



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202313077 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 04 月 01 日

(21)申請案號：111110590

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 03 月 22 日

(51)Int. Cl. : A61K35/744 (2015.01)

A61P19/00 (2006.01)

A23L33/135 (2016.01)

(30)優先權：2021/05/17 日本

2021-083347

(71)申請人：日商好侍健康食品股份有限公司(日本) HOUSE WELLNESS FOODS CORPORATION (JP)

日本

(72)發明人：中嶋翼 NAKAJIMA, TSUBASA (JP)；北村幸平 KITAMURA, KOHEI (JP)；中井寬子 NAKAI, HIROKO (JP)；廣瀨義 HIROSE, YOSHITAKA (JP)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：9 項 圖式數：5 共 31 頁

(54)名稱

蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用組成物及骨代謝改善用組成物

(57)摘要

本發明之課題為提供(1)一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用、骨之骨代謝改善用及/或骨密度降低抑制用組成物，其特徵為含有藉由在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞所得到的免疫細胞之培養上清液或其處理物，(2)一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用、骨之骨代謝改善用及/或骨密度降低抑制用組成物，其特徵為含有植物乳桿菌 L-137 株(Lactobacillus plantarum L-137)或其處理物；並藉由上述組成物，解決上述課題。

An object of the present invention is to provide (1) a composition for inhibiting differentiation of osteoclast precursor into osteoclast, for improving bone metabolism of bone and/or for inhibiting decrease of bone density, which is characterized by containing a cultivating supernatant of immune cells or treated substance thereof obtained from cultivating immune cells in the presence of lactic bacteria or a processed product thereof, and (2) a composition for inhibiting differentiation of osteoclast precursor into osteoclast, for improving bone metabolism of bone and/or for inhibiting decrease of bone density, which is characterized by containing Lactobacillus plantarum L-137 or a processed product thereof; and to solve the above object by the above compositions.

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用組成物及骨代謝改善用組成物

【英文發明名稱】 COMPOSITION FOR INHIBITING  
DIFFERENTIATION OF OSTEOCLAST  
PRECURSOR INTO OSTEOCLAST AND  
COMPOSITION FOR IMPROVING BONE  
METABOLISM

### 【中文】

本發明之課題為提供(1)一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用、骨之骨代謝改善用及/或骨密度降低抑制用組成物，其特徵為含有藉由在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞所得到的免疫細胞之培養上清液或其處理物，(2)一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用、骨之骨代謝改善用及/或骨密度降低抑制用組成物，其特徵為含有植物乳桿菌 L-137 株 (*Lactobacillus plantarum* L-137)或其處理物；並藉由上述組成物，解決上述課題。

### 【英文】

An object of the present invention is to provide (1) a composition for inhibiting differentiation of osteoclast precursor into osteoclast, for improving bone metabolism of bone and/or for inhibiting decrease of bone

density, which is characterized by containing a cultivating supernatant of immune cells or treated substance thereof obtained from cultivating immune cells in the presence of lactic bacteria or a processed product thereof, and (2) a composition for inhibiting differentiation of osteoclast precursor into osteoclast, for improving bone metabolism of bone and/or for inhibiting decrease of bone density, which is characterized by containing *Lactobacillus plantarum* L-137 or a processed product thereof; and to solve the above object by the above compositions.

【指定代表圖】 無。

【代表圖之符號簡單說明】 無。

【特徵化學式】 無。

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用組成物及骨代謝改善用組成物

【英文發明名稱】 COMPOSITION FOR INHIBITING  
DIFFERENTIATION OF OSTEOCLAST  
PRECURSOR INTO OSTEOCLAST AND  
COMPOSITION FOR IMPROVING BONE  
METABOLISM

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用組成物及骨代謝改善用組成物。

### 【先前技術】

【0002】 骨質疏鬆症為骨質變脆，容易骨折的疾病。骨中存在著 2 種細胞，即負責骨形成之骨母細胞及負責骨吸收之蝕骨細胞，然而隨著蝕骨細胞活化等，兩細胞之活性平衡崩解。於是，若骨吸收量相對於骨形成量呈增高之狀態持續，則骨量減少，引起骨質疏鬆症的發病。在日本國內，有約 1000 萬人以上之患者，伴隨高齡化，骨質疏鬆症之患者數有增加的傾向。已知抑制蝕骨前驅細胞(蝕骨細胞之前驅細胞)朝蝕骨細胞之分化等(專利文獻 1)為改善骨質疏鬆症的方法之一。

另一方面，已知乳酸菌有免疫賦活作用等(專利文獻 2)。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

**【0003】**

[專利文獻 1] 日本特開 2010-235534 號公報

[專利文獻 2] 日本特開 2010-6801 號公報

**【發明內容】**

[發明所欲解決之課題]

**【0004】** 然而，未知在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞所得之免疫細胞的培養上清液，係抑制蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化，或改善骨代謝。再者，為乳酸菌之植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137；以下亦簡稱為「L-137 株」)具有與上述免疫細胞之培養上清液同樣的作用則為未知。

[用於解決課題之手段]

**【0005】** 本發明人等發現：(1)在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞所得到之培養物的培養上清液，具有蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制作用、骨代謝改善作用及/或骨密度降低抑制作用，較佳為具有抑制骨中之骨吸收特性的作用。再者，得知(2)乳酸菌植物乳桿菌 L-137 株具有與上述(1)之培養上清液同樣的效果，及(3)進一步重複檢討(1)之培養上清液及(2)L-137 株對骨質疏鬆症等的治療或預防，於是完成本發明。

**【0006】** 亦即，本發明如以下所述。

[1] 一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用之組成物，其含有在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞所得到之培養上清液或其處理物。

[2] 一種骨代謝改善用之組成物，其含有在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞所得到之培養上清液或其處理物。

[3] 如前述[1]或[2]所述之組成物，其中乳酸菌為乳桿菌(Lactobacillus)屬之菌。

[4] 如前述[1]至[3]中任一項所述之組成物，其中乳酸菌為植物乳桿菌 L-137 株(Lactobacillus plantarum L-137)。

[5] 一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用之組成物，其含有植物乳桿菌 L-137 株(Lactobacillus plantarum L-137)或其處理物。

[6] 一種骨代謝改善用之組成物，其含有植物乳桿菌 L-137 株(Lactobacillus plantarum L-137)或其處理物。

[7] 如前述[1]至[6]中任一項所述之組成物，其係作為骨質疏鬆症之預防、改善及/或治療用。

[8] 如前述[1]至[7]中任一項所述之組成物，其係作為骨密度降低抑制用。

[9] 一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用、骨代謝改善用及/或骨密度降低抑制用之組成物的製造方法，其包含下列之步驟(a)至(c)：

