

整合壓電薄膜感測器之心臟器官晶片及其在藥物篩檢之應用

A Cardiac-chip Integrated with a Piezoelectric Thin-film Sensor and its Application of Drug Screening

陳冠維、黃筠涵、楊秋鳳、許聿翔

Kuan-Wei Chen, Yun-Han Huang, Chiou-Fong Yang, Yu-Hsiang Hsu

心臟晶片是在器官晶片及微生理系統領域中較為複雜且特殊的系統，其主因為心肌細胞的刺激—收縮耦合之工作機制，因此需要能針對心肌組織的施力收縮特性進行監測，才能探知心血管藥物的功能，以及非心臟藥物的毒性。而目前心肌對藥物反應的定量方式是以高解析度光學設備監測心肌節收縮程度為主，但也因此無法有效提升檢測通量。另外，動物模型亦是臨床前試驗的常用的心臟模型，但由於與人類基因上仍有差異，易造成在進入人體實驗時才發現功能落差或心臟毒性的問題，因此目前藥廠缺乏一種可靠且可自動監測的臨床前體外心臟模型。本研究開發一種創新心臟壓電耦合系統，其核心技術為在壓電薄膜上培養人類誘導性多功能幹細胞所轉化之心肌組織的技術，並以電刺激及微溝槽的微生理環境使其成為高成熟度及同步之心肌組織，即可藉由壓電效應將心肌組織施力收縮的頻率與力量以電子訊號輸出。此心臟壓電耦合系統的優勢為可直接以壓電訊號監測心肌組織在不同藥物作用下的施力行為，並可將收縮頻率及力量進行定量分析，並具有獲得半效應濃度及半抑制濃度之藥物功能的判定及定量的檢測能力。

The cardiac chip represents a sophisticated and distinctive system within the realm of organ-on-a-chip (OoC) and microphysiological systems (MPS). The phenomenon can be attributed primarily to the excitation-contraction coupling mechanism of cardiomyocytes. Hence, it is crucial to observe the force contraction characteristics of cardiac tissue to investigate the effectiveness of cardiovascular medications and the cardiotoxicity of non-cardiac drugs. Currently, the prevailing approach for assessing the myocardial reaction to drugs involves utilizing a high-resolution optical system for visualizing sarcomere contractions; however, this method is constrained by its limited throughput capacity. Conversely, the genetic variations between animals and humans prevent the extrapolation of low efficacy and severe cardiotoxicity until human studies are conducted. Hence, pharmaceutical companies continue to face a challenge in finding a dependable *in vitro* cardiac model equipped with automatic detection capabilities. In this investigation, an innovative hybrid system integrating cardiac and piezoelectric components is developed. The fundamental technology

involves the cultivation of cardiac tissue using human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes (hiPSC-CMs) on a piezoelectric thin film. Electrophysiological stimulations and microgrooves are employed to establish a microphysiological environment that enhances the maturation and synchronization of cardiomyocytes. Subsequently, the cardiac contraction profile can be directly deduced from piezoelectric signals. The cardiac-and-piezoelectric hybrid system offers the advantage of utilizing piezoelectric signals to directly monitor the contraction behavior of cardiac tissue under various drug dosages. Additionally, it enables quantitative analysis of contraction frequency and force. Consequently, it is capable of determining the median effective concentration (EC₅₀) or median inhibitory concentration (IC₅₀) of drugs.

一、研究背景與動機

目前藥物開發 (drug development) 所需的時間需十至十五年的時程，且藥物的平均開發成本高達二十六億美元，其中有超過 90% 的藥物在開發過程中因藥物功能低下或具細胞毒性而必須終止，因此藥物開發是一項耗時且高成本的研究工作⁽¹⁾。其中心臟藥物開發及藥物心臟毒性的研究是最具挑戰的開發工作之一，其主因是心臟組織的功能是一種機械結構，透過刺激－收縮耦合 (excitation-contraction coupling, ECC) 的施力機制將血液打入血液循環系統之中，因此需實際監測心肌細胞的收縮行為才能進行藥物功能或心臟毒性的監測。然而目前在臨床前試驗的心臟模型以動物模型為主，但仍常因動物的基因與人類的差異，在進入臨床試驗後才發現藥物功能低下或具有心臟毒性，而因此必須中止開發。另一方面，近年來從人類誘導性多能幹細胞 (hiPSC-CMs) 及人類胚胎幹細胞 (hESC-CMs) 分化出心肌細胞的技術已相當成熟，但分化後的心肌細胞在一般細胞培養皿上仍需經過近 180 天的培養才能發展出具有高度肌原纖維表現的心肌組織⁽²⁾，仍需相當可觀的成本。

因此，目前已許多研究團隊著手研發心臟晶片，希望利用體外心臟模型縮短開發的時間及成本。主要技術類型可分為以下三種：分別為光學式、壓阻式和本篇論文所提出的壓電式心臟晶片。在光學式的心臟晶片是將心肌細胞培養在矽橡膠懸臂樑上，利用影像抓取心肌細胞收縮時所造成的懸臂樑彎曲形變⁽³⁾，間接取得心肌的跳動頻率。此技術降低對光學解析度的要求，但仍因光學設備上的限制，每次能監測的懸臂樑數量仍有限。在壓阻式的心臟晶片則是在矽橡膠內植入壓阻式感應器，透過心肌細胞在矽橡膠懸臂量或薄膜上收縮所產生的機械形變改變電阻值⁽⁴⁻⁵⁾，再經電路轉成電壓訊號，因此具有發展成較大陣列的優勢。在這些技術中懸臂樑是主要用來介面心肌施力的機械結構，但由於心肌細胞所組成的組織不易發展成與懸臂樑主軸同向的施力收縮方向，因此除了產生彎曲外，亦容易產生扭轉，因此造成電訊號複雜性及在不同懸臂樑間定量心肌對藥物反應的困難度。另一方面，光學式及壓阻式心臟晶片皆以量測形變為主，因此無法直接量測心臟的施力強度。

