

Reduction

跨數位科技於 實驗動物

替代方案之運用

Replacement

Refinement

內容

緒論-重新定義動物實驗倫理-從科學需要到人道創新	2
第一章 啮齒類與非啮齒類的應用現況.....	9
1-1 啮齒類動物實驗的發展與應用	9
1-2 非啮齒類實驗的發展與應用 (一).....	29
1-3 非啮齒類實驗的發展與應用 (二).....	47
第二章節 從生物模型到數位創新應用	61
2-1 3D 細胞培養技術在毒理測試中的應用	61
2-2 器官晶片技術的發展與應用	79
2-3 AI 驅動的 in silico 建模與數據模擬技術	94
第三章節 數位科技在實驗動物替代技術中的應用	126
3-1 數位技術對動物實驗數據的分析應用	126
3-2 數位科技在毒理測試中的應用	154
3-3 數位科技實驗設計優化的應用	184
第四章節 AR/VR 技術於實驗動物替代的實踐.....	203
4-1 AR/VR 技術的教育實踐：虛擬動物實驗	203
4-2 虛擬與增強實境技術在替代研究中的潛力	219
第五章節 動物實驗替代技術的未來發展	244
5-1 數位與替代技術的未來發展趨勢.....	244

緒論-重新定義動物實驗倫理-從科學需要到人道創新

秦咸靜 國家實驗研究院 國家生物模式中心

一、科學進展與倫理爭議的交錯

動物實驗在過去一百年來是生醫研究及臨床前評估不可或缺的流程，協助我們理解複雜的動物生理系統，也為人類、動物及環境安全把關，更促成了如胰島素、抗生素、及疫苗等重要醫療突破。動物實驗倫理主要的核心價值在維繫 1959 年由英國動物學者 Russell 與 Burch 提出的動物實驗 3R 原則，分別代表「取代 (Replacement)」、「減量 (Reduction)」與「優化 (Refinement)」。這一原則的目的是在「能維持科學研究的目標與品質下，減少對動物的使用與痛苦」，藉此呼籲科學界重視動物實驗的倫理責任。如今，3R 原則已成為全球各國動物實驗監管與審查的基礎準則，包括美國、歐盟、以及台灣的「動物保護法」皆有所參照，是執行動物實驗者必須遵守的規律。

然而，隨著科學技術的演進，動物實驗的爭議越趨強烈：動物具備與人類相當的道德地位與感受痛苦的能力，是否仍應為了人類醫療鞠躬盡瘁？動物模式在預測人類臨床醫療反應時仍有其物種差異的侷限性，是否仍符合科學上的「必要性」標準？前瞻科技促使替代方法逐漸成熟，繼續使用動物實驗是否還具有合理性？這些問題，使得現今對動物實驗的討論不僅是一場技術選擇，更是一場關於人類與動物關係、科學與倫理之間的深層對話，也讓 3R 原則從過往的「倫理責任」逐漸轉化為「科學創新」的驅動力，為實現更具人道性與人類預測性的研究模式奠定基礎，同時更是未來創新科技取代活體動物實驗的希望與機會。

二、動物實驗倫理之落實

1959 年 Russell 與 Burch 提出的動物實驗 3R 原則是在動物實驗有其必要的基礎上，聚焦於疼痛的取代、減量與流程優化，以減少對動物的傷害；現今的動物實驗 3R 原則在核心價值上已有了不同的詮釋，亦即動物實驗並非必然，希望能結合新興科技，用非活體的試驗方法取代動物實驗 (取代)、避免不必要及重覆的動物實驗 (減量)、及優化實驗方法及流程，減少對動物的傷害 (優化)。從這樣的角度來看，1959 年的 3R，其實只能視為現今新 3R 的「優化」內容，因此，我們需要重新定義動物實驗倫理，從過往動物實驗非做不可的科學需要性，加入能不能不要用動物的創新人道思維，重新檢視所有可能需要用到實驗動物的科研計劃。

要落實動物實驗倫理，科研團隊必須認知幾項重要的關鍵，包括如何評量動物實驗的必要性及可行性、如何在適當的時機點調整實驗以維護動物福祉、及如何避免犯同樣的錯誤，減少讓動物受到傷害。以下針對這三項簡短說明：

1. 如何評量動物實驗的必要性與可行性

在臺灣，動物實驗的必要性與可行性評估，即所謂「動物實驗倫理」的審查是由機構內的「實驗動物照護及使用委員會 (Institutional Animal Care & Use Committee, IACUC)」負責，IACUC 的成員通常包括獸醫師、具備科學專業的委員，及非科學專業的委員，期望能以專業動物照護考量、科學必要性、及以一般大眾的價值觀來衡量動物實驗是否有進行的必要及價值，以避免浪費動物生命。動物實驗倫理評估主要是基於傷害-利益評估 (Harm-Benefit Analysis, HBA) 的精神，亦即當預期的科學利益足以合理抵償對動物造成的痛苦或傷害時，該實驗才應該被允許進行，以求最大化科學價值，並儘量減低對動物的傷害。

因此，在執行動物實驗倫理審查時，應特別關注：

- (1) 傷害 (Harm)：從購買動物的那一刻，到動物死亡的過程中，實驗動物可能經歷的生理痛苦、心理壓力、行為限制、疾病不適或死亡等，都屬於傷害的範疇。傷害的評估需考量動物物種、使用數量、實驗的侵入性與持續時間，以及是否有緩解疼痛的措施。一般而言，研究團隊應該要先執行疼痛預測，接著針對可能的傷害建立緩解或止痛策略來減低傷害，因此，如何預測疼痛及如何減少傷害是一門必修課程。疼痛預測主要基於同理心及對於實驗流程的了解，計畫主持人應在實驗前針對實驗流程進行分析，了解各個實驗程序可能對動物的影響，包括動物飼養環境、健康品質的維持、實驗操作技術等因素，儘可能選擇替代方法或優化流程，以達到減傷的目的。
- (2) 利益 (Benefit)：是指動物實驗所帶來的潛在價值，例如對人類健康的貢獻、疾病機轉的理解、教育訓練的必要性，或對其他動物福祉的正面影響。利益的量化主要考量其達成預期貢獻的可能性、及預期貢獻的實質效益。因此，利益的評估除了「這個實驗是不是很重要」的科學考量外，另一個重要的考量是「這個團隊是否有機會完成這個研究任務」，以順利產生利益價值。在評估動物實驗可行性時，團隊的組成及執行動物實驗的成功機會相對重要，所謂「成功機會」，並非是論文發表，而是團隊對於動物實驗設計、規劃與撰寫、技術的養成、傷害評估的完整度與減傷策略的重視等，都是影響動物實驗成功的關鍵。
- (3) 替代測試方法的採納：替代測試方法的採納並不是指完全不進行動物實驗，而是在實驗流程中，部份導入電腦模擬、離體測試等方法來進行前驅篩選，減少動物實驗，或者採用優化或非侵入的流程，增加動物福祉。研究團隊應儘可能呈現對於動物實驗減量或優化的努力，以增加仍需採用動物實驗的信心。
- (4) 價值的平衡：傷害利益評估並非單純的加減法，而是涉及道德判斷與風險管理的價值權衡過程，高度仰賴 IACUC 委員會的多元專業背景與社會責任，來平衡科研進展與動物權益。因此，傷害利益評估會隨著委員的科學素養、倫理素養、人生經歷、對疼痛的忍受程度不同而不同，是沒有標準答案的，在

量化上更為困難。但為什麼在歐盟、英國等多國法規中，仍將傷害利益評估視為動物實驗許可發放的必要依據？由於動物實驗倫理是一種「情境式的倫理抉擇」，不是可以套用公式的技術問題，惟有透過多元參與才能更有效避免偏頗，同時允許因應不同實驗情境與物種特性進行彈性考量。因此，在歐洲動物實驗倫理審查制度的設計主要強調「多元參與及專業判斷」，避免過度簡化複雜的道德問題，這也再次呼應 IACUC 委員會多元組成的重要性，同時也突顯不同性質的委員在案件審查時應要發揮其預設的多元觀點，例如：期待非科學委員審查動物實驗設計的合理性是不切實際的，非科學委員更應以一般大眾的同理心，審視科學的價值是否值得？動物數量會不會太多？及動物的傷害是否可以接受？

2 如何在適當的時機點調整實驗以維護動物福祉

在動物實驗申請書中，計畫主持人有責任要設定當動物福祉受到嚴重影響時，應採取的手段，以落實 3R 原則。如前所述，研究團隊應該要先執行疼痛預測，接著針對可能的傷害建立緩解或止痛策略來減低傷害，計畫主持人應正確及謹慎的選擇科學實驗終點 (scientific endpoint) 及人道介入終點 (humane intervention endpoint)，若能正確完成此二項終點的設定，代表計畫主持人確實做到疼痛預測。

- (1) 科學實驗終點：是指達成實驗目標的最早時間點，亦即在科學上可以結束動物實驗的時間點，例如在預定時間流程下完成所有檢體資料之收集等。計畫主持人有責任規劃最適合的實驗期程及實施方法，以減少過程中對動物造成的不適與傷害，並在實驗不如預期時，儘快提出改善方案。
- (2) 人道介入終點：是指當動物福祉被影響的程度達到需要關注的時間點，例如動物出現特定行為或健康狀態不佳時，需要介入調整實驗流程以維護動物福祉。人道介入終點是一個新的概念，用於取代過往的「人道終點」 (humane endpoint)，二者的差異在於人道介入終點不一定需要將動物人道犧牲，相對地，可以依據動物及實驗當時的狀況，決定採用何種介入策略，例如：止痛、治療、飼育環境優化、暫停實驗等，以在能維持動物福祉的狀況下完成實驗，避免重覆實驗造成更多動物犧牲；當然，若動物福祉被嚴重侵害，人道犧牲仍是必要手段，以避免虐待動物。由此可知，人道介入終點的監控在動物實驗計畫非常重要，是實驗期間維護動物福祉的最重要手段，且需要高度專業及訓練，才能依個案建立最佳策略及落實管理。人道介入終點事實上也是提高動物實驗穩定度及可信度的策略之一，早期發現動物異常狀況或非預期的實驗影響，可避免因動物福祉造成的生理數值異常影響實驗結果。
- (3) 人道介入終點的設定：人道介入終點是以動物出現特定病徵表現或行為時，介入的時間點。因此，如何設定及確認這些關鍵指標，是極重要的事。一般而言，人道介入指標需要具備幾項要件：(1) 指標必須明確且可以量測，(2) 必須發生在動物福祉惡化之前 (3) 必須具有臨床意義，且可反應動物健康狀態。一般而言，人道介入指標常是生理指標或行為指標，但目前許多國家也

針對長期飼育重覆應用的動物，建立累積實驗終點 (cumulative endpoint)，這類型的實驗包括長期的社群孤立、枯燥的飼育環境、重覆性的非侵入性實驗及高齡動物實驗等，長期參與在實驗計畫的動物，其福祉之考量應加入累積實驗終點的考量，亦即考量在動物一生之中所累積承受的實驗影響是否已達到極限，並在其出現異常行為或指標時，終止其科學應用。

(4) 疼痛預測、評估及照顧：疼痛預測，疼痛評估及獸醫照護是把關動物福祉的行動方案，可分為實驗前、實驗中及實驗後三個階段。

(I) 實驗前- 完成疼痛預測

科學實驗的流程、方法和終點都和動物實驗所擬回答的科學問題有關，實驗所採用的動物品種及方法都會影響動物福祉，因此在實驗前，計畫主持人應拆解整個實驗流程，一步一步檢視可能會對動物造成傷害的步驟，並參考文獻優化改善實驗方式，減少傷害。若傷害無可避免，計畫主持人應在最早達到實驗目的時間點結束動物實驗，即完成科學實驗終點的設定。若在實驗過程中，因某些實驗影響可能惡化動物健康及福祉，應建立觀察指標來做監控，若狀況超出預期才能及時介入改善，這些監控指標及後續介入方式的設定，即是人道介入終點的設定。

(II) 實驗中- 落實疼痛評估與照顧

研究團隊應在實驗過程中針對人道介入終點所設定的觀察指標進行動物評估，以確實掌握動物福祉狀態。和科學研究的目的不同，人道介入終點是動物福祉導向，因此介入的手段常需要改變實驗步驟或方法，但也應儘量採用對實驗影響最小的方式，輔助達到預期的實驗終點，以避免重覆實驗。因此人道介入需要獸醫師、計畫主持人與飼育照顧人員進行良好的溝通，共同決定改善方案。在理想的狀況下，人道介入終點的策略應由實驗動物獸醫師建議及主導，採用計畫主持人也同意的方式，在執行人員有良好訓練的情境下完成。

為了落實動物福祉的觀察，依循人道介入終點的評估指標建立評分表 (scoring sheet) 或檢查表 (checklist) 是常見的做法，不但可以持續追蹤動物狀況，也能留下觀察紀錄，這些紀錄可提供做為後續實驗結果分析時的參考資料，反映數據產生當下動物的福祉狀況，可輔助動物實驗的穩定性及再現性的提升。另外，評分表或檢查表也能提供獸醫師及計畫主持人充份的證據及資料了解動物狀況，以進行正確的人道介入策略判斷。

(III) 實驗後- 檢討實驗流程，提出優化改善之建議

動物實驗倫理沒有標準答案，在動物實驗申請時，研究團隊及審查委員「負責任地做出困難決策」，放行動物實驗，並不表示實驗一定會依著計畫書順利完成，也正因沒有標準答案，實驗前才更需要深思熟慮地提出理由、

接受質疑、並願意調整實踐方式。當動物實驗執行完畢，重新回顧那些實驗前的深思熟慮也是實踐 3R 原則與落實倫理責任制度化的重要一環。這不僅有助於提升後續研究品質，也能展現研究團隊對動物福祉的持續關注與學術誠信，關於這個部份，將在下一節說明。

3 如何避免犯同樣的錯誤，減少讓動物受到傷害

動物實驗後的檢討不只是例行報告，更是實驗倫理的延伸與落實。透過科學與人道並重的反思流程，可提升研究信任度、促進團隊自我精進，也為未來逐步減少動物使用奠定基礎。需要注意的要件包括：

(1) 動物實驗利益評估

檢視在完成此動物實驗之後，是否已達成原先規劃的研究目的？是否獲得了原先規劃的「科學上的價值」？同時也應檢視在本次動物實驗的實驗設計上，是否採用了正確的動物數量及分組，達到實驗結果的統計效力？若是下次仍需進行類似的實驗，相關實驗設計是否需要調整？

(2) 實驗動物福祉評估

檢視此次實驗是否符合實驗前的疼痛預測？是否有預期外的動物痛苦、死亡或異常反應？實驗期間採取的減傷、止痛策略是否得當？可否在未來實驗中改善操作流程或採用更優化的模式？

(3) 替代與精進機會

實驗流程若對動物福祉造成比預期還嚴重的影響，應再次檢視「傷害可以接受嗎？」是否可以有流程優化精進的機會，例如有無可導入的非侵入性技術、影像追蹤、行為觀察等方法，減少對動物的干擾。另外，也應進一步思考「傷害可以避免嗎？」有無可能以替代方法進行部分或全部實驗？是否可將某些實驗步驟進行標準化、縮短時程或自動化？

(4) 執行品質與團隊人才培訓

檢視此次實驗中，執行團隊是否充分熟悉實驗流程與動物操作技術？是否有發生因執行品質不佳、溝通失誤或紀錄不全，導致動物福祉受到影響的狀況？計畫主持人應考量強化執行人員的職能養成與協作能力，加強教育訓練或 SOP 撰寫，以提高動物實驗的可信度。

(5) 資源分享、回報與再應用

檢視本次實驗成果是否有產出動物模式或數據可供他人使用，避免重覆實驗，相關可公用資源可以寄存到種原庫、開放資料平台等，擴大實驗效應。另外，實驗結束後也應統整動物使用狀況及成果回報 IACUC 或補助機構，也可考慮在此時機點完成上述檢討分析之書面資料，作為日後精進依據。

三、臺灣動物實驗的 3R 推動策略

我國動物實驗 3R 原則是藉由「臺灣動物實驗替代科技跨部會平台」來推動，此平台由科技政委兼國科會主委主導，國科會、農業部、衛福部、經濟部、環境部、經濟部及中研院共同參與，目標在創新(Innovation)，整合(Integration)及落實(Implementation)新興替代測試方法，以**取代及優化**不合時宜的動物實驗，並達到**動物減量**的目的。

「臺灣動物實驗替代科技跨部會平台」於 2022 年 11 月成立，依循前述發展目標訂定創新科技研發、法規調和及國際接軌、動物實驗體系優化三大主軸方案，分別由科技面、法制面及人才面來檢視我國動物實驗現況，並建立問題解決的行動方案。各主軸計畫擬達成的目標包括：

- (1) 科技面：推動技術創新與替代平台建置，增加類器官、器官晶片、電腦預測模型、非侵入性感測或影像技術等新興替代測試方法的建立及普及。
- (2) 法制面：
 - (I) 完成全國和動物實驗相關的法規盤點並優化制度，採納替代測試方法，包括化學品、農藥及動物用藥、化粧品、健康食品、醫材及藥品等，與國際法制接軌。
 - (II) 優化動物實驗審查及管理體系，強化機構 IACUC 計畫審查品質，同時掌握我國實驗動物科學應用原因及數量，以利後續針對國內應用情境設定優化策略。
- (3) 人才面：由部會與大學合作推動「3R 學習地圖」，將替代方法與實驗倫理納入在學學生、技術人員、IACUC 委員、實驗動物獸醫師及研究人員等訓練課程，以銜接現階段的動物實驗優化及下階段的替代測試技術應用，培育未來世代具備倫理意識與科技素養的科學家。

整體而言，臺灣在推動動物實驗 3R 原則方面，已展現出高度的政策整合與實務推進能力，同時持續進行資源整合與制度強化，形成具系統性、目標導向的 3R 推動架構。期待相關機制能持續帶動動物實驗倫理的反思，展現對動物福祉的重視，更顯示出臺灣在生物醫學領域跨域創新的強大能量。

四、從必要之惡走向人道之善

長久以來，動物實驗被視為推動醫學進步的「必要之惡」，人們在對生命的探索中，不可避免地仰賴動物作為橋樑。然而，隨著倫理觀念的提升、科技的演進，以及替代方法的興起，我們正逐步進入一個新的研究時代。重新定義動物實驗倫理，不僅是對動物福祉的回應，更是對科學本質與社會責任的再思考。倫理不應只是押注在法規層面的最低要求，而應成為引導研究优化的核心價值，從「不得使用動物」的被動態度，轉向「是否還需要使用動物」的主動省思，在保障科研價值的同時，真正邁向一個更人道、更精準的生物研究時代。

我們正站在一個關鍵的轉折點上。從「必要之惡」走向「人道之善」，不是否定過去的努力及動物實驗的價值，而是以更成熟且前瞻的視角，重新定義當代醫療發展對研究模式的真正需求。在人工智慧與半導體技術高度發展的今天，我們有能力建立更具轉譯價值的生物模式，結合動物模式、細胞模式與電腦模式，回應未來精準醫療與個人化治療的挑戰與願景。唯有當我們的科學實踐，建立在尊重生命、追求精準與強調永續的基礎上，我們才能真正邁向一個更具責任感、更有溫度、也更有希望的研究未來。

參考資料：

CCAC guidelines: Identification of scientific endpoints, humane intervention points, and cumulative endpoints. Canadian Council on Animal Care, 2022. ISBN: 978-0-919087-95-8

第一章 啮齒類與非啮齒類的應用現況

1-1 啮齒類動物實驗的發展與應用

一、引言

實驗室常見的大鼠 (*Rattus norvegicus*) 與小鼠 (*Mus musculus*) 為啮齒類動物，起源於歐亞大陸，伴隨著人類的探索與殖民活動，擴展到世界各個角落。早在三千年前，人類便開始將小鼠作為寵物飼養。啮齒類動物常被視為破壞物品、農作物與傳播疾病的有害生物，但作為近代生物醫學及臨床前試驗中主要的哺乳類動物模型，在守護人類和動物健康方面具有舉足輕重的地位。最早動物實驗的記載可追溯至古希臘時期，啮齒類動物則是從 16 世紀開始被使用於生理學實驗。到了 20 世紀下半葉，啮齒類動物在全球實驗動物中的使用比例超過 70%，最高峰時期甚至達到 95% 以上。19 世紀前，動物實驗主要以中大型動物為模型，隨著生理學、免疫學與生物學的發展，科學家開始尋找能更準確模擬人類疾病的動物。因啮齒類動物體型小、繁殖周期短、壽命短、適應力強、性情溫和等優勢，在 20 世紀成為醫學研究的主要模式動物。

二、啮齒類動物實驗的歷史與發展

啮齒類在自然界為群居動物，通常由一隻主導繁殖的雄性、數隻階級明確的雌性及從屬雄性與幼體所組成。牠們具高度近親繁殖與高突變率的特性，能快速適應環境變化，加上晝伏夜出的生活習性，提高了生存能力。棕色挪威大鼠被認為是第一個出於研究目的而被馴養的哺乳類動物，於 1840 年至 1850 年間，白化挪威大鼠開始被引進實驗室飼養，並用於營養學研究。1856 年，法國科學家 Philipeaux 首次利用大鼠進行腎上腺切除實驗；1890 年，白化挪威大鼠被引進美國，用於神經解剖學研究[1,2]。

1906 年，美國 Wistar 研究所將白化挪威大鼠以遠親交配的方式飼養，培育出標準化 Wistar 品系大鼠，並提供給其他研究機構，成為第一個應用於臨床研究的品系，現在常見的 Lewis 與 Sprague-Dawley (SD) 大鼠分別於 1924 年與 1925 年由 Wistar 大鼠種原培育出來的[3]。在 1700 年代，小鼠在亞洲作為寵物馴養，後引入歐洲與當地小鼠交互雜交，誕生了實驗室小鼠的祖先。20 世紀初，科學家使用小鼠進行遺傳學研究，1902 年法國生物學家呂西安 (Lucien Cuenot) 與 1910 年美國遺傳學家克拉倫斯 (Clarence Cook Little) 分別從小鼠毛色的表現型，驗證了孟德爾遺傳定律。克拉倫斯以近親繁殖的方式，進一步培育出 DBA 與 C57BL/6 等近親品系，並創立美國傑克遜實驗室，向全球提供研究用小鼠[4]。

啮齒類是基礎醫學研究主要的動物模式，自 20 世紀起，超過 70 項諾貝爾

獎研究利用小鼠與大鼠，對疾病機制及藥物疫苗開發有巨大貢獻。大鼠因智力與體型優勢，更適用於複雜的行為與生理學研究。啮齒類廣泛用於模擬人類各種疾病，例如代謝性疾病（糖尿病、高血壓）、神經性疾病（帕金森氏症）、心血管疾病（心臟病）及癌症等，推動新藥開發及醫學進步[5]。

啮齒類動物在新藥研發過程中，為臨床試驗前最常使用的活體模型。牠們被廣泛應用於評估藥物的效力、安全性，以及藥物動力學（包括吸收、分佈、代謝與排除）。此外，啮齒類也是化學品毒性試驗的主要模式，用於測試如化妝品、盥洗用品、清潔劑、農藥、殺蟲劑等產品之毒性、致癌性與生殖毒性，以保障人體與環境安全。

1980 年代，科學家首次將外來基因注入小鼠受精卵的原核，誕生可遺傳改造基因的小鼠。隨後，小鼠胚胎幹細胞的發現與基因編輯技術的進步，使科學家得以精準插入或移除特定基因，無需依賴自然突變個體，開啟了功能性基因研究新篇章。在 20 世紀末，全球基因改造小鼠的使用量持續成長，並超越大鼠，成為全球使用最廣泛且品系最多的實驗動物物種。2002 年，小鼠成為第一個完成全基因組定序的哺乳類，其蛋白質編碼序列中有約 85% 與人類對應。至今，全球已建立超過上萬種基因改造小鼠模型。[6]。2011 年，全球 21 個國際機構組成「國際小鼠表現型分析聯盟」（International Mouse Phenotyping Consortium, IMPC），計劃創建 2 萬個基因改造小鼠品系，並透過高通量測試，全面分析各基因對發育、生理與疾病的影響。2013 年，CRISPR/Cas9 基因編輯技術問世，顯著提升基因改造效率與精準度，促使小鼠成為更強大的疾病模型工具，推動人類疾病機轉研究與新療法的開發。

三、啮齒類動物在科學研究中的角色與重要性

由於小鼠與大鼠具備與人類高度相似的生理與遺傳特性，且繁殖快速、易於飼養與操作，它們成為基礎醫學實驗的首選模型，並推動了生理功能、疾病機制與藥物疫苗開發的革命性進展。

（一）、實驗大鼠在基礎科學研究的重要性

實驗大鼠源自歐亞大陸的褐家鼠，後隨人類遷徙至挪威（因此又稱挪威鼠），是首個因科學研究目的而被馴化的哺乳動物。目前，大鼠在實驗動物中使用的數量僅次於小鼠。自 19 世紀中葉被馴化以來，大鼠逐漸被應用於營養學、行為學與生理學等多個研究領域。

1909 年，美國營養學家麥科勒姆（Elmer Verner McCollum）—孟德爾（Gregor Johann Mendel）的學生一開始以人工育種方式建立穩定的大鼠實驗族群；1913 至 1915 年間，他與戴維斯（Marguerite Davis）共同發現脂溶性維生素 A 與水溶性維生素 B。之後，他以純化飲食餵養大鼠，探討各類礦物質與維生素對健康的影響，並證實維生素 D 缺乏會導致佝僂病，為營養學與生物化學的發展奠定基礎

[2]。

在行為科學與神經研究領域，大鼠因能展現複雜的認知與學習能力，被廣泛運用於壓力、學習、記憶與成癮等行為模型。1938年，美國心理學家 Burrhus Frederic Skinner (B. F. Skinner) 發明操作制約箱（史金納箱），利用大鼠於槓桿操作後獲得食物獎勵的行為，研究制約反應的形成與變化；後續實驗亦加入燈光、聲音與足底電擊等刺激因子，應用於藥物成癮、焦慮及抗憂鬱藥效的測試[7]。此外，恐懼行為測試箱（fear conditioning chamber）透過無預警的輕度足底電擊與特定環境刺激（如聲音、光線）配對，以誘發大鼠條件性恐懼反應，廣泛用於探索焦慮與創傷後壓力症候群的神經生物機制，以及評估抗焦慮與抗憂鬱藥物的療效。

1936年，心理學家塞利 (Hans Selye) 提出「一般適應症候群」理論，即現今所稱的「生物壓力」，並以大鼠為模型研究長期壓力對身體的影響。他觀察到腎上腺增生、胸腺萎縮與胃潰瘍等生理變化，並推論這些反應與腎上腺皮質激素的分泌有關，對內分泌學及心理壓力研究產生深遠影響[8]。1981年，英國神經科學家 Richard G. Morris 發明莫里斯水迷宮，用於測試大鼠在空間學習與記憶方面的表現；至今，此方法仍廣泛應用於認知功能與神經退化性疾病的研究[9]。

大鼠亦常用於生殖生理與內分泌相關研究。20世紀初，科學家透過去勢或甲狀腺切除等手術，探討對大鼠成長與生理的影響。1922年，科學家約瑟夫·朗 (Joseph Long) 與赫伯特·埃文斯 (Herbert Evans) 發表大鼠動情週期理論，並於1945年培育出 Long-Evans 品系大鼠；1927年，分泌學家史密斯 (Phillip E. Smith) 開發腦下垂體切除技術，進一步揭示腦下垂體對腎上腺與生殖腺的調控功能。1960年代起，大鼠成為內分泌干擾物測試的主要模型，並被經濟合作暨發展組織 (OECD) 與美國環保署 (EPA) 納入化學品對於人類內分泌系統影響評估的標準工具[10]。

在代謝性疾病研究中，大鼠為代謝症候群與糖尿病模型的關鍵動物。1961年，Zucker 肥胖大鼠因瘦體素受體基因突變呈現肥胖、高血脂與高胰島素血症，成為研究肥胖與代謝失調的重要模型；而透過長期高脂飲食誘導的非瘦體素缺乏性肥胖模式 (diet-induced obesity, DIO) 則因體重增加、胰島素阻抗與高血脂，與人類飲食性肥胖極為相似，常用於研究生活型態對代謝健康的影響。1975年，禮來公司 (Eli Lilly and Company) 培育出穩定表現的大鼠 (Zucker Diabetic Fatty, ZDF)，ZDF 大鼠於7至12週齡出現高血糖與高三酸甘油酯，成為第二型糖尿病的代表模型[11]；此外，科學家亦利用鏈脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ) 破壞胰臟 β 細胞，建立第一型或第二型糖尿病模型。

因體型較大、大鼠適合外科手術建模，在心血管研究中亦占要角。1963年，日本京都大學 Okamoto 與 Aoki 從 Wistar Kyoto (WKY) 大鼠培育出自發性高血壓 (Spontaneously Hypertensive Rat, SHR) 品系，成為高血壓與藥效測試的主要

模型[12]；與此同時，老年 Sprague-Dawley (SD) 大鼠亦常自然發生高血壓與退化性疾病，如慢性腎病與動脈炎。1960 年代起，學界發展多種心臟疾病模型，包括腹主動脈窄縮誘發左心室肥大、左冠狀動脈結紮造成心肌梗塞，以及升主動脈窄縮導致心衰竭等方式[13,14]。

(二)、實驗小鼠在基礎科學研究的重要性

實驗小鼠的使用可追溯至 16 世紀，當時英國生理學家威廉·哈維 (William Harvey) 利用小鼠研究生殖與血液循環；隨後，伯特·胡克 (Robert Hooke) 也使用小鼠探討氣壓變化對生物的影響，此舉標誌了小鼠從解剖學向生醫研究邁入生醫研究最早的紀錄。小鼠在免疫學、腫瘤學和遺傳學中扮演重要角色。19 世紀，孟德爾曾以小鼠驗證遺傳性狀，但後因教會禁令而改用豌豆。

20 世紀初，小鼠的育種技術成熟，研究者透過近親繁殖建立多種標準化品系。如 DBA 是第一個純系小鼠；1920 年代陸續發展出 C57BL/6、C3H、CBA 與 A 品系；1930 年代則有 BALB/c 與 DBA/2。每個品系因持續監控而逐漸確認其特徵，例如 DBA/2J 小鼠會發生類似人類青光眼的眼部退化，A/J 小鼠則廣泛用於肺癌與免疫學研究；FVB 小鼠因母性佳、原核大而適合 DNA 顯微注射，遂成基因改造研究的熱門選擇[15]。

1929 年，美國傑克森實驗室成立，立志揭示癌症遺傳基礎，並保存與提供多種小鼠品系，至今仍是享譽國際的小鼠遺傳學中心。1933 年，該實驗室發現 C3H/HeJ 品系的乳腺癌具有遺傳性的病毒誘發性；1948 年，科學家喬治·斯內爾 (George Snell) 以小鼠進行組織移植研究，揭示主要組織相容性複合體 (MHC) 對移植排斥的關鍵作用。進入 1950 年代後，各國逐步成立實驗動物科學組織，以提升小鼠飼養與照護品質，並降低傳染病對老年小鼠研究的干擾。傑克森實驗室更完成所有純系小鼠自發性腫瘤發生頻率與類型的評估，並建立人類癌症模型資料庫 (MMHCdb)，後續亦納入基因改造和遠親系小鼠模型[16]。

現今，小鼠為全球最常用的實驗動物，其基因組與人類高度保守。20 世紀中期之前，科學家依賴自發突變小鼠與大量繁殖來繪製基因圖譜。1980 年代，化學誘變技術加速新突變模型的產生；同時，透過將外源 DNA 注入小鼠受精卵原核的方式，開啟了基因改造小鼠的先河[17]。

20 世紀末，基因組操作技術躍進，研究者可精確地對小鼠基因進行突變或刪除，以探討人類疾病的生理機制並開發新療法。21 世紀初，小鼠全基因組定序完成，並公開於 Mouse Genome Informatics (MGI) 資料庫；緊接著，CRISPR/Cas9 基因編輯技術的普及，使基因改造更快速、精準。目前已發展上萬種基因改造小鼠模型，涵蓋癌症、代謝性及神經退化性疾病等多種人類疾病。研究社群為避免重複開發並實踐動物減量，正建立全球性共享資料庫。目前，自發性突變小鼠與基因改造小鼠的資訊可參考小鼠基因組資料庫 (Mouse Genome Informatics, MGI)，

而基因改造大鼠的資訊則載於大鼠基因組資料庫 (Rat Genomic Database, RGD); 這些平台提供了豐富的基因改造、表現型與疾病模型資料。

四、啮齒類動物在疾病研究中的應用

自 20 世紀末小鼠與大鼠基因組定序完成後，基因工程技術促使各類基因改造品系大量問世，成為模擬癌症、糖尿病、神經退化與心血管疾病等病理過程的首選工具，並廣泛應用於解析發病機制與臨床前藥物效力測試。

(一)、腫瘤模型

根據衛生福利部最新統計，癌症已連續 42 年蟬聯國人十大死因之首，對公共健康構成嚴重威脅。因此，發展更有效的診斷方法、預防腫瘤生成與高療效的抗癌藥物，成為生物醫學研究的核心目標。透過動物模型，研究人員可深入探討腫瘤的發生及轉移機制、基因突變與訊息傳導路徑，並模擬腫瘤不同階段的生物學特性，同時為臨床前評估新型抗癌藥物的療效與安全性提供可靠的科學證據。

啮齒類腫瘤模型分成自發型及植入型。自發型可由「化學致癌物」或「基因改造誘發」；植入型則可將腫瘤細胞移植到同物種的小鼠「同種移植」，或將人類腫瘤細胞株移植至小鼠「異種移植」，並可依移植部位分為原位或異位[18]。小鼠癌症模型主要有以下四種類型[19]：

1. **化學誘導模型 (Chemically Induced Model)** : 透過使用化學致癌物，如使用多環芳烴或菸草致癌化合物等，模擬消化道癌症、乳癌及肺癌的發生、增殖與轉移；腫瘤形成時間約 30 - 50 週。
2. **細胞株異種移植模型 (Cell Line-Derived Xenograft, CDX)** : 將人類癌細胞株注射至免疫缺陷小鼠體內，模型建立迅速且適合高通量篩選，但長期培養可能導致細胞株失去原始腫瘤的異質性。
3. **人源腫瘤異種移植模型 (Patient-Derived Xenograft, PDX)** : 直接移植患者腫瘤組織，保留原腫瘤的組織學與基因特徵，最能模擬人類腫瘤微環境；但成本高且因使用免疫缺陷鼠而無法重現完整免疫反應。
4. **基因工程小鼠模型 (Genetically Engineered Mouse Model, GEMM)** : 透過插入致癌基因或刪除抑癌基因誘發自發性腫瘤，例如 1984 年，第一個藉由基因轉殖技術表現 c-myc 致癌基因的自發性乳腺腫瘤小鼠被建立[20]。進一步在乳腺腫瘤中，c-myc、erbB2 與 cyclin D1 基因表現量顯著增加，代表其明顯的致癌作用[21]。此類模型可在免疫健全小鼠體內自然發展，真實模擬腫瘤與宿主免疫系統的交互作用。

為克服人類與小鼠免疫系統的物種差異，透過植入人類造血幹細胞、淋巴細胞或組織建立人源化小鼠模型 (Humanized Mouse Model)，如 Hu-BLT 人源化小鼠模型為移植了人類的造血幹細胞、肝臟與胸腺組織，能模擬人類免疫系統，

適合免疫治療研究。人源化小鼠模型雖克服部分限制，但模型建立成本高且操作複雜[19]。隨著個人化醫療與免疫治療的快速發展，勢必推動更多創新模型的出現，以提升癌症藥物篩選和治療策略研究的準確性與有效性，並促進臨床轉譯。

(二)、糖尿病模式

糖尿病是一種糖類代謝異常的慢性代謝性疾病，慢性高血糖會引發視網膜病變、腎臟炎、血管及神經病變等併發症[22]。依據世界衛生組織調查，2022 年全球糖尿病患者已超過 8 億人，對公共健康構成嚴峻挑戰。嚙齒類模型自 20 世紀起即助力解析糖尿病機制與治療策略：

第一型糖尿病模式包括非肥胖型糖尿病小鼠 (NOD Mouse)、BB 大鼠 (Bio Breeding Rat)，以及以化學品破壞胰島 β 細胞誘發胰島素缺乏的模型。NOD 小鼠於 1974 年在日本被發現，約在 3–4 週齡出現胰島炎， $CD4^+$ 與 $CD8^+$ T 細胞浸潤並最終破壞 β 細胞，進而發展為糖尿病；BB 大鼠源自 Wistar 大鼠，同年在加拿大開發，約 90% 的個體在 8–16 週齡間發病，其特徵為 T 淋巴細胞減少、高血糖、胰島素不足、體重下降及酮尿，須依賴胰島素維持生命[22,23]。

化學品誘導糖尿病模型，主要使用鏈脲佐菌素 (STZ) 或四氧嘧啶 (Alloxan) 選擇性破壞胰島 β 細胞，誘發類似第一型糖尿病的高血糖。STZ 自 1960 年從放線菌中分離，後證實可透過 DNA 損傷、氧化壓力與凋亡途徑引發 β 細胞壞死並致高血糖，成為模擬第一型糖尿病的標準手段。此模型廣泛用於測試降血糖藥物、保健食品與 β 細胞保護劑，並能模擬糖尿病神經病變、腎病變與心血管併發症[22,24]。

第二型糖尿病模型以瘦素 (Leptin) 或其受體基因突變小鼠及大鼠為主 (如 Lep^{ob} 、 Lep^{db} 與 ZDF 大鼠)。Zucker Diabetic Fatty (ZDF) 大鼠由於瘦素受體突變，4 週齡即表現肥胖，配合高能量飲食可在 20 世紀被廣泛應用，血糖可達 500 mg/dL [22]。瘦素基因突變小鼠 (Lep^{ob}) 與瘦素受體基因突變小鼠 (Lep^{db})，這二種品系為最早被發現的糖尿病小鼠模型，在發育早期呈現早期自發性肥胖、胰島素抵抗與高血糖等代謝症狀[25]。但不同遺傳背景會影響後期表現，如 BKS- Lep^{ob} 或 $-Lep^{db}$ 小鼠發育後期多持續高血糖並伴隨 β 細胞萎縮；而 B6- Lep^{ob} 或 $-Lep^{db}$ 小鼠僅出現短暫高血糖，並誘發 β 細胞增生。

(三)、神經退化性疾病研究

嚙齒類動物的神經系統在結構與功能上與人類高度相似，且其行為測試方法成熟並具量化分析軟體支持，因此廣泛應用於神經科學的基礎與應用研究。常見的如阿茲海默症、帕金森氏症與肌萎縮性側索硬化症等，利用小鼠模型研究神經退化性疾病，可解析大腦特定區域神經元漸進性喪失與死亡的機制，以及疾病對記憶、認知與運動功能的影響[26]。

阿茲海默症 (Alzheimer's Disease) 是最常見的神經退化性疾病，特徵為記憶力衰退與認知障礙，其主要病理變化包括 β -澱粉樣蛋白 ($A\beta$) 斑塊沉積、Tau 蛋白神經纖維纏結，以及皮質和海馬迴神經元喪失。利用**基因工程**開發出前類澱粉蛋白質 (APP) 與早老蛋白 1 (PSEN1) 基因突變的小鼠，如 APP^{swe}/PSEN1^{dE9} (APP/PS1) 小鼠，可模擬 β -澱粉樣蛋白沉積及神經發炎反應；5x^{FAD} 小鼠因過度表達五種突變人類 APP，能快速出現大量 $A\beta$ 斑塊與認知缺陷[27]；3xTg-AD 小鼠則結合 APP、PSEN1 及 Tau 基因突變，於 12 月齡在海馬迴可檢測到過度磷酸化的 Tau 聚集體，完整模擬雙重病理特徵。另外，**化學誘導方法**包括將合成 $A\beta$ 聚集物注射入小鼠腦中或以 Okadaic Acid 抑制蛋白質磷酸酶，分別誘發 $A\beta$ 沉積或 Tau 過度磷酸化與神經退化[26,28,29]。

帕金森症 (Parkinson's Disease) 為第二常見神經退化性疾病，特徵為黑質紋狀體多巴胺神經元喪失及 α -突觸核蛋白聚集而形成路易氏體。另外，常使用**啮齒類動物透過注射神經毒素來建立模型**，如 6-羥基多巴胺 (6-OHDA) 或 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氫吡啶 (MPTP) 破壞多巴胺神經元，產生短期運動障礙與神經發炎反應，用於驗證神經保護與多巴胺替代療法[28]。另外， α -突觸核蛋白之基因突變模型如 SCNA (A53T/A30P/E46K) 突變小鼠可見 α -synuclein 聚集，但動作障礙輕微；而 Pink1 基因缺失大鼠則可真正展現多巴胺神經元減少、步態與協調性障礙，並伴隨焦慮與痛覺異常，成為優良的帕金森病模型。

肌萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 是一種致命的神經退化性疾病，特徵為上下運動神經元喪失。可使用從蘇鐵種子中萃取的 β -谷甾醇 β -d-葡萄糖苷 (BSSG) 餵食小鼠來誘發運動功能異常與記憶力衰退；ALS 遺傳模型則主要聚焦於 TDP-43 與 SOD1 基因突變，TDP-43 (Q331K) 突變小鼠顯示 TDP-43 過度累積導致運動能力退化與神經元缺失，SOD1 轉基因小鼠則表現肌肉萎縮、神經元退化及膠質細胞反應性增生[30,31]。

由於神經系統的複雜性，單一症狀往往不足以反映整體病程。啮齒類退化性疾病模型因其可調控性與量化優勢，成為解析病理機制、尋找治療策略及評估藥物效力的關鍵工具，為神經科學研究提供了寶貴資源。

(四)、心血管疾病研究

根據世界衛生組織，每年約有 1790 萬人死於心血管疾病，在我國亦居十大死因第二位。心血管疾病主要由脂質代謝異常與代謝症候群驅動，並常伴隨高血壓、糖尿病及發炎反應。以下為常見的啮齒類心血管疾病模型：

冠狀動脈粥樣硬化性心臟病 (Coronary Atherosclerotic Heart Disease)，是一種慢性炎症性疾病，源於冠狀動脈內壁形成粥樣斑塊，導致血管狹窄或阻塞，進而影響心肌血流。為研究其病理機制與治療策略，科學家建立了脂質代謝蛋白缺失 (ApoE^{-/-}) 小鼠與低密度脂蛋白膽固醇受體缺失 (LDLR^{-/-}) 小鼠模型。ApoE^{-/-}

小鼠因先天性高膽固醇血症，血漿膽固醇可達正常小鼠的 5 倍，配合高脂飲食即自然發展出高脂血症與動脈斑塊；LDLR^{-/-}小鼠在高脂飲食下，血漿膽固醇比正常小鼠高約 10 倍，易於在主動脈形成粥樣斑塊。此外，透過冠狀動脈結紮手術，亦可模擬急性心肌梗塞並觀察心肌纖維化變化[32]。

高血壓性心臟病 (Hypertensive Heart Disease)，由長期高血壓引起心臟結構與功能改變，主要表現為左心室肥厚、心臟衰竭與心律不整，甚至猝死。自發性高血壓大鼠 (Spontaneously Hypertensive Rat, SHR) 由 Wistar 大鼠選育而成，具有穩定高血壓特性，常用於研究高血壓對心肌肥厚與衰竭的影響[32]。

心臟衰竭 (Heart Failure) 是一種慢性、進行性心血管疾病因心臟無法有效泵血，導致器官灌流不足與體液滯留。橫向主動脈縮窄手術 (Transverse Aortic Constriction, TAC) 可模擬壓力負荷下的心肌肥厚與衰竭；另一方法為皮下注射異丙腎上腺素 (Isoproterenol, ISO)，連續給藥 21 天，誘發心肌纖維化與心臟衰竭 [32,33]。

這些模型能模擬人類心血管疾病的各種特徵與指標，使科學家得以研究心血管疾病的病因，並能測試新藥療效，為科學研究做出了巨大貢獻。

五、啮齒類動物在監管與測試之應用

為保障人體健康與環境安全，多國法規要求生物製品、化學品、醫療器材與藥品在上市前必須通過動物安全性與效力測試。2021 年歐盟 27 國的動物科學應用報告顯示，13.8% 的動物實驗屬法規監管用途，其中 62.9% 使用啮齒類動物，主要用於人用與獸醫藥品質控 (74%)、工業化學品安全性測試 (12.5%) 及其他 (醫療器材 3.7%、農藥 4.25%、食品 1.2% 等) [34]。

1938 年，美國一批含有危險溶劑的磺胺口服劑導致多人死亡，美國國會遂通過《聯邦食品、藥品和化妝品法案》，明訂新藥、疫苗與化妝品必須驗證安全性，並以啮齒類動物作為標準測試工具。1940 年，霍華德·弗洛里 (Howard Florey) 以青黴素治療鏈球菌感染小鼠，證實其療效，奠定臨床前研究模式。1957 年，德國藥廠治療孕婦嘔吐的藥物沙利度胺 (Thalidomide) 上市後，卻陸續發生了嚴重的胎兒畸形及流產副作用。後續研究發現該藥物在啮齒類動物體內的分解速度快，對胚胎並未造成影響，這是少數新藥無法藉由啮齒類動物證實其安全性的重大事件。這起藥物的不良反應促使美國國會於 1962 年修正法規，納入藥品評估機制，要求新藥上市前應完成有效性評估。因為這些事件使監管機構 (如 FDA、EMA) 強制要求新藥在人體試驗前需進行動物試驗，在 20 世紀動物試驗成為新藥開發既定的關鍵程序[35]，因為在確保藥物安全性之前對人體進行藥物測試，不僅危險，也是不道德的。

根據美國藥品研究及製造商協會，從候選化合物到上市新藥，平均需 10 -

15 年與 26 億美元投入，數萬種先導化合物僅約 250 種進入臨床前試驗，10 - 20 種通過並進入臨床試驗，而最終僅約 9.6% 獲准上市[37]。據統計使用齧齒類動物預測藥物在人類安全性的平均準確度達 86% 以上，安全性準確度較低的部分為心血管系統（75%）及胃腸道系統（69%），在人體發生嚴重不良事件的機率約為 0.3%，目前動物試驗對於了解新藥安全性與治療的適當劑量是不可或缺的[36] [38]。

1988 年，科學家將胎兒淋巴組織或成人周邊血液白血球移植到自發性免疫缺陷小鼠體內，建立了具有人類免疫系統的小鼠模型。隨著人源化小鼠技術的發展，研究者進一步將人類基因、細胞或組織移植至小鼠，使其展現人類的生理與病理特徵。這些模型能更精確地預測人類對免疫檢查點抑制劑的反應，並成為評估免疫療法有效性與安全性的臨床前工具；同時，直接將患者腫瘤組織植入小鼠，可保留原生微環境，對抗癌藥物效力測試更具臨床意義[39]。然而，齧齒類動物與人類在肝臟代謝機制上存在差異，特別是細胞色素 P450 酵素的物種差異，使小鼠具有較高的藥物代謝能力，難以準確預測人類的藥物反應。為克服此限制，科學家建立了人源化 P450 基因家族小鼠模型，證實可改善藥物動力學的臨床轉譯性，並助力藥物開發[40]。目前，人源化小鼠模型仍在持續優化，最終目標是將齧齒類動物的臨床前數據完整轉譯至人類。

1970 年代，全球合成了大量新化學品、化妝品、清潔劑及農藥等。為管控這些化學品對人體健康及環境的潛在危害，美國環保署於 1976 年頒布《有毒物質管制法案》（Toxic Substances Control Act, TSCA），要求製造商、進口商及加工商對化學品進行皮膚毒性、吸入毒性、口服毒性、慢性毒性、致癌性、生殖毒性及基因毒性等測試，並建議使用齧齒類動物作為主要評估對象。在 20 世紀末，歐盟各成員國也制定類似法規，要求化學品生產者提供安全性數據；因建立完整數據常需數百至數千隻齧齒類動物的試驗，歐盟於 2007 年頒布《化學品註冊、評估、許可和限制法案》（REACH），規定所有化學物質須於 2018 年完成註冊，並提交物理化學、毒理學及生態毒理學資訊。自 2010/63 號指令實施後，歐盟進一步要求，在動物測試前必須先評估替代方案，僅在無可行替代方法時才使用動物[41]。2016 年，美國修訂《有毒物質管制法案》，也納入鼓勵非動物替代方案的開發與使用。

六、倫理問題與齧齒類動物實驗的規範

儘管動物實驗對科學研究與醫學發展貢獻巨大，但是否應以動物之苦換取人類利益，始終是深具爭議的倫理議題。自文藝復興以來，動物實驗因追求科學知識而廣受重視，卻也使無數動物經歷疼痛、疾病甚至死亡，引發對動物道德與權益的反思。20 世紀，隨著醫學與工業的蓬勃發展，齧齒類動物的使用量達數千萬隻，社會大眾與學界開始重新審視人類對動物的責任與義務。

(一)、19 世紀，歐洲反活體解剖運動蓬勃發展

生理學研究興起後，活體動物實驗劇增，引發多個激進團體力行廢除動物實驗。英國醫師馬歇爾·霍爾（Marshall Hall）承認動物具感知能力，實驗不可避免地造成動物痛苦，主張立法監管生理學研究。為回應虐待動物指控，霍爾於 1835 年提出《生理學研究原則》：

1. 如果可以透過觀察獲得必要的資訊，則不應進行實驗。
2. 如果沒有明確的目的，則不應進行任何實驗。
3. 科學家應要知悉其他科學的研究概況，以避免不必要的重複實驗。
4. 任何實驗都應該以儘可能減少痛苦的方式進行，如使用較低等的動物或剛死亡的動物來替代活體動物。
5. 生理學實驗應在確保能適當觀察與證明其結果的情況下進行，並盡可能避免重複實驗的必要。

儘管未明示「替代」或 3Rs 概念，霍爾的原則已具動物實驗倫理雛形。經過半世紀爭議，英國於 1876 年通過《防止虐待動物法案》，首次為實驗動物設立保護規範。

(二)、1959 年，《人道實驗技術原則》發表，提出「3Rs」原則

1953 年，英國世界福利大學聯盟（Universities Federation for Animal Welfare, UFAW）委託動物學家羅素（W. M. S. Russel）與微生物學家伯奇（R. L. Burch）研究動物實驗人道化策略。1959 年，他們發表《人道實驗技術原則》，提出實驗動物倫理 3Rs：

1. **取代 (Replacement)**：以無感知的材料或技術（如細胞或組織培養、電腦模擬）取代實驗中使用的活體脊椎動物。這是 3Rs 中最理想的原則，旨在完全消除對動物的依賴。
2. **減量 (Reduction)**：透過改善實驗設計與數據分析技術，在達到研究目標的前提下，最大限度地減少動物使用數量。
3. **精緻化 (Refinement)**：改進實驗方法及程序，最大限度地降低實驗動物的痛苦與恐懼，提升動物的福利。

羅素指出取代技術的發展是逐步進行的，但不太可能完全涵蓋整個實驗生物學領域，因此「減量」與「精緻化」的重要性在人道實驗技術中是不可或缺的。然而，3Rs 原則過於新穎，當時可用替代技術稀少，3Rs 並未立即改變科學家對動物依賴，動物福利團體也認為將重心放在取代方案上，並不是推進動物福利的最有效策略。

(三)、1970 年代，3Rs 之拓展與推廣

隨著動物權利運動的興起，動物權利問題逐漸進入公眾視野。人們開始主

張動物有動物權，其中代表著作，如 1964 年，哈里森 (Ruth Harrison) 出版《動物機器》，揭露農場動物遭受到的不人道待遇；1975 年，辛格 (Peter Singer) 出版《動物解放》，闡述人類應該考慮動物的利益，因為牠們具有感知痛苦的能力。動物保護團體批評動物實驗，並開始呼籲採取更人道的替代方法。1978 年，史密斯 (David H. Smyth) 在《動物實驗替代方法》一書中，闡述了替代方法的概念，他認為「替代」一詞包括完全不使用動物、降低動物使用數量與減少動物在實驗程序中承受之痛苦的 3Rs 原則。

(四)、1980 年代，因尋求替代技術的驅動力，使 3Rs 原則受到重視

動物權利運動的壓力推動了科學技術的進步，細胞培養 (*In vitro*) 與計算模擬技術 (*In silico*) 逐步發展，減少對動物的依賴，甚至加速了實驗進行。社會力量是促進科學家改革的重要推手，此時民間發起反對化妝品及家用化學品進行動物毒性試驗運動，最後促使化妝品業者及相關協會資助約翰霍普金斯大學，成立了「動物試驗替代方案中心」，為全球第一個替代方案研究中心。1980 年代出現了專門研究替代方案的期刊，如《實驗室動物替代方法》、《動物實驗替代方法》及《體外毒理學》，為替代方法領域的研究人員提供一個成果發表及資訊交流的平台。此外，歐洲國家及美國開始關注動物實驗的規範，逐漸導入 3Rs 原則，並推動更嚴格的動物實驗管理法規，要求實驗者在使用動物前需明確證明沒有替代方法可行。1985 年，美國國會通過了《健康研究推廣法案》，監管動物實驗使用的啮齒類動物，並要求國家衛生研究院 (NIH) 制定計劃，促進動物實驗替代方法的開發和使用；1986 年，歐盟發布了第 86/609/EEC 號指令，同年，英國議會通過了《動物 (科學程序) 法案》，取代了 1876 年的《防止虐待動物法案》，都納入了替代方法原則[42]。台灣在 2018 年修正《實驗動物照護及使用委員會或小組設置及管理辦法》，也加入「動物科學應用計畫審議時，應優先建議使用非活體動物替代方式」。在科學技術的進步下，如高通量篩選技術 (High-Throughput Screening) 的發展與非侵入式影像技術 (如 MRI、CT 等) 的發明，減少了動物的使用量，3Rs 不再只是理論而是具體行動。

(五)、3Rs 原則持續的更新與發展

3Rs 原則在 20 世紀末及 21 世紀初取得了顯著進展，隨著政府、學術界及民間動物保護團體的提倡與行動，民眾開始對於 3Rs 原則有了更多的認識。世界先進國家對實驗動物保護日漸重視，開始審慎思考動物實驗替代方案，並將替代方法納入法規中。隨著國際交流的增加，歐盟成員國、英國、美國、日本及澳洲等國家，陸續成立替代方法研究中心，加速替代方法的開發與驗證，並定期舉辦實驗動物替代方法研討會，也促使產業界開始使用新的替代方法，不僅是為了善盡道德責任，更是為了順應法規及世界潮流。實驗動物替代的重要性在於減輕動物痛苦及促進科學準確性，提升科學、經濟與人道主義的三重利益。然而在推動科學進步與人類福祉的平衡發展路上，唯有持續驗證及制定更精緻的替代方法，

才能完全達到 3Rs 原則的精神。總而言之，在過去 60 多年來，3Rs 概念取得了顯著進展，並將持續更新與進步，以促進動物福利與科學研究的協調發展。

七、齧齒類動物面臨的挑戰與替代方案

為促進醫藥發展，科學家不斷尋求更優良的實驗動物模型。基因工程技術的發展，促使齧齒類動物成為全球應用最廣泛的實驗動物，小鼠與人類基因組的蛋白質編碼區域平均有 85% 是相同的，代表具高度保守。在過去數十年來，齧齒類動物已成為生物醫學研究中不可或缺的工具，獲得的實驗成果幫助人類在疾病醫療與藥物開發取得了長足的進展。

然而，利用齧齒類動物進行動物實驗在很多方面仍面臨挑戰。在演化學上，齧齒類動物大約在八千萬年前，從哺乳類動物系譜中分支出來，與人類在生物學上存在明顯的差異，包括晝夜節律（夜行性動物）、感覺系統（依賴嗅覺、聽覺和觸覺）、認知發展、生殖系統與社會組織模式等[1,43]。人類的體型比小鼠大約 3,000 倍，平均壽命為小鼠的 30-50 倍，小鼠的基礎代謝率比人類高約 7 倍[44]，在基因調控上也存在許多差異，這可能會影響疾病的發病機制及病程的發展，如在小鼠纖維母細胞，調控抑制 p53 的表現及活化 Raf-MAPK 之訊息傳遞路徑，會導致細胞癌化，但在人類纖維母細胞中，則需要干擾更多條訊息路徑才能達到癌化[45]。

齧齒類動物與人類的免疫系統結構組成非常相似，在先天性免疫系統，都有類鐸受體（Toll-like receptors）防禦機制；人類循環血液中以嗜中性球為主，佔 50-70%；而齧齒類動物血液中以淋巴球為主，佔 75-90%[46]。在後天免疫系統，免疫球蛋白的組成、B 細胞與 T 細胞的發育及活化過程都不相同，因此，齧齒類動物在腫瘤免疫學研究中，通常無法完全模擬人類腫瘤微環境的複雜性[47]。

新藥試驗中，儘管候選藥物在齧齒類動物中常能顯示出療效，其藥物安全性試驗的陽性似然比（Positive likelihood ratio, PLR）普遍偏高，意味動物試驗較能預測人類的毒性，但約有九成藥物在人體試驗階段因先前未知的毒性副作用而失敗，原因複雜且各異。即便齧齒類動物與人類基因組相似度很高，但在生理系統上仍存顯著差異。研究也指出，齧齒類動物的陰性似然比（Negative likelihood ratio, NLR）中位數偏低——換言之，若動物試驗未顯示毒性，也難以保證人類安全；即使採用非人靈長類模型，也有相同問題[48]。此外，齧齒類動物與人類在代謝系統、解剖與生化反應上的差異，會影響藥物的吸收、分布、代謝與排泄。在臨床前試驗中，未能完全預測到的毒性往往發生於肝臟、腎臟與心臟，這與齧齒類動物較高的基礎代謝率、肝腎組織活性，以及細胞色素 P450 酵素家族催化特性不同有關，使得藥物在動物體內的作用時間縮短[36]。齧齒類動物的心跳速率每分鐘可達 300 - 600 次，心臟動作電位再極化時間遠短於人類，可能源自鉀離子通道在物種表現上的差異，因此常無法及時偵測人類心臟毒性反應[49]。

嚙齒類動物疾病模型對於了解人類疾病的致病機制與開發治療方法非常有幫助，但有時仍無法完全模擬人類疾病的特徵，如小鼠阿茲海默症模型能表現相似的 β -類澱粉蛋白沉積，但缺乏明顯的神經退行性變化，亦無法完全模擬人類因神經退化造成的認知衰退，限制了在開發治療策略上的應用，只能做為基礎醫學研究的模型。科學實驗設計通常為減少基因變異或賀爾蒙的影響，常使用近親品系或單一性別小鼠，因缺乏遺傳多樣性，有時候會造成實驗結果的偏倚。嚙齒類動物疾病模型常僅調控單一基因表現，難以完整展現人類疾病中多基因交互作用的複雜性。例如，雖可透過基因工程控制小鼠神經網路訊號，並結合神經影像學提升精神疾病模型的分析，但面對人類大腦錯綜複雜的細胞類型與基因表現，且嚙齒類動物精神疾病的鑑定本身就具挑戰性，精神疾病研究與新藥開發仍需克服諸多難題[50]。

人們普遍認為，相較於高等哺乳動物，以嚙齒類動物進行研究在倫理上爭議較小。儘管體型較小，嚙齒類動物仍具學習能力，且能感受痛苦與快樂。研究顯示，大鼠在搔癢或與同伴嬉戲時會發出約 50 Hz 的聲音，表現正向情緒；感到恐懼或遭遇社交失敗時，則會發出約 22 Hz 的聲音此外，嚙齒類動物能識別同伴的痛苦並產生情緒反應：當有小鼠處於痛苦狀態時，同籠小鼠會主動靠近，顯示其具同理心[51][52]。

傳統化學品與藥物安全性測試中，嚙齒類動物使用最為廣泛，全球每年約動用數千萬隻。除了帶來道德爭議外，動物實驗結果有時也難以應用於臨床。早在新藥研發初期，科學家便注意到動物試驗成果不一定可轉譯到人體；許多在動物中顯示療效的候選藥物，最終於臨床試驗中失敗。因此，研究界開始開發更具預測性的人源測試平台，統稱為新替代測試方法（New Approach Methods, NAMs），涵蓋人類或動物細胞與組織工程、器官晶片、計算機模擬與資料庫交叉比對等技術，以提升準確性與轉譯性[53]。

2007 年，歐盟施行 REACH 法規管制化學品理學與生態毒理學性質相似或結構相似的物質進行比對；另一種為定量構效，要求化學品註冊資料應包括毒理學及生態毒理學等資訊，在 NAMs 的開發下，以嚙齒類動物的傳統測試方法有部分開始被替代，如以電腦模擬的方式。目前化學品毒性預測最常使用的電腦模擬方法為交叉參照法（read-across），將物理化學、毒關係模型（Qualitative or Quantitative Structure Activity Relationship, QSAR），以電腦模擬化學品的物理結構，定性或定量結構活性關係來預估毒性測量值。依據歐盟化學局 2023 年的報告中顯示，使用非動物替代方式的比例逐年成長，過去使用嚙齒類動物進行皮膚刺激性試驗、皮膚敏感性試驗及眼睛刺激性試驗的比例已大幅減少[54]。

要完全取代動物試驗，NAMs 必須整合多種技術並經嚴謹驗證，目前尚無適用於所有化學品的統一評估框架，這正是 NAMs 難以全面納入法規的主因之一。2022 年，經合組織（OECD）發布了多種化學品「綜合測試與評估策略」

(Integrated Approaches to Testing and Assessment, IATA) 應用指南，示範如何結合啮齒類動物、斑馬魚、細胞實驗與電腦模型的結果，靈活運用各種方法來降低動物用量。未來，化學品毒性測試將更依賴跨領域合作與多元替代方法的綜合評估。

八、結語

NAMs 因能提供更及時、更具預測性的資訊，得以加速產品開發並減少實驗動物使用，因而日漸獲得認同。然而，NAMs 目前仍有局限，尚無法完全取代傳統動物實驗。啮齒類動物的疾病模型依舊是生醫研究的主力，因為完整生物體可展現複雜的生理與病理變化，並模擬各器官與組織之間的交互作用，對深入探討疾病機制與開發新標靶藥物至關重要。基因工程技術的發展，讓科學家得以訂製特定疾病模型，精準研究基因調控對生理變化的影響。依現行法規，化學品和新藥的安全性評估—特別是急性全身毒性、重複給藥毒性及生殖發育毒性試驗—仍高度依賴啮齒類動物。

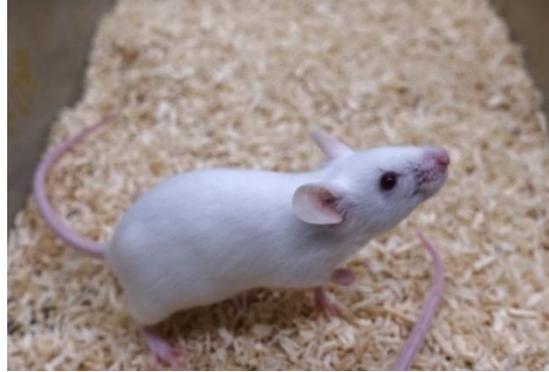
《人道實驗技術原則》發表時，強調人道對待動物的重要性。3Rs 原則中的「取代」提倡使用無感知的材料取代活體動物，引起部分科學家的質疑與反對，因為在當時的技術尚無法實踐，而使用動物進行實驗或測試，一直是探索科學問題、促進人類與動物健康及環境保護的重要工具。羅素提到：「**取代是漸進的，實驗生物學不太可能完全不使用動物，因此，在達到完全取代實驗動物的最終目標前，「減量」及「精緻化」同樣不可或缺，3Rs 原則之間環環相扣。**」史密斯 (David H. Smyth) 在其著作《動物實驗的替代方案》中提到：「**體外方法能提供有關生物體某部分如何運作的資訊，但仍無法代表整個生物體的訊息，組織培養與動物實驗並非相互替代的，而是互補的。**」此觀點仍然相當符合當前對實驗動物使用的現況。

在推動科學進步與人類福祉平衡發展的過程中，啮齒類動物在疾病模型與藥物測試等多個研究領域扮演關鍵角色。未來期望 NAMs 持續發展出更具效力且經充分驗證的方法，以補足啮齒類動物實驗的不足，真正體現 3Rs 原則的精神。

啮齒類動物在疾病研究中的應用



圖一、白色皮毛 SD 大鼠因性格溫馴，被廣泛使用於生醫研究，如毒理學與藥理學。



圖三、FVB/Tg (PrP-TDP43) 基因轉殖鼠，過度表達突變蛋白會導致肌萎縮性側索硬化症，包括進行性運動功能障礙與學習記憶能力受損，最終導致癱瘓及脊髓功能缺損。



圖二、3xTg-AD 小鼠能表現如阿茲海默症病患腦部的病理變化，有時可見尾巴末端有小小的捲曲。



圖四、6 周齡 BKS-*Lep^{ob/ob}* 小鼠因體內缺乏瘦體素，造成自發性過度肥胖。

參考文獻：

1. Modlinska, K., & Pisula, W. (2020). The Norway rat, from an obnoxious pest to a laboratory pet. *Elife*, 9.
2. Lindsey, J. R., & Baker, H. J. (2006). Chapter 1 - Historical Foundations. In M. A. Suckow, S. H. Weisbroth, & C. L. Franklin (Eds.), *The Laboratory Rat (Second Edition)* (pp. 1-52). Academic Press
3. Billingham, R. E., & Silvers, W. K. (1959). INBRED ANIMALS AND TISSUE TRANSPLANTATION IMMUNITY. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 23(4).
4. Masopust, D., Sivula, C. P., & Jameson, S. C. (2017). Of Mice, Dirty Mice, and Men: Using Mice To Understand Human Immunology. *J Immunol*, 199(2), 383-388.
5. Mukherjee, P., Roy, S., Ghosh, D., & Nandi, S. K. (2022). Role of animal models in biomedical research: a review. *Lab Anim Res*, 38(1), 18.
6. Chinwalla, A. T., Cook, L. L., Delehaunty, K. D., Fewell, G. A., Fulton, L. A., Fulton, R. S., Graves, T. A., Hillier, L. W., Mardis, E. R., McPherson, J. D., Miner, T. L., Nash, W. E., Nelson, J. O., Nhan, M. N., Pepin, K. H., Pohl, C. S., Ponce, T. C., Schultz, B., Thompson, J.,...Members of the Mouse Genome Analysis, G. (2002). Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, 420(6915), 520-562.
7. Huston, J. P., van den Brink, J., Komorowski, M., Huq, Y., & Topic, B. (2012). Antidepressants reduce extinction-induced withdrawal and biting behaviors: a model for depressive-like behavior. *Neuroscience*, 210, 249-257.
8. Szabo, S., Yoshida, M., Filakovszky, J., & Juhasz, G. (2017). "Stress" is 80 Years Old: From Hans Selye Original Paper in 1936 to Recent Advances in GI Ulceration. *Curr Pharm Des*, 23(27), 4029-4041.
9. Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 11(1), 47-60.
10. Gray, L. E., Jr., Wilson, V., Noriega, N., Lambright, C., Furr, J., Stoker, T. E., Laws, S. C., Goldman, J., Cooper, R. L., & Foster, P. M. (2004). Use of the laboratory rat as a model in endocrine disruptor screening and testing. *Ilar j*, 45(4), 425-437.
11. Schmidt, R. E., Dorsey, D. A., Beaudet, L. N., & Peterson, R. G. (2003). Analysis of the Zucker Diabetic Fatty (ZDF) type 2 diabetic rat model suggests a neurotrophic role for insulin/IGF-I in diabetic autonomic neuropathy. *Am J Pathol*, 163(1), 21-28.
12. Meneses, A., & Hong, E. (1998). Spontaneously hypertensive rats: a potential model to identify drugs for treatment of learning disorders. *Hypertension*, 31(4), 968-972.