(a) 在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞，得到培養物之步驟、

(b) 得到免疫細胞之培養上清液或其處理物的步驟，其包含從步驟(a)中得到之培養物除去乳酸菌或其處理物及免疫細胞；及

(c) 將步驟(b)中得到之培養上清液或其處理物，與載劑及/或賦形劑混合的步驟。

[發明之效果]

【0007】若依照本發明，可提供蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用組成物、骨代謝改善用及/或骨密度降低抑制用組成物，較佳為骨質疏鬆症之預防、改善或治療用的組成物。又，亦可提供此種組成物之製造方法。

#### 【圖式簡單說明】

##### 【0008】

圖 1 為展示對蝕骨前驅細胞，添加 sRANKL(骨代謝研究用試藥)及免疫細胞之培養上清液，經過 48 小時後，評價蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化及骨吸收活性抑制的圖。

圖 2 為展示對蝕骨前驅細胞，添加 sRANKL(骨代謝研究用試藥)及免疫細胞之培養上清液，經過 72 小時後，評價蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化及骨吸收活性抑制的圖。

圖 3 為展示對蝕骨前驅細胞，添加 sRANKL(骨代謝研究用試藥)及 L-137 株，經過 48 小時後，評價蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化及骨吸收活性抑制的圖。

圖 4 為展示對蝕骨前驅細胞，添加 sRANKL(骨代謝研究用試藥)及 L-137 株，經過 72 小時後，評價蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化及骨吸收活性抑制的圖。

圖 5 為展示藉由有無含有 L-137 株之食品的攝取，評價對人類跟骨內之標準化超音波傳播速度(s-SOS)之影響的圖。白色圖表示試驗開始前，著色圖表示組成物攝取 3 個月後。平均值(+/-)標準偏差[Mean (+/-) SD]、\*：  
 $p < 0.05$  v.s. 試驗開始前

**【實施方式】****【0009】 (1) 免疫細胞之培養上清液或其處理物**

本發明包含一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用組成物及骨之骨代謝改善用組成物，特佳為骨吸收抑制用組成物，其特徵為含有藉由免疫細胞及乳酸菌或其處理物之混合物之培養所得到的免疫細胞之培養上清液或其處理物，較佳實質上不含為了得到培養上清液而用的該乳酸菌或其處理物本身。

再者，在本說明書中，將蝕骨細胞之前驅細胞簡稱為「蝕骨前驅細胞」。又，在本說明書中，「培養上清液」意指將通常培養免疫細胞所得到之培養物，例如藉由離心所分離的上層澄清之液體。就較佳之離心條件而言，例如，可列舉 1 至 40 度，較佳 4 至 37 度之溫度，2000 至 20000rpm 之旋轉數等，然而非以此等為限。

**【0010】** 本發明中所用之乳酸菌，無特別限定，例如可使用屬於乳桿菌屬、鏈球菌屬、腸球菌屬、乳球菌屬、或雙歧桿菌屬等乳酸菌等。更詳細而言，可列舉植物乳桿菌(*Lactobacillus plantarum*)、嗜酸乳桿菌(*Lactobacillus acidophilus*)、短乳桿菌(*Lactobacillus brevis*)、乾酪乳桿菌(*Lactobacillus casei*)、發酵乳桿菌(*Lactobacillus fermentum*)、副乾酪乳桿菌(*Lactobacillus paracasei*)、布氏乳桿菌(*Lactobacillus buchneri*)、德氏乳桿菌(*Lactobacillus delbrueckii*)、鼠李糖乳桿菌(*Lactobacillus rhamnosus*)、嗜熱鏈球菌(*Streptococcus thermophilus*)、糞腸球菌(*Enterococcus faecalis*)、屎腸球菌(*Enterococcus faecium*)、乳酸乳球菌

(*Lactococcus lactis*)、植物乳桿菌(*Lactococcus plantarum*)或嗜熱雙歧桿菌(*Bifidobacterium thermophilum*)、長雙歧桿菌(*Bifidobacterium longum*)或短雙歧桿菌(*Bifidobacterium breve*)等，然而非以此等為限。

【0011】在本發明中，無特別限定，然而免疫細胞較佳為包含能嗜食(貪食)上述乳酸菌之細胞的細胞，其中較佳為包含能嗜食植物乳桿菌屬(*Lactobacillus plantarum*)之乳酸菌之細胞的細胞，更佳為包含能嗜食植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137，受託編號：FERM BP-08607 號)之細胞的細胞。

【0012】再者，已知 L-137 株比該領域中泛用之乳桿菌屬的乳酸菌，例如植物乳桿菌 JCM1149 株等，在細胞表面露出更多脂磷壁酸(Lipoteichoic acid)，容易被某種細胞嗜食(Int Immunopharmacol. 2015, 25(2) 321-331)。詳細情形雖不明，然而 L-137 株之此種性質，可能在得到本發明之蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制效果或骨代謝改善效果上有用。

【0013】就本發明所用之較佳免疫細胞而言，例如，可列舉包含巨噬細胞、自然殺手(NK)細胞、樹狀細胞、B 細胞、T 細胞之細胞，然而非以此等為限。免疫細胞亦可使用市售品。就此種市售品而言，例如，較佳可列舉 iQ Bioscience 公司之 IQB-MSP103、日本 Charles River 股份有限公司、日本 Claire 股份有限公司等推出之製品，然而非以此等為限。

【0014】又，就本發明所用之較佳蝕骨前驅細胞而言，例如，以藉由 RANKL(NF- $\kappa$ B 配體之受體活化劑(receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand))、GM-CSF(粒細胞巨噬細胞菌落刺激因子(Granulocyte Macrophage colony-

stimulating Factor))等試藥，可誘導朝蝕骨細胞分化的細胞為較佳，例如，可列舉源自骨髓之單核球、巨噬細胞系之前驅細胞、巨噬細胞樣細胞等之初代細胞、或者彼等之細胞株等，然而非以此等為限。

【0015】以下，關於在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞的方法加以說明。關於免疫細胞之培養方法，培養溫度、培養時間可隨所使用之細胞而適宜選擇，無特別限定。培養溫度，例如，無特別限定，但較佳為 30 至 40 度，更佳為 35 至 37 度。又，培養時間，例如，無特別限定，但較佳為、24 至 96 小時，更佳為 48 至 72 小時。

【0016】就免疫細胞之培養所用的培養基而言，無特別限定，然而例如以使用含有無機鹽類、碳水化物、胺基酸、維生素、蛋白質、肽、脂肪酸、脂質、血清等者為較佳。亦可使用市售品。例如就周知之合成泛用培養基而言，較佳可列舉 RPMI1640、DMEM、MEM、MEM $\alpha$ 、IMDM、McCoy's 5A 等，然而非以此等為限。