除了檢測方法之外，人類誘導性多能幹細胞 (hiPSC) 及人類胚胎幹細胞 (hESC) 所分化的心肌細胞的技術已經相當成熟，並與成人心肌組織的表現相近，但因低成熟度的心肌組織的收縮特性不佳，而低同步性心肌組織的訊號雜亂且不易判定，因此其心肌組織須培養至具高度成熟且同步的組織才能進行量測。因此，心肌細胞的排列和成熟對於成功培養出具功能性的心臟組織是為開發出臨床前心臟藥物開發平台的一項重要課題，因此有許多心臟組織為生理環境的操控技術相繼發展出來，可分為被動式及主動式兩種。

被動式微生理環境包含微溝槽引導⁽⁴⁻⁶⁾、絲線結構⁽⁷⁻⁸⁾，及細胞外間質接觸式⁽⁹⁻¹¹⁾ 等三種方法，此三種方法的概念皆相似，即誘導心肌細胞在貼附時產生條狀的結構，用以促進其提早成熟及同步。另外，亦有使用共培養的方式促進心肌組織成熟，研究顯示人類胚胎幹細胞源心肌細胞與內皮細胞共培養時，可以促使心肌細胞內部分 RNA 數量增加，可促進心肌細胞的成熟⁽¹²⁾。

而主動式微生理環境是在體外模擬心肌組織的刺激收縮耦合機制，其一為將心肌組織培養在柔性矽橡膠基材表面，再對此基材施加機械拉伸，心肌細胞在此生理環境下的排列將會傾向於與拉伸方向的垂直方向排列，並有極高的間隙連接 (gap junction) 表現⁽¹¹⁻¹³⁾。而第二種主動方式為施加週期性電刺激，以模擬心肌之電生理環境，心肌細胞在受到電刺激後可產生更強的收縮能力、更高的基因和蛋白表達，以及增強的鈣處理能力⁽¹⁴⁻¹⁶⁾。也有研究表明，使用更長時間的電刺激時間可使收縮的力度和頻率得到提高。在使用長達八天的電刺激，所發展出的心肌組織可以達到高水平的同步性和組織性⁽¹⁷⁾。

以下介紹本團隊所開發的心臟壓電耦合系統，此系統使用壓電薄膜作為監測心肌行為的感測裝置，並使用同心圓微溝槽結構及電刺激的微生理環境促進 hiPSC 心肌細胞成熟及同步。本研究結果驗證此系統可在培養七天後，經由壓電薄膜監測到具高度同步的心肌收縮特性曲線，並可用以做為量測心臟藥物的半效應濃度 (median effective concentration EC₅₀) 及半抑制濃度 (median inhibitory concentration IC₅₀)。此系統的優勢是壓電薄膜的訊號是由心肌組織施力收縮時所造成的壓電薄膜形變，在電極上所產生的感應電荷，此感應電荷可藉由介面電路量測到，不須如壓阻式心臟晶片需續提供一電壓才能量測電阻變化，因此不會有在心臟晶片中產生漏電的疑慮，在晶片電路系統的複雜度亦降低許多，並具有發展成大型陣列系統的優勢，此研究成果已發表在 Lab-on-a-Chip 國際期刊⁽¹⁸⁾。

二、心臟壓電耦合系統

本篇研究所開發的心臟壓電耦合系統的系統架構圖如圖 1(a) 所示，此心臟晶片的核心為其基材是一個 10 微米厚的聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene difluoride, PVDF) 壓電薄膜，在壓電薄膜的中心的位置上下各鍍有 100 奈米厚的圓形鈦金屬電極，在培養心肌細胞的這面亦鍍有一層二氧化矽以利在其表面用壓印的方式轉印一層只有 5 微米厚的聚二甲基矽氧烷 (polydimethylsiloxane, PDMS) 同心圓微溝槽結構，在此微溝槽外圍並再黏上一層直徑 9 毫米，厚度 5 毫米的聚甲基丙烯酸甲酯 (poly (methyl methacrylate), PMMA) 的培養微槽陣列，在壓電薄膜的下方亦黏上另一層直徑 9 毫米，厚度 1 毫米的聚甲基丙烯酸甲酯的培養微槽陣列結構，此設計定義的每一個微槽的邊界條件為固定端。此同心圓結構的微溝槽結構提供一種微生理環境，可引導心肌細胞排列成同心圓結構，如圖 1(b) 所示之收縮的方向是以同心圓的方式收縮，圖 1(c) 為微溝槽結構之雷射掃描共軛焦顯微影像。在結合此圓形的固定端邊界條件的設計，此心臟晶片可控制心肌組織的施力收縮所造成的薄膜形變為極座標的 Sinc 函數形變，因此可以做為定量心肌施力強度的檢測依據。

此系統使用電流放大器將心肌組織的收縮施力所產生的壓電感應電荷轉成電壓訊號，並經過 10 Hz 的低通濾波器將高頻雜訊濾除，此設計可在不使用顯微鏡監測下，即可探知心肌組織的成熟及同步程度。心肌組織在經由同心圓微溝槽結構所提供的微生理環境刺激，在三至六天即可發展成具自我收縮能力的心肌組織。再使用壓電薄膜監測到心肌組織的收縮之

