

東 海 大 學

工業工程與經營資訊學系

碩士論文

建構三維列印人工血管之
近似最佳化研究

研 究 生：吳侑蓁
指 導 教 授：蔡禎騰 教授
陳怡文 教授

中 華 民 國 一 〇 六 年 六 月

Approximate Optimization Study for the Construction of 3D Printed Vascular Grafts

By
Yu-Chen Wu

Advisors : Dr. Jen-Teng Tsai
Dr. Yi-Wen Chen

A Thesis
Submitted to the Institute of Industrial Engineering and Enterprise
Information at Tunghai University
in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
in
Industrial Engineering and Enterprise Information

June 2017
Taichung , Taiwan

建構三維列印人工血管之最佳化研究

學生：吳侑蓁

指導教授：蔡禎騰 博士

陳怡文 博士

東海大學工業工程與經營資訊學系

摘 要

世界衛生組織統計，造成人們死亡的 2014 年全球十大死因中，以心血管疾病相關疾病加總為首。最常見的心血管疾病為冠狀動脈疾病，若疾病相當嚴重，過去許多血管治療方式為植入合成型人工血管，但人體易於排斥始終是問題。而現今生物醫學興起，研究逐漸導向利用人體細胞再生，藉以改善體內排斥外來物之困境，尤其如何製作出生物相容的仿生人工血管支架，並促進細胞貼附及生長，是近年來許多科學家致力於研究發展的目標。

本研究傾向利用再生醫學的方式，並結合積層製造，運用組織工程的理念，讓幹細胞重建血管組織，希望藉由實驗設計法開發出可應用在數位光固化技術 (Digital Light Processing, DLP) 的生物相容性材料，且此材料能仿生真實血管的特性，達到人工血管支架製程的最佳化。本研究歸納出三項因子，胺基樹酯與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例 (AR:HEMA)、多巴胺 (Dopamine) 及照光時間 (Time) 進行最佳化，並希望達到最高的解析度、最符合真實人工血管的彈性及最高的細胞存活率。

此外，本研究以三維列印的方式建構仿生人工血管特性的最佳參數，期望對於未來應用於換置人體血管的治療能有所貢獻，並客製化人工血管生物支架。

關鍵字詞：組織工程、人工血管支架、數位光固化技術、實驗設計、胺基樹脂、多巴胺

Approximate Optimization Study for the Construction of 3D Printed Vascular Grafts

Student : Yu-Chen Wu

Advisors : Dr. Jen-Teng Tsai

Dr. Yi-Wen Chen

Department of Industrial Engineering and Enterprise Information
Tunghai University

ABSTRACT

The cardiovascular disease and relative complications are the top global causes of death in 2014. The most common cardiovascular disease is coronary artery disease. Implantation of the synthetic vascular graft is the common treatment if the severe cardiovascular disease, however, the transplant rejection usually will come with the graft implantation. With the promising progress of biomedicine study, human cell regeneration tissue is getting highest attention to reduce the transplant rejection. The main goal of many research scientists is to produce the biocompatibility artificial vascular grafts with high cell attachment and cell proliferation, in the end regenerate human vascular tissues.

This study adapted additive manufacturing process and concept of tissue engineering to regenerate vascular tissue from stem cells. In addition, the Design of Experiments (DOE) is employed into the manufacturing process of digital light processing (DLP) 3D printing technology to seek the near-optimal process parameters for producing artificial vascular grafts with real vascular properties. This research concluded three factors of the mixing ratio of amino resin (AR) and 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA), dopamine and time. Through optimizing the material formula, the good printing resolution, approximated Young's module of real vascular, and highest cell proliferation will achieved. We expect this study could conclude a near-optimal process to construct the customized artificial vascular, in the end, could adapted in clinical needs in the near future.

Keywords: Tissue Engineering, Blood Vascular Graft, DLP Technology, Design of Experiments, Amino Resin, Dopamine

致謝詞

光陰荏苒，歲月如梭，在東海大學的研究所生活轉眼之間即將結束。回想起當初在抉擇是否要繼續升學時，陳怡文老師鼓勵我未來可以再繼續充實自我，因此延續大學專題受陳怡文老師在積層製造領域上的指導，進入研究所，針對應用在醫療上的積層製造進行研究。感謝蔡禎騰老師與陳怡文老師在我研究所期間提供這麼多資源與學習環境，受益良多；另外，更要感謝老師提供我機會到各公開會議與展覽擔任觸覺式自由建模系統 Geomagic Freeform 之解說員與講師，這項經驗讓我特別珍惜；同時也謝謝老師給我機會指導大學專題生，讓我認識這群學弟妹，也增加帶團隊的寶貴經驗。

而在研究所的日子中，感謝東海的學弟妹與學長姊給我的幫忙與歡笑。研究室的大家都待我相當好，雯晴學姊時常陪在我身邊，聽我訴苦、給我鼓勵及協助我解決在論文中遇到的困難；詠翔及侑霖學弟給我許多協助，謝謝你們；還有陪伴我度過研究所生活的夥伴哲璋及威鈞，我們一同上課，一起努力走過最無助與困難的時光。謝謝你們的陪伴，讓我的研究所生活充滿歡樂與感動。

還要感謝中國醫藥大學附設醫院 3D 列印研發中心提供我做實驗的環境，以及沈育芳博後給予我論文上許多建議與指導。

要特別感謝我的男朋友—昊騰。你出現在我研究所生命裡，在我不知所措、煩惱及難過的時候，不求回報的陪伴我走過這段時光。在我碩一時你正好是碩二，我們共同度過了一年東海大學研究生的生活，同甘共苦。謝謝你的包容與陪伴，讓我在研究所不孤單。

最重要的是感謝我的家人，爸爸、媽媽與弟弟。所有一切只能用一個字形容—愛。不論是不是在研究所這段日子，都要謝謝你們支持我，謝謝你們包容我，謝謝你們讓我不論在何時，都給我最大的鼓勵、溫暖與依靠；看到爸爸媽媽因為我讀研究所的事如此高興，讓我也更有動力去完成所有困難。謝謝你們這麼愛我，我也愛你們。

完成這份論文需要投入很多心力，我也謝謝自己這麼努力。

衷心祝福未來學弟詠翔及侑霖，在未來的碩士生生活孜孜不懈，只要肯努力，鐵杵終能磨成針，加油！

吳侑蓁 謹誌於
東海大學工業工程與經營資訊學系研究所
中華民國一〇六年六月

目錄

| | |
|----------------------|------|
| 摘要..... | i |
| ABSTRACT..... | ii |
| 致謝詞..... | iii |
| 目錄..... | iv |
| 表目錄..... | vi |
| 圖目錄..... | viii |
| 第一章 緒論..... | 1 |
| 1.1 研究背景..... | 1 |
| 1.2 研究動機..... | 4 |
| 1.3 研究目的..... | 5 |
| 1.4 研究架構..... | 6 |
| 第二章 文獻探討..... | 7 |
| 2.1 心血管系統..... | 7 |
| 2.2 組織工程..... | 15 |
| 2.3 組織工程之人工血管..... | 17 |
| 2.4 人工血管支架之相關研究..... | 24 |
| 2.5 實驗設計法..... | 29 |
| 第三章 研究方法與流程..... | 33 |
| 3.1 問題定義..... | 33 |
| 3.2 實驗材料與設備..... | 34 |
| 3.3 前置實驗..... | 44 |
| 3.4 實驗流程..... | 46 |
| 3.5 參數設定..... | 54 |
| 3.6 全因子實驗..... | 55 |
| 3.7 反應變數測定..... | 56 |
| 3.8 小結..... | 59 |
| 第四章 實驗數據與結果..... | 60 |
| 4.1 實驗數據..... | 60 |
| 4.2 ANOVA 分析..... | 61 |

| | |
|----------------------|----|
| 4.3 分析討論..... | 64 |
| 4.4 實驗樣本模型之綜合比較..... | 72 |
| 4.5 驗證實驗..... | 73 |
| 4.6 小結..... | 78 |
| 第五章 結論與未來建議..... | 79 |
| 5.1 結論..... | 79 |
| 5.2 未來建議..... | 81 |
| 參考文獻..... | 82 |
| 附錄..... | 87 |

表目錄

| | |
|---------------------------------------|----|
| 表 2.1 支架製造技術分類表..... | 20 |
| 表 2.2 人工血管支架相關研究..... | 25 |
| 表 2.3 運用在組織工程之實驗性質相關研究..... | 28 |
| 表 3.1 本研究使用之胺基樹脂..... | 35 |
| 表 3.2 本研究使用之多巴胺..... | 35 |
| 表 3.3 本研究使用之三羥甲基氨基甲烷..... | 36 |
| 表 3.4 本研究使用之過硫酸銨..... | 36 |
| 表 3.5 本研究使用之甲基丙烯酸羟乙酯..... | 37 |
| 表 3.6 本研究使用之光起始劑..... | 37 |
| 表 3.7 本研究使用之 2-羟基-4-甲氧基-5-磺酸二苯甲酮..... | 38 |
| 表 3.8 本研究使用之四甲基哌啶氧化物..... | 38 |
| 表 3.9 微電腦數位式黏度計..... | 39 |
| 表 3.10 塑膠硬度計..... | 39 |
| 表 3.11 Miicraft..... | 40 |
| 表 3.12 數字顯微鏡內窺鏡變焦相機..... | 41 |
| 表 3.13 強度測試機..... | 42 |
| 表 3.14 全波長吸光多功能分析儀..... | 43 |
| 表 3.15 實驗因子及水準..... | 55 |
| 表 3.16 實驗因子組合及水準..... | 56 |
| 表 3.17 反應變數範圍..... | 59 |
| 表 4.1 實驗組合與反應變數量測值..... | 60 |
| 表 4.2 解析度之 ANOVA 分析..... | 61 |
| 表 4.3 楊氏模數之 ANOVA 分析..... | 62 |
| 表 4.4 細胞存活率之 ANOVA 分析..... | 63 |
| 表 4.5 顯著因子總表..... | 64 |
| 表 4.6 反應變數與期望值座標之距離..... | 73 |
| 表 4.7 最佳化組合..... | 74 |
| 表 4.8 印製結果..... | 74 |
| 表 4.9 解析度之實驗數據..... | 75 |

| | |
|--------------------------|----|
| 表 4.10 楊氏模數之實驗數據..... | 75 |
| 表 4.11 細胞存活率之實驗數據..... | 76 |
| 表 4.12 最佳化參數驗證..... | 76 |
| 表 4.13 最佳化參數與目標值之誤差..... | 77 |

圖目錄

| | |
|---|----|
| 圖 1.1 2013 台灣十大死因統計圖..... | 1 |
| 圖 1.2 組織工程三大要素..... | 3 |
| 圖 2.1 心血管系統..... | 7 |
| 圖 2.2 動脈/靜脈構造..... | 8 |
| 圖 2.3 冠狀動脈粥樣硬化..... | 9 |
| 圖 2.3 動脈粥狀硬化剖面..... | 10 |
| 圖 2.4 冠狀動脈繞道手術支架 (Coronary artery bypass Graft, CABG) 四種型態..... | 11 |
| 圖 2.5 冠狀動脈氣球擴張..... | 12 |
| 圖 2.6 合成型人工血管..... | 13 |
| 圖 2.7 編織方式 (左圖為針織, 右圖為梭織)..... | 13 |
| 圖 2.8 組織工程概念..... | 16 |
| 圖 2.9 顆粒析出法..... | 18 |
| 圖 2.10 冷凍乾燥法..... | 19 |
| 圖 2.11 靜電紡絲..... | 19 |
| 圖 2.12 積層製造製作原理..... | 22 |
| 圖 2.13 數位光固化技術示意圖..... | 24 |
| 圖 2.14 軟性人工血管..... | 27 |
| 圖 2.15 軟性人工血管..... | 27 |
| 圖 2.16 軟性人工血管..... | 27 |
| 圖 2.17 部分因子實驗設計流程圖..... | 32 |
| 圖 3.1 印製軟性人工血管基本流程圖..... | 33 |
| 圖 3.2 印製軟性人工血管因果關係圖..... | 34 |
| 圖 3.3 前置實驗之 Y 字形列印樣本..... | 45 |
| 圖 3.4 實驗流程圖..... | 46 |
| 圖 3.5 超音波震盪..... | 47 |
| 圖 3.6 二次震盪比較圖..... | 47 |
| 圖 3.7 加熱攪拌去水..... | 48 |
| 圖 3.8 可列印之光固化型材料..... | 49 |
| 圖 3.9 材料配置流程圖..... | 50 |

| | |
|-----------------------------------|----|
| 圖 3.10 解析度測試片..... | 51 |
| 圖 3.11 楊氏模數拉伸片..... | 52 |
| 圖 3.12 細胞測試片..... | 52 |
| 圖 3.13 烘箱氧化..... | 53 |
| 圖 3.14 面積計算..... | 57 |
| 圖 3.15 拉伸測試..... | 58 |
| 圖 3.16 細胞存活率流程圖..... | 59 |
| 圖 4.1 胺基數酯比例與解析度關係圖..... | 65 |
| 圖 4.2 多巴胺與解析度關係圖..... | 66 |
| 圖 4.3 胺基數酯比例與楊氏模數關係圖..... | 67 |
| 圖 4.4 照光秒數與楊氏模數關係圖..... | 68 |
| 圖 4.5 因子 ABC 與楊氏模數交互作用關係圖..... | 68 |
| 圖 4.6 胺基數酯比例與細胞存活率關係圖..... | 70 |
| 圖 4.7 多巴胺與細胞存活率關係圖..... | 70 |
| 圖 4.8 照光時間與細胞存活率關係圖..... | 71 |
| 圖 4.9 因子 ABC 與細胞存活率交互作用關係圖..... | 71 |
| 圖 4.10 解析度、楊氏模數與細胞存活率樣本三維散佈圖..... | 72 |
| 圖 5.1 人工血管支架之管狀樣本..... | 80 |
| 圖 5.2 軟性人工血管支架..... | 80 |
| 圖 5.3 人工血管支架之孔洞結構..... | 80 |

第一章 緒論

1.1 研究背景

健康一直是人們重視的議題。根據世界衛生組織（World Health Organization, WHO）統計，造成人們死亡的 2014 年全球十大死因依序為：惡性腫瘤（癌症）、心臟疾病、腦血管疾病、肺炎、糖尿病、事故傷害、慢性下呼吸道疾病、高血壓性疾病、慢性肝病及肝硬化、腎炎及腎病症候群與腎病變。台灣的十大死因排序與全球十大死因相同。雖然惡性腫瘤（癌症）以 29% 高居十大死因首位，但心血管疾病相關疾病加總高達 31.1%，每年都造成全球約 1710 萬人死亡。如圖 1.1，WHO 預估至 2030 年全球約將有 2330 萬人因心血管疾病死亡。

一般造成心血管疾病的原因是年齡增長、高血壓、抽菸、糖尿病等等。衛生福利部國民健康署指出，心血管疾病中，高血壓性心臟病及冠狀動脈心臟病佔大多數病因。心血管疾病困擾著不同年齡層，其中以老年人最多。全球人口結構的數據指出目前社會正走向高齡化社會，年齡層趨於老化。因此，心血管疾病的問題亦日益增長。

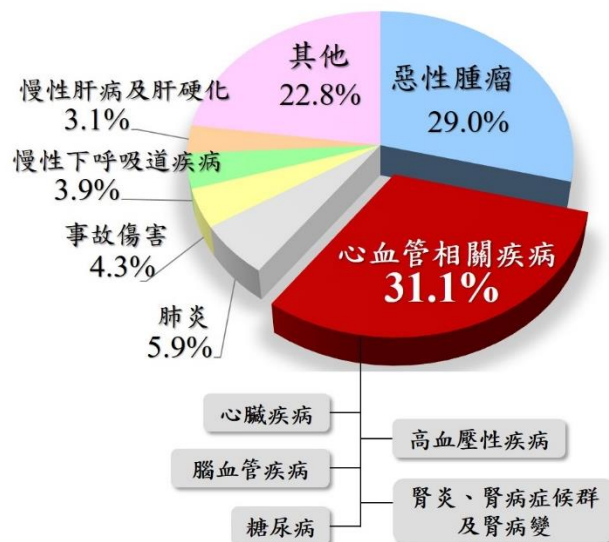


圖 1.1 2013 台灣十大死因統計圖

資料來源：本研究整理

最常見的心血管疾病為冠狀動脈疾病，為心血管疾病中的首位。在臨床治療上，醫生會先進行評估，若是輕微症狀採藥物治療；較嚴重，則進行血管手術治療。一般常見的血管手術其一為冠狀動脈搭橋手術及氣球血管成形術（Stent）。當血管損傷嚴重時，則需進行血管移植手術。血管移植手術所始用的來源有自體血管及人工血管。自體血管移植時，不會引發自體免疫問題，但是自體可移植的血管來源極少。人工血管目前主要是以達克隆和聚四氟乙烯(ePTFE)這兩種材質製成，但其可製造出的人工血管的口徑都只能在 6 公厘以上。此外，達克隆的血液相容性不佳，較不適合製作成小直徑的人工血管。雖然聚四氟乙烯製成的人工血管血液相容性佳，可製成的孔徑較小，且不需作預凝血、平滑容易縫合，但是血管壁易生成假性動脈瘤及沒有縱向彈性，而且也有植覆內皮細胞的困難。因此本研究期望發展結構與真實血管相似的人工血管，可應用於再生醫學和器官重建。

商業化用的人工血管支架，在物理性質及機械性能上非常多元，理想的人工血管支架應具有以下共通的特性，生物相容性（Biocompatibility）、抗血栓性（Low Thrombogenicity）、多孔性（Porosity）、彈性（Flexibility）、暢通率（Resist Kinking And Squashing）、延展性（Stretch）、抗拉強度（Tensile And Shear Strength）、管壁抗血壓強度（Circumferential Strength）(Greenwald & Berry, 2000)。

仿真的人工血管支架製作有其困難性，過往的人工血管大多為合成型，但是生物相容性始終是一大問題。現今生物醫學興起，研究逐漸導向利用人體細胞再生，藉以改善體內排斥外來物之困境，此利用細胞再生人工血管的概念稱為組織工程人工血管。早在 1986 年即研發出第一個組織工程人工血管(Ravi & Chaikof, 2010)，組織工程原理為發展活組織的取代物，來修復、維持或改善人體組織的功能，而此取代物將成為病人身體的一部分，以達到修復的目的(李宣書, 2001)。

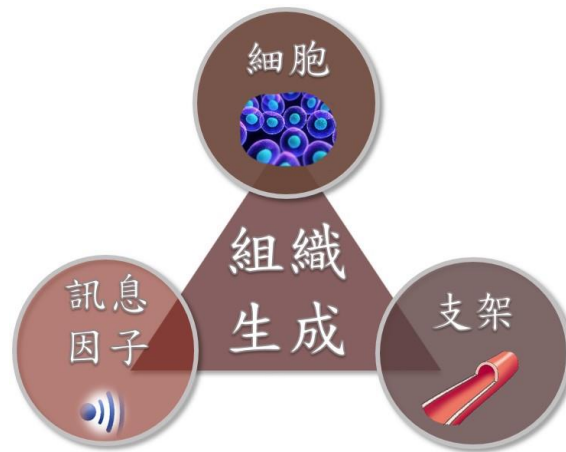


圖 1.2 組織工程三大要素

資料來源：本研究整理

組織工程三大組成要素為細胞 (Cell)、支架 (Scaffold) 及訊息因子 (Signal)，如圖 1.2。截至目前為止，支架的製造方式以下列四種為大宗 (Fallahiarezouard, Ahmadipourroudposht, Idris, & Mohd Yusof, 2015)：

1. 顆粒析出法 (Solvent casting)
2. 冷凍乾燥法 (Freeze drying)
3. 靜電紡絲 (Electrospinning)
4. 固態自由成形 (Solid free form)

其中固態自由成形是以積層 (加法) 製造方式建構，也就是三維列印 (Three Dimension Printing, 3DP)。此種製造方式的自由度極高，且材料可以多種形式呈現。隨著生物列印技術的逐漸成熟，此種方式提供了組織再生及修復的可能性。

積層製造技術分為以下七種：3DP™(3D Printer)¹、熔融沉積成型 (Fused Deposition Modeling, FDM)、選擇性雷射燒結 (Selective Laser Sintering, SLS)、選擇性雷射熔融 (Selective Laser Melting, SLM)、層狀物體製造 (Laminated Object Manufacturing, LOM)、立體平版印刷 (Stereo Lithography Apparatus, SLA) 和數位光固化技術 (Digital Light Processing, DLP)。要印製可在生醫使用的技術需克服以下二項問題，其一是列印機的限制，例如列印速度、列印解析度；其二為生醫材料需可用於該積層製造技術，可列印的材料有

¹ 3DP™ 全名為 Powder bed and inkjet head 3D printing

很多種，但是用於人體的生醫材卻需要很多特殊性質；一般來說，材料須符合，可列印、具生物相容性、有適當的機械性能、具有好的降解性、降解物須安全無毒以及組織仿生的特性。總觀之下，可運用於生醫領域的技術，常見的有：熔融沉積成型 (FDM)、選擇性雷射燒結 (SLS)、立體平版印刷 (SLA) 和數位光固化技術 (DLP) (Guvendiren, Molde, Soares, & Kohn, 2016)，上述四種支架製造技術及這四項運用在組織工程的積層製造技術將於第二章文獻探討會有更詳細的說明。

1.2 研究動機

前述有提及十大死因前三名為惡性腫瘤 (癌症)、心臟疾病、腦血管疾病，這三項病症都與血管息息相關，尤其現今冠狀動脈硬化、腦血管栓塞或是出血症狀是心血管疾病的常客，可知血管研究極其重要。若心血管疾病過於嚴重而無法使用藥物治療，可以移植、繞道、切除、裝置支架等等手術來醫治；在醫療中現已出現組織工程的理念，將組織工程結合血管，除了可以在體外進行深入的血管新生、栓塞、硬化等等病症的相關研究，甚至可在人體置換人工血管，長期下來更能使受損部位利用植入的血管支架生成體內真實血管。

在人工血管支架領域，無論是國外或國內都有很多學者在研究開發，但是仍然存在許多可改善的地方。隨著高分子材料的發展，人工血管開發已有很大的成功。尤其在臨床上大管徑 (>6mm) 的人工血管已被廣泛使用，研究相當成熟；但是小管徑 ($\leq 6\text{mm}$) 的血管除了直徑很細小，流速也較慢，更換小管徑人工血管容易發生血栓問題，應用上的限制非常多。因此，國內外都正致力於以組織工程開發小管徑人工血管，藉此發開出仿生的真實血管替代物。

此外，以積層製造技術幫助醫療發展的觀念越來越受人們重視，這為醫療上無法跨越的難題提供了答案，更增加了許多疾病治癒的可能性。積層製造的自由度非常高，可利用更換成生醫材料結合組織工程，以印製具有生物相容性的支架，進行更多醫學研究。其中，以積層製造設計人工血管的研究開發，其大多數的特性不近似真實血管，例如：精度、多孔性、物

理性質（彈性）。綜合以上，若可藉由先進製造技術—三維列印，開發出具有彈性的高精度仿生人工血管，相信在醫療技術中可有另一層的突破。

1.3 研究目的

本研究將利用實驗設計法（Design of Experiments, DOE）開發出可應用在光固化型三維列印技術之生醫材料，並使用此材料結合仿生人工血管支架設計達到最佳化，期望具有高精度、生物相容性，以及符合真實血管特性之物理性質，包括強度、彈性及孔洞。本研究使用部分因子實驗設計，加入三個中心點，希望藉由最少資源及成本達到最大的效益，並可包含以下三項目的：

◇ 工程層面

開發人工血管需考慮多項因素，包括材料、製程及後處理。本研究完整找出因子後，藉由實驗設計法調整製程參數，並以統計分析探討所有因子間的意義，透過最佳化回歸模型初步建構並優化近似最佳化之仿生人工血管支架。

◇ 科學層面

再生醫學是現今醫療的一大突破，其使得人體損壞的部位可利用再生醫學取得更仿生的治療，甚至擁有真實的組織；其中人工血管更幫助心血管疾病的治療。本研究結合組織工程的概念，利用細胞及材料所印製的支架，期望開發仿生人工血管。

◇ 科技層面

本研究使用積層製造技術開發人工血管，選用的技術為數位光固化技術。而積層製造技術的自由度對於新興醫材有了突破性的改變，利用開發材料及建構方式可更易達成過往醫學較難以克服的困境。例如本研究所使用的機台所供應之商業用材料，其為有機溶劑的液態光敏樹脂，因具有毒性而不具生物相容性，因此本研究更換列印材料，並使材料具有光固化特性以利上機列印；另外，也可依所需客製化符合不同細胞生長的材料及結構，達到精準醫療。

1.4 研究架構

第一章 緒論

本章針對研究背景做初步介紹，包含心血管相關疾病及其治療方式，人工血管支架的改變，並說明人工血管支架製造的方法，還有運用於積層製造的人工血管技術及須克服之議題，最後探討本研究之研究動機、目的及研究架構概述。

第二章 文獻探討

本章說明心血管系統及組織工程的基本概念，並介紹運用積層製造技術的生物支架，以過往文獻討論人工血管支架發展狀況及其不足，最後簡介本研究所使用的實驗設計法基本原理。

第三章 研究方法與流程

本章先定義研究問題，找出問題的所有因素後，再介紹本研究所使用的材料與設備並說明實驗流程，最後利用實驗設計法訂定實驗因子與水準，以及反應變數的測定方式與預期範圍。

第四章 實驗數據與結果

本研究利用 Design Expert ®將實驗數據進行 ANOVA 分析，並得到各反應變數之顯著因子，最後依照選定的可行解之參數進行實驗，將樣本印製出來後，測得反應變數，並進行分析與討論；其中，以三維散佈圖進行綜合比較，並藉由觀察反應變數之實際值與預測值的誤差率，來判斷本研究之模型是否準確。

第五章 討論與未來建議

本章總結實驗結果，並針對實驗結果給予本研究所開發之材料運用於人工血管在未來的建議。

第二章 文獻探討

本章針對製造人工血管之背景加以詳述說明，包括心血管系統的介紹，運用組織工程理念列印人工血管及過往研究，最後是簡單介紹本研究所使用的實驗工具—實驗設計。

2.1 心血管系統

生物體內的循環系統（Circulatory System），廣義而言是負責血液輸送的心血管系統及循環淋巴的淋巴系統。主要在給予體內各生理組織生存所需的氧氣、養分並回收廢物，以維持人體生理系統之平衡；血液流通全身，其中包括血漿、紅血球、白血球及血小板，藉由心臟跳動打出血液經由血管循環身體各部位（Wikipedia, 2017）。

人類的心血管系統主要由心臟及血管組成，如圖 2.1。分為從心臟打出含氧量高的血液運送到全身各器官的動脈（Artery），連接動脈與靜脈作為物質交換的微血管（Capillary），以及血液含氧量低並使血液回流至心臟的靜脈（Vein）。當人體心血管功能出現問題，即需針對不同病症給予不同的治療，以下將介紹血管結構及疾病治療方式。

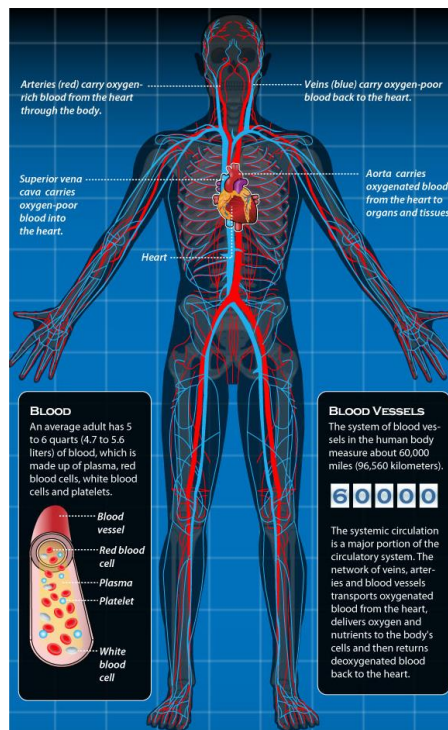


圖 2.1 心血管系統

資料來源：Live Science（2013）

2.1.1 血管構造

血管是具有彈性的中空管，管壁共有三層的構造，根據 John Wiley & Sons (2010)、林大鈞 (2002) 以及王基信 (2012) 對血管構造所做的分類，整理如下，其分為內膜層、中膜層及外膜層，如圖 2.2。

1. 內膜層 (Tunica Intima; Tunica Interna)

位於最內層稱作內層模，由單一層的內皮細胞 (Endothelial Cell) 所組成，其與血管呈平行排列，主要功能是用來保護血管，且平滑表面讓血液能夠順利輸送。若是動脈則還有一層位在內膜層與中膜層的內在彈性層 (Internal Elastic Lamina)，是由彈性蛋白 (Elastin) 組成，上面有窗孔 (fenestrae)，可讓養分穿過，以滋養深層的管壁細胞。

2. 中膜層 (Tunica Media)

介在內膜層與外膜層之間的稱作中膜層，其結構最厚，是由平滑肌細胞 (Smooth Muscle Cell) 及彈性纖維組成，平滑肌可控制管腔的大小，有助於控制血壓。此層在動脈中作用更大。

3. 外膜層 (Tunica Adventitia; Tunica Externa)