再者，關於蝕骨前驅細胞之培養方法及培養基，較佳亦可使用與上述免疫細胞相同者。

【0017】在本發明中，免疫細胞之培養上清液的「處理物」，較佳意指將依照本發明之方法所得到的免疫細胞之培養物精製或加工，並視需要進一步離心者，然而非以此等為限。將所得到之培養物精製或加工時，可使用該領域周知之例如自然過濾、精密過濾、超過濾等的方法。就較佳之離心條件而言，例如可列舉 1 至 40 度(°C)，較佳為 4 至 37 度之溫度、2000 至 20000rpm 之回轉數等，然而非以此等為限。再者，本發明之免疫細胞

的培養上清液或其處理物中，通常實質上不包含用於得到培養上清液所用之乳酸菌或其處理物及免疫細胞本身。

【0018】又，在本發明中，可原樣使用免疫細胞之培養上清液或其處理物，亦可藉由凍結乾燥、低溫乾燥、噴霧乾燥、或 L-乾燥等或將此等組合，形成粉末狀而使用。又，該處理物可藉由適當之溶劑(例如，水、酒精、有機溶劑等)稀釋而使用，亦可添加適當之添加劑，加工成凝膠或固體製劑等而使用。

【0019】本發明之組成物中，免疫細胞之培養上清液或其處理物的含量無特別限定，然而於組成物 100 質量%中，可在例如約 0.1 質量%至約 100 質量%之範圍，較佳在約 5 質量%至約 40 質量%之範圍。

【0020】(2) 植物乳桿菌 L-137 株

再者，本發明就與上述(1)不同之態樣而言，包含一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用組成物及骨代謝改善用組成物，其特徵為含有乳酸菌植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137，受託編號：FERM BP-08607 號)。

關於蝕骨前驅細胞及免疫細胞，如在上述(1)中之說明。

【0021】本發明中所用之乳酸菌植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)，係在日本獨立行政法人產業技術綜合研究所專利生物寄託中心(現為：獨立行政法人製品評價技術基礎機構專利生物寄託中心；地址：郵遞區號 292-0818 日本國千葉縣木更津市上總鎌足 2-5-8 120 號室)，以受託編號：FERM BP-08607 號(從平成 7 年 11 月 30 日寄託之 FERM P-15317 號移管)寄託。再者，即使為植物乳桿菌 L-137 之變異株，只要具

備植物乳桿菌 L-137 之特徵者，亦在植物乳桿菌 L-137 之範疇。再者，與植物乳桿菌 L-137 株共同之其他乳酸菌，亦包含於本發明之組成物中。

【0022】本發明之組成物中的植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)或其處理物之含量，無特別限定，在組成物 100 質量%中，例如在約 0.0001 質量%至 0.1 質量%之範圍，較佳在 0.005 至 0.05 質量%之範圍。

【0023】又，本發明之植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)或其處理物的攝取量，在經口或注射投與之狀況，可依隨攝取者之年齡及體重、症狀、投與時間、劑型、投與方法、藥劑之組合等而決定。例如，成人 1 人(約 60kg)每 1 日攝取之植物乳桿菌 L-137 株，就乾燥死菌體而言，較佳可設定為約 0.5 至 200mg，更佳為約 1 至 100mg，進一步更佳為約 2 至 50mg。或者，成人 1 人(約 60kg)每 1 日攝取之植物乳桿菌 L-137，以活菌換算，較佳可設定為約  $5 \times 10^8$  至  $2 \times 10^{11}$  cfu(Colony forming unit；菌落形成單位)，更佳為約  $1 \times 10^9$  至  $1 \times 10^{11}$  cfu。攝取次數，可為 1 日 1 次或分為複數次進行。在外用塗布之狀況，亦可依據施用之皮膚面積，適宜選擇植物乳桿菌 L-137 株或其處理物的塗布量，然而通常該塗布量，相對於施用部位之面積約  $10\text{cm}^2$ ，每 1 日，較佳為約 0.01 至 2.5mg，更佳為約 0.02 至 1mg。可將前述之投與用量，以每 1 日 1 次至分為數次，進行投與或施用。

【0024】以下，針對上述(1)及(2)所記載之發明，將進一步說明共通之部分。

#### [乳酸菌之培養]

在本發明中，植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)及其他乳酸菌，可為藉由天然培養基、合成培養基及半合成培養基等培養基

培養者的任一者。在本發明中，乳酸菌之培養可依照周知方法、本身周知之方法或以彼等為基準的方法進行。

【0025】就前述培養基而言，無特別限定，例如，較佳可使用含有氮源及/或碳源者。就前述氮源而言，無特別限定，例如，可列舉肉萃取物、蛋白朊、麩質、酪蛋白、酵母萃取物、或胺基酸等。就前述碳源而言，無特別限定，然而例如可列舉葡萄糖、木糖、果糖、肌醇、麥芽糖、水飴、麩汁、澱粉、蔗渣、麥麩、糖蜜、或甘油等。可將此等以 1 種或 2 種以上的組合使用。

前述培養基，除前述氮源及/或碳源之外，可進一步添加無機質。就前述無機質而言，無特別限定，例如，可列舉硫酸銨、磷酸鉀、氯化鎂、食鹽、鐵、錳、鋁或各種維生素類等，可將此等以 1 種或 2 種以上的組合使用。

【0026】植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)及其他乳酸菌之培養溫度及培養時間，只要培養可有效率地實施，將無特別限定，然而在本發明之一型態中，培養溫度，例如，通常可為約 25 至 40 度(°C)，較佳為約 27 至 35 度，培養時間，例如，可為約 12 至 48 小時。又，在本發明之一型態中，乳酸菌之培養可藉由通氣振盪實施。又，培養基之 pH 無特別限定，然而在本發明之一型態中，通常為約 pH3 至 6，較佳為約 pH4 至 6。

【0027】[乳酸菌之處理物]

植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)及其他乳酸菌之「處理物」，較佳意指將該乳酸菌加工者或該乳酸菌的培養物，然而非以此等為限。又，菌可為活菌，亦可為死菌體，然而從安定性及操作之容易

性等的觀點而言，以使用死菌體為較佳。該死菌體亦可包含於乳酸菌之處理物中。

【0028】在本發明中，可原樣使用此種處理物，亦可藉由凍結乾燥、低溫乾燥、噴霧乾燥、或 L-乾燥等或者此等之組合，形成粉末狀而使用。又，此等處理物可藉由適當之溶劑(水、醇、有機溶劑等)稀釋而使用，亦可添加適當之添加劑，形成凝膠或固體製劑而使用。