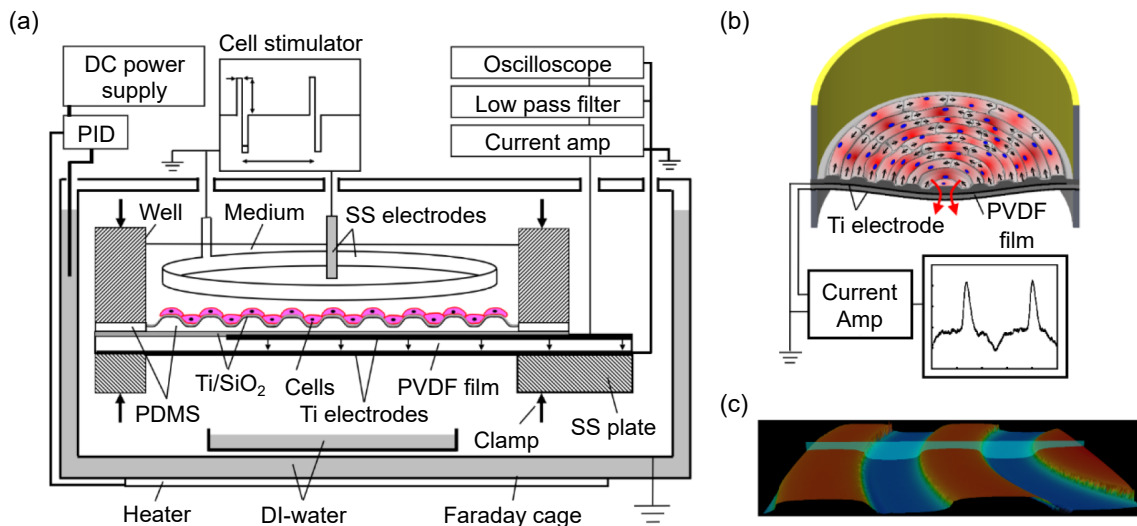


圖 1. 心臟壓電耦合系統的整體示意圖 (a)、同心圓心肌組織的排列以及施力收縮輸出訊號示意圖 (b)、及微溝槽結構的雷射掃描共軛焦顯微影像圖 (c)⁽¹⁸⁾。

後，即提供連續 8 小時的 1 Hz 電刺激之微生理環境刺激，以加速心肌組織的成熟及同步程度。此電刺激的裝置是通過在培養腔室內中央所設置的一直條型 304 不鏽鋼薄片電極，及在培養腔室的外圍有一個環狀 304 不鏽鋼電極的接地電極。

藉由上述的同心圓微溝槽結構及電刺激兩種微生理環境刺激後，此心臟壓電耦合系統可在 7 天左右培養出具有高成熟度及同步之心臟組織，圖 2(a) 及 2(b) 為所開發的心臟壓電耦合系統的兩種裝置，分別為四腔室及雙腔室兩種，可同時培養 4 個及 2 個心肌組織。在進行藥物功能及毒性量測時，此兩種心臟壓電耦合裝置置於一個雙層不銹鋼之水閘培養裝置中，此不鏽鋼裝置具有接地線，提供法拉第牢籠 (Farady cage) 電子雜訊屏蔽功能，並具有加熱板及定溫裝置，加熱水閘中的水，以維持 37 度的體溫及濕度，可進行長時間的藥物功能及毒性的監測工作。

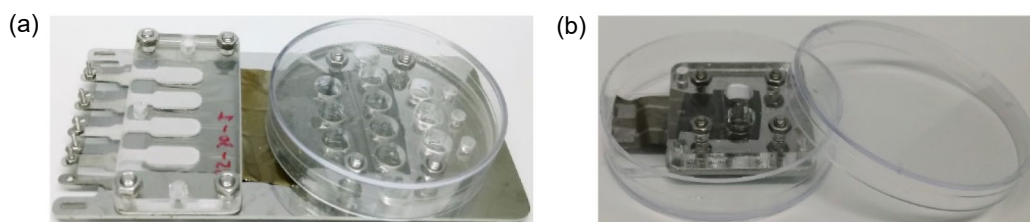


圖 2. 心臟壓電耦合系統的四腔室 (a) 及雙腔室裝置 (b)⁽¹⁸⁾。

三、心臟壓電耦合系統感測理論

本研究團隊應用 Hsu and Tang⁽¹⁵⁾ 所開發的以壓電薄膜結構感測細胞爬行的理論，推導出以圓形壓電薄膜結構感測同心圓心臟組織施力收縮的感應方程式。式 (1) 為將心肌組織培養在一壓電薄膜上的統馭方程式，因是圓形的結構，是以極座標方式表示⁽¹⁸⁾：

$$\nabla^2 \nabla^2 w(r,t) + \frac{\rho h}{D} \frac{\partial^2}{\partial t^2} w(r,t) = \frac{1}{D} \nabla^2 [l_c F_c(r) T_c(t)] \quad (1)$$