最外層稱為外膜層，由結締組織組成，動脈中，由於管壁厚，有許多供養管壁的小血管以及支配血管的小神經在此層。

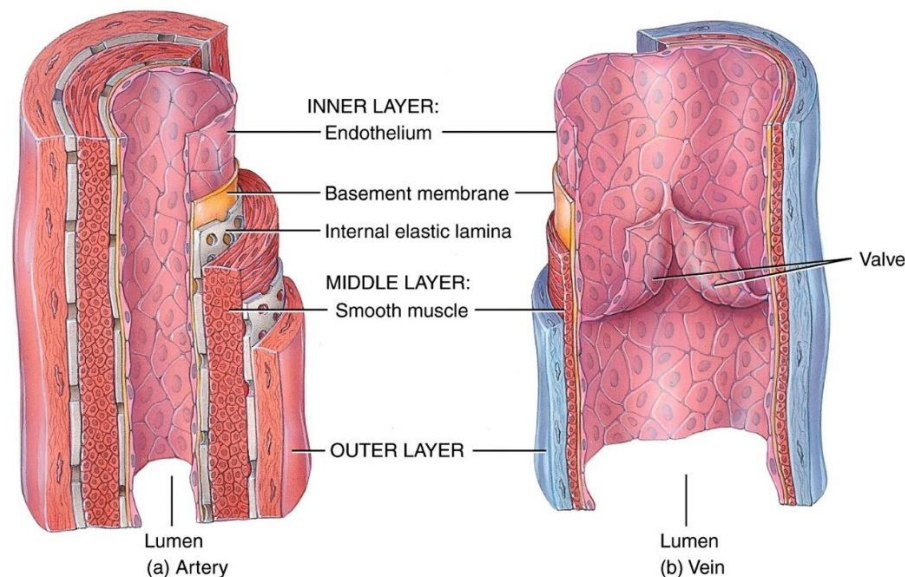


圖 2.2 動脈/靜脈構造

資料來源：John Wiley & Sons, Inc. (2010)

2.1.2 常見之心血管疾病及治療方式

2014 年全球十大死因，心血管疾病相關疾病加總是最高的，在心血管疾病當中，由冠狀動脈疾病（Coronary Artery Disease, CAD）與動脈瘤（Aneurysm）最為常見，其中冠狀動脈疾病在 2012 及 2013 年位居全球死因首位(Finegold, Asaria, & Francis, 2013)，同時在世界衛生組織（WHO）的全球疾病負擔協會也指出這項證明。冠狀動脈症候群（CAD）又稱冠狀動脈粥狀硬化心臟病、冠狀動脈粥狀硬化心血管疾病或冠狀動脈心臟病，簡稱冠心病。而動脈硬化就是脂肪、膽固醇及三酸甘油脂的堆積，讓動脈變硬、變脆，或是變窄，造成血流量變小；動脈瘤是因血管壁變薄或失去原有的機械強度，管內的血壓把血管撐成球型，這種地方通常比較薄弱而容易造成血管破裂形成大出血(宋信文, 張楚欣, 虞佩信, & 施正軒, 1994)

冠狀動脈症候群以動脈粥樣硬化的最常見，因脂肪、血栓以及在體內作用為連接與傳輸營養等的結締組織在血管內沉積，造成人體危害，其特徵是動脈慢性退化，造成各種物質聚集在動脈壁，使之變硬變厚，以致動脈失去彈性，由圖 2.3 的血管側面剖析圖可更清楚見到血管由左至右，正常到堆積物的產生狀況。

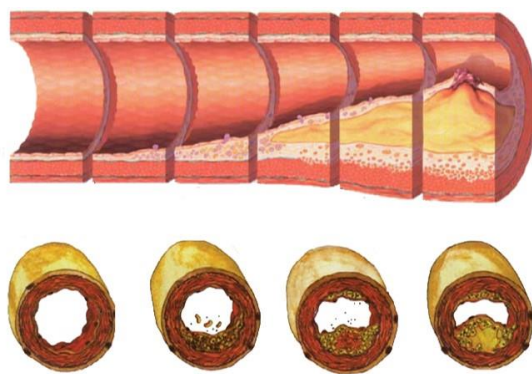
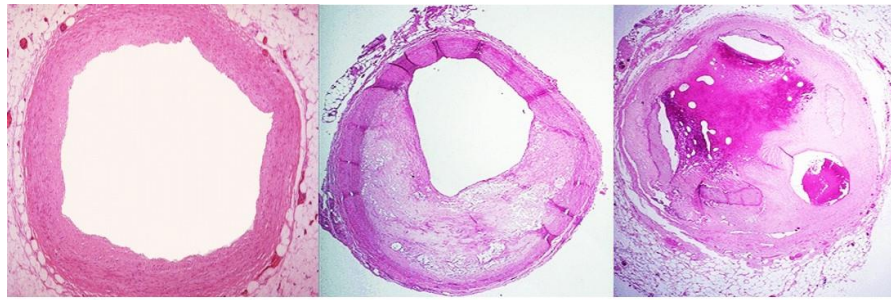


圖 2.3 冠狀動脈粥樣硬化

資料來源：本研究整理

動脈硬化好發於先進國家，其最危險族群為高脂血膽固醇、高血壓、糖尿病、吸菸、肥胖及高齡等，下圖 2.4 是將真實血管切片觀察解剖圖，也可看出當血管有嚴重堵塞或血栓，整體的血管通暢度就極低，可能造成心肌梗塞、心律不整嚴重下甚至心臟衰竭。



正常動脈血管 粥狀硬化50% 嚴重堵塞與血栓

圖 2.3 動脈粥狀硬化剖面

資料來源：本研究整理

當遇到冠狀動脈疾病或動脈瘤，則需接收治療。輕者以內科治療或藥物治療，內科治療主要是將造成心血管疾病危險因子進行改善，例如戒菸，而藥物治療是以抗血小板藥物為主。若內科或藥物無法有效治療症狀，較嚴重者則是以更積極方式治療。一般常用的治療方式為經皮介入性治療（Percutaneous Coronary Intervention, PCI），例如氣球擴張血管成形術或是放置血管支架，來確保血管的暢通。經皮介入性治療的優點為傷口小，恢復的速度快，缺點為動脈血管經擴張後仍易於發生再狹窄。當病患不適用經皮介入治療法時，則需進行冠狀動脈繞道手術。冠狀動脈繞道手術是使用額外的血管以連接阻塞血管的二端形成新的通路，其目的是另闢路徑讓血流繞道而行。其優點是再狹窄的發生機率低，缺點是需全身麻醉，且傷口較大。此外，額外連接的血管來源有自體血管、異體血管及人工血管。其中以自體血管為最佳，其可避免排斥問題，但可取得的來源有限。

由上述可知，若進行血管外科手術，其最大問題則是血管的來源。因自體天然血管數量相對缺乏，手術中常需使用到人工血管。因此，人工血管的發展與研究，是本研究欲探討的議題。下一小節則針對人工血管加以說明。

2.1.3 人工血管手術之發展

在認識人工血管之前，首先要了解心血管疾病治療從過往發展到現在的重要事蹟。在國外，心血管疾病的治療其實早在 20 世紀以前就有重要的發展。1888 年 Rudolph Matas 提出以動脈瘤內部縫合術治療動脈的方法；1897 年俄國 Eck 提出血管吻合術（Anastomosis）；1906 年 Goyanes 使用膈

靜脈來代替形成動脈瘤病變的膈動脈以重建動脈，成為第一個體內血管移植（王基信，2012）；1938年 RE Gross 第一次完成開放性動脈管症（Patent Ductus Arteriosus, PDA）的結紮手術；1967年 RG Favaloro 在美國 Cleveland Clinic 首次完成冠狀動脈繞道手術（Coronary Artery Bypass Surgery），如圖 2.4，對於血管阻塞等疾病建立一個里程碑；而後 1977年 Andreas 完成了冠狀動脈氣球擴張術（Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty, PTCA）；在國內，1980年 6月首次開展冠狀動脈氣球擴張術，如圖 2.5；爾後在大型教學醫院使用多元的冠狀動脈介入性治療，至今血管相關治療已相當成熟（連文彬 & 曾春典, 2011）。在人工血管方面，1950年代 Voorhees 發表了以合成纖維製作的管狀來當作動脈假體；1952年哥倫比亞大學的 Voorhees、Jaretski 與 Blakemore 製作出管壁具有孔洞性的人工血管成功替代狗身上的動脈，此後許多學者測試開始測試各種不同的材料來研發更合適的人工血管（王基信，2012）；1960年代可被吸收的血管支架的概念被建立出來，而在 1979年可完全被吸收的支架已完成；在 1982年第一個嘗試完全以生物學的方式，在體外利用膠原及培養血管細胞建構血管結構（Lal, Viola, Hicks, & Grad, 2003）；最終在 1986年 Weinberg 及 Bell 研發出第一個組織工程人工血管（Ravi & Chaikof, 2010）。

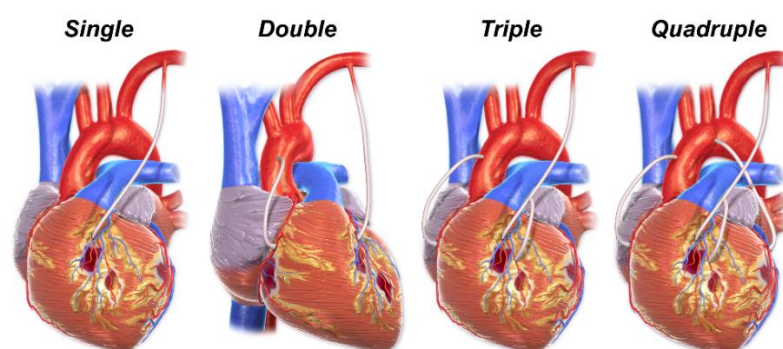


圖 2.4 冠狀動脈繞道手術支架（Coronary artery bypass Graft, CABG）
四種型態

資料來源：Blausen.com staff（2014）

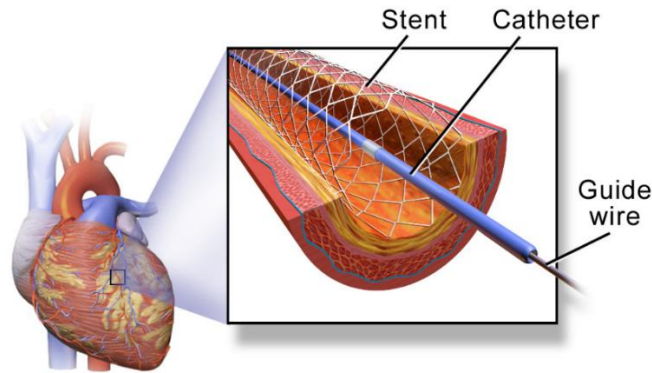


圖 2.5 冠狀動脈氣球擴張

資料來源：Blausen.com staff (2014)

2.1.4 人工血管之分類

基於上述的發展，宋信文等人將一般手術常用的人工血管支架分為四大類(宋信文 *et al.*, 1994)：

1. 生物組織型人工血管 (Biological Vascular Graft)

生物組織型人工血管又可分為：

- (1) 自體移植 (Autograft)
- (2) 同種異體移植 (Allograft ; Homograft)
- (3) 異種移植 (Xenograft ; Heterograft)

自體移植是所有人工血管中最合適的一種，因為其來自自身血管，人體的免疫系統不會進行攻擊，因此自體移植是所有小口徑的人工血管表現最佳的一個，最常使用到的血管位於腿上的隱靜脈及胸部的內乳房動脈。缺點為由於來自自體血管，患者會有額外傷口，最大問題是來源有限。

同種異體移植來源主要為往生者的血管，經過消毒並低溫保存後，患者尋找適合的血管進行移植。但其缺點為免疫系統效果較自體移植差，且來源也有限，更有傳染疾病之風險，因此臨床上使用機率不大。

異體移植是從動物（例如牛、羊、豬與馬等）取得血管，經過化學處理後植入患者身上，而化學處理的作用主要是降低人體的免疫系統因外來血管進入而造成攻擊的行為，同時也是增加其生物相容性，另一點是幫助血管機械強度。缺點為此種血管易造成血栓與血管糾結等問題。

2. 合成型人工血管 (Synthetic Vascular Graft)

以合成的方式得到高分子量之材料，經過加工製成人工血管，材料通常有好的機械性質，但是生物相容性不佳，達克龍(Dacron)及鐵氟龍(ePTFE)等是目前常見之已商業化材料(Ravi & Chaikof, 2010)，如圖 2.6。達克龍是以編織的方式製成人工血管，依編織方法分為針織 (Knitted) 與梭織 (Woven)，如圖 2.7。達克龍適用於血壓較高的主動脈及大管徑動脈，但其血液相容性不佳，若放置在小管徑血管易發生阻塞，因此不適合做為小管徑人工血管。而鐵氟龍為一種化學抵抗性極佳的高分子材料，其優點是表面具有高負電性、血液相容性佳、孔徑較小，不需作預凝血且平滑容易縫合。但缺乏縱向彈性，移植後血管壁容易生成假性動脈瘤(林大鈞, 2002)。這些人工血管植入到大管徑中的通暢率 (Patency Rate) 五年之後大約高達 95%，但若在小血管中，五年後只剩下 15%左右，因此人工血管的研究目前大多在小口徑的人工血管。合成型人工血管目前的問題有：孔隙度(Porosity) 過高造成之大出血、血栓、血管壁增厚和細菌感染等。



圖 2.6 合成型人工血管

資料來源：Keywordsuggest (2017)

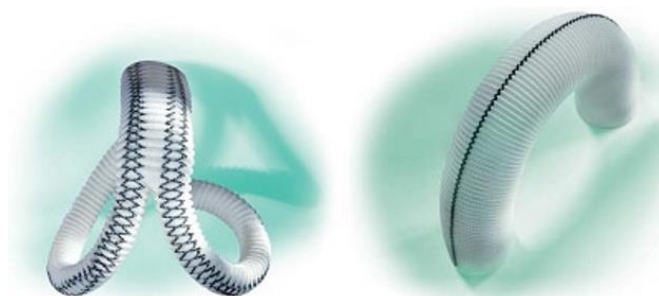


圖 2.7 編織方式 (左圖為針織，右圖為梭織)

資料來源：中國數字科技館 (2017)

3. 生物混合型人工血管 (Biohybrid Vascular Graft)

生物混和型是在合成型人工血管這種高分子材料內壁渡上一層生物材料 (Biological Material)，用以增加生物相容性，主要是為了克服合成型人工血管所產生的問題。常使用的生物材料包括蛋白素 (Albumin)、明膠 (Gelatin) 和膠原蛋白 (Collagen) 等。

4. 組織工程之人工血管 (Vascular Tissue Engineering)

這類型是利用組織工程的概念，做出近似天然血管的取代物 (Graft)，是目前最多科學家研究發展的人工血管類型。方式是將細胞培養後，與符合需求的管狀支架 (Scaffold) 結合，以製成人工血管。其移植後可將受損的部位再生成天然血管，這使血管治療的領域又再走向另一篇章。本研究將利用組織工程的方法進行人工血管開發，詳細的組織工程人工血管說明將在下一節討論。

2.2 組織工程

2.2.1 組織工程之發展

組織工程是一個跨領域的概念，結合了工程及生命科學的原理來開發生物替代物，用以修復、維持或是改善組織的功能(Sarkar, Schmitz-Rixen, Hamilton, & Seifalian, 2007)。上一節提及到，在傳統上外科手術處裡受損大多利用重建的方法，直接對患者做手術縫合。但在二次大戰期間，科學家欲以「仿效自然」的方式來創造人體器官取代物。最一開始是使用人工物質，例如合成高分子。但科學家發現人工合成的物體在體內放久會有排斥問題，因此才漸漸地發展出以人體組織移植結合人工材料，往組織工程方向前進。

在 1970 年代末期，麻省理工學院的 Eugene Bell 實驗室在體外培養出皮膚及血管等組織。1980 年代麻省理工學院 Robert Langer 教授及哈佛醫學院 Joseph Vacanti 等人證實高分子材料結合細胞可培養新生組織，有名的案例是 1992 年在老鼠背上培養出人耳形狀的軟骨。而在 1990 年代組織工程原理的雛型大致建立(徐善慧 & 陳俊宇, 2002)。

組織工程學的概念是由美國國家科學基金委員會 (National Science Foundation, NSF) 於 1987 年正式提出和確定 (Wikipedia, 2017)。再這之後，國內外很多國家都開始致力於研究這項領域，1997 年美國投資組織工程的研究經費大約 5 億美元，且年增率約 22%(李宣書, 2001)，可謂具有很大的市場，甚至在 1995 年發行期刊《組織工程》(Tissue Engineering)。

2.2.2 組織工程基本概念

組織工程簡單的說，就是把損壞的器官或組織取出，並換一套新的到身體內，在組織工程中，以目前醫療狀況，器官受損無法使用的治療方式有二種，第一為植入人工替代物或機械裝置，第二是活體或遺體的器官移植(李宣書, 2001)。目前普遍運用的定義是由 Langer 和 Vacanti 所提出，其定義組織工程是結合工程學及自然科學為一體的綜合性學科，並發展生醫材料以修復、替代，提高人體器官及其功能 (Wikipedia, 2017)。

組織工程的基本步驟及方法如下：

1. 從人體採集細胞
2. 讓細胞分離之後將細胞培養到足夠的數量
3. 將細胞養在所需的人工支架中
4. 必要時加入一些生長因子來促進細胞分化
5. 使之成為再生細胞後移植到患者身上。如圖 2.8。

組織工程的三大要素為細胞(Cell)、支架(Scaffold)和訊息因子(Signal)。其中細胞是從患者身上取得以利培養出合適的組織，支架是用於支撐細胞成長為一個完整的組織的框架材料，而訊息因子是引導和協調細胞的行為。

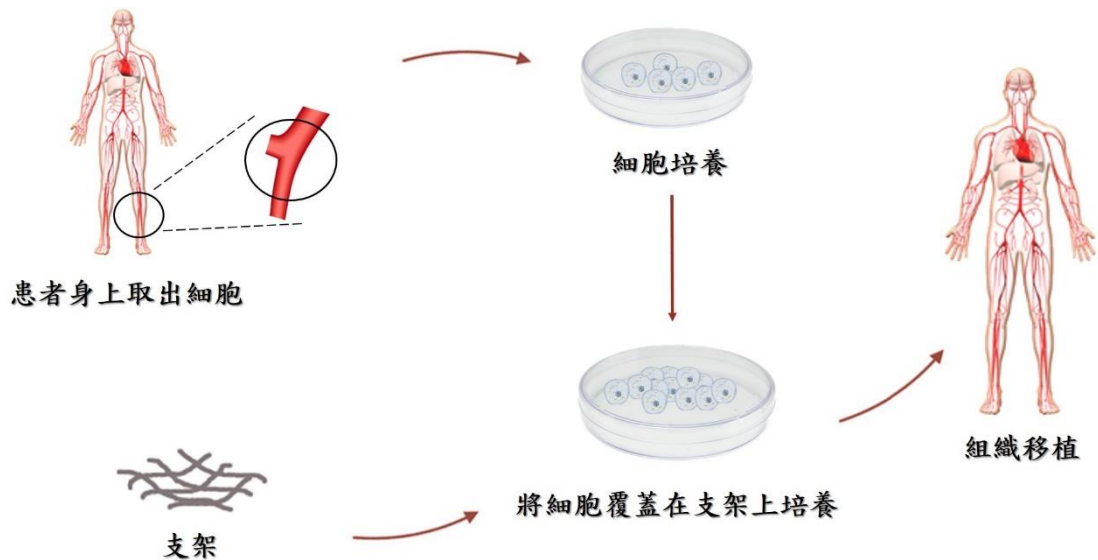


圖 2.8 組織工程概念

資料來源：本研究整理

其中支架扮演重要角色，其如同組織工程中的鋼架，支撐起所有要素。設計一個最基本的支架需要有以下要求(Ma, 2004)：

1. 支架需有高孔隙率及適合的孔洞大小
2. 具有生物可降解性及適當的降解速度
3. 支架需有合適的機械強度
4. 需為無毒，也就是具有生物相容性
5. 支架需與細胞有正向積極的作用，包括細胞存活率、細胞生長、細胞移植、及分裂等功能。

組織工程的最大特色是其固有的生物穩定性，具有成功植入並治癒的特性(Sarkar et al., 2007)。在過往許多製造組織工程人工血管的研究中，很多學者致力於開發出包括以上五點的人工血管支架，儘管已有相當亮眼的研究成果，但是仍有存在許多問題，例如仿生支架的製造。本研究意主要是利用更先進的方式—積層製造，並結合不同以往的材料印製支架，來開發組織工程人工血管支架。

2.3 組織工程之人工血管

2.3.1 組織工程之人工血管分類

組織工程可以應用在很多領域上，例如皮膚、軟硬骨、心臟瓣膜、血管、肝臟等，本研究已闡述將開發人工血管，因此在上一節了解組織工程的基本概念後，本節將介紹組織工程應用在血管。一般組織工程型之人工血管可分為以下三類(Ratcliffe, 2000)：

1. 內皮化的合成移植物 (Endothelialized synthetic grafts)

此方式是為了修飾合成型人工血管，方法是先取自體細胞出來後，在體外培養至足夠的數量，再植入到合成型人工血管中，使管腔上佈滿單層內皮細胞(Jarrell et al., 1986; Schmidt, Hunter, Sharp, Malindzak, & Evancho, 1984)。這個方式可以提高生物相容性及機械性質，使之與天然血管更接近，也提供了小管徑的合成移植物邁向成功的潛力。

2. 以細胞和生物相容性支架為基底的組織工程血管移植物 (Cell and biocompatible scaffold-based tissue engineered vascular grafts)

這個方法是使用具生物相容性的支架(具降解性或非降解性)來製作人工血管。它提供了二種能力，其一是可以在體外快速地形成組織，其二是可以具有天然組織的能力。方式是將細胞植入到支架，培養至少 8 週，待其替代降解的支架或是養到支架孔洞中，再將內皮細胞植入管狀表面以形成二層結構，其性能可承受超過 2000 mmHg 的壓力。本研究使用這個方式製作人工血管。

3. 以細胞為基底的組織工程血管移植物 (Cell-based tissue engineered vascular grafts)

此方法不需管狀支架。方式是先將平滑肌細胞與皮膚纖維母細胞 (Fibroblasts) 培養成單層組織，再將其依圓柱狀繞成管狀，使其成為圓管。培養一段時間後取下它，並在管壁內植入內皮細胞，如此就能形成三層代表基本的天然動脈結構。這種方式結合了細胞培養用以形成管狀的結構，它可以承受 2000 mmHg 的壓力，與天然血管相似。

2.3.2 生物支架製造技術

組織工程的主要目的是製造受損組織或器官的替代物，其中支架擔任重要的。支架的主要功能在於可以提供合適的場所讓組織生長及細胞增殖(Ma, 2004)。一個理想的生物支架須具備多孔性 (Porous)。建構三維多孔結構的基本方式是將固態的聚合物轉為液態，利用溶解或熔融來成型(Janik & Marzec, 2015)。以下將簡單介紹四種支架的製造技術(Fallahiazouard *et al.*, 2015)：

1. 顆粒析出法 (Solvent Casting ; Particle Leaching)

顆粒析出法是將模具中的聚合物溶液加入鹽粒，當聚合物溶液濃度介於 5 - 20%時，可藉由鹽粒形成特定大小的顆粒。待其乾燥後，倒入水溶液將鹽粒溶解，如此便可製作出具有孔洞的支架，如圖 1.2。此法的溶劑可以幫助細胞貼附與增生，但是有些溶劑是有毒性的，且支架形狀較難以多樣化。

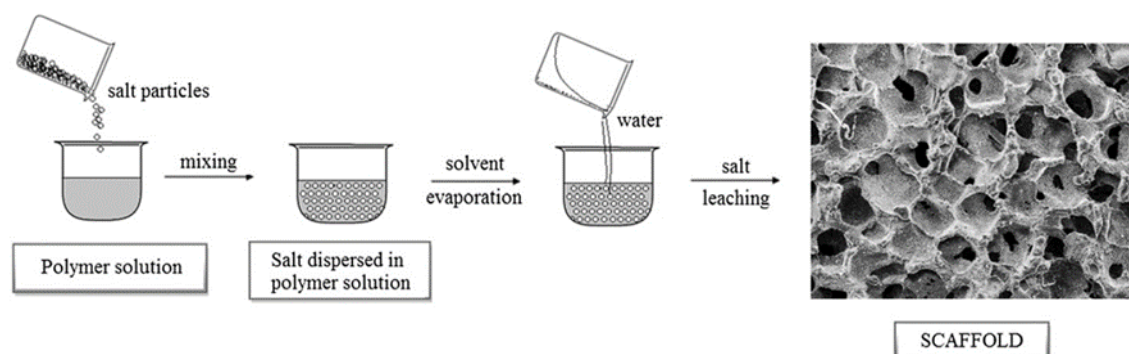


圖 2.9 顆粒析出法

資料來源：Janik and Marzec (2015)

2. 冷凍乾燥法 (Freeze Drying)

冷凍乾燥法通常以膠原蛋白 (Collagen) 為材料基底，方法為置於 -30°C 中產生具孔隙的晶體，再使晶體蒸發以形成多孔支架。孔洞的尺寸可以透過冷凍速率和 pH 值控制，但孔洞大小通常難以控制精確。

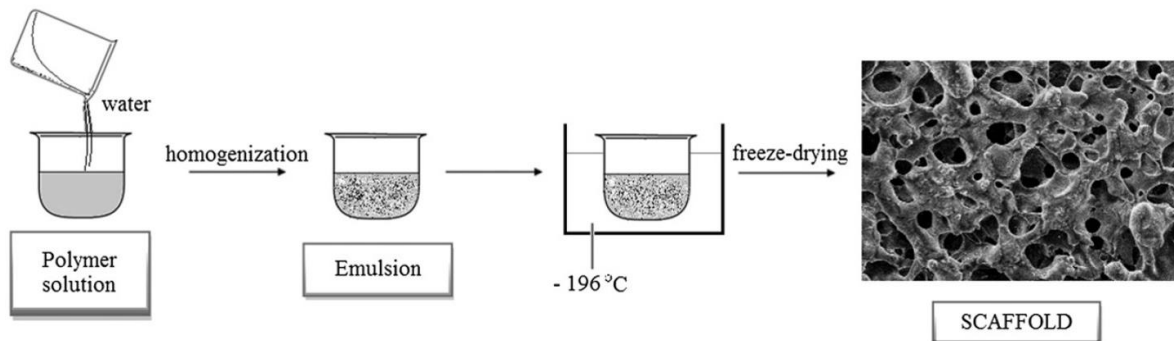


圖 2.10 冷凍乾燥法

資料來源：Janik and Marzec (2015)

3. 靜電紡絲 (Electrospinning)

靜電紡絲是一種直接用於製造心血管支架的製造方式。從液體中利用高壓電漿噴灑高分子溶液，再將抽出的極細纖維捲在旋轉的棒材，用以做出管狀結構。其優點是高孔隙率，缺點則是機械性能低，剛性不夠，且耗時。

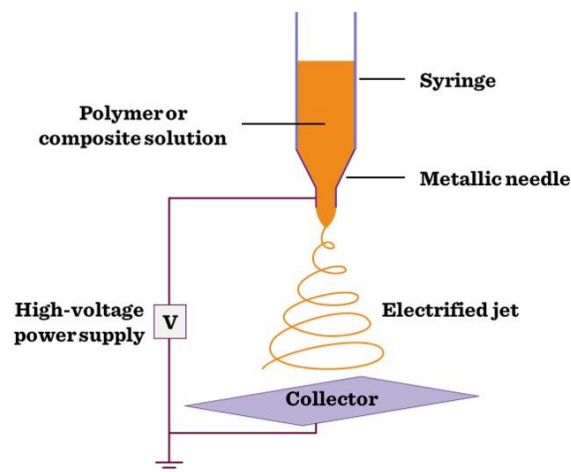


圖 2.11 靜電紡絲

資料來源：Bartis and Pongrácz (2011)

4. 固態自由成型 (Solid Free Form, SFF)

以層層堆疊的方式建構支架，簡稱積層製造，也是俗稱的三維列印。其優點是自由度很高，不管是在材料上或運用上都可以有多樣的變化，但是成本相對較高。

一般來說，支架製造技術可分為二類：傳統 (Conventional) 及先進 (Advanced)。傳統技術包括顆粒析出法、熱誘導相分離法 (Thermal Induced Phase Separation, TIPS)、氣體發泡成形法 (Gas Foaming) 等。先進技術包括靜電紡絲、積層製造、快速原型等 (Janik & Marzec, 2015)。根據較常見的支架製造技術，本研究以傳統及先進技術作為分類，並整理出各技術的材料需求、可製成的孔洞大小及缺點，如表 2.1。

由於先進技術中的積層製造所給予的自由度極高，本研究將針對此項技術進行組織工程之人工血管研發，下一節針對可應用在生醫領域之積層製造技術做說明。

表 2.1 支架製造技術分類表

| 傳統 (Conventional) 支架製造技術 | | | |
|------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|--|
| 製造技術 | 材料需求 | 孔洞大小 | 缺點 |
| 顆粒析出法 (Particle Leaching) | 1. 可溶於溶劑 | 50-1000 μm 孔隙率：30-90% | 1. 有毒溶劑 |
| 冷凍乾燥法 (Freeze-Drying) | 1. 可溶於溶劑 | <200 μm 孔隙率：70-95% | 1. 有毒溶劑 2. 孔洞大小 難以控制 |
| 熔融成型 (Melt moulding) | 1. 多用於多孔 陶瓷與金屬 2. 亦可用於 聚合物材料 | 30-450 μm 孔隙率：64-88% | 1. 溶解出孔洞 有困難性 2. 不耐高溫 |
| 熱誘導相分離法 (TIPS) | 1. 可溶於溶劑 | 36-387 μm 孔隙率：80-94% | 1. 難以控制 200 μm 以下之 孔洞大小 |
| 氣體發泡成形法 (Gas foaming) | 1. 聚合物 | 50-2000 μm 孔隙率：75-85% | 1. 孔洞大小 難以控制 |

| 先進 (Advanced) 支架製造技術 | | | |
|-----------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------|
| 製造技術 | 材料需求 | 孔洞大小 | 缺點 |
| 靜電紡 (Electrospinning) | 1. 纖維 | 20-1000 μm | 1. 低剛性 2. 耗時 |
| 固態自由成型 (Solid Free Form) | 1. 低溶點 2. 熱塑性 | > 150 μm | 1. 成本高 2. 需電腦高精度設計 |