13. Schunkert, H., Weinberg, E. O., Bruckschlegel, G., Riegger, A. J., & Lorell, B. H. (1995). Alteration of growth responses in established cardiac pressure overload hypertrophy in rats with aortic banding. *J Clin Invest*, 96(6), 2768-2774.
14. Nair, K. G., Cutilletta, A. F., Zak, R., Koide, T., & Rabinowitz, M. (1968). Biochemical Correlates of Cardiac Hypertrophy. *Circulation Research*, 23(3), 451-462.
15. Guénet, J.-L., & Bonhomme, F. (2004). CHAPTER 1 - Origin of the Laboratory Mouse and Related Subspecies. In H. J. Hedrich & G. Bullock (Eds.), *The Laboratory Mouse* (pp. 3-13). Academic Press
16. Davisson, M. T., & Linder, C. C. (2004). CHAPTER 2 - Historical Foundations. In H. J. Hedrich & G. Bullock (Eds.), *The Laboratory Mouse* (pp. 15-24). Academic Press
17. Houdebine, L.-M. (2004). CHAPTER 6 - The Mouse as an Animal Model for Human Diseases. In H. J. Hedrich & G. Bullock (Eds.), *The Laboratory Mouse* (pp. 97-110). Academic Press
18. 中華實驗動物學會. (2020). *實驗動物科學 (技術篇)*. 農業委員會.
19. Li, Z., Zheng, W., Wang, H., Cheng, Y., Fang, Y., Wu, F., Sun, G., Sun, G., Lv, C., & Hui, B. (2021). Application of Animal Models in Cancer Research: Recent Progress and Future Prospects. *Cancer Manag Res*, 13, 2455-2475.
20. Stewart, T. A., Pattengale, P. K., & Leder, P. (1984). Spontaneous mammary adenocarcinomas in transgenic mice that carry and express MTV/myc fusion genes. *Cell*, 38(3), 627-637.
21. Glöckner, S., Buurman, H., Kleeberger, W., Lehmann, U., & Kreipe, H. (2002). Marked intratumoral heterogeneity of c-myc and cyclinD1 but not of c-erbB2 amplification in breast cancer. *Lab Invest*, 82(10), 1419-1426.
22. Al-Awar, A., Kupai, K., Veszeka, M., Szűcs, G., Attieh, Z., Murlasits, Z., Török, S., Pósa, A., & Varga, C. (2016). Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *J Diabetes Res*, 2016, 9051426.
23. Kottaisamy, C. P. D., Raj, D. S., Prasanth Kumar, V., & Sankaran, U. (2021). Experimental animal models for diabetes and its related complications-a review. *Lab Anim Res*, 37(1), 23.
24. Rees, D. A., & Alcolado, J. C. (2005). Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med*, 22(4), 359-370.
25. Chen, H., Charlat, O., Tartaglia, L. A., Woolf, E. A., Weng, X., Ellis, S. J., Lakey, N. D., Culpepper, J., Moore, K. J., Breitbart, R. E., Duyk, G. M., Tepper, R. I., & Morgenstern, J. P. (1996). Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell*, 84(3), 491-495.

26. Gitler, A. D., Dhillon, P., & Shorter, J. (2017). Neurodegenerative disease: models, mechanisms, and a new hope. *Dis Model Mech*, *10*(5), 499-502.
27. Götz, J., Bodea, L. G., & Goedert, M. (2018). Rodent models for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci*, *19*(10), 583-598.
28. Dawson, T. M., Golde, T. E., & Lagier-Tourenne, C. (2018). Animal models of neurodegenerative diseases. *Nat Neurosci*, *21*(10), 1370-1379.
29. Yokoyama, M., Kobayashi, H., Tatsumi, L., & Tomita, T. (2022). Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Front Mol Neurosci*, *15*, 912995.
30. Ciuro, M., Sangiorgio, M., Leanza, G., & Gulino, R. (2022). A Meta-Analysis Study of SOD1-Mutant Mouse Models of ALS to Analyse the Determinants of Disease Onset and Progression. *Int J Mol Sci*, *24*(1).
31. Jucker, M. (2010). The benefits and limitations of animal models for translational research in neurodegenerative diseases. *Nat Med*, *16*(11), 1210-1214.
32. Zaragoza, C., Gomez-Guerrero, C., Martin-Ventura, J. L., Blanco-Colio, L., Lavin, B., Mallavia, B., Tarin, C., Mas, S., Ortiz, A., & Egido, J. (2011). Animal models of cardiovascular diseases. *J Biomed Biotechnol*, *2011*, 497841.
33. Jia, T., Wang, C., Han, Z., Wang, X., Ding, M., & Wang, Q. (2020). Experimental Rodent Models of Cardiovascular Diseases. *Front Cardiovasc Med*, *7*, 588075.
34. Union, C. o. t. E. (2024). *Summary Report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the Member States of the European Union and Norway in 2021*.
35. Goyal, v., & Bandari, M. (2023). Rodents in Drug Discovery. In M. M. Shah (Ed.), *Rodents and Their Role in Ecology, Medicine and Agriculture*. IntechOpen
36. Monticello, T. M., Jones, T. W., Dambach, D. M., Potter, D. M., Bolt, M. W., Liu, M., Keller, D. A., Hart, T. K., & Kadambi, V. J. (2017). Current nonclinical testing paradigm enables safe entry to First-In-Human clinical trials: The IQ consortium nonclinical to clinical translational database. *Toxicol Appl Pharmacol*, *334*, 100-109.
37. Sun, D., Gao, W., Hu, H., & Zhou, S. (2022). Why 90% of clinical drug development fails and how to improve it? *Acta Pharm Sin B*, *12*(7), 3049-3062.
38. Van Norman, G. A. (2019). Phase II Trials in Drug Development and Adaptive Trial Design. *JACC Basic Transl Sci*, *4*(3), 428-437.
39. Mosier, D. E., Gulizia, R. J., Baird, S. M., & Wilson, D. B. (1988). Transfer of a functional human immune system to mice with severe combined immunodeficiency. *Nature*, *335*(6187), 256-259.
40. Gonzalez, F. J. (2004). Cytochrome P450 humanised mice. *Hum Genomics*, *1*(4), 300-306.
41. Pistollato, F., Madia, F., Corvi, R., Munn, S., Grignard, E., Paini, A., Worth, A.,

- Bal-Price, A., Prieto, P., Casati, S., Berggren, E., Bopp, S. K., & Zuang, V. (2021). Current EU regulatory requirements for the assessment of chemicals and cosmetic products: challenges and opportunities for introducing new approach methodologies. *Arch Toxicol*, *95*(6), 1867-1897.
42. Parascandola, J. (2024). *A History of the Development of Alternatives to Animals in Research and Testing*. Purdue University Press.
43. Martin, B., Ji, S., Maudsley, S., & Mattson, M. P. (2010). "Control" laboratory rodents are metabolically morbid: why it matters. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *107*(14), 6127-6133.
44. Perlman, R. L. (2016). Mouse models of human disease: An evolutionary perspective. *Evol Med Public Health*, *2016*(1), 170-176.
45. Rangarajan, A., & Weinberg, R. A. (2003). Opinion: Comparative biology of mouse versus human cells: modelling human cancer in mice. *Nat Rev Cancer*, *3*(12), 952-959.
46. Mestas, J., & Hughes, C. C. (2004). Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J Immunol*, *172*(5), 2731-2738.
47. Abolins, S., King, E. C., Lazarou, L., Weldon, L., Hughes, L., Drescher, P., Raynes, J. G., Hafalla, J. C. R., Viney, M. E., & Riley, E. M. (2017). The comparative immunology of wild and laboratory mice, *Mus musculus domesticus*. *Nat Commun*, *8*, 14811.
48. Van Norman, G. A. (2019). Limitations of Animal Studies for Predicting Toxicity in Clinical Trials: Is it Time to Rethink Our Current Approach? *JACC Basic Transl Sci*, *4*(7), 845-854.
49. Clark, M., & Steger-Hartmann, T. (2018). A big data approach to the concordance of the toxicity of pharmaceuticals in animals and humans. *Regul Toxicol Pharmacol*, *96*, 94-105.
50. Baker, M., Hong, S. I., Kang, S., & Choi, D. S. (2020). Rodent models for psychiatric disorders: problems and promises. *Lab Anim Res*, *36*, 9.
51. Burgdorf, J., & Panksepp, J. (2001). Tickling induces reward in adolescent rats. *Physiol Behav*, *72*(1-2), 167-173.
52. Ueno, H., Suemitsu, S., Murakami, S., Kitamura, N., Wani, K., Okamoto, M., Matsumoto, Y., Aoki, S., & Ishihara, T. (2018). Empathic behavior according to the state of others in mice. *Brain Behav*, *8*(7), e00986.
53. Sewell, F., Alexander-White, C., Brescia, S., Currie, R. A., Roberts, R., Roper, C., Vickers, C., Westmoreland, C., & Kimber, I. (2024). New approach methodologies (NAMs): identifying and overcoming hurdles to accelerated adoption. *Toxicol Res (Camb)*, *13*(2), tfae044.
54. Agency, E. C. (2023). *The use of alternatives to testing on animals for the REACH*

Regulation.

1-2 非啮齒類實驗的發展與應用 (一)

一、 引言

近年來，隨著科技發展與動物福利意識的提升，3R 原則 (替代 Replacement、減量 Reduction、精緻化 Refinement) 在動物科學研究中的應用日益受到關注。犬貓、野生動物與水生動物的研究不僅對生物醫學、保育與生態學至關重要，同時也面臨著倫理與法律的挑戰。本文將探討 3R 科技在這三類動物研究中的應用與挑戰，並闡述如何在確保科學研究品質的同時，減少動物實驗的倫理爭議，促進更人道與可持續的科學發展。

二、犬貓動物實驗的發展與應用

(一) 引言

在生物醫學研究中，犬貓解剖、生理結構和對疾病的反應與人類相似，被視為重要的實驗動物。犬貓因能表現出或可以被誘導表現出人類疾病的特徵，進而成為研究人類疾病的動物模型，是現今許多動物研究的首選物種。

隨著社會對動物福利與倫理的重視，犬貓等實驗動物的使用面臨愈來愈多的道德考量和法律約束。因此，如何在確保科學研究有效性的同時，提升對動物的保護成為了研究人員的重要使命。

(二) 犬貓動物於研究使用的法律規範與倫理考量

針對美國實驗室的一項調查中，每年大約有 18 萬隻狗和 5 萬 5 千隻貓被用於生物醫學研究和測試，其中只有 25% 的狗和 8% 的貓是由商業飼養者專門為研究而飼養；其餘的約 14 萬隻狗和 5 萬隻貓是從動物收容所和動物收容所獲得的。隨著對動物福利的重視提升，相關法規和倫理考量的準則也持續修訂和強化。

1. 台灣動物保護法

根據台灣《動物保護法》第 16 條的規定，進行動物科學應用之機構，必須建立實驗動物照護及使用委員會或小組 (IACUC)，以確保所有實驗的動物使用均符合倫理要求。要求研究機構在進行犬貓等動物的實驗時，必須提供適當的飼養、醫療照顧和環境設置，並在實驗設計中遵循 3R 原則。

2. 美國 AVMA 指導原則

美國獸醫醫學會 (AVMA) 制定了一系列針對動物實驗的倫理指導原則。敦促研究者在進行犬貓實驗時，要遵循相同的 3R 理念。使用動物進行研究、測試和教育應遵守倫理和動物福利原則，包括遵守聯邦、州和地方法規、當代獸醫護理標準，以及監督機構 (例如，IACUC) 對動物福利進行的同儕審查，此外也應利用第三方的額外審查和資訊的透明度來確保動物福利。

3. 歐洲相關法規

在歐洲，歐盟各國的實驗動物保護制度主要源於 EU Directive 2010/63/EU 指令所建立的法律框架，此法令為了提高會員國的執行效率，加強 3R 原則的實現，強化動物福利的各項要求，最終目標是完全中止動物實驗。此指令要求會員國和歐盟委員會持續更新並使用替代方法研究，且確立事前授權的制度，以提高可執行性和效率，此外對會員國主管機關也有更多監督機制，並要求會員國建立相應的罰則。

4. 犬貓動物實驗爭議

儘管相關法規逐漸完善，台灣仍然發生了幾起有關犬貓動物實驗的爭議，如「台灣動物保護行政監督聯盟」等動物權益團體曾對一些社會動物保護相關議題提出質疑並對事件提起法律訴訟，指控其未遵循動物福利的法律規範，並要求立法機構檢討動物實驗的倫理性和合法性。

在國際上，許多動物權益組織如善待動物組織 (PETA) 和美國人道協會 (HSUS) 亦對使用犬貓等實驗動物的研究活動發起抗議。這些組織基於道德原則，主張不應對任何動物進行實驗，並呼籲研究者尋找更人道的替代方法。這一系列事件促使社會對動物保護法規和倫理要求進行反思，並進一步強化了對動物使用的監管。

5. 法規與倫理考量的總結

犬貓動物在生物醫學研究中的使用受到國際和地區法規的嚴格監控。從台灣的《動物保護法》到美國 AVMA 的指導原則，再到歐洲的 EU Directive 2010/63/EU，這些法律和道德規範都要求研究人員在設計和執行實驗時，必須全面考慮動物的倫理待遇。不僅是法律的要求，這些規範反映了社會對於動物福利的期盼及推動科學研究的責任感。當今的研究者不僅要追求科研的進步，還應重視其研究對象的福祉，這種全新的觀念要求在進行生物醫學研究時必須將動物的需求和權益置於首位。

6. 重要性與挑戰

儘管法律法規對犬貓等實驗動物的保護機制日益健全，但在實際應用中仍面臨不少挑戰。首先，並非所有的研究機構都完全遵循這些法律規範，特別是在資源有限的小型或初創企業中，可能因為對法律要求的認識不足，未能有效執行動物福利措施。這樣的情況不僅影響動物的福祉，也可能影響到最終研究的品質和可信度。其次，儘管有許多替代技術和方法正在開發中，但在某些情況下，使用動物的需求仍然是無法完全避免的，尤其是在基礎生物研究中，動物模型提供的生理特性和系統反應無法通過其他方法完全替代。因此，作為科學界的一員，研究者必須不斷探索如何在現有科學框架內，使用最少且必要的動物數量，並持續尋求以非動物的方式進行的替代方案。

(三) 應用 3R 原則於犬貓實驗動物的研究

早期的生醫研究往往忽視動物福利，犬貓等實驗動物經常被大量使用，以獲取科學數據。然而，隨著動物福祉興起，犬貓的社會地位已從單純的動物轉變為寵物。因此，對於犬貓在研究中的使用，社會上逐漸出現批評和限制。不過，目前許多相關研究與教育仍然無法完全避免使用犬貓。在此背景下，研究者可以在 3R 原則框架下進行動物實驗，但犬貓面臨的限制仍比傳統實驗動物如啮齒類動物更為嚴格。

1. 減量(Reduction)

隨著科技快速發展與對動物福利的增強關注，犬貓實驗中的減量觀念實施效果顯著提升。目前的研究用更合理的樣本量計算和實驗設計。現今的研究準確計算出所需的最小樣本量以達到研究的預期效能。例如，在藥物測試的過程中，研究者已經不再隨意選取特定數量的犬貓，而是根據統計學原則，精確估算能夠產生顯著性結果的最小樣本數。這一改變不僅減少了使用的犬貓數量，還提升了實驗結果的可靠性。

此外，跨學科的合作與數據共享在犬貓實驗研究中展現優勢。隨著科學研究的複雜化，許多研究機構開始使用公開數據庫，進行聯合分析，避免重複實驗。研究者也可以整合過去的犬貓實驗數據，創建基於這些數據的模型，提高未來實驗的設計合理性和有效性。這不僅促進了減量的落實，還提升了科學交流和協作的效率。

儘管減量觀念已經有顯著成效，但仍面臨一些挑戰。首先，許多研究者對於統計學原則的理解有限，可能限制了有效應用樣本量計算的方法。因此，加強對於減量觀念和工具的宣傳及教育，是提升減量應用效果的必要措施。

2. 替代(Replacement)

早期的替代技術以細胞培養和組織切片技術為主，此方法初步減少對犬貓的需求。在藥物開發初期，許多研究者將細胞培養技術與動物實驗相結合，以縮短藥物測試時間。此方法能在不使用犬貓的情況下，提供有關於藥物代謝和安全性的初步數據，有效減少對活體動物的需求。

科技進步顯著推動替代觀念。特別是器官芯片技術 (Organ-on-a-Chip)，提供能模擬人體內部器官生理和病理環境的系統。此技術能在實驗室環境中實現對生物反應的研究，不需使用活體動物，其對於藥物開發和毒性測試提供了更高效和更人道的替代方案。

此外，計算模型和生物信息學技術已經開始應用於安全性評估和疾病模型的建立。研究者們利用資料庫和計算技術模擬不同化合物對生物體的影響，大幅度減少必要的動物使用實驗。

雖然替代方法在生物醫學研究中取得了顯著進展，但現階段仍然面臨挑戰。首先，許多替代技術仍較為新穎，缺乏足夠的規範和標準化，可能影響其廣泛採用。此外，研究者對替代技術的了解和信任程度不一，可能限制其應用。未來的重點應放在技術研究的標準化、數據共享平台的建立及跨學科合作的推進。科研機構應持續投入資源，以提高替代技術的可行性和有效性，並加強對於相關技術的教育和培訓，促進學術界和產業界的良性互動與合作。

3. 優化(Refinement)

(1) 麻醉與鎮痛管理：採用更有效的麻醉劑和疼痛緩解藥物，減少手術和侵入性程序對動物造成的不適。此方法不僅能提高動物的福利，還能促進其術後恢復，減少動物的焦慮和壓力

(2) 飼養和環境改善：為實驗動物提供適宜的生存環境，減少噪音、提供足夠的活動空間，引入環境豐富化措施，增強動物的生活品質和心理健康。

(3) 實時健康監測：研究機構採用非侵入式的健康監測系統，使研究者能持續監控犬貓的生理狀態，及時識別出潛在的健康問題，並採取干預措施。此措施使研究者能在不打擾動物的情況下，保持對其健康的關注，進而提高整體的動物福利。

(四) 教學模型在獸醫教學中的應用：促進減少、替代和優化犬貓使用的策略

傳統獸醫教學往往依賴使用活體動物進行解剖學、生理學、藥理學與臨床技能等的學習與訓練。為盡可能減少為教學而犧牲的 (purpose-killed) 動物，且兼

顧教學成效，使用替代或教學模型成為現代獸醫教育中的重要一環，尤其是犬貓實驗動物領域方面。這一章節將探討如何透過替代方式與教學模型的，以促進 3R 犬貓實驗動物的使用。

1. 減少犬貓實驗動物使用的策略

隨著教育理念進步，教育者開始重視減少對犬貓等實驗動物的依賴。使用符合來源的動物遺體 (ethically-sourced cadavers)、高品質的教學模型，以及即時對刺激有所反應之模擬工具，學生可以在不傷害動物生命的情況下習得必要之知識與技能 (Knight, 2007)。例如，利用大型解剖模型或虛擬實境 (VR) 軟體，學生可進行解剖學的學習，或模擬手術程序，掌握生理解剖學的重點。不僅可突破過往平面 2D 示意圖難以傳達的空間概念，還可重複多次練習與學習，不僅增進學習效率，同時也減少對實驗動物的需求。

2. 替代犬貓實驗動物的方式

3D 列印模型的應用提供高度細緻化與可重複列印並反覆操作的解剖學模型，使學生能夠在真實的觸感和視覺體驗下學習。這類模型可根據實際解剖結構精確製作，專門用於教學。如，使用 3D 列印技術製作犬貓的器官，讓學生深入觀察解剖構造並進行操作訓練。對於可重複列印並反覆操作的解剖學模型，不僅可提升學生實體接觸觀察的動手能力，還可有效替代對活體動物的需求。

3. 優化犬貓使用的教學方法

優化在獸醫教育中對犬貓的使用方式也非常重要。一方面，確保當動物使用不可避免時，能夠最佳地使用這些動物，減少對活體生命所造成的痛苦和壓力。另一方面，以非侵入性的方法和合適的環境，減少動物參與當下的緊迫與不適，達到更順利且友善的學習過程。

在教學或技術練習尚未有合適替代方案時，可考慮使用符合來源的動物遺體 (ethically-sourced cadavers)，也就是臨床上因醫療狀況而安樂死的犬貓大體，經飼主捐贈至獸醫教學醫院，專門提供獸醫教學使用。除了避免對於活體動物利用的道德議題之外，可提供貼近真實醫療挑戰情境的多樣性，也能夠提供更進階的臨床技術訓練需求。

降低動物緊迫程度 (stress level) 方面，利用廣泛使用於臨床犬貓醫療的情緒緩解藥物 (anxiolytics) 如 Gabapentin 與 Trazodone，在操作前給予動物服用，降低動物於操作當下的緊迫；但應向學生強調，這類藥物不具鎮靜功能 (non-sedative agent)，沒有止痛效果 (non-analgesic agent)，僅有輕度情緒調節作用，切勿倚仗操作前的藥物投予而粗暴對待動物。環境設置方面，避免同時過多犬貓個

體處於吵雜環境中；在安靜且舒適的空間，搭配軟墊、毛巾等裝置避免動物因其他因素更加緊迫。

4. 實際案例與效果評估

Ross 大學獸醫系對於獸醫虛擬實境軟體的學習成效進行評估，發現有使用虛擬實境軟體的學生學習表現顯著高於未使用的學生，且有使用的學生其滿意度並不差，顯示可放大、旋轉，甚至可單獨移除某一解剖結構的虛擬實境軟體在獸醫領域值得嘗試。統合分析與系統性文獻回顧研究中，顯示模擬替代動物教學在獸醫教學中可有效增進知識與技能。綜合各類符合人道教學方法成效的研究中，顯示約三成至五成的新式替代教學方法較傳統教學成效更佳，另外五成則與傳統教學成效相仿，僅少數之成效較差或導致學生有抗拒感。

5. 未來展望

綜上所述，針對不同教學內容、對象與目的，可結合減少、替代與優化犬貓實驗動物使用。未來獸醫教學可著重並推廣教學模型的使用。此外，教學者也應持續探索新型互動式學習方式，例如線上模擬平台、虛擬實境技術等，以豐富學生的學習體驗。通過優化學習與教學的方式，可以在不妥協動物福利的情況下，培養出更具專業素養的獸醫人才，推動整個行業的可持續發展。未來，這些變革將有助於構建一個更加負責任和倫理的獸醫實踐環境。

(五) 應用 3R 觀念於犬貓臨床研究

臨床研究與一般實驗型研究最顯著的區別在於，臨床研究的對象是就診的病患，而實驗型研究則針對健康的犬貓進行。臨床研究需要耗費大量時間與飼主進行溝通，並在研究目的是評估治療方法的成效或開發新藥時，若研究結果未如預期，研究者也可能面臨來自飼主的沉重壓力。這些因素使得當前犬貓的臨床研究面臨較高的困難性。3R 原則在犬貓臨床研究中的應用與前述犬貓實驗動物研究的差異並不大，但在細節考量上可能會有所不同。研究者需要更細緻地考慮動物的福利、飼主的期望，以及研究設計的科學性，以所有這些因素為基礎推動研究的進展。

1. 減量(Reduction)

臨床病例存在個體差異，制定明確的納入和排除條件在實驗前至關重要。能有效減少實驗數據的變異性，幫助研究者更準確地掌握犬貓在實驗中的反應。此外，考量動物福祉時，在治療方法的臨床研究中，研究者可能會選擇排除非治療組的設計，或者適度減少控制組的動物數量。雖然此做法可能會降低統計結果的信賴度，但這是一種在保障患病犬貓獲得必要治療的前提下所作出的妥協。

2. 替代(Replacement)

在犬貓臨床研究中，達成替代方法的目的有時並不容易。臨床研究通常被視為驗證其他替代研究方法的最終手段，因為許多實驗型研究是在高度一致和較為簡單的环境下進行的，而臨床個體具有極高的複雜性。因此，臨床研究和實驗型研究的結果不一致的情況並不少見，但這些臨床結果更能反映真實情況。然而，並非所有實驗型研究都需要進行臨床試驗。如果實驗型研究的結果足夠成熟，且能夠合理應用於臨床環境，則無需進一步的臨床驗證。這指出了在研究過程中，合理選擇研究方法和步驟的重要性，既要考慮到研究的科學性，又要尊重動物福利。

3. 優化(Refinement)

在犬貓的臨床研究中，優化是至關重要的一環，因為這是飼主最關注的因素。因此，在研究過程中，研究人員不僅需要密切監控動物的健康狀況，同時也應重視飼主的心理感受。此外，飼主的情緒和反應可能影響實驗的終止點，導致研究在某些情況下提前結束。因此，充分考量飼主的需求和感受不僅能提升動物福祉，也對研究的結果和進程產生重大影響。

(六) 高階影像與診斷設備在犬貓醫學研究中的應用：促進 3R 原則的實現

在生物醫學研究中，犬貓作為重要的實驗動物，經常用於揭示疾病機制、評估治法的有效性及進行藥物測試。然而，隨著動物福祉意識提升，研究者愈發重視最佳化，在確保科學研究的同時，減少對動物的傷害。在此背景下，高階影像工具、診斷設備以及人工智慧的應用，無疑為 3R 原則的實踐提供新的契機。

1. 高階影像工具的功能與應用

高階影像技術，如核磁共振影像 (MRI)和電腦斷層掃描 (CT)，能提供詳細的生理和解剖數據，使研究者在不對實驗動物造成傷害的情況下獲得關鍵資訊。這些技術提升臨床診斷的準確性，能為疾病診斷、治療效果的評估以及預後分析提供更客觀的證據，避免侵入性操作。此方式不僅減少對犬貓的使用量，同時也提升研究結果的可靠性，使研究者能更有效地進行科學探索。

2. 臨床實驗室診斷工具

臨床實驗室診斷工具，如血液和尿液檢測，能夠有效評估犬貓的健康狀態。隨著新型疾病標記分子的問世，疾病診斷及嚴重性評估的專一性和準確性得到顯著提升。這些診斷工具提供快速且準確的結果，無需進行長期的動物實驗。透過

這些非侵入性的測試，獸醫能獲得關於犬貓的重要健康資訊，從而制定更具針對性的治療計劃，降低對動物的需求。

3. 電腦模擬與數據分析技術

研究者利用電腦模型模擬生物系統和疾病進程，進行藥物作用和反應的預測，無需進行動物實驗。研究者即使沒有使用動物也能獲得基本數據，進一步促進 3R 原則的實現。

4. 低侵襲性技術

微創手術和內視鏡技術能夠在極小創傷的情況下進行診斷和治療。微創的概念不僅體現在小傷口上，更重要的是強調減少醫療過程對動物的傷害。此方法不僅降低犬貓在手術中的痛苦，還提升手術的成功率和恢復速度，並減少不必要的傷害對研究結果的影響。

5. 基因測試與分子診斷

通過基因測試與分子診斷技術，不僅可以診斷疾病，還能評估遺傳性疾病的風險。一般只需提供血液或體液樣本，就能在疾病早期進行準確的診斷。不僅為精準治療提供可靠依據，也能為相關研究提供更具意義的結果。

6. 人工智慧在犬貓醫學研究中的應用

AI 通過自動化數據分析降低使用犬貓的需求，並提供更精確的預測。此外，機器學習算法能從大量數據中識別模式，幫助研究者在不使用動物的情況下作出更準確的研究判斷。在疾病預測和藥物發展中，AI 能模擬生物反應提供有效的無動物替代方法。透過數據分析 AI 技術在監控動物健康、預測可能的健康問題方面也能發揮巨大的作用，進一步優化犬貓的管理和照護，從而提升其在實驗和治療過程中的福祉。

(七) 結論

3R 原則的應用對於犬貓臨床研究具有深遠的意義。在實施 3R 原則的過程中，研究者不僅能夠增加研究的倫理性和可靠性，還能透過減少、替代和優化來提升科學研究的質量。在未來的研究中，憑藉技術進步和更加成熟的倫理標準，期待看到更多以 3R 原則為基礎的創新方法應用於臨床研究，進一步促進動物與人類健康的持續發展。

三、野生動物實驗的發展與應用

(一) 野生動物研究中動物福利的考量

1. 野生動物常見的研究與規範

近年來由於健康一體 (One Health) 的倡議以及人與野生動物衝突日益嚴重，野生動物研究的重要性逐漸受到重視。野生動物的研究範疇小至個體，大至族群或物種與生態系的交互作用。常見野生動物研究議題包括族群估算、族群動態監測、行為研究、疾病監測與管控等。一般野生動物研究的研究場域相對複雜，包括域內 (in situ) 和域外 (ex situ) 研究；相較於實驗室內可操控的條件，野外研究工作經常處在相對高變化的環境，包括非無菌的狀態、不同氣候以及棲地環境等等，因此在捕捉和處理動物的過程中，可能導致研究動物個體的緊迫或傷害。臺灣針對野生動物應用於科學研究的科學規範見於野生動物保育法及動物保護法。

2. 野生動物的 3R 挑戰

根據 Soulsbury et al. (2020) 對野生動物研究的 3R 回顧與整理，主要挑戰如下。

減量 (Reduction)：(1) 相較於實驗動物，野生動物的遺傳變異和個體差異通常更大，代表著野生動物對給定實驗參數的反應更加多樣化，而這種增加的實驗變異通常需要比圈養族群更多的樣本數，才能獲得具代表性的實驗結果；(2) 野生動物的棲息環境比實驗室更複雜，因此需要較多的樣本數來代表母群體對環境反應的樣態；(3) 在野外研究過程中，動物樣本常因為自然死亡或其他隨機事件而損失。因此，進行研究前的效能分析 (pre-study power analysis) 有其必要性，用以評估和掌握實際用於試驗的動物數量。

替代 (Replacement)：野生動物研究重點通常針對特定物種的狀態或與生態系統的相互作用。僅有極少數情況可以使用被認為感知能力較低或保育急迫性較低的物種來檢驗研究假設，這種源於研究目的之限制，使替代原則應用於野生動物研究上常面臨不適用的狀態。

精緻化 (Refinement)：野生動物捕捉和採樣過程中，經常對動物個體或族群造成干擾和傷害，因此野生動物研究發展出多樣化的非侵入性方法來收集研究資料。雖然透過採集毛髮或排遺進行 DNA 分析的技術已經很成熟，仍需要與其他學科合作來改進技術以落實精緻。例如：紅外線自動相機使用遠端監控技或自動錄音機監控，以及分析方法的進步，如發展機器學習來鑑定和計量野生動物。但使用替代科技時，必須了解到技術仍可能對野生動物

產生負面影響，如使用無人機調查對野生動物造成的潛在干擾。

(二) 野生動物研究過程中的動物福利考量

1. 野生動物捕捉

捕捉過程對野生動物而言是一種極大的緊迫，可能對個體造成短期或長期的身體、生理或心理影響。研究首要考量應將這些影響降至最低。不同種類的動物需要使用不同的捕捉方法，但所使用之捕捉方法及程序應遵循野生動物捕捉之原則與技術以減少受傷、死亡及誤捕之情況。需考量之原則說明如下：

- (1) 捕捉方法：捕捉方法及流程應適合所設定之目標物種，降低物種緊迫、傷害及死亡之風險。此外捕捉方法應具選擇性，避免捕捉其他非目標物種。
- (2) 適合的裝備及檢查：不同物種適合不同捕捉器材，需針對所設定之目標物種列定器材清單並針對器材清單進行定期檢查及更新。
- (3) 捕捉地點：不當地點可能導致受傷及死亡的風險，如將陷阱放置於斜坡或是個體捕捉後遭遇天敵之獵捕。
- (4) 捕捉季節：不同季節具有不同氣候形態導致動物之低體溫及熱傷害，此外野生動物於不同季節具有明顯之生理特徵現象，如生殖季時，避免捕捉親代。
- (5) 捕捉時間：應規畫適當的捕捉及釋放時間，以符合研究目標之日活動週期，如夜行性動物應避免於日間進行操作後釋放，同時確保釋放後具有足夠的覓食時間。
- (6) 捕捉次數：捕捉次數應儘量降低，除了可降低捕捉所需之人力及物力，更可避免重覆捕捉特定個體。
- (7) 應急計畫：於動物捕捉前，需針對動物因捕捉過程導致受傷或死亡的應變流程。包含傷害、安樂死評估並確認參與人員獲得訓練及執照。
- (8) 動物個體數：仔細評估研究目標以及設定之統計分析方法，以規畫所需捕捉動物個體數量，以符合應用動物實驗時之 3R 目標及原則。
- (9) 程序簡化：簡化的動物捕捉及操作流程除了避免複雜程序導致的錯誤亦降低動物操作時間。

除了上述捕捉及程序之原則考量之外，捕捉方式應持續改進，通過回顧與優化技術來減少傷害。

2. 野生動物操作與保定

操作前應仔細規畫操作過程並評估 (1) 為何需要操作動物？(2) 何種方法達到目標並將危險降至最低？(3) 操作處理所需之時間？(4) 如何能在最短時間和對動物最少的緊迫下完成工作？(5) 操作人員之專業知識及技術熟練度如何？(6) 操作工作之環境為何？

(1) 保定方法：

- i. 空間限制：以保定籠或局限空間來達到動物操作之目的。
- ii. 延伸工具：應用繩索、手持網及繩套桿 (cable snare)進行動物之捕捉保定，但在使用繩索及繩套桿時，常因動物扭轉動作造成動物窒息死亡；因此，需由具經驗之人員執行，並應用附有旋轉軸承之繩套桿，防止此情形發生。
- iii. 直接保定：操作者以手直接對動物進行保定，因此操作者需對保定對象詳細的了解，並具足夠經驗，此外直接保定時需有足夠的自我防護裝備。保定時動物可能攻擊操作者，或操作者無法控制保定之力道而造成動物之傷害。
- iv. 化學保定：使用麻醉或鎮靜劑控制動物，避免在操作程序中對動物造成疼痛或緊迫。由於可能造成動物於無知覺的情況下暴露在高危險環境中，因此用此方式時需詳細規劃操作地點、給藥方式、時間、氣候、麻醉藥給予後之動物追蹤方式等。人員應先行排除可能造成傷害之可能性。此外依我國法令規定，執行麻醉時需在執業獸醫師監督下進行。化學保定廣泛應用於具危險性之野生動物或較具侵入性之操作流程。

(2) 樣本採集與個體辨識

- i. 樣本採集：包含 DNA、蛋白質或生理測定等相關研究。組織樣本之、採集可與某些標記程序 (如趾剪、翼膜或耳部活檢)結合進行。小型野生動物之血液樣本採集可在非麻醉狀況下，由經過適當訓練的人員在野外進行。在組織收集後及個體釋放前，應對其進行觀察，以確保捕獲、操作或組織與血液採集過程未對其造成不良反應。確定最適當的血液採集方法，需考量多種因素。某些物種的形態特徵可能會限制可用的血液或組織收集部位。動物的體型亦影響採樣部位，並限制可提取的血液量 (不超過體重的 1%)。所有血液採集程序及研究人員的資格均須經實驗動物照護及使用委員會 (IACUC)審核。
- ii. 外部標記：識別標記可為自然存在的特徵，亦可由研究者施加。標記時應考慮識別距離及標記的持續時間。如研究物種於外觀上不具個體特異性之自然標記，可使用外部染料、冷凍烙印或塗料標記來提高可見度與持久性。應確保標記物無毒，且不會改變動物行為或增加捕食風險。

- iii. 耳洞與剪趾：在某些分類群中，可使用手術沖孔器或剪除 1-2 趾端指骨來。然而於野外環境中，耳洞或剪趾可能因癒合、受傷或毛髮覆蓋而變得不可辨識。耳洞與趾剪通常需通過重新捕獲個體來識別，這些方法不適用於遠距離識別。
- iv. 內部標記：被動整合式應答標籤 (PIT 標籤晶片)大量使用於各種動物之個體標記。標籤通常透過皮下注射，適用於野外與實驗室識別需求。標籤應在皮下適當移動防止脫落。PIT 標籤讀取器須與標籤保持約 10 公分以內的距離才可讀取，因此對大型具攻擊性的物種，應於麻醉狀況下進行，防止動物與研究者受傷。在這類物種中，使用無線電追蹤器或自然標記更為適合。此外某些研究可利用有色塑膠顆粒或放射性同位素 (如 P32)的餌料來標記糞便，以研究個體或群體的移動情況，但該方法在大量個體的獨立標記應用上有所限制。

總體而言，標記與組織樣本收集的方法應根據動物的生理特徵、行為模式與研究需求加以選擇，確保研究的準確性與動物福利的平衡。

(三) 新科技應用以符合於 3R 之考量

本段落首先以族群估算和監測的研究目的之案例，介紹常見替代技術：

1. 紅外線自動相機(Camera trapping)

高效且標準化的野生動物族群監測工具，具備非侵入性、長時間紀錄、數據標準化、利於偵測稀有物種等主要優點，符合 3R 原則。Forti et al. (2022) 指出搭配動物標記的自動相機調查法，再不重覆捕捉動物的條件下，族群估算結果與捕捉標放法相似。另外，對於無法利用自動相機進行個體識別的物種，近年來也發展出不少族群估算模型，例如隨機遭遇模型 (Random encounter model, REM) 和 Spatial capture-recapture (SCR)：不過自動相機調查也可能產生偏差，如不易觀察小型或隱蔽物種；某些動物對於相機產生警覺，影響其行為模式等等。

2. 被動聲學監測(Passive Acoustic Monitoring, PAM)

提供有效、非侵入性、標準化、可擴充 (scalable)的研究優勢。和自動相機原理類似，被動聲學監測利用動物鳴叫的特性，利用錄音監測裝置，遠端收集和分析特定音頻，監測野生動物出沒和行為，有效減少資料收集過程對野生動物干擾。由於技術和成本的限制，目前主要類群集中在蝙蝠、鯨豚和鳥類，研究領域常見於分類學和行為研究。由於被動聲學監測仍屬於起步階段，未來的應用和推廣有賴於和其他技術的結合，包括結合新興感測器硬體、發展機器學習識別特定物種的音頻等。具體發展方向包括利用即時數據調整城市照明系統以減少對蝙蝠活動的影響，緩解人與野生動物的衝突，改變航運路線以避開受到威脅的鯨類等。

3. 非侵入性研究法

由於多數野生動物研究難以進行替代方法，為降低研究過程中對野生動物族群之干擾，已有許多研究用非侵入性研究法來達到研究目標，主要執行方式為在不需進行動物捕捉、麻醉及採集侵入性樣本的過程中進行研究，其中常見的做法為採集野外棲地環境中之糞便、尿液或毛髮等樣本，來進行包含如 DNA 分析、生理反應分析及疾病監測之目標，以進一步估算族群量、評估生理反應與疾病的分布及影響。此外部份野生動物研究目標需應用非侵入性研究法才能達到研究分析之正確性及目標，如於野生動物緊迫研究中，需避免於研究過程中捕捉或保定野生動物，因過程會對研究個體導致極大的緊迫反應，導致結論的錯誤。野生動物研究過程中，動物捕捉及操作常耗費大量的人力物力，許多物種更因為其捕捉難度高而進一步限制了樣本數，因此應用非侵入性研究法可節省研究資源並且在不影響動物之下達到所需的樣本數，然而，非侵入性研究法於應用前需要經過仔細的科學驗證，以確認所獲得的資料與標準方法之資料一致。

(四) 結論

研究人員在應用野生動物個體進行研究或教學時應遵守我國動物保護法及野生動物保育法中相關法規的規範並取得核准。研究人員應與機構中實驗動物照護與使用委員會 (IACUC) 合作，以制定既能成功實現科學研究目標，又能符合動物福利法規的研究計畫。

本文旨在幫助研究人員遵守相關規範並理解不斷發展的動物福利法規。研究人員必須能夠向廣泛受眾闡明野生哺乳動物研究的應用價值與理論貢獻。積極考量研究動物的人道對待問題並於研究規畫過程中追求 3R 的目標，此過程除了確保研究品質之外，並有助於避免事後對研究倫理及方法的批評。相關指導方針可提供最新的倫理與法規標準，但無法取代研究人員的專業判斷、創新思維及探索科學新知的熱忱。

四、跨數位科技於水生實驗動物替代方案之運用

(一) 常見水生動物實驗簡介

水生動物在科學研究中扮演重要角色，應用範疇廣泛，涵蓋環境毒理學、生物醫學、發育生物學以及水產養殖 (包括疾病研究、疫苗開發等) 等領域。常用的實驗模型主要以魚類為主，如斑馬魚 (*Danio rerio*) 與青鱗 (*Oryzias latipes*) 等，此外兩棲類及各類甲殼類動物也廣泛應用於相關研究。這些物種具有生長迅速、飼養方便且易於進行基因操作等優點，因此成為多項科學實驗的理想選擇。

斑馬魚 (Zebrafish (*Brachydanio rerio*)) 是繼大鼠與小鼠之後第三個最常被科學研究使用的動物模式。斑馬魚是熱帶淡水魚，為條鰭魚綱鯉形目鯉科的其中一

種，原生於喜馬拉雅地區，同時也是一種受歡迎的觀賞性魚類。它們的基因組已被完全定序，並且具有高度的遺傳變異性，這使得它們成為理解基因功能和疾病模型的理想實驗動物。且斑馬魚的胚胎發育快速，透明，容易觀察，讓它們在發育生物學和神經科學研究中非常有用。

藥物評估與新藥開發的過程中，必須經歷藥理與毒理實驗後方能推出，但近年在減少高等實驗動物的共識下，斑馬魚成為藥物進入高等動物實驗前重要的篩選方案，可以有效率做出合適的藥物篩選及疾病研究。

斑馬魚在藥理實驗中有許多應用，以下是一些常見的模式：

場地制約偏好(Conditioned Place Preference, CPP)	研究藥物成癮和渴求行為。斑馬魚會被訓練偏好某個特定環境，當給予藥物後，它們會偏好與藥物相關聯的環境。
毒性檢測	斑馬魚的胚胎透明，可以直接觀察器官的反應，用於研究藥物的毒性和安全性。
焦慮行為檢測	斑馬魚的探索行為可用來檢測焦慮藥物的效果。如果給予藥物後，斑馬魚仍然停留在角落，就表示該藥物可能引發焦慮。
基因轉殖技術	利用螢光基因轉殖技術，可以標定特定器官或細胞，進行精細的分子層面研究。

以藥癮實驗為例：斑馬魚在藥物成癮研究中的優勢在於斑馬魚與人類大約有70%的同源基因，加上繁殖容易、快速，成本低廉，成為取代鼠類的主要實驗動物。鑒於近年新興毒品的盛行和混用，使用鼠類進行相關研究耗費的成本極高，若能建立更為經濟的動物模式，對於藥物成癮的相關研究很有助益。研究顯示斑馬魚可用來建立甲基安非他命成癮模型，並且效度與過往的鼠實驗相近。這些研究有助於了解毒品成癮、戒斷和復發的過程，並且有助於開發治療藥物。研究結果顯示，斑馬魚在藥物成癮研究中具有很大的潛力和應用價值。

研究結果也顯示斑馬魚場地制約偏好 (conditioned place preference, CPP)模型對藥物的預測效度和大小鼠相近，未來可以取代大小鼠進行新興毒品成癮性以及藥癮渴求和復發的研究，有助於成癮治療的藥物與策略研發。

除上述研究外，斑馬魚還能用在毒物對於動物生理之評估，以有機磷農藥為例可以用的模式：

暴露濃度	將斑馬魚暴露於不同濃度的有機磷農藥中，觀察其對斑馬魚的影響。包括短期和長期暴露，以確定不同暴露時間和濃度對斑馬魚的生理和行為反應。
生理影響	測量斑馬魚的生理變化，如心率、呼吸速率、體重變化等。有

	助於了解農藥對斑馬魚健康的影響。
行為變化	觀察斑馬魚在暴露於農藥後的行為變化，如探索行為、攝食行為、避免行為等。有助於了解農藥對斑馬魚行為的影響。
毒性檢測	包括毒性檢測，以確定農藥對斑馬魚的致命性和毒性程度。通常涉及觀察斑馬魚的死亡率和症狀。
環境影響	研究農藥在環境中的分解和積累情況，以及其對周圍生態系統的影響。

斑馬魚暴露於有機磷農藥後的生理系統，可以觀察包括心血管系統、呼吸系統、神經系統等：

心血管系統	可能導致斑馬魚心率和血壓異常。可能影響魚的整體健康和活動能力。
呼吸系統	斑馬魚暴露於農藥後，可能會出現呼吸速率變化，可能是因為農藥對魚的呼吸器官產生刺激或毒性。
神經系統	可能導致行為異常，如過度活躍或過度緩慢。這些行為變化可用來評估農藥對神經系統的影響。
體重變化	可能出現體重的變化，因為農藥對魚的代謝系統產生影響。
器官損傷	肝臟、腎臟造成損傷，可通過解剖學和組織學檢查來觀察。

生理影響的研究有助於了解有機磷農藥對斑馬魚和其他水生生物的潛在風險，並且可用於制定更安全的農藥使用指南。

青鱗因其飼養便利、發育過程易於觀察、相對完整的基因組資訊及對環境壓力敏感等特點，廣泛應用於老化及環境適應性研究，其對環境壓力的敏感反應能夠反映出污染物對水生生物的影響。此外在水產養殖領域中，透過水生動物評估飼養條件、疾病抵抗力與繁殖效率等指標，以及針對水生動物疾病研究與疫苗藥物開發，不僅有助於提升產量，更能改善產品品質。然而傳統大量依賴水生動物進行實驗的方法正面臨挑戰。因此科學界正積極探索利用數位科技替代或減少活體實驗的可能性。

(二) 水生動物實驗的替代科技介紹

以下介紹數種主要的替代技術及其應用情形。

1. 數位模擬與計算模型(In Silico Modeling)

數位模擬技術利用數學模型和電腦模擬，預測化學物質對水生生物的影響，從而部分替代活體實驗。

- (1) **毒性預測模型**：定量結構活性關係 (**quantitative structure-activity relationships, QSAR**)模型通過分析化學物質的分子結構與生物活性之間的關係，預測化合物對水生生物的毒性。美國環保署 (US EPA)開發的 Ecological Structural Activity Relationships (ECOSAR)工具就是一個典例。根據化合物的結構特徵，估算其對不同水生生物的半致死濃度 (LC₅₀)、抑制濃度 (EC₅₀)等指標，廣泛應用於環境風險評估與監管決策中。
- (2) **生理藥動學模型**：生理學為基礎的藥理動力學模型 (Physiologically Based Pharmacokinetic, PBPK)基於結合生物體內的生理參數、群體特徵與化學物質的物理化學性質等，建立數學模型來模擬化合物在水生生物體內的吸收、分佈、代謝和排泄 (ADME)過程。有助於預測化學物質在水生生物中的累積情形，以及產生的毒性效應。Arnot 與 Gobas (2006) 的綜述詳細討論了針對有機化學物質在水生生物中生物濃縮和生物積累的模式，為評估化學品的環境風險提供了理論基礎。

2. 高通量篩選(High-throughput Screening)

結合自動化設備與微流控技術，在細胞層面上進行大規模毒性測試，有效替代部分動物實驗。

- (1) **高通量篩選-以斑馬魚胚胎為例**：斑馬魚胚胎因其透明、發育迅速且便於自動化飼養，常被用於高通量篩選平台。透過多孔板搭配影像分析系統，可同時評估大量化合物對胚胎發育、行為及器官功能的影響。此方法能快速篩選出具有毒性或藥效的化合物，為環境毒性評估與藥物開發提供體內篩選數據 (Zon & Peterson, 2005)。
- (2) **細胞培養與 3D 細胞模型**：利用魚類細胞或構建三維細胞培養模型，可模擬水生生物器官的功能，進行藥物代謝與毒性評估。近年來研究者已成功開發出以魚類肝細胞為基礎的 3D 細胞球狀體模型 (Spheroids)，這類模型更貼近真實器官的結構與功能。這些 3D 細胞模型不僅能夠評估環境化學物質對魚類肝臟功能的影響，還能結合高通量技術實現自動化毒性篩選，從而提高預測的準確。

3. 人工智慧與機器學習應用(Artificial Intelligence and Machine Learning Applications)

- (1) **影像辨識與行為分析**：利用機器學習與深度學習技術，可以對水生動物在實驗中的行為進行自動監測與分析。如 Kokel et al. (2010) 採用高通量行為篩選方法，透過影像分析自動化地識別斑馬魚對各種神經活性分子反應的行為變化，從而迅速篩選出具有神經活性的小分子化合物。

(2) **人工智慧預測模型**：利用人工智慧建立預測模型，以快速評估化學物質的毒性。此系統利用大量化學結構與實驗毒性數據進行訓練，使其能夠預測尚未經過實驗測試的化合物毒性。雖然最初的 AI 驅動模型 (如 DeepTox) 主要應用於常規毒性數據，但其方法和架構已逐步擴展並可調整應用於水生毒性評估，從而成為另一種高效率的預測工具。

4. 晶片實驗室(lab-on-a-chip)

利用微流控技術構建具有真實器官結構的小型體外模型，已成為替代動物實驗的重要技術途徑，通過設計量身定制的微尺度結構和結構化陣列，微流控技術能夠與各種功能組件 (如影像系統) 整合，從而在正常生理條件下對斑馬魚胚胎及幼魚進行定量操作與表現型讀取，此技術可用於藥物篩選、毒性測試及發育生物學研究(Yang et al., 2016)。

綜上所述，這些技術不僅能降低實驗中對動物的需求，同時也能提高研究數據的準確性和可重現性。

(三) 常見水生動物實驗減量與優化

主要策略包括減少實驗動物數量 (Reduction) 與精緻化實驗設計 (Refinement)。

1. 減少實驗動物數量(Reduction)

- (1) **統計方法與實驗設計優化**：可在不降低數據精確性的前提下減少所需樣本數。先進的數據分析方法和模擬技術能有效預測實驗變量，從而縮小實驗規模。
- (2) **數據共享與跨研究整合**：建立國際間實驗數據共享平台有助於促進不同研究單位之間的數據整合，避免重複實驗，降低水生動物的使用量。
- (3) **魚胚胎毒性 (Fish Embryo Toxicity, FET) 測試**：根據部分國家或地區的動物實驗規範，魚胚胎在達到一定發育階段前通常不被視為受保護動物。由於魚胚在發育過程中對環境毒性物質反應敏感，採用此測試方法可大幅減少使用成魚進行毒性測試的數量。

2. 精緻化實驗設計(Refinement)

以下優化斑馬魚實驗的建議：

(1) 飼養條件：

水質	保持清潔，pH 值 6.5 至 7.5 之間，氨氮和亞硝酸鹽的濃度應為零。
----	---------------------------------------

溫度	應保持在 26-28°C 之間。溫度穩定對於斑馬魚的健康至關重要。
光照	提供 12-14 小時的光照和 10-12 小時的黑暗以模擬自然的光照周期。
密度	每升水應飼養不超過 5-10 條成年斑馬魚。
餵食	提供高質量的魚糧，如小球狀魚糧、豐年蝦和微小浮游生物，餵食量適中，每天餵食 2-3 次。

- (2) 實驗設計：設計明確的實驗流程，包括控制組和實驗組的設置，確保實驗結果可靠性。
- (3) 數據分析：使用專業的數據分析工具和方法，確保實驗數據的準確性和可靠性。
- (4) 倫理考量：確保實驗過程中遵循動物福利和倫理原則，減少實驗動物的痛苦和壓力。與小鼠每窩產下約 6-8 隻幼仔相比，斑馬魚一次可產下 200 多個受精卵，使用斑馬魚作為實驗動物不但經濟實惠，還可以產生更準確的實驗結果。由於斑馬魚胚胎是透明的，觀察胚胎發育的表現時不但能清楚觀察紀錄，還可避免犧牲母體，因此在胚胎學、藥理毒理的研究中可輕易達到減量原則。

綜合上述措施，透過數位技術的輔助，水生動物實驗的減量與優化正朝著更加人道與高效的方向發展。不僅滿足了現代科學對高質量數據的要求，也符合全球動物倫理與環境保護的發展趨勢。

1-3 非啮齒類實驗的發展與應用 (二)

一、 引言

隨著生物醫學研究的進步，家禽、豬隻與草食動物在動物實驗與產業應用中的重要性日益提升。這些動物不僅廣泛應用於疫苗開發、疾病研究與生物製藥，亦在基因工程、組織工程與再生醫學等領域發揮關鍵作用。為了符合 3R 原則，科學家積極開發非動物實驗技術，以降低動物使用數量並提高研究效率。此外透過基因改造與精準飼養管理，可進一步優化動物模型，使其更貼近人類生理機制。本文將探討 3R 科技在家禽、豬隻與草食動物研究中的應用現況、挑戰與未來發展方向。

二、 禽類實驗的發展與應用

1. 禽類常見實驗動物簡介

禽類堪稱為最主要的非哺乳動物研究模式的生物。除了研究之外，禽類也經常用在生物製藥業。為了獲得最佳實驗結果，通常需要 SPF 等級的動物，因而發展出 SPF 種禽場。

禽類當中，以雞形目為最具優勢應用的實驗動物模式，優勢原因包括：

- 雞的基因體已完整定序，大量基因體資源可供研究應用及生產基因轉殖雞。
- 雞胚蛋容易取得，可提供進行胚胎發育研究、病原致病性研究及疫苗生產。
- 購買和維護成本低廉、通常有遺傳背景和健康史的紀錄、易於操作、適用於各種設置。
- 雞的紅血球有核，從中萃取 DNA 比從哺乳動物容易。

由於家禽的飼養成本比經濟動物低，生產與繁殖效率卻比家畜來得高；其次利用雞胚胎來生產疫苗的流程已經發展多年，經由蛋白或蛋黃來純化蛋白質的流程也已經相當完善。

2. 禽類動物、禽蛋、胚胎蛋及禽類細胞在實驗研究及產業應用

(1) 實驗動物模式

包括疫苗與代謝研究，也應用在發生學、病毒學、免疫學、腫瘤學、遺傳學和進化研究等。例如動脈粥樣硬化 (atherosclerosis)、高血壓和膽固醇的代謝醫學研究都曾以禽類作為動物模式。白卡諾鴿 (White Carneau, WCAs) 易患有主動脈腹腔分叉處的自發性動脈粥樣硬化，研究顯示，此可能與基因表現有關，是種很好的動脈粥狀硬化動物模型之一。又如蛋雞不斷排卵產蛋，易自發性引發卵巢癌，適合作為排卵與卵巢癌間關係的研究動物模式；另外雞的馬立克病及家禽白血病等由病毒引發的腫瘤性疾病，也是癌症醫學研究的重要動物模式。