其中 $w(r, t)$ 為彎曲形變、 r 為半徑、 t 為時間、 ρ 為整體等效密度、 h 為整體等效厚度、 D 為彎曲剛性、 $F_c(r)T_c(t)$ 為心肌組織在收縮時於壓電薄膜上所施加的力， l_c 為心肌組織施力的具中性面的力矩。壓電薄膜的位移解可以表示成：

$$w(r,t) = \sum_{i=1}^{\infty} W_i(r) T_i(t) \quad (2)$$

此式假設同心圓結構的心肌組織已達到高度同步的施力收縮特性，因此所產生的壓電薄膜形變將與 θ 無關，而是與半徑相關的形變函數。

將式 (2) 式帶入式 (1)，並對半徑為 a 的壓電薄膜進行全域積分，並帶入固定端之邊界條件，可得到彎曲形變的通解。由於心臟跳動頻率為幾赫茲的頻率，因此心肌組織所產生的形變將由圓形壓電薄膜結構的第一自然響應頻率所決定，且所量測的頻率遠低於此第一自然響應頻率，因此可以將位移解簡化如下式⁽¹⁸⁾：

$$w(r,t) = \sin c(kr) \left\{ \frac{-2\pi T_c(t)}{D(\omega_1^2 - \omega^2)} \int_0^a [l_c F_c(r) \nabla^2 \sin c(kr)] dr \right\} \quad (3)$$

壓電薄膜的本構方程式為

$$D_3 = e_{31} S_1 + e_{32} S_2 + e_{33}^s E_3 \quad (4)$$

其中 D_3 是電場位移、 S_1 及 S_2 分別為在 x 及 y 軸方向的應變、 e_{31} 及 e_{32} 為相對定方向的壓電應變常數、 E_3 為 z 軸方向的電場、 e_{33}^s 為介電常數，此方程式說明在此面上的 x 、 y 軸方向應變和 z 方向的外加電場會在 z 方向表面產生感應電荷。

將式 (4) 轉為極座標，並將式 (3) 帶入，並對表面電極進行電場位移面積分，則可獲得壓電薄膜因心肌收縮所產生形變的壓電感應電荷，其可表示為⁽¹⁸⁾：

$$q(t) = C \cdot \left\{ \int_0^a [l_c F_c(r) \nabla^2 \text{sinc}(kr)] dr \right\} T_c(t) \quad (5)$$

其中

$$C = \left[\frac{2\pi^2 h_p (e_{31} e_{32})}{D(\omega_1^2 - \omega^2)} \int_0^{0.7a} \nabla^2 \text{sinc}(kr) dr \right] \quad (6)$$

由式 (5) 可知心臟壓電耦合系統所量測到的心肌收縮訊號與心肌在壓電薄膜上的施力大小成正相關，且第一模態 $\text{sinc}(kr)$ 為其空間權重函數，從式 (6) 可知，心臟壓電耦合系統可以監測到心肌組織的收縮特性曲線，可用以定量心肌的收縮頻率及強度。

四、實驗方法與步驟

心臟壓電耦合裝置在實驗前使用 UVC 紫外光進行滅菌，再於微溝槽表面附著 5 $\mu\text{g/ml}$ 纖維連蛋白 (fibronectin, FN) 或 0.1% 明膠 (gelatin, GL)，及內皮細胞 (huvec, HU)，以作為促進心肌細胞附著之表面處理，在此研究中比較三種基質表面，分別為 FN、FN/HU、GL/HU。在完成表面處理後，種入 hiPSC 心肌細胞，在培養三天後即開始使用介面系統監測心肌組織的發展，藉由心肌組織的收縮施力的特性曲線，判斷心肌組織的發展是否足夠成熟及達到高度同步的組織。再量測到具有穩定的心肌自我收縮的訊號後即施加 8 小時的電刺激，以加速心肌細胞跳動同步的發展。待心肌組織達到高成熟度及同步性後，即使用市售之心臟藥物 Isoproterenol (異丙腎上腺素) 及 Metoprolol (美托洛爾) 進行心臟壓電耦合系統的藥物篩檢功能性驗證。Isoproterenol 可提高心律和心肌細胞的代謝能力，Metoprolol 則能降低心律。每一種藥以累進加藥的方式提高藥物濃度，並在每次增加藥劑量後量取三次的電訊號，並重複三次實驗，再進行 Isoproterenol 的 EC_{50} 和 Metoprolol 的 IC_{50} 值的定量。

量測到的心肌組織的收縮頻率及施力強度可用以下之式 (7) 及式 (8) 進行定量分析，是為平均頻率 (F) 及平均振幅 (A)：

$$F = \frac{\sum_{m=1}^n (f_m \cdot a_m)}{\sum_{m=1}^n a_m} \quad (7)$$

$$A = \frac{\sum_{m=1}^n (f_m \cdot a_m)}{\sum_{m=1}^n f_m} \quad (8)$$

其中 f_m 和 a_m 和為第 m 筆資料點。在記錄在各濃度藥劑量下的平均振幅與頻率後，即可進行半效應濃度 (EC_{50}) 及半抑制濃度 (IC_{50}) 之藥物功能的計算。

在完成實驗後，心肌組織即進行固定及將心肌細胞的細胞核、觀察肌節 (sarcomere) 結構的甲型肌動蛋白原 α -actinin 以及進行肌動蛋白纖維 (actin-filament) 染色，分別為藍色、綠色、及紅色螢光。而心肌細胞的成熟度則以細胞核的橢圓度進行分析。橢圓度的公式為式 (9)， a 及 b 分別為細胞核的長軸跟短軸，越接近 1 代表越為橢圓，0 代表為圓形，且代表心肌細胞更為成熟。

$$Ellipticity = (a - b) / a \quad (9)$$

五、實驗結果

圖 3(A)-3(C) 為使用心臟壓電耦合裝置所培養出的心肌組織，分別是培養在 FN、FN/HU 和 GL/HU 三種不同基質的微溝槽上，由實驗結果可知，在三種基質上皆可在七天內發展出具有同心圓結構的心肌組織。在每個培養參數下，皆有極佳的肌節結構的表現，如圖 4(A)-4(C) 所示。

