



NAR Labs 國家實驗研究院

國家實驗動物中心

National Laboratory Animal Center

肝臟晶片及腦晶片開發 委託專業服務乙案

服務建議書



NTU
National Taiwan
University



國立臺灣大學
National Taiwan University

第一章 前言

一、委託計畫緣起

動物實驗的進行，其目的是在動物身上模擬或複製人類的生理與疾病狀況，且為了確定產品(藥物)的有效性及安全性，在未經實驗證明安全有效前，利用動物實驗進行後續分析及治療等相關研究。2004 年歐盟下達終止使用動物測試化妝品的命令；更進一步的，2009 年禁止產品使用動物實驗測試過的原料。美國加州參議院第 1249 號法案也宣布禁止動物測試過的化妝品於 2020 年 1 月 1 日後販售至加州，且不得於加州製造和輸入。顯示歐美各國將會逐漸開始減少抵制動物實驗的使用，且隨著科技進步，也開始相繼投入動物替代實驗方法。

由於目前動物實驗和人類的醫療與生物技術等相關研究之進步，有著密不可分的關係，為避免使用動物來進行實驗且不影響生醫科技的進展，替代 (Replacement)、減量 (Reduction) 及精緻化 (Refinement) 等 3R 的概念隨之興起，遵守動物實驗倫理成為保障動物福祉的最重要原則。其中，替代動物試驗是利用人類或動物細胞、組織培養、試管中生物或化學試驗、電腦預測毒性、模擬生理及代謝、器官晶片等取代傳統動物實驗的方法。

聯合國經濟和社會事務委員會 (United Nations Department of Economic and Social Affairs; UN DESA) 從 1950 年代開始禁止約百樣藥品的使用和販售，其主要的原因是該藥品會誘導嚴重的肝臟損傷 (Drug-induced liver injury; DILI)；而美國食品藥物安全署 (U.S. Food and Drug Administration; FDA) 也曾提及目前臨床試驗中的藥物仍存在導致 DILI 的高風險，因此建立一個有效預測 DILI 的體外藥物測試系統是目前研究努力的目標和方向之一。又因為肝臟是體內蛋白質合成、葡萄糖轉化、血液解毒等功能的重要器官；且使用體外藥物測試系統的優點，相較於直接做動物測試來說不但更具有可行性、重複性、還能有效地量化數據，因此肝臟晶片 (Liver-on-chip) 的開發，自然具有發展成有效的體外藥物測試平台之潛力。

二、委託計畫目的

傳統的動物模式，試驗期程往往長達數月，對於新藥開發或是臨床病人的等待期而言成本太高，本計畫擬結合國研院動物中心在人源細胞及動物試驗的經驗及專長，發展微流道系統，以簡化、加速、及精準地達到藥物篩選效能。本計畫將整合三維細胞培養及生醫晶片技術，在微流道載體上，發展與動物中心既有的肝臟鼠和中風鼠模型相對應的肝臟器官晶片與血栓晶片。晶片可用於血栓藥物測試，新藥開發、毒性測試、肝纖維化測試、肝癌藥物測試等，提供臨床前快速、精準的測試方案。

本委託案的目的是要實現器官晶片的測試服務，利用建立好的器官晶片服務模式，初步協助驗證藥物的有效性或毒性，而所搭配的動物實驗中心動物模型，則僅驗證藥物在全身系統中的安全性，以減少實驗動物使用。

以動物進行肝癌藥物篩選、及中風藥物評估已知並非最佳方案，其試驗過程

不但造成實驗動物的緊迫與傷害，其試驗結果轉譯到臨床應用的比例亦不理想。配合精準健康及個人化醫療之發展趨勢，建立新一代臨床前藥物篩選體系刻不容緩，歐美各國皆已啟動離體臨床試驗 (*in vitro clinical trial*) 之大型研究計畫，利用病患自身的細胞，或人源細胞，來發展藥物篩選平台，以替代或輔助動物模式進行藥物測試。

聚二甲基矽氧烷 (Polydimethylsiloxane; PDMS) 為目前肝臟晶片研究上流道部分的主要材料。然而肝臟晶片從光罩的設計到微機電的製作過程，需耗費幾天的時間，且一旦培養過細胞後，便無法進行第二次的細胞培養。因此，我們藉由設計一套可以重複使用的 PDMS 微流道系統，讓細胞於微流道培養的過程中可以更省時、更有效率，同時還能模擬出肝臟在體內的生長環境。此外，大部分的肝臟晶片選用肝癌細胞株 (Liver hepatocellular cells; HepG2)，或是初代成熟肝細胞 (Primary hepatocytes) 來當作細胞來源。但是肝癌細胞無法模擬體內真實肝臟的機能、且成熟肝細胞在體外培養的過程中，除了無法長時間培養外，亦會隨培養時間的增加而逐漸失去原本肝細胞的特性。因此本研究選用肝臟的前驅細胞：小型肝細胞 (Small hepatocytes) 來當作細胞來源，小型肝細胞於體外培養時，不但具有很高的增殖能力，而且還能分化為成熟肝細胞，分化後的成熟肝細胞其肝機能亦能長期的穩定分泌。

綜合以上兩點敘述，我們擬開發一套可模擬體內肝臟機能的可拆式肝臟微流道晶片，並於其晶片上培養具有高增殖能力與高分化潛能的小型肝細胞，以期能建立更貼近生理下肝臟功能之肝臟晶片，進一步符合目前社會上對於藥物研發精準性及大量測試可行性之研究需求。

三、委託工作項目

(一) 子計畫一：腦晶片驗證測試

1. 探討小鼠個體間的血栓晶片差異：收集來自不同條件的小鼠，包括健康小鼠和高血脂小鼠等的血液樣本，進行小鼠血栓晶片測試。
2. 研究臨床個體間的血栓晶片差異：收集來自不同生理狀況的人類血液樣本，包括健康人和中風患者等，進行人類血栓晶片測試。
3. 進行新藥物與標準藥物的血栓晶片融栓測試：探究新藥物對血栓預防和清除的效果，同時與臨床標準用藥進行比較。

(二) 子計畫二：肝臟晶片設計開發

1. 肝臟晶片製程的最適化：設計一套可以重複使用/可拆卸式的微流道系統，並能進一步提供肝細胞體外生長的最適化環境。
2. 脫細胞化肝臟間質 (Decellularized liver matrix; DLM) 萃取的最適化：評估以 DLM 作為體外肝細胞生長環境的可行性。