(2) 雞蛋在研究與製藥產業應用

雞蛋是生物活性物質的絕佳來源；例如蛋黃中的卵黃高磷蛋白對廣譜細菌有強大的抗菌活性，並具有抗酪胺酸酶和黑色素生物合成活性。此外，卵黃高磷蛋白對人類白血球中氧化壓力誘導的 DNA 損傷具有保護作用，表示其可以做為抗癌劑。另外，雞蛋中的轉鐵蛋白及其酵素水解物可作為人類癌細胞的天然生長抑制劑。

雞蛋中的蛋黃可用來製造對抗病原體的卵黃抗體，經由抗原施打蛋雞，生產的雞蛋具有特定病原體的抗體，卵黃抗體經過純化步驟，可供應研究與免疫治療使用，取代過去需從免疫動物的血清中提取抗體。藉由類似卵黃抗體的概念，運用禽類基因改造技術來產生重組蛋白質，如治療性的單株抗體 Interferon α -2b 等，並由雞隻所生產的蛋中提取，此技術的發展使得近年來家禽在生物科技和研究領域的應用受到關注與重視。

(3) 雞胚蛋的應用：

禽類來源的細胞株是病毒生產的另一種選擇，提供簡單、彈性化且可長時間培養控制系統，並能在大流行期間快速生產疫苗，如流行性感感冒疫苗。

(4) 禽類細胞株的應用

商業生產需要大量的 SPF 受精卵，禽類來源的細胞株是另一種替代選擇，提供既簡單又靈活的系統，且可長時間控制的生產系統，因此能在大流行期間快速生產疫苗。此外，雞胚初代細胞具有經過反覆繼代後仍能維持基因組穩定性的優點。

3. 禽類器官及三維細胞培養

類器官 (organoids) 及三維細胞培養 (3D cell culture) 技術的發展，為禽類研究帶來變革性的進展。與傳統的二維細胞培養 (2D cell culture) 技術相比，提供更接近禽類生理環境的模型，能模擬複雜的細胞間交互作用與組織微環境效應。不僅促進疾病致病機轉的研究，也為探索生物技術與再生醫學的應用。

類器官是通過誘導多能幹細胞 (pluripotent stem cells, PSCs) 或成體幹細胞 (adult stem cells, ASCs) 生成的三維細胞結構，通常由多種類型的細胞組成，展現細胞多樣性與分層特性，並模擬部分臟器的生理功能。三維細胞培養：將細胞置於特定技術的三圍環境中培養。與傳統的二維培養相比，能更真實地模擬細胞在體內的微環境，但其組織化及功能特性未必達到類器官的高度。三維細胞培養技術主要分為兩大類：支架 (scaffold-based) 技術：包含水凝膠支架 (hydrogel-based support)、聚合物硬質材料基支架 (polymeric hard material-based support) 及親水性玻璃纖維 (hydrophilic glass fiber) 等。無支架 (scaffold-free) 技術：包含懸滴微孔板 (hanging drop microplates)、磁浮 (magnetic levitation) 及具有超低附著塗層的球體微孔板 (spheroid microplates with ultra-low attachment coating) 等。禽類類器官及三維細胞培養之應用如下。

(1) 腸道類器官與三維細胞培養

從雞胚腸道組織提取並經消化、清洗及過濾後生成，具有腸道絨毛腺窩結構。應用於研究營養吸收、上皮屏障功能、宿主與微生物交互作用，及不同病源或毒素在腸道中的生理、病理及毒理作用。也應用於口服疫苗開發的實驗模組。

(2) 神經類器官與三維細胞培養

利用誘導性多能幹細胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 技術，將禽類體細胞 (somatic cells) 誘導成具有神經樣細胞 (neural-like cells) 的類器官。文獻報告指出，該技術可用於建構禽類視網膜球體以研究視神經各層的生理功能；同時，也可用於探討可感染神經系統的病毒性疾病的致病機轉與評估其傳播風險。

(3) 肝臟類器官與三維細胞培養

有兩種建立方法；將特定肝細胞株或組織以培養或消化過濾生成類球體 (spheroids) 或類器官，整個培養過程會需要 4 至 8 週的時間；第二種方式為使用 iPSCs 技術，將禽類細胞依序誘導為內胚、肝母細胞 (hepatoblast)、類肝臟細胞 (hepatocyte-like cells)，最後構成類器官。以上技術用於研究脂肪代謝的調節機制與探討肝毒性毒物的毒理及病理變化。

(4) 其他類器官與三維細胞培養

部分禽病病原在研究中亦採用其他物種來源的細胞。文獻指出，可通過人類乳癌細胞及脂肪組織來源的間質幹細胞共同構築三維細胞培養系統，並建立新城病病毒 (Newcastle disease virus, NDV) 感染模型，用於研究病毒致病機轉及評估潛在乳癌治療的可行性。

未來將聚焦於細胞庫的擴充、技術標準化及研究成本的降低。此外，現有的禽類類器官及三維細胞培養技術仍缺乏統一的操作標準，導致再現性受限，因此建立標準化的培養流程將有助於提升研究成果的可靠性。同時，該技術的建立與應用相較於傳統二維細胞培養，仍面臨高昂的儀器、耗材與試劑成本，因此如何整合生物列印、基因編輯等先進技術，以降低研究成本並提高使用率，將是未來亟待解決的重要課題。

4. 人工智慧與數位技術在家禽的發展

AI 和感測器可評估和增強通風系統，確保家禽有舒適的環境。進行禽舍內微環境、行為、健康和活動的數據收集，分析數據可讓人工智慧系統快速檢測偏差並做出改進。評估環境條件、家禽健康狀況和設備故障，甚至可執行清除死鳥和分析墊料水分等任務。在家禽養殖場，人工智慧整合可自動管理設備，透過數據控制機械和設備優化性能和生產力。機械技術的最新進展改變了家禽生產的日常活動，減少勞動力需求，實現全天候監控並方便遠端報告。包括 GohBot 和 Chicken Boy 等專用機器人。

(1) 飼養管理

借助機器學習，可準確監控農場管理所需的多種參數。人工智慧使用數據進行分析處理訊息，可以實現即時決策，提高農場的效率。例如，可對機器人進行程式設計以收集農場內部管理和環境層面的數據。處理數據使機器能自主做出通風相關決策。此外可應用於餵食、澆水和消毒等活動，自動化基本任務。

(2) 疾病管理

透過農場的攝影機，人工智慧可快速識別家禽壅擠及踐踏問題，及時通知飼養員來處理以減少損失。雞生病的特殊叫聲和異常行為資料輸入系統，可立即向獸醫發出警報。此外應用程式可幫助病理學家診斷。2012年，牛津大學的科學家進行名為“Chicken Time Warp”的實驗，觀測雞群的活動協調性，有助於在發病前一周預測。可應變減少損失。

(3) 提升禽類營養和藥物產品的試驗和評估

透過識別品種特徵和簡化選擇過程增強品種遺傳學。人工智慧能在一次試驗中進行多項研究。在資料收集、處理和分析提高家禽產業的試驗、比較研究和研發效率和成本效益。

5. 家禽常見動物實驗減量與優化

在鳥類實驗中，減量與精緻化能降低動物用量，還能提升其福祉，確保實驗結果的準確性與可重複性。減量策略的核心目標是在確保研究數據質量的前提下，減少實驗鳥類的用量。首先，應透過最佳化實驗設計來提高數據效率，確保使用最少的樣本達到統計顯著性，並減少不必要的對照組。應進行文獻回顧與數據分析，避免重複性研究，確保已有足夠的基礎資料後才執行新實驗。其次，改進數據收集與分析技術，包括使用非侵入性方法減少活體採樣需求。研究應選擇基因背景穩定的鳥類，以降低遺傳變異對結果的影響。針對實驗鳥類的來源，應減少不必要的繁殖，僅在確定研究需求後才進行繁殖，並透過冷凍保存受精卵或細胞株，減少繁殖需求及動物浪費。同時應積極推動替代方法，如使用體外細胞培養、組織培養或電腦模擬來取代活體實驗。

實驗鳥類的改良目標在於提升動物福祉，減少壓力與疼痛。飼養環境應提供符合物種需求空間，應提供環境豐富化措施。應使用全光譜燈源，確保符合鳥類視覺需求。操作與處理應減少不必要的抓取，確保以溫和方式進行。此外，鳥類的疼痛感知應視為與哺乳動物相似，應提供鎮痛措施。健康監測應透過個別行為與健康監測，如使用彩色腳環或無線射頻識別 (Radio Frequency Identification, RFID) 晶片記錄活動，透過 AI 影像分析或自動化行為監測系統減少人工觀察帶來的壓力。運輸過程，短途運輸可使用鳥袋 (Bird Bag)。長途應採用通風好的籠子。研究人員與飼養員應接受專業培訓，包括鳥類生理與行為的基本知識、正確的操作方式、壓力與疼痛識別，以及適當的健康管理與醫療照護，建立標準操作程序。

三、 豬隻實驗的發展與應用

1. 豬隻常見實驗簡介

豬隻 (*Sus scrofa domestica*) 是重要的實驗動物之一，其在生物醫學研究、醫學教學訓練、傳染病防治以及疫苗開發中的應用廣泛。由於豬隻與人類在生理結構、免疫系統及基因層面的相似性高，使其成為研究人類疾病及醫學技術發展的重要模型動物。

(1) 生物醫學研究中的應用

在心血管疾病研究，豬的心臟結構與人類相似，被用於心臟移植技術及心血管疾病治療的研究。代謝性疾病領域，為研究肥胖、糖尿病及胰島素抗性等疾病的理想對象。

豬在器官移植與再生醫學領域具有重要應用，特別在異種移植 (xenotransplantation) 研究中。由於豬的器官大小適中且生理結構與人類相似，其心臟、肝臟及腎臟被視為潛在人類移植的來源，為解決器官短缺問題提供了可能性。此外，豬的皮膚在燒傷治療中被廣泛用於異種皮膚移植，為患者提供臨時性覆蓋，以促進創面修復。

基因改造豬廣泛應用於遺傳疾病與癌症機制研究。豬的基因編輯技術也被運用於開發人類疾病的治療方法，包括基因療法與再生醫學領域的應用。隨著 CRISPR-Cas9 等先進基因編輯技術的發展，豬隻模型的精確度與適用性不斷提升，進一步推動生物醫學與轉譯醫學的進步。

(2) 醫學教學與訓練

豬被用於模擬手術訓練、急救技能教學及新型醫療器材的測試。

豬為手術與急救訓練的理想動物模型。醫學院學生與外科醫師常利用豬進行腹腔鏡手術、內視鏡操作及創傷修復等技術訓練。也應用於心肺復甦術、氣管插管、創傷止血技術，以及牙科與骨科手術的模擬訓練，以及應用於新型醫療技術與設備的測試。例如在心血管領域，豬是人工瓣膜、血管支架等植入物研究的重要模型。

此外豬模型在解剖學教學中的應用將持續發展，為醫學人才的培養提供更高效且具實用價值的學習資源。

(3) 傳染病防治中的角色

豬隻是許多人畜共通疾病的宿主，如豬流感，其感染機制與免疫反應的研究對於防治人類及動物疾病具有重要意義。在人畜共通疾病研究方面，豬是 A 型流感 (H1N1 及 H3N2) 病毒的重要宿主，可模擬人類流感的傳播與病程，有助於理解病毒變異與跨物種傳播機制。此外，豬也被用於病毒學與細菌學研究，如冠狀病毒 (豬流行性下痢病毒) 及沙門氏菌，不僅提升動物健康管理，也對人類公共衛生提供重要預警。同時，透過研究豬的免疫系統與疾病感染模式，可制定更有

效的動物防疫策略，包括疫苗接種、病原檢測及飼養管理，從而保護養豬產業並降低傳染病的風險。

(4) 開發中的應用

豬為疫苗研發的理想動物模型。針對豬隻常見疾病（如口蹄疫、豬瘟及豬環狀病毒）的疫苗研發，有助於保護養豬產業，還能減少疾病跨物種傳播至人類的風險。此外，豬在測試人類疫苗的安全性與免疫原性方面亦發揮關鍵作用，特別是冠狀病毒與流感疫苗研究中，豬模型可提供類似人類的免疫反應數據，並被應用於新型疫苗技術，如 RNA 疫苗與鼻腔噴霧疫苗的開發與測試。同時，利用豬隻進行疫苗效能與長期影響評估，使研究人員能夠更全面地了解疫苗的安全性與持久性，進而優化疫苗設計，提升疫苗的保護效果與應用價值。

豬作為實驗動物的應用也面臨諸多挑戰。豬隻使用過程中，如何在科學需求與動物福利之間取得平衡至關重要，開發替代技術，如類器官模型，將成為未來研究的重要方向。同時，豬作為多種人畜共通疾病的宿主，研究者需關注疾病跨物種傳播的風險，並制定有效的預防策略，以降低公共衛生風險。

2. 豬隻研究之減量

本段落將探討豬隻在實驗動物中的使用狀況、當前的減量措施、數量統計及未來的發展方向。

(1) 豬隻在實驗動物中的使用

豬為藥物開發、測試及疾病模型的選項，如人類心血管疾病、糖尿病、肥胖及外科手術等研究。此外，豬隻的遺傳背景、體重及生長速度等特性，使其在生物醫學研究成為較可控且可重複的實驗動物對象。近年來以豬隻器官移植研究逐漸興起。藥物開發及測試領域，豬隻可用於評估藥物的安全性及有效性。研究人員可利用實驗豬隻進行藥物的吸收、分布、代謝及排泄等相關研究，此些研究成果可為人類臨床試驗提供重要臨床數據。目前新興的技術如基因編輯技術，能在豬身上進行更加精細的科學研究，以觀察特定基因對疾病的影響。

(2) 實驗豬的減量措施

對於實驗豬的使用，採取多種減量措施：1. 替代性研究：如使用體外實驗（細胞試驗）或人工智慧計算機模擬等方式。能減少對實驗動物及實驗動物數量的需求，還能提高科學實驗的效率。2. 優化實驗設計：通過改善實驗設計和提高數據利用率，可減少動物的使用。如採用不同的統計模型，確保每個試驗都能取得有效的數據進行分析，可減少重複實驗所需的豬隻。3. 精確試驗及高通量篩選技術：針對藥物研發過程，可藉由高通量篩選技術的應用，提高藥物篩選效率，有助於快速識別候選藥物，降低動物數量的需求，可通過建立更精緻化的篩選標準，確保使用實驗動物的正當性和必要性。

(3) 實驗動物數量的統計

根據相關統計數據顯示，實驗豬使用量在某些領域仍然顯著。根據 2019 年歐盟所發佈實驗動物使用統計報告中，在生物醫學領域，實驗豬的使用數量仍居於前茅。在多數國家，實驗豬的使用集中在藥物測試和生物醫學等領域研究。隨著豬隻在特定領域的重要性增加，相關的倫理審查和規章制度也不斷完善。許多國家要求研究人員提供詳細實驗豬隻使用計劃，說明選擇特定動物模型的理由，確保符合實驗動物倫理。根據統計數據，豬隻的使用數量有上升趨勢，尤其在科學研究機構和製藥公司。然而，增加的趨勢並不代表實驗動物的濫用，而是反映豬隻在現代科學研究中的不可替代性。

(4) 未來的發展方向

豬隻在科學實驗中的角色可能有：1. 跨領域或學科的研究：未來的研究將更加著重於跨領域的合作，生物醫學、遺傳學和人工智慧計算機科學的結合。如結合生物信息學和大數據分析，優化實驗設計，減少對豬隻的使用。2. 增加基因編輯技術的應用：基因編輯技術使研究人員能在豬隻身上進行針對性動物實驗，有助於降低實驗動物的數量，同時提升科學研究的準確性。3. 加強國際合作與法規引導：未來需要加強國際間的交流與合作，推動國際間科學實驗豬隻使用標準化，以確保動物倫理。

結論，以豬隻作為實驗動物，具有廣泛應用潛力。儘管面臨減少使用量和實驗動物倫理審查的挑戰，但通過科技進步和合理的管理，可確保科學研究質量的同時，減少對實驗豬隻的依賴。隨著對動物倫理的日益關注，如何有效減少實驗動物的使用數量，尤其是豬隻使用量，成為研究領域重要話題之一。

3. 豬隻研究之替代科技

在動物保護法及倡導動物福利政策下，非動物模式之體內試驗 (*in vivo*) 取代方法正蓬勃發展。其中類腸道器官 (*enteroids*) 模式研究是首例豬隻之類動物器官的報告。

Gonzalez 等人證實發展出類似新生仔豬之體外 (*in vitro*) 腸隱窩的類腸器官。類腸器官之腸道形成具有隱窩狀結構並包含腸上皮的主要細胞類型如幹細胞、具吸收功能之腸上皮細胞、腸內分泌細胞、杯狀細胞和潘氏樣細胞 (Paneth-like cells)。研究應用類似的方法，稍加修改發展來自幼年豬和成年豬腸道的類腸組織，添加合適培養基以維持類腸器官能持續生長。類腸器官已成功衍生自直腸、食道黏膜下腺和結腸。研究發現來自同一頭豬的類腸道器官在超過 12 週培養後，仍可見穩定分化的基因表現路徑。

豬的類腸道器官已做為替代豬隻，應用於營養吸收、飼料轉換效率以及與病原微生物的交互作用等研究，如 Koltjes 和 Gabler 應用豬類腸道器官來研究脂多糖 (LPS) 如何誘發豬腸道發炎。Derricott 等人也生產出豬腸道類器官，作為研究多種病原體對腸道感染的物種特异性研究模型。證明豬腸道類器官和細菌病原體鼠傷寒沙門氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 之交互作用。Resende 等人研究表示

Lawsonia intracellularis 能在 2D 豬腸道類器官內感染並在細胞內複製，導致遭受感染的腸上皮病變及其腸細胞之組成和基因表現之變化。此外，也有學者應用豬腸道類器官模式來研究豬隻流行性下痢病毒 (PEDV) 之感染機制，由於 PEDV 在體內感染哪一類腸道特定細胞類型仍然未知，過往 PEDV 臨床分離株通常在豬 IPEC-J2 細胞中複製差。相較之下，PEDV 可感染豬腸道類器官模型的多種上皮細胞，包括腸上皮細胞、幹細胞和杯狀細胞等。這些研究也提供了深入了解豬干擾素對於 PEDV 防禦機制。

此外，豬腸道類器官模型已被用來研究豬 delta 冠狀病毒 (PDCoV) 對不同腸段的趨向性和 PDCoV 感染的分子機制。Li 等人開發了豬 apical-out 腸道類器官培養系統，驗證其受豬隻病毒之感染性、I 型和 III 型干擾素抗病毒反應及豬傳染性胃腸炎病毒 (TGEV) 感染後的發炎反應。上述關於病原體與腸上皮細胞相互作用的研究，說明腸道和結腸類器官模型研究豬宿主與病原體相互作用的適用性。

在營養和免疫研究，Ellen 等人使用豬腸道和結腸類器官模型來研究宿主及病原體交互作用與飼料效率的關係。Ferrandis 等人使用豬和鼠腸類器官模型來研究細胞激素 (如 IL-1 β 和 IL-4) 在調節上皮細胞黏蛋白產生 (即 MUC2 基因的表現) 如何發揮作用，因為豬飼料中的膳食纖維和纖維分解酶已知會影響腸道中細胞激素的表現。發現細胞介素在豬和鼠腸類器官模型中具有不同的作用，說明使用物種特異性體外類器官模型的重要性。

Olayanju 等人認為豬腸道類器官的使用在人類生物醫學研究、藥物篩選和生物標記方面具潛力。在上皮損傷或疾病的生物醫學研究中，豬腸類器官模型可提供研究成功的替代可能性，特別是從致病位點採集人體組織樣本以生產類器官可能侵入性太大或可能誘發病理的情況下。為此 von Furstenberg 等人開發豬食道黏膜下腺 (esophageal submucosal glands, ESMG) 的類器官模型，顯示類器官模型可用於研究分化鱗狀上皮與柱狀上皮的比較，及 ESMG 增生和受損上皮再生的機制。Adegbola 等人從豬隻肛門直腸上皮建構類肛門器官來研究肛門周圍 Crohn's 的病因和治療方法。Engevik 等人應用基因改造豬生產腸類來研究微絨毛包涵體病，這是一種罕見的人類遺傳性腸道疾病，特徵是嬰兒慢性水樣且危及生命的腹瀉。在豬營養領域，Wang 等人使用豬腸類器官模型作為體外模型，顯示維生素 A 調節腸道幹細胞的生長性能及其分化。

顯見藉由豬類器官模型之建立，可應用於許多醫學領域之研究，特別是在分子機制的影響。這對於取代豬隻作為實驗動物具有相當高之效益，並兼顧動物福利與動物保護，符合 3R 中取代動物體之精神。

4. 豬隻研究之優化

為確保試驗結果準確性和可重複性，豬隻作為實驗動物之優化極為重要，應符合豬隻需求進行良好飼養管理、環境豐富化、提升試驗技術操作、減輕試驗過

程動物苦痛以提升動物福祉。

豬隻因體型較啮齒類動物大，所需飼養空間環境與設施條件需求相對較高。新生仔豬需維持保溫 29°C 至 35°C，至離乳前可每週降 1°C，維持在至少 27°C 以上。離乳後之保育期豬隻體重介於 7-20 公斤之間適宜溫度為 25°C 至 28°C。20 公斤以上生長期豬隻適宜溫度為 19°C 至 25°C。90 公斤以上肥育期豬隻與成豬適宜溫度為 15°C 至 24°C。上述參考數值仍需考量飼養隻數、飼料配方提供熱能、設施環境材質以及通風換氣之風向與風速，搭配實驗豬隻是否有堆疊等臨床觀察進行調整。理想狀態為豬隻睡眠時呈現側躺疏鬆均勻分佈，而無堆疊、密擠與直臥現象。此外也須注意保溫燈具瓦數、適用電壓與固定高度，以避免供熱能力不足，或是過熱導致實驗豬隻無法待在保溫範圍內。濕度則建議維持於 50%-70%，可保持實驗豬隻體感舒適。

空氣品質與通風部分多需配合溫度一同考量設定，切忌因保溫而導致通風不足。二氧化碳建議不高於 1000 ppm，以避免對呼吸及心血管循環系統造成不良影響。氨氣 (NH₃) 不得超過 10 ppm，文獻指出大於 50 ppm 即會造成流淚、流鼻水、呼吸道黏膜受損並降低清除細菌性病原能力，且生長增重遲緩 12%。硫化氫 (H₂S) 不得超過 5 ppm，若大於 500 ppm 將導致腦灰質軟化症、呼吸麻痺與窒息死亡。硫化氫於 0.025 ppm 即可以嗅覺感知腐臭雞蛋味，但高於 200 ppm 將有癱瘓嗅覺感知之風險。

氣流速度於仔豬不高於 0.1 m/sec，成豬不高於 0.2 至 0.3 m/sec，換氣頻率應 10 至 15 次/hr。於適宜溫度環境下 5-15 公斤離乳與保育期豬隻換氣率為 17 m³/hr，15-34 公斤生長期豬隻換氣率為 25.5 m³/hr，34-68 公斤肥育前期豬隻換氣率為 40.8 m³/hr，68-135 公斤肥育後期豬隻換氣率為 59.5 m³/hr，懷孕母豬為 68 m³/hr，哺乳母豬與仔豬為 85 m³/hr。通風換氣可配合遮蔽與氣流導引設計等以營造不同環境條件區域，可避免與保溫需求相互衝突。

由於飼養環境應維持清潔，與生長及肥育期豬隻可飼養於水泥實心地面時常沖洗不同，離乳與保育期豬隻為保持乾燥環境以避免因清洗而降低溫度，多採用高架式條狀地板。平行式條狀地板可採面寬 1 cm 間隔 1.2 cm，或是採用網狀設計，間隔 1-1.5 cm。需確保豬隻腳蹄勿易陷入間隔受損，且無破損、斷裂及尖銳物。若為實心地板設計則需具有摩擦力，以避免豬隻容易滑倒導致受傷。單獨飼養者飼養面積要求如下：15 公斤以下需 0.72 m²/隻，15-25 公斤需 1.08 m²/隻，25-50 公斤需 1.35 m²/隻，50-100 公斤需 2.16 m²/隻，100-200 公斤需 4.32 m²/隻，200 公斤以上需大於 5.4 m²/隻。2-5 隻圈養於一欄者：25 公斤以下需 0.54 m²/隻，25-50 公斤需 0.9 m²/隻，50-100 公斤需 1.8 m²/隻，100-200 公斤需 3.6 m²/隻，200 公斤以上需大於 4.68 m²/隻。5 隻以上圈養於一欄者：25 公斤以下需 0.54 m²/隻，25-50 公斤需 0.81 m²/隻，50-100 公斤需 1.62 m²/隻，100-200 公斤需 3.24 m²/隻，200 公斤以上需大於 4.32 m²/隻。

光照週期控制可採用定時器設定 12 小時照明，一般常設為 7:00 至 19:00，可配合動物設施管理與試驗操作人員所需調整。一般照明亮度至少 100 lux，若為繁殖母豬則建議達 300 lux，且光照時間 14-16 小時。

飼養過程中為減少因環境單調而產生的咬耳或咬尾等行為問題，應採取環境豐富化措施。提供玩具或懸掛鐵鍊以滿足心理健康與活動需求。相應玩具或設備需確保其安全性，以避免損壞後遭豬隻吞食或導致傷害。也須考量清洗與消毒以避免成為病原傳播媒介。

實驗過程中豬隻常有保定需求，20 公斤以下豬隻可徒手保定，抓其後肢提起後，以自其背部抱住雙手抓住前肢貼合其腹部並將後腿外展，使豬隻呈現倒立姿態並使其頭、頸及身成一直線。亦可使豬隻以相同姿勢仰躺於平面或是 V 型保定架。或可採用帆布保定架 (Panepinto Sling)，讓豬隻四肢穿過孔洞俯臥於保定架上。若豬隻大於 20 公斤，可使用鼻吻套索套入其口吻處上顎犬齒後方收緊固定，以避免其甩頭鬆脫。上述方法適用於頸靜脈採血、口腔、鼻腔及直腸拭子採樣等。此外，亦可採用化學保定以肌肉注射 Azaperone 4 mg/kg 鎮靜豬隻，以協助採樣、運輸或是麻醉前給藥。

若有麻醉需求，麻醉前 12-18 小時需禁食。若需進行胃部手術或是胃管灌食則需限制飲水 4-6 小時。給藥途徑中小體積注射多採用頸部肌肉，大體積注射則建議選擇大腿後側肌肉。靜脈注射多採用耳翼部背側之側靜脈與內靜脈，需避開耳翼正中之動脈，以蝴蝶針或血管留置針建立靜脈導管。體型較小豬隻耳翼部靜脈管徑不足，外頸靜脈與內頸靜脈等較大的血管，亦可放置導管、留置針或作為注射部位。若為單次靜脈注射給藥也可採用用止血帶加壓前肢前側表面或按壓胸口於頸部腹側表面浮現頭靜脈 (cephalic vein)，或是後肢外側表面之隱靜脈 (saphenous vein)。

麻醉前給藥劑量如下：Atropine 0.03-0.05 mg/kg IM，Azaperone 3-5 mg/kg IM。為避免豬隻麻醉過程出現喉痙攣窒息死亡，可給予氣管插管。依據不同體型選用合適氣管插管及喉頭鏡片，25 公斤以下氣管插管直徑 6-7 mm，50 公斤以下為 9 mm，50 公斤以上氣管插管直徑 14-16 mm。單人操作時豬隻可採用仰躺或俯臥方式插管，將喉頭鏡葉片頂壓上顎背側擴張喉腔空間較可見聲帶。氣管插管若於插入時受阻於喉頭憩室，可旋轉氣管插管彎曲角度順應方向進入氣管。若為胃管插管給藥或灌食則以胃管插入食道，並於穿過贛門後以注射筒抽取確認即可。

採用非管制藥品麻醉方式如下：低疼痛操作可肌肉注射 Zoletil 2-4 mg/kg、肌肉注射 Xylazine 2 mg/kg、肌肉注射 Acetylpromazine 1.1-2.2 mg/kg。侵入性操作可肌肉注射 Zoletil 6-8.8 mg/kg，以靜脈注射 Zoletil 1-2 mg/kg 作為追加麻醉、先肌肉注射 Xylazine 2 mg/kg 5-10 分鐘後再注射 Zoletil 4.4 mg/kg、靜脈注射 Thiopental 6.6-30 mg/kg (前 1/2 劑量迅速注射，後 1/2 劑量緩慢注射)、Halothane

與 Isoflurane 以吸入式維持長時間麻醉，誘導麻醉濃度 4-5%，維持濃度 0.5-2.0%。

若可使用管制麻醉藥品，則低疼痛操作可肌肉注射四級管制藥 Diazepam 0.5-10 mg/kg 或靜脈注射 0.44-2 mg/kg、肌肉或靜脈注射四級管制藥 Midazolam 0.1-0.5 mg/kg。侵入性操作可靜脈注射三級管制藥 Pentobarbital 20-40 mg/kg (前 1/2 劑量迅速注射，後 1/2 劑量緩慢注射)、先肌肉注射 Xylazine 2 mg/kg 5-10 分鐘後再注射三級管制藥 Ketamine 20 mg/kg、先肌肉注射 Medetomidine 0.2 mg/kg 5-10 分鐘後再注射三級管制藥 Ketamine 10 mg/kg、先肌肉注射四級管制藥 Diazepam 2 mg/kg 5-10 分鐘後再注射三級管制藥 Ketamine 15 mg/kg、先肌肉注射四級管制藥 Midazolam 0.5 mg/kg 5-10 分鐘後再注射三級管制藥 Ketamine 33 mg/kg。

上述藥物中作為鎮靜劑之 acetylpromazine 同時也為 α 腎上腺素拮抗劑，進行心血管試驗時需避免使用。Ketamine 無法有效鬆肌肉及止痛，故常須與其他藥物搭配。Atropine 除可減少分泌物外，亦可預防迷走神經誘發之心跳緩慢、xylazine 引起之心傳導阻斷與高血壓。Pentobarbital 應盡量避免使用於超過 2 小時以上之長時間手術，以避免術後所需甦醒時間過長，且採用 barbiturates 麻醉可能誘發豬隻呼吸暫停，需準備人工呼吸器以策安全。Halothane 可能導致部分品種豬隻出現惡性高熱，此外也因可能誘發心律不整耳避免用於心肺手術。

存活性手術後或疾病試驗中需長效止痛或是疼痛管理方面，可採用藥物如下：每 4-6 小時口服 Aspirin 10-20 mg/kg、每 4 小時肌肉注射 Oxymorphone 0.15 mg/kg、每 4-6 小時肌肉注射四級管制藥 Butorphanol tartrate 0.1-0.3 mg/kg、每 8-12 小時肌肉注射三級管制藥 Buprenorphine 0.05-0.1 mg/kg、每 4 小時肌肉注射二級管制藥 Meperidine 2-10 mg/kg。

安樂死方式可採用腹腔或靜脈注射 Barbiturate 100 mg/kg，由於藥品管制因素可能並不常用。若有進行麻醉，亦可於麻醉止痛下採血 (放血)致死或是注射 KCl 1-2 meq/kg。不使用麻醉藥物下較易執行方式為電昏後放血致死、電昏後電擊致死與一次性電擊致死。電擊致昏豬隻應採用至少 220V 電壓於頭部兩側電擊至少 3 秒。致昏判定需確認無眼瞼反應、無節律性呼吸、對擰耳刺鼻無反應、無平衡反應、無發出聲音或四肢先僵直後產生無意識踢動。於致昏後 15 秒內切斷主動脈放血致死，或是於分置頭胸兩部位以至少 220V 電擊 3-15 秒致死。可提前給予非管制藥品之 Azaperone 作為鎮靜劑優化傳統物理性方法安樂死流程以減少豬隻緊迫，並且避免豬隻觀看同類遭安樂死而損害動物福祉。

四、草食動物研究的發展與應用

1. 草食動物作為實驗動物

本章節將針對常見用於科學應用的草食動物，牛、羊與馬匹，從現代應用到未來發展與優化進行描述，希望能對於草食動物在科學應用上有更多正確的認知，

並開始重視草食動物作為實驗動物該有的福祉。

2. 牛隻作為實驗動物的應用、未來發展與優化

牛隻在現代實驗中的應用廣泛且多樣化。被用於農業科學與動物健康的研究，如牛隻營養需求、飼料效果及疾病預防策略的研究。科學家透過對牛隻腸道微生物的研究，了解如何提高飼養效率並減少甲烷排放，對可持續農業具有重大意義。此外，牛隻因其體型較大且免疫系統發達，被廣泛用於生物製藥與疫苗開發。如狂犬病或破傷風疫苗的抗原提取實驗中。人類醫學領域，牛隻的器官大小與功能與人類接近，因此成為移植醫學的重要模型。如牛隻心臟瓣膜常被用於人類心臟瓣膜置換手術，而牛奶中的生物活性成分則被應用於人類營養與疾病治療研究。在遺傳學與繁殖技術領域，透過對牛隻基因的研究，得以改良品種以提升乳肉生產效能。同時，試管受精與胚胎移植技術的研究也推動了動物繁殖生物學的進步。

儘管牛隻在實驗研究中具有重要地位，但其應用亦面臨諸多限制。首先是飼養與管理成本高昂。其次牛隻的生長和繁殖周期較長，需要更多的時間來獲得結果，對於急需解決的問題並不理想。隨著動物權益意識的提升，使用牛隻進行實驗的倫理爭議越來越多。此外儘管牛隻的生理特性與人類有許多相似之處，但仍存在物種間的差異，某些實驗結果可能無法直接應用於人類。

隨著科技的進步，牛隻在實驗研究中的應用前景廣闊。如基因編輯技術的發展可更精準地研究基因功能及其對健康的影響。未來利用基因改造牛隻進行疾病模型研究將更加普遍。此外數位技術和人工智慧的整合，改變牛隻實驗的方式。通過分析大數據和運用機器學習算法，可更有效地解讀實驗數據並優化實驗設計。為了減少動物實驗的依賴，科學家正在探索替代方案，如類器官技術與細胞模型，但在某些複雜的生理和行為研究中，牛隻仍然是不可替代的。未來的研究將更加關注環境友好型實驗，如減少牛隻飼養對環境的影響，並提升研究的生態效益。

3. 羊隻作為實驗動物的應用、未來發展與優化

心血管研究中，因羊的心臟大小與結構和人類相似，故在慢性心臟疾病、人工心瓣膜、支架和心臟移植研究中常為重要實驗動物。羊在肺部病、生理研究中具有重要地位，尤其在急性呼吸窘迫症候群和慢性阻塞性肺病等研究中皆有相關羊隻動物模型。羊亦被用於再生醫學與組織工程領域；在免疫學研究方面，羊被用來生產多株抗體，為疫苗開發與相關研究提供重要支援。近年來有研究利用基因改造山羊產生具有醫療用途的蛋白質，如抗血栓蛋白，進一步開展其應用領域。

羊在生物醫學研究中仍面臨侷限。首先，飼養成本高，所需空間較大，且飼養管理技術門檻較高。其次繁殖週期較長，對研究進程可能產生限制。此外與小型實驗動物相比，羊的基因改造技術發展仍不及鼠類，導致在遺傳學和分子生物學研究中受限。再者羊的免疫系統與人類雖有相似之處，但在特定病理生理反應上仍存有差異，研究結果外推至臨床應用時需謹慎評估。

隨著生物技術的進步，羊作為實驗動物的未來展望越發遼闊。由於基因編輯技術的發展，讓基因改造羊的效率和準確度大幅提升，將有助於罕見遺傳疾病和

再生醫學研究；同時，羊在異種器官移植領域的潛力日益受到重視，透過基因編輯羊以生產適合人類移植的器官，未來可能可為器官捐贈短缺問題提供新解方。此外羊在人類健康與畜牧相關研究的交叉領域，尤其是人畜共通傳染病的研究中，亦具有不可忽視的價值。

4. 馬匹作為實驗動物的應用、未來發展與優化

馬匹是人類骨關節炎研究當中最理想的動物模型，原因包括人類及馬匹的解剖構造之間的相似性、病程當中同樣有退化性的特徵、以及同樣對於藥物或生物製劑治療後，預期要恢復一定程度的運動功能的高度期待。研究發現在人類及馬匹的骨關節炎的致病機轉當中，白介素-1 β (IL-1 β)和腫瘤壞死因子- α (TNF- α)是兩大主要造成軟骨發炎的細胞激素。因此在馬匹骨關節炎的生物製劑研究當中，重要的部分在於阻斷或抵消 IL-1 β 的作用，包括 Autologous conditioned serum (例如：Interleukin-1 receptor antagonist protein)在骨關節炎細胞研究及臨床病例中的使用；然而人類及馬匹自然發生的骨關節炎臨床病例中，尚無科學證據能證明生物製劑的再生效益，雖然針對病患臨床症狀上的改善包括疼痛減輕、跛行嚴重程度降低已有多篇文獻報導，但其效果所持續的時間尚缺乏長時間的追蹤研究。除了骨關節炎，基於人類及馬匹在某些特定疾病中相似的生理、病理，以及自然發生的疾病模式，下列所述的馬匹疾病都是人類疾病研究的最佳動物模型，包括馬復發性葡萄膜炎 (Equine recurrent uveitis)相對於人自體免疫性葡萄膜炎 (Autoimmune uveitis)、馬復發性氣道閉塞 (Recurrent airway obstruction)相對於人的氣喘 (Asthma)，以及馬代謝性症候群 (Equine metabolic syndrome)相對於人的第二型糖尿病 (Type 2 diabetes mellitus)。

馬匹在人類物理治療以及精神健康的研究當中有另一種較為特殊的用途，即馬術治療 (Hippotherapy) 以及治療性騎馬 (Therapeutic horseback riding)；在醫學研究當中，馬匹不是作為研究對象的實驗動物，而是復健或治療的一種手段。馬術治療在定義上認為是需要有「專業醫療人員」如：物理治療師 (Physical therapist)、職能治療師 (Occupational therapist)、語言治療師 (Speech-language pathologist)、諮商心理師 (Psychotherapist) 指導下進行的一種治療形式，其治療目的主要在於透過騎馬改善患者的姿勢、平衡及活動度。治療性騎馬基本上被定義為一種休閒治療或康樂治療 (Recreational therapy)，不一定需要專業醫療人員的參與，而是在有騎馬經驗的馬場人員指導下進行；目標是希望透過結合多種不同的馬場活動，包括騎馬、刷洗照護馬匹、餵食、牽引馬匹，來幫助人不只是改善其生理健康，也能提升自信心、自尊心及改善社交互動。現階段針對馬術治療及治療性騎馬的科學研究仍然有限，主要是因其研究性質多是基於小樣本、敘述性研究。現有研究指出透過馬術治療或治療性騎馬達到的效果包括：患有心理疾病的成人 (例如：憂鬱症及思覺失調)提升了其自信心、邊緣青少年在治療療程的早期展現了更高的參與度、患有腦性麻痺及自閉症類群障礙的兒童在粗大動作 (Gross motor function)、感覺統合及靈敏度 (Sensory integration and sensitivity)、自主性專注力 (Directed attention)、社會動機 (Social motivation) 等關鍵的指標上達到了改善。此外，著名丹麥騎手 Lis Hartel 從 1944 年因小兒麻痺而癱瘓到 1952 年重返奧運馬場馬術大獎賽 (Grand Prix Dressage) 並成功獲得銀牌的傳奇故事不僅在國際馬術圈蔚為佳話，也讓馬術治療的復健效果受到高度重視，進而促使

了著名的 Riding for the Disabled Association (RDA) 協會在英國成立。

在獸醫教育當中，馬匹被許多歐洲國家及美國列為獸醫教育必修的物種之一。國際上知名的馬獸醫院任職的主治醫師曾說：「對於剛從獸醫系畢業準備就業的獸醫師，有三個基本的臨床技術是我認為他們必須要具備的：靜脈注射及採血、疝痛檢查、導鼻胃管」，這點出了實習課在獸醫教育當中的重要性。有些獸醫學系會飼養一些臨床教學用途的馬匹，因此受益於有手作練習基礎臨床技術的機會；然而並不是所有國家的獸醫學系都能擁有自己的教學馬匹，對於這些獸醫學系，有些會以馬匹骨架、四隻及蹄部的標本，內部有擬真解剖構造的馬匹模型，甚至單純是擺飾用的等比例馬匹模型來作為替代教學。

隨著現代社會中人與馬之間的關係變得更加緊密，人馬之間是否有良好的互動關係已經有透過數據化測量多項馬匹行為指標的方式來評估，對於在競技運中騎乘的馬匹更是有針對臉部表情及特定行為的分析來達到客觀評分，用以評估馬匹的疼痛及緊迫程度，以確保馬匹在競技運中的動物福利。此外對於科學研究用途的馬匹，包括 Horse Grimace Scale (HGS)、Equine Utrecht University Scale for Composite Pain Assessment (EQUUS-COMPASS)，以及 Equine Utrecht University Scale for Facial Assessment of Pain (EQUUS-FAP)，都是已經過科學研究證實為可信賴、有重複性、客觀的疼痛評分方式，可用於保障實驗動物用馬匹的動物福利。

第二章節 從生物模型到數位創新應用

2-1 3D 細胞培養技術在毒理測試中的應用

一、序言

體外細胞測試廣為應用於評估化學品或藥物的毒性，常見的非動物替代方法涵蓋眼刺激、皮膚刺激與腐蝕、致敏性、基因毒性等安全性測試。現行多數仍以 2D 細胞培養為主，但 3D 細胞培養因更能模擬體內微環境，近年被視為重要的替代技術。

在 OECD 已收錄的替代測試指南中，部分方法已應用 3D 細胞模型。此外，越來越多研究致力於開發複雜的 3D 細胞系統，結合多種評估方法以提高預測毒性終點的準確性，並拓展至生醫研究領域，展現其優於 2D 模型的潛力。

二、3D 細胞培養技術概述

1. 定義與基本原理

3D 細胞培養建立新的體外培養系統，使細胞形成三維團狀或層狀結構，模擬體內微環境以提升細胞生理特性。3D 細胞比 2D 培養更能真實模擬出細胞間的相互作用，並更貼近實際的生長模式。

3D 細胞培養系統的原理分兩種：(1)利用低吸附性材質的細胞培養盤，讓細胞自然聚集形成球狀體或類器官，模擬組織內細胞的排列與相互作用的狀態；(2)藉由水凝膠、膠原蛋白、合成聚合物做材料，為細胞提供類似體內環境的支持結構，促進三維生長。

2. 3D 結構種類

3D 培養的細胞分為立體多層組織、球狀或團狀結構。在培養過程中需要優化營養供給的方式，例如使用動態培養或微流體，以提升傳輸效率與促進細胞間的相互作用。

相較於傳統的靜態培養，動態培養技術可提升細胞的生理特性與功能表現。在 3D 培養系統中，可區分為球狀體與類器官兩種主要的細胞培養模式。雖然這兩種在外觀上看起來類似，但是細胞的分化特性不同，因而在應用上也有差異。有些模型被應用於毒性測試的替代技術開發，球狀體與類器官也常用在癌症研究、組織工程與藥物篩選的生醫研究。

(1) 立體多層培養

立體多層培養(multilayered 3D culture)是從傳統的 2D 平面細胞培養發展而來，透過改變細胞培養條件，使細胞可以在多層結構中生長，模擬體內組織的層狀排列。常使用支架材料或特殊的生物材料，例如膠原蛋白、明膠-海藻酸鹽

水凝膠(gelatin-alginate hydrogel)等，提供細胞足夠的黏附和生長環境，使其能夠在三維空間內增殖並形成多層組織結構。相較於 2D 培養，立體多層培養能夠更好地模擬體內細胞的層狀排列，然而立體多層培養的供氧與養分可能不足、缺乏完整的血管系統、細胞代謝物的清除可能受到限制。因此有研究利用微流體技術或共培養技術改善營養供應與細胞間的交互作用，以提升立體多層培養的應用潛力。

(2) 球狀體

球狀體是由單一或多種類型的細胞，主要透過細胞間的黏附進而組成三維的球狀結構，沒有複雜的細胞分化與明確的組織分層。而球狀體的內部會因養分與氧氣供給不足而出現壞死區。在癌症研究常用來模擬腫瘤微環境，探討腫瘤與不同細胞間的相互作用，以及腫瘤細胞侵襲性與耐藥性的研究。在藥物篩選的研究，用來測試抗癌藥物的效果，提高預測藥效與安全性的準確性。而在組織工程方面，則可研究細胞的行為與不同細胞間的互相影響。

(3) 類器官

類器官利用具持續生長特性的幹細胞或癌細胞，例如胚胎幹細胞(ESCs)、組織特異性幹細胞、癌細胞等，藉由天然或合成的支架材料，為幹細胞提供類似體內環境的支持結構，促進幹細胞自我組裝，產生類似器官的分化狀態，並藉由微流體擴增維持長時間的培養，適合研究遺傳疾病或特定疾病模式。

應用：

- 個人化精準醫療的研究，以患者的癌症幹細胞進行培養，測試不同藥物對患者腫瘤細胞的影響，有助篩選並制定有效的治療策略。
- 廣泛應用於疾病研究與新藥開發，降低動物實驗的使用需求，提高臨床轉譯的成功率。目前已藉由建立大量癌症患者的類器官庫，篩選有效的治療藥物，達到縮短藥物開發的時間。
- 發育生物學的研究中，可用來研究器官發育機制及作為移植治療研究工具。例如：若能利用患者的腸道幹細胞培養腸道類器官，則有機會將其移植回受損的腸道組織，促進修復，並可能用於改善克隆氏症等患者的腸道功能。然仍需要確認安全性與療效，才能有效的推展到臨床試驗。

總結而言，立體多層培養的組織模型結構簡單，適合用於研究結構組成與屏障功能，或相鄰細胞層之間的交互作用；球狀體主要依賴細胞的自然聚集，結構比類器官簡單，適合用於腫瘤研究和藥物測試；而類器官則更適合用來研究器官發育、疾病建模及再生醫學，能夠模擬真實組織的功能與結構，但其培養過程相對複雜。

3. 主要培養方法

(1) 懸浮培養(Suspension Culture)：適合懸浮培養的細胞包括有癌細胞、幹細胞、免疫細胞等。

- 低附著培養：主要利用培養盤的特殊塗層(例如 poly-HEMA)降低細胞附著於底盤，使得細胞可以維持懸浮狀態，進而生長成球狀結構。優點為容易操作，技術門檻較低，可同時培養大量球狀體，缺點為長成的球狀體大小可能不一，可能影響實驗的誤差或再現性。
- 懸滴培養：將細胞液滴於培養盤的蓋子上受重力作用形成液滴，並在液滴中形成球狀體。優勢為容易控制球狀體的大小均一，但操作較為繁瑣費時，難以同時大量培養。
- 旋轉培養瓶：藉由培養液持續攪拌或旋轉，在培養系統中提供流體力學作用，使細胞保持懸浮狀態，促進細胞間彼此互相接觸，防止細胞因重力沉降導致細胞生長不均，同時確保培養系統的营养均勻分布。但設備成本較高，需要精確控制旋轉速度(影響細胞聚集或沉降)，與細胞密度(影響其球體的形成)。
- 動態生物反應器：提供精確的流體動力，例如灌流系統或氣體交換等，調控營養與氧氣模擬體內血液循環與氧氣供應，可進行動態藥物篩選與細胞行為研究，適合大規模的組織培養。同時可與生物感測技術結合，實時監測細胞狀態，目前各界都積極研發其相關應用，例如器官晶片(Organ-on-a-Chip, OoC)。

(2) 支架型培養 (Scaffold-based Culture)：支架通常具有多孔性以及仿生結構模擬細胞外基質，搭配生長因子，促進細胞分化，適用於組織工程與再生醫學研究。

- 天然性生物支架：這類的支架材料使用包括膠原蛋白、纖維蛋白、玻尿酸，具有高度的生物相容性，常用於幹細胞培養。
- 合成性聚合物支架：例如聚乳酸-甘醇酸(PLGA)、聚己內酯(PCL)、聚乙二醇(PEG)以及聚左旋乳酸(PLLA)等聚合物材料，可降解與容易製備，常用於骨組織與神經工程。
- 凝膠性支架：常用材料為明膠-海藻酸鹽的複合凝膠、基質膠以及甲基纖維素，含水較高且類似細胞外基質，常用於細胞培養與藥物測試。

支架培養的優點在於提供細胞黏附與機械支持的結構，並透過調整材料、孔隙結構與添加生長因子進而到控制細胞的行為或分化。需考量因素為：支架的孔隙大小與材料可能影響養分傳遞的效果、較大體積組織培養可能會受影響，以及材料降解的速度過快是否會影響組織生長。

(3) 3D 生物列印 (Bioprinting)：可將細胞與凝膠混和進行 3D 結構列印，使其最終發展成功能性組織或器官，又稱為生物墨水。另一種則是 3D 列印支架，選擇可降解生物材料製造支架，以提供細胞附著與生長，隨著時間逐漸降解，讓組織形成完整結構。

- 噴墨式生物列印：透過噴嘴將生物墨水滴落於材料上，優點為具高解析度、快速與低成本，但因生物墨水須具備適當流動性，因此細胞存活率可能受到影響。
- 擠壓式生物列印：透過氣壓或機械壓力擠出生物墨水製作，適用高黏性的生物墨水，可列印的結構較大，結構解析度較低，壓力擠出過程可能造成細胞傷害。
- 雷射輔助生物列印：用雷射將生物墨水進行更精準的列印，具高解析度、細胞損傷較小，但設備成本較高，操作複雜。

總結而言，生物 3D 列印可精確控制組織結構，提升細胞存活率。缺點為列印過程中，細胞易擠壓受損影響生長；而生物墨水需同時具備生物相容性、可降解性以及可承受的機械強度等，選擇性有限；尚未能列印完整的微血管網路。

4. 3D 培養模型應用例舉

(1) 眼睛模型：在藥物開發、化妝品、工業化學品的安全性評估中，眼睛毒性測試是法規上不可避免的。以往以動物實驗為主，然而在物種的差異及倫理考量下，開發更具人體生理相關性的 3D 細胞培養已成為趨勢。目前應用於眼睛毒性測試的 3D 細胞培養模型包括有：

- 3D 角膜模型：以 MatTek 研發的 EpiOcular™ 或 L'Oreal 開發的 SkinEthic™ HCM 為代表。可用於 OECD 標準的眼睛刺激測試(OECD TG 492)，已被列為驗證參考方法(VRM)。3D 角膜模型以人類角質上皮細胞、基質細胞與內皮細胞培養，形成類角膜組織，可以評估眼藥、化妝品、工業化學品對角膜細胞的影響及安全性，並可用於角膜移植與幹細胞療法的研究。優點：重建角膜的多層結構，提高試驗的準確度，並減少動物實驗的使用。缺點：缺乏完整的角膜基質與神經元的交互作用，培養過程複雜以及成本較高。

- 3D 視網膜模型：將人類 iPSC 細胞分化成視網膜色素上皮細胞(RPE)、光感受器細胞或神經節細胞等，模擬視網膜的結構與功能。應用於測試藥物對視網膜是否造成毒性，及評估藥物對於視網膜病變的治療效果。
- 3D 玻璃體與視神經模型：利用膠原蛋白或聚乙二醇(PEG)水凝膠等作為玻璃體的替代材料。玻璃體會參與視網膜與視神經的信號傳遞與代謝，因此此細胞模式適用於玻璃體內藥物動力與擴散，以及視神經的傷害研究。
- 眼睛晶片：利用微流體技術模擬眼睛血管與細胞微環境，提供動態培養條件，形成角膜或視網膜晶片。用於測試藥物通透性與代謝，但設備成本較高，技術複雜，發展還未成熟。

(2) 肝臟模型

評估藥物或化學物質的肝毒性是重要的毒理測試之一，傳統的 2D 肝臟細胞培養雖然已廣泛的應用，但難以準確反應體內藥物代謝與毒性反應，3D 肝臟細胞模型能夠更真實模擬肝臟的組織環境，提高準確性。

- 3D 共同培養系統：肝細胞、內皮細胞與 Kupffer cell 共同培養，並模擬肝臟的免疫反應，但設計較複雜難成系統的標準化。
- 3D 支架培養系統：提供類胞外基質結構以支持細胞生長，需要在培養系統中添加不同的生長因子刺激幹細胞分化成不同種類的肝臟細胞，幹細胞分化條件較難標準化，且支架的材料性質會影響細胞的分化或行為。
- 肝球體：由肝臟細胞或幹細胞形成 3D 球狀細胞團塊，培養時間較短，代謝能力較 2D 細胞好，但缺乏分層的複雜結構。
- 肝臟類器官：由幹細胞分化並培養長成 3D 的肝臟組織，具肝臟組織特徵與功能，適合長期培養，培養成本及技術門檻較高。
- 肝臟晶片：藉微流體系統提供動態培養環境，模擬肝臟血液，適合研究藥物代謝以及測試多種類器官細胞之間交互作用，設備成本較高。

(3) 腸道模型

腸道類器官來源：(1)成體幹細胞類器官來自腸道組織的 Lgr5+幹細胞，進行長期培養並維持腸道不同細胞類型的組成；(2)人類誘導多能幹細胞類器官則是透過分化的程序，模擬腸道發育的過程，適合用來研究遺傳疾病模式。

培養條件：使用基質膠(Matrigel)或水凝膠，培養液中需添加促幹細胞增殖與分

化的生長因子或蛋白質(如 wnt、EGF、Noggin、R-Spondin 等)。

優勢：表現特殊的功能性標誌物、適應於腸道疾病研究與藥物開發、個人化的精準醫療以及再生醫學。

腸道類器官特性：	研究方向：
長期培養具穩定性	研究 IBD 機制，如潰瘍性結腸炎與克隆氏症、藥物測試
可分化成隱窩與絨毛樣結構	感染試驗：研究病原菌與腸道細胞的交互作用
幹細胞分化的腸道類器官	探討幹細胞於腸道修復或移植的研究

(4) 腦/神經模型

來源：誘導性多功能幹細胞或胚胎幹細胞，透過特定的分化或生長因子，自行組裝發育成類似腦的結構。

培養條件：(1)可利用懸滴培養防止細胞貼附以利分化。(2)利用基質膠提供支持結構，並加入纖維母細胞生長因子(FGF)促進神經前驅細胞生成(Neural Precursor Cells)，(3)若加入 activin/nodal/TGF- β 訊息途徑的抑制劑(例如 Noggin、SB431542)則可以抑制上皮細胞分化以及促進神經分化。(4)若要誘發特定腦區分化，則也可以在培養系統加入 Retinoic acid，誘發細胞分化成大腦皮層或小腦。(5)長期培養過程可形成腦部的層狀結構與神經網路。

應用：研究神經發育與遺傳疾病，模擬人類大腦發育過程，解析不同腦區形成的機制。如：

- 阿茲海默症的患者細胞衍生成的誘導性多功能幹細胞，培養出的腦類器官可研究疾病的機制，解決實驗活體動物模式的物種差異問題。
- 腦腫瘤類器官可用於測試標靶型藥物不同藥物的反應，提高優化臨床治療的效果。

優勢：更接近人類大腦發育的過程，適用於罕見疾病與個人化的精準醫療、長期培養有利於模擬神經退化性疾病的長期變化，提供更真實的病理模式，減少動物實驗的需求。

缺點：與腸道類器官都面臨相同的挑戰與局限，包括缺乏血管與免疫系統，與真實生理情況仍然存在差異。另外，類器官培養系統難有標準化與再現性，且培養技術與成本較高。

4. 應用優勢與潛力

(1) 3D 培養在毒理測試中的優勢

3D 細胞的藥物擴散與滲透較貼近組織內部的濃度梯度，更能準確的反應藥物在體內擴散的影響，減少偽陽性或偽陰性的結果。不過在毒理測試中，2D 細胞培養仍是高通量藥物篩選的重要工具，適用於初步藥物測試。而 3D 細胞培養在藥物毒性、抗藥性測試、慢性毒性研究等方面更具優勢，能提供更準確的預測結果。

(2) 3D 培養在減少動物實驗中的潛力

3D 細胞培養直接使用人類細胞，可以減少動物實驗模型的基因與代謝差異，更貼近人體內的生理行為。而基於人類的器官晶片研發也有助於藥物篩選，或是應用在個人化的精準醫療，利用患者本身的器官細胞培養成類器官，用來測試患者對特定藥物的反應。這些研究方法都可以減少動物實驗的測試，進一步減少動物試驗的需求。

目前已有模擬多種器官的器官晶片系統發表，例如，肝臟晶片可以模擬肝臟代謝藥物的能力，提供更為精確的毒性測試。而肺臟晶片能模擬肺泡與血管間的氣體交換，可以用來精確的評估吸入性藥物的影響。

三、3D 細胞培養技術在法規(OECD TG 測試規範)的應用

1. 現有監管框架對 3D 細胞培養的接納程度

近年來，3D 細胞培養技術在毒理測試領域的應用受到國際監管機構的廣泛關注，並逐步納入法規框架之中。各國監管機關，如經濟合作暨發展組織(OECD)、歐盟化學品管理局(ECHA)、美國環保署(EPA)與美國食品藥物管理局(FDA)等，透過新穎(替代)測試方法(New Approach Methodologies, NAMs)，在不同領域評估 3D 細胞培養技術的可行性與科學性，以降低動物使用量並提升測試效能。

在化妝品安全評估方面，歐盟於 2013 年全面禁止動物測試，這促使業界尋求可靠的非動物測試方法。3D 皮膚模型已成為測試皮膚刺激性、腐蝕性及光毒性的標準方法之一，並被廣泛應用於歐洲、美國及亞洲市場。

在化學品安全評估方面，隨著歐盟 REACH 化學品管理法規的實施，歐盟強調減少動物實驗，鼓勵使用替代方法進行化學品風險評估。OECD 也積極將經過驗證的 3D 皮膚模型納入測試規範中作為驗證參考方法，以確保可再現性與可靠性。歐盟化學品管理局(ECHA)報告指出，3D 細胞培養技術已被納入 REACH 法規項目中，如化學品對皮膚與眼睛的安全評估，業者提交替代方法數據的比例也逐漸提升。此外，日本、韓國、美國也在化學品安全評估方面積極探索 3D 細胞培養技術的應用，並計劃納入相關測試規範。

在農藥安全評估方面，農藥對人類與環境的潛在影響使得監管機構特別重

視替代方法的發展。3D 皮膚與眼角膜模型也被用於部分急性毒性測試，作為降低動物使用的替代方案。

此外，在藥物、醫療器材等其他管轄領域，監管機構也逐步探索 3D 細胞培養技術的應用。例如，在藥物開發方面，3D 細胞培養技術可用於預測藥物的代謝與毒性反應，以提高臨床前測試的準確性。美國 FDA 在 2022 年底通過《FDA 現代化法案 2.0》(FDA Modernization Act 2.0 / FDA Modernization Act of 2021)，進一步推動非動物測試方法的採納，其中包含以細胞為基礎的測試方法、器官晶片與微生理系統等，以鼓勵業界提供更多驗證數據，促進這類技術在藥物評估中的應用。在醫材部分，國際標準化組織 ISO 標準也納入 OECD 測試規範已採用的皮膚刺激/腐蝕 3D RHE 替代測試模型。

儘管台灣監管機構尚未完全將 3D 細胞培養技術納入所有領域的法規框架，但根據國際趨勢，台灣，特別是在化學品、化妝品與農藥的安全性評估中，已開始鼓勵業界依據 OECD 測試規範進行替代。

2. 毒理測試法規中的具體應用(已經成為 OECD 測試規範的方法)

目前，已有多種 3D 細胞培養技術成功納入 OECD 測試規範中，並成為標準毒理測試方法。

(1) 皮膚刺激與腐蝕測試(OECD TG 431 與 439)：

3D 人類重建皮膚上皮模型(RHE)已被廣泛應用於皮膚刺激與腐蝕測試，以取代傳統的動物實驗，如兔皮膚測試(OECD TG 404)。這些 3D 皮膚模型由人類角質細胞(keratinocytes)培養而成，形成與人體表皮結構相似的角質層，並表現接近體內生理狀態的屏障功能。在腐蝕測試(OECD TG 431)中，RHE 模型可用 MTT 分析來測定細胞存活率，以評估化學物質對皮膚的腐蝕性(Category 1)。而在刺激測試(OECD TG 439)中，RHE 模型能夠鑑別化學物質是否具有皮膚刺激性(Category 2)。這些方法已納入綜合測試與評估策略(Integrated Approach to Testing and Assessment, IATA)，可與其他體外測試(如計算毒理學、物理化學性質分析)相結合，以提供更準確的風險評估。此外，歐盟化學品法規(REACH)和化妝品法規已明文規定，在適用範圍內須優先使用這些替代方法，以減少動物實驗需求。