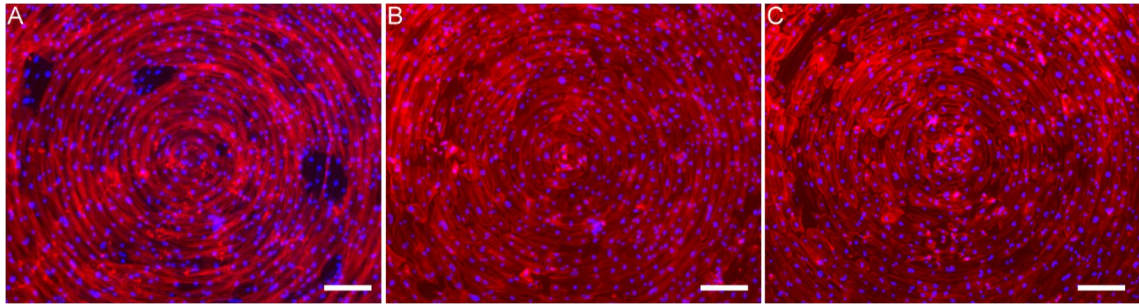


圖 3. 於心臟壓電耦合裝置中所培養出之同心圓心臟組織：FN (A)、FN/HU (B)、GL/HU (C)，比例尺為 $200 \mu\text{m}^{(18)}$ 。

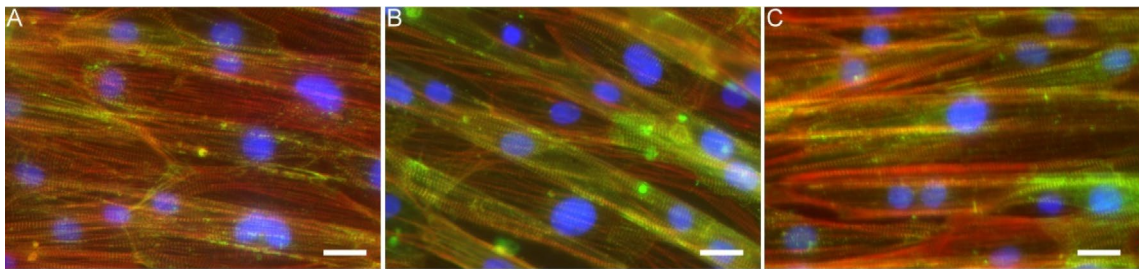


圖 4. 於心臟壓電耦合裝置中所培養出之同心圓心臟組織的肌節結構：FN (a)、FN/HU (b)、GL/HU (c) 比例尺為 $20 \mu\text{m}^{(18)}$ 。

為了探討所培養出的同心圓心肌組織的成熟度，本團隊將不同半徑範圍的心肌組織的肌節長度及細胞核橢圓度進行定量，分析結果如圖 5(a) 及 5(b) 所示。由圖 5(c) 的橢圓度分析所示，在三種培養環境上的細胞核都具有橢圓的結構，代表心肌細胞皆有高度肌原纖維表現，且從中心至外圍在細胞核的橢圓度表現上並沒有顯著的差異，在三種培養基質上的細胞核的平均橢圓度分別為 0.242 ± 0.046 、 0.308 ± 0.065 及 0.26 ± 0.050 。此結果顯示在心臟壓電耦合裝置內培養出的心臟組織皆有相當的成熟度。

圖 5(b) 比較心肌組織在不同半徑下的肌節長度表現，在 FN、FN/HU、及 GL/HU 基質上培養的心肌細胞的肌節在半徑為 0.26 mm 至 2.36 mm 的平均肌節長度分別為 $1.79 \mu\text{m} \pm 0.15 \mu\text{m}$ 、 $1.86 \mu\text{m} \pm 0.08 \mu\text{m}$ 、及 $1.74 \mu\text{m} \pm 0.07 \mu\text{m}$ 。而在同心圓中心半徑為 0.07 mm 內的心肌肌節長度，在 FN 基質表面培養的結果顯著小於在 FN/HU 及 GL/HU 的結果，此實驗結果顯示微溝槽在半徑小於 0.07 mm 的位置，其以表面形貌來誘導心肌細胞排列的微生理環境刺激效應下降，其原因可能為微溝槽的圓弧特徵長度已小於心肌細胞尺寸或相當，因此心肌細胞隨微溝槽進行同心圓的排列的機制降低，而改以橫跨在多個微溝槽結構，因此其成熟度下降。另一方面，此數據亦顯示出在此中心區域若先貼附一層 HUVEC 內皮細胞，將可促進心肌細胞的成熟度，如在 FN/HU 及 GL/HU 的肌節長度定量的結果，此實驗成果顯示心肌細胞與內皮細胞共培養將會提升心肌細胞的成熟度，與 Lee 等人的研究結果相同⁽¹⁹⁾。

圖 6(a) 及 6(b) 分別為使用市售心臟藥物 Isoproterenol 及 Metoprolol 的藥物功能性監測實驗結果，從實驗結果可知心臟壓電耦合系統可以量測出心肌組織在不同藥物施加濃度下收縮施力的特徵波型。圖 6(a) 顯示在 GL/HU 基質培養出的心肌組織在將 Isoproterenol 心臟藥物的濃度從 0 nM 逐漸量增加藥劑量到 $1\text{E}4 \text{ nM}$ ，心跳收縮的頻率及振幅亦逐漸上升，與