資料來源：本研究整理

2.3.3 積層製造技術

隨著積層製造的興起，積層製造已被應用在各種領域。除了應用在各式模型、航太和汽車工業以外，現今也廣泛的運用在醫學領域，例如顎面修復、牙模、手術模型、手術導引版及生醫等。此外，在積層製造與組織工程的結合下，已可製作出更為複雜且仿真的支架(Bracaglia et al., 2017)，使得醫學領域走進另一個世界，甚至在未來有機會列印出具有功能的活體器官。

積層製造技術是藉由層層堆疊累積的方式建構工件，又稱為三維列印、加法製造，可建構出任意形狀之工件。積層製造首先需取得三維立體模型影像，來源可從 CAD/CAM 軟體直接設計、電腦斷層掃描影像 (Computed Tomography, CT) 或核磁共振影像 (Magnetic Resonance Imaging, MRI) 得到。其中，電腦斷層掃描影像及核磁共振影像可藉由 CAD/CAM 設計並客製化，達到醫學治療效果。取得所需的三維影像後，將圖檔切層，而後使積層製造機台讀取檔案，即可開始進行列印。列印過程是由最底層開始層層建構到工件完成，並經由後處理除去支撐結構，如此便完成欲取得之工件。下圖以醫學案例介紹積層製造製作過程，如圖 2.12。

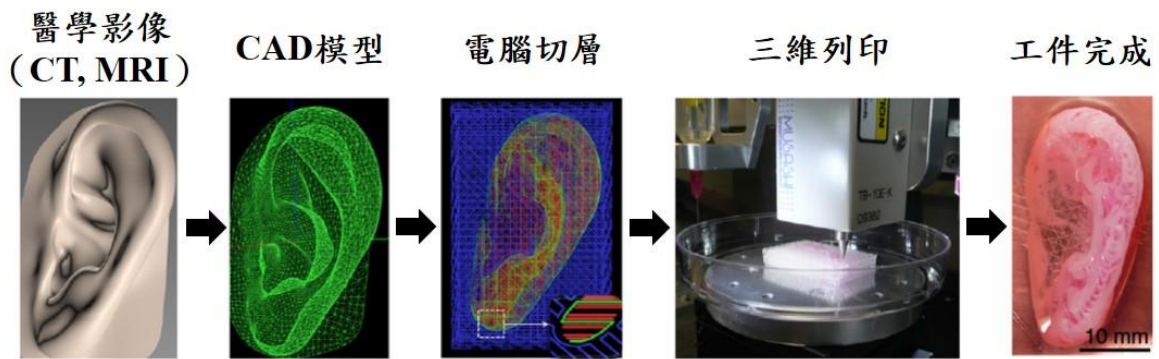


圖 2.12 積層製造製作原理

資料來源：Guvendiren et al. (2016)

在第一章有說明積層製造可分為七種製造技術，而可運用於組織工程中的技術分別為以下四種，本節針對這四種加以說明：

1. 熔融沉積成型 (Fused Deposition Modeling, FDM)

熔融沉積成型原理是將具有熱溶性的材料加熱至半液體狀，再由擠出輪及軸承行 XYZ 軸走向連接噴頭將材料不斷擠出，經過層層堆疊材料至工件完成。

在精度方面每層厚度為 $250-370 \mu\text{m}$ ，而生物支架孔徑在 $250-1000 \mu\text{m}$ 。其優點是成本低，機械強度較佳，透過調整參數可建構出漸層 (Gradient) 的結構。雖然仍有許多研究使用熔融沉積成型來印製支架，並做各種測試，包括物理性質、生物相容性測試等，但是在材料上限制很多，這項技術的材料需要具有熱熔性的特性，一般天然聚合物大多不適用，且在列印期間溫度達 $100-140^\circ\text{C}$ 才可使材料成半液態狀，高溫會影響添加生物分子，更難以製作出仿生的支架 (Bracaglia et al., 2017)。另外，噴頭所擠出的材料通常帶有絲狀，遇到室溫即固化，易造成列印的孔洞阻塞。以上種種問題使得熔融沉積成型對於製造生物支架上有其限制。

2. 選擇性雷射燒結 (Selective Laser Sintering, SLS)

選擇性雷射燒結成型原理是利用高功率的雷射光，選擇性地將聚合物粉末顆粒加熱到其熔點，使顆粒融合在一起，完成一面後，鋪上新的一層聚合物粉末，重複上述過程以至工件完成。

在精度方面每層厚度為 $76-100 \mu\text{m}$ ，而生物支架孔徑在 $45-100 \mu\text{m}$ ，其優點是印製不會有支撐結構，因此不須額外清除步驟。另一優點為印製解

析度高。最大特色是可使用聚合物材料，這項優勢適合組織工程的製作。缺點則是因加工溫度高，材料是粉末狀，卡在成品內不易清除。另一缺點是這項技術列印速度慢、機台體積大、價格較昂貴且需要大量材料(Guvendiren et al., 2016)才得以製作出一個工件。

3. 立體平版印刷 (Stereo Lithography Apparatus, SLA)

立體平版印刷成型原理是利用光束 (UV 光或雷射) 掃描液態光敏感樹脂使其固化，待固化一層後，平台下降，再重複上述步驟，層層堆疊出成品，屬於光聚合固化。立體平版印刷是積層製造中最早期的一種技術，始於 1980 年代中期(Guvendiren et al., 2016)。

精度方面每層厚度為 25-100 μm ，較前二種技術有更高的精度。通常為商業用材料，具有毒性，因此目前的研究著重在可運用於生醫領域的材料開發。

4. 數位光固化技術 (Digital Light Processing, DLP)

數位光固化技術與立體平版印刷很相似，屬於光聚合固化，利用光源讓液態光敏感樹脂固化，光源為紫光或藍光的投影技術。列印方向與立體平版印刷相反，平台是倒掛在上方，浸在樹脂槽當中待投影光照射樹脂材料至固化一層後，平台上升，再重複上述步驟，層層堆疊出成品，如圖 2.13。

精度方面每層厚度為 20-100 μm ，精度也相當高，也是使用具有毒性的商業用材料，因此目前的研究也在開發具生物相容性的材料。

光聚合固化的技術應用於醫療有許多相關研究，早在 1997 年 Langton 等人列印出鬆質骨 (Cancellous Bone) 支架，且孔隙率達 70%，接近人類的真實範圍 75-85%(Langton, Whitehead, Langton, & Langley, 1997)；Lui 等人利用光固化水凝膠列印三維支架(Liu & Bhatia, 2002)，但是他們所使用的方式非全自動列印，相當耗時；Choi 等人印製具生物相容性及生物可降解性之孔洞支架(Choi et al., 2009)。

而數位光固化技術 (DLP) 在醫學應用上，材料可自行開發，且具有高精度。但過往研究大多只針對材料開發與列印支架，較少有專注在生物支架結合機台參數進行探討。因此本研究欲研發具有生物相容性的光聚合固

化材料，並結合機台參數的調整作為研究項目之一，進而設計且列印人工血管。

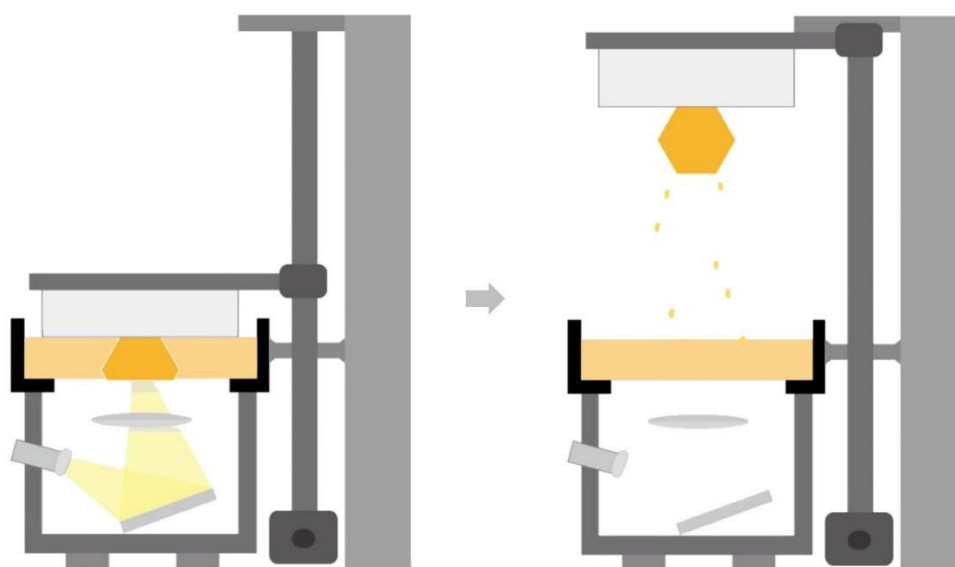


圖 2.13 數位光固化技術示意圖

資料來源：本研究整理

2.4 人工血管支架之相關研究

歸納以往針對人工血管的研究，大多是以製造的方式開發人工血管支架，而製造方式大致分為二種：(1) 間接式製造 (2) 直接式製造。間接式製造大多是傳統製造人工血管的方式，先製作可溶解的實心管道，再灌模待其管外範圍成形後，將實心管道溶解以形成內部通道，以翻模的方式製造人工血管，除了方式繁瑣、耗時之外，有矩陣型的外觀，只能在體外模擬管道，難以將其應用在人體內；而直接式製造大多以積層製造的方式建構，直接印製的方式相較之下節省很多時間，且印製出的即是研究所需要的外型，若是為血管形狀更有可能可以植入體內進行動物實驗。

本研究所使用的數位光固化技術就是直接列印出人工血管的形狀，而實驗的目標是透過實驗設計之最佳化回歸模型，初步建構近似最佳化之仿生人工血管支架，因此實驗的反應變數須符合人工血管的特性，以下將針對人工血管的製造與測定之相關研究做整理。

2.4.1 製造人工血管支架相關研究

回顧過往研究，在製造人工血管上有許多種方式，追求的目的不同，所使用的材料也不盡相同，特性更有所差異。由於本研究所要開發的是近似真實人工血管，所以在測定的目標上以符合真實人工血管特性為主。表 2.2 將人工血管的相關研究進行分類，藍色部分是間接式製造，黃色部分則是直接式製造，實驗測定就血管特性分為生物相容性、彈性、強度、表面精度及孔洞結構。

表 2.2 人工血管支架相關研究

| 作者 (年份) | 研究技術 | 使用材料 | | 實驗測定 | | | | |
|--------------------------|--|---------------------------|------------------|-----------|--------|--------|------------------|------------------|
| | | 材料 | 特性 | 生物 相容性 | 彈 性 | 強 度 | 表 面 精 度 | 孔 洞 結 構 |
| Kielty et al. (2007) | 化學反應 | 彈性纖維 (Elastic Fibre) | 近真實 血管 複合物 | ✓ | | | | |
| Bellan et al. (2009) | 犧牲糖溶 (Sacrificial Sugar) | Polymeric Matrix | 通道 模具 | ✓ | | | | |
| X. Y. Wang et al. (2014) | 犧牲模板 (Sacrificial Templates) | 海藻酸鈉 (Sodium Alginate) | 通道 模具 | ✓ | | | | |
| Takeuchi et al. (2015) | 犧牲材料 | Alginate Hydrogel | 通道 模具 | ✓ | | | | |
| Sooppan et al. (2016) | 犧牲材料 (Sacrificial Sugar) | 有機矽 (PDMS) | 通道 模具 | ✓ | | | | |
| Kolesky et al. (2016) | 犧牲材料 (Sacrificial Sugar) 生物列印(Bioprinting) | Gelatin – Fibrinogen | 通道 模具 | ✓ | | | ✓ | |

| 作者 (年份) | 研究技術 | 使用材料 | | 實驗測定 | | | | |
|-----------------------------|--|---|------------------|-----------|--------|--------|------------------|------------------|
| | | 材料 | 特性 | 生物 相容性 | 彈 性 | 強 度 | 表 面 精 度 | 孔 洞 結 構 |
| Wu et al. (2015) | 電紡絲 (Electrospinning) | 膠原蛋白 (Collagen) 合成聚合物 (Synthetic polymer) | 近真實 血管複 合物 | ✓ | | ✓ | | |
| Meyer et al. (2012) | 雙光子成型 (Multiphoton polymerisation) | 樹脂 (PTHF-DA) | 彈性 | ✓ | ✓ | | | |
| Melchiorri et al. (2016) | 數位光固化 (DLP) | Pol (propylene fumarate) | 可降解 | ✓ | ✓ | | ✓ | |
| Huber et al. (2016) | 光固化成型 (Stereolithographic) | Polyacrylate | 可光固 化 | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| 本研究 | 數位光固化 (DLP) | 胺基樹脂 (Amino resin) | 可光固 化、 快速 | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

註：藍底為間接式製造；黃底為直接式製造

本研究欲利用數位光固化技術開發人工血管。在過往研究中，利用這項技術開發人工血管相對較少，以下整理三篇與本研究較類似的文獻進行探討：

Meyer 等人利用數位光固化成型技術 (DLP) 印製出軟性人工血管，測試其物理性質之特性(Meyer et al., 2012)，如圖 2.13。但是人工血管沒有進行結構設計，雖結構設計非必要，但是若有結構設計，其環境更可幫助細胞生長，另外，此篇研究無測試生物相容性，這在細胞生存上存有疑慮。

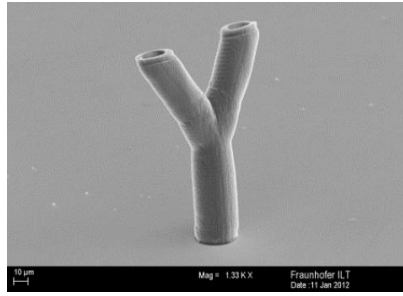


圖 2.14 軟性人工血管

資料來源：Meyer et al. (2012)

Melchiorri 等人利用數位光固化成型技術 (Stereolithographic) 印製出具有彈性之人工血管，並植入老鼠做動物實驗(Melchiorri et al., 2016)，如圖 2.14。此篇研究亦無結構設計。

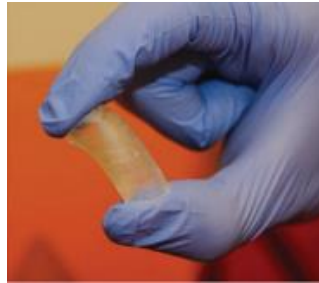


圖 2.15 軟性人工血管

資料來源：Melchiorri et al. (2016)

Huber 等人利用數位光固化成型技術 (DLP) 印製具有孔洞的軟性人工血管，並探討後處理方式使材料降低毒性(Huber et al., 2016)，如圖 2.15。此篇有孔洞結構設計，由於材料在有降解特性的情況下沒有做降解測試，僅一層孔洞可能導致在新生組織尚未建立好之前，人工血管降解使血液流到血管外。

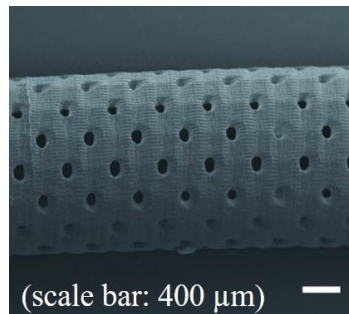


圖 2.16 軟性人工血管

資料來源：(Huber et al., 2016)

從過往研究中可以發現，間接式製造花費太多時間，且大多測定的內容不足以更符合真實血管的特性，缺乏綜合性考量。本研究除了利用直接式製造縮短列印時間，同時結合實驗設計法進行實驗與製程參數的優化，可更快速達到目的。

2.4.2 實驗性質相關研究

實驗性研究主要利用實驗方法，進行參數對各種特性的探討及觀察，並建構物理模型在人工血管（蔡政憲，2015）。專注於實驗性質建構人工血管方面的研究少之又少，其主要方法是依據過往經驗。由於人工血管的所運用的概念為組織工程，表 2.3 列出背景為組織工程，並以實驗性質來優化目標的研究。

表 2.3 運用在組織工程之實驗性質相關研究

| 作者（年份） | 實驗類型 | 實驗描述 |
|--|--|--|
| Weiss et al. (2005) | 反應曲面法 (Response Surface Methodology, RSM) | 運用多階貝氏代理模型 (Multi-Stage Bayesian Surrogate Modeling Methodology, MBSM) 來評斷骨頭生成的狀況，用以觀察骨頭傷口的癒合情形，並藉此節省實驗時間與成本 |
| Lim, Panoskaltsis, Ye, and Mantalaris (2011) | 中央合成設計實驗 (central composite design, CCD) | 利用臍帶血細胞的生長因子優化紅細胞在體外的生成 |
| X. Wang, He, and Zhang (2013) | 試誤法 | 透過不同製程參數，包括材料比例、列印速度、列印層厚及細胞數量印製並優化製程，以列印出具有孔洞的支架並測試其細胞活性 |

2.5 實驗設計法

2.5.1 實驗設計之基本原理

為了探究一個特定過程或系統，幾乎在所有研究領域中都會進行實驗 (Experiment)，實驗是科學方法中重要的一環，而利用科學方法解決問題，大致方式是藉由觀察提出問題或假說，進而收集資料，再由資料的分析得到結論。從結論中再提出更進一步的問題，以此循環，使得問題越來越少，越來越接近答案，而品質也越來越好。實驗也可以定義成有目的的改變或觀測到反應變數變化的原因。

所謂的實驗設計 (Design of Experiment) 就是規劃實驗的過程。利用統計的方法分析數據，得到有效且客觀的結論。實驗設計的三項基本原理是隨機化 (Randomization)、重複 (Replication)、區集化 (Blocking)。

1. 隨機化 (Randomization)

隨機化是實驗設計中使用統計方法的基礎，意旨實驗材料的配置及進行實驗的順序都是隨機的。目的是要減少可能出現的外來因子所產生的干擾 (Nuisance)。而訂定隨機化的實驗順序經常由數字產生器 (Generator) 產生，例如電腦軟體，除了將實驗順序隨機化，實驗中的實驗材料、操作者、測量裝置等都需隨機化。

2. 重複 (Replication)

重複意旨獨立反覆每個實驗因子的各種組合實驗。重複實驗有二種重要的性質：

- (1) 允許實驗者估計實驗誤差的變異數
- (2) 若樣本平均值 (\bar{y}) 是用來估計實驗中因子的效果，則重複可以得到更精確的效果估計值。若 σ^2 是單個觀測值的變異數，且有 n 次重複，則樣本平均值的變異數為

$$\sigma_{\bar{y}}^2 = \frac{\sigma^2}{n}$$

若實驗無重複 ($n=1$)，也就是觀測值平均變異數等於觀測值變異數 ($\sigma_{\bar{y}}^2 = \sigma^2$)，將無法知道觀測值是否真的有差異或是有實驗

誤差。因此，實驗需要重複使誤差變異數凸顯出來，才能真正觀察出觀測值是否有差異。

3. 區集化 (Blocking)

區集化意指提高實驗精準度的設計技術，用以降低或消除干擾因子 (Nuisance factor) 產生的變異。區集內有類似的實驗條件，實驗者在統計設計中將觀測值進行分組，每一組在一個區集進行實驗。

區集化可以將實驗誤差的變異降低或消除，其中最常使用的設計為隨機化完全區集設計 (Randomization Complete Block Design, RCBD)。「完全」一詞代表每一組包含所有處理，也就是區集與處理形成一個同性質更高的實驗單位。

上述三種實驗設計的基本原理，主要是將實驗中所產生的干擾因子利用統計設計的方式降低或消除，使實驗的結果可以客觀及正確。

2.5.2 實驗設計步驟

利用實驗設計法進行實驗，有以下步驟：

1. 確認問題與實驗目的

了解並確認問題所在，有助於實驗及解決方案的快速進行，實驗目的必須是明確具體的，其中問題必須有相關知識及數據的輔助，畫出製程的流程可以更快了解運作情況。

2. 選擇實驗因子、範圍及水準

實驗者必須找出影響品質特徵值的可能因子，例如魚骨圖，以確認對實驗目的顯著之因子，並訂定其範圍及實驗水準，所選擇的因子會影響反應變數的選擇與測量值。其中，實驗因子又可分為潛在設計因子 (Potential Design Factor) 與干擾因子 (Nuisance Factor)。選擇範圍及水準時，盡量使因子水準數少、範圍大。

3. 選擇反應變數

選擇反應變數時需考量實驗目的及目標，確定此變數能確實提供有價值的資訊。

前三項步驟又可稱作前置實驗。

4. 選擇合適的實驗設計

設計的選擇包括樣本數大小、實驗執行的順序及區集劃分等訂定。依照實驗目的的不同，可以選擇全因子實驗設計（Full Factorial Experiment）、部分因子實驗設計（Fractional Factorial Design）或田口實驗設計（Taguchi Design）等。

5. 執行實驗

執行實驗時需確實注意是否按照規畫進行，盡可能排除外在干擾因素以降低實驗誤差。

6. 運用統計方法進行資料分析

使用統計方法分析資料，使決策過程、結果和結論達到客觀性，讓實驗者了解實驗的準確性、實驗因子是否重要及最佳化的結果等資訊。

7. 結論與建議

取得結果後，實驗者需依照結果判斷實驗是否顯著，若無，實驗則需考慮是否重新選擇實驗設計方法，並重新執行實驗；若顯著，則依照結果給予合理的建議。

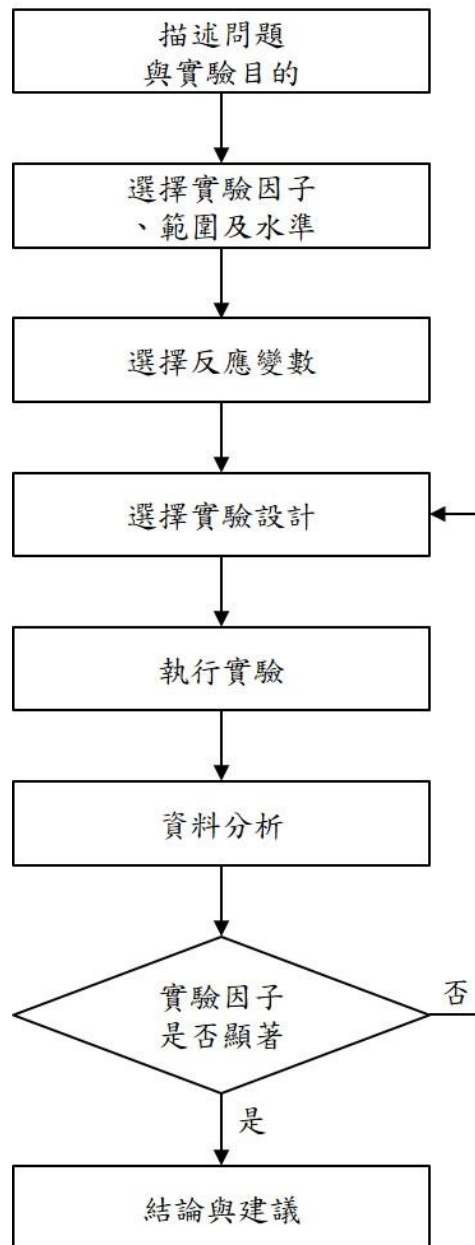


圖 2.17 部分因子實驗設計流程圖

資料來源：本研究整理

而本研究將利用實驗設計的方法取得目的，找尋及設計與人工血管有影響的實驗因子，包括製程、材料配方等，結合數位光固化技術（DLP）開發結構和特性與真實血管相似的人工血管，為提高實驗效率並節省成本，本研究採用部分因子實驗設計，並加入三個中心點，利用統計分析得到顯著模型，計算出最佳化參數，如圖 2.16。下一章將依據此概念進行研究方法與實驗流程的說明。

第三章 研究方法與流程

本章探討製造三維列印人工血管的研究問題及實驗流程，詳細描述前置實驗、實驗設計方法的參數選定，並介紹實驗所使用之材料及設備。最後說明實驗數據的取得。

3.1 問題定義

為了要開發出與真實血管相近的人工血管，需考慮的因素眾多，過往的研究較少以軟性的仿真人工血管做開發，因此本研究期望藉由優化製程，印製出一個具有解析度、軟性及生物相容性的人工血管，並利用實驗設計的方法有系統性地進行實驗，並收集數據得以分析。製造三維人工血管需先了解其大致的製造過程，並探討此過程中的可能因果關係，才能從中較精準地找出真正能影響列印仿生人工血管的要素。列印三維人工血管的基本流程，從配置材料、取得 3D 模型到列印及後處理，任何一個步驟皆有可能影響成品的列印成果，本研究將印製步驟整理成如圖 3.1。

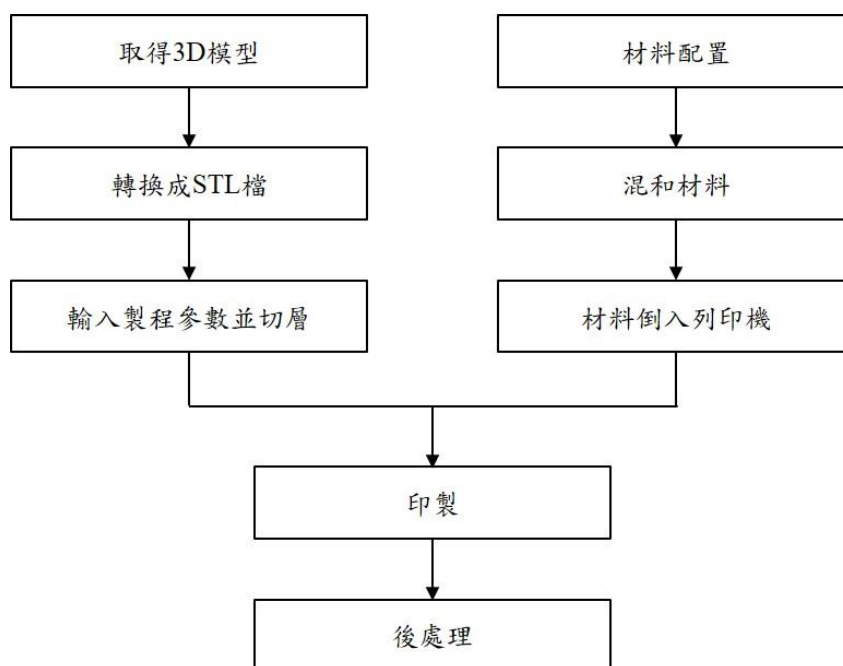


圖 3.1 印製軟性人工血管基本流程圖

資料來源：本研究整理

根據基本流程圖分析其可能影響成果的因素，在製造人工血管的過程中，有許多變數可以控制，但有些無法控制。本研究將可能影響印製人工血管的最終成品的因素分別列出，分成材料特性、材料配置、配置材料器

材、細胞實驗、3D 圖形、印製軟體、列印機、後處理以及製造環境。如圖 3.2，這些原因在實驗設計中為實驗因子。本研究將無法控制的因子定義為固定因子，例如溫度、溼度及列印平台狀態等，由於其難以控制，本研究盡可能降低其影響性；而有些無法預知的因子定義為干擾因子，例如材料受損、燒杯髒污、磁石損壞及細胞實驗汙染與否等，本研究盡可能排除其干擾。其餘因子將依照過往文獻及前置實驗，討論出可能相對重要的因子，進行實驗設計並最佳化。

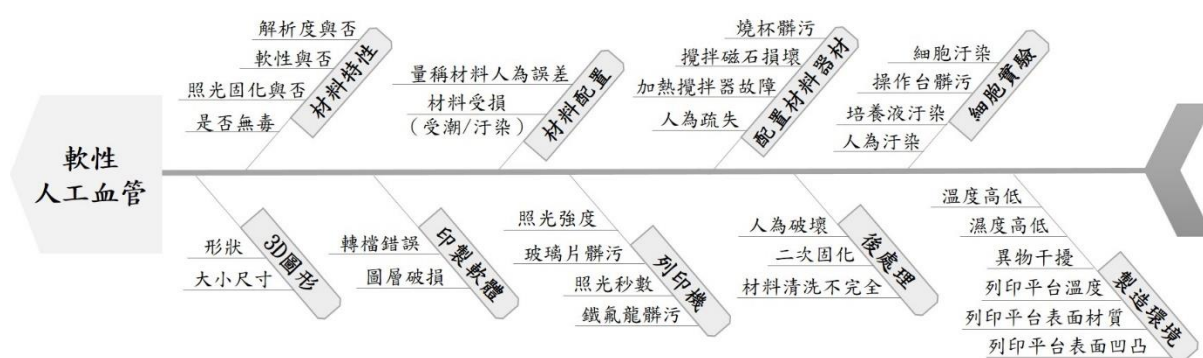


圖 3.2 印製軟性人工血管因果關係圖

資料來源：本研究整理


3.2 實驗材料與設備

3.2.1 材料介紹

1. 胺基樹脂 (Amino resin, AR)