(2) 眼睛刺激與嚴重眼損傷測試(OECD TG 492)：

3D 人類重建角膜上皮模型(RhCE)已成為眼部刺激測試的標準替代方法，RhCE 模型由人類角膜上皮細胞組成，形成多層細胞結構，並具備與人眼類似的屏障功能與生理特性。測試方法通常利用 MTT 測試相對細胞存活率(Relative cell viability)來評估細胞暴露於化學物質後的反應。可評估此物質對人類角膜的影響，減少對 Draize Test 的依賴。OECD TG 492 測試方法可應用於篩選無刺激性(Non-Irritant)物質，但尚無法區分中度刺激性(Category 2)與嚴重眼損傷(Category 1)的化學品，因此需與其他測試策略結合，例如 OECD GD 263 綜合

測試與評估策略(IATA)或 TG 467 定義方法(Defined Approaches, DAs)，以提高預測準確度，滿足法規的分級要求。另外，近年新增的 OECD TG 492B 測試方法引入「毒性作用時間」(Time-to-Toxicity, TTT)為測試終點，改善了 OECD TG 492 無法區分刺激性的缺點。此技術已被歐盟化妝品法規以及美國 EPA 推薦的替代測試策略列為減少動物試驗的有效方法。

(3) 皮膚光毒性測試(OECD TG 498)：

光毒性(Phototoxicity)是指化學物質在紫外線(UV)照射下，可能引發的細胞毒性反應(可能導致皮膚發炎、色素沉澱或 DNA 損傷)。一般光毒性是依賴於利用 OECD TG 432 或 OECD TG 495 測試方法進行評估，這些方法主要依賴單層細胞培養，無法完美模擬人體皮膚的複雜結構和反應。

為了更精確地模擬人體皮膚的實際反應，近年來發展出 OECD TG 498，利用 3D RHE 模型測試化學物質在 UV 暴露下對角質細胞造成的影響，透過測量細胞存活率、氧化壓力指標(ROS 產生)及炎症標志物(如 IL-1 α 釋放)來評估光毒性。這種 3D 模型具備角質層，模擬人體皮膚的屏障功能與吸收特性，更真實地反映皮膚結構，使得光毒性測試結果更具生物學相關性，因此在化妝品、藥品及工業化學品領域受到廣泛應用。目前，OECD TG 498 已被歐盟化妝品法規推薦作為皮膚光毒性測試的標準方法，適用於化妝品原料、個人護理產品及工業化學品的安全性評估，並可納入化妝品產品資訊檔案(Cosmetic Product Information File, PIF)以提供光毒性風險數據。此外，該方法亦被國際化學品管理機構採納，作為評估新化學物質光敏感性的標準工具，進一步推動非動物測試技術的發展。

3. 其他開發中的項目與方法

儘管目前已有數種 3D 細胞模型獲得法規認可，仍有許多 3D 模型正在開發與驗證中，特別是在皮膚致敏與基因毒性測試方面。

(1) 皮膚致敏測試(SENS-IS)：

基於 EpiSkin 的 3D RHE 模型所開發的專利方法，藉由基因表現分析，可檢測皮膚細胞對致敏物質的反應。SENS-IS 共分析 65 個基因，分為一組用於預測刺激性(irritancy, IRR)的基因組和兩組用於預測致敏性(SENS-IS and ARE)的基因組，藉由根據定量反轉錄 PCR(qRT-PCR)測量 RHE 組織中過度表現的基因數量以分辨測試化學物質為皮膚致敏物、非致敏物或是皮膚刺激物。此測試方法還能夠根據引起陽性反應所需的濃度將致敏物判定其效力(Potency)類別。SENS-IS 已經由歐替代方法盟驗證中心(EURL ECVAM)主導完成驗證研究，由 EURL ECVAM 科學諮詢委員會完成同行審查，目前被要求補充更高品質的資料來證實其效用。

(2) 基因毒性：

有些傳統的基因毒性測試是利用彗星測試(comet assay)或是微核測試

(micronucleus test, MN)評估 DNA 的損傷與染色體異常，大多由動物體內取出目標組織的細胞進行試驗，例如 OECD TG 489 哺乳動物體內鹼性彗星試驗、OECD TG 474 哺乳動物紅血球微核試驗；或是基於一般平面培養的細胞株進行體外試驗，像是 OECD TG 487 體外哺乳動物細胞微核試驗。這兩種試驗被用來反映不同類型的基因損傷，分別是 DNA 鏈斷裂、不完全修復位點與鹼性不穩定位點，以及染色體致突變與數目異常。然而，近年來有研究利用 3D RHE 模型與彗星測試與微核測試結合，並應用於皮膚基因毒性評估，分別稱為 3D 皮膚彗星試驗與重組皮膚微核試驗。目前已經由 EURL ECVAM 主導完成驗證研究，今年(2025)由 EURL ECVAM 科學諮詢委員會完成同行審查，並進入 OECD 研擬測試規範草案階段。

4. 3D 培養在法規毒理的未來展望

隨著技術的快速發展，這些替代技術提高了毒理測試的準確性，還為監管機構提供了更多可行的替代方案，減少了對動物實驗的依賴。例如在肝毒性、腎毒性、呼吸道暴露模型、神經毒性評估等領域，3D 細胞培養技術提供比傳統 2D 細胞培養更具生理相關性和真實性的測試結果。然而，這些技術與應用尚未正式納入法規毒理測試方法，仍需進一步驗證與標準化，以確保其可重現性與法規適用性。未來 3D 細胞培養技術有望在特定器官毒性評估中發揮更大作用。

然而，這些技術也面臨挑戰。許多 3D 模型在長期暴露下的穩定性與生理功能維持仍需進一步優化，特別是對慢性毒性、重複劑量暴露和複雜生物反應的模擬能力尚需加強。此外，現有的 3D 細胞培養模型對多系統損傷或全身性反應的模擬仍存在一定局限，這使得傳統動物測試在某些情境下仍具不可替代的作用。未來的研究將著重於提升 3D 模型的生理穩定性，並延長培養時間以支援慢性毒性研究。同時，微生理系統和器官晶片等技術的發展，將有助於克服現有模型的局限，並增強對全身性反應的預測能力。

在法規層面，隨著 3D 細胞培養技術的成熟，國際監管機構已逐步將這些技術納入測試標準，成為安全評估的重要工具。未來可能還會有更多 3D 模型被接受，並逐步納入法規框架，符合全球動物福利和環境保護的趨勢。

四、3D 細胞培養技術在生醫產業的應用

1. 在藥物篩選的應用

(1) 與傳統 2D 細胞培養的比較

2D 細胞培養缺點：細胞極性異常、單層生長缺乏組織特性，以及細胞與基質相互作用不完整。這些因素會影響細胞對藥物的吸收、分布、代謝和排泄特性，進而降低藥效預測的準確性。相較之下，3D 細胞培養提供更複雜的細胞間交互作用，使細胞能夠更接近體內狀態。例如在腫瘤藥物篩選中，3D 腫瘤球體模型能夠模擬腫瘤的異質性與藥物滲透特性，從而更精確地評估抗癌藥物的效

果。

(2) 藥物篩選準確性與適用性的提升

3D 細胞培養技術可提供更具生理相關性的微環境，使細胞在形態、分化程度及細胞-細胞交互作用方面更接近體內狀態，例如肝毒性評估中的肝細胞損傷模式：細胞腫脹、壞死或凋亡、ALT 與 AST 的變化；或是心肌細胞的電生理變化，包括細胞收縮功能、動作電位變化、心肌傳導異常等，從而提高早期藥物安全性評估的可信度。

(3) 與現行藥物開發流程的整合

現今，藥物開發公司與研究機構開始利用 3D 培養技術來取代部分動物試驗，進行早期藥效與毒性篩選。在前臨床階段，3D 細胞培養能夠協助藥物的初步篩選，在臨床前測試中，3D 培養技術可用於建立特定器官模型，有助於提高藥物開發的成功率。

2. 3D 細胞培養技術在精準醫療的應用

(1) 患者腫瘤類器官(PDOs)的應用

個人化醫療的核心理念是根據個體的基因、環境與生活方式來制定最佳治療方案。患者來源類器官(patient-derived organoids, PDOs)技術能夠從患者的組織樣本建立 3D 培養模型，保留患者腫瘤或疾病組織的關鍵特性，進而用於個人化藥物篩選。例如，從結直腸癌患者組織培養出的 PDOs 可用於測試多種抗癌藥物的效果，進而篩選出最適合患者的治療方案。此外，PDOs 技術也可用於研究腫瘤的異質性與耐藥機制，為精準醫療提供更可靠的研究模型。

(2) 基因編輯技術(CRISPR)結合 3D 類器官

CRISPR 基因編輯技術結合 3D 類器官培養，能夠精確地探討基因變異如何影響藥物反應，進而發展更具針對性的治療策略。例如，在遺傳性疾病的研究中，研究人員可利用 CRISPR 編輯技術在人類類器官中引入特定基因突變，並測試不同藥物對該突變的影響。在癌症領域，研究人員已利用 CRISPR 技術改造 PDOs，使其攜帶特定的致癌突變，以模擬腫瘤的基因變化，進一步測試標靶藥物的效果。這種方法能夠幫助臨床醫生選擇最適合特定患者的治療方案，提高治療的成功率。

(3) 人工智慧(AI)與類器官的結合

AI 與 3D 類器官技術的結合，正在改變個人化醫療與藥物開發的模式。透過機器學習與影像分析技術，AI 可以自動分析類器官對藥物的反應，例如測量類器官的生長速率、細胞死亡率與基因表現變化。此外，AI 可用於大數據分析，整合來自不同患者類器官的藥物測試結果，建立預測模型，幫助醫生更快地選擇最佳治療方案。例如，透過 AI 驅動的類器官藥物篩選系統，可快速篩選出最適合特定癌症患者的個人化療法。未來，隨著 AI 技術的進步，類器官培養

與藥物測試的自動化程度將進一步提升，進而推動精準醫療的發展，實現更高效的個人化藥物開發與治療策略。

3. 類器官結合高通量篩選技術的應用

高通量篩選技術(High-Throughput Screening, HTS)是一種自動化、大規模測試藥物或化合物的技術，可在短時間內分析數千至數百萬種化合物的生物活性。

- 將類器官技術與 HTS 平台結合，能夠提升藥物開發的效率、準確性與適用性，並推動精準醫療的發展。
- 搭配開發機器手臂平台執行自動化液體處理，須確保每個類器官受到相同條件(藥物濃度與養分)測試。
- 若在進行藥物篩選後搭配 HTS 分析，可自動量測類器官大小、型態與活性變化，例如以螢光染色後，測定類器官內的細胞存活率。
- 若搭配類器官模型的特性，可進行功能性的測試，例如評估腦類器官的神經活動、突觸功能是否受到改變。

隨著類器官技術、HTS 自動化平台、AI 數據分析與器官晶片的進步，未來類器官將在精準醫療、毒理學、個人化治療與新藥開發中發揮關鍵作用，並可能進一步取代傳統動物實驗，提升藥物開發的成功率與效率。

4. 優勢與未來挑戰

(1) 優勢：

- 模擬人體器官的微環境、細胞異質性及疾病進程，是比傳統 2D 細胞培養更準確的藥物篩選模型。
- 通過高通量篩選技術，可以在短時間內測試數千種化合物，顯著加快藥物開發的進程。
- 有助於部分取代動物模型，提供一個更接近人體生理狀態的測試平台，降低動物實驗的成本並減少倫理爭議。

(2) 挑戰：

- 3D 培養模型通常缺乏免疫細胞、神經細胞和血管等結構，若結合微流體技術所開發的器官晶片，有望模擬血管系統，促進養分和血液的流動。
- 培養過程中需要添加多種生長因子，這使得培養成本較高。
- 模型大小、形狀與分化程度若無法標準化或保持一致性，將影響不同實驗間的可比性，因此亟需開發精確的自動化培養和分析技術。

五、 未來展望

(1) 技術發展方向與挑戰

- 缺乏統一的標準化流程，不同實驗室間的研究結果難以跨實驗室比較和重現，應建立國際認可的標準操作程序。
- 3D 培養系統的批次間差異(如球體大小、細胞分布、基質成分)會影響實驗結果，應提高製備過程的自動化水平和品質控制。
- 成本高、操作複雜，如進行高通量篩選時。降低成本並簡化操作流程將是促其廣泛應用的重要因素。
- 難以完全重現複雜的組織結構、細胞間相互作用及血管網絡。

(2) 與其他先進技術的結合前景

3D 細胞培養技術與其他尖端技術的整合將顯著提升其應用潛力。如：

- 微流體技術與 3D 細胞培養的結合能創建具有連續灌流和動態微環境的系統，可實現更精確的藥物吸收、分布、代謝、排泄和毒性(ADME & Toxicity, ADMET)分析，有望成為毒理學研究的新典範。
- 自動化高通量 3D 培養篩選平台的開發將大幅提升測試效率。結合人工智慧和機器學習演算法，能實現對大量化合物的快速毒性評估，為早期藥物開發和環境毒物檢測提供強大工具。
- 蛋白質體學、代謝體學、轉錄體學等多體學技術與 3D 培養模型的結合，將深化對毒性機制的系統性理解。提供更全面的毒性指紋圖譜(toxic fingerprint)，對毒性預測和安全評估具有重要意義。

從單一 3D 組織模型向整合多種組織功能的器官晶片和微生理系統發展是技術演進的必然趨勢。這些系統能模擬多器官間的相互作用及全身循環，為藥物毒理學研究提供更接近體內環境的測試平台。

3. 3D 細胞培養在未來毒理測試和法規框架中的角色

未來 OECD 測試規範可能進一步整合 3D 培養方法，作為動物實驗前的必要篩選步驟或部分替代方案。3D 培養技術將成為整合測試策略(ITS)的重要組成部分，與體外、體內和計算方法共同構建多層次評估體系。這種策略將最大限度減少動物試驗，同時提高毒性預測的準確性。隨著危害結局路徑(adverse outcome pathway, AOP)框架的發展，3D 細胞模型在關鍵事件測試和毒性機制研究中的應用將更加深入。這將有助於建立基於機制的風險評估方法，改進目前主要依賴劑量反應關係的評估模式。利用來源多樣的人源細胞建立 3D 模型，將有助於評估不同族群、年齡和基因背景人群對毒物的敏感性差異，推動個體

化毒理學評估的發展，為脆弱族群提供更精準的保護措施。

一、未來在生醫研究的發展潛力

3D 細胞培養技術在生醫領域的應用前景廣闊。如：

- 患者源性 3D 類器官已展現出預測藥物反應的潛力，有望成為精準醫療的重要工具。
- 神經退化性疾病、感染性疾病和代謝性疾病等的體外模擬平台。
- 結合基因編輯技術，可建具特定遺傳背景的疾病模型，促進病理機制研究和藥物開發。
- 3D 培養技術與組織工程的結合在修復損傷組織和器官方面展現出巨大潛力。
- 在藥物開發早期階段，可顯著提高候選藥物篩選的效率和準確性，降低後期臨床試驗失敗風險並縮短研發週期、降低成本。

二、總結與展望

3D 細胞培養技術作為動物實驗替代方法的關鍵組成部分，正迅速發展並改變毒理學研究的傳統模式。雖然目前仍面臨標準化、重現性和高通量等挑戰，但隨著技術進步和跨領域融合，其應用前景將更加廣闊。未來，3D 細胞培養技術將與微流體、人工智慧、多體學等領域深度整合，發展成更精確、高效的測試平台。在法規科學框架內，其地位將不斷提升，成為毒性評估的重要工具。在生醫研究領域，其應用將拓展至個體化醫療、疾病模型和再生醫學等多個方向。推動 3D 細胞培養技術的發展需跨領域合作與國際協作，攜手解決技術瓶頸，制定統一標準，並促進產官學研各方的密切協作。如此，才能充分發揮其在減少動物實驗、提高測試相關性和推動生醫研究創新方面的潛力，為人類健康和永續發展做出更大貢獻。

六、參考文獻

1. Tatiana do Nascimento Pedrosa, Carolina Motter Catarino, Paula Comune Pennacchi, Sílvia Romano de Assis, Fabrícia Gimenes, Márcia Edilaine Lopes Consolaro, Silvia Berlanga de Moraes Barros, Silvy Maria Engler. A new reconstructed human epidermis for in vitro skin irritation testing. *Toxicol In Vitro*. 42:31-37. doi: 10.1016/j.tiv.2017.03.010. (2017)
2. Yulia Kaluzhny, Helena Kandárová, Laurence d'Argembeau-Thornton, Paul Kearney, Mitchell Klausner. Eye Irritation Test (EIT) for Hazard Identification of Eye Irritating Chemicals using Reconstructed Human Cornea-like Epithelial (RhCE) Tissue Model. *J Vis Exp*. 102:e52979. doi: 10.3791/52979. (2015)
3. Rasheena Edmondson, Jessica Jenkins Broglie, Audrey F Adcock, Liju Yang. Three-Dimensional Cell Culture Systems and Their Applications in Drug Discovery and Cell-Based Biosensors. *Assay Drug Dev Technol*. 12(4):207–218. doi: 10.1089/adt.2014.573. (2014)

4. John A. Terrell, Curtis G. Jones, Giraso Keza Monia Kabandana and Chengpeng Chen. From cells-on-a-chip to organs-on-a-chip: scaffolding materials for 3D cell culture in microfluidics. *J. Mater. Chem. B*, 8;6667-6685. doi.org/10.1039/D0TB00718H. (2020)
5. Wonhye Lee, Jason Cushing Debasitis, Vivian Kim Lee, Jong-Hwan Lee, Krisztina Fischer, Karl Edminster, Je-Kyun Park, Seung-Schik Yoo. Multi-layered culture of human skin fibroblasts and keratinocytes through three-dimensional freeform fabrication. *Biomaterials*. 30(8):1587-1595., doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.12.009. (2009)
6. Kendra Corral-Nájera, Gaurav Chauhan, Sergio O. Serna-Saldívar, Sergio O. Martínez-Chapa, Mohammad Mahdi Aeinehvand. Polymeric and biological membranes for organ-on-a-chip devices. *Microsystems & Nanoengineering* 9, Article number: 107 (2023)
7. Jipeng Li, Mingjiao Chen, Xianqun Fan, Huifang Zhou. Recent advances in bioprinting techniques: approaches, applications and future prospects. *Journal of Translational Medicine* 14, Article number: 271 (2016)
8. OECD, Test No. 492: Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264242548-en>. (2024)
9. Kannan V Manian, Chad A Galloway, Sonal Dalvi, Anthony A Emanuel, Jared A Mereness, Whitney Black, Lauren Winschel, Celia Soto, Yiming Li, Yuanhui Song, William DeMaria, Akhilesh Kumar, Igor Slukvin, Michael P Schwartz, William L Murphy, Bela Anand-Apte, Mina Chung, Danielle S W Benoit, Ruchira Singh. 3D iPSC modeling of the retinal pigment epithelium-choriocapillaris complex identifies factors involved in the pathology of macular degeneration. *Cell Stem Cell*. 28(5):978. doi: 10.1016/j.stem.2021.03.024. (2021)
10. Ali E. Ghareeb, Majlinda Lako, David H. Steel. Coculture techniques for modeling retinal development and disease, and enabling regenerative medicine. *Stem Cells Translational Medicine*. 9(12):1531–1548, doi.org/10.1002/sctm.20-0201. (2020)
11. Laura Prieto-López, Xandra Pereiro, Elena Vecino. The mechanics of the retina: Müller glia role on retinal extracellular matrix and modelling. *Front Med (Lausanne)*. 11:1393057. doi: 10.3389/fmed.2024.1393057. (2024)
12. Renhao Lu. Advances in Ophthalmic Organ-on-a-Chip Models: Bridging Translational Gaps in Disease Modeling and Drug Screening. *Int. J. Transl. Med.* 4(4), 710-725. doi.org/10.3390/ijtm4040049. (2024)
13. Benoit Cox, Patrick Barton, Reiner Class, Hannah Coxhead, Claude Delatour, Eric Gillent, Jamie Henshall, Emre M. Isin, Lloyd King, Jean-Pierre Valentin. Setup of human liver-chips integrating 3D models, microwells and a standardized microfluidic platform as proof-of-concept study to support drug evaluation. *Biomaterials and Biosystems*. 7: 100054. doi.org/10.1016/j.bbiosy.2022.100054. (2022)
14. Lei Wu, Yongjian Ai, Ruoxiao Xie, Jialiang Xiong, Yu Wang, Qionglin Liang. Organoids/organs-on-a-chip: new frontiers of intestinal pathophysiological models. *Lab Chip*. 23:1192-1212. doi.org/10.1039/D2LC00804A. (2022)
15. Héloïse Castiglione, Pierre-Antoine Vigneron, Camille Baquerre, Frank Yates, Jessica Rontard, Thibault Honegger. Human Brain Organoids-on-Chip: Advances, Challenges, and Perspectives for Preclinical Applications.

- Pharmaceutics. 14(11):2301. doi: 10.3390/pharmaceutics14112301. (2022)
16. OECD, Test No. 460: Fluorescein Leakage Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264185401-en>. (2023)
 17. OECD, Test No. 491: Short Time Exposure In Vitro Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264242432-en>. (2023)
 18. OECD, Test No. 432: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264071162-en>. (2019)
 19. OECD, Test No. 495: Ros (Reactive Oxygen Species) Assay for Photoreactivity, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/915e00ac-en>. (2019)
 20. OECD, Test No. 442D: In Vitro Skin Sensitisation: Assays addressing the Adverse Outcome Pathway Key Event on Keratinocyte activation, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264229822-en>. (2024)
 21. OECD, Test No. 442E: In Vitro Skin Sensitisation: In Vitro Skin Sensitisation assays addressing the Key Event on activation of dendritic cells on the Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264264359-en>. (2024)
 22. European Commission, Full EU ban on animal testing for cosmetics enters into force. Press release. https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip_13_210. (2013)
 23. European Chemicals Agency, How to use alternatives to animal testing to fulfil the information requirements for REACH registration. Practical guide, European Chemicals Agency, <https://data.europa.eu/doi/10.2823/194297>. (2016)
 24. European Chemicals Agency, The use of alternatives to testing on animals for the REACH Regulation, European Chemicals Agency, <https://data.europa.eu/doi/10.2823/092305>. (2020)
 25. Peter-James H Zushin, Souhrid Mukherjee, and Joseph C Wu. FDA Modernization Act 2.0: transitioning beyond animal models with human cells, organoids, and AI/ML-based approaches. *J Clin Invest.* 133(21):e175824. doi: 10.1172/JCI175824 (2023)
 26. Christian Pellevoisin 1, Kelly P Coleman 2, Sebastian Hoffmann. ISO 10993-23 In vitro irritation testing for medical devices: Substantiating applicability to mild irritants and non-extractables. *Toxicol In Vitro.* 82:105371. doi: 10.1016/j.tiv.2022.105371. (2022)
 27. OECD, Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264242678-en>. (2015)
 28. OECD, Test No. 431: In vitro skin corrosion: reconstructed human epidermis (RHE) test method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264264618-en>. (2019)
 29. OECD, Test No. 439: In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD

- Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264242845-en>. (2021)
30. OECD, Guidance Document on an Integrated Approach on Testing and Assessment (IATA) for Skin Corrosion and Irritation, OECD Series on Testing and Assessment, No. 203, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264274693-en>. (2017)
 31. OECD, Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264242678-en>. (2015)
 32. OECD, Guidance Document on Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) for Serious Eye Damage and Eye Irritation, Third Edition, OECD Series on Testing and Assessment, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/cdb440be-en>. (2024)
 33. OECD, Test No. 467: Defined Approaches for Serious Eye Damage and Eye Irritation, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/28fe2841-en>. (2024)
 34. OECD, Test No. 492B: Reconstructed Human Cornea-like Epithelium (RHCE) Test Method for Eye Hazard Identification, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/0d603916-en>. (2024)
 35. OECD, Test No. 498: In vitro Phototoxicity - Reconstructed Human Epidermis Phototoxicity test method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/7b2f9ea0-en>. (2023)
 36. OECD, First commenting round of the Working Party of the National Coordinators of the Test Guidelines Programme (WNT) on the draft Test Guideline for the SENS-IS assay. <https://www.oecd.org/en/events/public-consultations/2024/07/draft-test-guideline-for-the-sens-is-assay.html>. (2024)
 37. OECD, Test No. 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264264885-en>. (2016)
 38. OECD, Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264264762-en>. (2016)
 39. OECD, Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264264861-en>. (2023)
 40. Pfuhler S, Pirow R, Downs TR, Haase A, Hewitt N, Luch A, Merkel M, Petrick C, Said A, Schäfer-Korting M, Reisinger K. Validation of the 3D reconstructed human skin Comet assay, an animal-free alternative for following-up positive results from standard in vitro genotoxicity assays. *Mutagenesis*. 36(1):19-35. doi: 10.1093/mutage/geaa009. (2021)
 41. Pfuhler S, Downs TR, Hewitt NJ, Hoffmann S, Mun GC, Ouedraogo G, Roy S, Curren RD, Aardema MJ. Validation of the 3D reconstructed human skin micronucleus (RSMN) assay: an animal-free alternative for following-up positive results from standard in vitro genotoxicity assays. *Mutagenesis*. 36(1):1-17. doi: 10.1093/mutage/geaa035. (2021)
 42. Pujan K Desai, Hubert Tseng, Glauco R Souza. Assembly of Hepatocyte Spheroids Using Magnetic 3D Cell Culture for CYP450 Inhibition/Induction. *nt J Mol Sci*. 18(5):1085. doi: 10.3390/ijms18051085. (2017)
 43. Huayu Yang, Lejia Sun, Meixi Liu, Yilei Mao. Patient-derived organoids: a promising model for personalized cancer treatment. *Gastroenterol Rep (Oxf)*.

- 6(4):243–245. doi: 10.1093/gastro/goy040. (2018)
44. Sneha Gopal, André Lopes Rodrigues, Jonathan S Dordick. Exploiting CRISPR Cas9 in Three-Dimensional Stem Cell Cultures to Model Disease. *Front Bioeng Biotechnol.* 8:692. doi: 10.3389/fbioe.2020.00692. (2020)
 45. Sudhiksha Maramraju, Andrew Kowalczewski, Anirudh Kaza, Xiyuan Liu, Jathin Pranav Singaraju, Mark V Albert, Zhen Ma, Huaxiao Yang. AI-organoid integrated systems for biomedical studies and applications. *Bioeng Transl Med.* 9(2):e10641. doi: 10.1002/btm2.10641. (2024)
 46. Franziska L. Lampart, Dagmar Iber, Nikolaos Doumpas. Organoids in high-throughput and high-content screenings. *Frontiers in Chemical Engineering.* 5:-2023. doi.org/10.3389/fceng.2023.1120348. (2023)

2-2 器官晶片技術的發展與應用

1. 前言

在哺乳類的生體中，各器官與組織透過血管系、淋巴系、神經系等彼此緊密連結，整體形成高度整合的系統。為了全面理解與解析這種複雜且動態的生體功能，過去動物實驗一直被視為不可或缺的方法。特別是在評估免疫系統參與的現象或全身性反應時，動物模型具有許多優勢。

另一方面，隨著倫理考量提升，以及 3R (Replacement、Reduction、Refinement) 理念的普及，近年強烈要求開發不使用實驗動物的替代方法。此外，人類與實驗動物之間存在不可忽視的物種差異 (種差)，因此由動物模型獲得的知見未必能直接外推至人類。因此，理想作法是使用人類細胞，建立能重現更接近個體層級之生理功能與反應的解析系統。

即使是分析單一器官的反應，器官也並非由單一細胞種類構成，而是多種細胞以有序方式排列，並透過與 **細胞外基質 (ECM)** 的交互作用形成特有的組織結構。在維持這種組織結構時，關鍵要素之一是細胞極性 (cell polarity)。以腸上皮等上皮細胞為例，細胞具有三個極性面：與相鄰細胞接觸的側面 (lateral face)、與外界接觸的頂端面 (apical face)、以及與基底膜黏著的基底面 (basal face)。

這些極性結構與細胞膜上轉運蛋白與受體的分布密切相關，在物質吸收/排出與細胞間訊號傳遞中扮演極重要角色。**圖 1** 以肝組織特徵性的肝類洞 (sinusoid) 結構為例說明：在肝類洞內皮細胞與肝細胞之間存在稱為 **狄氏空間 (Dissé space)** 的 ECM，肝細胞朝向 **狄氏空間 (Dissé space)** 的一側相當於 Basal；肝細胞彼此接著的面為 Lateral；其間形成毛細膽管，而毛細膽管側為 Apical。

因此，若要準確重現並評估物質代謝或藥物反應等生體功能，重建能維持細胞極性的三維組織結構是不可或缺的。然而，傳統廣泛使用的細胞培養多為單一細胞

種類的二維（平面）培養，與生體內的組織結構與微環境差異甚大。因此，即使是由組織分離的初代培養細胞，也難以充分重現個體層級的功能與反應性，作為動物實驗替代法仍有其極限。

針對上述問題，近年隨著以 **胚胎幹細胞(ES)** 與 **誘導性多能幹細胞(iPSC)** 為代表的 **多能性幹細胞(PS)** 之建立與分化誘導技術進展，形成與實際器官結構相似之三維組織，即類器官（organoids）的技術正逐步確立。類器官能重現組織特異性的細胞組成與空間配置，甚至可再現一定程度的生理功能，因而作為動物實驗替代的新研究平台而備受矚目。

此外，在個體內，血流或間質液流動造成的剪切應力（shear stress）等力學刺激，對細胞功能調控亦具有重要作用。要重現這些物理性微環境，除了三維組織培養外，還需要能進行流體控制的技術。因此受到關注的是微流體裝置技術（microfluidic device engineering），其不僅能精準控制體液流動與物質運輸，也能建構上皮細胞與微生物、免疫細胞的共培養系統等，更接近個體的微環境。

2. 何謂微流體裝置

微流體裝置是在利用半導體製程的微細加工技術（MEMS：Micro Electro Mechanical Systems）發展過程中開始被開發的裝置。在早期，研究者以矽或玻璃等材料製作具微細流路的裝置，並應用於以化學反應為目標的 Lab-on-a-Chip 研究領域，以及分析領域的 microTAS（Micro Total Analysis Systems）等。

使用微細流路時，流體行為會呈現與傳統尺度流體理論不同的特徵，相關研究被稱為微流體力學（microfluidics）。例如，在微細流路中，由於流體與裝置的表面積/體積比升高，流體會更受黏滯力影響，因而在流路內形成穩定的層流。在具有兩個入口與一個出口的 Y 字流路中，若以適當速度注入兩種液體，可在流路內

形成不混合的清晰層流；反之，若縮小層流寬度、縮短擴散距離，也能在極短時間內促進物質擴散而達到混合，並可透過流路設計在一定程度上控制液體行為。此外，因流路容量小，也能以極少量樣本進行實驗。

3. 微流體裝置的一般應用

以下列舉數個微流體裝置的應用例。

• 化學反應 (Lab-on-a-Chip)

透過適切設計的微流路，可實現混合、反應、檢出、取樣等多種功能。由於液體基本以層流流動，不同液體可在流路內不混合地並行流動；同時也能在流路內表面進行觸媒或抗體等修飾以誘導反應，或製作金屬層/檢出區以進行各類偵測或施加電場等操作。亦可透過裝置結構與載台設計有效率地進行溫度變化控制，並藉由整合控制送液、溫控、加電壓與檢出等周邊設備，建立具高再現性且高效率的反應系統。

• 分析用途

如前述 microTAS 領域所示，微流體裝置可進行樣品混合與檢出，也能以微量樣品完成分析。此外可透過微柱、表面修飾或多孔材料賦予分離功能，使得從樣品導入、前處理、分離到檢出等一連串操作得以在單一裝置中完成；分離技術亦可套用電泳等方法，並可依材料選擇建立包含溫控在內的小型整合分析系統。也可設計成先做前處理與 PCR 擴增，再進行分析的系統。

在分析領域中，微流體裝置不一定以「整合多步驟」為唯一目的，亦有大量應用著眼於可小型化或可拋棄式 (disposable) 等特性，以臨床檢驗為目標。例如血糖測定、癌症標記或感染症檢測等多種應用正持續推進。

• 生物領域

在微流體裝置中培養細胞，以建立比靜置培養更接近生體內環境的評估系統之研究正在推進。此類技術被稱為生體模擬系統 (MPS: Micro physiological systems)，作為因應全球動物實驗禁用、減量、替代趨勢，或解決實驗動物與人類種差的技術而受到關注。此外，微流體裝置亦可用於單細胞分離培養或特殊環境培養等用途。

4. 微流體裝置材料

微流體裝置用途廣泛，依目的不同可選用的材料也很多樣。以下簡述代表性材料的特性。

• 玻璃、矽、陶瓷

這些材料可套用半導體製造與 MEMS 技術，製作非常精細的結構。需要極微細加工時矽較具優勢；需要透明性時玻璃較合適。其材質硬、加工需設備，但在溫度特性、表面親水性，或利用矽醇基 (silanol) 進行表面修飾等方面依用途可非常有利；缺點則包括可能破裂與加工成本較高。

• PDMS

自 1990 年代起，使用光阻製作模具並灌注 PDMS (poly dimethyl siloxane) 使其硬化的軟光刻 (soft lithography) 技術被開發。PDMS 具有奈米等級良好的轉印性、高透明性、自黏著性，並可透過氧電漿或紫外光活化後貼合等特徵，因此可相對容易地試作各種圖樣裝置而被廣泛使用。雖然依用途可能面臨耐藥性或物質吸附到 PDMS 的問題，但其可從少量製作到一定程度量產，且能以插入管路即可連接亦具吸引力；另外其高氣體透過性可能在不同情境下成為優點或缺點。

• 其他樹脂

由於裝置用途多樣，若需大量生產或做成可拋棄式，常會依需求選用不同塑膠材料。市面上已有多種樹脂產品，可依用途選擇具耐化學性、氣體透過性、藥物吸附性、溫度特性或光學特性的材料。例如射出成型的初期費用往往較高，但單件成本可較低；近年也逐漸增加使用 3D 印表機作為快速製作方法。

因此，微流體裝置已在許多領域擴大應用，未來也期待能用於解決更多社會課題。

5. 模擬肝組織的流體裝置：肝組織晶片 (Liver on-a-Chip)

• 肝組織結構

由小腸吸收的養分與藥物等會匯入肝門脈並被運送至肝臟。流入肝臟的血液來自門脈與負責運送氧氣的肝動脈（圖 1）。門脈進入肝小葉（肝組織的單位），經肝類洞流入中心靜脈後進入體循環。物質通過肝類洞時，會經肝類洞內皮細胞進入肝細胞，在肝細胞內被代謝。肝細胞可儲存這些物質，將其送回肝類洞排至體循環，或排入毛細膽管並回到腸道。

也就是說，肝細胞至少具有三種不同的細胞極性：面向肝類洞側的 Basal 面、與相鄰肝細胞接觸的 Lateral 面、以及對應膽汁排出的毛細膽管側 Apical 面（圖 1）。若在培養層級不建構這三種細胞極性，肝細胞便無法同時發揮多種功能。

• 模擬肝器官形成的肝組織建構

要在體外培養系統中重現肝臟特有的結構與功能，僅分化誘導具有肝細胞樣性質的細胞仍不足。肝臟是多種細胞在發育過程中以時空方式互作形成的器官，因此模擬該過程的肝組織建構十分重要。基於此觀點，已檢討依循肝器官形成資訊的分化誘導方法（1）。

如圖 2 所示，由小鼠 **胚胎幹細胞(ES)** / **誘導性多能幹細胞(iPSC)** 形成胚樣體時，胚樣體內部分化為內胚葉、中胚葉與外胚葉三胚層，反映胚胎發育初期狀態，並成為包括肝臟在內之內胚葉來源器官分化的基礎。將胚樣體黏著於基質上可進一步促進分化。此時，從第 5 天至第 15 天左右，內胚葉細胞會分化為肝細胞並成熟；同時中胚葉細胞分化為血管內皮細胞，形成毛細血管網狀結構 (1,2)。重要的是，此血管網會包圍肝細胞群，形成極為類似肝類洞的結構。換言之，此培養系統能重現肝細胞與血管內皮細胞間的相互作用，並自主構築 **狄氏空間(Dissé space)**，使肝細胞獲得與體內相似的極性 (圖 2)。

• **肝組織晶片(Liver on-a-Chip)** 的應用

為將前述三維肝組織模型應用於藥物動態評估等用途，將其搭載於微流體裝置的 **肝組織晶片(Liver on-a-Chip)** 已被開發 (圖 3) (3)。此裝置具有培養微腔室與流路，培養液能像體內血流般持續供給肝組織。相較於靜置培養，在流體條件下培養的肝組織，其白蛋白分泌與藥物代謝酵素 (如細胞色素 P450) 的活性維持得更高且更久。

這被認為是由於流體流動帶來的持續性物質交換 (氧氣、營養供給與老廢物質移除) 與適度剪切應力，對細胞功能產生了正面影響。利用 **肝組織晶片(Liver on-a-Chip)**，已成功進行包括藥物代謝穩定性評估、代謝產物鑑定、膽汁排泄評估等多種試驗 (3,4)。特別是關於膽汁排泄，利用螢光標示的膽汁酸類似物，可觀察到其被肝細胞攝入後排至毛細膽管腔的過程，證實功能性 Apical 面的形成 (圖 3)。此外，若使用來自人類 **誘導性多能幹細胞(iPSC)** 的 **肝組織晶片(Liver on-a-Chip)**，則可期待構建排除種差問題、高精準度預測人類藥物動態與毒性的系統。

6. 模擬腸道組織的流體裝置：腸組織晶片(Intestine on-a-Chip)

• 腸道組織結構與功能

小腸是負責營養吸收與藥物吸收的主要器官。腸上皮由單層圓柱上皮細胞構成，形成絨毛 (villi) 與隱窩 (crypt) 的複雜結構。腸上皮細胞透過緊密連接 (tight junction) 彼此緊密結合，形成物理性屏障，限制物質的被動擴散。營養素與藥物主要透過轉運蛋白或受體媒介的主動運輸被吸收 (圖 4)。

此外，腸道也是人體最大的免疫器官，腸上皮下方存在豐富的免疫細胞，對病原體與食物抗原進行免疫監視。再者，腸道內共生著龐大數量的腸內細菌 (腸內菌叢)，它們與宿主細胞交互作用，對維持宿主健康與疾病發病均有深遠影響。

• 腸組織晶片(Intestine on-a-Chip) 的開發與應用

為了重現腸道的功能，Caco-2 細胞 (人類大腸癌來源細胞株) 長期被用於 Transwell 等小室 (insert) 培養系中。然而，靜置培養的 Caco-2 細胞缺乏絨毛結構，且部分代謝酵素與轉運蛋白的表現量與生體小腸有所差異。

為改善此點，開發了 **腸組織晶片(Intestine on-a-Chip)**。典型的 **腸組織晶片(Intestine on-a-Chip)** 具有上下兩層流路，中間夾有多孔膜，上皮細胞培養於多孔膜上 (圖 5)(5)。上層流路相當於腸管腔，下層流路相當於血管側。對上層與下層流路施加流體流動與週期性伸縮 (模擬腸蠕動)，可誘導 Caco-2 細胞形成絨毛狀結構，並顯著提升屏障功能與藥物代謝酵素活性 (5)。

此外，利用 **腸組織晶片(Intestine on-a-Chip)** 建立腸上皮細胞與腸內細菌的共培養系統也已有進展 (6)。在傳統靜置培養中，細菌過度增生會導致培養基酸化與細胞死亡，但在微流體裝置中，透過持續流動移除多餘細菌與代謝廢物，可長時間維持穩定的共培養 (圖 5)。利用此系統，已成功解析 **大腸桿菌 O157** 等病原菌對腸上皮的感染機制，以及益生菌的保護效果 (6)。

特別是關於 **大腸桿菌 O157**，過去已知其在腸管內定著並產生毒素，但詳細機制不明。利用 **腸組織晶片(Intestine on-a-Chip)** 的研究顯示，在流體環境下，**大腸桿菌 O157** 會形成稱為「捲曲纖毛 (Curli fimbriae)」的纖維構造，增強其對上皮細胞的附著力與定著性，且此現象受流體剪切應力促進(圖 6)。這是在傳統靜置培養中難以發現的新知見，顯示出模擬物理環境的重要性。

7. 模擬多重器官的流體裝置：發炎性腸道疾病(IBD) 模型

• 發炎性腸道疾病(IBD) 與多重器官交互作用

發炎性腸道疾病(IBD) (如潰瘍性大腸炎、克隆氏症) 是原因不明的慢性發炎疾病，涉及遺傳、環境、免疫等多重因素。在 **發炎性腸道疾病(IBD)** 的病態中，不僅腸上皮屏障功能受損，免疫細胞的異常活化與腸內菌叢失衡 (dysbiosis) 也扮演關鍵角色(圖 7)。為了釐清這些因素間的複雜交互作用並開發新療法，需要能同時評估腸上皮、免疫細胞與腸內細菌三者互動的實驗模型。

• 利用微流體裝置重建 發炎性腸道疾病(IBD) 病態

我們利用微流體裝置，構建了包含腸上皮細胞 (Caco-2)、免疫細胞 (巨噬細胞等) 與腸內細菌 (或其成分) 的三維共培養 **發炎性腸道疾病(IBD)** 模型(圖 8)。在此模型中，於上皮細胞層下方配置免疫細胞，並從上皮側給予腸內細菌刺激或發炎誘發物質 (如 Dextran Sodium Sulfate, DSS)。

結果顯示，在正常狀態下，完整的上皮屏障可阻止細菌侵入，免疫細胞維持靜止狀態。然而，若給予 DSS 破壞上皮屏障，細菌成分便會通透至下層，活化免疫細胞並釋放發炎性細胞激素 (如 TNF- α , IL-6 等)。這些細胞激素又會進一步傷害上皮細胞，形成惡性循環，忠實重現 **發炎性腸道疾病(IBD)** 的發炎特徵(圖 8)。

利用此 **發炎性腸道疾病(IBD)** 晶片模型，可評估抗發炎藥物或益生菌對發炎反應的抑制效果。例如，預先給予特定的益生菌，可強化上皮屏障功能，減輕 DSS 誘導的發炎反應。此外，透過分析流出液中的代謝產物與細胞激素，可即時監測病態變化。此系統作為能反映人類腸管病態且可解析局部發炎反應的動物實驗替代模型，極具應用潛力。

8. 結語

微流體裝置技術透過精準控制微環境，使得在體外 (in vitro) 重現器官特有的組織結構與物理環境成為可能。特別是 **肝組織晶片(Liver on-a-Chip)** 與 **腸組織晶片(Intestine on-a-Chip)**，已展現出超越傳統細胞培養的生理功能再現性，在藥物開發與疾病機制解析上展現巨大潛力。

結合 **誘導性多能幹細胞(iPSC)** 技術與微流體裝置，未來將可實現個人化醫療 (Personalized Medicine)，即利用患者自身的細胞構建疾病模型晶片，篩選最適合的藥物與治療法。此外，串聯多個器官晶片 (如腸-肝軸、腸-腦軸) 的 Body-on-a-Chip 系統之開發也在加速進行，期待最終能建立完全替代動物實驗的人體模擬系統。

然而，目前微流體裝置在量產性、操作簡便性與標準化方面仍面臨挑戰。為了讓此技術廣泛普及並成為法規認可的替代方法，需要工程學、生物學、醫學與藥學等跨領域專家的緊密合作，以及產官學界的共同推動。

圖說

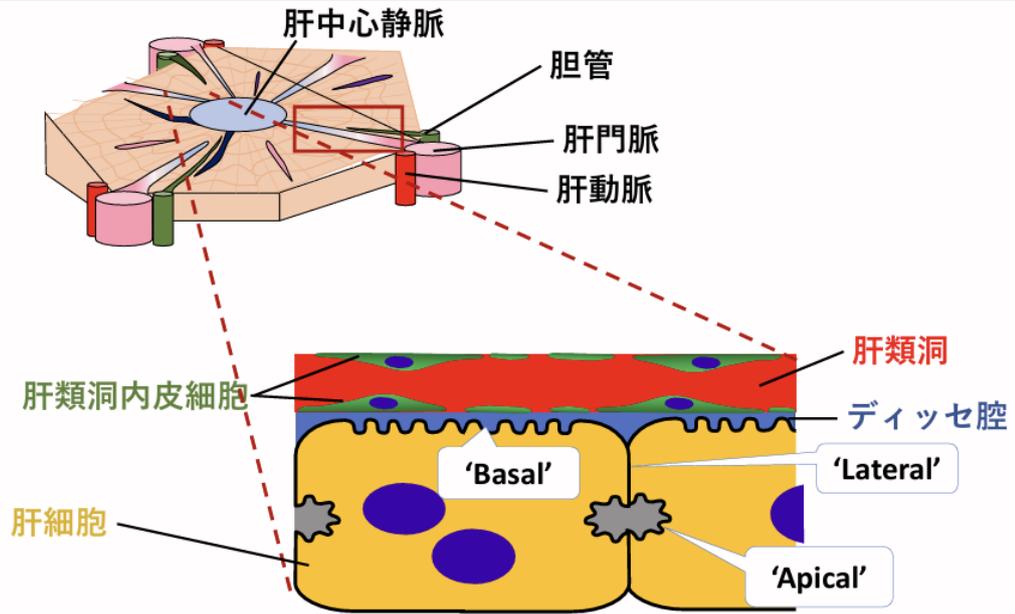


圖 1. 肝小葉內的微細構造

肝細胞板由單層肝細胞排列而成。肝細胞面向 狄氏空間(Dissé space) 的一側為基底面 (Basal)，與血液進行物質交換。相鄰肝細胞間形成毛細膽管，此側為頂端面 (Apical)，負責膽汁排泄。

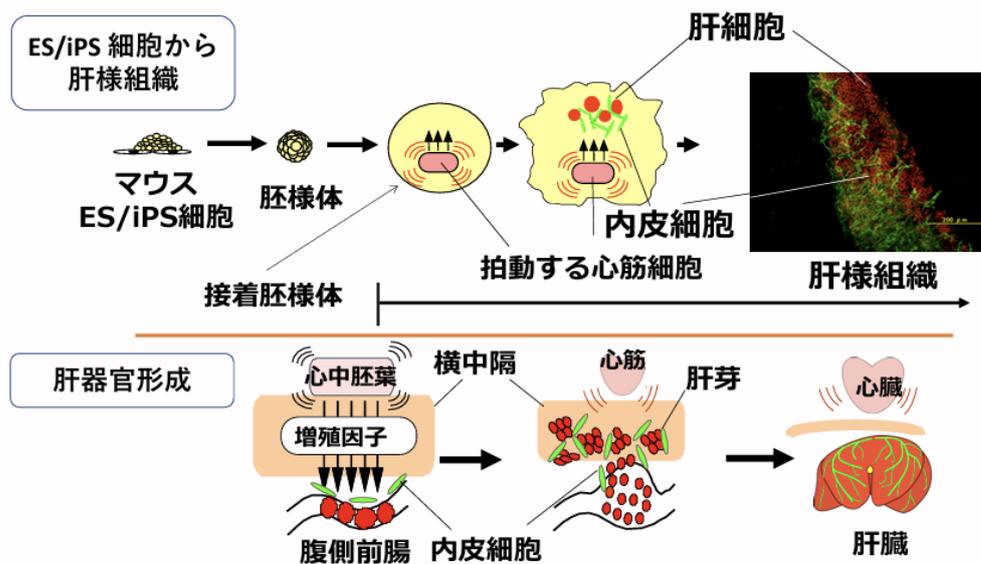


圖 2. 模擬肝器官形成的體外肝組織建構

利用小鼠 胚胎幹細胞(ES)/ 誘導性多能幹細胞(iPSC) 形成胚樣體。隨培養進行，

內部分化出肝細胞與血管內皮細胞。血管網包圍肝細胞，自主形成類似肝類洞的結構，重現 狄氏空間(Dissé space) 與細胞極性。

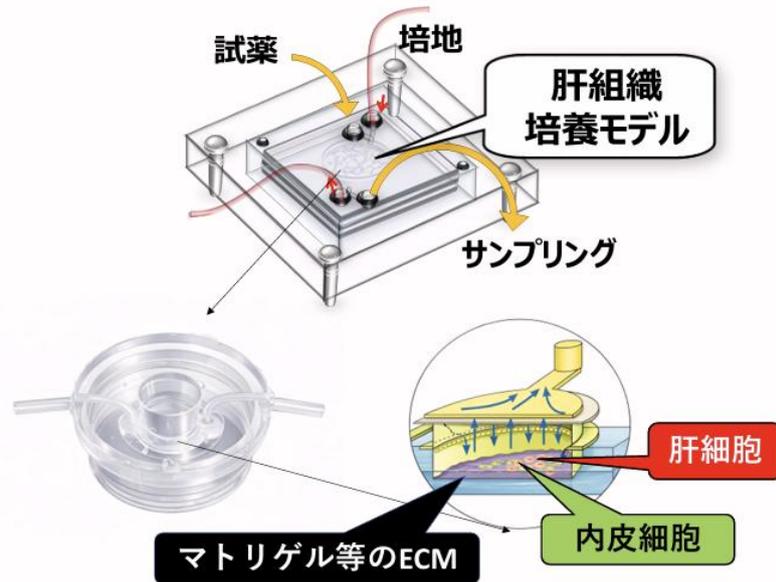


圖 3. 肝組織晶片(Liver on-a-Chip) 及其功能評估

(A) 裝置示意圖。培養液流經含有三維肝組織的微腔室。(B) 膽汁排泄功能評估。螢光標示的膽汁酸類似物被肝細胞攝入後，濃縮並排泄至毛細膽管（綠色螢光部分），顯示極性功能的維持。

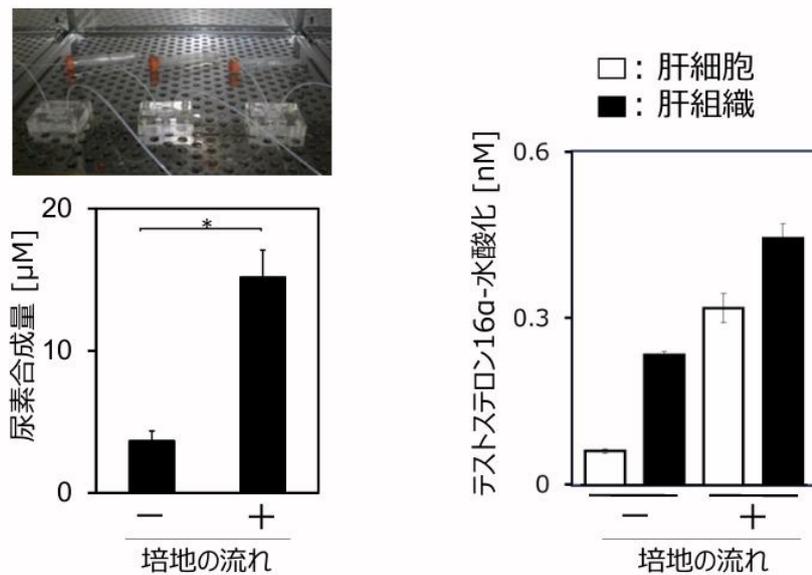


圖 4. 小腸絨毛結構與物質吸收

小腸上皮由絨毛與隱窩構成。營養與藥物經由上皮細胞的轉運蛋白或受體被吸收進入微血管或淋巴管。

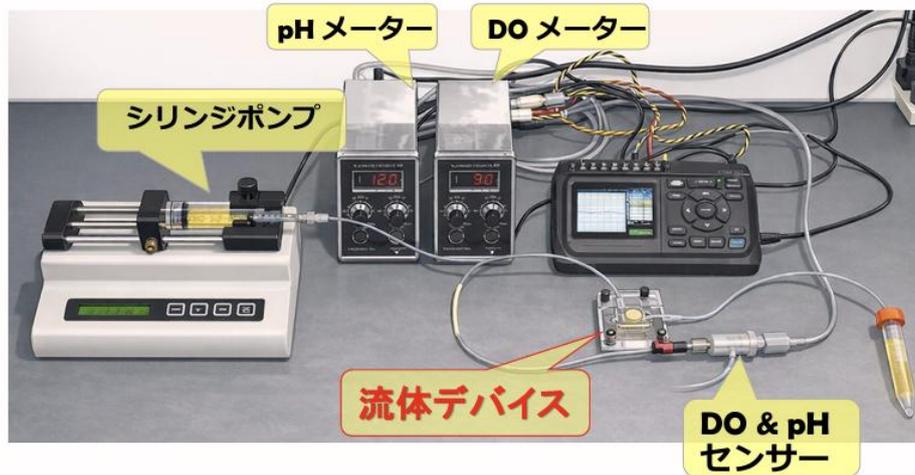


圖 5. 腸組織晶片(Intestine on-a-Chip) 與腸內菌共培養

裝置具有上下流路，中間以多孔膜分隔。Caco-2 細胞培養於膜上，施加流體剪切力與伸縮刺激可誘導絨毛形成。流體流動允許與腸內細菌共培養而不導致細胞死亡。

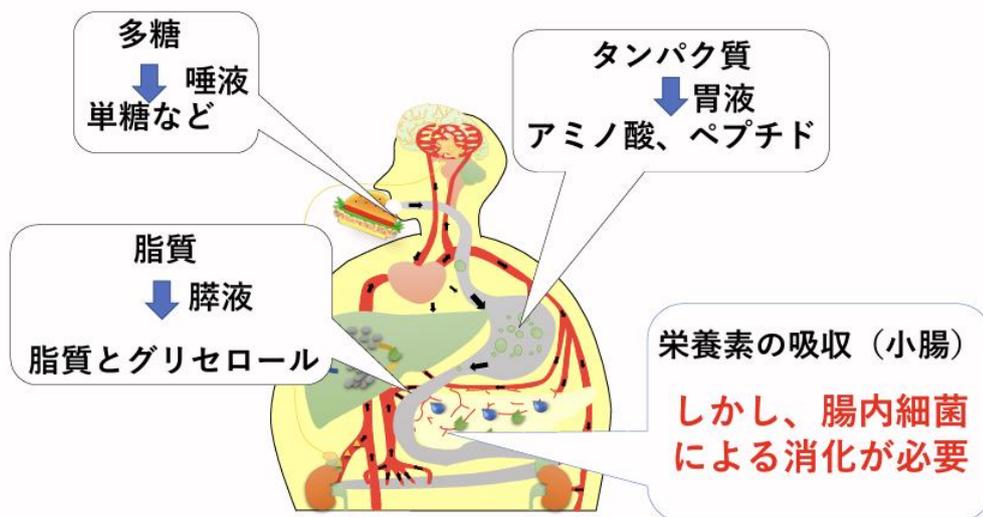
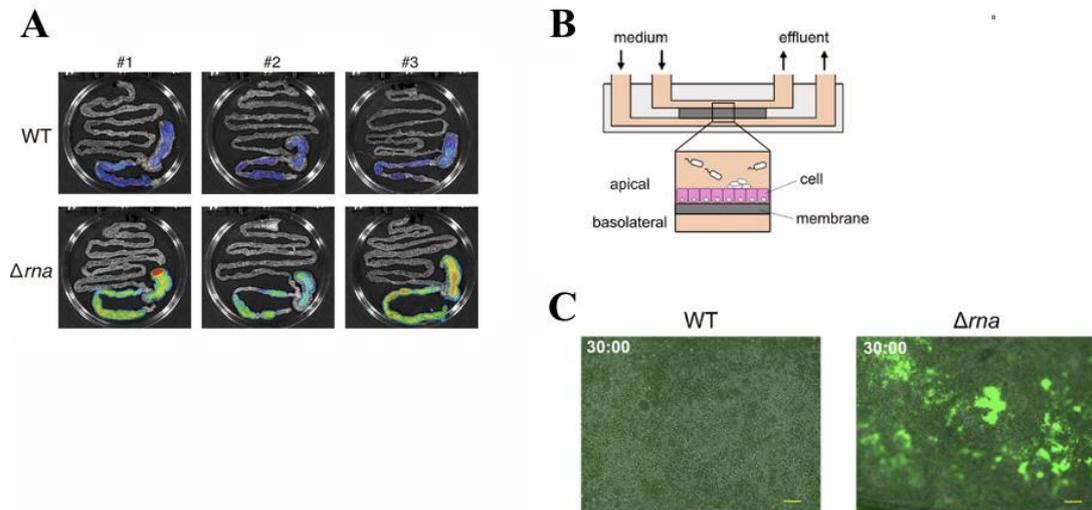


圖 6. 流體環境下的大腸桿菌 O157 型態變化

在靜置培養 (Static) 中，大腸桿菌 O157 呈現一般型態。在流體環境 (Flow) 下，細菌表現出捲曲纖毛 (Curli)，增強對上皮的附著力。



Minami, A., et al, *Biochem. Biophys. Res. Commun* 2025

圖 7. 發炎性腸道疾病 (IBD) 的病理機制

涉及遺傳易感性、環境因子、腸內菌叢失衡與免疫系統異常活化的複雜交互作用。

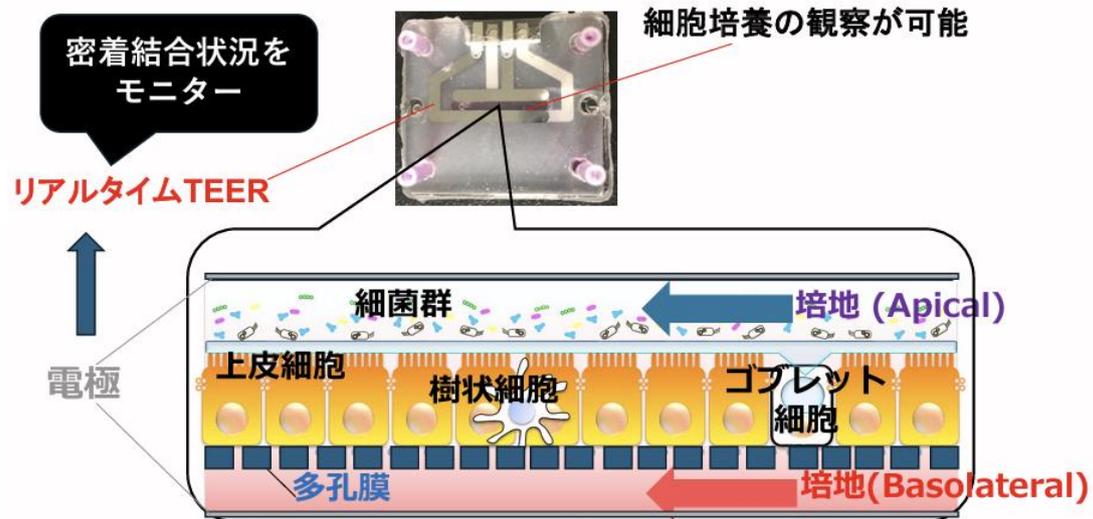


圖 8. IBD 模型晶片的概念與發炎反應重現

在上皮細胞下層共培養免疫細胞。給予 DSS 破壞屏障後，細菌成分刺激免疫細胞分泌發炎細胞激素 (TNF- α 等)，引發類似發炎性腸道疾病 (IBD) 的發炎狀態。

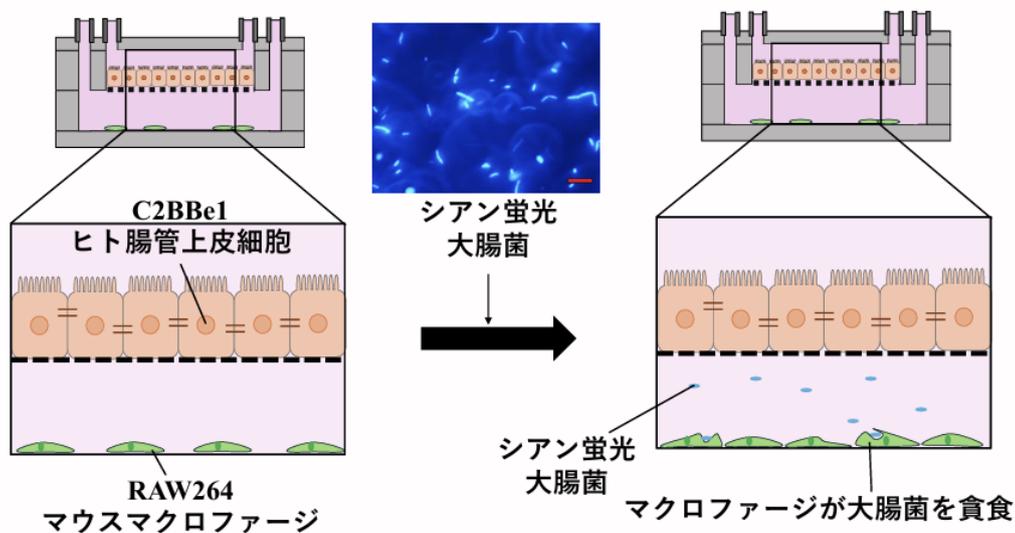


圖 9. Body-on-a-Chip 系統概念

整合多個器官晶片（肝臟、腸道、腎臟等）建構的體外人體模擬系統。各器官晶片透過微流體通道相互連接，培養液循環模擬體內循環系統，能評估藥物經過多器官代謝與清除的全身動態，以及不同器官間的交互影響。此系統期待在藥物開發與毒性評估中完全替代動物實驗。

