) 照射 5、10、15、30 分钟后,取出孔内全部的 PBS 缓冲液再加入 0.5ml 的培养液,再培养 24 小时,并重复一次上述光刺激步骤。

[0080] 而后,将孔中的培养基全部取出,并放入 1.5ml 离心管,之后培养过细胞的孔各别加入 0.5ml 0.5M 的醋酸水溶液(4℃),放置 20 分钟溶解其中的胶原蛋白后,取出孔中全部的水溶液并放入 1.5ml 离心管中,离心管再先后分别加入 50 μl 酸中和剂 (acid neutralizing reagent, Biocolor)、4℃ 100 μl 的分离浓缩剂 (Isolation&Concentration Reagent, Biocolor),并于 4℃ 冰箱中放置过夜。之后,将离心管取出并以 12000rpm 离心 10 分钟,移除上清液,再于离心管中加入 1ml 呈色剂 (Sircol Dye Reagent, Biocolor) 加入离心管中并震荡 30 分钟,再以 12000rpm 离心 10 分钟后,移除上清液,再加入 4℃ 750 μl 的酸盐清洗剂 (Acid-Salt Wash Reagent, Biocolor),再以 12000rpm 离心 10 分钟后,移除上清液,离心管再加入 250 μl 碱剂 (Alkali Reagent, Biocolor),最后每管中各取出 200 μl 加入 96 孔盘中,测量 555nm 的吸光值。针对胶原蛋白生成率(%) = (照光后的胶原蛋白生成量 / 控制组胶原蛋白生成量) × 100%,其中控制组是指未使用混合光刺激装置照射的细胞。

[0081] 上述实验结果参考图 6 与图 7,其中图 6 是照度为 2290lux 的黄光发光二极管照射人类纤维母细胞后,细胞存活率与胶原蛋白生成率;图 7 是照射后每单位细胞的胶原蛋白生成率。如图 6 所示,显示在照射 5 分钟后,即有促进纤维母细胞增殖的效果,且胶原蛋白的含量亦随着细胞数量增加而增加。另外,如图 7 所示,可知经照射 5 至 10 分钟左右,每单位细胞的胶原蛋白生成量提升至最高。