胺基樹脂是一種多官能團的化合物，由含有氨基的化合物與甲醛經縮聚而成的樹脂的總稱。最常做為交聯劑使用，因擁有三個光固化的官能基，配合光起始劑後，在本研究中作為可光固化的材料，且其列印後可讓材料具有彈性。胺基樹脂為本研究的主體材料，在積層製造中較少有其應用，而本研究在實驗中發現，胺基樹脂在固化過程中，會因其比例不同，黏稠度因而不同，故本研究利用前置實驗找尋可上機列印之比例範圍，詳細過程將在 3.3 敘述。而單以胺基樹脂列印的物理特性及生物相容性不符合真實血管，因此需加入不同的材料為胺基樹脂改性。

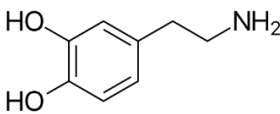

表 3.1 本研究使用之胺基樹脂

| | | |
|-----|---|---|
| 化學式 | $\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \left[-\text{NCH}_2\text{OR} \right]_n \end{array}$ |  |
| 分子式 | $(\text{C}_3\text{H}_6\text{N}_6\text{CH}_2\text{O})_x$ | |
| 供應商 | 恆橋產業股份有限公司 | |
| 特性 | 可製成水溶液或乙醇溶液，也可乾燥成粉末固體，使用時需加填料 | |
| 應用 | 塗料、交聯劑、防皺處理 | |

2. 多巴胺 (Dopamine, DA)

多巴胺是一種腦內分泌物，屬神經遞質，為神經傳導物質的一類。在本研究的作用是為胺基樹脂改性，在多巴胺聚合成聚多巴胺之後，類似貽貝黏蛋白的結構和黏附性能，可在材料表面迅速成膜，提高材料表面的親水性和化學多功能性(刘宗光, 屈树新, & 翁杰, 2014)，在合成過程中有短時間為黃色，長時間處於黑色，具有沉澱物。對於本研究是可將材料解析度提升，且加入少量的多巴胺可促進細胞貼附，讓材料具有良好的生物相容性。

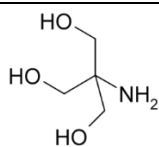

表 3.2 本研究使用之多巴胺

| | | |
|-----|---|---|
| 化學式 |  |  |
| 分子式 | $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ | |
| 供應商 | 慕容科技有限公司 | |
| 作用 | 腦內信息傳遞者、負責大腦的情慾及感覺 | |
| 應用 | 生物材料表面改性、提高生物相容性 | |

3. 三羥甲基氨基甲烷 (Tris (hydroxymethyl) aminomethane, Tris)

三羥甲基氨基甲烷是一種有機化合物，廣泛運用在生物化學和分子生物學實驗中的緩衝液製備。而在本研究亦作為緩衝液使用，是為多巴胺聚合之用，在 pH8.5 的條件下，可有助於多巴胺的分子分散後的聚合反應。

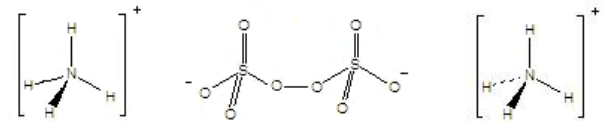

表 3.3 本研究使用之三羥甲基氨基甲烷

| | | |
|-----|---|---|
| 化學式 |  |  |
| 分子式 | (HOCH ₂) ₃ CNH ₂ | |
| 供應商 | 慕容科技有限公司 | |
| 作用 | 生物化學和分子生物學實驗中的緩衝液之製備 | |

4. 過硫酸銨 (Ammonium Persulfate, APS)

過硫酸銨為氧化劑，呈白色晶體，易溶於水，可幫助多巴胺聚合。由於過硫酸銨作為氧化劑，屬固定因子之一，濃度為 1.2mg/ml。

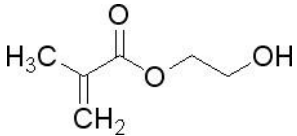

表 3.4 本研究使用之過硫酸銨

| | | |
|-----|--|---|
| 化學式 |  |  |
| 分子式 | (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ | |
| 供應商 | AMRESCO (慕容科技有限公司) | |
| 作用 | 氧化劑 | |

5. 甲基丙烯酸羟乙酯 (2-Hydroxyethyl methacrylate, HEMA)

甲基丙烯酸羟乙酯為一種無色透明的液體，多用於樹脂及塗料的改性。本研究將之作為稀釋劑，因主體材料胺基樹脂較為黏稠，而過於黏稠無法上機列印，因此利用 HEMA 將材料的稠度降低，濃度與胺基樹脂做比例調整。

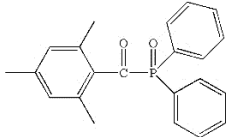

表 3.5 本研究使用之甲基丙烯酸羟乙酯

| | | |
|-----|---|---|
| 化學式 |  |  |
| 分子式 | C ₆ H ₁₀ O ₃ | |
| 供應商 | Aldrich | |
| 作用 | 稀釋劑 | |
| 應用 | 丙烯樹脂聚合、油漆及防護塗層劑 | |

6. 光起始劑 (TPO)

凡經光照能產生自由基並進一步引發聚合的物質統稱光起始劑，紫外光區 (250-400 nm) 或可見光區 (400-800 nm) 有一定吸光能力。本研究所使用的光起始劑是 DAROCUR TPO，為黃色粉末狀，熔點為 88°C-92°C，目的是讓材料具有照光固化的特性，為固定因子，濃度在 1.5%。

表 3.6 本研究使用之光起始劑

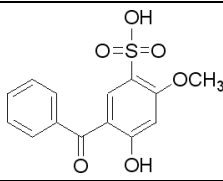

| | | |
|-----|---|---|
| 化學式 |  |  |
| 供應商 | 朴峰 (Pufong) 實業有限公司 | |
| 作用 | 照光固化 | |

7. 2-羟基-4-甲氧基-5-磺酸二苯甲酮

(2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone-5-sulfonic acid, HMBS)

HMBS 為一種廣譜紫外線吸收劑，有吸收效率高、無毒、對光、熱穩定性好等優點。本研究所使用的 HMBS 作為幫助材料吸收多餘光照的作用，提高材料列印解析度，為固定因子，濃度在 0.1%。

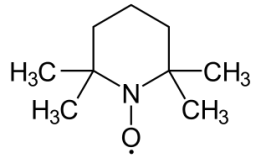

表 3.7 本研究使用之 2-羟基-4-甲氧基-5-磺酸二甲苯甲酮

| | | |
|-----|---|---|
| 化學式 |  |  |
| 供應商 | TCI | |
| 作用 | 使材料更易吸收光源 | |
| 應用 | 防曬膏、霜、蜜、乳液、油等防曬化妝品中 | |

8. 四甲基哌啶氧化物 (2,2,6,6-Tetramethylpiperidine-1-oxyl, TEMPO)

TEMPO 為橘紅色升華結晶或液體，易溶於水和乙醇、苯等有機溶劑，在聚合物化學中用作自由基捕獲劑。為本研究之固定因子，濃度在 0.01%。

表 3.8 本研究使用之四甲基哌啶氧化物

| | | |
|-----|--|--|
| 化學式 |  |  |
| 供應商 | ACROS ORGANICS | |
| 作用 | 具有捕獲自由基、猝滅單線態氧和選擇性氧化等功能 | |

3.2.2 實驗設備

1. 前置實驗之設備


本研究在胺基樹脂中發現混和不同比例會讓材料的稠度有所不同，而過於黏稠會讓材料無法上機列印。因此本研究利用前置實驗訂定出可列印的比例範圍，分別做二項測試，一為硬度測試，二為黏度測試。

(1) 黏度計

本研究使用美國 BROOKFIELD 公司 DV1MLVTJ0 微電腦數位式黏度計測量材料之黏度 (Viscosity)，材料為胺基樹脂在混和不同比例的 AR 及 HEMA 後，讓材料加入 TPO 使之具有光固化特性，在固化前進行測量。

微電腦數位式黏度計適合液體測量，將液體倒入測量槽，利用轉子量測液體黏度，上方 LED 顯示螢幕可測得轉速、轉針代號、溫度及黏度值，其詳細規格如表 3.9。黏度測試過程詳見 3.3。

表 3.9 微電腦數位式黏度計

| | | |
|---------|--|---|
| 型號 | DV1MLVTJ0 |  |
| 螢幕可得資訊 | 黏度 (Cp, P, mPa·S, Pa·S)、 扭矩 (%)、轉速/轉子 | |
| 精度 | 測量範圍之±1.0% | |
| 適用範圍 | 液體 | |
| 可測之黏度範圍 | 轉子 SV4-18 / 3-10,000 cP | |

資料來源：BROOKFIELD (2017)

(2) 手持式硬度計

本研究使用日本 TECLOCK 公司 GS-702N 型邵式 (Shore Scleroscope Hardness) 塑膠硬度計平均測量樣本，樣本為胺基樹脂在混和不同比例之 AR 及 HEMA 後，讓材料加入 TPO 使之具有

光固化特性，即照光固化。爾後利用硬度計測試，測試過程詳見 3.3。

手持式硬度計適合在非平面材質進行測量，只需施以適度力道將探針插入材料表面即可讀取數值，其詳細規格如表 3.10。

表 3.10 塑膠硬度計

| | | |
|---------|--------------------------------------|---|
| 型號 | GS-702N |  |
| 硬度 | 邵式硬度 (Shore Scleroscope Hardness) | |
| 針頭型式 | 針型 | |
| 適用範圍 | 硬質 | |
| 試驗力 | 0 - 44,483m (N) | |
| 定壓荷重器砝碼 | 5kg | |

資料來源：廣鍊儀器股份有限公司 (2017)


2. 實驗設計之設備

本研究開發人工血管的主要機台為三維列印機，並利用開發出來的樣品測量反應變數，以利分析。其中反應變數分為三項：彈性、解析度及細胞存活率，本節將詳細介紹列印及測量所運用的機台。

(1) 實驗設備

本研究在製造人工血管上運用的是台灣開發的 Miicraft 機台，利用 DLP 技術達到高精度的生產。此種設備屬於開源機台，可調整列印參數，並藉由自行開發的材料印製，因此有利於本研究利用實驗設計做人工血管最佳化之研究。其詳細規格如表 3.11。

表 3.11 Miicraft

| | | |
|---------|--|---|
| 型號 | MiiCraft + |  |
| 技術 | 數位光固化技術 (DLP) | |
| 建構尺寸 | 43 mm × 27 mm × 180 mm | |
| XY 軸解析度 | 0.056 mm | |
| Z 軸解析度 | 0.05 mm (每層最小厚度) | |
| LED 波長 | 405 nm | |
| 機台大小 | 20.8 cm (長) × 20.5 cm (寬) × 33.5 cm (高) | |

資料來源：MIICRAFT (2017)

(2) 量測設備


在測量反應變數中，併用軟硬體來取得資料，所量測的數據重複三次後將其輸入到 Design Expert 軟體做分析。其測量設備如下：

a 數字顯微鏡內窺鏡變焦相機

反應變數之一為材料解析度，由於三角網格的結構有利於細胞生長(Kirby et al., 2011)，因此將樣品設定為多個邊長為

1mm 之正三角網格，列印後運用顯微掃描攝影機搭配軟體 Measurement 拍攝樣本影像，並結合 Avizo 計算三角網格之面積。其詳細規格如表 3.12。


表 3.12 數字顯微鏡內窺鏡變焦相機

| | | |
|---------------|--|---|
| 型號 | 2MP 1000X 8 LED USB Digital Microscope Endoscope Camera |  |
| 鏡頭 | 顯微鏡頭 | |
| 手動 對焦範圍 | 0 – 200 mm | |
| 靜態圖像 捕獲分辨率 | 1600×1200 (2M 像素)、 1280×960 (1.3M 像素)、 800×600、640×480 | |
| 光源 | LED | |
| 放大率 | 1000 X | |

b 強度測試機

反應變數之一為材料彈性測試，預期可達真實血管彈性。利用強度測試機取得數據後，換算成楊氏模數（Young's Modulus）。其詳細規格如表 3.13。

表 3.13 強度測試機

| | EZ Test 桌上型強度測試機 |  |
|------|---|--|
| 負載 | 500 N/50 kgf | |
| 測定範圍 | 1 – 500 N | |
| 重量 | 25 kg | |
| 特色 | <ul style="list-style-type: none">• 每秒回傳 1000 個數據，準確找到最大值• 來回移動速度快 | |

資料來源：Shimadzu (2017)

c 全波長吸光多功能分析儀

反應變數之一為細胞存活率，藉由將材料印製出適合進行細胞培養之樣本（Ø10 mm×0.6 mm（高））後，將樣本培養細胞，待細胞貼附於樣本上，利用 PrestoBlue®產生細胞代謝率，並將培養液放置在 96well 中，上分析儀利用顏色取得吸光度，將資料換算成細胞存活率。其詳細規格如表 3.14。

表 3.14 全波長吸光多功能分析儀

| | | |
|--------|---|---|
| 型號 | Infinite M200 PRO |  |
| 光源 | UV 高能閃爍氙燈 | |
| 螢光檢測波長 | 280 - 850 nm | |
| 光吸收 | 260 nm ± 0.2% | |
| 檢測範圍 | 0 – 4 OD (Optical Density) | |
| 細胞培養盤 | 96 well | |
| 應用領域 | <ul style="list-style-type: none"> • DNA/RNA 定量檢測 • 蛋白定量檢測 • 離子通道研究 • 鈣離子檢測 • 報告基因和基因表達分析 • 細胞活力和細胞毒理研究 • 細胞學檢測 • 分子互做/結合研究 • 酶學研究 • 免疫學分析 • 螢光和化學發光應用 | |

資料來源：Tecan (2017)

3.3 前置實驗

由於本研究探討的主體材料為胺基樹脂(AR)，但過往文獻中鮮少有學者將其作為人工血管研究，因此配置可光固化之胺基樹脂需做完整的前置實驗。本節以胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA)之比例調整，並結合光起始劑(TPO)，最後混入多巴胺(DA)找出可上機列印之材料參數範圍。

3.3.1 胺基樹脂之硬度(Hardness)及黏度測試(Viscosity)

胺基樹脂是一極為濃稠的材料，若大量加入會過於黏稠完全無法經由機列印，若加入過少會讓樣品過硬。本研究加入具有稀釋作用的甲基丙烯酸羟乙酯，與胺基樹脂混和不同比例，分別做二項測試，硬度及黏度找尋可上機列印的最大與最小比例。

首先為硬度測試，比例：「胺基樹脂：甲基丙烯酸羟乙酯」利用試誤法做測試—比例分為1：9至9：1，加入光起始劑TPO讓材料具有固化特性後，將材料照光固化，以邵式硬度計隨機重複測量樣本四次，平均後取得肖式硬度，測試結果如附錄一。由數據得知，比例1：9、2：8及3：7之樣本近乎為果凍狀，所測得的邵式硬度過軟，而比例9：1之樣本過硬，皆難以上機列印，因此將該四樣極大極小比例刪除。

第二步為黏度測試，將比例「胺基樹脂：甲基丙烯酸羟乙酯」之4：6至7：3做好材料調配後，加入光起始劑TPO，利用微電腦數位式黏度計測試材料黏度，測試結果如附錄二。由數據得知，比例4：6至7：3之材料黏度皆可上機列印。

3.3.2 初次試印與解析度改善

將胺基樹脂的列印比例找出後，加入過往血管開發常使用之不同比例材料—明膠(Gelatin)，試以上機列印圓柱狀及Y字形之管狀，如圖3.3，其中管狀列印成果如附錄三。由列印樣本可知解析度極差，且有易斷裂之情形。因此本研究認為將明膠更換為不同材料，嘗試改善解析度不佳問題。

| 列印規格 | 列印圖檔 | 實際列印情形 |
|--------------------------|---|--|
| 1. 直徑 6 mm 2. 壁厚 1 mm |  |  |

圖 3.3 前置實驗之 Y 字形列印樣本

資料來源：本研究整理

此外，本研究同時考慮材料的毒性，因此將樣本做細胞測試，細胞狀態如附錄四。由細胞存活狀態可知細胞的生存狀況不佳，說明材料在調配過程中，除了可能有外在干擾，其主要因素為材料仍具有毒性，不易細胞生長，因此也需加入不同材料改善毒性問題。

前置實驗主要目的為找出胺基樹脂可列印之範圍，並初步判定列印情形與細胞生存狀況，將範圍拉大後，以「胺基樹脂：甲基丙烯酸羟乙酯」比例 4：6 至 8：2 進行後續實驗設計流程。

3.3.3 找尋影響解析度之材料

本研究從實驗發現，若加入明膠的解析度不盡理想，因此欲加入其他材料以改善解析度不佳之問題。從過往文獻發現加入多巴胺 (Dopamine) 可將生物材料表面改性，增加解析度，且少量的多巴胺可提高生物相容性 (刘宗光 et al., 2014)，而本研究加入多巴胺後，實驗不同的調配方式，確實發現大幅改善解析度的問題，如附錄五。

3.4 實驗流程

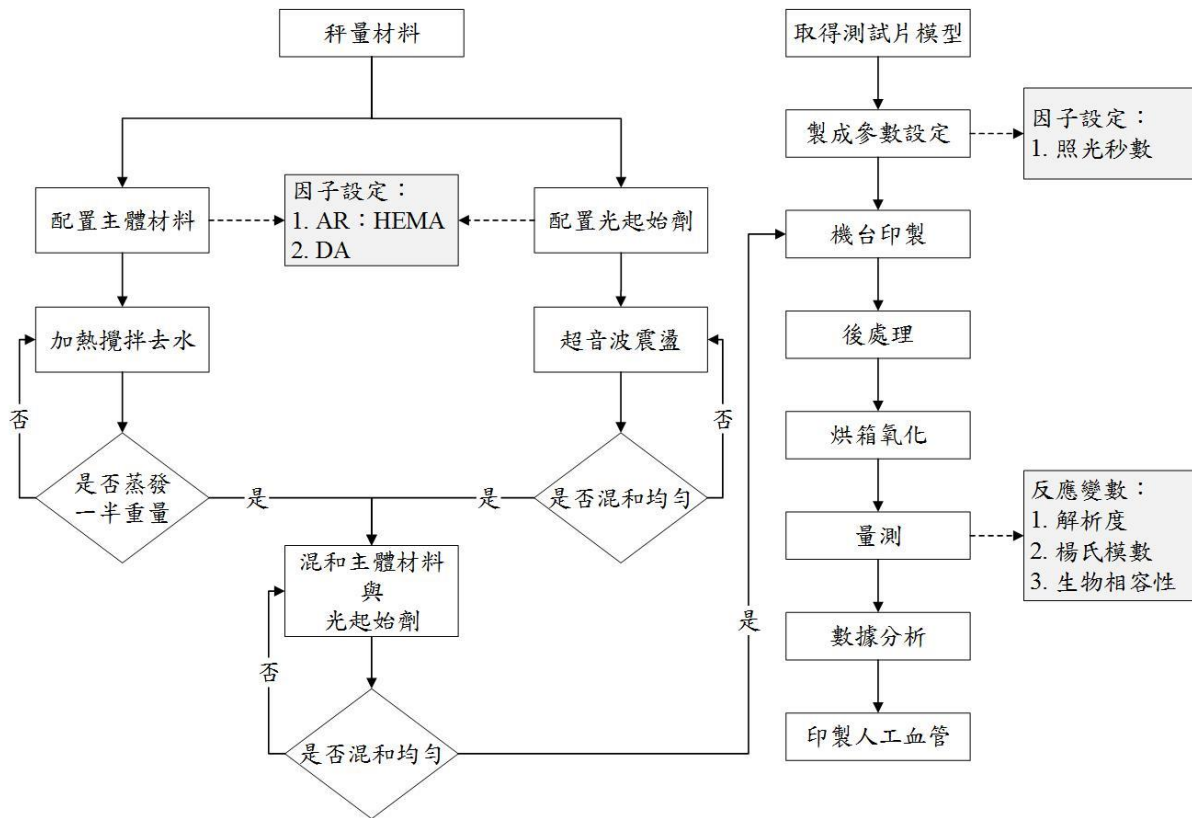


圖 3.4 實驗流程圖

資料來源：本研究整理

上圖 3.4 為本研究之實驗流程圖，本節將詳細介紹材料調配方法與測試片的設計規則，並介紹列印機的操作方式。

3.4.1 實驗步驟說明

1. 材料置備與開發

配置列印材料分為二部分：一為主體材料的調配，其中本研究所適用的 Tris 屬於水，而水分會影響固化反應，因此須將水分加熱蒸發。二為光起始劑的合成。將二種材料各別配置好後，混和均勻即為可列印之光固化型材料。

(1) 調配主體材料

準備二杯空燒杯秤重並記錄，一杯配置主體材料，另一杯配置光起始劑。本研究的材料總容積為 30 ml，先將總容積 30 ml 按該次需加入的 AR 與 HEMA 比例做分配（例如：比例為 4：6，則加入 12 ml 的 AR 與 18 ml 的 HEMA），利用 Pipet 加入與 AR 比例

呈 1:1 之 Tris (例如: 需要 12 ml 的 AR, 則加入 12 ml 的 Tris)。爾後再加入該次所需的 DA 濃度, 計算方式為 AR 容積×DA 濃度 (例如: 12 ml AR, 0.1 mg/ml DA, 則 $12\text{ ml} \times 0.1\text{ mg} = 1.2\text{ mg} = 0.0012\text{ g}$), 調配完成後, 將燒杯封保鮮膜, 放置在超音波震盪器震盪 5 分鐘, 如圖 3.5, 待 Tris 與 DA 混勻, 液體會呈現淡咖啡色; 取秤紙放在天秤並歸零, 秤固定濃度 1.2 mg/ml 的 APS, 倒入含有淡咖啡色液體的燒杯並封保鮮膜, 放置在超音波震盪器震盪 5 分鐘, 待混勻, 液體會呈現深咖啡色, 如圖 3.6。



圖 3.5 超音波震盪

資料來源: 本研究整理

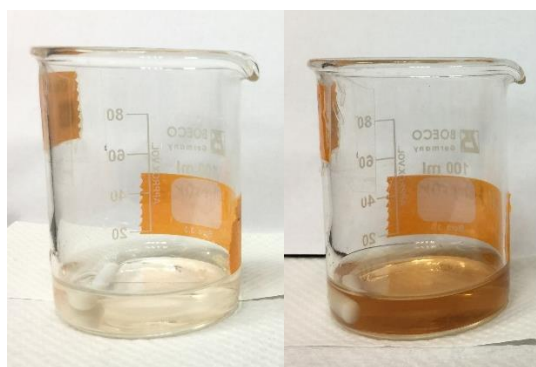


圖 3.6 二次震盪比較圖

資料來源: 本研究整理 (左圖為第一次震盪, 右圖為第二次震盪)

將含有深咖啡色液體的燒杯放到天秤, 按下歸零, 主體材料 AR 加入燒杯至正確的容積, 放入攪拌磁石, 秤重並記錄。接著將所需的去水重量做紀錄, 而重量與 Tris 相同, 此紀錄為最後加熱去水

後需達成的數字。將配置好的燒杯放置在加熱攪拌器，溫度為 180 °C，攪拌速度為 300-500 rpm，如圖 3.7。加熱攪拌去水 3 小時後，確定去水重量是否為記錄上的數字，即完成主體材料之調配。



圖 3.7 加熱攪拌去水

資料來源：本研究整理

(2) 配置光起始劑

將另一空燒杯用 Pipet 加入該次所需的 HEMA 容積，取秤紙放在天秤並歸零，秤固定濃度 1.5% 的 TPO、0.1 mg/ml 的 HMBS 與 0.01 mg/ml 的 TEMPO，倒入含有 HEMA 的燒杯並封保鮮膜，放置在超音波震盪器震盪至均勻。

(3) 混和主體材料與光起始劑

等待主體材料去水完成，將加熱攪拌器的溫度調低至 80°C。同時，將混和均勻之光起始劑放在加熱攪拌器，溫度調至 80°C。二杯材料溫度相同時，將光起始劑打開保鮮膜，倒入主體材料的燒杯中後封保鮮膜。攪拌均勻即完成可列印之光固化型材料置備，如圖 3.8。最後將材料倒入離心管，用鋁箔紙完全覆蓋在外以避光。



圖 3.8 可列印之光固化型材料

資料來源：本研究整理

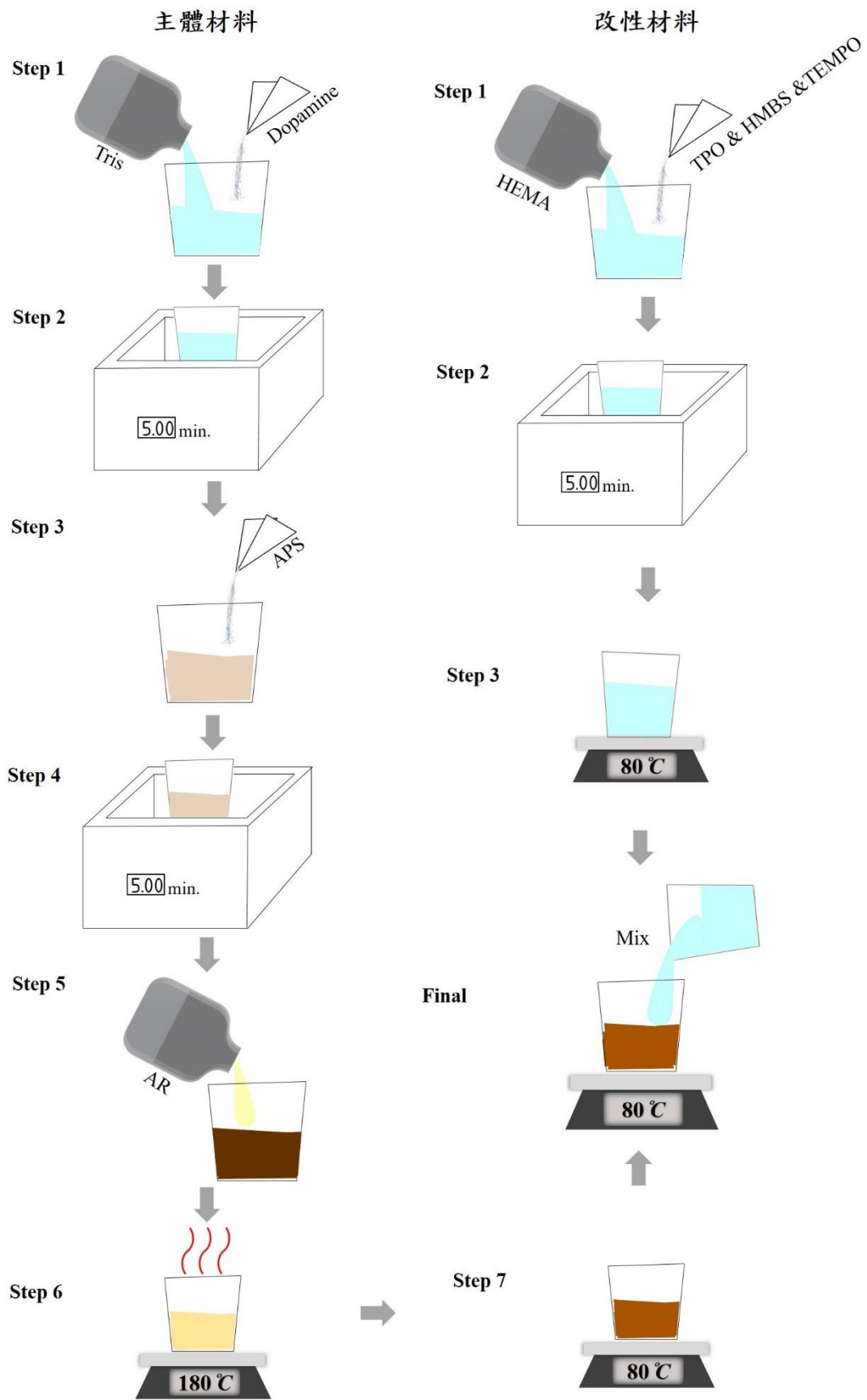


圖 3.9 材料配置流程圖

資料來源：本研究整理

2. 測試片設計

本研究的反應變數分為解析度、楊氏模數與細胞存活率，而不同的反應變數則需要不同的測試片。本研究運用 Solidworks 這項三維繪圖軟體繪製測試片，以下介紹測試片的設計規格。

(1) 解析度測試片

本研究欲建構具有孔洞的人工血管，前述有提及三角形孔洞利於細胞生長，因此本研究設計一個具有三角形孔洞的測試片，運用列印機將測試片印出後，利用影像分析三角形孔洞成型狀態，藉以判定材料的解析度好壞。詳細的判定方式將在 3.7 說明。

本研究的解析度測試片規格是長為 30mm 且寬為 16mm 之測試片內部形狀設為多個正三角形。正三角形邊長為 1.5mm，而數量為一測試片大小可容納之最大值共 234 個正三角形，如圖 3.10。