【0029】以下，針對製備植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)及其他乳酸菌之死菌體的方法，具體地說明。

在本發明中，前述死菌體之調製方法，只要不失本發明之效果，將無特別限定，例如，可藉由(I)培養終了後，從培養液分離乳酸菌之活菌體後，將前述活菌體進行殺菌處理，形成死菌體狀態的方法，(II)在培養液中將乳酸菌之活菌體進行殺菌處理，成為死菌體之狀態，然後將前述死菌體從培養液分離之方法等之任一方法製備。

【0030】就從培養液將菌體分離之方法而言，可採用此領域中通常所用的各種方法，無特別限定。在本發明之一型態中，具體而言，例如採用從培養液藉由離心等手段除去上清液，將培養液及菌體分離的方法等。再者，在此態樣中，於培養液中添加蒸餾水，進行離心，除去上清液後，亦可視需要，重複幾次在除去上清液之殘留物中進一步添加蒸餾水，進行離心的操作。在本發明之一型態中，就分離操作而言，亦可包含過濾步驟。

【0031】繼而，關於植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)及其他乳酸菌之活菌體的殺菌處理方法，具體地說明。就前述殺菌處理方法而言，無特別限定，例如可列舉加熱、紫外線照射、福馬林處理等

處理。再者，前述殺菌處理，可針對所採取之活菌體進行，亦可針對包含活菌體的培養液進行。

【0032】在進行前述加熱處理之狀況，加熱溫度無特別限定，例如，通常可為約 60 至 100 度(°C)，較佳為約 70 至 90 度。就加熱手段而言，可使用周知之方法，無特別限定，例如，可藉由加熱器等手段。加熱時間只要能充分完成殺菌處理，無特別限定，例如，加熱時間可為達到期望之溫度後，通常維持約 5 至 40 分鐘，較佳約 10 至 30 分鐘。

【0033】如上述之作法，所得到之前述死菌體，可進一步進行磨碎、破碎或凍結乾燥處理等，作為死菌體處理物。在本發明中，前述死菌體處理物亦適合以死菌體之形式使用。

【0034】[蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用、骨之骨代謝改善用、骨質疏鬆症等之預防、改善或治療用、或骨密度降低抑制用組成物]

本發明之組成物，其特點為具有蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制作用及/或骨代謝改善作用。較佳為組成物使用於骨質疏鬆症、骨形成不全、高鈣血症、骨軟化症、骨石灰脫失症、骨溶解性骨疾患、骨壞死、關節風濕病、變形性關節症、炎症性關節炎、骨髓炎、癌或老年等造成之骨之喪失、骨折、或腰痛之預防、改善或治療的狀況，更佳為組成物使用於骨質疏鬆症、關節風濕病、或骨折之預防、改善或治療的狀況，進一步更佳為組成物使用於骨質疏鬆症之預防、改善或治療的狀況，然而非以此等狀況為限。此外，或者進一步就本發明之組成物的較佳例而言，組成物可列舉具有骨密度降低抑制作用之組成物，然而非以此等為限。

【0035】就本發明之組成物的較佳例而言，為飲食品用及/或醫藥品用(亦包含動物藥)。就其他較佳之例而言，本發明之組成物可使用作為飲食品用之添加劑。

為飲食品用、飲食品用添加劑用或醫藥品用之組成物，可將上述本發明之培養上清液或其處理物、或者 L-137 株或其處理物進一步與藥學上可容許之載劑、添加劑等適宜摻合而製劑化等。由於此目的之製劑化方法或製劑化技術先前已被充分確立，依照其實施即可。例如，在醫藥品用之狀況，具體而言，可形成錠劑、被覆錠劑、丸劑、散劑、顆粒劑、膠囊劑、液劑、懸浮劑、乳劑等經口劑；注射劑、輸液、栓劑、軟膏、貼片劑等非經口劑。關於載劑或添加劑之摻合比率，只要基於飲食品、醫藥品或獸醫學領域中通常採用的範圍適宜設定即可。

【0036】藥學上可容許之載劑或添加劑無特別限制，然而就載劑之例而言，可列舉水性或油性基劑等的各種載劑，就水性之載劑而言，例如，可列舉水、生理食鹽水、乙醇、甘油、聚乙二醇、丙二醇、甲基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、羥基丙基纖維素、聚乙炔基吡咯啉酮、聚丙烯酸、多糖橡膠系天然高分子類等，就油性之載劑而言，例如，可列舉凡士林、角鯊烷、石蠟等適當之油類或蠟類等，然而非以此等為限。

就添加劑之例而言，可列舉酵素、pH 調整劑、保存材料、殺菌材料、抗氧化劑、防腐劑、保質期改善劑、漂白劑、光澤劑、香料、甜味料、酸味料、調味料、苦味材料、乳化劑、增黏劑、安定劑、凝膠化劑、糊化材料、賦形劑、結合劑、崩散劑、潤滑劑、著色劑、矯味劑、香料等，然而非以此

等為限。關於此等之技術，由於先前已充分確立，在本發明中，只要依照彼等實施即可。

【0037】又，本發明之組成物，在為飲食品用的狀況，此種飲食品可包含健康食品、功能性標示食品、特定保健用食品、病患用食品。飲食品之型態無特別限定，然而具體例而言，例如，可列舉作為所謂營養輔助食品或補充品之錠劑、顆粒劑、散劑、飲劑等。此外，例如，可列舉茶飲料、清涼飲料、碳酸飲料、營養飲料、果實飲料、乳酸飲料等飲料；蕎麥麵、烏龍麵、中華麵、速食麵等麵類；飴、糖果、口香糖、巧克力、點心、餅乾、果凍、果醬、奶油、燒烤餅乾、麵包等糖果及麵包類；火腿、香腸、魚糕、竹輪等水產、畜產加工食品；加工乳、發酵乳等乳製品；沙拉油、油炸油、乳瑪琳、蛋黃醬、酥油、乳清膏、沙拉醬等油脂及油脂加工食品；醬油、佐醬等調味料；咖哩、燉品、丼飯、粥、雜煮等蒸煮袋(retort pouch)食品；冰淇淋、果子露等冰冷食品等，然而非以此等為限。關於此等之技術，由於先前已充分確立，在本發明中，只要依照彼等實施即可。

再者，本發明之組成物中，只要無損於本發明之效果，亦可含有例如醫學、藥學、獸醫學、畜產、飼料或食品等之領域所知的任何成分。

【0038】[蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制作用及骨代謝改善作用及其確認方法]

就確認本發明之組成物之效果的方法而言，例如，可列舉含有本發明之培養上清液或其處理物，或者植物乳桿菌 L-137 株(Lactobacillus plantarum L-137)或其處理物的組成物，與不含任一種培養上清液或其處