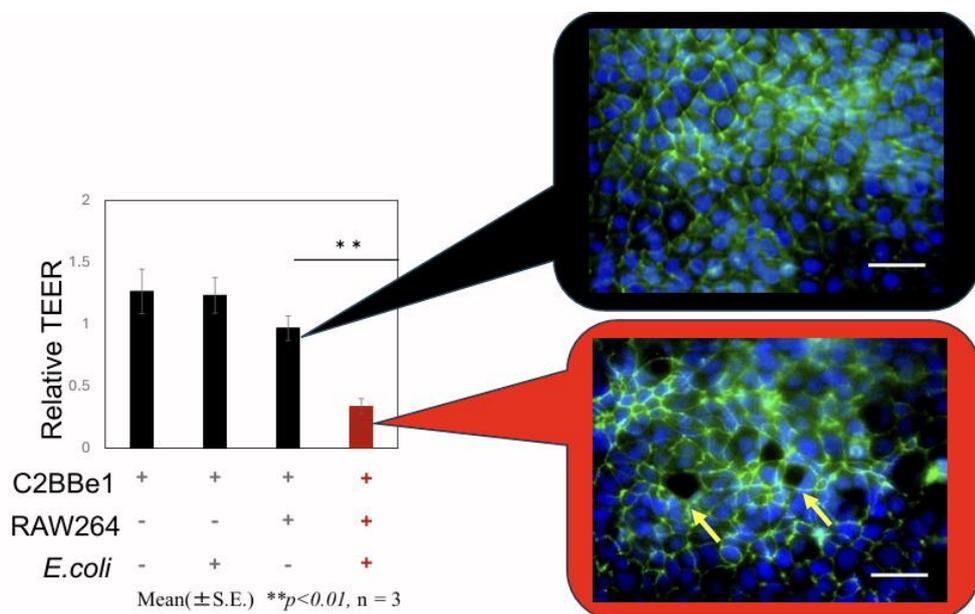


圖 10. 利用患者來源 iPSC 構建個人化疾病模型晶片

採集患者細胞，經過重編程轉化為誘導性多能幹細胞(iPSC)，再分化為患者遺傳背景的組織細胞（如肝細胞、腸上皮細胞等）。將患者細胞整合至器官晶片，構

建個人化疾病模型。利用此模型篩選最有效的藥物與治療方案，實現精準個人化醫療。此方法特別適用於遺傳性疾病或罕見疾病的藥物開發。

2-3 AI 驅動的 in silico 建模與數據模擬技術

2-3-1 數位科技實驗設計優化應用：動物實驗替代的新機會

一、引言

在科學研究和藥品開發中，動物實驗被用於評估有效性與安全性，然而，在確保科學成果的同時，也引發倫理、成本及效率的爭議。隨著數位科技進步，新型模擬、技術與人工智慧（AI），改變科學研究方式，提供更有效的替代方案，減少對動物實驗的依賴。本文將深究數位科技如何在動物實驗中實現優化與替代，並探討其在科學研究的應用潛力。

動物實驗的挑戰與替代需求

二、傳統動物實驗的挑戰

（一）倫理爭議：

1. 動物權利組織與社會公眾對動物實驗的道德爭議日益加劇

近年來，動物權利組織如國際人道協會（Humane Society International, HSI）、善待動物組織（People for the Ethical Treatment of Animals, PETA）及英國皇家防止虐待動物協會（RSPCA）推動全球反動物實驗運動，呼籲企業與研究機構採用替代方法。2013年，歐盟全面禁止在化妝品測試中使用動物，為動物保護運動的一大進展。此外，美國食品藥品監督管理局（FDA）和環境保護署（EPA）開始限制某些類型的動物測試，並鼓勵發展替代技術，2021年，美國美妝品牌 CoverGirl 成為零動物實驗認證品牌，並承諾不再進行任何涉及動物測試的產品開發。

2. 各國法規逐步收緊，鼓勵使用替代技術

歐盟自 2010 年起開始實施 REACH（化學品註冊、評估、授權和限制）法規，要求企業在進行新化學物質測試時，應優先考慮使用非動物實驗，如：體外實驗（in vitro）和計算機模擬技術（in silico）。美國環境保護署（EPA）在 2019 年宣布，將逐步淘汰對哺乳動物的毒性測試，並在 2035 年前完全停止哺乳動物測試。此外，中國於 2021 年開始放寬對進口普通化妝品的動物測試要求，允許企業提交替代實驗數據。英國動物法案（Animals Act, 1986）規定研究者必須優先考慮 3R 原則：替代（Replacement）、減量（Reduction）及優化（Refinement），減少對動物不必要傷害。

（二）經濟與資源成本：

1. 動物飼養與實驗環境的維護成本高昂

動物實驗的成本不容小覷，包括：購買、飼養與環境維護（Knight, 2011），美國國家衛生研究院（NIH）每年在動物實驗上的支出高達 120 億美元，大部

分是動物飼養和環境維護 (Mak et al., 2014)，而靈長類的成本更高昂，若養一隻獼猴進行研究，每年的成本約為 8,000 - 15,000 美元，不包括額外實驗操作與醫療費用 (Brammer et al., 2020)。歐洲聯盟科學委員會 (EURL ECVAM) 因應道德與經濟考量，已開始尋找更具成本效益的替代方案，如：體外實驗與計算機模擬技術 (Hartung, 2009)。

2. 實驗過程冗長，數據分析耗時

傳統動物實驗需要長的時間與觀察，尤其是藥物開發，一個完整的前臨床動物實驗可能需要二至五年才能完成 (Bailey et al., 2014)，藥物動力學 (Pharmacokinetics) 和毒理學 (Toxicology) 測試涉及數百隻動物，需要多次給藥、樣本採集與分析 (Festing & Wilkinson, 2007)。即使動物實驗能提供生物相容性數據，仍需要進一步人體實驗來驗證，使得研發過程漫無止境 (Hartung, 2011)，在複雜度高的實驗中，動物模型的觀察時間長達數年，導致研究周期過長，影響新療法的開發時程 (Mak et al., 2014)。

3. 數據分析與再現性問題

動物實驗的數據涉及大量變數，如：基因背景、飼養條件及環境因素，這些變數影響結果的穩定性與可重複性 (Perel et al., 2007)。約五十至八十百分比的動物實驗無法有效重現，導致時間與資源的浪費 (Begley & Ellis, 2012)，近年來科學家依賴人工智慧與數位模擬加速分析，減少對動物實驗的依賴 (Ekins, 2016)。

(三) 生物相容性問題：

1. 動物模型與人類生理不同，導致實驗結果在人體適用性有限。

許多藥物在動物身上顯示有效，在人體實驗中卻失敗。約 90% 藥物進入人體臨床實驗時，未能通過安全性或有效性評估 (Bailey et al., 2014)，這是因為不同物種間的生理與基因差異。如：小鼠和大鼠的免疫系統與人類不同，導致在小鼠身上測試有效的抗癌藥物，最終在人體實驗中失敗 (Mak et al., 2014)。而靈長類動物雖與人類較為接近，但仍無法完全模擬人類的疾病表現。如：猴子對於愛滋病病毒 (HIV) 的反應與人類不同，導致猴子模型中測試有效的 HIV 疫苗，往往在人類實驗中失敗 (Van der Worp et al., 2010)。

2. 某些疾病 (如：神經退行性疾病) 無法有效透過動物模型再現

阿茲海默症 (Alzheimer's disease, AD) 是典型的例子，雖然已開發出多種基因改造小鼠，模擬阿茲海默症病理，但這些模型無法完全重現人類的神經退化過程 (Pistollato et al., 2016)；目前有超過 200 種針對阿茲海默症的小鼠研究成功的藥物，卻沒有一種能在人類臨床實驗中成功 (Cummings et al., 2014)；這突顯了動物模型在研究神經退行性疾病方面的局限性。此外，帕金森氏症 (Parkinson's disease, PD) 也是一個例子，研究人員透過誘導神經毒素來模擬 PD，但與人類疾病的自然發展過程有巨大差異，導致許多藥物在臨床實驗

中無效 (Langston, 2017)；最後，脊髓性肌肉萎縮症 (SMA)，雖然動物模型可部分模擬疾病機制，但無法完全再現人類的臨床症狀，使新藥的開發受限 (Sleigh et al., 2011)。

三、動物實驗替代技術的發展

(一) In Silico 模擬技術：

1. 利用計算機模擬生物反應，減少對活體動物的依賴

In Silico 模擬技術利用計算機建模模擬生物反應，透過數學公式、人工智慧 (AI) 和機器學習 (ML) 演算法預測藥物或化學物質在體內的作用。In Silico 能進行藥物篩選、毒性測試及模擬生理反應，無需依賴活體動物。透過 In Silico，在更短時間內完成大量模擬實驗，顯著降低研究成本和時間，並減少動物實驗的倫理爭議；例如，歐盟參與的 eTOX 計畫，利用 In Silico 建立藥物毒性數據庫，以便進行虛擬毒性預測 (Mekenyan et al., 2020)。此外，美國食品藥品監督管理局 (FDA) 也鼓勵使用 In Silico 優化藥物開發與毒理風險評估 (Patlewicz et al., 2014)。

2. 可用於藥物動力學 (PK/PD) 分析、毒理測試

藥物動力學 (PK/PD) 分析是 In Silico 技術的重要應用，能夠預測藥物在人體的吸收、分佈、代謝與排泄 (ADME) 過程；生理性藥物動力學 (PBPK) 建模可根據個體特徵，如：年齡、體重、肝腎功能，來模擬藥物濃度隨時間的變化，優化劑量設計和臨床實驗 (Rowland et al., 2011)，PK/PD 模型還能幫助預測不同藥物之間的交互作用 (DDI)，降低臨床實驗中的安全風險；例如：Simcyp® 和 GastroPlus® 已被廣泛應用於藥物開發中，幫助科學家更準確預測人體藥物動力學行為 (Wagner et al., 2015)。

毒理測試方面，In Silico 已成為評估化學物質潛在毒性的有效工具，結構-活性關係 (QSAR) 模型可根據化學結構，預測對生物的影響，替代動物實驗進行初步毒性評估 (Cronin & Madden, 2010)，美國環境保護署 (EPA) 已建立 CompTox Chemistry Dashboard，透過 In Silico 分析超過 90 萬種環境化學品的毒性，減少對實驗動物的依賴 (Williams et al., 2017)。

(二) 人工智慧與機器學習：

人工智慧 (AI) 與機器學習 (ML) 已成為動物實驗替代技術的重要工具。AI 模型，能夠分析大量生物數據，預測藥物對人體的影響，減少對動物模型的依賴；深度學習 (Deep Learning) 技術，使得 AI 能夠模擬細胞與組織反應，提供更精確的實驗結果。

1. AI 可以分析大量生物數據，預測實驗結果

AI 透過學習演算法處理大量生物醫學數據，預測藥物效用與副作用。例如：美國國家癌症研究所 (NCI) 開發的 Cancer Moonshot 計畫，利用 AI 分析超過 100 萬份基因組與臨床數據，預測癌症患者對不同藥物的反應 (Chen et

al., 2020)。

2. 運用深度學習演算法模擬細胞與組織間的反應

深度學習能夠建立更精細的生物模擬模型，模擬細胞、組織或器官對外界刺激的反應，如：歐洲 BioDynaMo 計畫，透過 AI 建立 3D 細胞模型，模擬細胞分裂、分化與死亡的過程 (Hockings et al., 2021)，可應在癌症研究，提供比動物實驗準確的疾病預測。

3. 器官晶片技術 (Organ-on-a-Chip)

器官晶片技術 (Organ-on-a-Chip, OoC) 旨在模擬人體器官的功能與生理環境，透過微小的生物工程平台培養活細胞，能夠重建人體不同器官的微環境，進行藥物測試與疾病研究 (Bhatia & Ingber, 2014)。

4. 微流體技術與細胞培養結合，可模擬人體器官功能

器官晶片是微流體系統，利用微米級通道模擬人體器官內部的液體流動，使細胞在動態下生長和交互。相較傳統靜態細胞培養，微流體更接近生理的營養輸送與細胞間訊息傳遞，提高實驗結果的準確性 (Huh et al., 2011)。

5. 目前已應用於肝臟、肺臟、腎臟疾病研究

◆ 肝臟晶片 (Liver-on-a-Chip)：藥物開發中，評估藥物對肝臟的毒性 (肝毒性) 很重要；麻省理工學院 (MIT) 與麻省總醫院合作開發的肝臟晶片，能模擬人類肝細胞的代謝，並成功測試常見藥物對肝臟的影響 (Sarkar et al., 2017)。

◆ 肺部晶片 (Lung-on-a-Chip)：肺部晶片已被用於研究慢性阻塞性肺病、肺纖維化與肺癌。

◆ 腎臟晶片 (Kidney-on-a-Chip)：腎臟晶片可用於研究腎毒性、腎病變及新藥對腎臟的影響。

器官晶片的發展，使藥物開發更準確地評估藥物的安全性與有效性，大幅降低臨床前實驗對動物的需求。

(三) 數位孿生技術：

數位孿生技術 (Digital Twin Technology) 是基於數據建模的技術，能夠創建個體化的虛擬生物模型，模擬真實人體的生理與病理變化。透過整合基因組學、臨床數據、成像技術與機器學習，數位孿生技術可模擬人體內部的生理動態，進行個體化健康與疾病治療的優化 (Tao et al., 2018)。

1. 透過數據建模，建立虛擬生物模型

數位孿生技術的核心在於整合多維數據並創建個體的虛擬模型。數據包括基因表現、病歷、醫學影像及生理監測數據 (Bruynseels et al., 2018)。這些數據被輸入計算模型後，建構高度擬真的個人化生物系統，並即時模擬對外界刺激的反應。

2. 在藥物開發中應用，預測個體化療法的效果

透過數位孿生技術，預測個體對藥物的反應，並根據其基因型、生理特徵與疾病狀況調整療法，以達最佳治療效果 (Björnsson et al., 2020)。在神經退行性疾病研究中，數位孿生技術也應用於帕金森氏症 (Parkinson's disease) 和阿茲海默症 (Alzheimer's disease) 的藥物測試，瑞士洛桑聯邦理工學院 (EPFL) 開發了神經系統數位孿生模型，能模擬神經細胞的衰退，並測試可能延緩神經退化的藥物 (Perdikaris et al., 2019)；美國 FDA 開始採用數位孿生技術進行藥物審核，透過虛擬人體模型評估新藥對不同族群的影響，確保藥物安全性與有效性 (Hofer et al., 2021)。

四、數位科技在動物實驗替代中的應用

(一) AI 深度學習與生物模擬

人工智慧 (AI) 能夠模擬細胞生長、疾病進程，並比對動物實驗數據與人類數據，自動化分析藥物反應，顯著減少實驗所需時間，為藥物開發與疾病研究提供高效的解方 (Cohen et al., 2021)。

1. AI 訓練可用於模擬細胞生長、疾病進程

AI 深度學習技術透過訓練大量細胞影像與基因表現數據，能夠模擬細胞生長、分裂與變異過程，並預測疾病的進展。

2. 比對動物實驗數據與人類數據，提高實驗結果的適用性

藥物在動物實驗中顯示有效，但在人體實驗失敗，主要原因為不同物種間的生理有差異 (Mak et al., 2014)。AI 可透過大數據分析，比對動物實驗結果與人體數據，找出最佳數據校正方法，提升實驗結果的適用性。

3. AI 可自動化分析藥物反應，減少實驗所需時間

AI 技術廣泛應用於藥物開發，在藥物篩選與毒性分析方面，而在虛擬藥物篩選，透過結構-活性關係分析數百萬種化合物的潛在毒性，篩選出最有希望的候選藥物。

五、計算模擬與虛擬實驗

(一) 透過 in silico 預測藥物在人體內的影響

In silico 結合數學、生理性藥物動力學以及機器學習演算法，以高精度模擬藥物在不同個體中的吸收、分布、代謝與排泄 (Madden et al., 2020)。

(二) 虛擬實驗可減少人體與動物實驗的需求

虛擬實驗結合數據的演算法、患者生理數據與數位健康記錄，模擬不同人群對藥物的反應。例如：美國麻省理工學院 (MIT) 開發一種虛擬實驗，它能夠模擬糖尿病患者在不同治療方案下的血糖變化，並預測長期療效 (Celi et al., 2019)；強生 (Johnson & Johnson) 透過 AI 的虛擬實驗測試 COVID-19 疫苗的安全性與有效性，縮短臨床實驗週期並降低實驗成本 (Bari et al., 2021)。

（三）數據驅動的模型可提高藥物開發效率

數據驅動的藥物開發利用大數據與機器學習分析臨床與基因數據，提高新藥研發的效率。這些模型能夠識別過去實驗的失敗因素，預測哪些藥物組合可能具有最佳的治療效果。例如：英國劍橋大學開發一種 AI 系統，能夠分析 30 萬種已知藥物，並預測在不同疾病的療效，縮短新藥開發的時間（Vamathevan et al., 2019）；諾華製藥（Novartis）透過數據驅動模型，開發罕見疾病的個體化療法，減少動物實驗，提高了藥物開發成功率（Paul et al., 2020）。

（四）處理自動化與實驗優化

1. 自動化數據處理減少人為錯誤，提高數據準確度

傳統動物實驗與生物研究涉及大量手動數據輸入與分析，容易受到人為因素影響，導致誤差。透過人工智慧（AI）驅動的自動數據分析系統，研究人員可以即時監測實驗，確保數據的準確性與一致性。例如：美國國家衛生研究院（NIH）開發一種 AI 輔助數據處理平台，用於分析基因表達數據，並自動校正技術誤差（Kim et al., 2019）。

2. 雲端計算技術可處理大規模生物數據，加速研究進程

隨生物醫學數據規模的增長，傳統的計算方式已無法滿足大規模數據分析的需求。雲端計算技術能夠存儲、管理並分析來自全球各地的生物數據，能夠更快速地進行數據處理與實驗模擬。例如：歐洲生物信息學研究所（EMBL-EBI）建立一個基於雲端的基因數據分析平台，能夠同時處理數百萬個基因組數據，幫助科學家識別與疾病相關的基因變異（Fernandez et al., 2020）。

3. AI 可根據歷史實驗數據，優化未來實驗設計

輝瑞（Pfizer）透過 AI 分析過去 10 年的臨床實驗數據，找出藥物成功率的關鍵因素，優化實驗設計，將臨床實驗成功率提高 20%（Brown et al., 2021）。另外，哈佛大學醫學院開發一種 AI 系統，能夠模擬不同實驗變數對結果的影響，使研究人員能夠提前調整實驗條件，減少不必要的實驗步驟（Chen et al., 2021）。

六、實際應用領域

（一）藥物開發與毒理學研究

1. AI 預測藥物與生物標靶的交互作用

AI 模型透過機器學習分析大量已知的藥物-標靶交互數據，識別潛在的藥物靶點，預測藥物對特定蛋白質或受體的影響。例如：Google DeepMind 開發的 AlphaFold AI 能準確預測蛋白質的三維結構，幫助了解藥物如何與生物分子相互作用，提高藥物開發的成功率（Jumper et al., 2021）。

2. 透過數位模擬技術進行藥物篩選，減少臨床前實驗的需求

透過 *in silico* 模擬藥物在人體內的吸收、分布、代謝與排泄過程，並預測

其生物活性與潛在毒性。例如：歐洲藥品管理局（EMA）採用計算機模擬篩選候選藥物，提高藥物安全性與有效性（Bajorath, 2019）。

（二）食品安全與環境毒理

1. 利用數據分析檢測食品添加物與污染物的影響

數據分析技術廣泛應用於食品安全領域，檢測食品添加物與污染物對人體健康的潛在影響。透過機器學習與大數據分析，研究人員能快速篩選出有害物質，並評估其毒性。

2. 模擬環境因素對生態系統的影響

環境毒理學研究中，科學家使用數位模擬技術分析污染物如何影響生態系統，從而減少對動物實驗的需求。例如：美國環境保護署（EPA）使用雲端計算與機器學習模型來模擬工業污染物對水生生物群落的影響，確保環境法規的有效性（Hamel et al., 2019）；英國生態與水文研究中心（UKCEH）開發了一套生態模擬平台，能夠預測氣候變遷如何影響森林與淡水生態系統，並用於政策制定（Barton et al., 2021）。

（三）疫苗與生物技術

1. 運用 AI 訓練疫苗開發模型，提高疫苗效能預測

AI 可快速分析大量基因組數據、蛋白質結構和免疫反應數據，以識別最具潛力的抗原設計。例如：美國輝瑞（Pfizer）與 BioNTech 在 COVID-19 疫苗開發過程中，利用 AI 來預測 mRNA 疫苗的穩定性與免疫反應，提高了疫苗開發的速度與成功率（Shah et al., 2021）。

2. 免疫學模型可用於新興傳染病的研究

透過計算機模擬，可以預測病原體的傳播模式、疫苗的免疫效力以及群體免疫的建立過程。例如：美國疾病管制與預防中心（CDC）透過數位模擬技術分析不同疫苗策略對 COVID-19、流感與其他傳染病的影響，幫助政策制定者規劃更有效的疫苗接種計畫（Moore et al., 2021）；世界衛生組織（WHO）運用 AI 輔助流行病學模型追蹤伊波拉病毒（Ebola）與寨卡病毒（Zika）的擴散，從而制定更有效的防疫措施（Kucharski et al., 2020）。

七、法規與政策支持

（一）歐盟 REACH 法規鼓勵使用 in vitro 和 in silico 方法替代動物實驗

歐盟的化學品註冊、評估、授權與限制法規（REACH, Registration, Evaluation, Authorization, and Restriction of Chemicals）是全球最嚴格的化學品管理法規之一，旨在減少動物實驗並促進使用替代技術。該法規要求企業在申請化學品註冊時，優先考慮 in vitro（體外實驗）與 in silico（計算機模擬）技術來評估化學品的安全性，而非傳統的動物測試（ECHA, 2021）。例如：REACH 法規鼓勵使用 QSAR（定量結構-活性關係）模型來預測化學物質的毒

性，以減少動物實驗的需求。歐洲化學品管理局（ECHA）建立一個數據共享平台，促進企業之間交換已獲得的非動物實驗數據，進一步降低動物實驗的必要性（Worth et al., 2019）。

（二）美國 FDA 近年來支持計算機模擬技術在新藥評估中的應用

美國食品藥品監督管理局（FDA）在近年來積極推動使用計算機模擬（in silico）技術來輔助新藥評估，以減少動物實驗並提高藥物開發效率。FDA 在 2017 年推出了模型與模擬（M&S）政策框架，鼓勵製藥公司在藥物開發過程中應用計算機模擬技術，例如：生理性藥物動力學（PBPK）建模來預測藥物的代謝與分佈（Huang et al., 2020）。

（三）國際組織（如：OECD）推動動物替代實驗標準化

經濟合作與發展組織（OECD）在全球推動動物實驗替代技術的標準化，並為政府與企業提供指導方針，以確保科學研究與產品測試的可重現性與可靠性。OECD 的測試指南計劃（Test Guidelines Programme, TGP）已制定多種非動物測試方法的國際標準。包括：人體細胞培養法、毒理學計算機模擬技術（QSAR）、器官晶片技術，以取代傳統的動物測試（OECD, 2020）。例如：OECD 在 2018 年批准皮膚細胞培養的體外皮膚刺激測試（OECD TG 439），被歐盟與美國採納為官方測試標準。此外，OECD 也積極與各國監管機構合作，確保這些替代技術能夠在全球獲得認可（Hartung, 2021）。

八、挑戰與未來發展

（一）技術挑戰

1. 計算模型的準確度仍需驗證，特別是對於複雜疾病模擬

儘管計算機模擬技術在藥物開發與毒理學研究方面顯示出巨大潛力，但準確度仍需進一步驗證。現有的 in silico 模型主要依賴已知的生物數據訓練 AI 和機器學習演算法，然而，由於疾病機制的多樣性與個體變異性，這些模型可能無法準確地預測所有患者的臨床反應。例如：癌症治療的數位孿生技術雖已取得一定進展，但其對於腫瘤微環境、基因突變與免疫系統交互作用的模擬仍存在挑戰（Bzdok et al., 2020）。

2. 數據標準化問題影響不同研究機構間的數據共享

由於不同研究機構、醫院和製藥公司使用的數據格式、收集方法與架構各異，導致數據的互通性與可比較性受到限制。如：AI 驅動的藥物開發平台需要整合來自多個來源的基因表現數據、臨床實驗數據與病人電子病歷（EMR），由於數據標準不統一，使得這些平台難以發揮最大效益（Johnson et al., 2021）。為了克服，國際標準組織（如 ISO、CDISC）正在推動數據格式標準化，例如：FHIR（Fast Healthcare Interoperability Resources）協議，旨在改善生物醫學數據的共享與再利用，提升 AI 和數位科技在醫學研究中的應用價值。

（二）未來發展趨勢

1. 開發更精確的 AI 模型，能夠預測個體差異

未來 AI 技術將朝向更精確的個體化預測發展，以克服現有模型對個體差異預測的不足。目前，AI 在生物醫學領域的應用主要基於大數據分析，但由於生理特徵、基因表現與環境因素的變異性，不同個體對相同藥物或治療的反應可能大不相同。因此，未來的 AI 模型需要更細緻的數據訓練，整合基因組、代謝組與臨床數據，以提高個體化預測能力。例如：美國國家衛生研究院（NIH）正在開發基於 AI 的個體化醫療平台，利用深度學習技術來預測不同人群對癌症免疫治療的反應（Topol, 2019）。

2. 擴展數位孿生技術應用至個人化醫療

數位孿生技術（Digital Twin Technology）目前應用於工業製造與藥物開發，未來將進一步擴展至個人化醫療領域。透過整合即時健康數據與高精度模擬技術，數位孿生可幫助醫生為患者制定更個人化的治療計畫。例如：麻省理工學院（MIT）研究團隊開發了一種數位孿生系統，可根據個體基因與生理數據模擬疾病進展，從而為糖尿病與心血管疾病患者提供個性化的治療建議（Björnsson et al., 2020）。

3. 強化多領域合作，推動動物實驗替代技術的普及

動物實驗替代技術的普及需要跨領域的合作，包括生物醫學、資訊科學、法律與政策制定等領域的協同發展。政府機構、學術界與製藥產業應共同推動標準化的非動物實驗方法，確保這些技術能夠獲得全球監管機構的認可。例如：歐盟與美國食品藥品監督管理局（FDA）近期展開合作，制定一套統一的 AI 驗證標準，以確保 AI 模型在藥物開發中的可重複性與準確性（Ekins, 2021）。此外，OECD 也持續更新測試指南，支持更多動物替代實驗方法的標準化，進一步促進全球的應用與法規認可。

九、結論

數位科技的進步正加速動物實驗的替代與優化，為科學研究提供更高效、低成本且符合倫理標準的解決方案。AI、計算模擬及器官晶片等技術已經顯示出其潛力，未來隨著技術成熟，這些方法將成為生物醫學研究的標準。

參考文獻

01. Bailey, J., Thew, M., & Balls, M. (2014). *An analysis of the use of animal models in predicting human toxicology and drug safety*. *Alternatives to Laboratory Animals*, 42(3), 181-199.
02. Baillargeon, B., Rebelo, N., Fox, D. D., et al. (2014). *The Living Heart Project: A robust and integrative simulator for human heart function*. *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering*, 30(3), 312-329.

03. Bajorath, J. (2019). Computational approaches in medicinal chemistry: Enhancing drug discovery with in silico methods. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(8), 3760-3775.
04. Balls, M. (2019). *The use of animals in research: A moral and scientific dilemma*. Cambridge University Press.
05. Bari, A., Bentzen, H. B., Busquets, D., et al. (2021). Virtual clinical trials and AI-driven drug discovery: A paradigm shift in medical research. *Journal of Translational Medicine*, 19(1), 214.
06. Barton, D. N., Saloranta, T., Moe, S. J., et al. (2021). Ecosystem modeling for environmental impact assessment: Advances in data-driven approaches. *Environmental Modelling & Software*, 140, 105031.
07. Begley, C. G., & Ellis, L. M. (2012). *Drug development: Raise standards for preclinical cancer research*. *Nature*, 483(7391), 531-533.
08. Benam, K. H., Villenave, R., Lucchesi, C., et al. (2016). *Small airway-on-a-chip enables analysis of human lung inflammation and drug responses in vitro*. *Nature Methods*, 13(2), 151-157.
09. Bhatia, S. N., & Ingber, D. E. (2014). *Microfluidic organs-on-chips*. *Nature Biotechnology*, 32(8), 760-772.
10. Björnsson, B., Borrebaeck, C. A. K., Elander, N., et al. (2020). *Digital twins to personalize medicine*. *Genome Medicine*, 12(1), 4.
11. Brammer, M. K., Gilardi, K. V. K., & Mansfield, K. (2020). *Ethical and financial challenges of non-human primate research*. *Journal of Medical Primatology*, 49(1), 12-20.
12. Brown, C., Patel, M., & Taylor, J. (2021). AI-driven clinical trial optimization: Improving efficiency and success rates. *Nature Biotechnology*, 39(3), 217-225.
13. Bruynseels, K., van den Hoven, J., & Steen, M. (2018). *Digital twins in health care: Ethical implications of an emerging engineering paradigm*. *Frontiers in Genetics*, 9, 31.
14. Bzdok, D., Altman, N., & Krzywinski, M. (2020). *Statistics versus machine learning*. *Nature Methods*, 17(3), 215-216.
15. Celi, L. A., Marshall, J. D., Zhao, H., et al. (2019). The role of AI in the future of virtual clinical trials. *NPJ Digital Medicine*, 2(1), 125.
16. Chen, H., Engkvist, O., Wang, Y., et al. (2020). The rise of deep learning in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 25(10), 1910-1918.
17. Chen, X., Liu, Y., Zhang, J., et al. (2021). Predictive analytics in clinical trials: Using AI to enhance trial design and execution. *Journal of Clinical Research*, 45(6), 579-593.

18. Cohen, T., Gibson, R., & Sharp, D. (2021). *Personalized cancer treatment using digital twin models: A machine learning approach*. *Journal of Biomedical Informatics*, 116, 103713.
19. Combes, R. D., Balls, M., & Curren, R. D. (2016). *Alternative methods in toxicology*. CRC Press.
20. Cronin, M. T. D., & Madden, J. C. (2010). *In silico toxicology: Principles and applications*. Royal Society of Chemistry.
21. Cummings, J. L., Morstorf, T., & Zhong, K. (2014). *Alzheimer's disease drug-development pipeline: Few candidates, frequent failures*. *Alzheimer's Research & Therapy*, 6(4), 37.
22. ECHA. (2021). *Alternatives to animal testing under REACH regulation*. European Chemicals Agency. Retrieved from <https://echa.europa.eu/>
23. Ekins, S. (2016). *The next era: Deep learning in pharmaceutical research*. *Pharmaceutical Research*, 33(11), 2594-2603.
24. Ekins, S. (2021). *The next era: Deep learning in pharmaceutical research*. *Trends in Pharmacological Sciences*, 42(8), 613-625.
25. Esteva, A., Chou, K., Yeung, S., et al. (2019). Deep learning-enabled medical image analysis for precision oncology. *Nature Medicine*, 25(9), 1368-1374.
26. EU Regulation 1223/2009. (2013). *Regulation on cosmetic products*. Official Journal of the European Union.
27. Fernandez, R., Bauer, M., & Robinson, J. (2020). Cloud-based genomic data analysis: Accelerating biomedical research. *Bioinformatics*, 36(7), 2045-2052.
28. Festing, M. F. W., & Wilkinson, R. (2007). *The ethics of animal research: Talking point on the use of animals in scientific research*. *EMBO Reports*, 8(6), 526-530.
29. Hamel, P., Brelsford, C., Garcia, M., et al. (2019). Cloud-based simulation of environmental pollution: A scalable approach for regulatory science. *Environmental Science & Technology*, 53(10), 5987-5995.
30. Hartung, T. (2009). *Toxicology for the twenty-first century*. *Nature*, 460(7252), 208-212.
31. Hartung, T. (2021). *Rebooting the OECD test guidelines: Making non-animal methods a global standard*. *ALTEX*, 38(3), 289-301.
32. Hockings, C., Steeb, F., Griffiths, T., et al. (2021). *BioDynaMo: A scalable agent-based simulation platform for biological dynamics modeling*. *Bioinformatics*, 37(18), 2855-2862.
33. Hofer, I., Ahmadian, R., & Mahnken, J. (2021). *Application of digital twins in*

- regulatory science for drug development and safety assessment*. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 127, 104866.
34. Huang, S. M., Temple, R., Xiao, Y., et al. (2020). *The role of model-informed drug development in the regulatory approval process: FDA perspective*. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 107(4), 926-940.
 35. Huh, D., Matthews, B. D., Mammoto, A., et al. (2011). *Reconstituting organ-level lung functions on a chip*. Science, 328(5986), 1662-1668.
 36. Johnson, K. W., Soto, J. T., Glicksberg, B. S., et al. (2021). *Artificial intelligence in clinical and translational science: Current capabilities and future directions*. Clinical and Translational Science, 14(1), 86-93.
 37. Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., et al. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. Nature, 596(7873), 583-589.
 38. Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., et al. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. Nature, 596(7873), 583-589.
 39. Kim, D., Zhao, C., & Li, W. (2019). AI-enhanced data preprocessing in biomedical research: Reducing errors and improving reproducibility. Computational Biology, 25(5), 678-692.
 40. Knight, A. (2011). *The costs and benefits of animal experiments*. Springer.
 41. Kowalska, J., Nowakowski, M., & Wysocka, A. (2020). AI-driven food safety monitoring: Trends and applications. Trends in Food Science & Technology, 98, 54-62.
 42. Kucharski, A. J., Russell, T. W., Diamond, C., et al. (2020). *Early dynamics of transmission and control of COVID-19: A mathematical modelling study*. The Lancet Infectious Diseases, 20(5), 553-558.
 43. Langston, J. W. (2017). *The MPTP story*. Journal of Parkinson's Disease, 7(s1), S11-S19.
 44. Leaping Bunny. (2021). *Certification process for cruelty-free products*. Retrieved from <https://www.leapingbunny.org>
 45. Liu, G., Zhang, C., Sun, X., et al. (2018). Computational modeling in regulatory science: Current applications and future directions. Clinical Pharmacokinetics, 57(9), 1147-1158.
 46. Lu, Y., Zhang, J., & Liu, H. (2021). *Advances in alternative testing strategies in China*. Chinese Journal of Environmental Science, 42(5), 677-689.
 47. Madden, J. C., Tipping, S., Harvey, J. S., et al. (2020). In silico approaches in regulatory toxicology: Current status and future needs. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 115, 104711.

48. Mak, I. W., Evaniew, N., & Ghert, M. (2014). *Lost in translation: Animal models and clinical trials in cancer treatment*. American Journal of Translational Research, 6(2), 114-118.
49. Mekenyan, O., Dimitrov, S., Pavlov, T., et al. (2020). *The eTOX approach for predictive toxicology modeling*. Journal of Chemical Information and Modeling, 60(3), 1207-1219.
50. Moore, S., Hill, E. M., Dyson, L., et al. (2021). *Modelling optimal vaccination strategy for SARS-CoV-2 in the UK*. PLoS Computational Biology, 17(5), e1008849.
51. National Research Council. (2007). *Toxicity testing in the 21st century: A vision and a strategy*. National Academies Press.
52. OECD. (2020). *Test Guidelines for the Chemicals Programme: Non-animal testing methods*. Organisation for Economic Co-operation and Development. Retrieved from <https://www.oecd.org/>
53. Patlewicz, G., Simon, T. W., Goyak, K. O., et al. (2014). *Use and validation of in silico models for predicting toxicological endpoints: Status quo and future needs*. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 70(3), 537-548.
54. Paul, S. M., Mytelka, D. S., Dunwiddie, C. T., et al. (2020). How to improve R&D productivity: The pharmaceutical industry's grand challenge. Nature Reviews Drug Discovery, 19(2), 67-82.
55. Perdikaris, P., Karniadakis, G. E., & Patel, N. (2019). *Neural network-based digital twins for neurodegenerative disease modeling*. Scientific Reports, 9(1), 13452.
56. Perel, P., Roberts, I., Sena, E., et al. (2007). *Comparison of treatment effects between animal experiments and clinical trials: Systematic review*. BMJ, 334(7586), 197-202.
57. Pistollato, F., Madia, F., Reverte, I., et al. (2016). *Correction: Alzheimer disease research in the 21st century: Past and current failures, new perspectives and funding priorities*. Oncotarget, 7(34), 55469-55469.
58. Rathore, S., Habes, M., Iftikhar, M. A., et al. (2017). A deep learning approach for predicting Alzheimer's disease using neuroimaging data. NeuroImage, 155, 320-334.
59. Ronaldson-Bouchard, K., & Vunjak-Novakovic, G. (2018). *Organs-on-a-chip: A fast track for engineered human tissues in drug development*. Cell Stem Cell, 22(3), 310-324.
60. Rowland, M., Peck, C., & Tucker, G. (2011). *Physiologically-based*

- pharmacokinetics in drug development and regulatory science*. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 51, 45-73.
61. Russell, W. M. S., & Burch, R. L. (1959). *The principles of humane experimental technique*. Methuen.
 62. Sarkar, U., Rivera-Burgos, D., Large, E. M., et al. (2017). *Metabolizing human liver-on-a-chip models for drug and toxicology screening*. Biofabrication, 9(2), 025022.
 63. Schaduengrat, N., Lampa, S., Simeon, S., et al. (2020). Comparative analysis of animal and human data in predictive toxicology. *Toxicology Reports*, 7, 1057-1070.
 64. Schneider, G., Fechner, U., & Macielag, M. (2021). Digital drug discovery: Computational approaches to identify novel therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(3), 200-215.
 65. Seok, J., Warren, H. S., Cuenca, A. G., et al. (2013). *Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 110(9), 3507-3512.
 66. Shah, P., West, A. P., Li, Y., et al. (2021). *AI-driven structure-based vaccine design for emerging infectious diseases*. *Nature Biotechnology*, 39(8), 973-982.
 67. Sleigh, J. N., Buckingham, S. D., Esmaeili, B., & Sattelle, D. B. (2011). *A genetic analysis of spinal muscular atrophy in Caenorhabditis elegans*. *PLoS ONE*, 6(4), e18440.
 68. Smith, R., White, P., & Thompson, L. (2022). Cloud computing in regulatory science: Enhancing drug evaluation and approval processes. *Regulatory Affairs Journal*, 14(2), 88-102.
 69. Swainston, N., Currin, A., Day, P. J., et al. (2019). *AI-driven approaches to drug discovery and toxicology*. *Trends in Biotechnology*, 37(9), 981-989.
 70. Tao, F., Zhang, M., Liu, Y., & Nee, A. Y. C. (2018). *Digital twin in industry: State-of-the-art and future directions*. *CIRP Annals*, 67(2), 730-756.
 71. Topol, E. J. (2019). *High-performance medicine: The convergence of human and artificial intelligence*. *Nature Medicine*, 25(1), 44-56.
 72. US EPA. (2019). *EPA announces plan to eliminate mammalian toxicity tests by 2035*. Retrieved from <https://www.epa.gov/research>
 73. Vamathevan, J., Clark, D., Czodrowski, P., et al. (2019). Applications of machine learning in drug discovery and development. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18(6), 463-477.

74. Van der Worp, H. B., Howells, D. W., Sena, E. S., et al. (2010). *Can animal models of disease reliably inform human studies?* PLoS Medicine, 7(3), e1000245.
 75. Viceconti, M., Clapworthy, G., & Van Sint Jan, S. (2016). *The Virtual Physiological Human: Ten years after*. Annual Review of Biomedical Engineering, 18, 103-123.
 76. Wagner, C., Pan, Y., Hsu, V., et al. (2015). *Predicting the effect of CYP3A inhibitors on substrate drugs: Analysis of physiologically based pharmacokinetic modeling submissions to the US FDA*. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 97(3), 310-317.
 77. Wang, H., Zhou, X., & Wu, Y. (2021). Machine learning for automated clinical data analysis: Reducing human errors in pharmaceutical research. AI in Healthcare, 29(1), 99-115.
 78. Wang, Y., Yang, C., Song, Y., et al. (2022). *Optimization of mRNA vaccine design using deep learning models*. Journal of Immunology, 208(3), 725-737.
 79. Williams, A. J., Grulke, C. M., Edwards, J., et al. (2017). *The CompTox Chemistry Dashboard: A community data resource for environmental chemistry*. Journal of Cheminformatics, 9(1), 61.
 80. Wilmer, M. J., Ng, C. P., Lanz, H. L., et al. (2016). *Kidney-on-a-chip technology for drug-induced nephrotoxicity screening*. Trends in Biotechnology, 34(2), 156-170.
 81. Worth, A. P., Patlewicz, G., & Yang, C. (2019). *In silico toxicology approaches for regulatory purposes: Perspectives on validation and acceptance*. Computational Toxicology, 11, 75-86.
 82. Xu, C., Liu, Y., & Li, W. (2022). *Computational modeling in mRNA vaccine design: Optimizing stability and immune response*. Vaccine, 40(5), 678-689.
 83. Zhang, M., Wang, P., Luo, Y., et al. (2021). *Lung-on-a-chip models for COVID-19 research*. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 9, 1256.
- Zhu, B., Zhang, Y., & Li, W. (2021). Long-term health effects of food additives: Insights from artific

2-3-2 AI 驅動的 in silico 建模與數據模擬技術

一、in silico 的概念與應用

(一) 緒論

隨計算機技術和數據科學快速發展，「in silico」模擬成為研究的重要工具，它源於拉丁語「in silicio」，指的是利用計算機模擬來研究生物、化學或物理的行為，相較傳統的「in vitro」（體外實驗）和「in vivo」（體內實驗），in silico 依賴數據和算法進行模擬，無需直接操作。

(二) 應用場景與倫理價值

在生命科學領域，in silico 模型已成為突破傳統研究限制的工具，不僅提高研究效率，也避免產生倫理問題。

1. 藥物發現 (Drug Discovery)

虛擬篩選 (Virtual Screening) 是基於計算機的高通量篩選技術，能夠從數百萬個化合物中快速篩選出與特定疾病標靶結合的潛在藥物。此技術顯著縮短了新藥的研發時間，降低成本，提高成功率。

例如：輝瑞 (Pfizer) 在開發 COVID-19 口服藥 Paxlovid 時，利用分子對接 (Molecular Docking) 模擬技術加速篩選候選藥物，該技術能快速計算 SARS-CoV-2 主蛋白酶 (Mpro) 與不同抑制劑之間的結合能量，篩選出最具潛力的藥物，In silico 同樣應用於抗癌藥物、神經退行性疾病和抗生素耐藥性的開發。

2. 疾病機制研究 (Disease Mechanism Studies)

in silico 建立生物系統的數學模型，幫助深入理解疾病的發展。

- **癌細胞信號傳導模擬**：透過計算機模擬 MAPK、PI3K/AKT/mTOR 和 Wnt 傳遞途徑，了解癌細胞如何進行增生、轉移或對化療如何產生抗藥性。
- **腫瘤微環境 (Tumor Microenvironment, TME) 建模**：In silico 模擬腫瘤微環境，分析癌細胞與免疫細胞間的交互作用，預測不同免疫療法（如 PD-1/PD-L1 抑制劑）的效果，幫助臨床實驗設計的有效性。
- **基因突變與疾病預測**：透過基因組學與機器學習技術，模擬不同基因突變對細胞行為的影響，幫助識別高風險突變，優化個人化醫療。

3. 倫理替代方案 (Ethical Alternatives)

- **減少動物實驗**：傳統的動物實驗所花費的高成本、長時間周期以及倫理爭議促使我們尋找替代方案。
- **歐盟《化學品註冊、評估、許可和限制法案》(REACH) 推動**：使用 in silico 減少動物實驗，要求化學品生產商進行毒理評估時，優先考慮使用計算機模擬。
- **毒理學測試 (Toxicity Testing)**：藥物與化學品的毒性預測可通過 ADMET (吸收、分佈、代謝、排泄和毒性) 建模，減少對動物實驗的依賴。
- **皮膚過敏性測試 (Skin Sensitization Testing)**：In silico 分析化學物質對皮膚細胞的影響，幫助企業符合國際化妝品法規。
- **器官晶片與 in silico 結合 (Organ-on-a-Chip + in silico)**：結合微流體技術與計算模擬，建立更接近人體生理環境的系統。

In silico 技術的應用不僅提高研究準確性與效率，也提供更具倫理考量的替代方案，推動生物醫學與環境科學的可持續發展。

二、 in silico 的特色

(一) 數據整合性

in silico 模擬依賴多源數據整合，包括：

- **基因組數據**：DNA 序列、基因表達數據及生物標記數據。
- **臨床數據**：患者病歷、影像數據及血液檢測結果。
- **分子動力學數據**：蛋白質結構、分子間相互作用及藥物結合位點。
- **環境數據**：氣候變化、污染物擴散及生態系統影響。

這些數據可通過人工智慧 (AI) 和機器學習技術處理，建立更精確的數學模型。

(二) 動態模擬能力

in silico 有強大的動態建模能力，能分析系統隨時間變化的行為，例如：

- **蛋白質摺疊**：蛋白質的三維結構對其功能至關重要，而折疊過程是一個高度動態且複雜的過程，透過分子動力學模擬 (Molecular Dynamics, MD)，追蹤蛋白質如何從未摺疊轉變為穩定的三維結構，對於理解錯誤折疊蛋白與疾病間的關係至關重要。此外，MD 模擬可以評估蛋白質結構對環境條件 (如:pH 值、溫度、離子濃度) 的反應，幫助開發穩定的蛋白質藥物。

- **藥物代謝動力學 (ADME)**：ADME 代表藥物在體內的吸收 (Absorption)、分佈 (Distribution)、代謝 (Metabolism) 及排泄 (Excretion) 過程。in silico 可以模擬藥物進入人體後的動態變化，例如：
 - **吸收**：in silico 可以預測藥物在腸道中的滲透性、溶解度與運輸蛋白的相互作用。
 - **分佈**：in silico 可以計算藥物如何在血液和器官間移動，是否能穿過血腦障壁或胎盤。
 - **代謝**：in silico 可以模擬藥物與肝臟中的細胞色素 P450 酵素的交互作用，預測藥物的代謝途徑及產物。
 - **排泄**：in silico 可以評估藥物如何通過腎臟或膽汁系統排出體外，並預測其半衰期。

模擬技術幫助更早篩選出候選藥物，減少臨床實驗的失敗率。

- **細胞行為**：細胞是生物最基本的生命單元，其行為可透過 in silico 分析，包括：
 - **細胞分裂 (Mitosis)**：模擬細胞週期的不同階段，預測細胞何時進入有絲分裂並完成 DNA 複製。
 - **細胞分化 (Differentiation)**：利用數學模型分析幹細胞如何在特定環境下分化為不同的細胞類型。
 - **細胞間信號傳導 (Cell Signaling)**：細胞間的溝通依賴於信號傳導途徑，例如：Wnt、MAPK 或 TGF- β 訊號傳遞，預測藥物或基因改造如何影響細胞功能，幫助開發抗癌療法或免疫療法。

動態模擬提升生物醫學、藥物開發及系統生物學的研究效率，為精準醫療和個人化治療提供技術支持。

(三) 跨學科應用

in silico 的發展促進跨學科合作與創新，例如：

1. 生物醫學 (Biomedical Science)

- **藥物設計 (Drug Design)**：利用 in silico 大幅縮短新藥的研發時間，例如：通過虛擬篩選 (Virtual Screening, VS) 和分子對接 (Molecular

Docking)，研究人員可在候選化合物中快速篩選與特定標靶結合的潛在藥物。

- **疾病機制研究 (Disease Mechanism Studies)**：通過系統生物學建模，科學家可以模擬疾病的發展過程，如：癌症細胞的增殖和擴散，並分析基因突變對細胞信號傳遞的影響。
- **基因編輯 (Gene Editing)**：透過 *in silico*，可以設計和預測 CRISPR-Cas9 基因編輯工具效果，提高編輯準確性並減少脫靶效應。

2. 材料科學 (Materials Science)

- **納米材料設計 (Nanomaterials Design)**：計算機模擬可用來設計以及優化納米材料，例如：石墨烯、碳奈米管和量子點，提升機械的強度、導電性和光學特性。
- **合成高分子材料 (Polymer Synthesis)**：*in silico* 可以預測高分子材料的分子結構及其物理化學特性，幫助開發更耐用、環保的塑膠、塗層和醫療器械材料。
- **量子計算 (Quantum Computing)**：量子計算可加速複雜化學反應的模擬，提高研究效率。

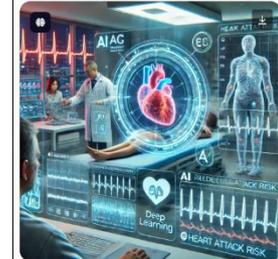
3. 環境科學 (Environmental Science)

- **氣候變遷預測 (Climate Change Prediction)**：全球變暖和極端天氣事件的增加，*in silico* 能通過高解析度氣象數據和機器學習演算法，模擬未來十年的氣候趨勢。
- **生態模擬 (Ecological Modeling)**：透過 *in silico* 可以建立生態系統的數學模型，分析不同物種，以及環境變化對生物多樣性的影響。
- **污染控制 (Pollution Control)**：利用模擬技術可預測污染物的擴散，例如：空氣污染 (PM2.5)、水污染 (重金屬、微塑膠) 及土壤污染。

4. 人工智慧與大數據 (Artificial Intelligence & Big Data)

- **深度學習在基因組學 (Deep Learning in Genomics)**
深度學習可解析基因組數據，預測基因調控機制，並發現與疾病相關的變異。例如：
 - **DNA 甲基化預測**：深度學習可從基因組數據中預測 DNA 甲基化，對於基因表達調控、發育過程和癌症發生機制很有幫助。

- **RNA 轉錄因子結合預測**：AI 分析大量 RNA 序列，預測轉錄因子會與特定 DNA 片段結合，幫助解析基因調控。
- **基因變異與疾病風險分析**：深度學習可用於分析基因組變異（如：SNPs、Indels）與疾病的關聯，例如：通過 GWAS（全基因組關聯分析）預測疾病風險。
- **單細胞基因組學的應用**：AI 使單細胞 RNA 測序（scRNA-seq）分析更精確，可識別不同細胞類型，研究細胞在不同生理和病理下的基因表達變化。
- **蛋白質組學（Proteomics）**：蛋白質的結構與功能決定生物的生理，而 AI 在蛋白質組學中的應用正在顛覆傳統研究方法：
 - **蛋白質結構預測**：DeepMind 的 AlphaFold 利用深度學習，根據氨基酸序列精準預測蛋白質的三維結構，可應用於藥物開發。
 - **蛋白質-蛋白質相互作用（PPI）預測**：AI 分析大規模生物數據，預測蛋白質如何相互作用，能夠理解細胞內信號傳導和疾病機制。
 - **質譜數據分析**：AI 解析質譜數據（Mass Spectrometry），自動識別並定量分析不同生物樣本中的蛋白質，提高蛋白質鑑定的準確性。
 - **抗原設計與疫苗開發**：AI 幫助設計疫苗，如：mRNA 疫苗利用 AI 預測哪些蛋白質片段(表位)可誘導免疫反應。
- **醫療影像分析（Medical Imaging Analysis）**



AI 在醫療影像領域的應用提升診斷效率與準確度，並幫助醫生做出更精確的決策：

- **自動診斷醫學影像**：AI 分析 CT 掃描、MRI、X 光、超音波，準確識別異常病變。
- **病理切片分析**：AI 分析病理組織切片，識別癌細胞與其他病變組織，預測腫瘤的侵襲性，輔助病理學家進行診斷。
- **眼底影像分析**：深度學習已被應用於糖尿病視網膜病變、青光眼、黃斑部病變的自動檢測，提高診斷效率。

- **心血管疾病檢測**：AI 可通過 ECG（心電圖）、心臟超音波預測心臟病發作風險，幫助早期治療。

➤ **in silico 技術與跨領域應用**

in silico（計算機模擬）改變科學研究方式，提供更高效、精確且具成本效益的解決方案：

- **藥物發現與設計**：傳統藥物研發進行大量的實驗，而 AI 透過 in silico 加速藥物篩選與優化。
- **個人化醫療**：AI 基於患者的基因組、代謝組和蛋白質組數據進行模擬，預測個體對藥物的反應，訂定專屬個人化的治療方案。
- **環境毒理學**：AI 模擬預測化學物質對環境和生物體的影響，幫助公共衛生領域做出決策。
- **生物工程與合成生物學**：AI 模擬設計新的基因迴路、優化生物體的代謝途徑。

➤ **結論**

人工智慧與 in silico 技術有效影響基因組學、蛋白質組學和醫療影像分析，促進跨學科合作。不僅提高研究效率，也降低成本，隨 AI 演算法的發展，將能更深入理解生命科學，並推動健康與科技的進步。

三、AI 驅動技術在 in silico 中的優勢

1. 基因組學與臨床數據分析

- (1) **基因組學**：由 DeepMind 開發的 AlphaFold 利用深度學習，能成功預測蛋白質的三維結構；截至 2022 年，AlphaFold 已能預測約兩億種蛋白質結構，在 DeepMind 建立的數據庫中免費提供。
- (2) **臨床數據分析**：AI 在臨床數據分析展現巨大潛力。例如：臺北醫學大學潘秀玲團隊開發的「智慧化創新臨床前新藥研發平台」，成功運用人工智慧技術，大幅縮短新藥研發時程與成本，為癌症、神經退化性疾病帶來突破性治療。

2. 模型優化與實時反饋

傳統的生物醫學模型需要手動調整參數，而 AI 驅動的模型可通過學習自動優化。在藥物研發中，AI 能夠模擬分子與蛋白質的相互作用，篩選數百萬種組

合，加速藥物開發。

3. 成本與時間效率

AI 的應用提高藥物研發的成本效益，根據《Nature》的報導，AI 輔助的藥物開發可節省 25-50% 的臨床前研發時間；例如:Insilico Medicine 利用 AI 技術，僅用 30 個月完成治療肺纖維化，候選藥物的臨床前研究，遠快於傳統方法所需的時間。

四、典型應用領域

1. Glide 軟體

Schrödinger 開發的 Glide 軟體是基於結構對接 (Structure-Based Docking) 的虛擬篩選工具，用於藥物與靶標蛋白相互作用的評估。通過分子對接技術 (Molecular Docking) 計算候選藥物與受體蛋白的結合能 (binding affinity)，篩選出最有潛力的藥物，提高藥物研發效率。

Glide 使用精確的打分函數 (Scoring Function) 預測分子配體與靶標之間的結合強度，透過高效的搜尋演算法評估多種分子構象，確保識別出的候選藥物在生物環境中有良好結合能力。此外，Glide 具備標準模式 (Standard Precision, SP) 和高精度模式 (Extra Precision, XP) 兩種篩選方法，使其能夠適應不同精度需求的藥物開發。

藥物再利用：AI 通過分析現有藥物庫，預測藥物對新適應症的潛在效果。例如:COVID-19 期間，研究探討抗瘧疾藥物氯喹 (Chloroquine) 和羥氯喹 (Hydroxychloroquine) 治療 COVID-19 的潛力，後續臨床實驗結果顯示，這些藥物的療效有限，並可能帶來潛在風險。

2. 毒性與安全性評估

(1) **器官晶片模擬：**Emulate 開發的「肝臟晶片」技術，利用微流控技術模擬人類肝臟微環境，結合 AI 模型，準確預測藥物的肝毒性。近期，生模中心與 Emulate 合作，運用人類肝臟器官晶片評估脂質奈米微粒的毒性，有助於替代動物實驗，提升藥物及治療測試的精準性。

(2) **QSAR 模型：**定量結構-活性關係 (Quantitative Structure-Activity Relationship, QSAR) 模型通過機器學習技術，分析化合物的結構，預測毒性和生物活性；QSAR 模型已被多個國際監管機構認可，並納入相關原

則；例如：中國的生態環境部在《新化學物質環境管理登記指南》中對 QSAR 模型預測數據的品質要求，強調模型的科學性、透明性和適用性。

3. 個人化醫療與療法優化

- (1) **癌症治療**：MD 安德森癌症中心開發轉化型 AI 模型，利用 GPU 技術，協助提高近距離放射治療計劃制定，和治療質量評估過程中的輪廓勾畫質量；此外，MD 安德森癌症中心與飛利浦合作，基於飛利浦的腫瘤信息學解決方案和 MD 安德森的精準腫瘤決策支持系統 (PODS)，為腫瘤科醫生提供治療和臨床實驗指導，推進腫瘤個性化治療和腫瘤基因標誌物的臨床實驗。
- (2) **糖尿病管理**：OpenAPS (開源人工胰臟系統) 旨在為糖尿病患者提供自動化的胰島素注射，該系統基於 Raspberry Pi，配合持續血糖監測 (CGM) 設備和胰島素泵，核心部分 oref0 採用複雜算法，分析 CGM 提供的數據，並預測未來的血糖趨勢，指示胰島素泵增加或減少胰島素輸送量，維持血糖在安全範圍內。

AndroidAPS (AAPS) 使用 OpenAPS 算法，自動化胰島素劑量控制血糖水平保持在健康範圍內，使用 AAPS，需要三個設備：一部 Android 手機、一個持續血糖監測器 (CGM) 和一個經過 FDA 或 CE 認證的胰島素泵。

五、 AI 技術在 *in silico* 模型中的關鍵角色

機器學習 (Machine Learning, ML) 透過數據驅動訓練模型，能夠識別並做出預測。深度學習 (Deep Learning, DL) 是機器學習的一個子領域，主要依賴於深層神經網絡 (Deep Neural Networks) 來自動提取特徵，並在大規模數據集上實現高效學習。

根據學習方式的不同，機器學習可分為監督學習、無監督學習與強化學習，監督學習和無監督學習是最常見的。

1. 監督學習和無監督學習

(1) 監督學習 (Supervised Learning)

監督學習是透過標註數據訓練模型的方法，即每個輸入數據 (Features) 都有對應的標籤 (Label)，模型透過學習輸入與標籤之間的映射關係，從而能夠對新的數據進行預測，監督學習應用於分類 (Classification) 和回歸 (Regression)。

- **分類 (Classification)**：將數據分配到不同的類別，例如：
 - **醫學診斷**：根據病患的基因表現、症狀或影像數據判斷是否患有疾病。
 - **蛋白質功能預測**：根據氨基酸序列預測蛋白質的功能。
 - **藥物開發**：預測新藥是否有效。
- **回歸 (Regression)**：預測一個連續數值，例如：
 - **分子溶解度預測**：透過分子的物理化學性質，預測其在水中的溶解度。
 - **生物信號分析**：根據心電圖 (ECG) 預測心臟病發作的風險。
 - **環境科學**：利用先前天氣數據預測未來的空氣污染指數 (AQI) 或降水量。

監督學習的模型包括線性回歸 (Linear Regression)、支持向量機 (SVM)、決策樹 (Decision Tree)、隨機森林 (Random Forest) 和深度神經網絡 (DNN)。

(2) 無監督學習 (Unsupervised Learning)

無監督學習是無需標註數據的學習方法，能發掘數據內部的隱藏模式或結構，在資料集缺乏明確標籤時特別好用，常見於聚類 (Clustering) 和降維 (Dimensionality Reduction)。

- **聚類 (Clustering)**：將數據分組，使同一組的樣本相似度高，而不同組間的相似度低。例如：
 - **疾病亞型識別**：在癌症研究中，透過基因表達數據將患者分類為不同的癌症亞型，提供個別化治療。
 - **蛋白質家族分類**：分析氨基酸序列的相似性，自動將蛋白質分類為不同的家族。
- **降維 (Dimensionality Reduction)**：在數據分析中，當數據包含大量變數 (高維數據) 時，難以直接視覺化或有效分析，使用降維技術，將高維數據轉換為較少維度 (低維空間)，以便直觀呈現在圖表中。主成分分析 (PCA)、t-SNE 和 UMAP 能夠提取數據的關鍵，同時保留主要資訊，例如：

- 基因數據分析：基因數據通常有數萬個變量，通過主成分分析（PCA）可將數據轉變到低維空間，同時保留主要資訊。
- 影像處理：在醫學影像分析中，降維可以去除冗餘信息，提高計算效率。

無監督學習常用的演算法包括 K-means 聚類、層次聚類（Hierarchical Clustering）、主成分分析（PCA）、自動編碼器（Autoencoder）和 t-SNE。

2. 強化學習與動態模擬

- (1) 分子動力學：DeepMind 開發的 AlphaFold 2 利用深度學習，顯著提升蛋白質結構預測的準確性。
- (2) 化學反應路徑探索：利用強化學習，模擬催化劑設計，發現新型二氧化碳轉化催化劑。

3. 生成對抗網絡（GAN）

(1) 生成合成數據以解決訓練數據不足：

罕見疾病的臨床數據稀少，限制機器學習模型的訓練效果。GAN 可以學習現有患者數據的分佈，生成虛擬患者數據集，幫助模擬罕見疾病，從而增加訓練數據量，提升模型的準確性。

(2) 虛擬病人模擬以提升醫學教育：

GAN 技術還通過生成虛擬病人，提升醫學生的臨床技能。例如：香港大學開發「AI 虛擬病人」問診應用程式，結合生成式人工智慧技術，設計出不同性格和病歷的病人案例，使醫科學生能模擬與病人互動，提升問診技巧和臨床判斷能力。

此外，臺北榮民總醫院與 HTC Medical 合作，推出醫學教育與訓練平台，結合虛擬實境（VR）和生成式 AI 技術，讓教師快速建立教案，學生則可透過沉浸式診療訓練，提升臨床技能。

六、AI 與 in silico 的挑戰與限制

1. 數據質量與偏差

(1) 數據不均衡：

罕見疾病案例的稀缺導致模型偏差，使模型傾向預測常見疾病，降低模型在罕見疾病的準確性。目前有多種解決方法，例如：

- **過取樣 (Oversampling)**：過取樣指在數據集中增加少數類別的樣本數量，以平衡各類別之間的比例。由重複已有樣本（即複製罕見疾病案例）或使用技術合成新樣本來實現。

例如：SMOTE (Synthetic Minority Over-sampling Technique) 根據現有數據生成合成樣本，而不是簡單地重複數據，從而減少過擬合的風險。

- **下取樣 (Undersampling)**：下取樣指減少多數類別的樣本數量，使數據集更均衡。隨機刪除部分常見疾病案例，使其與罕見疾病的數量更接近。但下取樣可能會丟失有價值的數據，因此需要與其他技術結合使用，確保模型仍然能夠學習到關鍵數據。
- **合成數據生成**：在某些情況下，罕見疾病的案例數量極少，即使使用過取樣也不足提高模型的學習能力。這時，可使用生成對抗網絡 (GAN, Generative Adversarial Network) 創建人工合成的罕見疾病案例，從而豐富數據集。

GAN 透過兩個神經網絡（生成器與判別器）互相競爭來生成逼真的數據，在醫學影像、基因數據分析和疾病診斷研究中展現極大的潛力。

(2) 數據隱私：

患者數據的匿名化處理可以保護隱私，但可能對模型的訓練效果產生影響。匿名化過程中，關鍵特徵可能被刪除或模糊，導致模型無法充分學習數據，降低預測能力。以下策略幫助在保護隱私和模型性能之間取得平衡：

- **差分隱私 (Differential Privacy)**：在數據中添加噪聲，防止患者資訊的泄露，同時保持數據的統計特性。
- **數據訪問控制**：嚴格限制對敏感數據的訪問權限，並對相關人員進行數據安全和隱私保護的培訓。

2. 模型可解釋性

- (1) **黑箱問題**：深度學習模型通常具有高度的非線性和複雜性，使其內部運作過程難以解釋，這被稱為「黑箱」問題。在醫療領域，這種不透明性可能導致醫生對 AI 診斷結果的質疑，影響臨床決策的採用。
- (2) **解決方案**：為提升模型的可解釋性，SHAP (Shapley Additive Explanations) 是一種基於賽局理論的解釋方法，SHAP 值通過計算每個特

徵對模型預測結果的影響程度和方向，提供了公平且一致的度量，提高模型的透明度。

3. 技術通用性

- (1) **領域適應性**：專用型 AI 模型，是為特定醫療任務精心設計的系統，能夠在單一且明確的醫療任務中表現良好，但這些專用模型在其他領域的適用性有限，難以直接應用於不同的醫療任務或疾病，限制 AI 在醫療領域的廣泛應用。
- (2) **標準化缺失**：在醫療領域，模擬和驗證工具的多樣性導致標準化的缺乏，模型化是將多個區域與標準，結合到統一的环境，但這種整合過程來自多個工具與資料庫，缺乏統一的標準，導致不同平台的模擬結果不一，影響 AI 模型在醫療領域的可靠性和可比性。

七、未來發展方向與前景

1. 技術融合與創新

- (1) **量子計算**：量子計算利用量子力學的特性，能夠同時處理大量計算，適合解決傳統計算難以處理的問題。

在分子動力學模擬中，量子計算可精確模擬分子或材料的電子結構，對於新藥和催化劑的設計很有幫助。目前，IBM 和 Google 已利用量子計算模擬簡單分子。

- (2) **邊緣計算**：將 AI 處理能力從雲端移至數據產生源頭的架構，將 AI 模型放在靠近數據源的設備上，如：物聯網設備、智能手機，便於進行數據處理和分析。

相較於將所有數據傳送至雲端進行處理，邊緣計算能大幅降低延遲、提高系統速度，並保護數據隱私。例如：在智慧城市中，路邊的攝影機即時分析交通流量，調整紅綠燈時間，減少塞車情況，同時也能辨識違規行為，提升道路安全。

2. 自動化與普及化

- (1) **低代碼平台**：低代碼平台為非程式設計背景的研究人員，提供高效的解決方案，使他們能夠參與生物醫學分析與疾病建模。例如：Insilico Medicine 開發的 PandaOmics，無需具備程式設計技能，即可使用該平台探索疾病機

制、發掘生物標記物，甚至進行新藥標靶的篩選（Insilico Medicine, 2022）。

- (2) **開源生態系統的推動**：人工智慧的普及化受益於開源技術的推動，其中 TensorFlow 和 PyTorch 是目前最受歡迎的深度學習。這些工具不僅提供靈活的開發環境，還降低機器學習技術的門檻，使來自不同領域的研究人員能夠更輕鬆地應用 AI 進行數據分析與模型訓練（ALPHA Camp, 2023）。

其中，TensorFlow 由 Google 推出，支援大規模數據處理與分散式計算，適用於工業應用，而 PyTorch 則因其動態計算圖，與直覺化 API 受到青睞。

3. 倫理與監管框架

- (1) **數據共享協議**：為促進醫療數據的有效利用，歐盟提出「歐洲健康資料空間」（European Health Data Space, EHDS）計畫，旨在克服健康資料利用的障礙，充分發揮數位健康與健康資料的潛力。

EHDS 為一個專門用於健康的資料共享，針對患者以及用於研究、創新、政策制定、患者安全、統計或監管目的，電子健康資料的運用，建立明確規則、通用標準實務、基礎設施與框架。

- (2) **法規適應性**：美國食品藥物管理局（FDA）推動數位健康在藥品及生物製劑開發中的應用。2023 年 3 月，FDA 發布《數位健康技術應用於藥品及生物製劑開發之架構》，旨在加強內部審查能力，並促進與業界的溝通合作。

該架構包括建立指導委員會、技術專長培訓、確保審查一致性、數據統計及資訊科技能力，以提升 FDA 在數位健康的審查。

八、 結論

AI 驅動的 in silico 模型正在重塑科學研究與產業應用的邊界，儘管面臨數據質量、可解釋性的問題，其在高精度模擬、成本控制與倫理替代方面的優勢無可替代。未來，隨著量子計算、自動化平台的發展，in silico 模型將進一步推動個人化醫療、綠色化學的突破。

參考文獻

英矽智能 (Insilico Medicine). (2023). *AI 輔助藥物開發加速肺纖維化治療進程*.