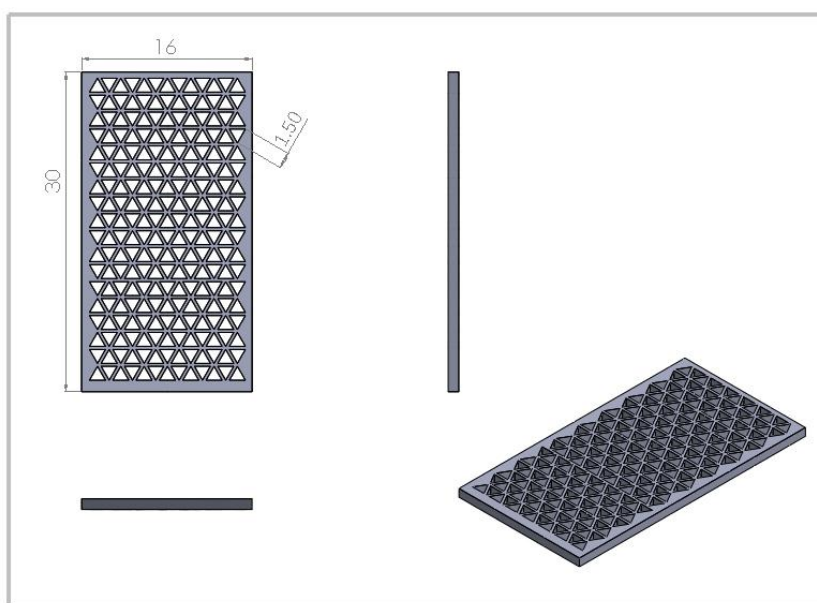


圖 3.10 解析度測試片

資料來源：本研究整理

(2) 楊氏模數拉伸片

測試材料彈性須利用強度測試機取得數據，測試機需間將材料夾住，由向上拉力做測試，因此需有矩形長條狀之拉伸片。規格為長 30 mm、寬 5 mm 與高 0.6 mm，如圖 3.11。

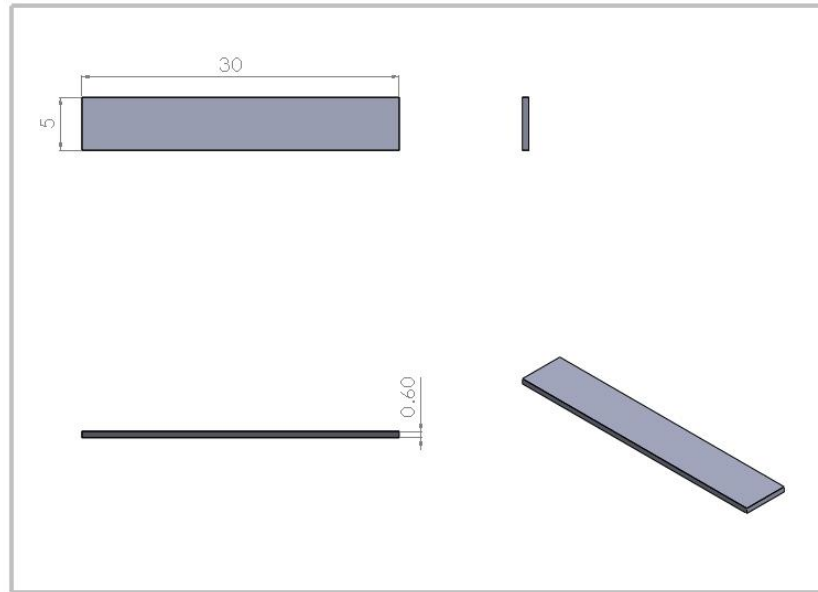


圖 3.11 楊氏模數拉伸片

資料來源：本研究整理

(3) 細胞測試片

做細胞測試須將材料放置在細胞培養皿中，本研究使用 24 孔細胞培養盤 (24 well cell culture plate)，1 well 的面積是 1.8 cm²，直徑約為 1.7 mm。而本研究的細胞測試片則訂在面積直徑 13 mm 及高度 6 mm 的規格，如圖 3.12。

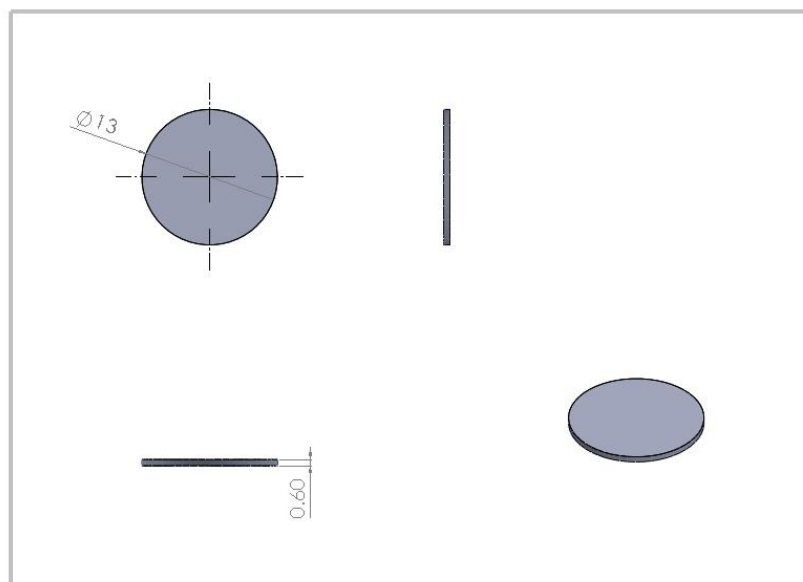


圖 3.12 細胞測試片

資料來源：本研究整理

3. 印製

本研究使用 Miicraft 機台印製實驗樣本。印製步驟如下：

- (1) 將繪製好的測試片圖檔轉檔成列印機可讀取的.stl 檔，匯入至列印機的軟體中，並設定欲列印之測試片在平台列印的位置。
- (2) 將擺放好的測試片儲存後，將檔案進行切層，本研究將每個測試片設定為每層 0.05 mm 的厚度。
- (3) 檢查切層的檔案是否有誤。
- (4) 將列印平台倒掛在列印機上方，確定是否有確實擺放。
- (5) 在軟體中的列印畫面匯入切層的檔案，設定該次列印所需的列印參數（例如：每層照光秒數），並開始印製。
- (6) 印製完成後將列印平台取出，利用酒精清洗殘留在樣本以外未固化之殘料以進行後處理。

4. 烘箱氧化

在前置實驗中發現，印製完成的樣本若單純從平台取出，並以酒精清洗，材料會有易破裂的情形。根據黃楠（2010）等人指出透過氧化可獲得多層、牢固及高反應活性的聚多巴胺修飾層，其方式是將樣本放置在 0-200°C 的環境做熱氧化處理。（黃楠、翁亞軍、楊志祿與宋強等人，2010）

因此本研究在最後步驟將印製並清洗完成的樣本放在鋁箔紙上，放置在烘箱以 80°C 烘 24 小時。如圖 3.13，即可得到實驗樣本。



圖 3.13 烘箱氧化

資料來源：本研究整理

3.5 參數設定

欲開發出高精度、具生物相容性以及符合真實血管之物理性質，需找出最有影響力的實驗因子。根據 3.1 小節及圖 3.2，除去固定因子與干擾因子後，本研究歸納出實驗因子的來源主要為材料開發及機台參數設定，在分別篩選後，材料開發的重要因子考慮方向為解析度、軟硬度、照光固化程度及生物相容性；而機台設置的重要因子為照光秒數。針對以上幾種因子考慮方向，本研究整理材料開發與機台參數設定的定義如下：

1. 材料開發

本研究的材料配置內容有以下幾種：

(1) 胺基樹脂 (AR)：

本研究之主體材料，屬實驗因子。AR 可讓樣本具有彈性，加入越多則材料越軟；反之則材料則越硬。由前置實驗得到實驗水準「胺基樹脂：甲基丙烯酸羟乙酯」介於 4：6 至 8：2。

(2) 多巴胺 (DA)：

使生物材料改性，屬實驗因子。DA 可增加樣本解析度，加入少量則可提高生物相容性。多巴胺顏色為咖啡色系，顏色越深則反應越多，解析度越好，反之(Du et al., 2014)。根據 Vecchia(2014) 指出多巴胺的濃度大致可介在 0.1 mg/mL 至 3 mg/mL (Della Vecchia et al., 2014)。

(3) 過硫酸銨 (APS)：

做為氧化劑，屬固定因子。APS 可幫助多巴胺改質，使解析度更高。根據 Wei (2010) 指出 APS 濃度為 1.2 mg/mL(Wei, Zhang, Li, Li, & Zhao, 2010)。

(4) 甲基丙烯酸羟乙酯 (HEMA)：

作為稀釋劑，屬實驗因子。HEMA 可稀釋過於濃稠的材料，由前置實驗得到實驗水準「胺基樹脂：甲基丙烯酸羟乙酯」介於 4：6 至 8：2。

(5) 光起始劑 (TPO) :

讓材料具有光固化特性的功能，屬固定因子。TPO 的建議添加量為 1-5%，有微量毒性。根據張雯晴 (2016) 指出 TPO 濃度為 1.5%(張雯晴，2016)。

(6) 2-羟基-4-甲氧基-5-磺酸二苯甲酮 (HMBS) :

讓材料固化時幫助其吸收 UV 光，屬固定因子。根據 Gauvin (2012) 等人指出濃度為 0.1% (Gauvin et al., 2012)。

(7) 四甲基哌啶氧化物 (TEMPO) :

做為氧化劑，屬固定因子。根據 Gauvin (2012) 等人指出濃度為 0.01%(Gauvin et al., 2012)。

2. 機台參數設定

(1) 照光秒數 (Curing Time) :

屬實驗因子。由於機台原理為照光固化，因此須設定每層的照光秒數，不同秒數會影響材料固化的情形；而原廠提供的材料參數設定為每層照光 7 秒，但本研究是自行開發材料，所需的每層照光秒數需做調整。根據前置實驗，歸納出照光秒數水準為 23 至 40 秒。將以上的實驗因子及水準整理如表 3.15。

表 3.15 實驗因子及水準

| 實驗因子 | AR : HEMA (%) | 多巴胺 (mg/mL) | 照光秒數 (sec) |
|------|---------------|-------------|------------|
| 低水準 | 40 | 0.1 | 23 |
| 高水準 | 80 | 3 | 40 |

資料來源：本研究整理

3.6 全因子實驗

本研究選用 2^3 全因子實驗，並加入三個中心點進行實驗設計。選定的因子有 AR : HEMA、多巴胺 (DA) 添加量、照光時間 (Curing Time)，因子水準及實驗組合如表 3.16。

表 3.16 實驗因子組合及水準

| Std | Run | Factor 1 | Factor 2 | Factor 3 |
|-----|-----|-------------------------------|---------------|----------------------|
| | | AR : HEMA ² (%) | DA (mg/mL) | Curing Time (sec) |
| 7 | 1 | 40.00 | 3.00 | 40.00 |
| 3 | 2 | 40.00 | 3.00 | 24.00 |
| 11 | 3 | 60.00 | 1.55 | 32.00 |
| 2 | 4 | 80.00 | 0.10 | 24.00 |
| 8 | 5 | 80.00 | 3.00 | 40.00 |
| 9 | 6 | 60.00 | 1.55 | 32.00 |
| 10 | 7 | 60.00 | 1.55 | 32.00 |
| 5 | 8 | 40.00 | 0.10 | 40.00 |
| 6 | 9 | 80.00 | 0.10 | 40.00 |
| 1 | 10 | 40.00 | 0.10 | 24.00 |
| 4 | 11 | 80.00 | 3.00 | 24.00 |

資料來源：本研究整理

3.7 反應變數測定

本研究目的是利用實驗設計法開發出可應用在光固化型三維列印技術之生醫材料，並使用此材料結合仿生人工血管支架設計達到最佳化。本研究以三種反應變數呈現最佳化之標準，分別為解析度 (Resolution)、楊氏模數 (Young's modulus) 及細胞存活率。其中解析度著重於樣本列印外觀；楊氏模數則是著重於樣本拉伸強度。

3.7.1 解析度測試

解析度是以待測樣本—三角形網格列印的實際面積大小，與圖檔三角形面積比較作為判定基準。本研究藉由像素 (Pixel) 換算三角形面積，而面積判定標準為完全貫穿的洞。

² AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

首先以數字顯微鏡拍攝待測樣本的三角形孔洞與比例尺圖片，再將比例尺匯入到 Matlab，運用程式運算得到圖片上比例尺 5 mm 的像素 (Pixel) 大小，並計算 1 pixel 的面積。爾後將三角形孔洞圖片匯入 Avizo 取得三角形孔洞的像素，如圖 3.14。最後計算三角形面積。

三角形面積公式如下：

$$\frac{1 \text{ pixel 的面積} \times \text{三角形孔洞的總像素}}{\text{三角形總數}}$$

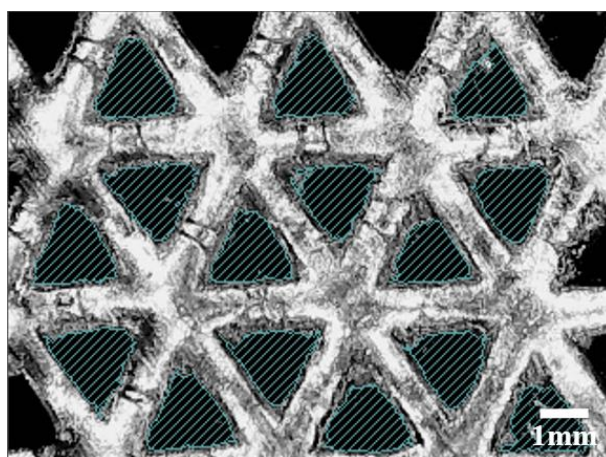


圖 3.14 面積計算

資料來源：本研究整理

3.7.2 彈性測試

彈性測試是測量樣本的拉伸程度，需取得楊氏模數 (Young's modulus)。本研究利用強度測試機測量數據，測試前先做機台基本設定，將每次向上拉的速度訂為 100 mm/min，最大拉力為 500 N。接著將待測樣本上下夾入測試平台中，並啟動強度測試機取得數據，如圖 3.15。

最後將數據帶入楊氏模數公式，即可得到彈性的數值。

楊氏模數 (Young's modulus) 正規化如下：

$$\text{Young's modulus} = \frac{N}{\frac{H \times W}{D} \cdot \frac{L}{L}}$$

N：強度 (N) D：形變量 (mm) L：Length，待測樣本之長 (mm)

H：Height，待測樣本之高 (mm) W：Width，待測樣本之寬 (mm)

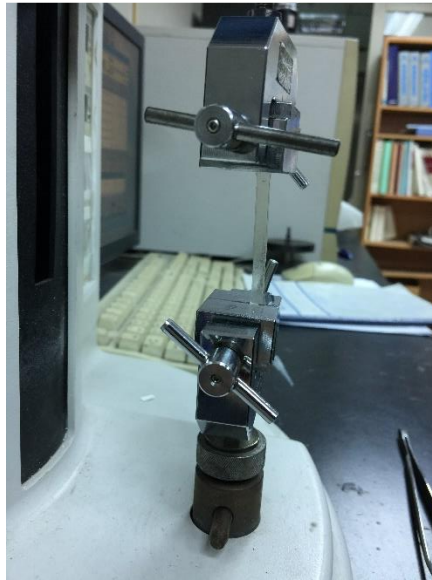


圖 3.15 拉伸測試

資料來源：本研究整理

3.7.3 細胞存活率測試 (3- (4,5-Dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT assay)

細胞存活率是測試樣本是否有毒性，將細胞培養在樣本上之後，測量細胞的活性之試驗。本研究利用 PrestoBlue™ 細胞活性檢測試劑進行細胞活性測定，其原理是利用活細胞的還原能力來定量測定細胞的增殖，進而指示細胞活性。其包含了一種細胞通透性的化合物，顏色為藍色；加入細胞後，其被活細胞的還原環境所修飾，變成紅色。利用螢光或吸光度測量，可檢測這種變化。

將待測樣本分別放入 24 well 的培養皿中，置於紫外光下殺菌 1 小時後，將放有樣本的 well 及對照組 (Control) 種入人類臍帶間葉幹細胞細胞株 (Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells, WJMSCs) 進行培養。培養三天後，將 PrestoBlue™ 以 100 倍稀釋，分別注入放有樣本的 well 及對照組中，靜置 3 小時待其變色後，以全波長吸光多功能分析儀測得波長 570 nm 及 600 nm 的吸光度 (Absorbance)，如圖 3.16。最後將對照組數據設為存活率 100%，計算實驗組的相對細胞存活率。

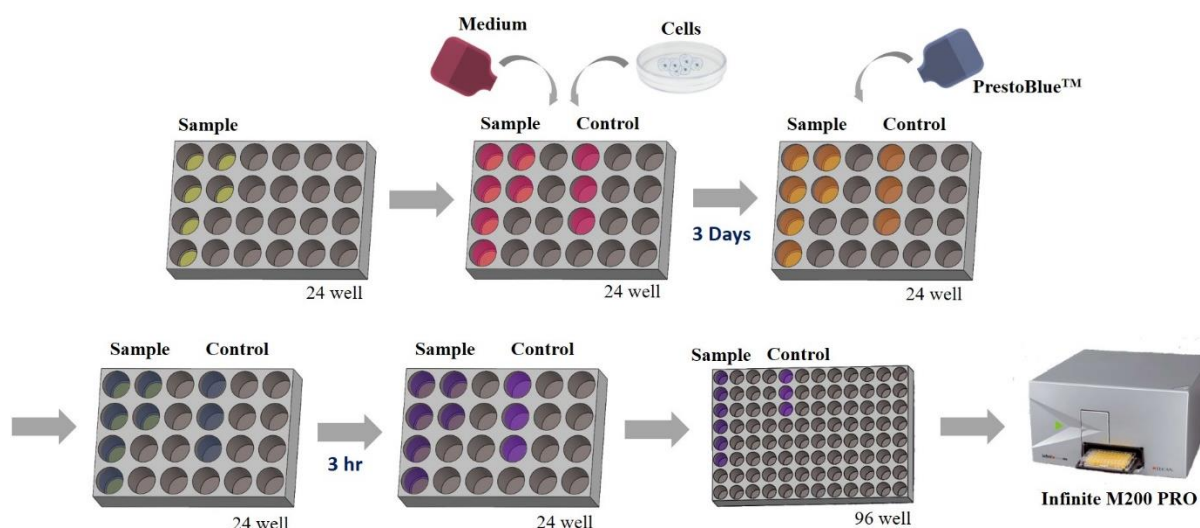


圖 3.16 細胞存活率流程圖

資料來源：本研究整理

3.7.4 反應變數範圍

本研究目的是開發仿生人工血管，反應變數在測得後期望達到真實的範圍。首先，解析度中的三角形面積期望與圖檔規格相同，而圖檔每個三角形面積為 0.975 mm^2 ，取得實際三角形面積後，將圖檔面積設為 100%，計算實際三角形的相對誤差率；而楊氏模數設定在與真實血管彈性相似的範圍；最後細胞存活率則是設定越大越好，反應變數範圍整理如表 3.17。

表 3.17 反應變數範圍

| 反應變數 | 範圍 |
|------------------------|-------------------------|
| 解析度 (Resolution) | 0.975 (mm^2) |
| 楊氏模數 (Young's modulus) | 0.701 – 0.983 (MPa) |
| 細胞存活率 (MTT assay) | Max |

資料來源：本研究整理

3.8 小結

將所有樣本分別進行測試後，將數據輸入 Design Expert[®] 進行分析，利用實驗組合及反應變數值可分析實驗因子的顯著性，並進行探討。最後將最佳化模型做驗證實驗，給予建議與結論。下一章將進行結果分析與討論。

第四章 實驗數據與結果

4.1 實驗數據

根據第二章了解人工血管所需的條件，並從第三章的前置實驗及文獻探討歸納出實驗因子，在說明研究方法後，使用儀器進行實驗反應變數的數據收集，詳細實驗數據如附錄六。最後利用 Design Expert 分析數據。而本章將以分析結果嘗試解釋其涵義，並以客觀的角度得到結論。以下依照第三章的實驗因子、水準以及測得的反應變數數據，整理如表 4.1。

表 4.1 實驗組合與反應變數量測值

| Std | Run | Factor | Factor | Factor | Response | Response | Response |
|-----|-----|-------------------------------|---------------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| | | AR : HEMA ³ (%) | DA (mg/mL) | Curing Time (sec) | Resolution (mm ²) | Young's Modulus (MPa) | MTT assay (%) |
| 7 | 1 | 40.00 | 3.00 | 40.00 | 2.76 | 1.333 | 67.26 |
| 3 | 2 | 40.00 | 3.00 | 24.00 | 3.05 | 2.707 | 65.76 |
| 11 | 3 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 1.24 | 0.917 | 70.14 |
| 2 | 4 | 80.00 | 0.10 | 24.00 | 0.05 | 0.822 | 68.64 |
| 8 | 5 | 80.00 | 3.00 | 40.00 | 1.86 | 3.456 | 77.30 |
| 9 | 6 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 1.59 | 0.856 | 74.28 |
| 10 | 7 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 0.88 | 1.218 | 81.02 |
| 5 | 8 | 40.00 | 0.10 | 40.00 | 0.00 | 4.298 | 89.23 |
| 6 | 9 | 80.00 | 0.10 | 40.00 | 0.00 | 0.00 | 72.76 |
| 1 | 10 | 40.00 | 0.10 | 24.00 | 1.68 | 0.484 | 76.06 |
| 4 | 11 | 80.00 | 3.00 | 24.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

資料來源：本研究整理

³ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

4.2 ANOVA 分析

本研究將上一小結所得到的實驗數據做 ANOVA 分析。利用分析結果判斷三個反應變數的顯著因子，並依顯著因子得知哪些因子對該反應變數重要。

4.2.1 解析度 (Resolution)

表 4.2 為解析度之 ANOVA 分析結果，其顯示 AR : HEMA 比例 (A) 及多巴胺 (B) 為顯著因子。說明胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例及多巴胺對解析度具有顯著影響。

表 4.2 解析度之 ANOVA 分析

| Response 1 : Resolution | | | | | | |
|--|----------------|-------|-------------|----------------|---------|-----------------|
| ANOVA for selected factorial model | | | | | | |
| Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III] | | | | | | |
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F Value | p-value | Prob > F |
| Model | 8.30 | 2 | 4.15 | 7.07 | 0.209 | significant |
| A- AR : HEMA⁴ | 3.89 | 1 | 3.89 | 6.03 | 0.0367 | |
| B - Dopamine | 4.41 | 1 | 4.41 | 7.51 | 0.0289 | |
| Curvature | 8.297E-003 | 1 | 8.297E-003 | 0.014 | 0.9087 | not significant |
| Residual | 4.11 | 7 | 0.59 | | | |
| Lack of Fit | 3.86 | 5 | 0.77 | 6.12 | 0.1464 | not significant |
| Pure Error | 0.25 | 2 | 0.13 | | | |
| Cor Total | 12.42 | 10 | | | | |
| Std. Dev. | | 0.77 | | R-Squared | | 0.6689 |
| Mean | | 1.19 | | Adj R-Squared | | 0.5743 |
| C.V. % | | 64.29 | | Pred R-Squared | | 0.1587 |
| PRESS | | 10.44 | | Adeq Precision | | 6.233 |

Resolution

⁴ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

$$= + 1.17 - 0.70 \times (\text{AR} : \text{HEMA}) + 0.74 \times \text{Dopamine}$$

4.2.2 楊氏模數 (Young's Modulus)

表 4.3 為楊氏模數之 ANOVA 分析結果，其顯示 AR:HEMA 比例(A)、多巴胺 (B)、照光時間 (C) 及 AR:HEMA 比例、多巴胺和照光時間三個因子的交互作用 (ABC) 為顯著因子。說明胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例、照光時間及胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例、多巴胺和照光時間的交互作用對楊氏模數具有顯著影響。

表 4.3 楊氏模數之 ANOVA 分析

| Response 2 : Young's Modulus | | | | | | |
|--|----------------|----|-------------|---------|---------|-----------------|
| ANOVA for selected factorial model | | | | | | |
| Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III] | | | | | | |
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F Value | p-value | Prob > F |
| Model | 17.45 | 4 | 4.36 | 13.56 | 0.0068 | significant |
| A - AR : HEMA⁵ | 2.58 | 1 | 2.58 | 8.03 | 0.0365 | |
| B - Dopamine | 0.45 | 1 | 0.45 | 1.39 | 0.2912 | |
| C - Curing Time | 3.22 | 1 | 3.22 | 10.01 | 0.0250 | |
| ABC | 11.20 | 1 | 11.20 | 34.83 | 0.0020 | |
| Curvature | 0.90 | 1 | 0.90 | 2.78 | 0.1561 | not significant |
| Residual | 1.61 | 5 | 0.32 | | | |
| Lack of Fit | 1.53 | 3 | 0.51 | 13.60 | 0.0693 | not significant |
| Pure Error | 0.075 | 2 | 0.038 | | | |
| Cor Total | 19.95 | 10 | | | | |

⁵ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

| Response 2 : Young's Modulus | | | |
|------------------------------|-------|----------------|--------|
| Std. Dev. | 0.57 | R-Squared | 0.9156 |
| Mean | 1.46 | Adj R-Squared | 0.8481 |
| C.V. % | 38.77 | Pred R-Squared | 0.4191 |
| PRESS | 11.07 | Adeq Precision | 10.262 |

Young's Modulus

$$= + 1.64 - 0.57 \times (\text{AR : HEMA}) + 0.24 \times \text{Dopamine} \\ + 0.63 \times \text{Curing Time} + (\text{AR : HEMA}) \times \text{Dopamine} \\ \times \text{Curing Time}$$

4.2.3 細胞存活率 (MTT assay)

表 4.4 為細胞存活率之 ANOVA 分析結果，其顯示 AR : HEMA 比例 (A)、多巴胺 (B)、照光時間 (C) 及 AR : HEMA 比例、多巴胺和照光時間三個因子的交互作用 (ABC) 為顯著因子。說明胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例、多巴胺、照光時間及胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例、多巴胺和照光時間的交互作用對楊氏模數具有顯著影響。

表 4.4 細胞存活率之 ANOVA 分析

| Response 3 : MTT assay | | | | | | |
|--|----------------|----------|----------------|--------------|---------------|-------------|
| ANOVA for selected factorial model | | | | | | |
| Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III] | | | | | | |
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F Value | p-value | Prob > F |
| Model | 5037.5 | 6 | 839.53 | 13.48 | 0.0283 | significant |
| A - AR : HEMA ⁶ | 791.82 | 1 | 791.82 | 12.72 | 0.0377 | |
| B - Dopamine | 1161.38 | 1 | 1161.38 | 18.65 | 0.0229 | |
| C - Curing Time | 1153.68 | 1 | 1153.68 | 18.53 | 0.0231 | |

⁶AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

| Response 3 : MTT assay | | | | | | |
|------------------------|---------|----|--------|----------------|---------|-----------------|
| AC | 557.28 | 1 | 557.28 | 8.95 | 0.0581 | |
| BC | 472.63 | 1 | 472.63 | 7.59 | 0.0704 | |
| ABC | 900.36 | 1 | 900.36 | 14.46 | 0.0319 | |
| Curvature | 241.60 | 1 | 241.60 | 3.88 | 0.1435 | not significant |
| Residual | 186.80 | 3 | 62.27 | | | |
| Lack of Fit | 126.48 | 1 | 126.48 | 4.19 | 0.1771 | not significant |
| Pure Error | 60.31 | 2 | 30.16 | | | |
| Cor Total | 5465.55 | 10 | | | | |
| Std. Dev. | 7.89 | | | R-Squared | 0.9642 | |
| Mean | 67.49 | | | Adj R-Squared | 0.8927 | |
| C.V. % | 11.69 | | | Pred R-Squared | -0.5756 | |
| PRESS | 8230.72 | | | Adeq Precision | 13.260 | |

MTT assay

$$\begin{aligned}
 &= + 64.62 - 9.95 \times (\text{AR : HEMA}) - 12.05 \times \text{Dopamine} \\
 &+ 12.01 \times \text{Curing Time} + 8.35 \times (\text{AR : HEMA}) \times \text{Curing Time} \\
 &+ 7.69 \times \text{Dopamine} \times \text{Curing Time} + 10.61 \times (\text{AR : HEMA}) \\
 &\times \text{Dopamine} \times \text{Curing Time}
 \end{aligned}$$

4.3 分析討論

經由 Design Expert 中的 ANOVA 分析三項反應變數各自的顯著因子整理成表 4.5。本節針對所得到的各反應變數顯著因子進行探討。

表 4.5 顯著因子總表

| 因子 \ 反應變數 | AR : HEMA (A) | Dopamine (B) | Curing Time (C) | AB | AC | BC | ABC |
|-----------------|------------------|-----------------|--------------------|----|----|----|-----|
| Resolution | ✓ | ✓ | | | | | |
| Young's Modulus | ✓ | | ✓ | | | | ✓ |
| MTT assay | ✓ | ✓ | ✓ | | | | ✓ |

4.3.1 解析度 (Resolution) 與顯著因子

總表顯示材料的比例會影響材料的解析度。首先看到胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例這項因子，由前置實驗可以得知，比例的不同會影響材料固化的解析度。以一因子的方式觀察胺基樹脂比例與解析度的關係，如圖 4.1。其更詳細說明隨著胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例增加，解析度會降低。由於胺基樹脂本身是一極為黏稠的材料，因此加多了相對會使解析度下降。此外，圖上標出中心點位置分別為 R6、R3 及 R7，在多巴胺為 1.55mg/mL 和照光秒數為 32 秒時，單看解析度分別為 1.59 mm²、1.24 mm² 及 0.88 mm²；而解析度期望值為 0.975 mm²，以 R7 最接近。