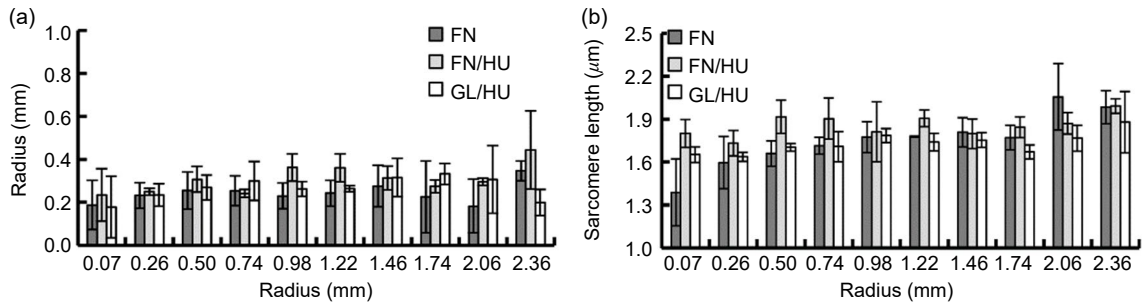


圖 5. 於心臟壓電耦合裝置中所培養出之同心圓心臟組織的細胞核橢圓度 (a) 及肌節長度 (b) 定量分系結果⁽¹⁸⁾。

Isoproterenol 的已知藥物機制相同。同樣的，圖 6(b) 所顯示的在 FN 基質上培養出的心肌細胞，在將 Metoprolol 心臟藥物的濃度從 0 nM 逐漸量增加藥劑量到 1E4 μM，心跳收縮的頻率及振幅皆逐漸下降，並在 3E2 μM 濃度時開始出現不規則的波形，如同 Metoprolol 用來抑制心肌細胞跳動的藥效表現是一致的。

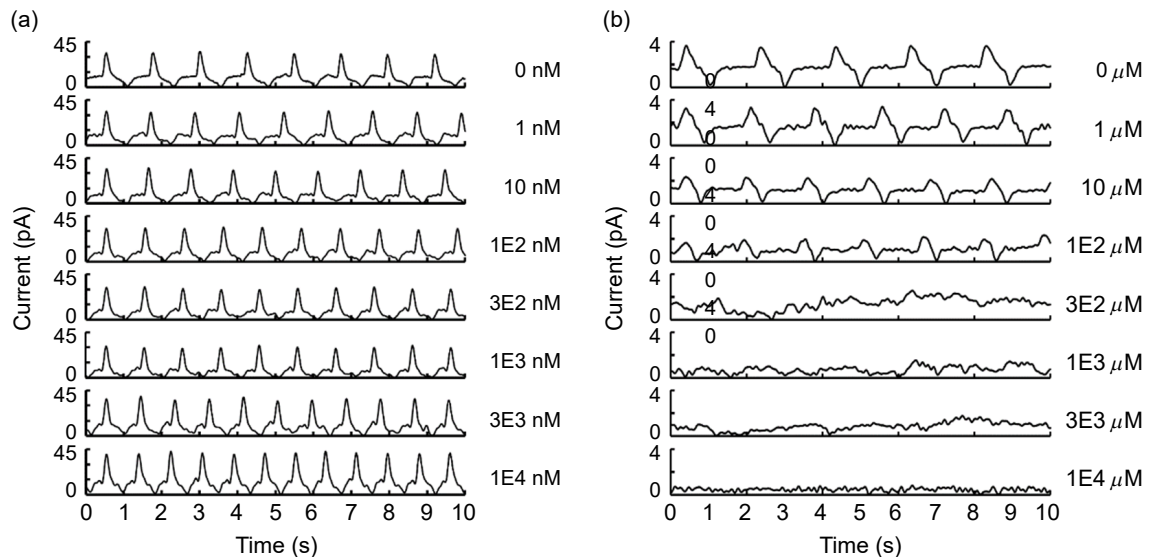


圖 6. 心肌細胞在施加不同藥劑量的 Isoproterenol 訊號波形 (a) 及 Metoprolol 訊號波形 (b)⁽¹⁸⁾。

上述的心肌收縮的特性曲線可經由快速傅立葉轉換 (Fourier transform, FT) 轉入頻率域，圖 7(a) 為加入 Isoproterenol 的心肌收縮訊號的頻譜響應，此分析結果顯示心肌組織的收縮基頻率隨 Isoproterenol 濃度增加而提高，從加藥前的 0.8 Hz (黑實線) 提升到 1E5 nM 的 1.2 Hz (綠色虛線)，且第二及第三高頻諧波亦隨之增高，且振幅亦隨之增加，此分析結果清楚顯示此心臟壓電耦合系統可以成功判定 Isoproterenol 對心肌組織的收縮頻率及力量的提升之功效。圖 7(b) 為 Metoprolol 心臟藥物的頻譜分析結果，在未投藥前的基頻為 0.5 Hz (黑實線)，在藥劑量為 3E2 μM (灰實線) 時即降低至 0.4 Hz，且其峰值也大幅度的減少，且在更高濃度的 Metoprolol 藥物濃度下，其主要基頻及高頻諧波的振幅皆變得很小，顯示心臟壓電耦合系統確實可量測出 Metoprolol 的藥物功能。