取自 <https://news.gbimonthly.com/tw/article/show.php?num=62314>

香港大學. (2023). *港大開發 AI 虛擬病人用於醫學訓練*. 取自

<https://www.med.hku.hk/zh-hk/news/press/20231108-ai-chatbot>

- 泰雷科技股份有限公司. (2010). *CAE 模擬與驗證技術標準化挑戰*. 取自 <https://www.terasoft.com.tw/support/techpdf/2010-01.pdf>
- 國家科學及技術委員會. (2024). *人工智慧在醫療領域的應用與挑戰*. 國家科學及技術委員會以色列科技組. 取自 <https://www.nstc.gov.tw/israel/ch/detail/d488f8b1-b361-44fe-8154-cc76f2e9b5f2>
- 國家實驗研究院國家實驗動物中心. (2025). *台灣首度成功運用人類肝臟器官晶片評估脂質奈米微粒毒性!* 取自 <https://www.formosalive.com/archives/121000>
- 許志遠. (2024). *使用生成對抗網絡 (GANs) 進行醫療數據擴增*. iThome. 取自 <https://ithelp.ithome.com.tw/articles/10357781>
- 許瀚宇. (2023). *SHAP (Shapley Additive Explanations) 解釋機器學習模型輸出的影響因素分析*. iThome. 取自 <https://ithelp.ithome.com.tw/articles/10330115>
- 提琉比長壽村. (2024). *量子計算的實際應用：化學模擬、優化問題與未來發展潛力*. 取自 <https://vocus.cc/article/6759080efd8978000105ce95>
- 瑞歐科技. (2024). *新化學物質登記-非測試數據的應對經驗分享 (一) QSAR 報告*. 取自 <https://tw.reach24h.com/chemical/industry-news/chemical-qsar-report>
- 臺北榮民總醫院 & HTC Medical. (2025). *結合 VR 與 AI 技術的醫學訓練平台啟動，提供沉浸式學習體驗*. HTC 新聞中心. 取自 <https://www.vive.com/tw/newsroom/2025-02-12/>
- 臺灣影像科學與技術中心. (2024). *醫療 AI 診斷的真相與挑戰*. 取自 <https://www.imagingcoe.org/tw/column/2256/ai-medical-diagnosis-truth>
- 潘秀玲. (2023). *智慧化創新臨床前新藥研發平台*. 臺北醫學大學. 取自 https://innoaward.taiwan-healthcare.org/faq_detail.php?REFDOCID=0snudw960itcgsmv
- 資策會科技法律研究所. (2022). *歐盟執委會發布「歐洲健康資料空間」規則提案，旨在克服健康資料利用之障礙*. 取自 <https://stli.iii.org.tw/article-detail.aspx?d=8858&no=67&tp=1>
- 資策會科技法律研究所. (2023). *美國 FDA 於 2023 年 3 月大力推動數位健康技術應用於藥品臨床實驗*. 取自 <https://www.biotechlaw.org.tw/activity/posts/67>
- ALPHA Camp. (2023). *PyTorch、TensorFlow 和 Keras，深度學習的全面比較與選擇指南*. 取自 <https://tw.alphacamp.co/blog/pytorch-tensorflow-keras>
- AndroidAPS. (2024). *歡迎使用 AAPS 說明文件. Read the Docs*.
- Chung, C. (2024). *關於人工智慧和癌症治療你需要知道的 3 件事*. MD 安德森癌症中心. zhuanlan.zhihu.com/4mdandesen.cn/4mdandesen.cn/4
- CSDN 博客. (2021). *SHAP 可視化解釋深度學習模型結果*. CSDN. 取自 https://blog.csdn.net/sinat_26917383/article/details/115400327
- DeepMind. (2022). *AlphaFold protein structure database*. Retrieved from

<https://www.scimonth.com.tw/archives/5951>

- Esteva, A., et al. (2019). A guide to deep learning in healthcare. *Nature Medicine*, 25(1), 24-29.
- FDA. (2020). *FDA cautions against use of hydroxychloroquine or chloroquine for COVID-19 outside of the hospital setting or a clinical trial due to risk of heart rhythm problems*. Retrieved from <https://www.fda.gov/media/137250/download>
- FDA. (2021). *Advancing Regulatory Science for In Silico Clinical Trials*. U.S. Food and Drug Administration.
- Gao, J., Tian, Z., & Yang, X. (2020). Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *Bioscience Trends*, 14(1), 72-73.
<https://doi.org/10.5582/bst.2020.01047>
- Gaulton, A., et al. (2017). The ChEMBL database in 2017. *Nucleic Acids Research*, 45(D1), D945-D954.
- He, J., Baxter, S. L., Xu, J., Xu, J., Zhou, X., & Zhang, K. (2019). The practical implementation of artificial intelligence technologies in medicine. *Nature Medicine*, 25(1), 30-36. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0307-0>
- Insilico Medicine. (2022). *Artificial intelligence predicts dual-purpose therapeutic targets*. Retrieved from <https://insilico.com/dual-purposetherapeutictargetspredictedusingaichina>
- JJMLaw. (2025). 醫療診所人工智慧應用：高效提升診所效率與病人照護品質的完整指南. 取自
<https://jjmlaw.tw/%E9%86%AB%E7%99%82%E8%A8%BA%E6%89%80%E4%BA%BA%E5%B7%A5%E6%99%BA%E6%85%A7%E6%87%89%E7%94%A8/>
- Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., et al. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596(7873), 583-589.
<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
- Lundberg, S. M., & Lee, S. I. (2017). A unified approach to interpreting model predictions. *Advances in Neural Information Processing Systems*, 30, 4765–4774. Retrieved from <https://arxiv.org/abs/1705.07874>
- M.K.白話解說. (2024). *AI 邊緣運算：充滿潛力，希望與挑戰並存*. 取自
<https://vocus.cc/article/670f637dfd89780001c5d77d>
- Mak, E. (2024). *Top 10 local AI tools for edge computing and AI integration*. Retrieved from <https://tenten.co/learning/top-10-local-ai-tools/>
- MattDataAdventures. (2024). 解密機器學習模型指標！偏差與變異數（Bias & Variance）的關鍵解析. 取自
<https://mattdataadventures.com/%E5%81%8F%E5%B7%AE%E8%88%87%E8>

[%AE%8A%E7%95%B0%E6%95%B8bias-variance%E7%9A%84%E9%97%9C%E9%8D%B5%E8%A7%A3%E6%9E%90/](#)

- Molnar, C. (2022). *Interpretable machine learning: A guide for making black box models explainable*. Retrieved from <https://christophm.github.io/interpretable-ml-book/>
- Nature Biotechnology. (2024). *AI-powered virtual screening reduces drug discovery costs by over 50%*. *Nature Biotechnology*, 42(3), 185-192.
- OpenAPS. (2024). 歡迎來到 OpenAPS 的文件指南. *Read the Docs*.
[blog.csdn.net+2androidaps.readthedocs.io+2openaps.readthedocs.io+2](https://blog.csdn.net/2androidaps.readthedocs.io+2openaps.readthedocs.io+2)
- Royal Philips. (2020). 飛利浦與 MD 安德森癌症中心合作 推進腫瘤個性化治療和基於腫瘤基因標誌物的臨床實驗研究. 美通社. prnasia.com
- Sanders, J. (2024). 安德森癌症中心研究者使用 AI 徹底改變癌症護理. 知乎.
zhuanlan.zhihu.com
- Savaira, P. (2024, October 16). 人工智慧如何破解生物學中最複雜的分子——蛋白質. GeneOnline News CRISPR 專家. Retrieved from New ChatGPT-like AI model could detect multiple different cancers, study finds | Euronews
- Schrödinger, LLC. (2022). *Glide: Protein-ligand docking program*. Retrieved from <https://www.schrodinger.com/products/glide>
- Senior, A. W., et al. (2020). Improved protein structure prediction using potentials from deep learning. *Nature*, 577(7792), 706-710.
- Stokes, J. M., et al. (2020). A deep learning approach to antibiotic discovery. *Cell*, 180(4), 688-702.
- Topol, E. J. (2019). *Deep medicine: How artificial intelligence can make healthcare human again*. Basic Books.
- Topol, E. J. (2019). High-performance medicine: the convergence of human and artificial intelligence. *Nature Medicine*, 25(1), 44-56.
- U.S. Food and Drug Administration. (2023). Modeling & Simulation at FDA. Retrieved from <https://www.fda.gov/science-research/about-science-research-fda/modeling-simulation-fda>
- University of Bristol. (2025, February 10). *Isambard-AI supercomputer accelerates molecular simulations*. TechNews. Retrieved from <https://technews.tw/2025/02/10/isambard-ai>
- Waring, M. J., et al. (2015). An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies. *Nature Reviews Drug Discovery*, 14(7), 475-486.
- Wynants, L., van Calster, B., Collins, G. S., Riley, R. D., Heinze, G., Schuit, E., ... & van Smeden, M. (2020). Prediction models for diagnosis and prognosis of

- COVID-19: Systematic review and critical appraisal. *The BMJ*, 369, m1328.
<https://doi.org/10.1136/bmj.m1328>
- Yuan, Y., & Bar-Joseph, Z. (2024). *Deep learning in genetics and genomics: Volume 2: Advanced applications*. Springer.
- Zhavoronkov, A., et al. (2019). Deep learning enables rapid identification of potent DDR1 kinase inhibitors. *Nature Biotechnology*, 37(9), 1038-1040.
- Zhou, H., Li, Y., Wang, Y., et al. (2020). Accelerating Catalyst Design by Deep Reinforcement Learning. *Journal of the American Chemical Society*, 142(42), 18583-18591. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c09105>

第三章節 數位科技在實驗動物替代技術中的應用

3-1 數位技術對動物實驗數據的分析應用

3-1-1 數位影像技術：磁振造影技術 μ CT、MRI、PET 及 IVIS

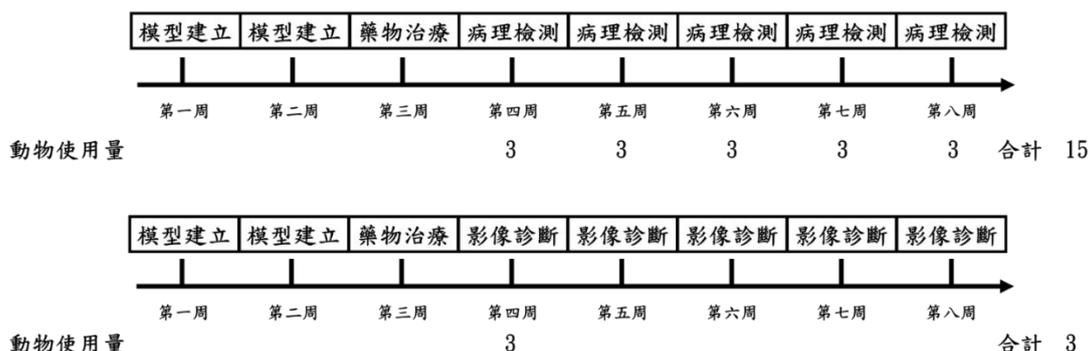
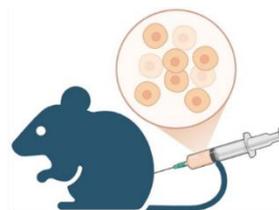
影像於動物實驗中的應用與各項技術的原理及在動物試驗的優勢

一、前言

1. 小動物活體影像技術發展介紹

在小動物影像技術問世前，做研究需大量的動物進行實驗。而活體影像技術以非侵入的方式動態觀測動物體內，達到實驗動物減量目的，顯著降低研究成本和時間。以腫瘤研究為例，可透過影像技術進行全程活體動態追蹤，包括疾病模型建立、治療效果評估及預後。圖例展示小動物影像技術在追蹤腫瘤研究中的角色。(圖一)。

腫瘤動物模式的建立及治療



圖一、導入小動物影像設施大幅降低實驗動物使用量

影像技術主要可分為兩大類：解剖性影像與功能性影像。解剖性影像能提供位置、形狀、邊界、厚度、深度及質地等物理特性，功能性影像則能透過偵測體內組織在分子層級的變化，反映出器官的病理狀況。然而，功能性影像在空間解析度上通常不及解剖性影像。因此兼具高解析度與高敏感度的複合醫學影像設備逐漸問世 [1]，並已在臨床前研究及臨床端獲得廣泛使用。

二、解剖性影像(Anatomical imaging)

常見的解剖性影像技術包括 X 光、電腦斷層(CT)、磁振造影(MRI)及超音波(Sonography)。這些技術廣泛運用於當前疾病診斷與研究。

1. X-光(X-ray)影像：

當光子穿過高原子序的物質時，會被部分阻擋，導致光子的衰減，進而減少底片接收到的光子數量，使影像呈現較亮的訊號，反之則呈現較暗的訊號。

2. 電腦斷層(CT)影像：

結合環形偵檢器與 X 光球管，提供高解析的三維影像。廣泛應用於老鼠疾病研究，例如心血管、腫瘤，以及軟硬骨等動物模式[2,3]。在骨組織的研究中，可進行周密分析，例如計算骨密度、骨體積等多項參數，實現全面的骨質及結構狀態評估 [4]。

3. 磁振造影 (Magnetic Resonance Imaging, MRI)：

以核磁共振為基礎，產生具診斷價值的高解析度影像。特別是在電腦斷層對軟組織分辨能力較弱的情況下，MRI 能彌補此項不足 [5]。而小動物 MRI 因在肌肉、肌腱和韌帶等軟組織病灶診斷中，比小動物 CT 具有更大的優勢，成為研究診斷的重要工具 [6]。此外，MRI 還衍生出多種延伸技術 [7]，包括：**(1)**磁振波譜(MRS)：提供代謝物濃度的詳細資訊 [8]；**(2)**擴散加權成像(Diffusion MRI)：評估組織內的水分子運動 [9]；**(3)**磁振血管成像(MRA)：用於觀察血管結構 [10]；**(4)**磁振彈性成像(MRE)：測量組織的彈性和硬度，例如偵測腫瘤細胞中玻尿酸的含量，以預測轉移的可能性 [11]；**(5)**化學交換飽和轉移成像(CEST)：分析特定分子內的化性，例如偵測肌酸以研究能量代謝異常相關的小鼠腦部疾病 [12]；**(6)**功能性磁振造影(Functional MRI, fMRI)：觀察大腦活動與血氧濃度變化的關係。近年來，利用 fMRI 診斷神經退化性疾病的研究不斷增加 [13]，提供了更全面的病情分析依據。

4. 超音波影像(Sonography)：

基於聲學的成像技術，相較於 CT 和 MRI，超音波影像對操作者的技術要求更高，且影像判讀較不直覺，但仍因其成本低廉、取得方便、檢查時間快速且具備良好影像解析度，成為婦科、心臟、甲狀腺、血管、乳房及腹部腫瘤等常規檢查的首選工具。報告顯示獸醫最常利用超音波進行膀胱穿刺(Cystocentesis)以採集尿液，其次是腹腔穿刺(Abdominocentesis)協助排放腹水，或用於懷孕診斷。[14]。在臨床前研究中，小動物模型也常使用超音波技術，特別是在心臟、肝臟及腎臟的研究中。此外，超音波還被用於引導注射(Ultrasound-guided injections)，以協助藥物的精準輸送 [15]。

除了診斷功能，超音波還可用於治療疾病，治療用超音波主要分為兩類：

■ 高強度聚焦超音波(High-intensity focused ultrasound, HIFU)

在台灣也被稱為海芙，通過產生熱效應治療疾病。應用於臨床治療子宮肌瘤，近年來研究用於打開血腦屏障以協助藥物輸送，或是直接使用 HIFU 治療腦瘤及失智症[16, 17]。

■ 低強度脈衝超音波(Low-intensity pulsed ultrasound, LIPUS)

主要用於骨科疾病，例如促進骨折癒合、減少發炎及止痛。近期文獻指出，LIPUS 的治療效果仍需更多驗證，並非適用於所有骨折情況 [18, 19]，而最近也有利用 LIPUS 治療其他疾病的文獻報導，如思覺失調症 (schizophrenia)、失智症、腦出血等 [20-22]。

三、顯影劑(Contrast agents)特性比較

由於每個器官病灶的特性不同，為增強病灶訊號並提高機器的偵測能力，視情況需要使用顯影劑(Contrast agents)。下表總結了常見的 CT、MRI 及超音波對比劑材料及其特性：

影像儀器	對比劑材料(臨床)	對比劑材料(臨床前研究)	對比劑材料特性
電腦斷層 (CT)	碘(I)	金(Au)、鉍(Bi)、銅(Cu)、銀(Ag)、鎢(W)、鐳(La)、釷(Y)、釷(Gd)、鈦(Ti) [23, 24]	高原子序
T1 權重影像 (T1 weighted MR images)	釷(Gd)、錳(Mn)	鉻(Cr)、極小尺寸鐵基材料(<5nm)、摻釷鈾(Ce)材料 [25-27]	順磁性
T2 權重影像 (T2 weighted MR images)	鐵(Fe)	鐵機材料如鐵-錫合金(FeSn ₂) [28, 29]	超順磁性
超音波 (Sonography)	微氣泡 (Microbubbles)	空氣、金奈米粒子、矽基微/奈米平台、聚四氟乙烯(PTFE)奈米粒子、氧化鋅(ZnO)奈米晶體 [30, 31]	周邊組織阻抗差

表一、比較各解剖性影像所使用之對比劑

顯影劑的使用雖然能獲得病灶與周邊組織明顯的對比，提供清悉的診斷依據。然而，顯影劑的毒性、安全性或對動物體造成的影響始終是一大挑戰。例如：(1)含碘離子性可能導致腎病變(Contrast-induced nephropathy, CIN) [32]。(2)含釷對比劑則有極低機率引發腎源性全身纖維化(Nephrogenic systemic fibrosis, NSF) [33]。(3)約 1%的患者可能出現輕微過敏反應，例如噁心、頭暈、嘔吐及皮膚癢等副作用。為解決上述問題，研究學者積極開發新技術以改善或替代顯影劑的使用。

1. 多重影像功能的顯影劑(Multimodal contrast agents)

可通過單次注射實現多種影像造影，減少患者的不適，並降低診斷成本、縮短診斷時間、無需為特定儀器開發專屬藥物，提高實驗的靈活性與效率。雖然尚未廣用於臨床，但已展現巨大潛力 [34-36]。

2. 人工智慧的應用(Artificial intelligence, AI)

解決影像對比不足，並消除對比劑過敏風險、降低儀器使用成本、及提供與對比劑相當的診斷資訊 [37]。例如將既有的 MRI 影像轉為適用於放射治療計畫的 CT 影像 [38]，顯示未來有望通過單一影像達成多重診斷的需求，進一步減少對於對比劑的依賴。不過現階段而言，顯影劑仍不可或缺。

四、功能性影像(Functional Imaging)

功能性影像的空間解析度不如解剖性影像，影像相對模糊，但其優異的敏感度使其能準確反映生理功能 [39]。以下為其分類

1. 光學影像(Optical imaging)

臨床前活體影像儀器中，光學影像最常見是 IVIS 系列。相較於傳統組織影像學，IVIS 能追蹤藥物在小動物全身的分布，並保持其活體狀態以進行後續研究。然而受限於穿透深度，儘管近紅外光可達數公分的深度 [40]，但深度仍低於其他活體影像技術。

2. 核醫影像(Nuclear imaging)

突破光學影像的深度限制，利用放射性核種標誌功能性分子製成核醫藥物(Radiopharmaceutical)，並通過核醫儀器造影， γ -ray 是主要訊號源：

- 伽馬攝影機(Gamma camera)：產生 2D 平面影像，用於核醫檢查部門。
- 單光子放射斷層掃描(SPECT)：通過兩個伽馬攝影機安裝在旋轉臂上進行 360 度訊號採集並生成 3D 影像，也廣泛應用於臨床檢查。

相比之下，正子斷層造影(PET) 的靈敏度更高，基於放射性核種的 β 衰變(Beta decay)產生的正電子與體內電子的互毀輻射，釋放出一對 511 keV 的伽馬射

線[41]，通過環形偵檢器收集訊號並重建 3D 影像。在腫瘤造影中， ^{18}F -FDG(Fluorodeoxyglucose (^{18}F))是最常用的核醫藥物，利用癌細胞對葡萄糖的高攝取特性， ^{18}F -FDG 可在癌細胞中累積，重建出 3D 的腫瘤成像，是目前靈敏度最高的腫瘤影像檢查技術。

五、多模式影像系統(Multimodal Imaging Modalities)

1. 光學影像的多模式整合應用

因為 IVIS 系統缺乏解剖細節，製造公司開發了小動物活體螢光斷層影像系統。保留了光學影像的靈敏度，並提供病灶位置的 3D 資訊，整合解剖性與功能性的光學影像，提升診斷的準確性。亦有研究對小鼠依序進行 FMT 與 CT 成像，並利用標記點對齊兩者影像，達成多模式成像目的 [42]。而光聲影像是另一種重要的多模式影像技術，將外源雷射光源整合至超音波探頭中。由於體內不同分子對雷射光的吸收特性不同，光聲影像能在超音波解剖影像中呈現分子分布的特徵 [43]，美國食品藥物管理局(FDA)已批准 Seno Medical 的 Imagio® 乳腺診斷系統，該系統提供舒適且低成本的方法診斷乳房疾病，展示光聲影像的臨床應用[44]。

2. 多模式系統的應用

目前，臨床上廣泛應用的多模式影像系統包括 SPECT/CT、PET/CT 和 PET/MRI。這些系統結合 CT 或 MRI 提供的高解析度解剖資訊，與核醫藥物分布所反映的功能性影像，形成完整的影像學診斷，顯著提升診斷的精確性。在醫院影像部門和核醫部門中，SPECT 和 PET 設備多為 SPECT/CT 和 PET/CT 多模式系統，而 PET/MRI 由於成本較高，配置相對稀少。但 MRI 在軟組織成像中的優異表現，使 PET/MRI 在某些特定應用中佔有一席之地。

3. 臨床前動物研究

臨床前研究中，多模式影像系統如 Albira SI(Bruker)、nanoScan® SPECT/CT/PET(Mediso)、VECTor (MILabs) [45]，提供小動物 PET/SPECT/CT 的三合一成像模式，便於研究者進行多方面的診斷與治療評估。然而，小動物核醫影像研究仍面臨挑戰：如放射性核種取得困難、儀器分布不均、成本高、有半衰期限制，如常用的 ^{18}F -FDG 半衰期僅 109.7 分鐘 [46]等。

下表比較光學影像與核醫影像的主要特性及適用性：

功能性影像	訊號來源	體內追蹤	輻射性	便利性	臨床前多模式影像	臨床適用性
光學影像	冷光、生物發光或螢光標誌物	訊號易受組織深度限制	無	冷光及螢光標誌物容易獲取	FMT、PAI	低(目前僅PAI有臨床應用)
核醫影像	放射性核種(γ -ray)	訊號較不受限制，深層組織適用	微量	放射性核種較難獲取，且有半衰期限制	SPECT/CT、PET/CT、PET/MRI、SPECT/CT/PET	高(廣泛應用於臨床診斷)

表二、各功能性影像的特點比較

六、參考文獻

1. Zhou T, Cheng Q, Lu H, Li Q, Zhang X, Qiu S: **Deep learning methods for medical image fusion: A review.** *Comput Biol Med* 2023, **160**:106959.
2. Hon A, Hsu JJ, Zambrano A, Xia Y, Lu M, Echeverri D, Kalanski S, Umar S, Demer LL, Tintut Y: **Effects of activity levels on aortic calcification in hyperlipidemic mice as measured by microPETmicroCT.** *Atherosclerosis* 2023, **380**:117198.
3. Jarrahi A, Khodadadi H, Moore NS, Lu Y, Awad ME, Salles EL, Vaibhav K, Baban B, Dhandapani KM: **Recombinant human DNase-I improves acute respiratory distress syndrome via neutrophil extracellular trap degradation.** *J Thromb Haemost* 2023, **21**(9):2473-2484.
4. Ko JY, Wang FS, Lian WS, Fang HC, Kuo SJ: **Cartilage-specific knockout of miRNA-128a expression normalizes the expression of circadian clock genes (CCGs) and mitigates the severity of osteoarthritis.** *Biomed J* 2024, **47**(2):100629.
5. Arifin DR, Witwer KW, Bulte JWM: **Non-Invasive imaging of extracellular vesicles: Quo vaditis in vivo?** *J Extracell Vesicles* 2022, **11**(7):e12241.
6. Kim DM, Shim IK, Shin MJ, Choi JH, Lee YN, Jeon IH, Kim H, Park D, Kholinne E, Koh KH: **A Combination Treatment of Raloxifene and**

- Vitamin D Enhances Bone-to-Tendon Healing of the Rotator Cuff in a Rat Model.** *Am J Sports Med* 2020, **48**(9):2161-2169.
7. Saito S, Ueda J: **Preclinical magnetic resonance imaging and spectroscopy in the fields of radiological technology, medical physics, and radiology.** *Radiol Phys Technol* 2024, **17**(1):47-59.
 8. McKiernan E, Su L, O'Brien J: **MRS in neurodegenerative dementias, prodromal syndromes and at-risk states: A systematic review of the literature.** *NMR Biomed* 2023, **36**(7):e4896.
 9. Wright AM, Wu YC, Feng L, Wen Q: **Diffusion magnetic resonance imaging of cerebrospinal fluid dynamics: Current techniques and future advancements.** *NMR Biomed* 2024, **37**(9):e5162.
 10. Togao O, Obara M, Yamashita K, Kikuchi K, Wada T, Murazaki H, Arimura K, Nishimura A, Horie N, van de Ven K *et al*: **Arterial Spin Labeling-Based MR Angiography for Cerebrovascular Diseases: Principles and Clinical Applications.** *J Magn Reson Imaging* 2024, **60**(4):1305-1324.
 11. Reeves EL, Li J, Zormpas-Petridis K, Boulton JKR, Sullivan J, Cummings C, Blouw B, Kang D, Sinkus R, Bamber JC *et al*: **Investigating the contribution of hyaluronan to the breast tumour microenvironment using multiparametric MRI and MR elastography.** *Mol Oncol* 2023, **17**(6):1076-1092.
 12. Zhang Z, Wang K, Park S, Li A, Li Y, Weiss RG, Xu J: **The exchange rate of creatine CEST in mouse brain.** *Magn Reson Med* 2023, **90**(2):373-384.
 13. Liu X, Hike D, Choi S, Man W, Ran C, Zhou XA, Jiang Y, Yu X: **Identifying the bioimaging features of Alzheimer's disease based on pupillary light response-driven brain-wide fMRI in awake mice.** *Nat Commun* 2024, **15**(1):9657.
 14. Zelachowski KA, Rishniw M, DeFrancesco TC: **A survey of the use of ultrasound by small animal veterinary clinicians.** *Vet Radiol Ultrasound* 2024, **65**(4):429-436.
 15. Moran CM, Thomson AJ: **Preclinical ultrasound imaging—a review of techniques and imaging applications.** *Frontiers in Physics* 2020, **8**:124.
 16. Luo Y, Yang FY, Lo RY: **Application of transcranial brain stimulation in dementia.** *Tzu Chi Med J* 2023, **35**(4):300-305.
 17. Paun L, Moiraghi A, Jannelli G, Nouri A, DiMeco F, Pallud J, Meling TR, Momjian S, Schaller K, Prada F *et al*: **From Focused Ultrasound Tumor Ablation to Brain Blood Barrier Opening for High Grade Glioma: A Systematic Review.** *Cancers (Basel)* 2021, **13**(22).
 18. Searle HKC, Lewis SR, Coyle C, Welch M, Griffin XL: **Ultrasound and**

- shockwave therapy for acute fractures in adults.** *Cochrane Database Syst Rev* 2023, **3**(3):CD008579.
19. Guo X, Lv M, Lin J, Guo J, Lin J, Li S, Sun Y, Zhang X: **Latest Progress of LIPUS in Fracture Healing: A Mini-Review.** *J Ultrasound Med* 2024, **43**(4):643-655.
 20. Pan TY, Pan YJ, Tsai SJ, Tsai CW, Yang FY: **Focused Ultrasound Stimulates the Prefrontal Cortex and Prevents MK-801-Induced Psychiatric Symptoms of Schizophrenia in Rats.** *Schizophr Bull* 2024, **50**(1):120-131.
 21. Eguchi K, Shindo T, Ito K, Ogata T, Kurosawa R, Kagaya Y, Monma Y, Ichijo S, Kasukabe S, Miyata S *et al*: **Whole-brain low-intensity pulsed ultrasound therapy markedly improves cognitive dysfunctions in mouse models of dementia - Crucial roles of endothelial nitric oxide synthase.** *Brain Stimul* 2018, **11**(5):959-973.
 22. Su WS, Wu CH, Song WS, Chen SF, Yang FY: **Low-intensity pulsed ultrasound ameliorates glia-mediated inflammation and neuronal damage in experimental intracerebral hemorrhage conditions.** *J Transl Med* 2023, **21**(1):565.
 23. Alipour B, Alvandi V, Mehrabifard M, Talaee O, Zamani H, Tabatabayi F, Malekzadeh R, Mortezaazadeh T: **Advances in Nano-Scale Metal-Based Contrast Agents for Computed Tomography: A Systematic Review.** *Radiation Physics and Chemistry* 2024:112195.
 24. Jiang Z, Zhang M, Li P, Wang Y, Fu Q: **Nanomaterial-based CT contrast agents and their applications in image-guided therapy.** *Theranostics* 2023, **13**(2):483-509.
 25. Xu Y, Yang W, Wu Z, Wang H, Cui T, Zeng W, Yun Y, Zhang B: **A Chromium-Based magnetic resonance probe for in situ gastric pH imaging.** *Chemical Engineering Journal* 2024, **497**:154269.
 26. Yang J, Feng J, Yang S, Xu Y, Shen Z: **Exceedingly Small Magnetic Iron Oxide Nanoparticles for T(1) -Weighted Magnetic Resonance Imaging and Imaging-Guided Therapy of Tumors.** *Small* 2023, **19**(49):e2302856.
 27. Popov AL, Savintseva IV, Kozlova TO, Ivanova OS, Zhukov IV, Baranchikov AE, Yurkovskaya AV, Savelov AA, Ermakov AM, Popova NR *et al*: **Heavily Gd-Doped Non-Toxic Cerium Oxide Nanoparticles for MRI Labelling of Stem Cells.** *Molecules* 2023, **28**(3).
 28. Thangudu S, Lin WC, Lee CL, Liao MC, Yu CC, Wang YM, Su CH: **Ligand free FeSn(2) alloy nanoparticles for safe T(2)-weighted MR imaging of in vivo lung tumors.** *Biomater Sci* 2023, **11**(6):2177-2185.
 29. Lu Z, Yan J, Zu G, Xu M, Liu J, Zhang Y, Shi L, Fei X, Cao Y, Pei R:

- Hypoxia-Responsive T(2)-to-T(1) Dynamically Switchable Extremely Small Iron Oxide Nanoparticles for Sensitive Tumor Imaging In Vivo.** *Bioconjug Chem* 2023, **34**(9):1622-1632.
30. Tan Y, Chen M, Chen H, Wu J, Liu J: **Enhanced Ultrasound Contrast of Renal-Clearable Luminescent Gold Nanoparticles.** *Angew Chem Int Ed Engl* 2021, **60**(21):11713-11717.
31. Alphandery E: **Ultrasound and nanomaterial: an efficient pair to fight cancer.** *J Nanobiotechnology* 2022, **20**(1):139.
32. Panova IG, Tatikolov AS: **Endogenous and Exogenous Antioxidants as Agents Preventing the Negative Effects of Contrast Media (Contrast-Induced Nephropathy).** *Pharmaceuticals (Basel)* 2023, **16**(8).
33. Farooqi S, Mumtaz A, Arif A, Butt M, Kanor U, Memoh S, Qamar MA, Yosufi A: **The Clinical Manifestations and Efficacy of Different Treatments Used for Nephrogenic Systemic Fibrosis: A Systematic Review.** *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2023, **16**:17-30.
34. Robertson N, Sempere L, Kenyon E, Mallet C, Smith K, Hix J, Halim A, Fan J, Moore A: **Omniparticle Contrast Agent for Multimodal Imaging: Synthesis and Characterization in an Animal Model.** *Mol Imaging Biol* 2023, **25**(2):401-412.
35. Lu CH, Lian WS, Wu RW, Lin YH, Su CH, Chen CL, Tai MH, Chen YS, Wang SY, Chen CC *et al*: **Iodinated gadolinium-gold nanomaterial as a multimodal contrast agent for cartilage tissue imaging.** *APL Bioeng* 2024, **8**(3):036110.
36. Yun WS, Cho H, Jeon SI, Lim DK, Kim K: **Fluorescence-Based Mono- and Multimodal Imaging for In Vivo Tracking of Mesenchymal Stem Cells.** *Biomolecules* 2023, **13**(12).
37. Mallio CA, Radbruch A, Deike-Hofmann K, van der Molen AJ, Dekkers IA, Zaharchuk G, Parizel PM, Beomonte Zobel B, Quattrocchi CC: **Artificial Intelligence to Reduce or Eliminate the Need for Gadolinium-Based Contrast Agents in Brain and Cardiac MRI: A Literature Review.** *Invest Radiol* 2023, **58**(10):746-753.
38. Wang CC, Wu PH, Lin G, Huang YL, Lin YC, Chang YE, Weng JC: **Magnetic Resonance-Based Synthetic Computed Tomography Using Generative Adversarial Networks for Intracranial Tumor Radiotherapy Treatment Planning.** *J Pers Med* 2022, **12**(3).
39. Bortot B, Mangogna A, Di Lorenzo G, Stabile G, Ricci G, Biffi S: **Image-guided cancer surgery: a narrative review on imaging modalities and emerging nanotechnology strategies.** *J Nanobiotechnology* 2023, **21**(1):155.

40. Dang X, Bardhan NM, Qi J, Gu L, Eze NA, Lin CW, Kataria S, Hammond PT, Belcher AM: **Deep-tissue optical imaging of near cellular-sized features.** *Sci Rep* 2019, **9**(1):3873.
41. Moskal P, Dulski K, Chug N, Curceanu C, Czerwinski E, Dadgar M, Gajewski J, Gajos A, Grudzien G, Hiesmayr BC *et al*: **Positronium imaging with the novel multiphoton PET scanner.** *Sci Adv* 2021, **7**(42):eabh4394.
42. van Thiel BS, de Boer M, Ridwan Y, de Kleijnen MGJ, van Vliet N, van der Linden J, de Beer I, van Heijningen PM, Vermeij WP, Hoeijmakers JHJ *et al*: **Hybrid Molecular and Functional Micro-CT Imaging Reveals Increased Myocardial Apoptosis Preceding Cardiac Failure in Progeroid Ercc1 Mice.** *Mol Imaging Biol* 2024, **26**(4):628-637.
43. John S, Yan Y, Abbasi S, Mehrmohammadi M: **Ultrasound and Photoacoustic Imaging for the Guidance of Laser Ablation Procedures.** *Sensors (Basel)* 2024, **24**(11).
44. Stephens K: **FDA approves Seno medical's breast cancer diagnostic technology.** *AXIS Imaging News* 2021.
45. Amirrashedi M, Zaidi H, Ay MR: **Advances in Preclinical PET Instrumentation.** *PET Clin* 2020, **15**(4):403-426.
46. Kleynhans J, Ebenhan T, Sathekge MM: **Expanding Role for Gallium-68 PET Imaging in Oncology.** *Semin Nucl Med* 2024, **54**(6):778-791.

3-1-2 行為學分析系統：Open field 及 Catwalk 檢測系統在動物行為的應用與行為數據量化與分析

一、前言

1. 動物行為學分析在生物醫學研究中的重要性

動物行為學分析在神經科學、精神疾病研究、藥物開發、運動醫學等領域，動物行為測試提供了寶貴的數據，幫助研究人員進行疾病建模與機制探索。例如，在帕金森氏症研究中，步態分析能夠揭示運動障礙的進展，而在焦慮與抑鬱症研究中，行為測試亦可用於評估藥物治療的成效 [1]。

2. 先進的行為學檢測系統對數據量化的影響

高度自動化的數據分析系統，可允許更大規模的行為學數據收集與分析。例如，高解析度視訊追蹤技術能夠自動測量動物的移動軌跡，而壓力感測系統則能夠定量評估步態異常。行為分析系統已能夠透過 AI 更準確地分類與識別不同的動物行為模式，例如利用深度學習模型來自動辨識焦慮行為 [2]。而相關儀器的改良，如紅外感測技術和三維動作捕捉系統也被應用於運動行為分析，使得對微小運動異常的偵測變得更加敏感 [3]。

此章節將介紹兩套先進且目前廣為研究人員使用的動物行為分析系統：TSE Multi Conditioning System 與 Noldus CatWalk™ XT。TSE Multi Conditioning System 是一套高度整合的行為學測試系統。而 Noldus CatWalk™ XT 則是目前步態分析領域中最為精確的系統之一，能夠提供高解析的實驗動物活動功能數據。

二、TSE Multi Conditioning System 與 Open Field 介紹

1. TSE Multi Conditioning System 簡介

專為小鼠和大鼠的行為測試設計，包括高解析度的運動追蹤、精確的環境控制（如光照、聲音、溫度等）以及自動化的數據分析，使研究人員能夠進行可重現的實驗。與傳統的 Open Field 測試系統相比更靈活精細，更可以快速熟悉使用。

2. Open Field 測試的原理與應用

常用於評估動物自主活動、探索行為和焦慮水平。在 TSE Multi Conditioning System 中，Open Field 提供了標準化並不受外在環境影響的場地，透過紅外線光源及視訊追蹤系統記錄動物的移動模式，分析在不同區域內(如四個角落及中間

區域)停留時間與行為表徵，精確記錄動物的活動路徑、移動速度和停留時間等參數。

3. 主要行為指標與數據分析

在 Open Field 測試中，會關注以下行為參數：

- **總移動距離**：反映活動力。
- **移動速度 (Velocity)**：判斷運動能力。
- **中心區/邊緣區停留時間**：焦慮狀態指標。
- **站立行為 (Rearing)**：環境適應性相關。

4. TSE Multi Conditioning System 在不同研究領域的應用：

- **焦慮與抑鬱研究**：透過動物在中心區的停留時間評估焦慮水平，並測試抗焦慮藥物的效果。
- **認知功能與學習記憶**：透過不同的模組，如 Fear Conditioning 和 Passive Avoidance，研究動物的記憶力。
- **神經退行性疾病**：在帕金森氏症和阿茲海默症的動物模型中，Open Field 測試可用來評估運動功能與探索行為的改變。
- **藥理學研究**：測試各種藥物對動物行為的影響，如抗焦慮、鎮靜劑或神經促進藥物。

5. TSE Multi Conditioning System 與其他行為學測試的整合

如：Fear Conditioning、Panic Response、Active & Passive Avoidance。透過這些測試的組合，研究人員可以更全面地分析動物的行為模式，並提高實驗效率和數據的一致性。

三、 Noldus CatWalk™ XT 步態分析系統

1. Noldus CatWalk™ XT 簡介

Noldus CatWalk™ XT 專為小型實驗動物（如小鼠和大鼠）設計。利用高解析度視訊技術、四隻腳自動足跡識別、行走及步伐狀態參數計算，準確地記錄分析動物的行走模式，評估其運動功能或疾病損傷情況。

2. Noldus CatWalk™ XT 的工作原理

透明玻璃通道構成，下方設有螢光光源。當動物的足部接觸玻璃表面時，壓力會改變光線的反射方式，使攝影機能清晰記錄足跡。可即時擷取動物的步態動作，並透過專屬軟體自動分析關鍵運動參數，如每隻腳步幅、行走擺盪時間、足跡形狀、站立時間...等超過 50 種參數可供參考。

3. CatWalk™ XT 測試的數據指標

包括：擺盪/站立時間、步伐的長度、觸地壓力分佈（Print Intensity）等。

Table. CatWalk Parameters [4]

Parameter	Description
Min Intensity	Min Intensity is the minimum Intensity of the complete paw.
Max Intensity	Max Intensity is the maximum Intensity of the complete paw.
Mean Intensity	Mean Intensity is the Mean Intensity of the complete paw.
Mean Intensity of the 15 most intense pixels	Mean Intensity of the 15 pixels of a paw with the highest intensity.
Max Intensity at	Max Intensity at (s) is the time in seconds since the start of the run that the maximum intensity is measured. Max Intensity at (%) is Max Intensity at (s) relative to Stand.
Max Contact Max Intensity	Maximum Intensity at Max Contact of a paw.
Max Contact Mean Intensity	Mean Intensity of a paw at Max Contact.
Max Contact Area	Max Contact Area is the maximum area of a paw that comes into contact with the glass plate.
Max Contact Area at	Max Contact At (s) is the time in seconds since the start of the run that a paw makes maximum contact with the glass plate. Max Contact At (%) is Max Contact At (s) relative to Stand of a paw.
Print Area	Print Area is the surface area of the complete print.
Print Width	Print Width is the width (vertical direction) of the complete paw print.
Print Length	Print Length is the length (horizontal direction) of the complete print.
Swing Speed	Swing Speed is the speed of the paw during a Swing.
Body Speed	The Body Speed is calculated by dividing the distance that the animal's body traveled from one initial contact of that paw to the next by the time to travel that distance.
Swing	Swing (s) is the duration in seconds of no contact of a paw with the glass plate.

Step Cycle	Step Cycle is the time in seconds between two consecutive Initial Contacts of the same paw.
Stand	Stand (s) is the duration in seconds of contact of a paw with the glass plate.
Duty Cycle	Duty Cycle (%) expresses Stand as a percentage of Step Cycle.
Stand Index	Stand Index is a measure for the speed at which the paw loses contact with the glass plate.
Stride Length	Stride Length is the distance between successive placements of the same paw.
Single Stance	Single Stance is the duration of ground contact for a single hind paw.
Initial Dual Stance	Dual Stance is the duration of ground contact for both hind paws simultaneously.
Terminal Dual Stance	Terminal Dual Stance is the second step in a Step Cycle of a hind paw that the contralateral hind paw also makes contact with the glass plate.
Average Run Speed	The average speed of the recorded run.
Run Duration	The duration of the recorded run.
Run maximum variation	The maximum variation in walking speed in the recorded run.
Body Speed Variation	Body Speed Variation (%) is calculated by dividing the absolute difference between the Body Speed and the Average Speed of a run by the Average Speed.
Base of Support (BOS) front paws	Base of Support (BOS) front paws is the average width between the front paws.
Base of Support (BOS) hind paws	Base of Support (BOS) hind paws is the average width between the hind paws.
Print Positions left paws	Print Positions left paws is the distance between the position of the hind paw and the position of the previously placed front paw on the left side in the same Step Cycle.
Print Positions right paws	Print Positions right paws is the distance between the position of the hind paw and the position of the previously placed front paw on the right side in the same Step Cycle.

4. Noldus CatWalk™ XT 在行為學研究中的應用

用於運動神經學、神經退行性疾病和損傷恢復等領域，包括：

- **脊髓損傷後的運動功能評估：**評估步態整體改善情況。例如損傷的嚴重程度、恢復進程以及不同治療方案（如神經再生藥物或物理治療）的效果 [4]。
- **帕金森氏症與神經退行性疾病：**量化步態異常、檢測神經退行性變化的進程，並評估不同藥物（如多巴胺促效劑）改善的作用 [5]。
- **周邊神經損傷與修復研究：**測量周邊神經恢復情況。例如，在坐骨神經損傷模型中，步態指標（如觸地時間、步長）能夠反映神經修復的進展。常用於檢測不同生長因子、神經移植或幹細胞治療的效果 [6]。
- **肌肉疾病與運動功能障礙評估：**應用於肌肉疾病（如肌肉萎縮症、肌強直症）模型中，分析運動功能的變化。其數據包括步態對稱性、肌肉負重能力及行走模式變化，可用於評估恢復的效果 [7]。
- **中風與腦部損傷後的運動功能恢復：**評估動物行走能力的恢復情況，幫助研究人員測試神經修復藥物或康復訓練的有效性。[8]。
- **疼痛研究與行為學分析：**在慢性疼痛或神經病理性疼痛研究中，判斷疼痛對步態的影響。如阿基里斯腱損傷導致的疼痛模型中，步態異常可作為疼痛嚴重程度的量化指標，並用於測試不同鎮痛藥物的效果 [9]。
- **新型藥物與治療方法的評估：**可測試新藥物、基因療法或物理治療對神經系統疾病的影響。如腦損傷、脊髓損傷或運動神經元疾病研究中，步態數據可作為治療效果的量化指標，提供更客觀的數據支持 [10]。

5. Noldus CatWalk™ XT 的優勢與局限性

優勢包括高解析度數據擷取、自動化數據分析和可重複性強。而局限如易受測動物的學習效應、環境因素影響，及對操作技術要求較高。未來的研究可能會進一步優化數據分析技術，提高系統對不同步態異常的識別能力。

四、挑戰與未來發展

1. 行為學分析技術的標準化與再現性問題

不同實驗室之間的环境變異（如光照、噪音、氣味）以及操作方式的不同，可能導致行為測試結果的可比性降低。此外，動物個體差異、基因背景影響、馴化程度及研究人員的操作方式，都可能影響數據的穩定性。為了提高研究的可重複性，可制定標準化的實驗設計與操作流程，並使用自動化技術減少人為干擾，

也可建構適當的實驗動物行為房室，提高數據可信度。最後可透過 AI 自動分析行為影像數據，降低主觀判讀誤差。

2. 高通量自動化行為學測試的發展趨勢

自動化技術的發展使大規模行為學數據的收集與分析變得更為高效。目前的發展趨勢包括：1.高解析度行為監測與追蹤技術，如三維動作捕捉。 2.無線生理監測技術(遙測系統)：結合 EEG (腦電圖)、EMG (肌電圖)、體溫與心率監測，提供更全面的動物數據。 3.行為數據雲端儲存與分析：可進行交叉驗證。

3. 不同動物模型與行為測試的整合應用

目前許多疾病模型的建立依賴單一行為測試，例如阿茲海默症通常使用迷宮測試，而帕金森氏症則主要依賴步態分析。然這些測試可能無法全面反映疾病的多層面特徵。未來的研究趨勢是將多種動物行為測試整合，以獲得更全面的數據。1.結合 Open Field 測試、CatWalk™ XT 步態分析、Y 迷宮測試與 Fear Conditioning 測試，以獲取更完整的行為數據。 2.結合 MRI (磁振造影)、fMRI (功能性磁振造影)與行為學測試，以同時觀察腦功能變化與行為異常。 3.透過 CRISPR-Cas9 建特定基因突變動物模型，並進行行為測試，探討基因與行為表現的關聯。

4. 動物行為與轉譯醫學的相關性

不僅限於基礎科學領域，也要促進轉譯醫學的發展，將動物模型的研究結果有效應用於臨床，改進疾病診斷、治療與預防策略。動物行為測試能夠提供關鍵的生理和病理資訊，幫助理解臨床疾病的機制，然而，行為學測試與臨床應用之間仍需要進一步驗證，以提升日後研究數據轉譯的效能及可能性。

- **優化疾病動物模型以貼近臨床表現**：需透過基因編輯技術、環境因子調控與多層次行為測試相結合的方式，提升疾病模型的準確性。例如，開發多基因突變阿茲海默症小鼠模型，以更真實地模擬人類疾病進程，並結合行為測試、腦影像分析與生理數據，提供更精確的疾病評估。
- **促進動物模型與臨床研究的雙向驗證**：透過臨床與基礎研究的數據整合提高動物疾病模式的轉譯價值。例如，將臨床患者的行為數據與相應的動物行為測試結果進行比對，確認疾病相關行為模式是否具有的一致性。

五、参考文献

1. Mo C, Renoir T, Hannan AJ: **What's wrong with my mouse cage? Methodological considerations for modeling lifestyle factors and gene-environment interactions in mice.** *J Neurosci Methods* 2016, **265**:99-108.
2. Tanaka Y, Nakata T, Hibino H, Nishiyama M, Ino D: **Classification of multiple emotional states from facial expressions in head-fixed mice using a deep learning-based image analysis.** *PloS one* 2023, **18**(7):e0288930.
3. Meyer T, Kim AD, Spivey M, Yoshimi J: **Mouse tracking performance: A new approach to analyzing continuous mouse tracking data.** *Behav Res Methods* 2024, **56**(5):4682-4694.
4. Liu S, Wu Q, Wang L, Xing C, Guo J, Li B, Ma H, Zhong H, Zhou M, Zhu S *et al*: **Coordination function index: A novel indicator for assessing hindlimb locomotor recovery in spinal cord injury rats based on catwalk gait parameters.** *Behav Brain Res* 2024, **459**:114765.
5. Kendall GE, Underwood CF, Parr-Brownlie LC: **A Novel Rat Model for Inflammatory Gut-Brain Interactions in Parkinson's Disease.** *The European journal of neuroscience* 2025, **61**(2):e16667.
6. Walter J, Mende J, Hutagalung S, Grutza M, Younsi A, Zheng G, Unterberg AW, Zweckberger K: **Focal lesion size poorly correlates with motor function after experimental traumatic brain injury in mice.** *PloS one* 2022, **17**(3):e0265448.
7. Li D, Liu H, Li C, Guan Y, Xiong X, He R, Jia Z, Liang L, Zhao J, Miao X *et al*: **Exogenous Mitochondrial Transplantation Facilitates the Recovery of Autologous Nerve Grafting in Repairing Nerve Defects.** *Cell transplantation* 2024, **33**:9636897241291278.
8. Keuters MH, Keksa-Goldsteine V, Rõlova T, Jaronen M, Kettunen P, Halkoluoto A, Goldsteins G, Koistinaho J, Dhungana H: **Benserazide is neuroprotective and improves functional recovery after experimental ischemic stroke by altering the immune response.** *Sci Rep* 2024, **14**(1):17949.
9. Crosio G, King ER, Huang AH: **CatWalk XT Gait Parameters Associated with Mouse Achilles Tendon Injury and Healing.** *Muscles Ligaments Tendons J* 2024, **14**(2):376-385.
10. Mirzahosseini G, Ismael S, Salman M, Kumar S, Ishrat T: **Genetic and Pharmacological Modulation of P75 Neurotrophin Receptor Attenuate Brain Damage After Ischemic Stroke in Mice.** *Molecular neurobiology* 2024, **61**(1):276-293.