結果顯示多巴胺對解析度也有顯著影響。由第三章的材料介紹與前置實驗可以得知，加入多巴胺對於解析度有提升作用。以一因子的方式觀察多巴胺與解析度的關係，如圖 4.2。其更詳細說明隨著多巴胺的濃度增加，解析度會隨之增高。由於多巴胺聚合成聚多巴胺之後，會具有光吸收劑的效果，因此加入適當濃度的多巴胺可以讓解析度提升。由關係圖得知多巴胺濃度介於 0.5 mg/mL 至 2.5 mg/mL 為適合的範圍。此外，圖上標出中心點位置分別為 R6、R3 及 R7，在胺基樹脂比例為 60 %和照光秒數為 32 秒時，單看解析度與上述的胺基樹脂一因子相同，不再重述。

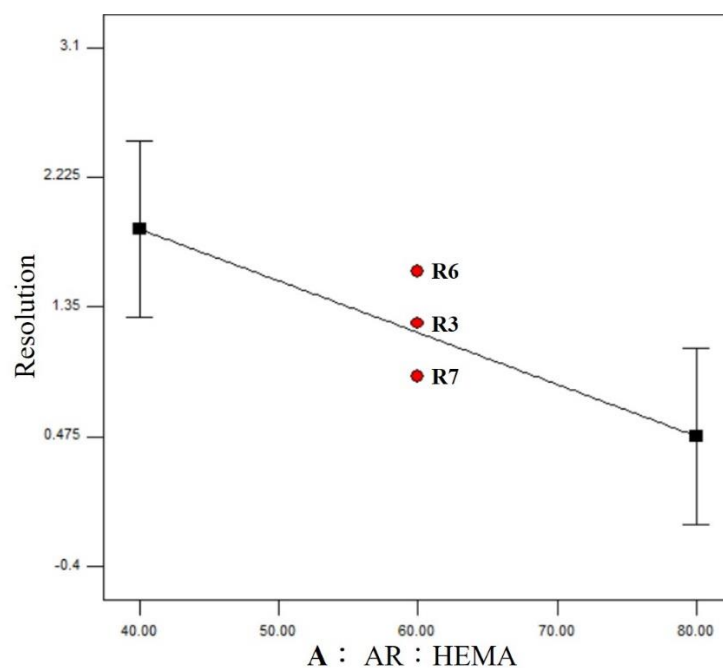


圖 4.1 胺基樹脂比例與解析度關係圖

資料來源：本研究整理

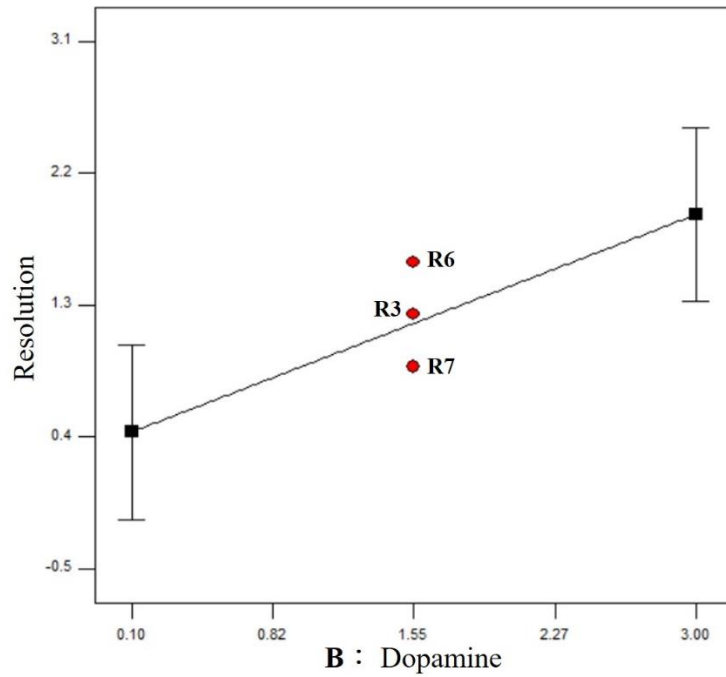


圖 4.2 多巴胺與解析度關係圖

資料來源：本研究整理

4.3.2 楊氏模數 (Young's Modulus) 與顯著因子

總表顯示材料的比例會影響材料的楊氏模數。首先看到胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例這項因子，由前置實驗可以得知，由於胺基樹脂本身是一極為黏稠的材料，比例的不同會影響材料固化的軟硬度與彈性，過多會過軟甚至無法列印；而過少會過硬。以一因子的方式觀察胺基樹脂比例與楊氏模數的關係，如圖 4.3。其更詳細說明隨著胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例增加，楊氏模數會降低。此外，軟體所顯示有落在圖上的實驗點為 R7、R3 及 R6，在多巴胺為 1.55 mg/mL 和照光秒數為 32 秒時，單看楊氏模數分別為 1.218 MPa、0.917 MPa 及 0.856 MPa；而楊氏模數期望值範圍為 0.701 MPa - 0.983 MPa，而 R3 及 R6 落在範圍內。

而照光秒數對楊氏模數也有顯著影響。由前置實驗可以得知，照光秒數越多，材料硬度越高，測得的楊氏模數相對也對越大，而數字越大，彈性越差。以一因子的方式觀察照光秒數與楊氏模數的關係，如圖 4.4。其更詳細說明隨著照光秒數的增加，楊氏模數會隨之增高。此外，圖上標出中心點位置分別為 R7、R3 及 R6，在胺基樹脂比例為 60% 和多巴胺濃度為 1.55 mg/mL 時，單看照光秒數與上述的胺基樹脂一因子相同，不再重述。

最後，三個因子 (A)、(B) 與 (C) 之間產生的交互作用亦影響楊氏模數的大小。如圖 4.5，當 (C) 照光秒數固定在 26 秒，紅線為多巴胺濃度 3.00 mg/mL，而黑線為多巴胺濃度 0.10 mg/mL 的線性關係。可以看到 3.00 mg/mL 的高濃度多巴胺會隨著胺基樹脂比例增加而使楊氏模數數值降低，也就是彈性越好；而 0.10 mg/mL 的低濃度多巴胺會隨著胺基樹脂比例增加而使楊氏模數數值提高，也就是越硬。在第三章材料介紹中有提到，加入少量的多巴胺具有改性的特性，當多巴胺聚合成聚多巴胺，可以讓材料增加親水性，這項特性幫助材料增加軟度與彈性。

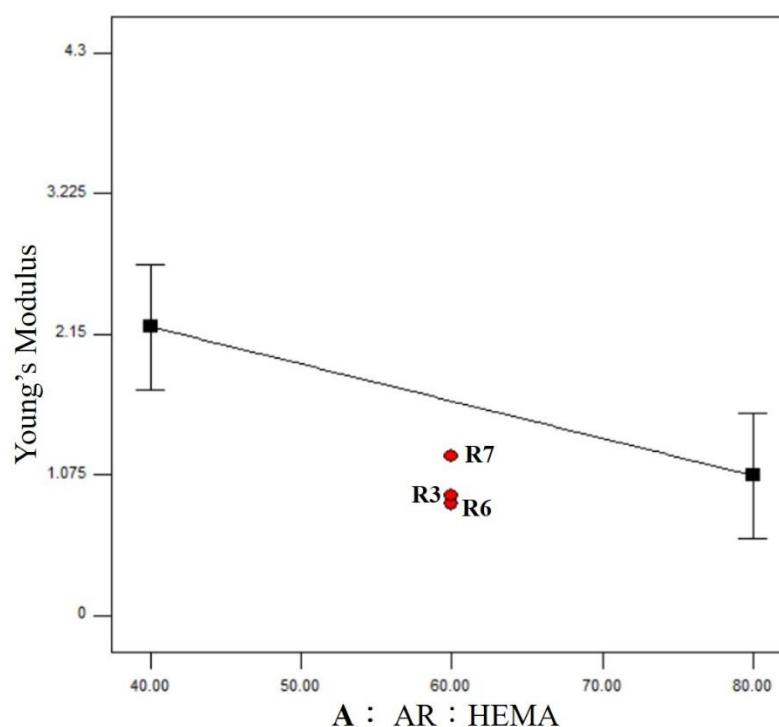


圖 4.3 胺基數酯比例與楊氏模數關係圖

資料來源：本研究整理

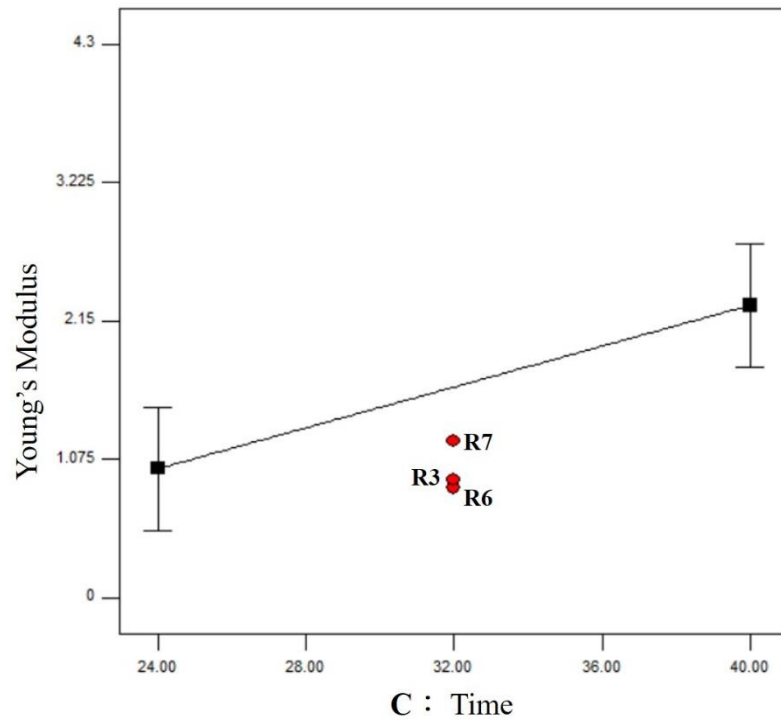


圖 4.4 照光秒數與楊氏模數關係圖

資料來源：本研究整理

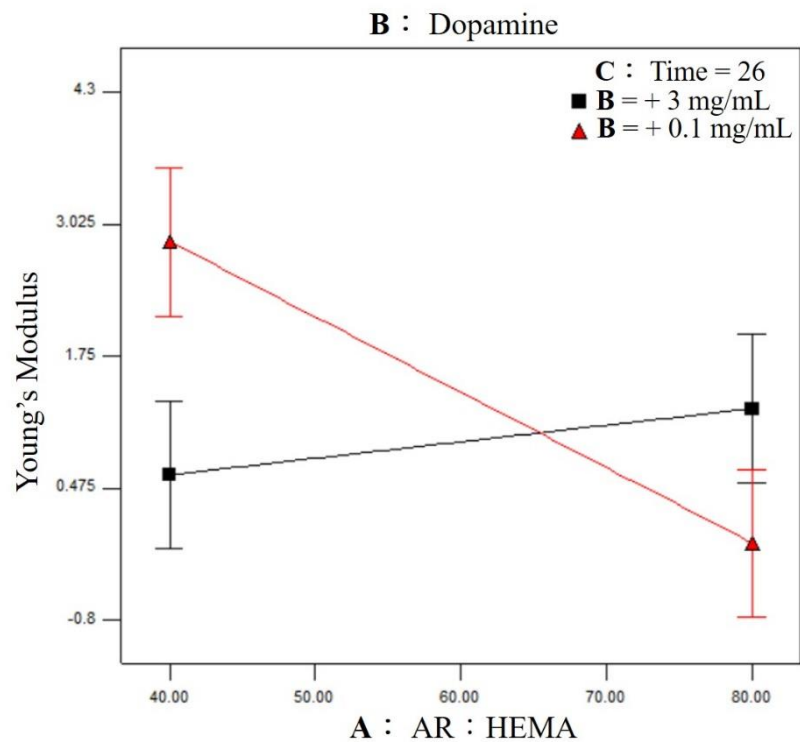


圖 4.5 因子 ABC 與楊氏模數交互作用關係圖

資料來源：本研究整理

4.3.3 細胞存活率 (MTT assay) 與顯著因子

總表顯示三項因子皆會影響材料的細胞存活率。首先看到胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例這項因子，由前置實驗可以得知，由於胺基樹脂本身是一極為黏稠的材料，比例的不同會影響材料固化的程度，過多的胺基樹脂甚至有無法列印的狀況，而固化越完全，材料毒性則越低，也就是細胞存活狀況會越好。以一因子的方式觀察胺基樹脂比例與細胞存活率的關係，如圖 4.6。其更詳細說明隨著胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例增加，細胞存活率會降低。此外，軟體所顯示有落在圖上的實驗點為 R7、R6 及 R3，在多巴胺為 1.55 mg/mL 和照光秒數為 32 秒時，單看細胞存活率分別為 81.02 %、74.28 % 及 70.14 %；而細胞存活率期望值為 100 %，而 R7 最接近。

而多巴胺對細胞存活率也有顯著影響。由第三章的材料介紹與前置實驗可以得知，加入少量多巴胺可以提升材料的生物相容性，但過往文獻提及濃度過高並不會對生物相容性有幫助。以一因子的方式觀察多巴胺與細胞存活率的關係，如圖 4.7。其更詳細說明隨著多巴胺的濃度增加，細胞存活率反而是下降的。此外，圖上標出中心點位置分別為 R7、R6 及 R3，在胺基數酯比例為 60 % 和照光秒數為 32 秒時，單看解析度與上述的胺基數值一因子相同，不再重述。

照光秒數對細胞存活率亦有顯著影響。前面有提及，當材料固化越完全，材料毒性則越低；因此照光秒數越久，材料毒性越低，細胞則生長得越好。以一因子的方式觀察照光秒數與楊氏模數的關係，如圖 4.8。其更詳細說明隨著照光秒數的增加，細胞存活率會隨之增高。此外，圖上標出中心點位置分別為 R7、R6 及 R3，在胺基數酯比例為 60 % 和多巴胺濃度為 1.55 mg/mL 時，單看照光秒數與上述的胺基數值一因子相同，不再重述。

最後，三個因子 (A)、(B) 與 (C) 之間產生的交互作用亦影響細胞存活率。如圖 4.9，當 (C) 照光秒數固定在 26 秒，紅線為多巴胺濃度 3.00 mg/mL，而黑線為多巴胺濃度 0.10 mg/mL 的線性關係，可以看到 3.00 mg/mL 的多巴胺屬高濃度，細胞反而會隨著胺基樹酯比例增加而使細胞存活率下降；而 0.10 mg/mL 的低濃度多巴胺則不會讓細胞存活率大幅降低。此現象在第三章有提及，過往文獻表示多巴胺若濃度過高，則不會幫助生物相容

性；由實驗結果更可證實 3.00 mg/mL 濃度太濃，而適當的濃度則介在 0.5 mg/mL 至 2.5 mg/mL。

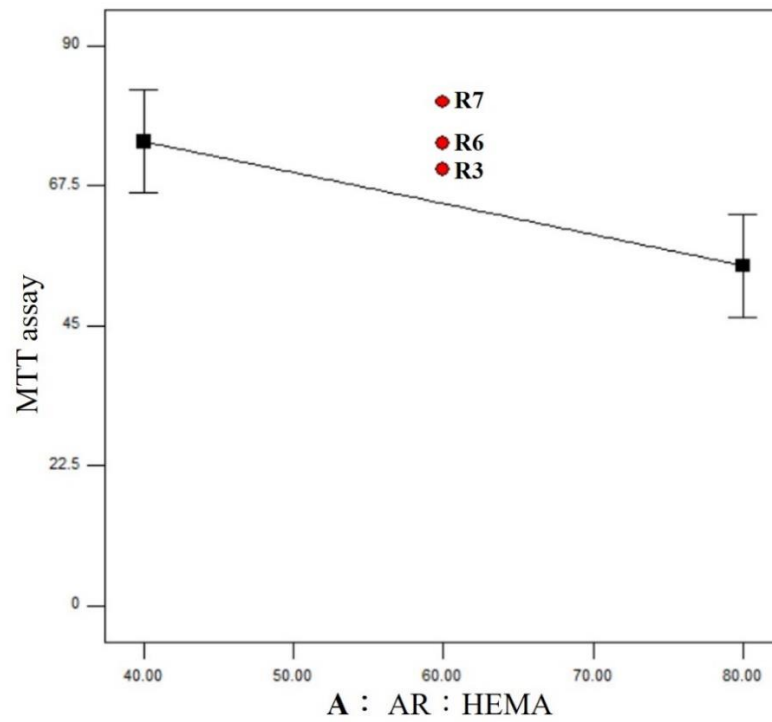


圖 4.6 胺基數酯比例與細胞存活率關係圖

資料來源：本研究整理

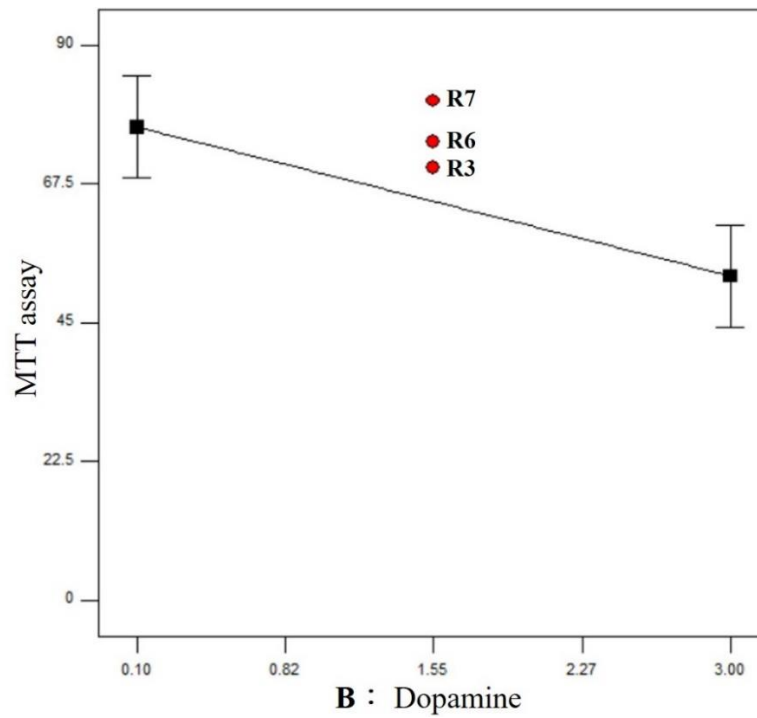


圖 4.7 多巴胺與細胞存活率關係圖

資料來源：本研究整理

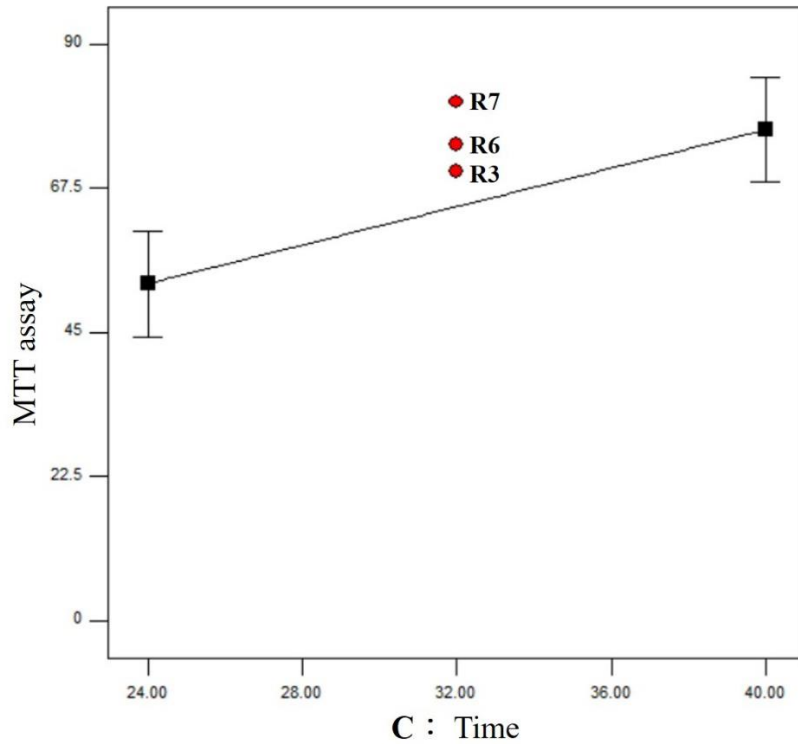


圖 4.8 照光時間與細胞存活率關係圖

資料來源：本研究整理

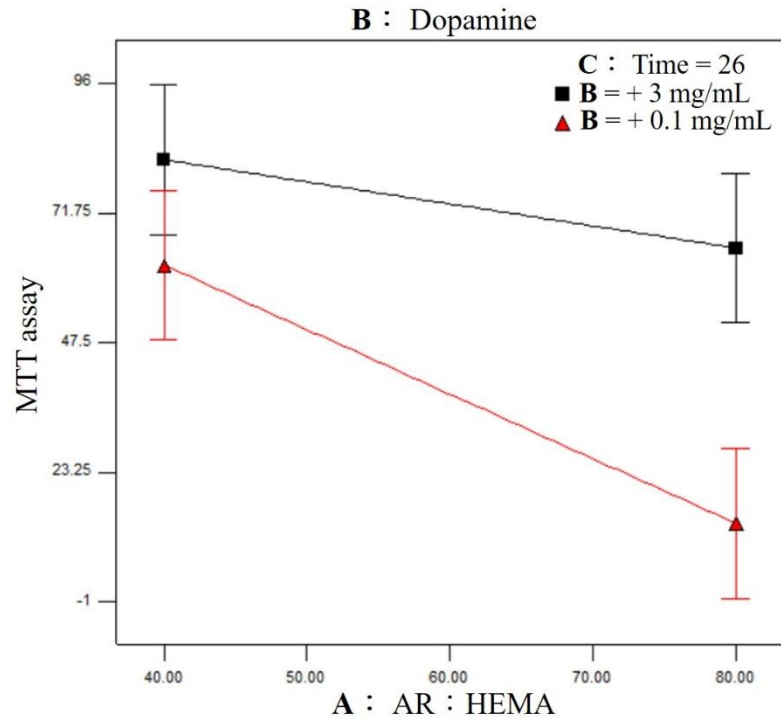


圖 4.9 因子 ABC 與細胞存活率交互作用關係圖

資料來源：本研究整理

4.4 實驗樣本模型之綜合比較

接著將所有實驗樣本進行三維散佈圖分析，如圖 4.10。本研究所期望的樣本分佈能盡量接近下圖藍線，此線規則為解析度 0.975 mm^2 、楊氏模數介於 $0.701 \text{ MPa} - 0.983 \text{ MPa}$ 及細胞存活率最大。此線參數式為

$$\begin{cases} X = 0.975 \\ Y = 0.282t + 0.701, 0 \leq t \leq 1 \\ Z = 100 \end{cases}$$

將所有點計算與線的最近距離，如表 4.6。其中以樣本七及樣本八最接近藍線，距離分別為 10.81 及 18.98，實驗參數分別為解析度 0、楊氏模數為 4.298 及細胞存活率為 89.23；解析度 0.88、楊氏模數為 1.218 及細胞存活率為 81.02。比較以上二樣本，可發現樣本七的解析度遠遠低於期望值 0.975 mm^2 ，樣本七的解析度等於是沒有孔洞；而楊氏模數遠遠大於期望值範圍 $0.701 \text{ MPa} - 0.983 \text{ MPa}$ ，樣本七的楊氏模數過硬。而樣本八的三項反應變數很接近期望值，僅楊氏模數略高，但差距不大。因此，可視為樣本八為最接近本研究之期望。

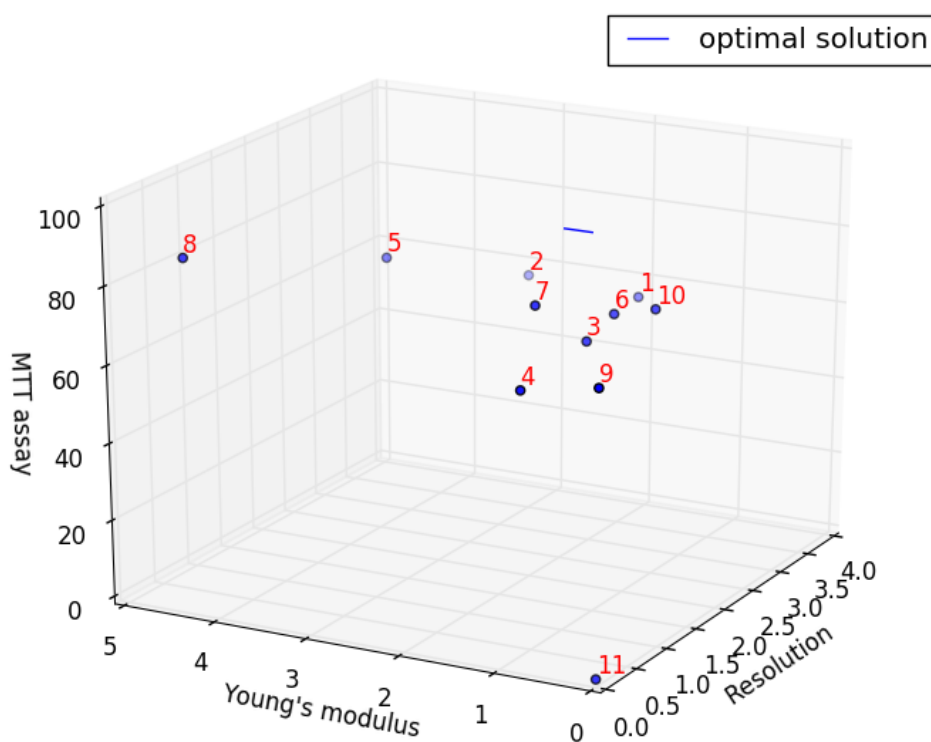


圖 4.10 解析度、楊氏模數與細胞存活率樣本三維散佈圖

資料來源：本研究整理

表 4.6 反應變數與期望值座標之距離

| Run | Resolution (mm ²) | Young's Modulus (MPa) | MTT assay (%) | 距離 | 排序 |
|-----|----------------------------------|--------------------------|------------------|-------|----|
| | X | Y | Z | | |
| 1 | 2.76 | 1.333 | 67.26 | 32.79 | 9 |
| 2 | 3.05 | 2.707 | 65.76 | 34.34 | 10 |
| 3 | 1.24 | 0.917 | 70.14 | 29.86 | 7 |
| 4 | 0.05 | 0.822 | 68.64 | 31.37 | 8 |
| 5 | 1.86 | 3.456 | 77.30 | 22.85 | 3 |
| 6 | 1.59 | 0.856 | 74.28 | 25.73 | 5 |
| 7 | 0.88 | 1.218 | 81.02 | 18.98 | 2 |
| 8 | 0.00 | 4.298 | 89.23 | 11.31 | 1 |
| 9 | 0.00 | 0.00 | 72.76 | 27.26 | 6 |
| 10 | 1.68 | 0.484 | 76.06 | 23.95 | 4 |
| 11 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 100 | 11 |

4.5 驗證實驗

本研究藉由統計分析所得到的可行解，依照反應變數的理想值選擇最佳的可行解做最佳化參數驗證實驗，並確認實驗結果。

4.5.1 參數之最佳化組合




表 4.7 為設定理想值之後所得到的最佳化組合。但可以發現 1 至 5 組的因子數值極為相似，因此本研究以第一組設為預測值，數值是：胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例為 4：6 及多巴胺濃度為 0.1 mg/mL，而照光時間因受機台限制，將小數點省略後為 26.6 秒。

表 4.7 最佳化組合

| No. | Factor | | | Response | | |
|-----|----------------------------|------------|-------------------|-------------------------------|-----------------------|---------------|
| | AR : HEMA ⁷ (%) | DA (mg/mL) | Curing Time (sec) | Resolution (mm ²) | Young's Modulus (MPa) | MTT assay (%) |
| 1 | 40.00 | 0.10 | 26.62 | 1.39 | 0.98 | 82.19 |
| 2 | 40.00 | 0.10 | 26.54 | 1.39 | 0.96 | 82.12 |
| 3 | 40.00 | 0.10 | 26.47 | 1.40 | 0.94 | 82.06 |
| 4 | 41.75 | 0.10 | 26.53 | 1.34 | 0.98 | 81.37 |
| 5 | 40.00 | 0.10 | 26.74 | 1.48 | 0.78 | 81.47 |

依照上述的參數設定配置材料並列印驗證樣品，印製結果顯示在表 4.8，並收集反應變數後進行分析與探討。

表 4.8 印製結果

| | AR : HEMA (%) | DA (mg/mL) | Curing Time (sec) |
|------------------------|--|------------|-------------------|
| | 40.00 | 0.10 | 26.62 |
| Resolution |  | | |
| Young's Modulus |  | | |
| MTT assay |  | | |

註：樣本有做重複實驗，上圖的樣品僅取其一作代表。

⁷ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

4.5.2 參數確認

藉由可行解進行材料調配後，印製取得驗證樣品。因子組合參數為胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例為 4：6，多巴胺濃度為 0.1 mg/mL 及照光秒數為 26 秒。印製完成後放入烤箱以 80°C 氧化 24 hr，接著測得反應變數。本研究做三次重複，解析度、楊氏模數及細胞存活率之實驗數據分別在表 4.9、表 4.10 及表 4.11，詳細的計算見附錄七。

表 4.9 解析度之實驗數據

| 比例尺 | | | |
|------------------------|--------------|---------------------------|-------------------------------|
| 10 mm 之像素 | | 1 pixel | 1 pixel ² 面積 |
| 382.00 | | 0.02617801 | 0.00068529 |
| 面積計算 | | | 反應變數 |
| The Number Of Triangle | Total Pixels | 1 pixel ² Area | Resolution (mm ²) |
| 17 | 33,625 | 1977.94 | 1.35 |