總結投藥的實驗結果，此實驗驗證心臟壓電耦合平台可以有效的利用壓電薄膜來進行藥物功能性篩檢。

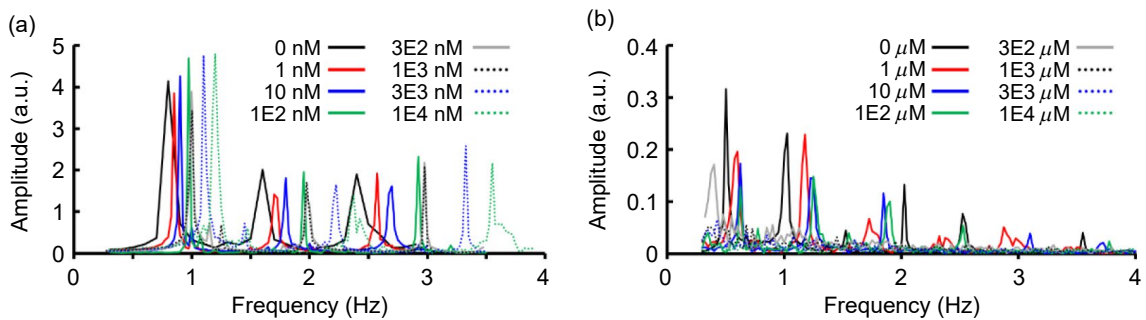


圖 7. 心肌細胞在施加不同藥劑量的 Isoproterenol 訊號波形 (a) 及 Metoprolol 訊號波形 (b) 在頻譜上的分析結果⁽¹⁸⁾。

圖 8(a) 及圖 8(b) 為使用心臟壓電耦合系統進行 Isoproterenol 藥物功能性篩檢的分析結果，分別為收縮頻率及力量，Isoproterenol 藥物的 S 曲線可清楚地被分析出定量出來，並可用以求得 Isoproterenol 藥物在收縮頻率及施力強度的 EC_{50} 值，圖 8(c) 為分析後的結果，分別為在三種培養基材上所培養出的心肌所測得知 Isoproterenol 的頻率 EC_{50} 值及力量 EC_{50} 值，在 FN、FN/HU 和 GL/HU 上的心肌組織所量測到的的頻率 EC_{50} 分別為 109.7 nM、191.1 nM 和 424.8 nM，力量 EC_{50} 則分別為 57.1 nM、121.8 nM 和 157.8 nM，此量測值與之前的報告值在同一範圍。

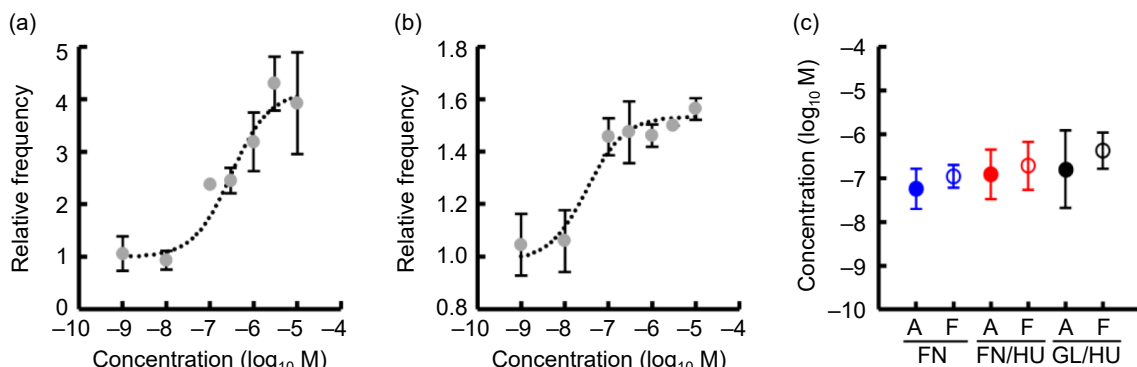


圖 8. Isoproterenol 的收縮頻率 (a) 及強度 (b) S 曲線量測結果，及使用在不同基質表面的心肌組織定量出的頻率 EC_{50} 及強度 EC_{50} 值⁽¹⁸⁾。

圖 9(a) 及圖 9(b) 為使用心臟壓電耦合系統進行 Metoprolol 藥物在收縮頻率及強度的功能性篩檢分析結果，Metoprolol 藥物的 S 曲線亦可清楚地被分析出來。圖 9(C) 為使用在 FN、FN/HU 和 GL/HU 上的心肌組織所量測到的頻率 IC_{50} 及力量 IC_{50} ，分別為 164.7 nM、111.0 nM、及 231.6 nM，與 392.6 nM、419.5 nM 及 167.0 nM，此量測值與之前的報告值亦在同一範圍。

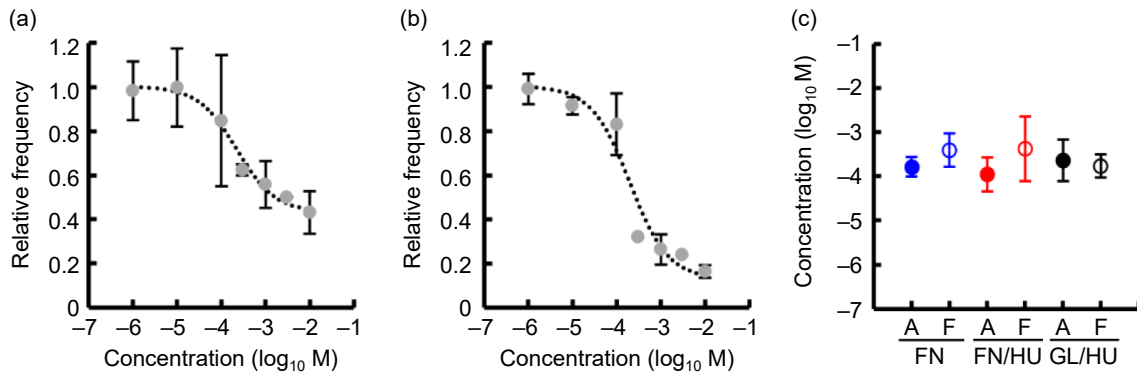


圖 9. Isoproterenol 的收縮頻率 (a) 及強度 (b) S 曲線量測結果，及使用在不同基質表面的心臟組織定量出的頻率 EC_{50} 及強度 EC_{50} 值⁽¹⁸⁾。