3-1-3 生理監測系統：呼吸代謝檢測儀器 TSE PhenoMaster

的原理與應用及生理與行為數據的整合分析

一、前言

熱量過剩引起的肥胖已是現今社會的流行病之一。發育決定因子、基因組成、性別及年齡都會影響體重增減、且自身無法控制。其他自身可控的因素包括：體能、活動量、飲食，以及環境和社會因素等 [1]。大多數脊椎動物的代謝相關基因組皆保留相似的基因片段或功能，不過如胰島素相關調節者與轉運蛋白的差異就使得哺乳動物和魚類的碳水化合物利用極為不同 [2]。此外，不同的近交實驗小鼠品系其代謝表型也會不同。如 C57BL/6J 的 Nnt 基因 (nicotinamide nucleotide transhydrogenase) 出現單一突變，C57BL/6J (The Jackson Laboratory) 就比 C57BL/6N (NIH) 的實驗鼠更易肥胖和糖尿病 [3,4]。

而進行實驗過程中，過於頻繁的碰觸實驗動物會大幅影響數據，妥善運用動物代謝籠來觀察動物能有效的降低動物壓力、及人為因素誤差，並提高實驗效率。如可使用大鼠/小鼠代謝籠，配尿液採樣瓶與糞便採樣盤，可在不取出老鼠的情況下輕鬆紀錄體重、飲水、採食量、以及分離實驗鼠的糞便及尿液後再收集，不會打擾到鼠隻，將壓力、驚嚇等不必要的干擾因素降至最低。

代謝表型分析常用於研究代謝功能異常、障礙和行為資訊，包括偵測短期或長期之能量消耗、體重增加、血糖恆定與血脂組成。在不同的代謝表型分析方法中，常使用間接熱量測量法 (indirect calorimetry test) 量化動物休息時耗能、測 CO₂ 產生量、計算 O₂ 吸入量、並提供代謝率評估，也能用於探討代謝疾病的發展、並評估不同治療的效果 [5]。評估動物之總熱量消耗時，須考慮：(a) 基礎代謝率 (BMR)：身體在完全靜止狀態所需的最低代謝率，如支持呼吸、血液循環等的能量消耗率；(b) 食物熱效應 (TEF)：攝食後消化、吸收、轉運、代謝及儲存等連續反應，耗能增加，且隨食物不同而改變。通常進食 1 小時後、身體代謝作用會達到最高運作；(c) 平時身體活動熱量消耗 (PAEE)：包含不自主運動如顫抖、坐立不安和姿勢控制；(d) 冷刺激誘導生熱 (CIT) [6]。隨著科學儀器的進展，代謝生理檢測已跳脫出傳統高臺式收集糞尿及每週秤重飼料及飲水消耗的試驗模式。

二、PhenoMaster (Metabolic and Physiological Phenotyping System)

■ 適用大小鼠實驗的代謝籠系統，用於熱量測定、行為及生理研究

TSE Systems 公司 2015 年發表的 PhenoMaster，為第一組可連續監控的間接熱量記錄系統，記錄分析可精準至秒數。在 2016 年至 2023 年間 TSE-System

陸續新增、補強許多功能，目前 PhenoMaster system 客製化研究平台同時間最多可監測 18 隻小鼠 (單獨飼養、搭配環境控制)，並根據安裝的模組設定、可全天候自動即時連續記錄：

測量項目	模組說明	模組外觀
環境控制	可控制溫度、濕度、及光照週期。	
動物體重 食物攝取量 飲水攝取量	<p>體重：紅色管狀構造可以準確測量動物體重、也可讓動物休息並豐富化飼養環境、增進動物福利。</p> <p>食物及飲水攝取量：使用 plug-in sensor 記錄進食、飲水頻率與重量，同時可防止食物溢出或漏水，避免數據偏差。</p>	<p>Weight sensors</p>  <p>體重架 & 食物飲水架</p>
排泄物重量與收集	使用 Metabolic PhenoCage：準確分離、收集與計算尿液與糞便重量，內含 high-speed cooling unit 快速冷凍保存尿液與糞便樣本，未來可進行代謝物分析。	
監測實驗動物腸道微生物組活動 (Microbiome Activity)	利用高速氣體感測器偵測氫氣 (H ₂)、甲烷 (CH ₄)、與硫化氫 (H ₂ S) 等、即時檢測腸道微生物活動狀態。	如：餵食不易消化飲食的小鼠比同類產生更多的氫氣，反之則保持不變。

<p>監測動物活動</p>	<p>使用 ActiMot3 module：以紅外線感測器長時間監測籠內動物行為 (XYZ 軸)，包含精細運動、動態運動、辨認不同活動的差異。XY 平面感測儀偵測靜止和動態運動。Z 軸感測器觀察後腿站立和跳躍。ActiMot3 框架可進行各種行為測試，包括 Open-field、Light-Dark、及 Hole-Board 測試等，也能減少觀察時的動物壓力。</p>	
<p>滾輪運動能力</p>	<p>使用 Running Wheel：Voluntary Running Wheel or Active Wheels，可搭配 ActiMot3 frames，全面性評估總活動次數與頻率。電腦控制開始與停止跑步時間、距離，也可搭配漸進式阻力跑步模式。</p> <p>設計主動跑步實驗：結合攝取食物/飲水，可行複雜的學習任務，讓動物因食物/液體而跑步、或是將跑步作為獎勵。</p> <p>設計運動技能實驗：移除特定橫桿改變橫桿之間距離，以測試運動技能缺陷和學習運動技能。也可豐富化環境、並促進動物福利。</p> <p>使用 metabolic running wheel (Calo-Wheels)：為測量運動代謝測量的獨立氣密式電動滾輪，可透過 PhenoMaster 軟體設定速度與運動程序，按照預定時</p>	 

	<p>間隔精確測量耗氧量 (VO₂)、二氧化碳產生量 (VCO₂)、呼吸交換率 (RER) 和能量消耗 (EE) 等。</p>	
<p>跑步運動活動力</p>	<p>使用 CaloTreadmill：氣密式管道，可透過 PhenoMaster 軟體設定速度與程序，包含加速、階段式、增加或下降軌道角度、風阻、或電擊刺激。在固定時間間隔測量如耗氧量 (VO₂)、二氧化碳產生量 (VCO₂)、呼吸交換率 (RER) 和計算能量消耗 (EE) 等。</p>	
<p>動物肌力測試-後肢阻力測驗</p>	<p>使用 Weightlifting Module：飼料盆上方搭配可調節阻力 (%體重) 的鉸鏈來測試動物後腿 (hindleg) 伸展肌力。除了可鼓勵動物獲得食物之外，也能避免使用侵入性或造成壓力的方法。可研究對於細胞、生化、基因轉錄和代謝適應的短期或長期影響。</p>	
<p>記錄動物能量消耗</p>	<p>利用 high-speed gas sensors 測量氣體濃度如氧氣消耗量、二氧化碳產生量、來計算 kcal/ (kg x h) 或 Kcal/h。方式包含 Classic Multiplexed System (一感測器監測多籠)、Accelerated Multiplexed System (2+感測器、同時連續監控多籠)、Continuous Real-Time</p>	

	System (一籠一獨立氣體感測器)。	
Gnotobiotic/ Germ-free 動物 實驗	<p>利用 Iso Mouse Cage，其包含 special HEPA filter，允許過濾後的空氣進入或離開籠子，與特殊氣體感測器結合，可發展動物腸道微生物組的研究，也可保護動物及飼養房環境。</p> <p>利用 Isolators：用於對無菌或免疫功能低下的動物進行安全的研究。並保護實驗室環境避免受病原體污染。</p>	 

動物能量來源主要源自食物，在消化過程分成可消化部分 (可消化能) 加上不可消化部分 (糞能)。可消化能一部分作為尿液和氣體散失離開、一大部分為可代謝能來支持身體能量消耗和儲存 (使體重累積)。身體能量消耗中維持基礎代謝率 (basal metabolic rate) 為最大宗佔 60-70%、自主活動 (locomotor activity) 佔 15-30%，最後則是適應性產熱作用 (adaptive thermogenesis) 約需 10-15%。TES PhenoMaster 皆能即時記錄每部份的數據，並真實反應動物生理狀態。

三、 PhenoMaster 之優缺點介紹

1. 優點：

- (1) 減少人為因素干擾
- (2) 符合動物福利要求
- (3) 建立動物實驗標準化流程
- (4) 可設定遠端通知的警報系統 (食物、飲水、CO₂ 濃度)
- (5) 具有準確性、分辨率以及再現性。
- (6) 降低環境噪音
- (7) 控制環境溫度
- (8) 根據特定研究需求進行定制模組配件與即時連線

2. 缺點：

- (1) 建立完整監測系統經費昂貴

(2) 需每年儀器校正所費不貲。

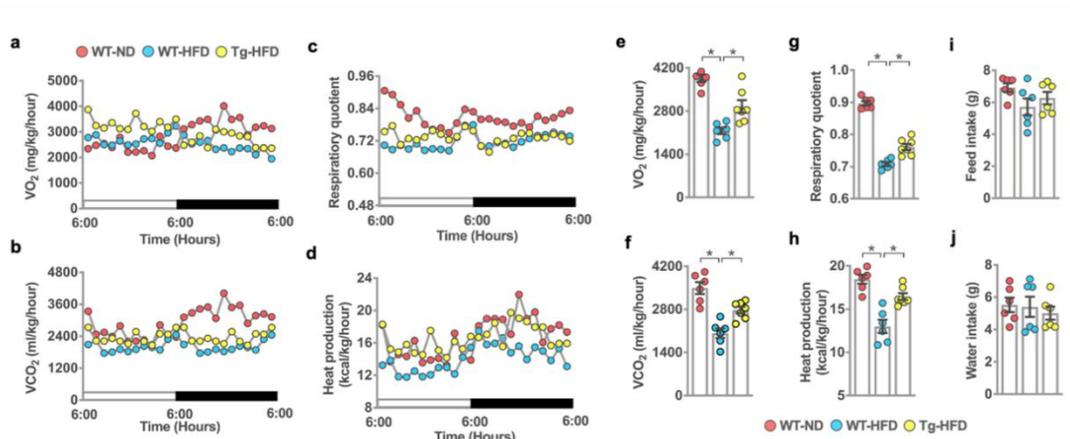
四、PhenoMaster 應用案例

TSE PhenoMaster 可支持生理學、運動生理與藥物開發等相關應用醫學研究領域的動物試驗。另外，對於腸道微生物組成、甚至是老化，也可以藉由食物攝取監測和控制、糞便收集、結合間接熱量測量法等，探討不同飲食或治療方式對於無菌小鼠 (germ-free mice) 或含專一菌種小鼠 (gnotobiotic mice) 的腸道微生物動態影響。以下為應用 PhenoMaster 的動物試驗發表的例子：

1. 記錄實驗動物能量消耗、採食量與飲水量：

miR-29a 會控制 leptin 訊號傳導路徑和成骨幹細胞的棕色/米色脂肪細胞形成，維持骨合成代謝，逆轉 HFD 引起的能量利用不足和內臟脂肪過度產生，證明可透過這種機制，骨骼的完整性可能可以消除因 HFD 引起的全身脂肪過度生成 [7]。

Fig. 3



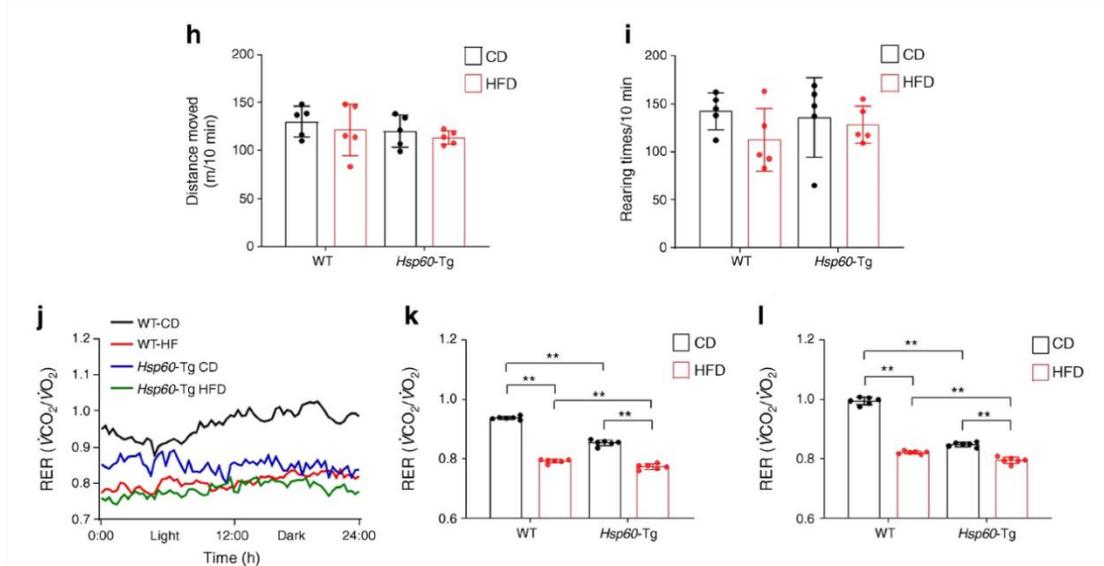
為了解體內脂肪沉積的變化是否與動物能量代謝有關，作者利用自動化 PhenoMaster 系統量化體內代謝狀態，包括 O₂ 消耗量 (Fig. 3a)、CO₂ 產出量 (Fig. 3b)、呼吸商 (Fig. 3c)，和從上午 6:00 至下午 6:00，在室溫 (23°C) 下的產熱量 (Fig. 3d)。與餵食標準啮齒動物飼料 (ND) 的 WT 小鼠相比，餵食高脂飼料 (HFD) 的 WT 小鼠其 O₂ 消耗量 (Fig. 3e)、CO₂ 產生量 (Fig. 3f)、呼吸商 (Fig. 3g) 和產熱量 (Fig. 3h) 皆較少。值得注意的是，HFD 誘導的代謝下降程度在 miR-29aTg 小鼠中較為緩解。但是組間的採食量 (Fig. 3i) 與飲水量 (Fig. 3j) 則沒有差異。表示給予 HFD 的 miR-29a 小鼠之脂肪利用率或能量消耗比餵飼 HFD 的 WT 小鼠更高 [7]。

2. 記錄實驗動物運動能力與能量消耗：

粒線體 HSP60 會促進脂肪酸氧化、增加脂肪利用率，同時降低粒線體壓力和發炎反應，並透過保留 SIRT3 訊號傳導改善因高脂飲食引起的肥胖(DIO)

或非酒精性脂肪肝(NAFLD) 發展；所以 HSP60 可能有保護肝臟作用的潛力，並也可能在 NAFLD 或 2 型糖尿病治療藥物的開發來發揮重要作用 [8]。

Fig. 2

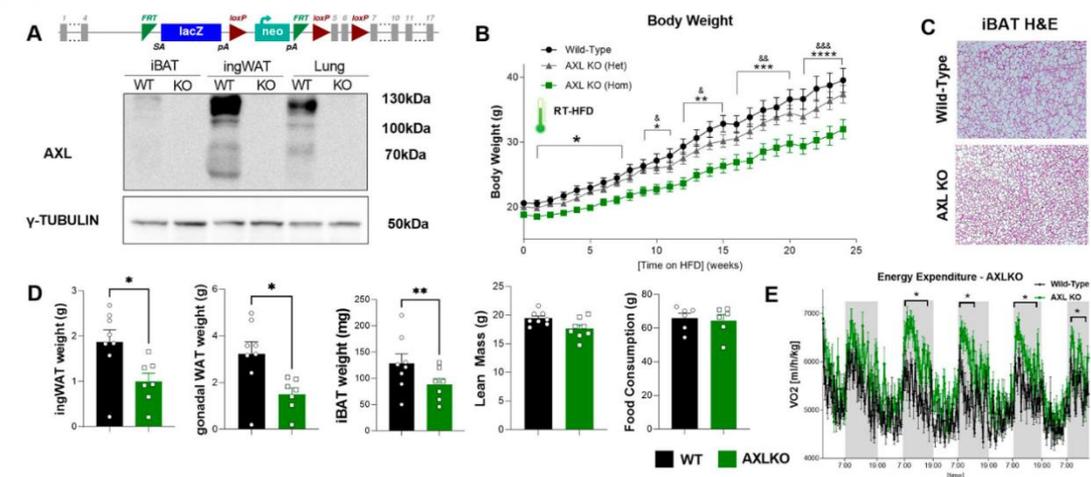


給予粒線體過表現 HSP60 的轉基因鼠 (Hsp60-Tg) 與對照組小鼠 (WT) 餵食 6 個月的 High-fat diet (HFD) 或 chow diet (CD) 之後，Hsp60-Tg 和 WT 小鼠的運動能力 (如移動距離和站立活動) 相較之下沒有差異 (Fig. 2h, 2i)。而在呼吸交換率方面，HFD 餵養 WT 小鼠與 CD 相比，呼吸交換率 (RER) 較低；我們也發現 Hsp60-Tg 小鼠在餵食 HFD 或 CD 後，RER 也很低 (Fig. 2j)。此外，不管是在光週期 (Fig. 2k) 或是黑暗期 (Fig. 2l)，Hsp60-Tg 小鼠的 RER 皆低於 WT 小鼠，代表 Hsp60-Tg 小鼠可能大部分是氧化脂肪酸而不是碳水化合物 [8]。

3. 記錄動物採食量與能量消耗：

使用基因剔除方法來抑制 AXL receptor (tyrosine-protein kinase receptor) 活性與功能，證明抑制 AXL receptor 表現會增強棕色脂肪細胞的功能和產熱作用，使小鼠體重減輕和改善代謝作用 [9]。

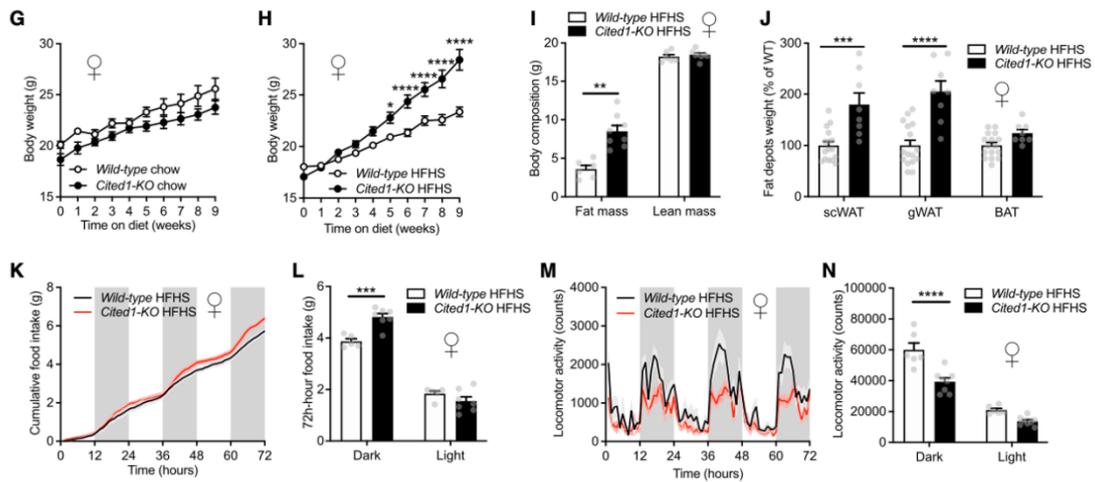
Fig. 6



使用 AXL receptor 全身性剔除小鼠 (Axl KO, Fig. 6A) 來觀察抑制 AXL receptor 後對於小鼠生理的影響。結果發現：Axl KO 純合子 (Hom) 與 Axl 雜合子小鼠 (Het) 的出生小鼠體重沒有差異 (Fig. 6B)。另外在 HFD 的前 4 週內，HFD 無法顯著增加 Axl KO 小鼠的體重，與對照組 (Wild-Type) 相比之下，Axl KO 小鼠體重增加幅度也很小 (Fig. 6B)，代表 Axl KO 小鼠可能可以抵抗對 HFD 誘導的肥胖。除此之外，Axl KO 小鼠的 iBAT 脂滴累積程度、重量也下降，不過肌肉量與採食量皆不受影響，代表棕色脂肪功能被改善 (Fig. 6C, 6D)。相比兩組間的能量消耗，Axl KO 小鼠需要更高的耗氧量 (VO₂)、也會消耗更多能量 (Fig. 6E) [9]。

4. 記錄動物採食量與運動能力：

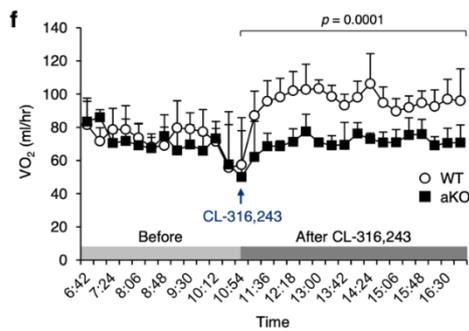
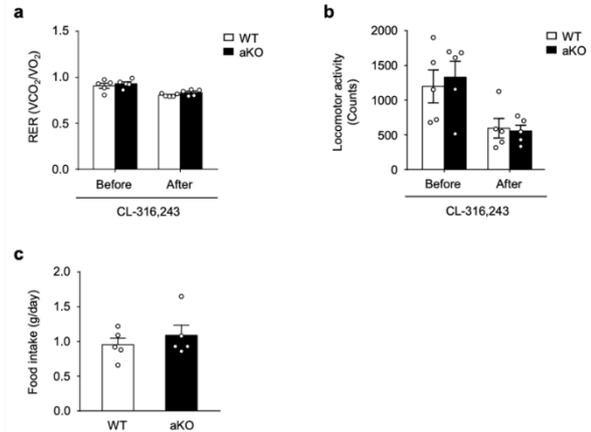
Cbp/p300 interacting transactivator with Glu/Asp rich carboxy-terminal domain 1 (Cited1) 作為一個大腦下視丘弓狀核的重要輔助因子，透過活化雌二醇、強化 leptin 的抑制食慾功能，並控制 POMC 神經元來減少攝食量與頻率、並產生抗肥胖效果。結合神經內分泌機制證明：POMC 神經元如何將能量儲存與雌激素訊息傳遞整合，而在高脂高糖(HFHS) 飼糧誘導的肥胖狀態下進行代謝適應 [10]。

Fig. 1

當餵食一般飼料 (chow diet, Fig. 1G) 時, Cited1-KO 雌性小鼠的體重與對照組沒有差異。餵食高脂高糖飼料後 Cited1-KO 雌性小鼠體重顯著增加, 為正常小鼠的兩倍多 (圖 1H)。體重增加即是因 Cited1-KO 雌性小鼠的脂肪組織 (皮下脂肪組織和性腺脂肪組織) 重量增加所致 (Fig. 1I, 1J)。透過 PhenoMaster 測量可發現: Cited1-KO 雌性小鼠在黑暗階段 (活躍時段) 的食物攝取量增加 (Fig. 1K, 1L), 黑暗階段的運動活動卻是減少 (Fig. 1M, 1N), 兩者搭配指出小鼠的能量消耗明確減少 [10]。

5. 記錄動物能量消耗、運動能力與採食量:

Ssu72 磷酸酶對於棕色脂肪組織的產熱必要基因的 mRNA 轉譯作用不可或缺。在所有脂肪組織中, 棕色脂肪組織的 Ssu72 表現量最高, 若快速低溫會增加 Ssu72 蛋白質表現, 並具有 eIF2 α 磷酸酶的功能、可將 P-eIF2 α Ser51 去磷酸化並誘導細胞質中的主要產熱系統 (如 OXPHOS) 的轉譯。所以透過以上機制, 正常氧化功能的粒線體會活化棕色脂肪細胞的適應性產熱作用。在 Ssu72 缺乏的棕色脂肪細胞, eIF2 α 過度磷酸化會降低細胞質的轉譯功能, 導致粒線體功能和產熱出現異常與缺陷 [11]。

Fig. 2f**Supplementary Fig. 5**

7 週齡小鼠腹腔注射 CL-316,243 (3-腎上腺素受體特異活化劑, β_3 -adrenergic receptor-specific agonist) 後, Ssu72 aKO 小鼠的耗氧量顯著低於對照組 (Ssu72 WT, Fig. 2f), 即代表 Ssu72 aKO 小鼠正在減少能量消耗。於是作者比對兩組間的採食量與活動能力是否不同? 與對照組 (WT) 相比, Ssu72 aKO 小鼠的呼吸交換比 (RER) 和運動活性 (Locomotor activity) 沒有受到影響 (Supplementary Fig. 5a, 5b), Ssu72 aKO 小鼠的食物攝取量也沒有變化 (Supplementary Fig. 5c), 代表 Ssu72 aKO 小鼠的減少能量消耗 (Fig. 2f) 可能是反應生理變化。以上結果指出脂肪組織的 Ssu72 可能有助於脂肪酸氧化作用和全身能量消耗, 讓小鼠在低溫期間也能維持核心體溫 [11]。Ssu72 WT: Ssu72^{flx/flx} mice. Ssu72 aKO: Ssu72^{flx/flx}; Adiponectin-Cre mice。

五、參考文獻

1. Institute of Medicine (US) Subcommittee on Military Weight Management. Weight Management: State of the Science and Opportunities for Military Programs. Washington (DC): National Academies Press (US); 2004. 3, Factors That Influence Body Weight. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK221834/>
2. Zhang Y, Qin C, Yang L, Lu R, Zhao X, Nie G. A comparative genomics study of carbohydrate/glucose metabolic genes: from fish to mammals. BMC Genomics. 2018;19(1):246. doi: 10.1186/s12864-018-4647-4.
3. Rossmesl M, Rim JS, Koza RA, Kozak LP. Variation in type 2 diabetes--related traits in mouse strains susceptible to diet-induced obesity. Diabetes. 2003;52(8):1958-66. doi: 10.2337/diabetes.52.8.1958.
4. Berglund ED, Li CY, Poffenberger G, Ayala JE, Fueger PT, Willis SE, Jewell MM, Powers AC, Wasserman DH. Glucose metabolism in vivo in four commonly used inbred mouse strains. Diabetes. 2008;57(7):1790-9. doi: 10.2337/db07-1615.

5. Ni B, Chen S, Farrar JS, Celi FS. Metabolic Phenotyping in Mice with NASH Using Indirect Calorimetry. *Methods Mol Biol.* 2022;2455:223-232. doi: 10.1007/978-1-0716-2128-8_17.
6. Škop V, Guo J, Liu N, Xiao C, Hall KD, Gavrilova O, Reitman ML. The metabolic cost of physical activity in mice using a physiology-based model of energy expenditure. *Mol Metab.* 2023;71:101699. doi: 10.1016/j.molmet.2023.101699.
7. Lian WS, Wu RW, Chen YS, Ko JY, Wang SY, Jahr H, Wang FS. MicroRNA-29a in Osteoblasts Represses High-Fat Diet-Mediated Osteoporosis and Body Adiposis through Targeting Leptin. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17):9135. doi: 10.3390/ijms22179135.
8. Weng SW, Wu JC, Shen FC, Chang YH, Su YJ, Lian WS, Tai MH, Su CH, Chuang JH, Lin TK, Liou CW, Chu TH, Kao YH, Wang FS, Wang PW. Chaperonin counteracts diet-induced non-alcoholic fatty liver disease by aiding sirtuin 3 in the control of fatty acid oxidation. *Diabetologia.* 2023;66(5):913-930. doi: 10.1007/s00125-023-05869-9.
9. Efthymiou V, Ding L, Balaz M, Sun W, Balazova L, Straub LG, Dong H, Simon E, Ghosh A, Perdikari A, Keller S, Ghoshdastider U, Horvath C, Moser C, Hamilton B, Neubauer H, Wolfrum C. Inhibition of AXL receptor tyrosine kinase enhances brown adipose tissue functionality in mice. *Nat Commun.* 2023;14(1):4162. doi: 10.1038/s41467-023-39715-8.
10. González-García I, García-Clavé E, Cebrian-Serrano A, Le Thuc O, Contreras RE, Xu Y, Gruber T, Schriever SC, Legutko B, Lintelmann J, Adamski J, Wurst W, Müller TD, Woods SC, Pfluger PT, Tschöp MH, Fisette A, García-Cáceres C. Estradiol regulates leptin sensitivity to control feeding via hypothalamic Cited1. *Cell Metab.* 2023;35(3):438-455.e7. doi: 10.1016/j.cmet.2023.02.004.
11. Park EJ, Kim HS, Lee DH, Kim SM, Yoon JS, Lee JM, Im SJ, Lee H, Lee MW, Lee CW. Ssu72 phosphatase is essential for thermogenic adaptation by regulating cytosolic translation. *Nat Commun.* 2023;14(1):1097. doi: 10.1038/s41467-023-36836-y.

3-2 數位科技在毒理測試中的應用

3-2-1 OECD TG 現行替代科技的應用概述

一、前言

實驗動物的應用在基礎醫學研究、藥物開發、健康食品研發、化學品毒理學資訊、醫療器材開發、動物用藥、疫苗研究、農藥研究、教育訓練等已有長久的歷史，實驗結果廣泛被學術界及政府管理單位所接受。依據農業部 111 年實驗動物人道管理年報，專科以上學校、動物用藥品廠、藥廠、醫院、試驗研究機構等使用實驗動物總計為 1,158,7145 隻，其中試驗研究機構使用隻數最多，為 454,739 隻 (39.25%)，其次為專科以上學校使用 544,398 隻 (46.98%)；實驗動物多使用於醫學研究總計 4,414 件，占全研究計畫領域中 55.73%，其次為藥物(含中藥草)總計 1,245 件，占 15.72%(農業部。2023)。然而，隨著大眾對動物保護意識增長，逐漸重視實驗動物的福祉，如實驗動物使用目的之必要性、降低動物在實驗操作造成的痛苦、減少動物的緊迫產生、確保實驗動物皆能在最小壓力及符合其天性環境中飼育等。另外，進行動物實驗前須清楚說明使用實驗動物之必要性及目的性、試驗動物數量是否落實減量原則，以及試驗過程中明確落實降低動物緊迫操作及痛苦程度之方法等，經由各機構設立實驗動物照護及使用委員會 (Institutional Animal Care and Use Committee) 審核通過方可進行。隨著學術發展進步，發現雖同為脊椎動物，實驗動物對於疾病發展機制或生理表現無法完全等同於人類 (Perel et al., 2007)，故開始反思動物實驗的必要性。

二、替代性試驗的發展

1959 年 Russell 和 Burch 提出 3R (Reduction 減量、Refinement 精緻化、Replacement 替代) 理念後，國際開始提出願景並著手開發並驗證替代試驗的可行性，期望以動物細胞株或人類細胞株建立取代使用實驗動物、或以電腦依照物質結構與已知物之既有資料預測新興物質之安全性等方式，來合理地取代實驗動物試驗、減少動物使用量，增進動物福祉及動物保護的概念。1991 年歐盟成立歐盟動物試驗替代方法參考實驗室 (EU Reference Laboratory for alternatives to animal testing, EURL ECVAM)，改進並推廣動物研究與替代方法的資訊，促進替代方法的開發與應用。現今已驗證皮膚刺激、皮膚吸收/滲透及光毒性等完全替代方法，亦驗證皮膚過敏、基因毒性、致癌性、生殖毒性和急性口服毒性等部分取代或減少動物試驗。2018 年美國環境保護署公布有物質管制法整合並應用新途徑方法，公布替代試驗方法的開發和實施策略，減少使用動物試驗，顯示國際間積極開發並推動替代試驗方法應用，朝向符合動物 3R 精神前進。

三、現今替代性試驗的應用

因應新興化學物質之開發與應用，歐盟針對化學品管理實施化學品註冊、評估、授權和限制法案(Registration, Evaluation, Authorization, and Restriction of Chemicals, REACH)要求化學品需登錄毒理資料，然而毒理資料多依賴動物實驗取得數據，面臨動物保護意識高漲的壓力，REACH 明確指出應使用替代試驗方法取代動物試驗，並推行共享數據，避免重複或進行動物實驗，若必須採用動物試驗須事先提出計畫書及替代試驗資訊審查得以進行。目前 REACH 之替代試驗方法應用包括：(一) 使用現有數據 (use of existing data)、(二) 證據權重法 (weight of evidence)、(三) 定量結構關係 (quantitative-structure activity relationships, QSAR)、(四) 體外測試方法(in vitro methods)、(五) 化學物質分組和交叉參照法 (grouping of substances and read-across approach)以及依照經濟合作暨發展組織 (Organization for Economic Cooperation and Development, OECD)化學物質分組指引進行類似物篩選，預測另一化學物質之物理特性對人體健康和環境影響。歐盟自 2004 年起頒布禁止化粧品動物實驗的政策，禁止對化粧品成品進行動物實驗；2009 年起禁止對化粧品成分進行動物試驗，須使用替代試驗評估其使用的安全性，唯有必要保護人類健康情況下得以進行動物試驗，以減少執行不必要的動物試驗。美國環保署 (Environmental Protection Agency, EPA)依據「毒性物質管制法案 (Toxic Substances Control Act, TSCA)」對現有及新興化學物質採取管制措施，包含化學品申報及禁限物質管制，並要求 EPA 以可行且合理科學方式減量及替代脊椎動物測試化學物質或混合物，針對評估人體健康影響明列出替代試驗的指引，以預防化學物質對人類健康及環境的潛在風險。公告可接受之替代方法，包括體外試驗或電腦模擬方式評估化學物質如下：(EPA, 2021)

1. 皮膚吸收：OECD TG 428
2. 皮膚腐蝕性：OECD TG 430、OECD TG 431、OECD TG 435、OECD TG 439
3. 皮膚過敏：OECD TG 442C、OECD TG 442D、OECD TG 442E
4. 光毒性：OECD TG 432、OECD TG 495
5. 眼刺激性及腐蝕性：OECD TG 437、OECD TG 438、OECD TG 460、OECD TG 491、OECD TG 492、OECD TG 494、OECD TG 496、ICCVAM Eye Irritation Test
6. 內分泌作用：OECD TG 455、OECD TG 456、OECD TG 458、OECD TG 493、TM2016-08 (US)、OPPTS 890.1200、基因毒性(OECD TG 471、OECD TG 473、OECD TG 476、OECD TG 487、OECD TG 490)
7. 致癌性：TM2004-07 (EU)
8. 急毒性：TM2007-03 (EU)

新興材料研究及應用日益廣泛，如由農業廢棄物萃取有效成分開發成市售健康食品以改善人體生理功能、新興材料應用於臨床可改善原有醫材缺點、新成分

或新療效之藥品研發與臨床應用，促進人體健康、改善手術後傷口預後情形、促進臨床醫療發展等。為維護民眾之健康並確保消費者之權益，須經由功效性及安全性試驗評估對人體健康影響並經由監管單位審查，確認其有效性及安全性才可上市販售或於臨床上使用。針對國內化粧品、農藥、醫療材料、健康食品及新藥開發等，說明替代試驗之應用。國內之新藥開發依據藥品非臨床試驗安全性規範(第五版)提及「所有新藥進入人體臨床試驗之前，必須提供其安全性評估資料，包括：(一) 非臨床動物試驗數據，可以推衍至此藥物實際產生的作用；(二) 臨床試驗數據或在其他國家的藥物使用情況證明。非臨床試驗包括藥理與毒性試驗，藥品非臨床安全性試驗之執行，應符合非臨床試驗優良操作規範 (good laboratory practice, GLP)，非臨床安全性試驗是指(含)安全性藥理試驗和毒理試驗，其中藥理試驗包括：藥效學試驗 (pharmacodynamic study)與藥物動力學試驗 (pharmacokinetic study)。藥效學可分為 3 類：主藥效試驗、次藥效試驗以及安全性藥理評估，目的評估新藥在預期或非預期治療標靶藥理作用或作用機轉，以及探討新藥在療效劑量範圍或更高的暴露量時對生理功能的不良反應。藥物動力學則利用動物及人類生物檢體進行體內或體外試驗，評估可能參與代謝的酵素、代謝程度、蛋白結合率試驗結果，以及藥品在試驗物種的全身性曝露結果進行評估。而毒理試驗包含單一劑量毒性試驗、重複劑量毒性試驗、局部耐受性試驗、基因毒理性試驗、致癌性試驗、生殖與發育毒性試驗、免疫毒性、毒理動力學試驗、光毒性試驗、藥物成癮性試驗、複方藥物的毒性試驗等 (衛生福利部。2014)，除基因毒理試驗採用體外試驗，其他試驗多使用動物實驗獲取安全性數據，但單一劑量毒性試驗可使用 OECD TG 420 固定劑量法、OECD TG 423 急性毒性級別法、OCED TG 425 上下增減劑量法等試驗達到動物減量之原則。

隨保健意識的提升，保健食品市場蓬勃發展，為確保民眾的權益，我國衛生福利部建立健康食品審查機制，依據「健康食品安全評估方法」，經科學證據證實食品的安全性、保健功效性及安定性，才可申請認證為「健康食品」。目前健康食品可宣稱保健功效共有 13 項，包括調節血脂、胃腸功能改善、護肝、免疫調節、骨質保健、不易形成體脂肪、抗疲勞、輔助調整過敏體質、調節血糖、延緩衰老、牙齒保健、促進鐵吸收及輔助調整血壓。在功效性試驗方面，由於試驗目的為驗證測試物質經生物吸收、代謝後是否改善生理功能，目前難以使用替代試驗取代動物實驗。安全評估試驗應依「分層試驗法」(Tiered Approach)概念，由基因毒性等體外試驗依序執行相關試驗，並檢視試驗結果評估後續試驗執行之必要性。若體外試驗結果為陽性反應，則不需進行後續體內試驗，符合動物實驗減量原則。另外，除安全評估方法中所列之試驗項目及方法外，亦接受依照 OECD 化學品測試指引之方法，優先採用國際已認可之非活體試驗：如無非活體試驗可替代，應採用國際認可之減量、降低痛苦或縮短試驗時程之活體試驗，以符合 3R 原則 (衛生福利部。2020)。

行政院環保署「毒性化學物質管理法」第 7-1 條之附屬法規「新化學物質與既有化學物質資料登錄工具說明」規定我國輸入輸出之化學物質需登錄其毒理及生態毒理資料。目前國內法規已與國際接軌，完全接受經濟合作暨發展組織(OECD)的 3R 替代測試方法，毒理試驗減量或替代性試驗方法包括：

1. 急性毒性試驗：口服(OECD TG 420 固定劑量法、OECD TG 423 急性毒性級別法、OECD TG 425 上下增減劑量法)及吸入急性毒性(OECD TG 433 固定濃度法、OECD TG 436 急性毒性級別法)
2. 致癌性：OECD TG 451 致癌性研究、OECD TG 453 結合慢性毒性/致癌性研究
3. 生殖毒性：OECD TG 443 擴展的一代生殖毒性研究
4. 皮膚刺激：OECD TG 439 體外皮膚刺激-重組人類表皮試驗、腐蝕(OECD TG 430 體外皮膚腐蝕-透皮電阻試驗、OECD TG 431 體外皮膚腐蝕-人體皮膚模式試驗、OECD TG 435 體外膜阻隔試驗法)
5. 過敏：OECD TG 429 局部淋巴結試驗、OECD TG 442A 局部淋巴結試驗：DA、OECD TG 442B 局部淋巴結試驗：BrdU-ELISA 或 BrdU-FCM、OECD TG 442C 皮膚過敏化學試驗：直接胺反應測試(DPRA)、OECD TG 442D 皮膚過敏體外試驗：偵測危害結局路徑(AOP)關鍵試驗-角質細胞活化、OECD TG 442E 皮膚過敏體外試驗：偵測危害結局路徑(AOP)關鍵試驗-樹突細胞活化
6. 眼睛刺激性：OECD TG 437 眼角膜混濁和通透性試驗、OECD TG 438 離體雞眼試驗、OECD TG 460 螢光素滲漏測試法：鑑別眼睛腐蝕與嚴重刺激物、OECD TG 491 短時間暴露體外試驗：鑑別(1)導致眼睛嚴重損傷的化學物質與，(2)不需分類眼睛刺激或嚴重眼睛損傷的化學物質、OECD TG 492 重建人類角膜上皮細胞 (RhCE)試驗法：鑑別不需分類與標示眼睛刺激或嚴重眼睛損傷的化學品、OECD Daft 細胞傳感微生理記錄儀試驗、OECD GD 69
7. 基因毒性體外試驗：OECD TG 471 細菌回復突變試驗、OECD TG 473 體外哺乳動物染色體異常試驗、OECD TG 476 體外哺乳動物細胞基因突變試驗、OECD TG 487 體外哺乳動物微核試驗、OECD TG 489 哺乳動物體內試驗：鹼性彗星試驗分析、OECD TG 490 體外哺乳類細胞基因突變試驗：胸腺嘧啶核苷激酶基因

生態毒理試驗替代方法包括：

- 01 非脊椎動物之短期毒性：OECD TG 蚤類急性活動抑制試驗
- 02 對水生藻類及藍綠藻的毒性：OECD TG 201 藻類生長抑制試驗
- 03 魚類之短期毒性：OECD TG 236 魚胚胎及毒性(FET)試驗

04 生物蓄積(水生生物/底泥)：OECD TG 319A 體外利用冷凍保存虹鱒肝細胞測定肝固有清除率、OECD TG 319B 體外利用虹鱒 S9 亞細胞萃取液測定肝固有清除率

化學品少量登錄(未滿 100 公斤)也接受定量結構關係(Quantitative structure-activity relationship, QSAR)(OECD GD 69 指導文件：定量結構活性關係模型之驗證)，以電腦模擬預測化學物質對皮膚致敏性。

衛生福利部公布自 108 年 11 月 9 日起施行修正化粧品衛生管理條例部分條文，依同條例第 23 條之 2 第 3 項規定，「化粧品製造、輸入或販賣業者於國內進行化粧品或化粧品成分之安全性評估，均不得以動物作為檢測對象。除該成分被廣泛使用，且其功能無法以其他成分替代，或具評估資料顯示有損害人體健康之虞，須進行動物試驗者。」，明文規定不得使用動物進行化粧品或其成分安全性評估。生物資源保存及研究中心於經濟部科技專案計畫支持下，參照 OECD TG 442E 體外皮膚敏感性：OECD TG 460 人類細胞株活化試驗及體外眼部嚴重刺激性：螢光素滲漏試驗，建立化粧品毒性替代性試驗並通過認證，建構國內實驗動物試驗替代試驗服務平台，作為化粧品替代試驗方法選擇之一 (廖。2020)。

依據我國農藥管理法相關規範，農藥需視不同種類，提交必要的毒性測試報告，通過登記申請才可上市。針對眼睛及皮膚刺激性評估，多使用實驗兔進行試驗，農業藥物試驗所因應動物保護理念，開始陸續規劃與國際接軌的毒理測試趨勢，如眼刺激性的 OECD TG491 及皮膚刺激性的 OECD TG439，分別使用兔眼角膜細胞株(status serum institut rabbit cornea, SIRC)及工業技術研究院研發之 EPiTRI[®]商品進行眼睛及皮膚刺激性評估，雖對混合物及不均勻之測試物質預測能力有限，但可避免使用實驗動物進行刺激性評估(廖等。2020)。

四、替代試驗方法之限制與挑戰

儘管選擇替代試驗取代或減少使用實驗動物，符合動物保護的精神。然而替代性試驗仍無法完全模擬人體暴露在化學物質後的表現，如 OECD TG439 中使用細胞株重建人類表皮模式，無法鑑別 UN GHS category 3 (輕微刺激)的化學物質，亦無法提供皮膚腐蝕性的資訊；此模式中無法探討創傷對細胞及組織損傷造成的初始的發炎反應。此外，本試驗雖可檢測固體、液體、半固體、蠟等試驗物質，但氣體及氣溶膠則無法檢測。針對 64 種農業化學品配方進行體內及體外試驗比較，發現替代試驗對於農業化學品的皮膚刺激性應用性較差(OECD, 2021)。

以評估化學品刺激性試驗為例，刺激性的結果無法依據單一替代性試驗下定論，須結合多項替代性試驗及電腦模擬綜合評估(OECD, 2021)。然替代性試驗具備取代或減少實驗動物使用，並透過高通量、短時間內獲得實驗數據，實驗成本耗費較動物實驗多出許多，穩定且可重複性實驗操作技巧亦是挑戰之一。為擔心消費者使用安全性糾紛，使得業界仍倚賴使用動物進行試驗。

在毒理學中，由於體外試驗缺乏代謝酵素作用，無法瞭解測試物質經過生物體體內各種不同細胞複雜的代謝作用後，產生的毒性反應。人體暴露於測試物質的方式、時間長短、暴露後吸收、代謝、毒性作用機制及無不良影響劑量值(no observed adverse effect level, NOAEL)皆無法由替代試驗獲得相關資訊。目前我國藥品開發非臨床試驗階段，由於對替代試驗是否能真實反映生物體內生化環境持保留態度，替代性試驗的接受度較為有限，故較為接受採用活體動物進行相關實驗，以保障臨床試驗受試者的安全。因此，現今毒理安全性試驗，仍以動物實驗居多，雖難完全以替代試驗取代，但可參考 OECD TG 減少實驗動物使用，或透過精緻化方式以少量動物獲得更多重要的實驗數據。

五、替代試驗應用結論與展望

動物福祉 3R 原則自 1959 年提出後，仍是國際研究領域發展趨勢，如何兼具替代試驗結果預測活體試驗準確性及達成取代動物實驗願景，實為一大挑戰。參考國際動物保護潮流，整合資源透過跨部會合作著手研發替代試驗方法並積極申請國際驗證，不僅提升生醫量能，亦可透過交流研究成果提升臺灣國際知名度，並且接軌國際法規接受經驗證之替代試驗結果作為毒理資料審查。但現今替代試驗以基因毒理、眼睛刺激性、眼睛腐蝕性、皮膚刺激性及皮膚腐蝕性居多，毒理之毒性機制或疾病致病機制涉及生物代謝作用，為替代試驗難以預測之處，仍須倚賴動物試驗之結果，但如何以減量及精緻化之方式符合動物保護的精神，仍應兼顧對動物及人體使用之安全性。

3-2-2 數位科技在毒理測試中的應用

一、前言

本章節為探討現今數位科技應用在毒理測試中有關毒性病理學人工智慧判讀發展現況綜合論述。病理學為研究疾病病變及作用機制的科學，分為一般病理學(general pathology)及系統病理學(systemic pathology)，包括有診斷病理學(diagnostic pathology)、外科病理學(surgical pathology)、法醫病理學(forensic pathology)及實驗病理學(experimental pathology)，經由肉眼及組織病理檢查作為疾病或毒性發生的參考依據 (Miller and Zachary, 2022)。

傳統組織病理學以蘇木精和伊紅 (hematoxylin & eosin, H&E) 組織染色作為細胞病變判讀基礎，在 20 世紀成為全球公認的一門臨床科學。蘇木紫和伊紅 (H&E) 染色為目前組織化學染色例行性經常使用之染色法。這種方法主要作為細胞核及細胞質的鑑別，能將細胞本身及細胞間的結構充份表現出來，作為細胞變性或死亡病變的判斷依據。蘇木紫是一種天然染料，它與鋁、鐵、銅、鉻或鎢等鹽類共同使用，具有良好的細胞核染色性。蘇木紫染劑經氧化作用時，可將細胞核著色成藍色，可表現出細胞核之細緻表現，如細胞核邊緣是否規則或是增厚、染色質密度與分布是否有透明帶出現、核仁或中心粒的數目及大小、有絲分裂相 (mitosis)、核濃縮 (pyknosis)、核破裂或核溶解(karyolysis)之觀察等，均有助於細胞變性、壞死、凋亡與腫瘤之區分；伊紅染劑則可將組織纖維和細胞質染上不同程度之粉紅色，分辨細胞之界線、細胞大小或是細胞核與細胞質之比率 (核質比)，藉由一般光學顯微鏡由小至大，逐步放大細胞 400 倍至油鏡 1,000 倍率，對於觀察評估細胞來源及細胞分化相當重要 (賈等。2017)。

病理學的第一次演進為免疫組織化學染色 (immunohistochemistry, IHC)，在 1980 年代和 1990 年代初成為病理學的常規診斷工具。免疫組織化學染色為利用細胞抗原與抗體間的專一性結合，達到使目標蛋白染色，並且了解其表現量及位置分布。目標蛋白的抗原物質包括蛋白質、多醣類、核酸、病原體、基因片段等皆可用作偵測的目標。免疫組織化學染色時，於石蠟切片製作，會使用特殊表面處理 (poly-L-lysine) 的玻片來增加組織附著力，而在染色前也需進行前處理後再行染色。首先將未染色之組織切片進行所謂的抗原復性 (antigen retrieval)，由於組織經過福馬林固定後，有些抗原蛋白間會作用結合或形成醛基，造成抗原的不暴露使抗原失去活性，經過抗原修復動作可以使細胞內抗原重新暴露，提高抗原檢出率，而後再進行內源性酵素的活性抑制，因所使用的染色標定為酵素標定抗原，若未將內源性酵素活性抑制，會產生非特異性的染色。染色時，挑選適當初級抗體 (primary antibody) 及次級抗體 (secondary antibody)，當組織中抗原與初級抗體結合後，再以次級抗體與初級抗體做結合，次級抗體上附著螢光素或酵素，加入呈色劑(DAB)後便可使目標蛋白或組織呈色(賈等。2017)。IHC 涉及

與組織學相同的定性和主觀性判讀，因此，病理學家才有能力理解和解釋組織環境中蛋白質的整體表現(Salto-Tellez et al., 2019)。

第二次演進是分子診斷(molecular diagnosis)，遺傳密碼(genetic code)在 1950 年代發現，分子生物學和核酸的檢測技術慢慢納入常規組織診斷，在很多方面都有所不同表現(Salto-Tellez et al., 2019)。如高度微衛星不穩定性(microsatellite instability-high, MSI-H)與 DNA 錯配修復缺陷基因作為子宮內膜癌 (endometrial cancer, EC) 的免疫治療預測指標，從組織切片評估 EC 的 MSI 狀態的有效性和效率，用於癌症免疫藥物推薦於晚期或復發性 MSI-H/錯配修復缺陷治療臨床應用評估(Wang et al., 2024)。

第三次演進是人工智慧 (artificial intelligence, AI)，人工智慧代表一系列先進的機器技術，這些技術可以從廣泛的數據輸入中獲得意義和理解。例如，模仿人類視覺接收圖像模擬實境的能力，最主要的是病理圖像的自動配對解釋。人工智慧以計算機演算法為基礎，這些演算法詢問圖像圖元，並將其定量反應到代表組織結構、或疾病狀態的定義類。深度學習(deep learning)是利用卷積神經網路(convolutional neural networks, CNNs) 和大規模處理能力，複製人類感知並驅動圖像理解軟體設計。藉由人工智慧演算法可以精確和自動地識別組織模式，這些模式一直是病理學家和人類視覺的專業領域，表示病理學家所能解釋診斷的大部分圖片內容，也是人工智慧學習最大的挑戰。醫學相關的人工智慧開發常用於檢查腫瘤病變應用，包括：良性組織和腫瘤的區別、異型增生和原位病變的分級侵犯組織的證據和程度、淋巴結切除中細微轉移的鑑定、多種生物標誌物的 IHC/原位雜交法評分和免疫反應的圖片、腫瘤百分比和整體細胞組成、從數位圖像和臨床相關性新模式及病理工作流程的自動化管理和優化順序排序。人工智慧的應用支援將影響診斷決策以及病理的運作模式，透過推動基礎設施、存儲和實驗室資訊系統並從中獲得改進，這一新發展對醫學具有潛在影響，病理學家可以加以應用(Salto-Tellez et al., 2019)。

二、組織切片影像數位化

傳統組織切片製作及染色過程即將臟器浸於 10%中性福馬林溶液固定，骨需經由脫鈣液脫鈣，將臟器粗修約 3 mm 厚度，再依臟器硬度不同，分裝不同塑膠包埋盒內，於組織自動脫水機經不同濃度酒精脫水、二甲苯澄清及石蠟浸潤，最後以石蠟包埋機包埋組織製成蠟塊，再以組織切片機切 3-5 μm 厚度，經自動染色機以 H&E 染色或以其他組織化學染色後，最後以阿拉伯膠封片，烘乾後，即完成實體切片製作及染色，可用一般光學顯微鏡觀察組織病理變化。

數位切片即是將實體組織切片影像數位化，經由切片掃描機將平面實體切片進行全玻片影像自動掃描，提供使用者高品質之全玻片數位影像(whole slide images, WSI)，如大鼠肝臟、脾臟及腸系膜淋巴結組織之數位切片(圖 1)。為確

保獲得最佳的掃片結果，組織切片需符合建議之條件，包括：組織切片厚度應介於 3-5 μm ，盡量將組織固定於玻片中央，建議使用直角邊緣玻片，避免過深或過淺之染色。使用蓋玻片，並確保蓋玻片未凸出於載玻片邊緣，儀器在送片過程中，凸出的蓋玻片邊緣易造成送片軌道磨損。上機前確保玻片充分晾乾，並且避免殘餘過多的封片膠，過多或未乾的封片膠容易造成玻片卡在儀器內影響儀器運作。封片過程應盡量避免氣泡產生，過多的氣泡易造成儀器自動掃描時誤判對焦點。避免使用破損之玻片。若使用標籤，應確保標籤平坦黏貼於玻片標籤處，避免標籤超出玻片邊緣或重複黏貼數個標籤造成過厚。使用自動下載功能進行多片玻片掃描，玻片可選擇 5x、20x 或 40x 模式進行掃描。每片玻片皆可在命名欄位填入欲建立之掃描檔案名稱，若搭配影像管理軟體，可以保存設置以應用於其他玻片掃描。使用多層次掃描(Z-stack)功能進行多層掃描設定欲掃描層數，最多可設置 25 層，如同手動對焦功能。目前已開發多種掃描機器可自動上載高達 400 片玻片，並透過按鍵進行一鍵掃描。搭配免費閱覽軟體，可同時閱覽多張數位切片，並可透過軟體進行進一步的影像調整。配合影像軟體管理、批次影像分析、遠端會議、智慧同步等多功能，獲得完整的數位病理切片之使用 (正茂。2015)。

數位切片可以生成大型全切片圖像與光學顯微鏡相同，以虛擬通過放大和縮小組織切片及細胞進行瀏覽，廣泛用於組織學及病理學，例如教育、研究、培訓、重新檢視、遠程會診和初步診斷。然而，在細胞學中，全玻片數位影像的使用一直落後於組織學，主要是由於細胞學標本的特性，因為不同厚度的細胞組分佈在整個載玻片。為模擬與光學顯微鏡相同的聚焦能力，必須在多個焦平面上掃描切片，掃描時間更長，檔案大小更大。一般一個切片影像檔案約 2-3 GB，多層次掃描則增加至 6-8 GB，成本較高。這些都是數位切片影像用於細胞病理學的主要技術缺點，與組織病理切片相比，用於初步診斷的驗證研究數量較少，且變異性較多。細胞學標本切片需要較長的掃描時間，也是需要現場快速評估的一個阻礙，但數位切片影像保留其優勢，即輕鬆共用圖像提供多人同時會診、在不同位置同時觀看、無限標記的可能性以及容易撰寫診療報告。此外，數位切片影像使實驗室無需依賴實體組織切片，不用擔心切片污漬、褪色或破損，但購買掃描機器及軟體成本較高，同時網頁軟體須持續更新及防毒軟體維護，需經常性支付網路資安防毒系統維護更新經費編列問題。數位切片已被證明對教學訓練相當有效，可用於判讀能力驗證、建立數位細胞學及組織學圖譜。同時，數位切片影像也可以代表該機構對組織切片及細胞判讀具有提高工作效率的開始 (Eccher and Girolam, 2020)。

對於病理學家來說，組織學及細胞學評估的基本組成是細胞。在組織學及細胞學上查看細胞時，基於多年的訓練和經驗，腦中直覺感應細胞正常分佈、排列和形態，並快速將細胞分類成不同類型及組織結構分析，以得出有效的判讀診斷。這種有效的診斷經常與同儕專家的意見進行比較，修正後得出具有共識性判讀診斷。因此，數位化病理學有幾個優點：(一)、簡單高效能的數位切片影像存

檔，(二)、與實體組織切片相比，可追溯性，可以輕鬆快速地檢索病例，(三)、可視訊討論和及時獲得全球其他專家意見的可能性，使用於同儕評審或診斷一致性，以及(四)、同一螢幕上多個圖像的可比較性，這可以避免診斷漂移或解決動物之間的細微差異性。誠如 2020 年的全球 COVID-19 廣泛大流行，進行遠端數位切片審查，加速採用週邊的低階儀器開發，均有良好結果。即使沒有任何計算圖像分析，也可表現數位病理切片使用的便利性及優勢。儘管近年來開發的人工智慧演算法方面有快速的進展，但目前人工智慧判讀能力尚未達到人類智慧水準 (Mehrvar et al., 2021)。

三、數位切片協助組織病理教學研究

傳統式組織病理教學切片的缺點是需大量空間存放實體切片，且經過一段時間後，切片容易出現變質退色無法觀察等現象，導致珍貴教學病例流失，同時用於教學實習時須製備多量重複切片以供學生使用，進而造成人力與資源的消耗成本增加。傳統光學顯微鏡教學方式雖具備訓練學生實際瞭解與操作顯微鏡和接觸真實樣本的優點，然於同時間下只能允許單一觀察者進行影像觀察，常常因前後觀察者於顯微鏡下所觀察的位置或物體不一致，進而導致陳述與學習上的誤判與錯誤。而數位切片教學系統除可永久保存切片影像，克服上述遭遇之問題外，亦可進行高通量影像形成、觀察、分析、管理、輸出與保存，大幅增加其應用的範圍與功能，可引導教師改變傳統教學方式，同時亦保留傳統光學顯微鏡教學中讓學生實際操作的優點，培養學生自主學習能力，並大幅提升學生的學習興趣與效果。

數位切片系統所具備之圖譜影像資料庫，可協助完成各使用類別的延伸，如：教學、研究、臨床及委託試驗等，單一資料庫可以達成多重分散功能，使用者不會因為用途不同，而被屈就在某一種使用環境。例如教學用資料庫可以輕易轉換成課程內容與課程大綱模式；研究用資料庫可以將研究主題與研究對象做整合管理；而臨床資料庫則是以病患的病歷累積為主。使用者常常身兼數職，如病理獸醫師除了臨床案件外、還要做臨床實驗規劃，便可以在資料庫系統中進行轉換，非常的方便。整套系統包含了顯微鏡、掃描器、分析軟體 (瀏覽、數據管理、工作與安全管理、影像分析及報告系統等)、影像存取系統與雲端網路互連管理系統，使得現今的數位組織與病理影像，並不是單純的數位玻片而已，而是同時具備量化與分析影像內涵，進而運用於翻轉與遠距教學等多元且高效率的教學模式，達到互聯互享的智慧型數位組織與病理學。

建構數位切片影像資料庫網頁切片影像 (切片系統) 項目包括：老師/學生/管理者透過各自的帳號及密碼登入切片系統(圖 2)。開放部份切片供所有訪客瀏覽。網站後台連結區，包含四組子功能：管理台、網站前台、登出系統、密碼修改。將組織病理切片影像數位化與 e 化後，置於網站供學生自行觀看 (使用專用軟體)(圖 3)。於組織學、病理學、診療實習與臨床討論授課，進行實習分組討論，

各組學生上台練習閱片報告，並寫成數位化實習記錄及病理報告書。綜合病理訓練，於組織學及病理正課與實習時，加入診療實習與臨床討論時，複習並訓練學生利用大學來的獸醫學識，診療實習及研究所的臨床實務經驗，串連完成臨床診療過程報告。每次課程進行前，先由資料庫內選取符合當次課程內容之數位影像或病例，請同學們先行預習，並由同學於課程中進行影像的報告與討論，藉以增加學習的認知力、記憶力與效率。同時藉由雲端系統可與國內及國外專業人才即時進行病例的分享與討論或研究心得交換，進而達到促進國際合作交流的的目的(賈等。2017)。

與傳統的組織學教學的訓練過程比較，學生對電腦的學習環境有較積極的學習態度，具有高學生滿意度和更好的學習效果。藉由演算法數位切片資料庫學習，使用機器學習動態輔導病理學學生幫助培養圖像分析方面的認知專業知識。這些演算法將結合學生搜索方法、視覺效率、特徵識別和模式配對的回饋。事實上，在高度數位化的組織病理學查看平臺的環境中，原始數據是深度學習的最佳選擇，預計這將在未來幾年更廣泛使用在醫學教育中的診斷和教學工具。在美國獸醫病理學家學院最近將“數位病理學、人工智慧和先進分子工具時代塑造獸醫病理學的未來實踐”指定為 2018 年至 2022 年策略計劃的 4 個目標中的第一個(Turner et al., 2020)。因此，建立國際化學習環境，強化參與平台，數位切片系統之建立具備有提升學習效率、開創多元教學模式、培養研究實力與增加國際知名度等多項潛力(賈等。2017)。相關資訊可參考：<http://140.120.114.107/slidecenter.php>。

四、數位切片人工智慧化

“人工智慧 Artificial intelligence (AI)”一詞最初是由 John McCarthy 在 1956 年達特茅斯(Dartmouth)人工智慧會議上提出的，當時被定義為“製造科學和工程智慧的機器(the science and engineering of making intelligent machines)”。人工智慧代表廣泛的類別，包括所有電腦的演算法，用於決策過程。它操作一個電腦計算機系統或一群集合系統來執行一項或多項需要人類智慧執行的工作。在組織病理學領域，包括但不限於解釋圖像內的數據，或定義和標記圖像中的結構組織的異常變化 (Turner et al., 2020)。

若將病理學家以人工智慧系統擬人化，並假設與人類相同思考的方式，可以看到細胞和組織，可以得出分類結果，甚至具有一定程度的「記憶」能力。但是，人工智慧系統的運行方式存在一些關鍵差異。電腦計算機通常以位(bits)(0 和 1)運行，以像素(pixels)為單位“看到(sees)”圖像。像素是電腦計算機螢幕上最小的可尋找圖片元素。查看單個像素不會提供有意義的資訊。然而，隨著數學演算法和計算能力的進步，可以訓練機器像人類一樣在更高的抽象級別上查看圖像中的特徵。例如，人工智慧系統可以使用形狀和結構的像素擴大測量(pixel-wise measurements)來“學習”細胞核等特徵。此外，電腦從其訓練範例中存在的任何特

徵中學習。例如，如果電腦沒有接受過細胞形態學異常病變圖像的訓練，就沒有機會可以“看到”生物性或分析前的變異性，進一步將對此類圖像中存在的細胞和/或過程進行錯誤分類(Mehrvar et al., 2021)。

人工智慧內容包括：(一)、機器學習 (machine learning, ML)、(二)、人工神經網路 (artificial neural networks, ANN) 和(三)、深度學習 (deep learning, DL)：

(一)、機器學習 (machine learning)是人工智慧中的一門學科，它使電腦能夠在沒有程式設計的情況下進行自我學習，並通過不斷從經驗中學習來提高性能。也是指電腦無需額外人工程式設計，即可分析數據和識別新模式的能力。這種類型的計算自學習可以提高演算法性能，以創新、效率或品質的進步來衡量。通過電腦和統計學相結合，解決以前無法解決的問題。機器學習應用程式正在迅速擴大其在醫學領域的影響，新的機器學習醫療保健應用程式往往是醫療設備的首選。機器學習方法在圖像的診斷、疾病預後和風險評估中越來越受歡迎(Turner et al., 2020)。

組織病理的機器學習可分為 3 個類別：監督(supervised learning)、無監督(unsupervised learning)和強化 (reinforcement)機器學習：

1. 監督機器學習：電腦獲得與目標(輸入)相關的特徵來訓練演算法，與目標相關的標識(如：名字 name、輸出 output 等)。監督式學習中使用三個數據值(訓練、驗證和測試數據)。電腦使用訓練數據值進行訓練，該數據值提供代表性特徵作為輸入。例如，要使用監督學習來識別肝臟，將一組具有正常主要代表性特徵(如肝小葉、肝索、肝竇、門靜脈和中央靜脈)的正常肝臟圖像呈現給電腦，並提供標識(即肝臟)。然後訓練演算法以識別肝臟的代表性特徵，並使用驗證數據值測試演算法的性能。
2. 無監督機器學習：用於難以或不可能定義生物特徵的情況。在這種方法中，電腦呈現來自不同器官的不同組織的組合，電腦識別組織中的模式並將具有相似模式的那些組織聚集在一起。無監督機器學習的總體目標是識別輸入數據中的結構，而無需事先使用者定義輸出，使其成為一種數據驅動和假設生成方法。在無監督學習中發現的模式不僅提供答案，而且還提出研究人員可能沒有想到的問題。但這些模式需要由人類(即病理師)或監督機器學習任務進行評估。
3. 強化機器學習：即電腦從錯誤中學習。在這種方法中，電腦被提供一個未標記的輸入，並被迫預測輸出。如果預測不正確，則會為電腦提供正確的標識。然後，電腦使用這些數據進行未來預測。因此，強化學習是另一種學習方式，強化機器學習的結果案例，包括汽車自動駕駛和遊戲等。