理物，或者 L-137 株或其處理物之組成物相比，確認蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制活性及/或骨代謝改善活性優良的方法。

【0039】具體而言，蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制效果及/或骨代謝改善效果的確認方法，例如，可列舉進行 RANKL (NF- $\kappa$ B 配體之受體活化劑(receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand))試藥添加後之 TRAP(酒石酸抵抗性酸性磷酸酶: tartrate-resistant acid phosphatase)活性之評價的方法等。已知為分化誘導信號之 RANKL，與蝕骨前驅細胞之細胞膜上的受體 (RANK)結合，誘導朝蝕骨細胞之分化。另一方面，蝕骨細胞由於對細胞質顯示強烈 TRAP 活性，若評價 RANKL 添加後或投與後之 TRAP 活性，可確認朝蝕骨細胞分化。亦即，其中之 TRAP 活性可稱為蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞分化的指標，又，由於研判若 TRAP 活性被抑制，則骨破壞被抑制，骨代謝亦被改善，結果，被認為在確認是否能抑制骨質疏鬆症上亦有效。再者，在本說明書中，骨代謝被改善，例如，意指活體內之骨形成與骨吸收之平衡變得較好的狀態。

【0040】另外，亦可使用上述以外之周知的骨評價、骨分化確認用試藥，依照 ELISA 法(酵素連結免疫吸附檢定(Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)：將試料溶液中所含之目標抗原或抗體，藉由特異抗體或抗原捕捉，同時利用酵素反應，進行檢測/定量的方法)、骨再吸收檢定(Bone resorption assay)(凹洞形成檢定(pit formation assay))等，該領域中充分確立之方法進行評價即可。

就此等方法之一例而言，可參照後述之實施例。

【0041】 [骨密度降低抑制作用及其確認方法]

就確認本發明之組成物之骨密度降低抑制效果的方法而言，例如，可列舉含有本發明之培養上清液或其處理物，或者植物乳桿菌 L-137 株 (*Lactobacillus plantarum* L-137)或其處理物的組成物，與不含任一種培養上清液或其處理物，或者 L-137 株或其處理物之組成物相比，確認在骨密度降低抑制作用為優良的方法。

具體而言，骨密度降低抑制效果之確認方法，例如，測定每單位時間之超音波傳播距離(m/sec)，亦即，骨內之超音波傳播速度(Speed Of Sound, SOS)的方法。

本方法有不曝露於放射線，對孕婦或小孩亦可測定的優點。SOS 通常以跟骨測定，與如跟骨之包含多量海綿骨之部位的骨密度具有高相關性。在 SOS 之值大的狀況，骨密度高。SOS 隨測定機種或每個製造公司之定義或基準值而異，為確保機種間之測定值的互換性，亦可使用標準化之超音波傳播速度(standardized-SOS : s-SOS)。在本發明中，例如，可使用 Benusevo (澀谷工業股份有限公司製)，然而亦可使用該領域周知之其他機器。再者，只藉由骨密度，可說明骨強度之大致情況 (約 7 成程度)，本方法在骨質疏鬆症是否受到抑制的確認亦有效。

上述之 SOS 法，被分類為定量超音波測定法(QUS: quantitative ultrasound)，此外，亦有測定衰減係數 (BUA:寬帶超音波衰減(broadband ultrasound attenuation))之方法等，SOS 法以外之 QUS 法亦可用於本發明之組成物的評價等。又，上述以外之周知的骨密度測定方法，例如，亦可使用 DEA(雙能量 X 射線吸收(dual energy X ray absorptiometry))法、MD (顯微密度測定(microdensitometry))法、RA(射線吸收測定(radiographic

absorptiometry))法、定量 CT(QCT)測定法等，亦可代替上述跟骨，或者與跟骨一起，測定大腿骨、脊椎、橈骨等部位，不過非限定於此等。

【0042】在將本發明之組成物調製成飲食品、動物用飼料、醫藥品(亦包含動物用醫藥)、或醫藥部外品之型態的狀況，於該飲食品、飼料、醫藥品、或醫藥部外品之隨附說明書或其包裝盒等，可根據本發明組成物的作用，標示「具有蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制作用及骨代謝改善作用」的說明。

【0043】在本發明之組成物中，培養上清液或其處理物，相對於組成物之總量，較佳為包含約 0.1 至 100 重量%，更佳為約 5 至 60 重量%，進一步更佳為約 20 至 40 重量%。

又，在本發明之組成物中，植物乳桿菌 L-137 株(Lactobacillus plantarum L-137)或其處理物，相對於組成物之總量，較佳為包含約 0.001 至 10 重量%，更佳為約 0.01 至 1 重量%，進一步更佳為、約 0.05 至 0.5 重量%。

【0044】 [蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用及/或骨代謝改善用組成物的製造方法]

本發明較佳為包含蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用及/或骨代謝改善用組成物的製造方法，其特徵為包含下列之步驟(a)至(c)：

- (a) 在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞，得到培養物之步驟、
- (b) 包含從步驟(a)所得到之培養物，除去乳酸菌或其處理物及免疫細胞，得到免疫細胞之培養上清液或其處理物的步驟，及
- (c) 將步驟(b)所得到之培養上清液或其處理物，與載劑及/或賦形劑混合的步驟。

【0045】 在上述步驟(a)中，只要可使包含免疫細胞之培養液與乳酸菌或其處理物接觸，得到混合物，將無特別限定，然而免疫細胞以嗜食(貪食)乳酸菌或其處理物(較佳為 L-137 株)為較佳。

【0046】 又，在上述步驟(b)中，從步驟(a)所得到之混合物，除去乳酸菌或其處理物及免疫細胞的較佳例而言，可列舉從該混合物，藉由離心等該領域周知之方法，除去乳酸菌或其處理物及免疫細胞，然而非以此等為限。

【0047】 再者，在上述步驟(c)中所用之較佳載劑，由於在先前食品或醫藥領域中已被充分確立，本發明只要依照其實施即可，例如，可列舉水性或油性基劑等各種載劑，就水性載劑而言，例如，可列舉水、生理食鹽水、乙醇、甘油、聚乙二醇、丙二醇、甲基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、羥基丙基纖維素、聚乙烯基吡咯啉酮、聚丙烯酸、多糖橡膠系天然高分子類等；就油性載劑而言，例如，可列舉凡士林、角鯊烷、石蠟等適當的油類或蠟類等，然而非以此等為限。