[0082] 上述实施例仅为了方便说明而举例而已,本发明所主张的权利范围自应以申请的权利要求范围所述为准,而非仅限于上述实施例。

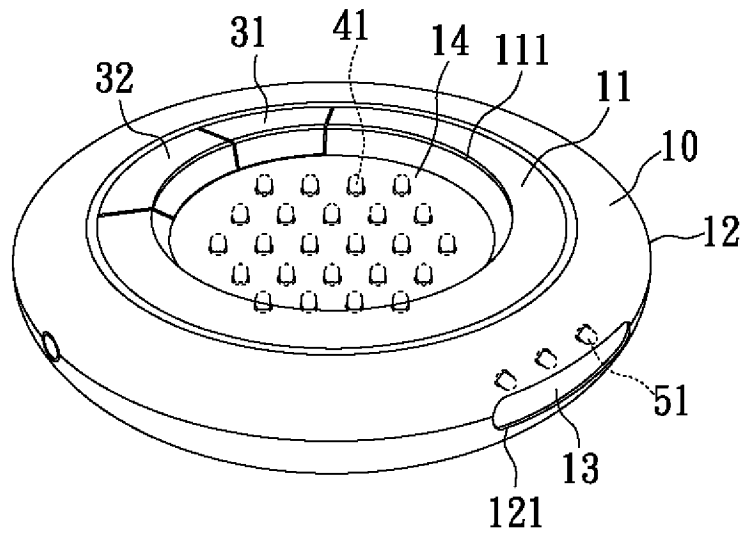


图 1

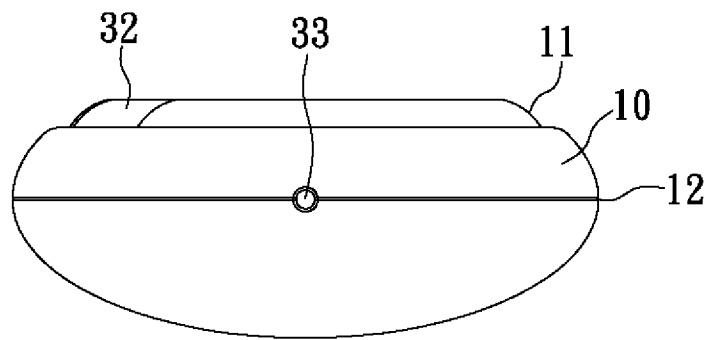


图 2

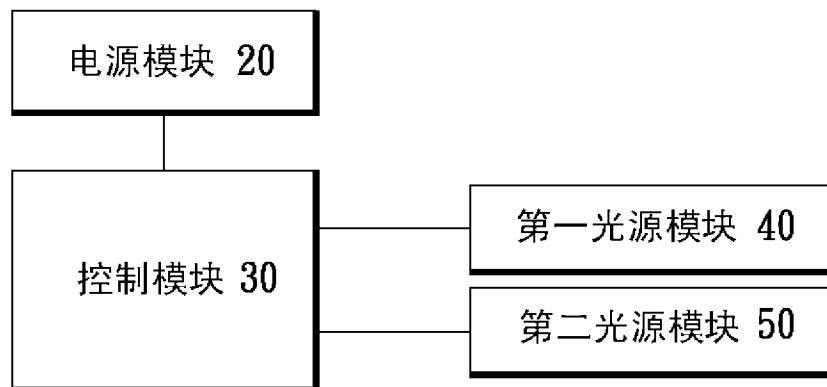