表 4.10 楊氏模數之實驗數據

| 楊氏模數正規化 | | | | | | | | | | 反應變數 |
|---------|-----|----|---|-----|-----|------|------|-------|------|-----------------------|
| No. | 厚 | 長 | 寬 | 厚×寬 | 長×寬 | N | Mpa | 形變 | 應變 | Young's Modulus (MPa) |
| 1 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 2.92 | 0.97 | 35.74 | 1.19 | 0.818 |
| 2 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 3.72 | 1.24 | 38.04 | 1.26 | 0.979 |
| 3 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 4.45 | 1.48 | 38.09 | 1.26 | 1.168 |
| 平均 | | | | | | | | | | 0.983 |

表 4.11 細胞存活率之實驗數據

| NO. | 吸光度 | | Control | 反應變數 |
|-----|---------|------|---------|--------|
| | Control | 驗證樣本 | | 細胞存活率 |
| 1 | 0.44 | 0.35 | | |
| 2 | 0.43 | 0.40 | | |
| 3 | 0.36 | 0.33 | | |
| 平均 | 0.41 | 0.36 | 100% | 88.37% |

經由確認實驗所測得解析度之實際反應值為 1.35 mm²，與預測值相差 0.04 mm²，誤差率為-2.68 %；楊氏模數之實際反應值為 0.988 MPa，與預測值相差 0.005 MPa，誤差率為 0.55 %；細胞存活率之實際反應值為 88.37 %，與預測值相差 6.18 %，誤差率為 6.99 %。詳細內容如表 4.12。

與預測模型做比較，解析度的實際值與預測值相較之下偏低，但仍為可接受之誤差。原因有二，其一為實際值與真實三角形解析度面積更為接近；其二為誤差值僅-2.68 %，是很小的誤差。楊氏模數的實際值與預測值相較之下極為接近，僅 0.55 %的誤差值，顯示模型預測是很準確的。最後，細胞存活率的實際值與預測值相較之下偏高，但根據 ISO10993，細胞存活率大於 80 %以上，可視材料為無毒之材料，且又比預測值的存活率更為提高，因此為可接受之誤差。

表 4.12 最佳化參數驗證

| | Factor | | | Response | | |
|-----|-------------------------------|---------------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------------|
| | AR : HEMA ⁸ (%) | DA (mg/mL) | Curing Time (sec) | Resolution (mm ²) | Young's Modulus (MPa) | MTT assay (%) |
| 預測值 | 40.00 | 0.10 | 26.62 | 1.39 | 0.983 | 82.19 |
| 實際值 | 40.00 | 0.10 | 26.60 | 1.35 | 0.988 | 88.37 |
| 誤差 | 0 % | 0 % | -0.75 % | -2.68 % | 0.55 % | 6.99 % |

⁸ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

4.5.3 與期望目標值之比較

上述之驗證實驗為驗證 Design Expert 建議之最佳化參數模型是否準確。而本研究期望達成之目標為印製仿生的人工血管支架，因此，材料是否與真實血管特性相近是相對重要的。本小結將軟體所建議之最佳化參數所測得的反應變數，與真實血管特性之數值做比較，誤差如表 4.13。

解析度之實際值為 1.35 mm^2 ，目標值為 0.975 mm^2 ，誤差率為 28.06%；楊氏模數之反應值為 0.988 MPa，目標值範圍為 0.701 MPa 至 0.983 MPa，誤差率介在 0.51% 至 29.04%；細胞存活率之反應值為 88.37%，目標值為最大值 100%，誤差率為 -13.16%。

與期望目標值做比較，實際測得之解析度比目標值大，代表三角孔洞相對較大。這對於未來材料降解較不利，因孔洞大代表降解速度可能會過快；但對於材料本身的印製解析度來說，有將近 1 mm 之邊長的孔洞大小印的清晰，是相對好的。實際測得之楊氏模數稍比目標值範圍大，彈性較為高，但是實際值與範圍之高彈性 0.983 MPa 是很接近的。需再調整影響彈性之材料比例使樣本之彈性落在範圍中。最後是實際測得之細胞存活率，雖誤差達 13.16%，但如同上一節所提到：根據 ISO10993，細胞存活率大於 80% 以上，可視材料為無毒之材料。因此 88% 的細胞存活率是可接受的。

表 4.13 最佳化參數與目標值之誤差

| | Response | | |
|-----|---------------------------------|--------------------------|------------------|
| | Resolution (mm^2) | Young's Modulus (MPa) | MTT assay (%) |
| 目標值 | 0.975 | 0.701 ~ 0.983 | 100 (Max) |
| 實際值 | 1.35 | 0.988 | 88.37 |
| 誤差 | 28.06 % | 0.51 % ~ 29.04 % | -13.16 % |

4.6 小結

本研究利用 Design Expert[®]將實驗數據進行 ANOVA 分析，並得到各反應變數之顯著因子，最後依照選定的可行解之參數進行實驗，將樣本印製出來後，測得反應變數，並進行分析與討論。

在分析各顯著因子中，發現解析度的顯著因子為 A 及 B，如同前置實驗所預測的結果，會因胺基數脂比例及多巴胺的加入而改變解析度；楊氏模數的顯著因子為 A、C 及 ABC，說明大幅影響材料特性的是胺基數脂比例與照光秒數，胺基數脂過多會讓材料變軟，而照光越長則材料越硬；最後是細胞存活率各自與三項因子皆有顯著關係，說明任何因素的變動都可能改變材料的毒性。

在綜合比較部分，試著利用三維散佈圖來觀察各種實驗樣本組合是否達到本研究的期望，最後得到樣本七相較於其他組合更為接近期望。

在驗證實驗部分，利用確認實驗來驗證可行解是否準確。最後發現每項反應變數之實際值與預測值的誤差率極為相近，說明本研究之模型為準確的。

另外也做了最佳化參數所印製的樣本與真實血管特性之誤差。與目標值有些微差異，需再針對因子做更詳細的評估，讓人工血管更為接近真實血管特性。

最後，本研究將在第五章整理研究的成果，並給予未來的研究建議。

第五章 結論與未來建議

現今科技發展日新月異，醫學治療的進步帶給人們更多機會與資源，使人類的壽命得以延長，活得更加健康。當醫療與積層製造擦上火花，又是給予醫學進步另一種助力。本研究延續這樣的概念，將積層製造運用組織工程的方式，研發出新型材料的人工血管，並利用實驗設計法 (Design of Experiments, DOE) 調整製程參數，藉以達到人工血管製造的最佳化。

5.1 結論

以往針對人工血管製造的研究，大致分為：(1) 間接式製造 (2) 直接式製造。間接式製造是相關研究中最常出現的方式，除了繁瑣、耗時之外，也難以將其應用在人體內；而直接式製造大多可省時，且更易於植入體內進行動物實驗。本研究利用直接列印的方式，針對仿生人工血管支架進行製程參數最佳化。實驗數據之分析結果歸納以下結論：

1. 以可植入人體為優先考量之最符合仿生人工血管所建議的參數為：胺基樹脂與甲基丙烯酸羟乙酯之混合比例為 4:6、多巴胺濃度為 0.1 mg/mL 及照光時間為 26.62 秒。
2. 由於材料在印製完之後，以酒精清洗會有易破裂的情形，因此需在材料取出以純水洗淨後，將樣本放在鋁箔紙上，以烘箱 80°C 烘 24 小時進行氧化處理。

本研究探討不同因子對於反應變數之顯著關係，並以此給予製造仿生人工血管支架建議的最佳參數。本研究以利用過往文獻從未開發在人工血管的材料—胺基樹脂進行印製，因此對於人工血管開發是屬新型材料。利用具有軟性特徵的胺基樹脂為主材料，並結合多巴胺將不利於仿生人工血管特性進行材料改性。本研究所開發的人工血管材料在未來能應用於冠狀動脈相關疾病的血管換置治療上，且達成客製化人工血管支架的目標。

在實驗驗證後，本研究進行仿生人工血管支架的設計與印製，嘗試列印軟性雙層結構之管狀，如圖 5.1、圖 5.2 及圖 5.3。



圖 5.1 人工血管支架之管狀樣本

資料來源：本研究整理



圖 5.2 軟性人工血管支架

資料來源：本研究整理

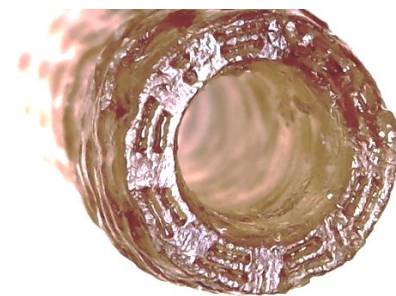


圖 5.3 人工血管支架之孔洞結構

資料來源：本研究整理

5.2 未來建議

由於本研究有時間、成本或實驗環境等的限制，導致本研究有不足的部分產生，因此給予以下幾點建議：

1. 在時間限制中，本研究針對細胞培養只測定培養三天後的細胞存活率。建議未來可以進行7天以上的培養，並以掃描式電子顯微鏡（SEM）觀察更詳細的細胞狀態；此外，以組織工程的概念製造人工血管的方法中，本研究是以細胞和生物相容性支架為基底的組織工程血管移植物作為概念原型，其概念之一為人工血管植入到人體後需有降解特性。而本研究所開發的材料本身具有降解特性，但並未針對此特做實驗探討與分析，故建議在未來可以多考量材料之生物可降解性（Biodegradable）及適當的降解速度。
2. 在實驗因子選擇中，未來可以多考慮印製厚度。因為不同的厚度可能會導致不一樣的材料彈性。
3. 在反應變數中，由於本研究的目的是製造仿生人工血管支架，印製出具有軟性特性亦會因材料厚度有所改變，建議在彈性測試中，需多探討厚度與彈性之間的關係；此外還有第一點所提及的生物可降解性及降解速度。
4. 在人工血管印製中，由於血管有許多不同的形狀，建議在未來多考慮不同的管狀，例如三叉型。
5. 本研究所給予的是運用在人工血管的新型材料之最佳化參數。期望往後的研究者在仿生人工血管上，再進行平滑肌細胞等注入管壁，以更實際建構出人工血管環境。

參考文獻

- 王基信 (2012)。以電氣紡絲法製備 PLA/PCL 小管徑人工血管支架之性質及其細胞生長研究。國立交通大學，新竹市。
- 刘宗光、屈树新與翁杰 (2014)。聚多巴胺在生物材料表面改性中的应用。212-219。doi: 10.7536/PC140921
- 宋信文、張楚欣、虞佩信與施正軒 (1994)。生醫工程在循環系統之發展-人工心臟瓣膜及人工血管。化工技術，2 (10)，94-104。
- 李宣書 (2001)。淺談組織工程物理雙月刊，24 (3)，430-435。
- 徐善慧與陳俊宇 (2002)。巧奪天工的人類智慧—組織工程。科學發展，356，4-9。
- 連文彬與曾春典 (2011)。心血管疾病診療 20 世紀(1900 年)以來之發展歷史回顧—國內外情形之綜覽—。台灣醫界，54 (8)，48-54。
- 張雯晴 (2016)。使用光固化水性材料建構三維列印軟骨支架之近似最佳化研究。東海大學，台中市。
- 黃楠、翁亞軍、楊志祿、宋強、羅日方、冷永祥、楊華、王進、陳俊英、孫鴻、吳熹與李全利 (2010)。【一種基於聚多巴胺的生物功能化改性方法。】。未出版之原始資料。
- 蔡政憲 (2015)。利用實驗設計法調整積層製造參數與品質最佳化研究—以 FDM 技術為例。東海大學，台中市。
- Bartis, D. D., & Pongrácz, D. J. (2011). *Three dimensional tissue cultures and tissue engineering*. [dobe Acrobat Reader DC]. doi: 10.13140/2.1.2793.5047
- Bellan, L. M., Singh, S. P., Henderson, P. W., Porri, T. J., Craighead, H. G., & Spector, J. A. (2009). Fabrication of an artificial 3-dimensional vascular network using sacrificial sugar structures. *Soft Matter*, 5(7), 1354-1357. doi: 10.1039/B819905A
- Bracaglia, L. G., Smith, B. T., Watson, E., Arumugasaamy, N., Mikos, A. G., & Fisher, J. P. (2017). 3D printing for the design and fabrication of polymer-based gradient scaffolds. *Acta Biomater*. doi: 10.1016/j.actbio.2017.03.030

- Choi, J.-W., Wicker, R., Lee, S.-H., Choi, K.-H., Ha, C.-S., & Chung, I. (2009). Fabrication of 3D biocompatible/biodegradable micro-scaffolds using dynamic mask projection microstereolithography. *Journal of Materials Processing Technology*, 209(15–16), 5494-5503. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2009.05.004>
- Della Vecchia, N. F., Luchini, A., Napolitano, A., D'Errico, G., Vitiello, G., Szekely, N., . . . Paduano, L. (2014). Tris Buffer Modulates Polydopamine Growth, Aggregation, and Paramagnetic Properties. *Langmuir*, 30(32), 9811-9818. doi: 10.1021/la501560z
- Du, X., Li, L., Li, J., Yang, C., Frenkel, N., Welle, A., . . . Levkin, P. A. (2014). UV-Triggered Dopamine Polymerization: Control of Polymerization, Surface Coating, and Photopatterning. *Advanced Materials*, 26(47), 8029-8033. doi: 10.1002/adma.201403709
- Fallahiarezouadar, E., Ahmadipourroudposht, M., Idris, A., & Mohd Yusof, N. (2015). A review of: Application of synthetic scaffold in tissue engineering heart valves. *Materials Science and Engineering: C*, 48, 556-565. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.12.016>
- Finegold, J. A., Asaria, P., & Francis, D. P. (2013). Mortality from ischaemic heart disease by country, region, and age: Statistics from World Health Organisation and United Nations. *International Journal of Cardiology*, 168(2), 934-945. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.10.046>
- Gauvin, R., Chen, Y.-C., Lee, J. W., Soman, P., Zorlutuna, P., Nichol, J. W., . . . Khademhosseini, A. (2012). Microfabrication of complex porous tissue engineering scaffolds using 3D projection stereolithography. *Biomaterials*, 33(15), 3824-3834. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.01.048
- Greenwald, S. E., & Berry, C. L. (2000). Improving vascular grafts: the importance of mechanical and haemodynamic properties. *The Journal of Pathology*, 190(3), 292-299. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<292::AID-PATH528>3.0.CO;2-S
- Guvendiren, M., Molde, J., Soares, R. M. D., & Kohn, J. (2016). Designing Biomaterials for 3D Printing. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2(10), 1679-1693. doi: 10.1021/acsbmaterials.6b00121

- Huber, B., Engelhardt, S., Meyer, W., Krüger, H., Wenz, A., Schönhaar, V., . . . Borchers, K. (2016). Blood-Vessel Mimicking Structures by Stereolithographic Fabrication of Small Porous Tubes Using Cytocompatible Polyacrylate Elastomers, Biofunctionalization and Endothelialization. *Journal of Functional Biomaterials*, 7(2), 11.
- Janik, H., & Marzec, M. (2015). A review: Fabrication of porous polyurethane scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 48, 586-591. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.12.037>
- Jarrell, B. E., Williams, S. K., Stokes, G., Hubbard, F. A., Carabasi, R. A., Koolpe, E., . . . et al. (1986). Use of freshly isolated capillary endothelial cells for the immediate establishment of a monolayer on a vascular graft at surgery. *Surgery*, 100(2), 392-399.
- Kielty, C. M., Stephan, S., Sherratt, M. J., Williamson, M., & Shuttleworth, C. A. (2007). Applying elastic fibre biology in vascular tissue engineering. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 362(1484), 1293-1312. doi: 10.1098/rstb.2007.2134
- Kirby, G. T. S., White, L. J., Rahman, C. V., Cox, H. C., Qutachi, O., Rose, F. R. A. J., . . . Woodruff, M. A. (2011). PLGA-Based Microparticles for the Sustained Release of BMP-2. *Polymers*, 3(4), 571-586. doi: 10.3390/polym3010571
- Kolesky, D. B., Homan, K. A., Skylar-Scott, M. A., & Lewis, J. A. (2016). Three-dimensional bioprinting of thick vascularized tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(12), 3179-3184. doi: 10.1073/pnas.1521342113
- Lal, B., Viola, J., Hicks, D. D., & Grad, D. O. (2003). *The Emergence of Tissue Engineering as a Research Field*. [dobe Acrobat Reader DC]. Retrieved from <https://www.nsf.gov/pubs/2004/nsf0450/start.htm>
- Langton, C. M., Whitehead, M. A., Langton, D. K., & Langley, G. (1997). Development of a cancellous bone structural model by stereolithography for ultrasound characterisation of the calcaneus. *Medical Engineering & Physics*, 19(7), 599-604. doi: [http://doi.org/10.1016/S1350-4533\(97\)00027-1](http://doi.org/10.1016/S1350-4533(97)00027-1)

- Lim, M., Panoskaltsis, N., Ye, H., & Mantalaris, A. (2011). Optimization of in vitro erythropoiesis from CD34+ cord blood cells using design of experiments (DOE). *Biochemical Engineering Journal*, 55(3), 154-161. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2011.03.014>
- Liu, V. A., & Bhatia, S. N. (2002). Three-Dimensional Photopatterning of Hydrogels Containing Living Cells. *Biomedical Microdevices*, 4(4), 257-266. doi: 10.1023/a:1020932105236
- Ma, P. X. (2004). Scaffolds for tissue fabrication. *Materials Today*, 7(5), 30-40. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1369-7021\(04\)00233-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1369-7021(04)00233-0)
- Melchiorri, A. J., Hibino, N., Best, C. A., Yi, T., Lee, Y. U., Kraynak, C. A., . . . Fisher, J. P. (2016). 3D-Printed Biodegradable Polymeric Vascular Grafts *Advanced Healthcare Materials*, 5, 319-325. doi: 10.1002/adhm.201500725
- Meyer, W., Engelhardt, S., Novosel, E., Elling, B., Wegener, M., & Krüger, H. (2012). Soft Polymers for Building up Small and Smallest Blood Supplying Systems by Stereolithography. *Journal of Functional Biomaterials*, 3(2), 257.
- Ratcliffe, A. (2000). Tissue engineering of vascular grafts. *Matrix Biology*, 19(4), 353-357. doi: [http://doi.org/10.1016/S0945-053X\(00\)00080-9](http://doi.org/10.1016/S0945-053X(00)00080-9)
- Ravi, S., & Chaikof, E. L. (2010). Biomaterials for vascular tissue engineering. *Regenerative medicine*, 5(1), 107. doi: 10.2217/rme.09.77
- Sarkar, S., Schmitz-Rixen, T., Hamilton, G., & Seifalian, A. M. (2007). Achieving the ideal properties for vascular bypass grafts using a tissue engineered approach: a review. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 45(4), 327-336. doi: 10.1007/s11517-007-0176-z
- Schmidt, S. P., Hunter, T. J., Sharp, W. V., Malindzak, G. S., & Evancho, M. M. (1984). Endothelial cell-seeded four-millimeter Dacron vascular grafts: Effects of blood flow manipulation through the grafts. *Journal of Vascular Surgery*, 01(3), 434-441. doi: 10.1067/mva.1984.avs0010434
- Sooppan, R., Paulsen, S. J., Han, J., Ta, A. H., Dinh, P., Gaffey, A. C., . . . Atluri, P. (2016). In Vivo Anastomosis and Perfusion of a Three-Dimensionally-Printed Construct Containing Microchannel Networks. *termis*, 22. doi: 10.1089/ten.tec.2015.0239

- Takeuchi, M., Nakajima, M., Hasegawa, Y., & Fukuda, T. (2015, 27-30 July 2015). *3D microchannel networks by melting alginate hydrogel fibers for cell structures*. Paper presented at the Nanotechnology (IEEE-NANO) , 2015 IEEE 15th International Conference on.
- Wang, X., He, K., & Zhang, W. (2013). Optimizing the fabrication processes for manufacturing a hybrid hierarchical polyurethane–cell/hydrogel construct. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 28(4), 303-319. doi: 10.1177/0883911513491359
- Wang, X. Y., Jin, Z. H., Gan, B. W., Lv, S. W., Xie, M., & Huang, W. H. (2014). Engineering interconnected 3D vascular networks in hydrogels using molded sodium alginate lattice as the sacrificial template. *Lab on a Chip*, 14(15), 2709-2716. doi: 10.1039/C4LC00069B
- Wei, Q., Zhang, F., Li, J., Li, B., & Zhao, C. (2010). Oxidant-induced dopamine polymerization for multifunctional coatings. *Polymer Chemistry*, 1(9), 1430-1433. doi: 10.1039/C0PY00215A
- Weiss, L. E., Amon, C. H., Finger, S., Miller, E. D., Romero, D., Verdinelli, I., . . . Campbell, P. G. (2005). Bayesian computer-aided experimental design of heterogeneous scaffolds for tissue engineering. *Computer-Aided Design*, 37(11), 1127-1139. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cad.2005.02.004>
- Wu, T., Huang, C., Li, D., Yin, A., Liu, W., Wang, J., . . . Mo, X. (2015). A multi-layered vascular scaffold with symmetrical structure by bi-directional gradient electrospinning. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 133, 179-188. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.05.048>

附錄

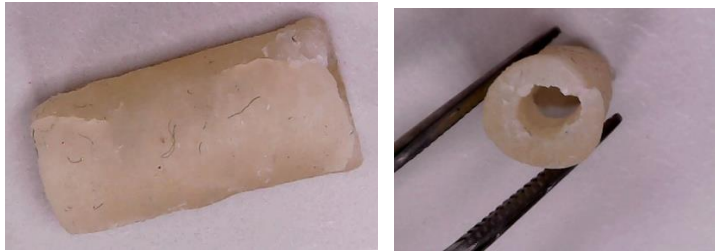
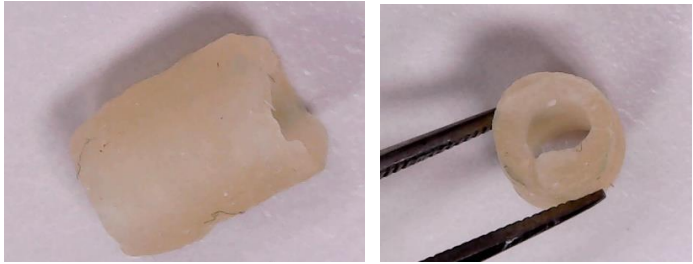

附錄一 硬度測試 (Hardness)

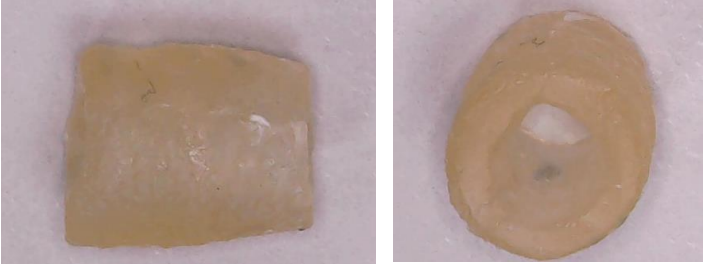

| AR : HEMA | 材料狀態 | 固化時間 (min) | 固化情形 | 肖氏硬度 (度) | | | | |
|-----------|--------------|---------------|--------------|----------|--------|--------|--------|-------|
| | | | | Test 1 | Test 2 | Test 3 | Test 4 | 平均 |
| 1 : 9 | 1/2 固化 (果凍狀) | 35 | 無法固化 | 70 | 72 | 70 | 75 | 71.75 |
| 2 : 8 | 1/4 固化 (果凍狀) | 35 | 材料表面 皆有黏性 | 60 | 58 | 63 | 64 | 61.25 |
| 3 : 7 | 尚可 (液態) | 35 | | 66 | 61 | 72 | 65 | 66.00 |
| 4 : 6 | 良好 (液態) | 35 | | 62 | 63 | 67 | 73 | 66.25 |
| 5 : 5 | 良好 (液態) | 35 | | 55 | 54 | 56 | 56 | 55.25 |
| 6 : 4 | 良好 (液態) | 35 | | 34 | 34 | 40 | 38 | 36.50 |
| 7 : 3 | 良好 (液態) | 35 | | 23 | 25 | 25 | 24 | 24.25 |
| 8 : 2 | 良好 (液態) | 35 | | 23 | 24 | 26 | 28 | 25.25 |
| 9 : 1 | 良好 (液態) | 35 | | 34 | 34 | 36 | 23 | 31.75 |

附錄二 黏度測試 (Viscosity)

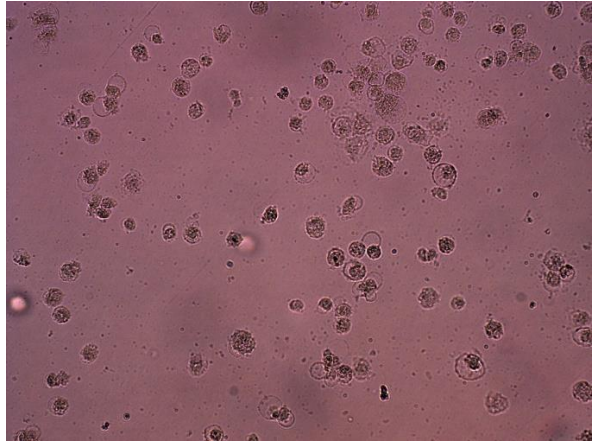
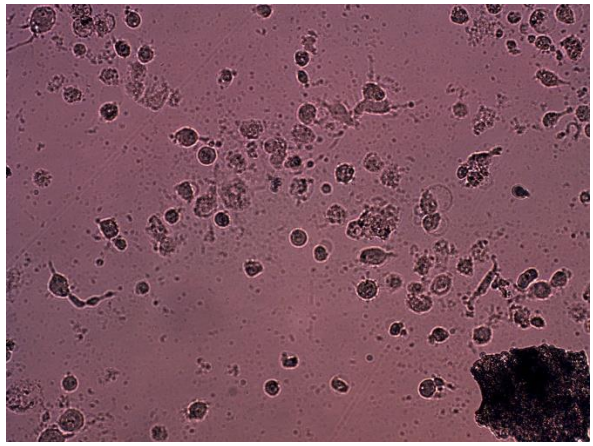
| AR : HEMA | 黏力 | | 固化 狀況 |
|-----------|--------|---------------|----------|
| | cP | 測試時間 (min) | |
| 1 : 9 | | | 過軟，不考慮 |
| 2 : 8 | | | 過軟，不考慮 |
| 3 : 7 | | | 過軟，不考慮 |
| 4 : 6 | 39.60 | 4m 00sec | 正常 |
| 5 : 5 | 63.00 | 4m 00sec | |
| 6 : 4 | 332.40 | 4m 04sec | |
| 7 : 3 | 295.20 | 4m 42sec | |
| 8 : 2 | | | 過硬，不考慮 |
| 9 : 1 | | | 過硬，不考慮 |

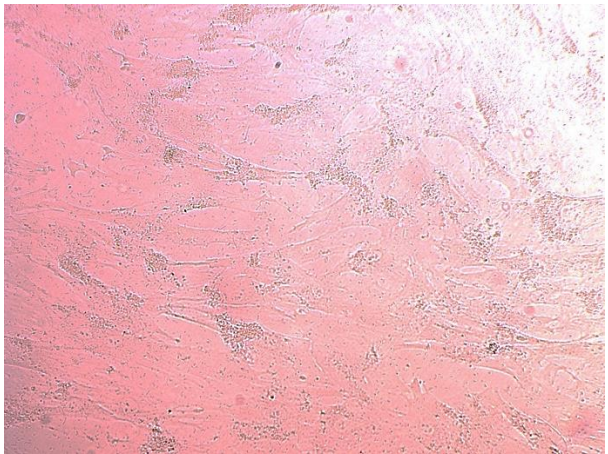
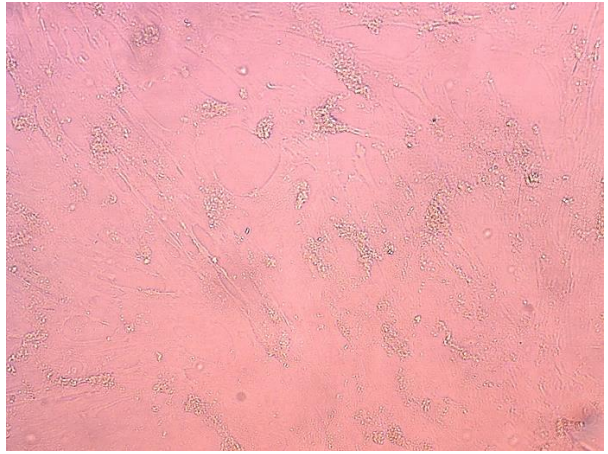
附錄三 前置實驗之樣品列印情形

| 編號 | AR : HEMA | 明膠 (Gelatin) | TPO | 列印秒數 | 實驗樣本 |
|----|-----------|--------------|------|------|--|
| 1 | 7 : 3 | 10% | 1.5% | 25 |  |
| 2 | 7 : 3 | 5% | 1.5% | 25 |  |
| 3 | 7 : 3 | 3% | 1.5% | 25 |  |

| | | | | | |
|---|-------|----|------|----|---|
| 4 | 7 : 3 | 1% | 1.5% | 25 |  |
| 5 | 7 : 3 | 0% | 1.5% | 25 |  |