【0048】 又，在上述步驟(c)中所用之較佳賦形劑，由於在先前食品或醫藥領域中已被充分確立，本發明只要依照其實施即可，例如，較佳可使用乳糖、白糖、甘露醇、玉米澱粉、粉末纖維素、磷酸氫鈣、碳酸鈣等，然而非以此等為限。

【0049】 本發明之組成物，除在組成物中添加本發明之培養上清液或其處理物、或者植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)或其處理物以外，可用一般之組成物的製造方法適宜地加工及製造。亦即，本發明進一步包含組成物之製造方法，其含有將培養上清液或其處理物與視

需要添加之其他成分混合的步驟。或者，本發明包含組成物之製造方法，其包含將植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)或其處理物，與視需要添加之其他成分混合的步驟。

【0050】將培養上清液或其處理物，或者植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)或其處理物，與其他成分混合之步驟中，為了使各成分於組成物整體中變得均勻，以藉由周知之方法或本身周知之方法混合或攪拌為較佳。混合或攪拌之方法，由於在該領域中已被充分確立，只要依照其方法實施即可。

[實施例]

【0051】以下，列舉實施例及試驗例，進一步具體說明本發明，然而本發明非以此等為限。

【0052】[試驗例 1] 藉由培養上清液之蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞的分化抑制及骨吸收活性抑制之評價

試驗方法：< 1. 得到培養上清液之步驟 >

將免疫細胞(從日本 CLEA 股份有限公司購入之源自小鼠的脾臟細胞)，以成為  $5.0 \times 10^6$  個細胞/mL 之條件，懸浮於含有 10%FBS 之 RPMI1640 培養基，形成免疫細胞懸浮液。將植物乳桿菌 L-137 死菌體以成為 1000ng/mL 之條件，懸浮在含有 10%FBS 之 RPMI1640 中，形成免疫細胞刺激用檢液。將免疫細胞刺激用檢液及免疫細胞懸浮液，以每孔 100 $\mu$ L 添加於 96 孔培養盤(免疫細胞終濃度： $2.5 \times 10^6$  cells/mL，菌體終濃度：500ng/mL)，在 5%CO<sub>2</sub> 培育器內，於 37°C 培養 24 小時，得到上清液。對

於所得到之上清液進行離心(條件：20°C，2,000rpm，20min)，除去 L-137 株及免疫細胞，得到培養上清液。

**【0053】 < 2. 蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化誘導步驟 >**

使用蝕骨細胞前驅細胞 RAW264.7( ECACC 株編號 91062702 ; DS Pharma Biomedical 股份有限公司)進行蝕骨細胞分化評價，其中該蝕骨細胞前驅細胞 RAW264.7 係只用 RANKL 就可被誘導成蝕骨細胞之源自小鼠之單核球白血病細胞株。將蝕骨前驅細胞 RAW264.7 細胞，以成為  $7.0 \times 10^4$  個細胞/mL 之條件，懸浮於含有 10%FBS 之 MEM $\alpha$  培養基中，然後以每孔 50 $\mu$ L (3,500 個細胞/孔)之量添加在 96 孔培養盤中。再者，將 sRANKL(製品編號 47187000 ; 東方酵母工業股份有限公司)用含有 10%FBS 之 MEM $\alpha$  培養基稀釋成 267ng/mL，在添加有上述 RAW264.7 細胞之 96 孔培養盤中，每孔各添加 75 $\mu$ L。進一步添加以 L-137 刺激之免疫細胞的培養上清液 12.5 $\mu$ L、25 $\mu$ L、75 $\mu$ L。在添加培養上清液 12.5 $\mu$ L 之孔，添加 62.5 $\mu$ L 之含有 10%FBS 的 MEM $\alpha$  培養基，在添加培養上清液 25 $\mu$ L 之孔，添加 50 $\mu$ L 之含有 10%FBS 的 MEM $\alpha$  培養基，將總量調成 200 $\mu$ L。亦即 sRANKL 之終濃度成為 100ng/mL，免疫細胞之培養上清液比率成為 6.25%、12.5%、37.5%(v/v)，在 5%CO<sub>2</sub> 培育器內，於 37°C，進行 48 小時、72 小時之分化誘導培養。

**【0054】 < 3. TRAP 活性測定步驟 >**

分化誘導培養後，除去上清液，將丙酮與乙醇以 1:1 之比率混合的固定液以每孔 100 $\mu$ L，添加於已加入細胞之 96 孔培養盤中。經過 1 分鐘後，去除固定液，並風乾 30 分鐘。然後，依照 TRAP 溶液套組(TRAP solution

kit)(製品編號 NIB 47249000；東方酵母)操作，使用培養盤分析儀(plate reader)，於 415nm 測定吸光度。

【0055】結果：評價結果，如下述之表 1 及圖 1 至 2 記載。在 48 小時培養後及 72 小時培養後，上述所得到之免疫細胞的培養上清液，顯示濃度依存性地蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制及骨中之骨吸收抑制作用。

【0056】 [表 1]

	TRAP 活性(吸光度)		相對於對照群之比率(%)	
	48 小時培養	72 小時培養	48 小時培養	72 小時培養
sRANKL (-)	0.09	0.10	13%	8%
sRANKL (+)	0.69	1.26	100%	100%
sRANKL (+) +培養上清液 6.25%	0.54	0.99	78%	78%
sRANKL (+) +培養上清液 12.5%	0.43	0.75	63%	59%
sRANKL (+) +培養上清液 37.5%	0.25	0.33	37%	27%

【0057】 [試驗例 2] 藉由 L-137 株之蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制及骨吸收活性抑制的評價

試驗方法：< 1. 蝕骨細胞分化誘導步驟>

使用蝕骨細胞前驅細胞 RAW264.7(ECACC 株編號 91062702；DSPharma Biomedical 股份有限公司)進行蝕骨細胞分化評價，其中該蝕骨細胞前驅細胞 RAW264.7 係只用 RANKL 就可被誘導成蝕骨細胞之源自小鼠之單核球白血病細胞株。將蝕骨前驅細胞 RAW264.7 細胞，以成為  $7.0 \times 10^4$  cells/mL 之條件，懸浮於含有 10%FBS 之 MEM $\alpha$  培養基中，以每孔 50 $\mu$ L (3,500 個細胞/孔)之量添加在 96 孔培養盤中。再者，將 sRANKL(製品編號 47187000；東方酵母工業股份有限公司)用含有 10%FBS 之 MEM $\alpha$