六、結論

本團隊所開發的心臟壓電耦合系統提供一種創新的心臟藥物篩檢的檢測方法，此系統使用創新的壓電薄膜作為培養基材，並使用微溝槽結構及電刺激微生理裝置，提供可促進心肌組織在七天左右的培養時間內達到足夠成熟且同步之心肌組織，並可進行藥物功能性篩檢的實驗。此心臟壓電耦合系統以同心圓微溝槽結構引導心肌細胞以同心圓的方式進行排列，並發展出同心圓的心肌組織，使其在同步收縮時產生一種向心收縮的彎矩，再藉由圓形的培養腔室設計，以及圓形固定端的邊界條件設計，讓心肌施力收縮訊號可以經由壓電效應轉成電子訊號並進行定量，排除一般使用懸臂量當感測結構所遇到之因心肌組織不規則排列造成扭轉之不確定收縮訊號，而會以彎曲形變為主要的形變，使得心肌的收縮強度訊號可以進行定量。本研究以市售心臟藥物 Isoproterenol (異丙腎上腺素) 和 metoprolol (美托洛爾) 驗證此心臟壓電耦合系統的篩藥功能，並成功以心臟壓電耦合系統在不同藥物濃度下所量測到的收縮施力特性曲線來定量出藥物的 EC_{50} 值 IC_{50} 值。總結，此心臟壓電耦合系統不但可針對藥物對心肌組織收縮頻率及力量分別進行定量，並具有開發成全自動化之心臟藥物功能及心臟毒性篩檢的大型陣列系統，將可有效縮短藥物開發的時間及降低成本。除此之外，此系統具有提供體外人類心臟模型的優勢，將可作為替代動物模型的臨床前心臟模型系統。

參考文獻

1. D.A. Tagle, *Curr. Opin. Pharmacol.*, **48**, 146 (2019).
2. T. Kamakura, T. Makiyama, K. Sasaki et al., *Circulation J.*, **77**, 1307 (2013).
3. Y. S. Zhang, J. Aleman, A. Arneri et al., *Biomed. Mater.*, **10**, 034006 (2015).
4. J. U. Lind, T. A. Busbee, A. D. Valentine et al., *Nat. Mater.*, **16** (3), 303 (2017).
5. J. U. Lind, M. Yadid, I. Perkins et al., *Lab Chip*, **17**, 3692 (2017).
6. J. Kim, J. Park, K. Na et al., *J. Biomech.*, **41** (11), 2396 (2008).
7. S. S. Nunes, J. W. Miklas, J. Liu et al., *Nat. Methods*, **10** (8), 781 (2013).
8. Y. Xiao, B. Zhang, H. Liu et al., *Lab Chip*, **14** (5), 869 (2014).
9. A. Grosberg, A. P. Nesmith, J. A. Goss et al., *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **65** (3), 126 (2012).
10. A. Grosberg, P. L. Kuo, C. L. Guo et al., *PLoS Comput. Biol.*, **7** (2), e1001088 (2011).
11. A. Salameh, A. Wustmann, S. Karl et al., *Circ. Res.*, **106** (10), 1592 (2010).
12. D. S. Lee, J. H. Chen, D. J. Lundy et al., *Cell Rep.*, **12** (12), 1960 (2015).

13. W. H. Zimmermann, K. Schneiderbanger, P. Schubert et al., *Circ. Res.*, **90** (2), 223 (2002).
14. Y. C. Chan, S. Ting, Y. K. Lee et al., *J. Cardiovasc. Transl. Res.*, **6** (6), 989 (2013).
15. E. Holt, P. K. Lunde, O. M. Sejersted and G. Christensen, *Basic Res. Cardiol.*, **92** (5), 289 (1997).
16. T. B. Johnson, R. L. Kent, B. A. Bubolz and P. J. McDermott, *Circ. Res.*, **74** (3), 448 (1994).
17. M. Radisic, H. Park, H. Shing, T et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **101** (52), 18129 (2004).
18. Y.-H. Huang, C.-F. Yang, Y.-H. Hsu, *Lab Chip*, **20**, 3423 (2020).
19. D. S. Lee, J. H. Chen, D. J. Lundy, et al., *Cell Rep.*, **12** (12), 1960 (2015).

作者簡介

陳冠維先生為國立臺灣大學應用力學所碩士班學生。

Kuan-Wei Chen is currently a M.S. student in the Institute of Applied Mechanics at National Taiwan University.

黃筠涵小姐為國立臺灣大學應用力學所碩士。

Yun-Han Huang received her M.S. in the Institute of Applied Mechanics at National Taiwan University.

楊秋鳳小姐為國立臺灣大學應用力學所碩士。

Chiou-Fong Yang received her M.S. in the Institute of Applied Mechanics at National Taiwan University.

許聿翔先生為加州爾灣分校醫學工程博士，現為國立臺灣大學應用力學所副教授。

Yu-Hsiang Hsu received his Ph.D. in Biomedical Engineering from University of California, Irvine. He is currently an Associate Professor in the Institute of Applied Mechanics at National Taiwan University.