附錄四 前置實驗之細胞存活率


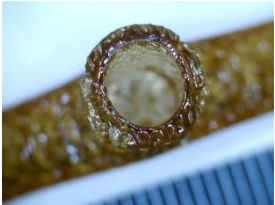


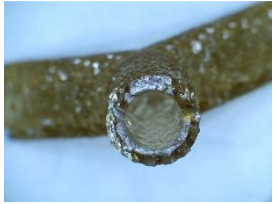

| # | | AR : HEMA | 明膠 (Gelatin) | TPO | 列印秒數 | 細胞存活率 (平均) | 實驗樣本 |
|---|-----|-----------|-----------------|-------|------|---------------|--|
| 1 | 一重複 | 7 : 3 | 10% | 1.5 % | 25 | 43.2 % |  |
| 2 | 二重複 | | | | | |  |







| | | | | |
|---|-----|---------|-------|--|
| 3 | 一重複 | Control | 100 % |  |
| 4 | 二重複 | | |  |







*註 1：材料細胞存活率與 Control 相比

*註 2：圖片黑點為細胞死亡

附錄五 加入多巴胺之樣本







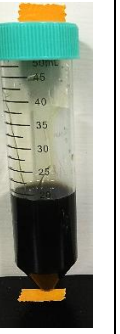

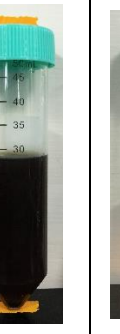
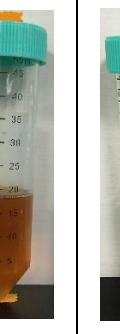
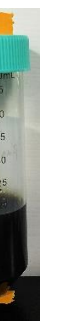
| 編號 | AR : HEMA | DA | TPO | 列印秒數 | 聚合方式 | 實驗樣本 | |
|----|-----------|---------|------|------|--|--|---|
| 1 | 7 : 3 | 2 mg/mL | 1.5% | 25 | 先自聚合 DA、Tris 及 AR， 以 180°C 去水完成後， 加入 TPO 及 HEMA， 混勻即可。 |  |   |
| 2 | 7 : 3 | 2 mg/mL | 1.5% | 25 | 先自聚合 DA、Tris 及 AR， 以 180°C 去水完成後， 加入 TPO 及 HEMA， 以室溫攪拌 24 hr。 |  |   |

| | | | | | | | |
|---|-------|---------|------|----|---|--|--|
| 3 | 7 : 3 | 2 mg/mL | 1.5% | 25 | <p>先自聚合 DA、Tris 及 AR， 以 180°C 去水完成後， 以室溫攪拌 24 hr， 再加入 TPO 及 HEMA， 混勻即可。</p> |  |   |
| | 7 : 3 | 2 mg/mL | 1.5% | 25 | <p>將 DA、Tris、AR、TPO 及 HEMA 混和， 以 60°C 去水攪拌 24 hr。</p> |  |   |

| | | | | | | | |
|--|-------|---------|------|----|--|--|---|
| | 7 : 3 | 2 mg/mL | 1.5% | 25 | <p>先自聚合 DA、Tris 及 AR， 以 60°C 去水攪拌 24 hr， 再加入 TPO 及 HEMA， 混勻即可。</p> |  |   |
| | 7 : 3 | 2 mg/mL | 1.5% | 25 | <p>先將 AR 加入去離子水 (1 : 1)， 以 180°C 去水攪拌使 AR 老化， 再加入 DA 及 Tris， 以 60°C 去水攪拌 24 hr， 最後加入 TPO 及 HEMA， 混勻即可。</p> |  |   |

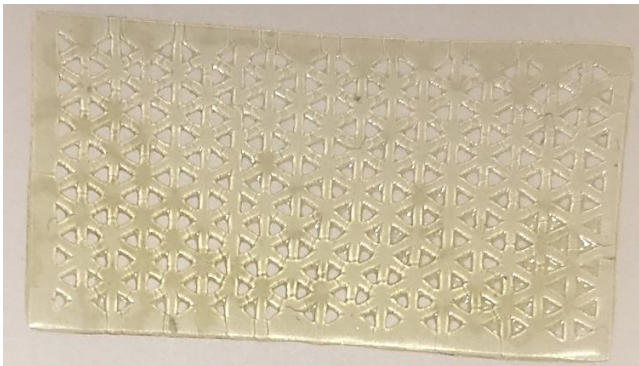
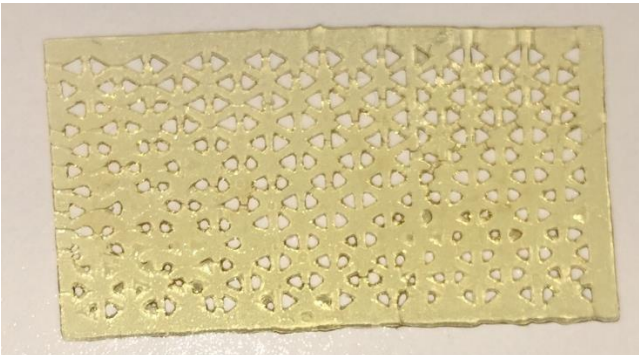
附錄六 實驗數據

1. 材料配置

| | | | | | | | | | | | |
|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| Std | 7 | 3 | 11 | 2 | 8 | 9 | 10 | 5 | 6 | 1 | 4 |
| Run | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| Factor 1 AR : HEMA ¹ (%) | 40.00 | 40.00 | 60.00 | 80.00 | 80.00 | 60.00 | 60.00 | 40.00 | 80.00 | 40.00 | 80.00 |
| Factor 2 DA (mg/mL) | 3.00 | 3.00 | 1.55 | 0.10 | 3.00 | 1.55 | 1.55 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 3.00 |
| Factor 3 Time (sec) | 40.00 | 24.00 | 32.00 | 24.00 | 40.00 | 32.00 | 32.00 | 40.00 | 40.00 | 24.00 | 24.00 |
| 材料 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

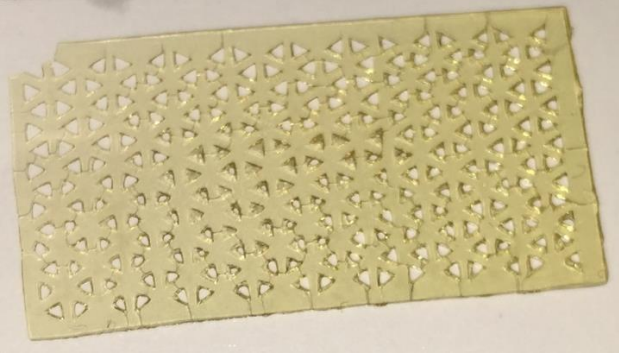
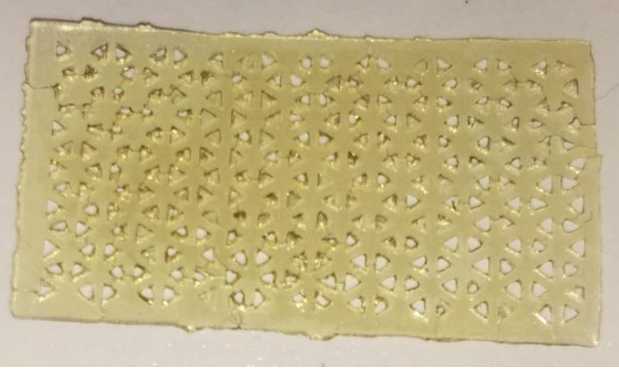
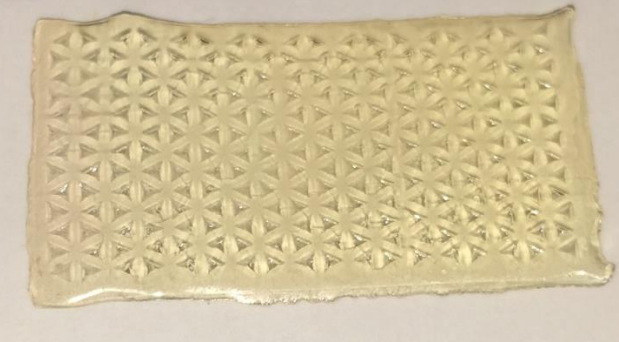
¹ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

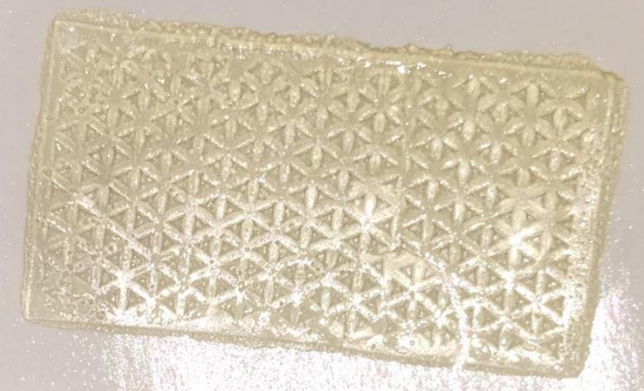

2. 解析度 (Resolution) 之實驗數據

| Std | Run | 實驗因子 | | | 反應變數 | 實驗樣本 |
|-----|-----|----------------------------------|---------------|---------------|----------------------------------|--|
| | | AR : HEMA ² (%) | DA (mg/mL) | Time (sec) | Resolution (mm ²) | |
| 7 | 1 | 40.00 | 3.00 | 40.00 | 2.76 |  |
| 3 | 2 | 40.00 | 3.00 | 24.00 | 3.05 |  |

² AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

| | | | | | | |
|----|---|-------|------|-------|------|--|
| 11 | 3 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 1.24 |  |
| 2 | 4 | 80.00 | 0.10 | 24.00 | 0.05 |  |
| 8 | 5 | 80.00 | 3.00 | 40.00 | 1.86 |  |

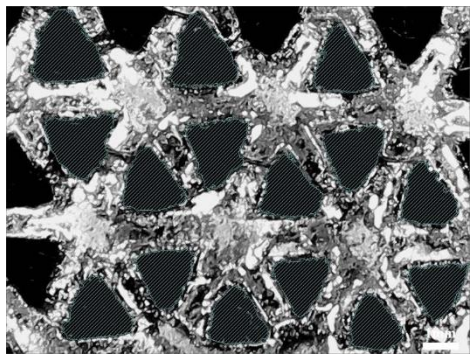
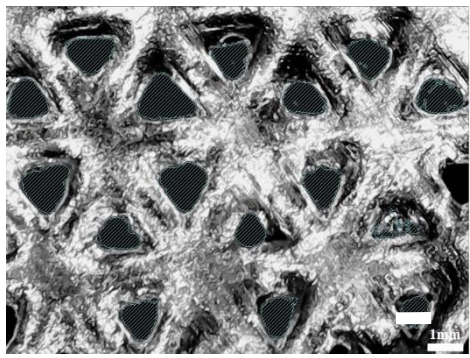
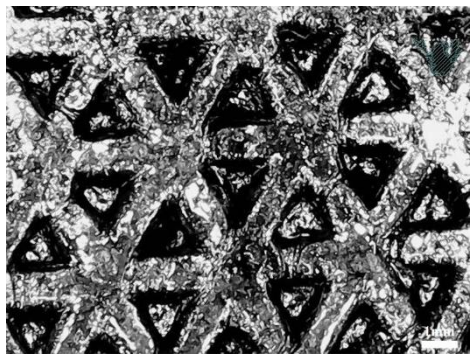
| | | | | | | |
|----|---|-------|------|-------|------|--|
| 9 | 6 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 1.59 |  |
| 10 | 7 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 0.88 |  |
| 5 | 8 | 40.00 | 0.10 | 40.00 | 0.00 |  |

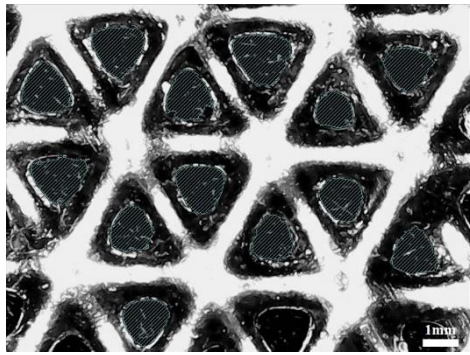
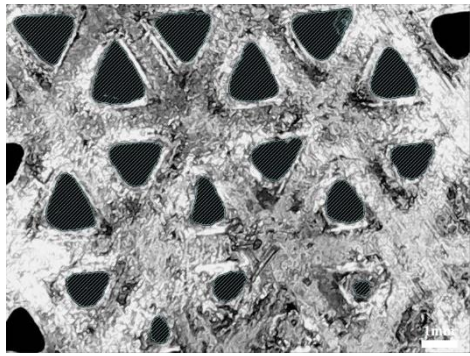
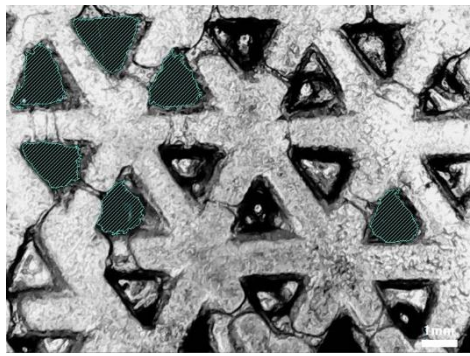
| | | | | | | |
|---|----|-------|------|-------|------|--|
| 6 | 9 | 80.00 | 0.10 | 40.00 | 0.00 |  |
| 1 | 10 | 40.00 | 0.10 | 24.00 | 1.68 |  |
| 4 | 11 | 80.00 | 3.00 | 24.00 | 0.00 | Fail |

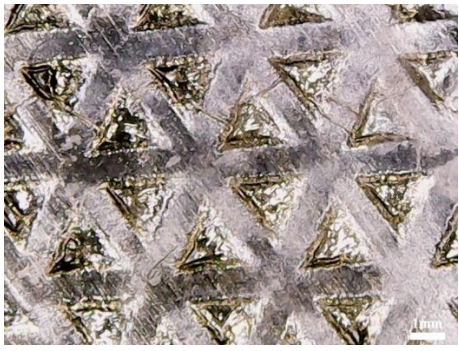
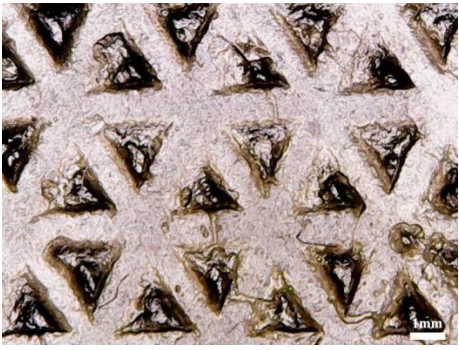
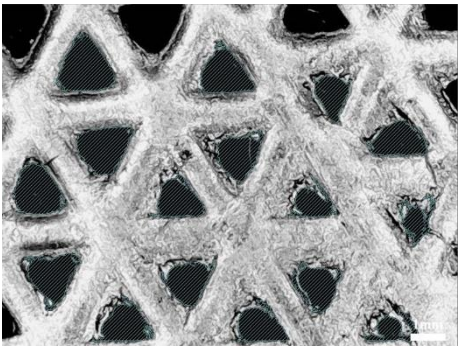
(1) 正三角網格之像素 (Pixel) 數據

| | | 比例尺 | | | | | | | 實驗樣本 |
|-----|-----|-------------------------------|---------------|---------------|---------------------------|-----------------|------------------------------|----------------------------------|---|
| | | 6 mm 之像素 | | | 1 pixel | | 1 pixel ² 面積 | | |
| | | 245.13 | | | 0.02447681 | | 0.00059911 | | |
| Std | Run | 實驗因子 | | | 面積計算 | | | 反應變數 | |
| | | AR : HEMA ³ (%) | DA (mg/mL) | Time (sec) | The Number Of Triangle | Total Pixels | 1 pixel ² Area | Resolution (mm ²) | |
| 7 | 1 | 40.00 | 3.00 | 40.00 | 15 | 69,201 | 4613.40 | 2.76 |  |




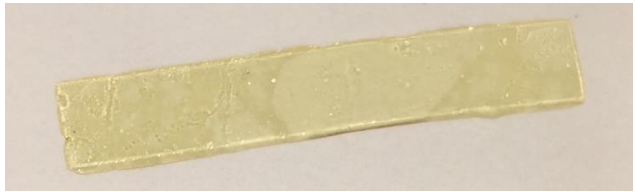
³ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

| | | | | | | | | | |
|----|---|-------|------|-------|----|-------|---------|------|--|
| 3 | 2 | 40.00 | 3.00 | 24.00 | 15 | 76475 | 5098.33 | 3.05 |  |
| 11 | 3 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 16 | 33057 | 2066.06 | 1.24 |  |
| 2 | 4 | 80.00 | 0.10 | 24.00 | 16 | 1430 | 89.38 | 0.05 |  |





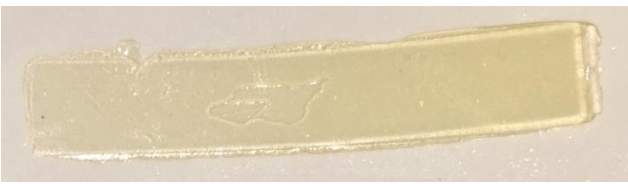
| | | | | | | | | | |
|----|---|-------|------|-------|----|-------|---------|------|--|
| 8 | 5 | 80.00 | 3.00 | 40.00 | 13 | 40369 | 3105.31 | 1.86 |  |
| 9 | 6 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 16 | 42580 | 2661.25 | 1.59 |  |
| 10 | 7 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 15 | 21999 | 1466.60 | 0.88 |  |

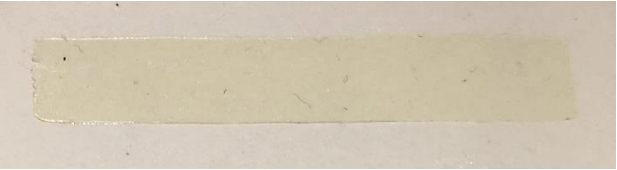
| | | | | | | | | | |
|---|----|-------|------|-------|----|-------|---------|------|--|
| 5 | 8 | 40.00 | 0.10 | 40.00 | 12 | 0 | 0 | 0.00 |  |
| 6 | 9 | 80.00 | 0.10 | 40.00 | 15 | 0 | 0 | 0.00 |  |
| 1 | 10 | 40.00 | 0.10 | 24.00 | 16 | 44943 | 2808.94 | 1.68 |  |
| 4 | 11 | 80.00 | 3.00 | 24.00 | 0 | 0 | 0 | 0.00 | Fail |

3. 楊氏模數 (Young's Modulus) 之實驗數據

| Std | Run | 實驗因子 | | | 反應變數 | 實驗樣本 |
|-----|-----|-------------------------------|---------------|---------------|--------------------------|---|
| | | AR : HEMA ⁴ (%) | DA (mg/mL) | Time (sec) | Young's Modulus (MPa) | |
| 7 | 1 | 40.00 | 3.00 | 40.00 | 1.333 |  |
| 3 | 2 | 40.00 | 3.00 | 24.00 | 2.707 |  |
| 11 | 3 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 0.917 |  |
| 2 | 4 | 80.00 | 0.10 | 24.00 | 0.822 |  |

⁴ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

| | | | | | | |
|----|---|-------|------|-------|-------|--|
| 8 | 5 | 80.00 | 3.00 | 40.00 | 3.456 |  |
| 9 | 6 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 0.856 |  |
| 10 | 7 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 1.218 |  |
| 5 | 8 | 40.00 | 0.10 | 40.00 | 4.298 |  |
| 6 | 9 | 80.00 | 0.10 | 40.00 | 0.00 |  |

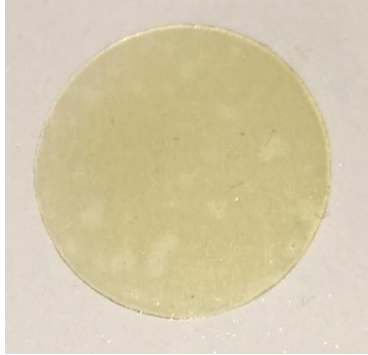

| | | | | | | |
|---|----|-------|------|-------|-------|---|
| 1 | 10 | 40.00 | 0.10 | 24.00 | 0.484 |  |
| 4 | 11 | 80.00 | 3.00 | 24.00 | 0.00 | Fail |

(1) 拉伸數據


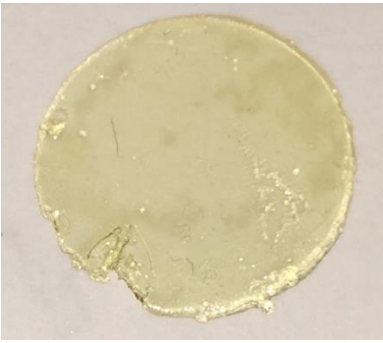

| Std | Run | 實驗因子 | | | 楊氏模數正規化 | | | | | | | | | 反應變數 |
|-----|-----|-------------------------------|---------------|---------------|---------|----|---|-----|-----|-------|----------|----------|----------|-----------------------------|
| | | AR : HEMA ⁵ (%) | DA (mg/mL) | Time (sec) | 厚 | 長 | 寬 | 厚×寬 | 長×寬 | N | Mpa | 形變 | 應變 | Young's Modulus (MPa) |
| 7 | 1 | 40.00 | 3.00 | 40.00 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 3.175 | 1.058 | 23.808 | 0.7936 | 1.333 |
| 3 | 2 | 40.00 | 3.00 | 24.00 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 6.675 | 2.225 | 24.655 | 0.8218 | 2.707 |
| 11 | 3 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 2.625 | 0.875 | 28.61633 | 0.953878 | 0.917 |
| 2 | 4 | 80.00 | 0.10 | 24.00 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 0.4 | 0.133333 | 4.864833 | 0.162161 | 0.822 |
| 8 | 5 | 80.00 | 3.00 | 40.00 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 7.575 | 2.525 | 21.91233 | 0.730411 | 3.456 |
| 9 | 6 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 1.575 | 0.525 | 18.396 | 0.6132 | 0.856 |
| 10 | 7 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 2.8 | 0.933333 | 22.98633 | 0.766211 | 1.218 |
| 5 | 8 | 40.00 | 0.10 | 40.00 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 9.475 | 3.158333 | 22.045 | 0.734833 | 4.298 |
| 6 | 9 | 80.00 | 0.10 | 40.00 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 1 | 10 | 40.00 | 0.10 | 24.00 | 0.6 | 30 | 5 | 3 | 150 | 1.5 | 0.5 | 30.956 | 1.031867 | 0.484 |
| 4 | 11 | 80.00 | 3.00 | 24.00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |


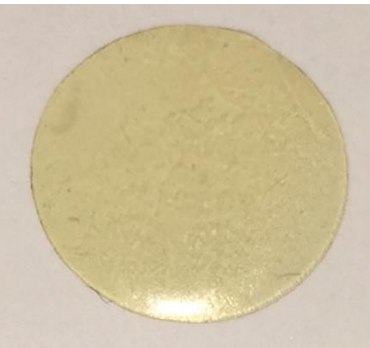

⁵ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

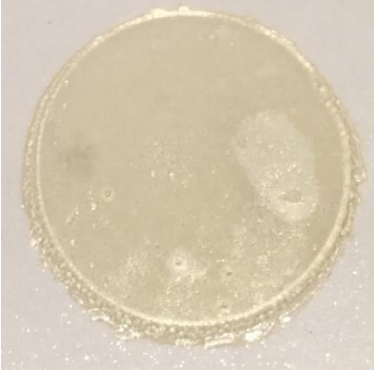

4. 細胞存活率 (MTT assay) 之實驗數據

| Std | Run | 實驗因子 | | | 反應變數 | 實驗樣本 |
|-----|-----|-------------------------------|---------------|---------------|------------------|--|
| | | AR : HEMA ⁶ (%) | DA (mg/mL) | Time (sec) | MTT assay (%) | |
| 7 | 1 | 40.00 | 3.00 | 40.00 | 67.26 |  |
| 3 | 2 | 40.00 | 3.00 | 24.00 | 65.76 |  |

⁶ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

| | | | | | | |
|----|---|-------|------|-------|-------|--|
| 11 | 3 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 70.14 |  |
| 2 | 4 | 80.00 | 0.10 | 24.00 | 68.64 |  |
| 8 | 5 | 80.00 | 3.00 | 40.00 | 77.30 |  |

| | | | | | | |
|----|---|-------|------|-------|-------|--|
| 9 | 6 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 74.28 |  |
| 10 | 7 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 81.02 |  |
| 5 | 8 | 40.00 | 0.10 | 40.00 | 89.23 |  |

| | | | | | | |
|---|----|-------|------|-------|-------|---|
| 6 | 9 | 80.00 | 0.10 | 40.00 | 72.76 |  |
| 1 | 10 | 40.00 | 0.10 | 24.00 | 76.06 |  |
| 4 | 11 | 80.00 | 3.00 | 24.00 | 0.00 | Fail |

(1) 細胞吸光度 (Absorbance) 數據

| Std | Run | 實驗因子 | | | 吸光度 | | | 反應變數 |
|---------|-----|-------------------------------|---------------|---------------|--------|--------|--------|--------------------------|
| | | AR : HEMA ⁷ (%) | DA (mg/mL) | Time (sec) | 一 | 二 | 平均 | Young's Modulus (MPa) |
| 7 | 1 | 40.00 | 3.00 | 40.00 | 0.1286 | 0.1099 | 0.1192 | 1.333 |
| 3 | 2 | 40.00 | 3.00 | 24.00 | 0.1203 | 0.1129 | 0.1166 | 2.707 |
| 11 | 3 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 0.1193 | 0.1294 | 0.1243 | 0.917 |
| 2 | 4 | 80.00 | 0.10 | 24.00 | 0.1425 | 0.1009 | 0.1217 | 0.822 |
| 8 | 5 | 80.00 | 3.00 | 40.00 | 0.159 | 0.1151 | 0.1370 | 3.456 |
| 9 | 6 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 0.1242 | 0.1392 | 0.1317 | 0.856 |
| 10 | 7 | 60.00 | 1.55 | 32.00 | 0.1425 | 0.1448 | 0.1436 | 1.218 |
| 5 | 8 | 40.00 | 0.10 | 40.00 | 0.1811 | 0.1353 | 0.1582 | 4.298 |
| 6 | 9 | 80.00 | 0.10 | 40.00 | 0.129 | | 0.1129 | 0.00 |
| 1 | 10 | 40.00 | 0.10 | 24.00 | 0.1614 | 0.1083 | 0.1348 | 0.484 |
| 4 | 11 | 80.00 | 3.00 | 24.00 | 0 | 0 | 0 | 0.00 |
| Control | | | | | 0.1817 | 0.1662 | 0.1773 | |

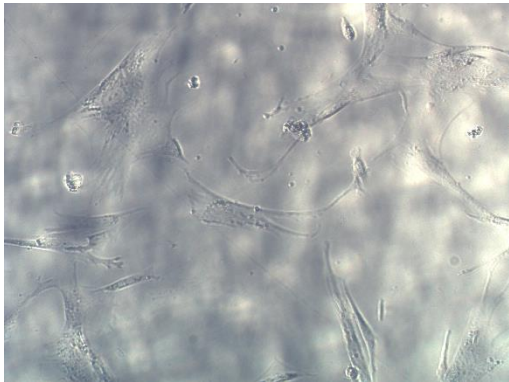
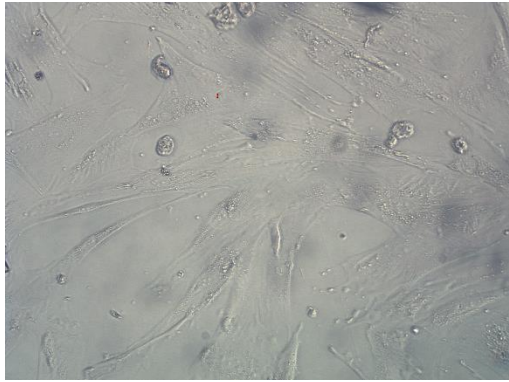
⁷ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

附錄七 驗證實驗


(1) 正三角網格之像素 (Pixel) 數據

| | | 比例尺 | | | | | | | |
|-----|-----|-------------------------------|---------------|---------------|---------------------------|-----------------|------------------------------|----------------------------------|--|
| | | 6 mm 之像素 | | | 1 pixel | | 1 pixel ² 面積 | | |
| | | 245.13 | | | 0.02447681 | | 0.00059911 | | |
| Std | Run | 實驗因子 | | | 面積計算 | | | 反應變數 | 實驗樣本 |
| | | AR : HEMA ⁸ (%) | DA (mg/mL) | Time (sec) | The Number Of Triangle | Total Pixels | 1 pixel ² Area | Resolution (mm ²) | |
| 7 | 1 | 40.00 | 0.10 | 26.60 | 17 | 33,625 | 1977.94 | 1.35 |  |

⁸ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

| No. | 實驗因子 | | | 吸光度 | | 反應變數 | 實驗樣本 |
|-----|-------------------------------|---------------|---------------|------|---------|------------------|--|
| | AR : HEMA ⁹ (%) | DA (mg/mL) | Time (sec) | 驗證樣本 | Control | MTT assay (%) | |
| 1 | 40.00 | 0.10 | 26.60 | 0.35 | 0.44 | |  |
| 2 | 40.00 | 0.10 | 26.60 | 0.40 | 0.43 | |  |

⁹ AR : HEMA 在 Design Expert 中的輸入值為 AR 之百分比

| | | | | | | | |
|----|-------|------|-------|------|------|---------|---|
| 3 | 40.00 | 0.10 | 26.60 | 0.33 | 0.36 | |  |
| 平均 | | | | 0.36 | 0.41 | 88.37 % | |