培養基稀釋成 267ng/mL，在添加有上述 RAW264.7 細胞之 96 孔培養盤中，每孔各添加 75 $\mu$ L。進一步將植物乳桿菌 L-137 株(Lactobacillus plantarum L-137)之死菌體，以成為 134 ng/mL、1.34  $\mu$ g/mL、13.4  $\mu$ g/mL 之條件，懸浮於含有 10%FBS 之 MEM $\alpha$  培養基中，以每孔 75 $\mu$ L 之量加在添加有 RAW264.7 細胞的 96 孔培養盤中，並將總量調成 200 $\mu$ L。亦即 sRANKL 之終濃度成為 100 ng/mL，L-137 死菌體之終濃度成為 50 ng/mL、500 ng/mL、5  $\mu$ g/mL，在 5%CO<sub>2</sub> 培育器內，於 37°C，進行 48 小時、72 小時之分化誘導培養。

**【0058】 < 2. TRAP 活性測定步驟 >**

分化誘導培養後，除去上清液，將丙酮與乙醇以 1:1 之比率混合的固定液以每孔 100 $\mu$ L，添加於已加入細胞之 96 孔培養盤中。經過 1 分鐘後，去除固定液，並風乾 30 分鐘。然後，依照 TRAP 溶液套組(TRAP solution kit)(製品編號 NIB 47249000；東方酵母)操作，使用培養盤分析儀(plate reader)，於 415nm 測定吸光度。

**【0059】 結果：**評價結果，如下述之表 2 及圖 3 至 4 記載。在 48 小時培養後及 72 小時培養後，乳酸菌 L-137 株，顯示濃度依存性地蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制及骨吸收抑制作用。

【0060】 [表 2]

	TRAP 活性(吸光度)		相對於對照群之比率(%)	
	48 小時培養	72 小時培養	48 小時培養	72 小時培養
sRANKL (-)	0.09	0.10	13%	8%
sRANKL (+)	0.69	1.26	100%	100%
sRANKL (+)+L-137 50ng/mL	0.70	1.14	102%	90%
sRANKL (+)+ L-137 500ng/mL	0.57	1.00	84%	79%
sRANKL (+)+ L-137 5 $\mu$ g/mL	0.24	0.43	34%	34%

【0061】 [試驗例 3] 藉由含有乳酸菌 L-137 株之組成物之骨密度降低抑制作用的評價

試驗方法：<1. 所使用之組成物>

就本發明之組成物而言，使用每 1 錠 (300 mg) 含有 10 mg 之經加熱處理之植物乳桿菌 L-137 株的市售錠劑(製品名：守護性高之乳酸菌 L-137 補品)。錠劑中亦可包含 L-137 株以外之成分(乳糖、澱粉、蔗糖脂肪酸酯等)，然而此等成分對下列之實驗無特別影響。

【0062】 < 2. 組成物之攝取及 s-SOS 之測定>

將 40 至 73 歲之男女 31 名的受驗者分為 2 群(非攝取群：10 名、L-137 株攝取群：21 名)。L-137 株攝取群方面係於 3 個月期間以 1 日 1 錠攝取含有 L-137 株之上述組成物。

試驗開始前及組成物攝取 3 個月後，對各受驗者之跟骨測定 s-SOS。將受驗者之單腳跟部周邊用乙醇洗淨，充分地塗布超音波檢查用膠凍(jelly)。膠凍渲染後，將受驗者之腳跟部插入裝置計測部，進行測定，得到 s-SOS。

使用 Benus evo (澀谷工業股份有限公司製)進行受驗者之跟骨的 s-SOS 評價。

【0063】結果：評價結果如圖 5 記載。含有 L-137 株之組成物之非攝取群的 s-SOS，從試驗開始前至經 3 個月後，隨著時日經過，顯著地降低(亦即，骨密度降低)。與其相對地，含有 L-137 株之組成物之攝取群的 s-SOS，從試驗開始前至組成物攝取 3 個月期間，未見顯著差異(亦即，可抑制骨密度降低)。

從上述結果顯然可知含有本發明之乳酸菌 L-137 株的組成物，顯示骨密度降低抑制作用。再者，在使用試驗例 1 之方法所得到之培養上清液或其處理物之組成物，代替使用 L-137 株的情況，亦可期待同樣之效果。

[產業上之可利用性]

【0064】(1)本發明之包含免疫細胞之培養上清液的組成物，及(2)包含乳酸菌 L-137 株之組成物各自獨立地，具有蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制作用、骨代謝改善作用及/或骨密度降低抑制作用。因此，(1)及(2)之組成物分別在作為骨質疏鬆症之預防・治療藥，再者，有用於作為飲食品、飼料、醫藥品或醫藥部外品、及化妝品等。

【符號說明】

無。

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用之組成物，其含有在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞所得到之培養上清液或其處理物。

【請求項2】 一種骨代謝改善用之組成物，其含有在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞所得到之培養上清液或其處理物。

【請求項3】 如請求項 1 或 2 所述之組成物，其中乳酸菌為乳桿菌 (*Lactobacillus*)屬之菌。

【請求項4】 如請求項 1 至 3 中任一項所述之組成物，其中乳酸菌為植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)。

【請求項5】 一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用之組成物，其含有植物乳桿菌 L-137 株(*Lactobacillus plantarum* L-137)或其處理物。

【請求項6】 一種骨代謝改善用之組成物，其含有植物乳桿菌 L-137 株 (*Lactobacillus plantarum* L-137)或其處理物。

【請求項7】 如請求項 1 至 6 中任一項所述之組成物，其係用於預防、改善及/或治療骨質疏鬆症。

【請求項8】 如請求項 1 至 7 中任一項所述之組成物，其係骨密度降低抑制用。

【請求項9】 一種蝕骨前驅細胞朝蝕骨細胞之分化抑制用、骨代謝改善用及/或骨密度降低抑制用之組成物的製造方法，其中包含下列之步驟(a)至 (c)：

(a) 在乳酸菌或其處理物存在下，培養免疫細胞，得到培養物之步驟；

(b) 得到免疫細胞之培養上清液或其處理物的步驟，其包含從步驟(a)中  
中得到之培養物除去乳酸菌或其處理物及免疫細胞；及

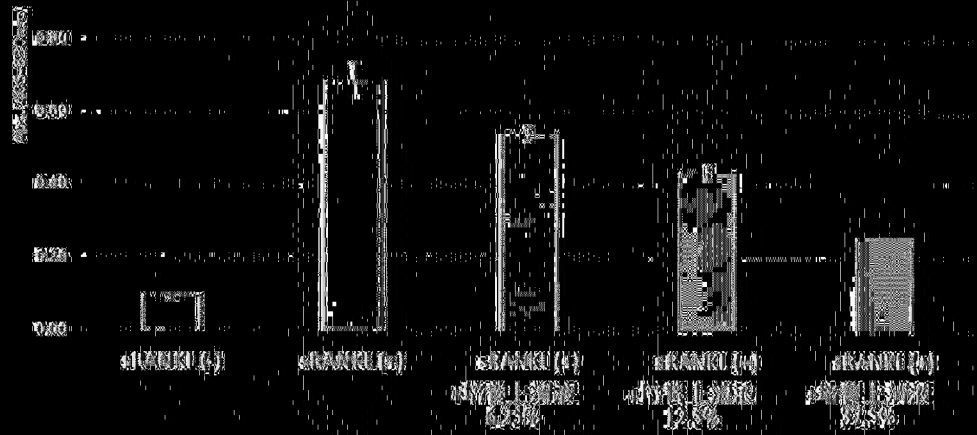
(c) 將步驟(b)中得到之培養上清液或其處理物，與載劑及/或賦形劑混  
合的步驟。