图 3

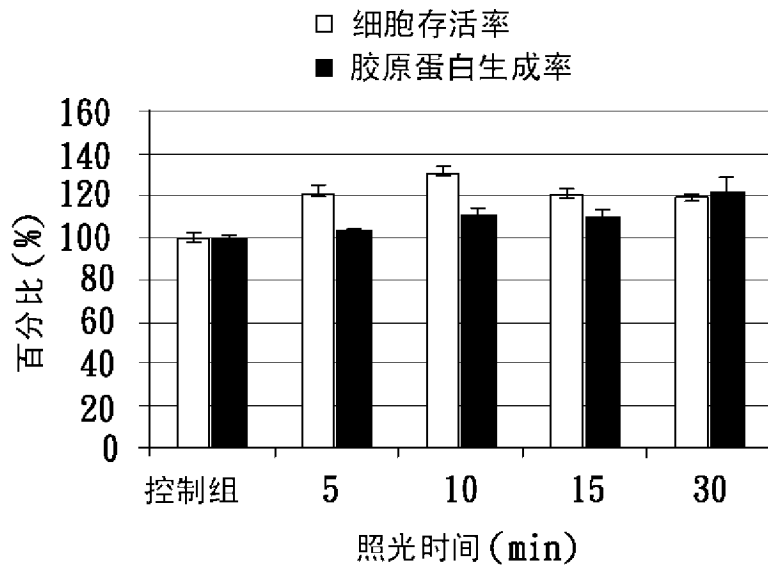


图 4

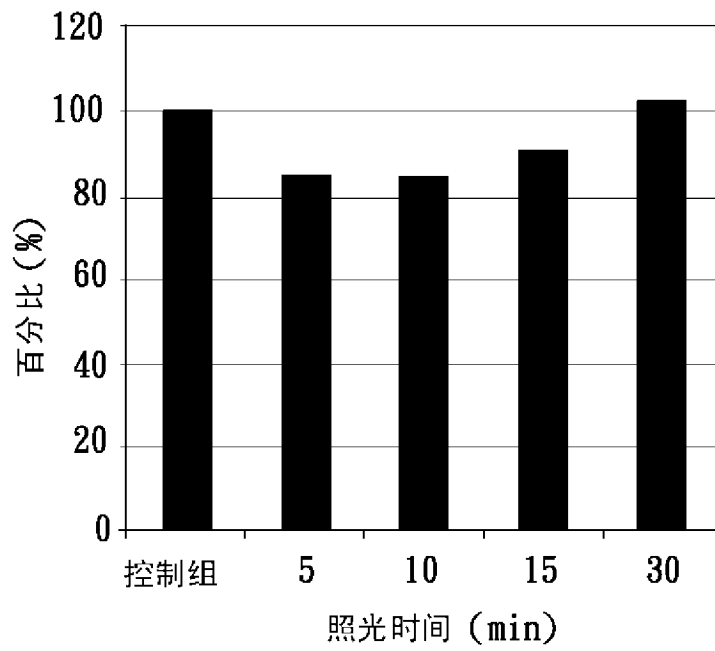


图 5

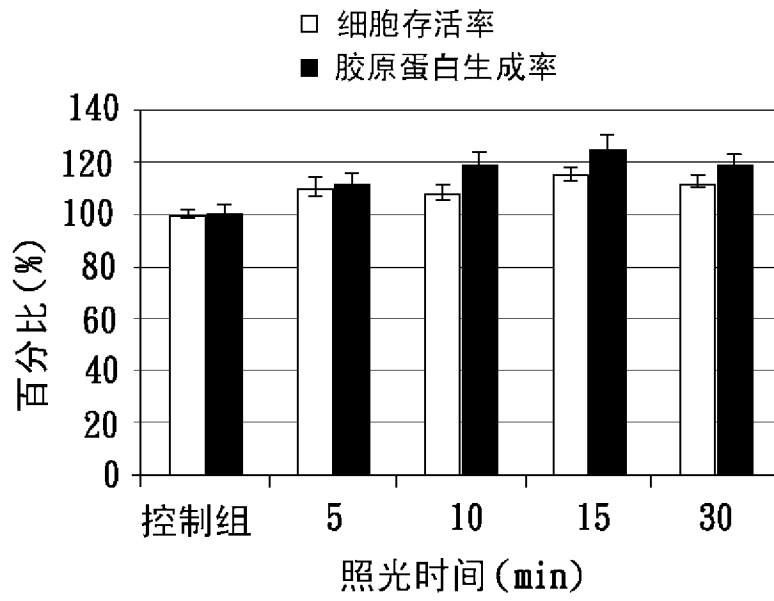


图 6

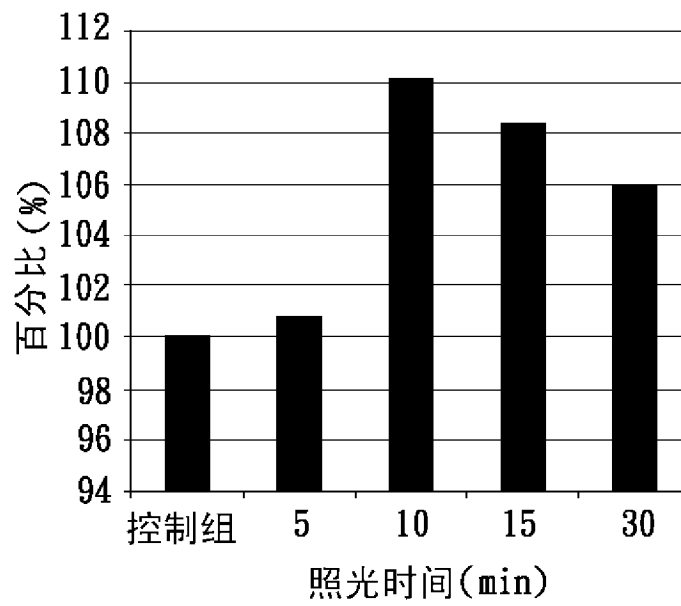


图 7