(發明圖式)

1400 圖 14 係本發明之另一實施例之側視圖，其顯示了具有不同內部結構的裝置。

1500 圖 15 係本發明之另一實施例之側視圖，其顯示了具有不同內部結構的裝置。

1600 圖 16 係本發明之另一實施例之側視圖，其顯示了具有不同內部結構的裝置。

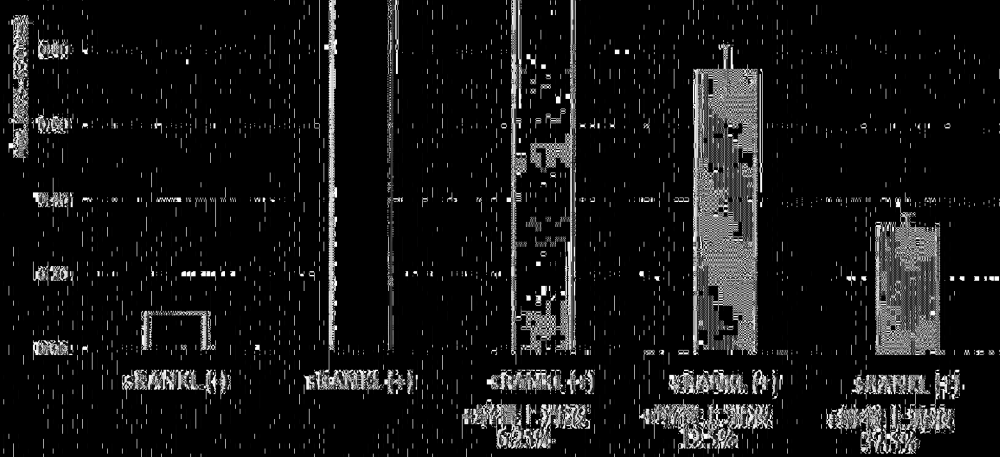


(圖 1)

1700 圖 17 係本發明之另一實施例之側視圖，其顯示了具有不同內部結構的裝置。

1800 圖 18 係本發明之另一實施例之側視圖，其顯示了具有不同內部結構的裝置。

1900 圖 19 係本發明之另一實施例之側視圖，其顯示了具有不同內部結構的裝置。

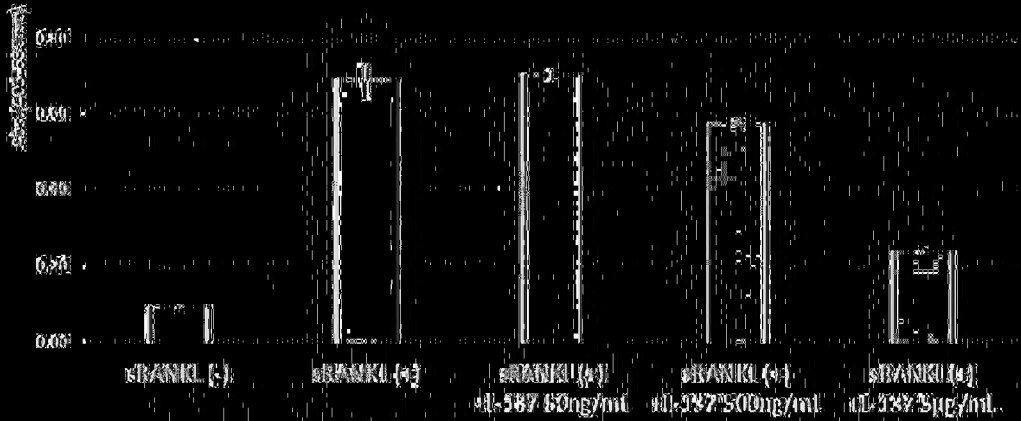


(圖 2)

5000

1000

0.000



(3)

1.20

1.00

0.80

0.60

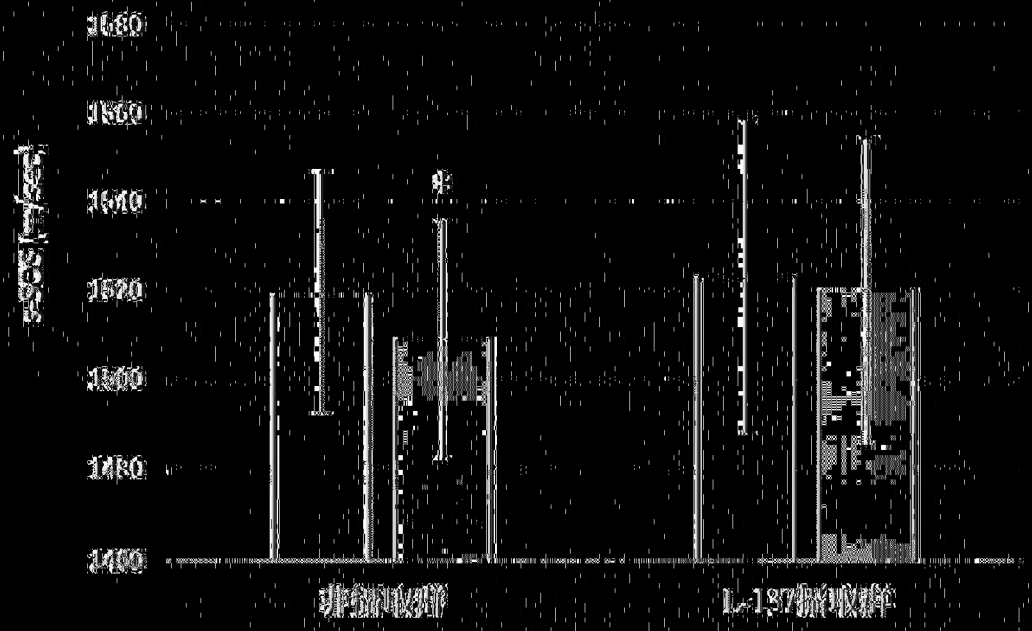
0.40

0.20

0.00



(4)



(113)