(二)、人工神經網路(artificial neural networks)是在模仿人腦的神經網路和學習能力模式的電腦系統，包含許多處理元件 (neurons)，這些元件在單向模式中互連，只能執行簡單的工作，但作為一個網路，可以執行更複雜的工作。人工神經網路通過輸入層接收外部資訊，資訊由排列在「隱藏層 (“hidden layers) 」中的神經元傳送，轉換分配給一個層的比重和偏差進行，這些比重和偏差會影響資訊如何傳送到下一層。網路工作訓練依賴使用者定義，並決定神經元之間連接強度的權重和偏差。人工神經網路是生物醫學領域深入研究的一個主題，通過經驗學習，不需要詳細的輸入即可完成工作 (Turner et al., 2020)。

(三)、深度學習 (deep learning)是一種機器學習，透過神經網路在有監督和/或無監督模式中工作，具有對應於不同抽象類別。因此，深度學習是多層人工神經網路或深度神經網路 (deep neural networks, DNN) 在從空間識別到圖像分析等廣泛問題上的應用。深度神經網路是一種在輸入和輸出層之間具有許多層的人工神經網路。無論是線性關係，還是非線性關係，深度神經網路找到正確的數學操作，將輸入轉換為輸出。最近，深度學習技術已成為電腦視覺領域的技術。一種特殊的神經亞型，深度神經網路已成為圖像識別的標準，並在許多模式中模擬人類的表現。這些系統通過直接從大量圖像訓練中學習相關因素來發揮作用，這與傳統依賴於手動製作的數量進行識別技術模式形成不同對比(Turner et al., 2020)。

五、數位切片在毒性病理學人工智慧分析模式

藥物開發是一個複雜的過程，從化學實體或化合物的靶標識別和驗證開始，從實驗室到臨床驗證過程平均可能需要 10-12 年。臨床前毒理試驗研究的主要目的是確保試驗中的藥物對人體安全性，尤其是在早期開發的藥物成分為藥物開發中被認為是藥物開發與否決策的重要因素 (Kuklyte et al., 2021)。這種方法的目的是在臨床前和臨床領域進行嚴格測試後，將安全有效的藥物推向市場。毒性病理學在協助支援藥物開發流程中，提供早期或售後多方面科學實證研究(Mehrvar et al., 2021)。

針對開發新型藥物而言，毒性病理學(Toxicologic pathology, TP)是研究分子、細胞、組織、器官和生物體對新型藥物的反應的學科。毒性病理學是病理學的一個分支，毒性病理師在新藥的角色為評估是否具有潛在非預期影響毒性作用，提供新藥人體試驗關鍵結果。測試物質的開發以安全為最高考慮，一般會選擇無毒性作用的新藥。但若具有毒性反應，存活動物數少，將無法進行後續實驗。接下來動物試驗將下修使用劑量，進行低、中及高劑量投予，以求出無不良影響劑量值(NOEL) (Mehrvar et al., 2021)。除觀察臨床症狀、死亡率、體重增重、臨床生化學及肉眼病理檢查外，為探討暴露於測試物質對實驗動物各種組織中的潛在毒性，必須進行組織切片檢查深入確認，因此會有大量組織切片產生，同時要求毒

性病理師對所有組織切片逐一進行病理判讀評估紀錄(Mehrvar et al., 2021)。傳統上使用蘇木紫和伊紅(H & E)染色作為例行性的組織切片染色，經以光學顯微鏡檢查各處理組(例如，藥物、醫材或化學品)對實驗動物體內組織的影響。因為每項試驗後均須組織採樣，並且試驗研究通常涉及多種動物實驗，製作大量的組織切片。一項標準的研究性新藥開發過程使用齧齒動物大鼠(rats)的 90 天毒理試驗研究有 80-100 隻動物，每隻大約有 25 個組織切片產生。每項試驗研究所產生的數千張組織切片進行顯微鏡評估，既費力又費時。同時在切片事前及事後同儕審查/回覆解釋過程中，需花費較多時間完成，將延長完成時間，時間的壓力不利於臨床研發。

另外，毒性病理學亦是研究生物體在暴露於一般化學品、新興食品或其他製劑的分子、細胞、組織和器官反應的科學。一般透過各種非臨床實驗動物模式毒理試驗，藉由組織形態學和病理學加以評估毒藥物對生物體的生理影響，包括分子層次至臨床的組織和體液變化等。根據美國食品藥物管理局(Food and Drug Administration) 關於齧齒類動物亞慢性毒性試驗規範，建議評估超過 40 種不同的組織，每種性別 20 隻動物，僅於對照組和高劑量組切片樣品即有超過 3,000 個各種不同組織須加以評估。因此，毒性病理師需觀察正常與不正常組織的數量，與同行臨床的疾病病理診斷少量切片相比，不成比例。每種動物的器官的類型不同，組織結構和形態學的差异性亦存在多種不同的病變，不同的病理變化較為複雜。此外，毒性病理師需要多年的經驗和專業知識來區別正常的組織背景病變，包括有那些在實驗動物中是因品系、年齡、性別、飲食或與藥物誘導的適應性異常，而產生的自發性病變 (Mehrvar et al., 2021)。一般毒理試驗中，主要觀察器官的組織背景病變(例如：壞死、增生、炎症細胞浸潤)，預期自然發生的病變常落在正常值範圍內。若最終存活動物數多，大多數處理組之存活動物體內組織是正常的，大部分與試驗物質無任何相關的病理變化。若使用人工智慧系統進行病理學初步篩選，先由機器學習提供從異常樣本中分選不正常組織，從而使毒性病理師能夠花更多時間在顯微鏡下評估病變的細胞型態，而不是正常組織，從而將評估所需時程的時間縮短數周至數月，將可以在臨床前毒理試驗研究中節省大量時間，加速發現開發新藥物的安全性 (Mehrvar et al., 2021; Turner et al., 2020)。

人工智慧的使用與否，取決於組織切片的高品質數位圖像，現今，全玻片數位影像技術已成功開發，可以將整個切片或預選區域組織區域進行 20 或 40 倍率放大或縮小，大大促進數位病理學的數位化轉型 (正茂。2015; Kuklyte et al., 2021)。由於數位切片影像的實用性、電腦硬體和軟體的進步，以及處理和存儲大型數據集的成本降低，許多公司正開發深度學習演算法來篩選數位切片的病變。這些深度學習演算法的目標是依據在正常組織訓練演算法，將組織切片圖像標記為“正常”或“異常”。若毒性病理學採用人工智慧化，數位病理(digital pathology, DP) 系統將可顯著改進，成為實現病理學完全數位化而鋪路(Mehrvar et al., 2021)。數位切片影像對於事前同儕審查(peer review)或診斷一致性，可以提供相同的影像，

經由不同的病理師或觀察者同時進行相同數位影像切片分析，自動整合收集成病理報告結果和加入各種資訊系統連結影像 (Kuklyte et al., 2021)。例如在毒性病理學診斷中，人工智慧方法辨識毒性作用影響器官(如肺和腎)的疾病狀態以及器官內的結構。藉由卷積神經網絡(CNN)在小鼠模型系統中對肺纖維化和炎症進行評分，分別使用 14,000 和 3,500 個標記資料進行訓練。在纖維化評分方面達到 79.5% 的準確率，在炎症評分方面達到 80.0%，這與毒性病理師的判讀結果接近。儘管這些演算法需要進一步驗證，尤其是在大型組織資料庫和臨床前樣本，將來可用於自動比對非臨床毒性研究中常見的特異性及自發性病變進行分類。這將減少顯微觀察組織切片判讀的時間，同時增加可用於確認毒性作用機制，未來可提供毒性病理學動物疾病模式之潛在開發 (Turner et al., 2020)。

針對臨床前試驗對實驗動物主要器官損傷判讀的數據開發，如肺、肝、腦、腎和心臟 H&E 切片數據上訓練的大量分割模型的應用，以檢測這些組織中的病變。在評估潛在毒性通常需要先列出某些特徵，例如壞死、泡沫狀巨噬細胞浸潤(磷脂質沉積症 phospholipidosis)或有絲分裂相(mitotic figures)增加等級分類，容易出現單一個毒性病理師與其他毒性病理師之間認知的差異。使用人工智慧系統對評估的潛在病變以及嚴重程度的廣泛的辨識，其中包括 FCN8/FCN16、SegNet、DeepLabV3、U-Net、ResNet、Xception 和 EfficientNet 等模型架構作為臨床 WSIs 分析，具有相當的實用性 (Kuklyte et al., 2021)。模型應用於細胞/細胞核檢測則有使用區域卷積神經網絡 (region-based convolutional neural network, R-CNN) 系列、you only look once (YOLO)、單發檢測器 (single-shot detectors, SSD)和 RetinaNet (Mehrvar et al., 2021)。

有關數位病理學推動人工智慧 (AI) 應用程式的開發和圖像分析系統化使用，以下簡介 3 種與毒性病理病變相關的人工智慧分析模式：

(一) 自發性進行性心肌病(progressive cardiomyopathy, PCM)

從毒理試驗相關變化中要辨別啮齒動物大鼠心臟的潛在性背景病變，並不容易。例如，啮齒動物自發性進行性心肌病的關鍵特徵病變與測試物質相關的病變具有重疊性，包括細胞壞死、炎症細胞浸潤和纖維化。區分這些自發性心肌病與藥物引起毒性相關的病變非常重要，一般會與同批、同年齡、同性別試驗動物的對照組發生率進行比對，作為是否為自發性病變之背景資料。儘管在人類中並無已知的 PCM 病變與實驗動物具有相似性，但在某些情況下，測試物質可能會誘導比人類更高的 PCM 嚴重程度或發生率。目前已有開發大鼠和小鼠心臟自發性心肌病的檢測、分類和評分之人工智慧模式 (Mehrvar et al., 2021)。

(二)肝細胞肥大和空泡化 (hepatic hypertrophy and vacuolization)

肝細胞肥大和空泡化是毒理試驗中，藥物或化學物質常見的誘導病變之一。與肝臟重量評估相比，即使不同觀察者的變異性和視覺感知的差異性有所影響，組織病理學檢查 H&E 切片仍然是診斷肝細胞型態改變的最佳方法。使用已知肝細胞肥大誘導劑苯巴比妥(phenobarbital) 大鼠模式進行處理組與對照組肝臟切片，解剖位置對藥物代謝和細胞生理學具有重要意義，以深度學習方法對大鼠肝細胞肥大的定量評估，根據肝小葉區域逐步分割肝細胞，次要計算肝小葉三個區域 (小葉中心、中間區和門靜脈三角周圍)的平均細胞質面積。這種區域分割法檢測與毒性病理師分級以及肝臟重量和基因表達的結果相似。在肝脂肪變性小鼠模型中，肝細胞質被脂肪空泡壓迫而扭曲變形，深度學習的肝細胞空泡定量評估在脂肪變性定量自動測量結果，與半定量毒性病理師的評分之間也有顯著的相關性 (Mehrvar et al., 2021)。

(三)甲狀腺濾泡細胞肥大 (thyroid follicular hypertrophy)

甲狀腺濾泡細胞肥大是 90 天大鼠毒理試驗研究中甲狀腺最常見的病變之一，其特徵是濾泡上皮細胞出現瀰漫性細胞大小和高度增加。通常可能由幾種不同的機制途徑引起病變，影響從生理學至病理學的不良代償反應，包括內分泌毒性和致癌性，具有廣泛的病理意義。最近開發人工智慧模型軟體針對以蘇木紫及伊紅染色大鼠甲狀腺數位切片影像之濾泡細胞肥大進行評估。以平均細胞質面積測量方法 (mean cytoplasmic area, MCA)，通過幾種連續深度學習的演算法計算平均細胞質面積，包括細微解剖結構分割(從甲狀腺濾泡上皮細胞分開膠體和基質)、細胞核偵測和面積測量。人工智慧模型軟體研究顯示，給予不同甲狀腺濾泡細胞肥大誘導藥物後的甲狀腺濾泡細胞，平均細胞質面積和肥厚面積分數輸出參數與對照組相比均有增加。定量結果與經認證的毒性病理師的診斷以半定量 1-5 分級，以及甲狀腺激素依賴性基因表達的黃金標準判讀均具有相關性。因此，藉由人工智慧應用程式對平均細胞質面積的額外評估或直接檢測肥大，並結合標準組織病理學觀察，可以提高毒性病理師診斷和分級的準確性和可重複性(Bertani et al., 2022)。

六、數位切片應用於毒性病理學判讀的挑戰

目前臨床前安全性毒理試驗的病理學評估已成為一個標準化的過程，具有既定的試驗方法指南和/或建議，包括器官取樣和修片方式、組織病理學評估，同儕審查，和診斷命名法。然而，毒性病理師在顯微鏡下審視大量組織切片是勞動密集型和耗時的，特別是考慮到大多數組織/器官缺乏與測試樣品相關的變化。此外，需要識別正常的背景病變，其中許多是性別和年齡相關性的，並受到物種和品系的影響(Turner et al., 2020)。毒性病理學具有獨特的挑戰，從事研究人員以病理獸醫師為主，人醫病理師及生物學家等(Mehrvar et al., 2021)。因少子化，學習

病理人口數逐漸減少，通過認證合格的病理獸醫師也日益短缺，可用於支援這項診斷工作的病理學家相對減少，衝擊製藥業面臨的挑戰。為提高新藥生產力，開發新方法，例如人工智慧和數位病理學的應用，對大量切片樣本執行正常組織及病變診斷分類標識，以縮短毒性病理學家花在繁瑣的切片判讀時間，將可更有效率提高工作流程，緩解結案的時間壓力 (Kuklyte et al., 2021)。

新開發的人工智慧模型可以特定病變進行設計，首先需要毒性病理師審視每項試驗研究、同儕審查確認所有病變，以及標示並註釋組織中不同細胞、病變及範圍。一般慢性毒理試驗粗估需花費約 650 小時進行審查 3,600 多張切片，其中 1,300 張須進行病變註記，生成 17,000 個具有病變註記的切片，其中超過 20 億個帶有註記的像素(pixels)，包含大約 2 億個帶註記的病變像素，以探討不同整合方法對分類器檢測和識別病變能力的影響。使用卷積神經網路的模型提供使用者能夠將廣義病變檢測應用於全切片圖像，並可有效生成傳統圖像分析技術所無法實現的新型定量數據。但缺點是，事先須花費大量時間與精力完成特定病變模型設定及資料庫 (Kuklyte et al., 2021)。因此，數位切片影像的手動品質控制是一項耗時且費力的工作，在每天掃描大量數位切片的實驗室環境中，容易出現疲勞、人為錯誤和效率低下的狀況。在識別由於數位化切片上組織缺失或失焦區域而需要重新掃描的切片時，通常使用手動。最近開發用於電腦化數位切片品質控制的自動化工具，如 HistoQC 系列，電腦輔助品質控制工作流程可以在掃描全玻片數位影像時，快速審查並標記，進而改善審視過程(Mehrvar et al., 2021)。

當談到人工智慧在數位病理中的適用性時，定量評分有兩個主要領域：(一)、嘗試複製毒性病理師判讀模式方法，包括使用來自三個或更多毒性病理師的基本判讀集中訓練，或(二)、無法以手動來評估的形態學的真正量化。深度學習模型經由多個審查員評比，以提高評分的可重複性，並提供客觀的評估和定量。在測試期間，定期參考毒性病理師的意見回饋，以減少判讀評分的人為漂移。若以電腦輔助品質控制(computer-assisted quality control)而言，數位切片影像的手動品質控制通常需考慮：1. 審查掃描數位切片圖元數據的準確性和差異，2. 比較掃描數位切片上的物理性組織和數位圖像的掃描品質，以及 3. 評估組織以識別數位真偽，例如拼接或失焦區域。毒性病理實驗室生產的數位切片數量雖多，但切片品質均有一定要求。因此品質控制實驗室的標準做法，常包括審查一定比例的數位切片，例如每隻動物數位切片總數的 10%，但任何品質不佳的數位切片都須重新掃描並確認品質(Mehrvar et al., 2021)。

若以演算圖像分析 (computational image analysis)，包括人工智慧輔助的客觀毒性評分和形態學評估，是毒性病理學的一個新領域。長期以來，每位觀察者之間和觀察者本身內部的變異性和偏頗，一直困擾著病理學家在專業診斷不同的閾值。病變嚴重程度之半定量評分(semi-quantitative score)最常用於辨別病變的程度，常因個人和組織之間的差異，每個評分都有可變性和主觀定義。嚴重等級不同的

面積分配得出不同分數值，例如，0 = 正常，1 = 最小 (<1%)，2 = 輕度 (1-25%)，3 = 中度 (26-50%)，4 = 中度嚴重(51-75%)，5 = 高度嚴重(76-100%)，其中數值本身不是正確比率數據，雖不適合精確的數值參數統計分析，但仍可作為組間差異之參考值。在傳統的病理學訓練中，通常不會定期或滾動客觀地評估和測量結果，因此常會發生判讀等級漂移偏差。深度學習為基準的定量評估可能可以提高病理學連貫性和客觀性評估，已有文獻中的機器學習和深度學習顯示人工智慧的性能與病理學家評估具有良好的一致性，並且通常具有更高的靈敏度。深度學習模型已被證明成功地量化應用在心臟、睪丸、卵巢、眼睛/視網膜和肝臟中 H & E 影像切片的病變區域或病變的形態學評估 (Mehrvar et al., 2021)。因此，人工智慧和機器學習技術可能有助於減少與同業中使用的半定量分級系統相關的實驗室間和實驗室內的差異性 (Turner et al., 2020)。

一般認為，人工智慧與其他醫療領域的整合趨勢評估，人工智慧並不會取代所有人類工作，而是會提高人類的速度和準確性。但迫切需要考慮在高度監管的环境中對人工智慧進行最佳管理措施 (Turner et al., 2020)。目前有多個團體或工作小組，如毒性病理學學會 (Society of Toxicologic Pathology, STP)推動採用數位化作為臨床前的病理學數據。同時，政府審核監管機關單位選取幾個進行中的藥物產品試驗，進行毒性病理優良實驗室操作和初步審核試驗 (Kuklyte et al., 2021)。優良實驗室規範(GLP)原則旨在向公眾保證，在進行非臨床研究和數據收集期間遵守合理的科學操作。如國內衛福部、美國環境保護署 (USEPA)和經濟合作發展組織(OECD)發佈的 GLP 指導原則。在 GLP 原則下，深度學習軟體的使用與其他系統一樣，也需要進行 GLP 驗證。然而，在接受監管的項目中，深度學習的軟體可能是一項困難的工作，因為不僅需要驗證用於生成全玻片數位影像的數位病理系統，還需要驗證人工智慧的軟體。最初因缺乏實質等同 (substantially equivalent) 的概念，USFDA 將全玻片數位影像系統歸類為第 III 類醫療器械“最高風險 (highest risk)”類別，需要一般性控制(質與量體系監管、良好生產步驟)和上市前審核批准。2015 年 USFDA 公佈技術性能指南，數位切片掃描儀器商獲得 US FDA 的核准方向藍圖，並於 2016 年正式公告「數位病理全玻片影像系統技術評估指引(FDA Guidance: Technical Performance Assessment of Digital Pathology Whole Slide Imaging Devices)」，在 2017 年首次批准用於外科病理學初步診斷飛利浦公司所開發的數位病理全玻片影像系統(Philips IntelliSite Pathology Solution, PIPS) 以 De Novo 法規途徑上市。此系統並於 2019 年經我國食藥署核准(衛部醫器輸字第 032394 號)，PIPS 核准的項目旨在協助病理師針對切片的數位影像進行審查及判讀，說明 PIPS 的組織切片的數位化影像可以讓病理醫師直接分析並進行診斷決策，不須要再透過常規的顯微鏡系統檢視實體玻片進行確認，飛利浦的數位病理系統被視為是第一個經法規單位允許，可作為臨床上主要診斷依據的數位病理全玻片影像系統 (楊清淳 2021)。通過此次核准，USFDA 將全玻片數位影像系統重新歸類為 II 類醫療器械，要求製造商通過證明與先前核准的器械“實質等同”，進而獲得批准。有了這個先例，將會鼓

勵更多的數位切片掃描儀器公司進一步研究開發並提供更多設備申請審核上市 (Mehrvar et al., 2021)。

七、數位切片應用結論與展望

臨床前毒理試驗研究是在新藥開發或藥品被批准用於人類之前，進行評估其安全性的重要步驟。雖然毒性病理師的評估是目前評估標靶器官毒性和與藥物和劑量相關的顯微觀察組織病變的黃金判定標準，但手動判讀數千張組織切片非常枯燥和費時 (Mehrvar et al., 2021)。又對於測試物質與病變相關的複雜問題時，許多毒性病理師可能會感到無所適從，隨著人工智慧和機器學習系統的不斷發展和改進，或許能夠使用電腦篩選出並刪除缺乏病變切片，聚焦具有高敏感性和特异性的組織切片。最初應用的速度可能較少較慢，但經過充分的深層學習訓練和適應後，毒性病理師應用人工智慧判讀的速度、準確性表現將會提高。這種技術並不會減輕毒性病理師的負擔，但常規使用在辨識所有具有病變的切片，可以節省更多時間，提供毒性病理師有更好的工作環境與生活平衡，增加個人研究及發展 (Turner et al., 2020)。

由於前端人工智慧需要投入大量時間和基礎硬體及軟體設備資金較大，目前僅能在製藥公司、委託服務生技中心(contract research organizations, CRO) 或大型診斷和醫學研究中心進行研究，待完成的深度學習的數位毒性病理學模式系統開放使用，將可促使人工智慧數位切片判讀技術現代化快速成熟發展，希望未來是一個完全數位化的毒性病理學 (Mehrvar et al., 2021)。新技術都會帶來新挑戰，透過更多研究參與，人工智慧和機器學習可以強化醫學影像科學，如放射科醫生的專業判讀可因人工智慧而增強，而不是被取代。因此，人工智慧與人類夥伴關係(AI-human partnerships)密切且相輔相成 (Turner et al., 2020)。

八、圖

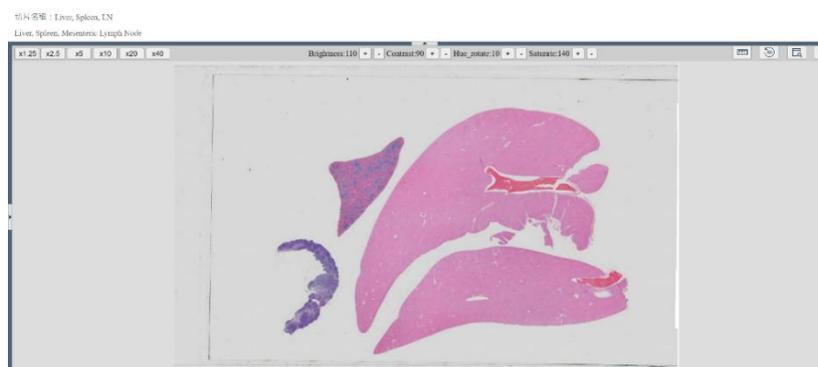


圖 1. 大鼠肝臟、脾臟及腸系膜淋巴結數位切片影像

 NCHU Oncology	 NTU	 Pathol Pract (1)	 Pathol Pract (2)
 HPC (new)	 CSVP	 CSCP	 12th CSLAS
 Histology-shrimp	 公開分享區	 Normal histo-rat	 Histology

圖 2. 建構數位切片影像資料庫網頁切片影像項目

 Kidney & UB	 ovary, Oviduct, Mammary Gland	 Femur with marrow	 Stomach
 Brain	 Eyes, Optic Nerve, Harderian Gland	 Prostate, Seminal Vesicle	 Small Intestine
 Heart, Aorta	 Large Intestine	 Spinal Cord	 Esophagus, Trachea, Thyroid, Parathyroid

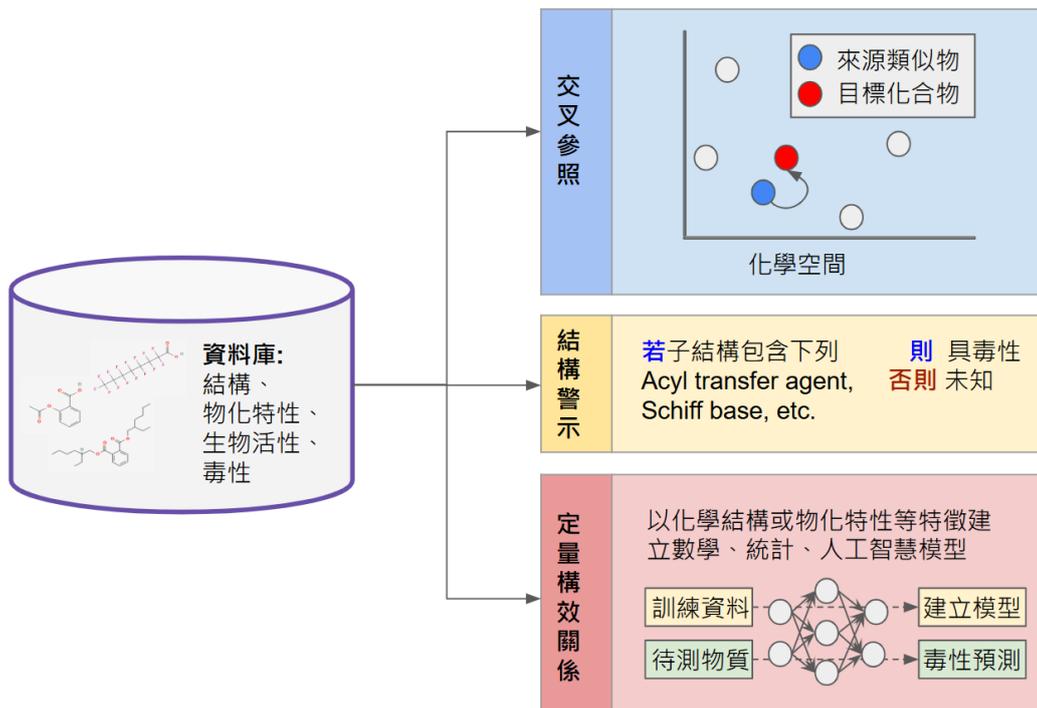
圖 3. 組織病理切片影像數位化與 e 化於網站供學生自行瀏覽

3-2-3 人工智慧與計算模型在毒理測試中的應用

一、 人工智慧與計算模型應用於毒理測試的興起

隨著全球對動物實驗倫理問題的關注日益增加，動物試驗的替代（Replace）、減量（Reduce）與精緻化（Refine）的3R原則已成為生醫科學研究領域中的重要指導方針。在3R原則的推動趨勢下，促使學術研究單位尋求更為人道且效率更高的替代方法，尤其在毒理測試領域，傳統依賴動物實驗的模式逐漸被各種人類相關性更高的替代方法所取代。近年來，受益於過去許多毒理測試資料的累積與電腦硬體及演算法技術的快速發展，電腦預測模型成為了許多化學品和藥物毒性預測的主要工具，這些模型提供了準確、快速且符合經濟效益的替代方案，並被許多國家的管理法規所接受，進一步加速了毒理測試方法的進程。

目前在毒性預測問題中被廣泛應用的人工智慧與計算模型包括交叉參照（Read-Across）技術、結構警示（Structural Alert）方法以及定量結構活性關係（簡稱定量構效關係）（Quantitative Structure-Activity Relationship, QSAR）預測模型。如圖一所示，這些資訊方法都是透過深入分析過去累積的實驗資料來幫助分析待測化合物的潛在毒性。交叉參照技術利用資料庫來比對與待測化合物相似的具相關毒理實驗資料的來源類似物，並藉由分析這些來源類似物的毒理實驗資料來預測待測化合物的毒性。結構警示方法則基於與毒性機轉有切確連結的化學子結構特徵，來辨識可能的毒性風險。定量構效關係模型則是以化學結構特徵與毒性反應的關聯為假設來建立數學、統計與人工智慧模型，藉由量化化學結構與毒性之間的關係，提高預測的可靠性。隨著計算能力的快速提升及人工智慧技術的突破，現代機器學習與深度學習方法，能夠處理更為複雜的毒理資料，並伴隨著更高的準確度。



圖一、目前受到廣泛應用於化合物毒性評估的三種人工智慧與計算模型。

本章將介紹這些方法的歷史沿革與技術背景，並討論它們在目前毒理測試中的相關應用與限制。此外，本章節還將提供幾個知名且被廣泛應用的免費毒性預測軟體清單，這些工具可供研究者和相關業者參考使用。然而，讀者須了解這份清單並未涵蓋所有可用軟體，且採用所列軟體產生的結果不一定能保證符合法規標準，法規符合度還需要進行額外評估。此外由於人工智慧方法的快速進展，預期將會陸續出現更多新穎的方法，這些方法將提供更高的預測準確度，且帶來新的法規挑戰，進而出現新的法規。因此建議讀者須持續關注計算毒理領域的進展，以隨時更新最新的資訊與相關法規，並在使用這些工具進行預測時，仔細評估模型和預測報告，以確保結果的準確性和可靠性。

二、 交叉參照 (Read-Across) 的原理與應用

(一) 交叉參照簡介

交叉參照是一種重要的非測試資料缺口填補技術，其核心原理是透過已知毒性資料的來源類似物 (Source Chemical)，來推斷具有相似特性或化學結構的目標化學物質 (Target Chemical) 的毒性。交叉參照的發展與應用受到如歐盟 REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) 法規與其他各國法規支持，從而減少動物測試。交叉參照的概念起源於對化學結構與生物活性關係的研究。經濟合作暨發展組織 (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD) 早期即開始推動化學物質的類似物比對

法 (Analogue Approach) 與群組比對法 (Category Approach)。然而直到2007年歐盟 REACH 法規生效後，交叉參照作為化學品管理法規中的資料填補方法才獲得廣泛應用。REACH 法規允許在特定條件下使用交叉參照來符合資料的要求，以減少對動物實驗的依賴。歐洲化學品管理局 (European Chemicals Agency, ECHA) 也於2015年發布第一版的交叉參照評估框架 (Read-Across Assessment Framework, RAAF)，提供執行、評估和記錄交叉參照研究的指引，後續並有多個更新版本。

美國環境保護署 (Environmental Protection Agency, EPA) 也積極應用交叉參照方法，在高產量化學品挑戰計畫 (High Production Volume Challenge Program) 和毒性物質控制法 (Toxic Substances Control Act, TSCA) 中運用交叉參照來評估化學品的危害。並在美國環境保護署的 CompTox 化學品儀表板 (CompTox Chemicals Dashboard) 網站中提供交叉參照工具來評估缺乏毒性數據的化學物質。國內環境部化學物質管理署施行的「新化學物質及既有化學物質資料登錄辦法」也允許利用交叉參照方法填補部分資料缺口來減少重複測試，並促進資料的共享與利用。

隨著交叉參照在法規應用上日益普及，參照的內容也從單純化學結構相似性，延伸至涵蓋包括物理化學性質、毒物動力學 (Toxicokinetics)、毒物效應動力學 (Toxicodynamics)、代謝相似性以及生物活性相似性等。受益於新方法學 (New Approach Methods, NAMs) 的發展，生物活性相似性能利用如體外高通量篩選 (High-Throughput Screening, HTS) 和各種體學 (Omics) 數據，提供從毒性作用機轉相似性角度的交叉參照分析，除了能解決些微結構差異造成的巨大毒性改變 (Activity Cliff) 更能貼近可解毒機轉的毒性分析需求。這些資料能提供多維度的資訊來支持交叉參照分析，同時證據權重法 (Weight of Evidence, WoE) 也能應用於整合不同類型證據來進行更精確且符合交叉參照假說的分析。

(二) 交叉參照實施步驟

交叉參照可大致分為下列六個主要步驟，每個步驟都需要詳細記錄在報告中：

1. 定義問題：定義目標化學物質及其預測終點，例如物化特性、健康或環境危害。確認需要填補的資料缺口，例如 REACH 法規要求的毒性數據，或是進行危害排序，根據不同的資料缺口能進一步定義該交叉參照結果可容許的不確定性程度。
2. 目標化學物質特性分析：首先分析目標化學物質是否具有單一已知的化學結構，抑或是屬於多組成 (Multi-Constituent) 物質或 UVCB

(Unknown or Variable Composition, Complex Reaction Products, or Biological Materials) 物質。接著分析該物質已知的結構、生物活性、或是物化特性，這些已知特性分析將能來建立初步交叉參照假說，並協助來源類似物的選擇。例如目標化學物質如果會經過生物轉化 (Biotransformation) 過程產生代謝物，則交叉參照或許能建立在代謝物結構上。

3. 選擇來源類似物：透過結構、物理化學、生物活性、毒性機轉等相似性指標從資料庫中選擇來源類似物。這些相似性指標的選擇與步驟一與步驟二分析的結果息息相關，若無相關資訊可先從結構相似性著手。特別需要留意篩選的條件必須要定義清楚並紀錄於報告中。最重要的是這些選定的來源類似物是否具有本次交叉參照分析要填補的相關實驗資料。
4. 評估來源類似物：針對欲填補終點，檢查實驗資料的可靠性與適用性，確保其符合監管要求。接著分析來源類似物之間的實驗資料之異同。若來源類似物具有不同的毒物動力學特性，則可能排除特性不同之來源類似物，並重新產生來源類似物清單。步驟三與步驟四的工作可能會重複多次。這些排除或收錄的條件也需要詳細紀錄。
5. 填補資料缺口：利用類似物比對法或群組比對法來填補資料缺口，一般在化學結構高度相似的情況可考慮採用類似物比對法從單一來源類似物填補資料缺口，若有多個類似物則可以進行如趨勢分析方法 (Trend Analysis) 來推斷目標化學物質的特性。
6. 不確定性分析：可使用交叉參照評估框架 (RAAF) 來評估交叉參照的合理性，包括每個步驟可能產生的不確定性程度，這些分析也可能引導資料缺口填補方法的選擇，例如是否要改採最壞情況 (Worst-Case) 資料進行填補。

(三) 交叉參照相關軟體

由上述交叉參照分析步驟可知，資料庫的完整性、透明度與可信度對於審查交叉參照報告至關重要，因此採用如 OECD QSAR Toolbox 或 EPA CompTox Chemicals Dashboard 等由權威機構維護的資料庫來進行交叉參照是目前主流的選擇。OECD QSAR Toolbox 是由經濟合作與發展組織 (OECD) 和歐洲化學品管理局 (ECHA) 共同開發的一款免費軟體，主要用於化學物質的毒性預測與交叉參照的工具。該工具持續發布新的版本，讀者可利用該軟體網站

(<https://qsartoolbox.org/>) 下載軟體並可下載相關操作指引文件，在 ECHA 的 YouTube 頻道 (<https://www.youtube.com/@ECHA>) 並有針對 OECD QSAR

Toolbox 操作的播放清單可供學習。於本章撰寫時，該軟體最新版本4.7包含63個資料庫、15萬個以上的化合物與3百多萬筆的實驗資料，能滿足各式各樣的資料填補需求，以減少對動物試驗的依賴，並能輸出符合監管規定的報告檔案，特別是能滿足交叉參照評估框架要求的報告。

CompTox Chemicals Dashboard 則是由美國環保署建置，提供超過1百萬個以上的化合物與近1,500個試驗終點的相關資料，能滿足交叉參照的資料需求。同時為了標準化交叉參照的流程，減少交叉參照分析各個環節的差異造成的不確定性，美國環保署於該網站建置了 GenRA 工具，該工具是可免費使用的交互參照工具，藉由標準化相關交叉參照步驟建立了具高度再現性的交叉參照工具。該工具為網頁程式 (<https://comptox.epa.gov/genra/>)，不須下載就能使用，使用 GenRA 工具時必須記錄該工具的當前版本以佐證該交叉參照分析的再現性。

三、 結構警示 (Structural Alert) 的原理與應用

(一) 結構警示簡介

結構警示是一種基於化學結構的毒性預測方法，透過辨識化學分子中已知與毒性相關的特定官能基或基團，來評估該化合物可能具有的生物活性或危害性。結構警示的概念從20世紀中就被提出來研究特定化學結構與毒性之間的關聯，但直到1988年 Ashby 和 Tennant 才有系統性的整理與驗證結構警示用於基因毒性與致癌性預測的研究，該研究開啟了結構警示的廣泛應用。結構警示被定義為可能引起特定毒性的關鍵子結構，由於這些子結構與化合物的毒性直接相關，這些子結構可以被視覺化呈現來直覺的提醒研究人員潛在的毒性風險。因為結構警示是基於對毒性機制的深入研究所獲得，結構警示通常代表特定與毒性直接相關的化學反應或從過去實驗資料歸納出的毒性相關子結構，因此結構警示能提供直接且重要的毒性證據，目前已被廣泛用於評估多種毒性終點。

早期結構警示的研究主要依賴專家收集分析文獻資料歸納重要的毒性相關子結構，除了耗時費力之外，也非常依賴專家知識的廣度與深度，部分隱藏在資料中的未知結構與毒性間的關聯較難被發現。近年來，隨著大數據分析方法的進展，基於大量化合物毒性資料進行結構警示推導的計算方法成為另一種新趨勢，相較於傳統耗時費力的專家歸納方法，這種資料探勘方法能從資料集中探勘潛在與毒性相關的結構警示，這類型的結構警示還能從資料集計算相關敏感度與專一性等預測表現資訊，以了解該結構警示的代表性，進一步加速了該領域發展。儘管這類型資料探勘推導的結構警示有不錯的應用，該結構警示應視為一種假說，需進行額外的測試來驗證這些結構警示，並且這些結構警示通常被組合成一組規則式模型 (Rule-Based Model)，即利用多個子結構判斷式來綜合歸納出毒性預測結果，並可用於建立分類 (Classification) 與迴歸

(Regression) 預測模型，來處理危害鑑定 (Hazard Identification) 與效力 (Potency) 預測問題。基於這個觀點，這類型的結構警示模型可被視為一種定量構效關係模型，即透過分析化學結構與其生物活性 (包括毒性) 之間的關係，進而進行預測的技術。不同的是基於結構警示的模型以結構判斷規則為主，而定量構效關係模型則涵蓋更廣泛的數學、統計與資訊方法，進一步導入不同的化合物表示法 (Chemical Representation) 與演算法來探索能建立準確模型的機器學習模式，這類新方法能探索高維度空間的非線性關係，對於複雜機轉的毒性預測問題能提供更高的準確性與可靠度，詳細關於定量構效關係模型的原理與應用將在下一節說明。

結構警示在法規層面的應用日益受到重視，例如國際醫藥法規協和會 (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH) 發布的 ICH 指南 M7 與 S2 中有關於如何利用結構警示進行化合物毒性評估的相關指引。此外，歐盟的 REACH 法規也將結構警示納入化學品安全評估的相關證據。儘管結構警示可用於標記不安全的化合物，單純依賴結構警示可能無法完全可靠地預測化學品的毒性。因此，將結構警示與定量構效關係模型等其他計算方法整合，是目前較為全面的化學品安全評估方法。

(二) 結構警示預測的實施步驟

結構警示的應用相對單純，一般可從軟體整理提供的結構警示進行分析，僅需輸入待測化合物結構與欲分析的終點就能快速進行分析。分析結果一般包括該化合物可能具有的結構警示，以皮膚致敏性危害結局路徑 (Adverse Outcome Pathway) 第一個關鍵步驟—蛋白質結合為例，常見的化合物與蛋白質共價結合機轉包括如醃化 (Acylation) 反應、麥可加成 (Michael Addition) 反應、希夫鹼 (Michael Addition) 反應等，這些反應都已經有特定的子結構可供作為結構警示用途，進行結構警示預測後，只要在待測化合物發現任一結構警示即可預測為可能導致蛋白質結合，進而作為可能導致皮膚致敏性的證據。但是須要特別留意若無結構警示並不能作為無蛋白質結合甚至無皮膚致敏性的證據，因為可能有潛在未被發掘的其他結構警示或其他可能導致蛋白質結合的因子未被納入考量。

(三) 結構警示相關軟體

結構警示常用的免費軟體包括 OECD QSAR Toolbox、ToxTree、VEGA 等工具。OECD QSAR Toolbox 概要已於第二節介紹，該軟體也內建許多毒性終點的結構警示可供運用，由於結構警示模型與定量構效模型在該工具中被歸為同

一類，相關資訊將於下一節討論。ToxTree 主要由歐盟委員會的聯合研究中心（Joint Research Centre）所支持開發，是免費且開放原始碼的工具，目前釋出的最新版本是3.1版（<https://toxtree.sourceforge.net/>），提供18種結構警示與毒理關切閾值（Threshold of Toxicological Concern, TTC）的模型，並設有線上分析工具（<https://toxtree.sourceforge.net/predict/>），須留意的是線上版本功能較為受限，建議使用離線版本才能進行較完整的分析。

VEGA（Virtual Models for Evaluating the Properties of Chemicals within a Global Architecture）是一款免費的定量構效關係預測軟體，由義大利 Mario Negri 研究所開發。該軟體內建數十種針對人體毒性、環境分布特性、生態毒性、物化特性和吸收（Absorption）、分布（Distribution）、代謝（Metabolism）與排除（Excretion）特性的結構警示與定量構效預測模型，並提供相近化合物資訊、解釋性與不確定性評估以提高監管機構的接受度，此外也能輸出符合監管規定的報告檔案。

若想自行利用資料科學方法從資料集中建構結構警示模型，也有多個軟體可供選擇，本篇介紹同樣由義大利 Mario Negri 研究所開發的 SARpy 軟體，該軟體能將化合物分解成所有可能的片段，並通過頻率分析計算潛在的結構警示，同時該軟體也提供簡單易用的圖形化使用者介面，讓使用者能夠簡單的進行分析、驗證與預測工作。

四、 定量構效關係（QSAR）模型的原理與應用

（一）定量構效關係模型簡介

定量構效關係是一種透過分析化學結構與其生物活性（包括毒性）之間的關係，利用數學、統計與人工智慧演算法建立預測模型並進行預測的技術。定量構效關係的發展歷史一般認為可以追溯到 Corwin Hansch 早期在1964年嘗試將化學結構與生物活性聯繫的研究，當時發現基於親脂性的複迴歸分析方程式能用來探討化合物活性關係。隨著毒性資料庫的增加與統計及機器學習領域的成熟，定量構效關係的發展經歷了從傳統較單純的基於親脂性或結構警示的分析方法，到利用數學或統計學為基礎的多參數建模技術，再到現代能處理多維度與高度非線性資料的人工智慧（Artificial Intelligence）驅動的定量構效關係模型。人工智慧中的機器學習（Machine Learning）演算法在化合物毒性預測方面得到了非常廣泛應用，科學界並發表了非常多的化合物毒性預測模型，得益於人工智慧領域對於預測未知樣本的技術發展，這些以人工智慧解讀資料集建立的預測模型通常準確度都遠比結構警示模型還高，進而奠定了定量構效關係模型在化合物毒性預測領域的重要地位。

目前大多數毒性預測模型皆基於定量構效關係概念，主要將化合物結構與特

性資訊轉換為電腦可識別的化合物特徵之數值向量，並利用各種線性與非線性建模方法，如支持向量機（Support Vector Machine）、決策樹（Decision Tree）、隨機森林（Random Forest）、人工類神經網路（Artificial Neural Network）和圖神經網路（Graph Neural Networks）等演算法來學習輸入的化合物特徵與輸出的化合物毒性之關聯性，並據以建立預測模型。上述各種演算法都能用來建立預測模型，然而並非所有建立的模型都能被用於監管目的，主要考量的要素可參考經濟合作與發展組織發布的定量構效關係模型驗證的五大原則：

- 明確定義的終點（A Defined Endpoint）：定量構效關係模型的預測必須針對已知的毒性或環境終點（如致癌性、生殖毒性、皮膚致敏性）。
- 明確的演算法（An Unambiguous Algorithm）：模型的參數與演算法必須明確以滿足再現性要求與可解讀性。
- 適用範圍的界定（A Defined Domain of Applicability）：模型必須說明它適用於哪些類型的化學物質，並識別哪些物質可能超出其適用範圍。
- 適當的模型驗證措施（Appropriate Measures of Goodness-of-Fit, Robustness, and Predictivity）：模型須經過嚴格的內部與外部驗證，例如採用交叉驗證（Cross-Validation）或獨立測試集驗證（Independent Test Set）來評估其預測準確度。
- 可能的機制解釋（A Mechanistic Interpretation, If Possible）：盡可能提供模型與生物學作用機制之間的關聯性，例如透過相似化合物、結構警示或危害結局途徑來支持預測結果。

相較於其他類型的替代方法須經由驗證中心進行驗證，定量構效關係模型則是必須符合這五項原則才能符合法規接受的標準。而典型的定量構效關係模型開發流程可分為五個主要步驟：

1. 資料收集：蒐集化合物結構與毒性資料。
2. 特徵擷取：轉換化合物結構為結構指紋、物化特性、嵌入（Embedding）向量等可用於機器學習的特徵向量（Feature Vector），在定量構效關係模型領域中又稱描述符（Descriptor）。
3. 模型開發：透過數學、統計學或機器學習方法分析輸入化合物特徵與毒性之間的關係，據以建立預測模型。為符合模型驗證的原則，模型開發時應設計嚴謹的模型訓練、驗證與測試流程，特別需要導入外部資料（External Data）又稱獨立測試資料（Independent Test Data）來評估模型效能。

4. 適用域定義：由於用於建立模型的資料僅佔廣大化學空間的一小部分，建立適用域對於後續的管理應用特別重要，可以利用如結構相似度指標來分辨預測資料是否落在模型的適用域中。
5. 應用與解釋：用於預測其他未包含於模型中的化合物之預測與機轉之探討，機轉探討對於部分演算法如線性迴歸或決策樹等很容易可以直覺分析，但對於較複雜的高度非線性模型而言機轉探討較為困難，但仍可以利用如 SHAP (SHapley Additive exPlanations) 等方法來探討相關特徵對於毒性終點的貢獻。

(二) 定量構效關係模型的實施步驟

適用於監管用途的定量構效關係模型之設計都經過上述提到的五個步驟詳細的驗證與分析，因此在使用上通常相對容易。大多數模型僅需準備好化合物結構並選定相關模型，就能直接獲得符合經濟合作與發展組織定義的模型驗證之五大原則之結果。得到預測結果後，接著需要詳細紀錄模型與預測相關資料於 QMRF (QSAR Model Reporting Format) 與 QPRF (QSAR Model Prediction Format) 文件之中，第三節提到的結構警示模型有時也適用 QMRF 與 QPRF 格式進行報告撰寫。然而需要特別留意模型是否在適用域中，若模型不在適用域而仍想採用該結果撰寫報告須詳細說明原因，例如其他結構警示或交叉參照結果支持定量構效關係模型的預測結果。

(三) 定量構效關係模型的相關軟體

由於人工智慧演算法的快速進展，定量構效關係模型不斷推陳出新，本節僅推薦幾個免費且常用的軟體，如 OECD QSAR Toolbox 與 VEGA，這兩個軟體在前幾節都已經介紹過，本節僅補充說明這兩個軟體對於定量構效關係模型分析的功能。OECD QSAR Toolbox v4.7內建針對物化特性、環境流布、生態毒性與人類健康危害等254個基於結構警示或統計方法之定量構效關係模型，同時提供相關模型的 QMRF 檔案，並能利用該軟體產生預測報告。在目前最新的4.7版中，更因應2023年定量構效關係評估框架 (QSAR Assessment Framework, QAF) 的發布而修正了相關的報告格式。VEGA 軟體也提供了許多定量構效關係模型，並且相關模型的 QMRF 檔案也都能從 VEGA 網站上下載使用。然而具備 QMRF 檔案並不能保證該模型的適用性，由於本章節無法涵蓋所有相關細節，對於如何正確應用定量構效關係預測模型建立報告，建議可參考定量構效關係評估框架 QAF 的相關指南來了解需準備的內容。

五、 結語

交叉參照、結構警示與定量構效關係都經歷了從單純基於結構相似性的推斷，到整合多種科學證據與系統化評估框架的發展歷程，這些人工智慧與計算

模型預期將隨著更多的新方法學與應用實例研究得到更加廣泛的應用，而相關監管指南也將被進一步完善。另外同時參採多個替代方法的證據權衡方法預期將獲得更高的管理接受度，如 OECD TG 497的皮膚致敏性定義方法利用基於危害結局路徑的化學、體外與電腦預測等三種方法，開發了準確且能解讀機轉的替代方法。隨著人工智慧演算法的快速進展，過去因僅具少量資料的毒性終點而難以建立預測模型的問題，將可能經由新一代的演算法如遷移學習來克服，並且針對可解讀機轉的預測模型研究也將進一步推進人工智慧預測模型在監管方面的應用。

3-3 數位科技實驗設計優化的應用

一、前言

啮齒類在遺傳與生理特徵上，與人類有高度相似性，加上飼養與操作相對容易，成為探索神經疾病及精神病理機制的實驗動物。透過行為實驗設計，可於啮齒類動物建立憂鬱症與焦慮症的典型臨床行為表徵，利用基因改造的模式動物，能深入探討雙相情緒障礙症 (bipolar disorder) 與自閉症類群障礙症 (autism spectrum disorder, ASD) 背後的神經迴路。

近年來，人工智慧廣泛應用於動物實驗設計與行為數據分析中，相較傳統人工記錄，AI 及深度學習大幅提升分析精準性，降低人為主觀偏差，處理複雜、高維度的生理與行為數據，虛擬實境 (VR) 及擴增實境 (AR) 的應用，得以精確調控動物所處的感官環境，提高神經功能與行為分析的空間及時間解析度，同時維持動物行為的自然性，取得更穩定可靠的實驗結果。

本文聚焦介紹啮齒類在神經及精神疾病中的行為模型，AI 在動物實驗與行為分析中的應用，以及雲端運算、穿戴式感測器在提升研究效能與動物福祉上的貢獻，並展望未來的研究趨勢與發展方向。

二、常見的啮齒類神經、精神疾病模式與行為指標

啮齒類具備與人相似的生理及遺傳特性，成為研究神經、精神疾病重要的動物模式。透過嚴謹的行為測試與神經影像，研究人員能觀察並量化疾病特有的行為指標。雖然傳統上神經疾病與精神疾病被視為不同的醫學領域，但實際上多數疾病同時涉及神經病變與精神症狀，因此，未來的醫學研究更強調兩者的交互作用。

1. 神經疾病模式 (NEUROLOGICAL MODELS)

神經疾病模式著重神經退化和運動認知的評估。以阿茲海默症為例，最常用的基因轉殖鼠 AppNL-G-F/NL-G-F 攜帶人類類澱粉前體蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 或 Tau 蛋白的突變，模擬大腦中 β 類澱粉蛋白斑塊或神經纖維纏結的累積 (Janus, Flores, Xu, & Borchelt, 2015; S et al., 2021; Samaey, Schreurs, Stroobants, & Balschun, 2019; Sutoko et al., 2021)。

研究者透過莫里斯水迷宮 (morris water maze) 評估空間記憶、新奇物體辨識 (novel object recognition test) 評估物件辨識能力、序列反應時間測試 (serial reaction time test, SRTT) 或觸碰式螢幕 (touch-screens) 評估注意力和衝動性、延

遲折扣測試 (delay-discounting test) 評估強迫行為控制。

小鼠若在水迷宮中無法有效尋找隱藏平台或在新物體辨識中對新刺激缺乏探索傾向，顯示阿茲海默症樣的記憶與辨識能力衰退 (Janus et al., 2015; Samaey et al., 2019)，部分研究也會測量小鼠對恐懼制約 (fear conditioning) 的學習速度與記憶維持，確認其神經可塑性 (Janus et al., 2015)。

帕金森氏症 (PD) 的主要病理特徵是黑質緻密部中多巴胺神經元的流失，導致基底核迴路失衡並產生顫抖、僵直與動作遲緩，在動物模式中，最常使用的誘發方式是 6-羥基多巴胺或 MPTP，直接破壞多巴胺神經迴路，造成明顯的運動功能損傷 (Campos et al., 2013; Decourt, Jiménez-Urbieta, Benoit-Marand, & Fernagut, 2021; Fornai et al., 2005; Li, He, & Wu, 2023; Naughton, Moriarty, Feehan, O'Toole, & Dowd, 2016; Sheta, Bérard, Musiol, Martínez-Drudis, & Oueslati, 2024)。

使用旋轉桿測試 (rotarod test) 觀察小鼠或大鼠在旋轉環境下維持平衡的能力，同時也應用被動迴避測試 (passive avoidance test) 評估對運動與情境學習的整合度。

亨廷頓舞蹈症 (Huntington's Disease, HD) 由延長的 CAG 三核苷酸重複序列引起亨廷頓蛋白 (huntingtin) 功能異常，導致漸進性的運動失調、認知障礙，其經典動物:攜帶突變型亨廷頓蛋白的 R6/2 或 YAC 系列基因轉殖鼠 (Mennal et al., 2009)。這些小鼠常在幼年或中年後期出現舞蹈樣動作、步態不穩與協調困難，透過轉棒測試、開放場域活動量 (open field activity) 加以量化分析。

這些神經疾病模式中，也會同時關注認知、運動與社交。例如:阿茲海默症小鼠出現社交探索減少或對新同類的興趣降低;帕金森氏症與亨廷頓舞蹈症小鼠也可能隨著運動功能衰退，產生社會互動與自發性活動量的改變。

2. 精神疾病模式 (PSYCHIATRIC MODELS)

精神疾病模式強調情緒、動機、認知彈性以及社交溝通，在憂鬱症 (depression)，慢性輕度壓力 (chronic mild stress, CMS) 或慢性不可預測壓力 (chronic unpredictable stress, CUS) 能在啮齒類誘發類憂鬱表徵 (Du Preez et al., 2021)。

研究人員藉由強迫游泳測試 (forced swimming test) 和懸尾測試 (tail suspension test) 觀察動物表現出的絕望行為，透過蔗糖偏好測試 (sucrose preference test) 評估失樂症 (anhedonia)，焦慮症 (anxiety disorders) 依賴高架十

字迷宮 (elevated-zero maze) 衡量動物對開放或明亮區域的迴避程度。

若實驗動物花費在開放臂時間減少，表示焦慮水平上升，動物模型雖存在品系與非標準解釋的限制，透過發展新的基因模式動物、改善與症狀的行為分析，對篩檢潛在抗憂鬱、抗焦慮藥物，存在有效性與高度參考價值 (Calvo Jr. & Khutsishvili, 2022)。

思覺失調(schizophrenia)模型，常用 NMDA 受體拮抗劑，如:PCP 或 MK-80 誘導症狀與認知功能障礙，包括:類似幻覺或社會互動不足的行為，透過社交互動測試以及驚嚇反射(prepulse inhibition, PPI)評估動物的感官處理與社交退縮程度，若動物出現無法正常抑制持續出現的驚嚇測試，表示感官整合與認知調控功能異常，與思覺失調症的症狀呈高度相關 (Juckel & Freund, 2023)。

雙相情感障礙症 (bipolar disorder) 的動物模式相對複雜，因其臨床特徵包含躁症與憂鬱兩大極端，研究採用基因修飾或干擾多巴胺傳輸機制的小鼠，觀察在一段時間內出現高活動量、衝動性或高風險行為，轉為無動機、社交退縮憂鬱狀態 (van Enkhuizen et al., 2015)。

自閉症類群障礙症(ASD)屬神經疾病，也常被歸於精神疾病討論，症狀包含:社交溝通障礙、重複刻板行為及感官處理異常。在啮齒類中，利用基因修飾 SHANK3、ARID1B、CHD8、CNTNAP2、FMR1、GRIN2B、NRXN1 和 SCN2A (David, 2023; Huang et al., 2021; Klibaite et al.; Lázaro & Golshani, 2015) 誘發類自閉表徵，降低對同類的社交探索動機、拱背、重複性梳理、超聲波特徵的數量與型態異常 (Caruso, Ricceri, & Scattoni, 2020; Coffey, Marx, & Neumaier, 2019)。使用社交測試 (three-chamber test) 或直接觀察與同儕互動的時間長短，評估社會偏好與溝通缺陷程度，此類模型亦可檢驗早期環境因子 (如產前免疫活化) 或藥物介入在改善社交行為與認知能力的效果。

神經疾病著重神經退化機制、進行性運動與認知障礙的評估；而精神疾病則聚焦於情緒調控、社交互動與高階認知的異常，這些模式在病理與行為上各自有其研究重點，在臨床前研究中，需同時觀察多重功能才能全面了解疾病成因，進而對應人類的臨床症狀。此外，透過行為測定自動化達到長時間、低干擾收集行為數據 (Mingrone, Kaffman, & Kaffman, 2020)、清醒動物即時性神經影像 (Oelschlegel & Goldschmidt, 2020) 提高臨床前研究的價值 (Calvo Jr. & Khutsishvili, 2022)。

三、 AI 技術如何應用於動物實驗設計與行為分析

1. AI 與生物醫學研究的基礎銜接

人工智慧 (AI) 近十年於生物醫學領域快速整合，主要於機器學習 (machine learning) 和深度學習 (deep learning) 的核心演算法。支援向量機 (support vector machine, SVM) 或隨機森林 (random forest, RF) 能準確分類與預測實驗動物的行為差異，深度學習中的卷積神經網路 (convolutional neural network, CNN) 擅長處理影像與視覺資料，而遞迴神經網路 (recurrent neural network, RNN) 與長短期記憶網路 (long short-term memory, LSTM) 能從連續時間序列中檢測隱藏的動態模式。

2. 應用於動物實驗設計

AI 結合過往資料、效果量 (effect size) 與變異度 (variance)，透過貝葉斯方法 (Bayesian approaches)，估算樣本量並制定實驗，避免樣本不足或樣本過多而浪費資源。在實驗執行層面，不少實驗室導入智慧籠具 (SmartCages) 或自動觀測系統，以攝影機與感測器長期監測動物的行為與生理狀態 (Khroyan et al., 2012)。一旦偵測到異常情形，系統會立即通知，使其能及早介入並調整飼養條件或實驗流程，降低人為干擾對動物所造成的額外壓力。

同時，虛擬實境 (virtual reality, VR) 與擴增實境 (augmented reality, AR) 的興起，也帶給動物實驗更高的可控度與靈活性。研究者可在不干擾動物自然行為的情況下，精準調控視覺、聽覺或前庭刺激，營造各種複雜卻可重現的研究環境，讓運動測試、空間導航、獎勵式學習與社交互動，都能在高標準化的情境進行。

例如：使用虛擬迷宮 (Cushman et al., 2013; Higa, Young, & Geyer, 2016; Lebedeva et al., 2024) 或虛擬跑步機 (Del Grosso, Graboski, Chen, Blanco-Hernández, & Sirota, 2017; Kaupert et al., 2017; Lebedeva et al., 2024)，評估小鼠在視覺提示與空間線索分離後的導航能力，也能在獎勵或威脅情境中，即時紀錄動物的決策。

VR 能與電生理記錄或鈣影像技術整合，追蹤神經迴路在虛擬行為的活化模式，例如：透過 iMRSIV 與 Mocolus 讓小鼠獲得全視野與立體視覺的體驗 (Judák et al., 2024; Pinke, Issa, Dara, Dobos, & Dombeck, 2023)、MouseGoggles 提供沉浸式的視覺場景與眼動追蹤功能 (Isaacson et al., 2024)。

頭戴式 VR 可直接量測在虛擬導航期間的神經動態 (Judák et al., 2024; Sato, 2022)，利用可操縱虛擬社交刺激的系統，觀察自閉症模式小鼠的社交認知缺失

與皮質活動 (Nakai et al., 2023)，雖然 VR 和 AR 技術有助於精準操控感官輸入，但在本體感覺 (proprioception)、觸覺與嗅覺的再現上仍存在技術難度 (Cushman et al., 2013)，若無法整合這些感官，或是虛擬情境與真實情境落差大，將導致行為結果偏差。

3. 應用於行為分析

為了更準確評估實驗對大腦與行為的影響，以往常見的人工作業雖可用於檢測或標記動物的行為模式，但此作法效率低且易受限於觀察者的主觀差異。近年來，深度學習影像辨識技術如 DeepLabCut (Lauer et al., 2022; Mathis et al., 2018; Nath et al., 2019)、SimBA (Goodwin & Golden, 2024) 大幅簡化行為追蹤與標記的流程，即不在動物體表黏貼標記，此類系統仍能依據影像，自動追蹤肢體部位的活動軌跡，辨識攻擊、社交、探索及焦慮細微差異的行為。

將 DeepLabCut 與 SimBA 結合應用於大鼠社交行為分析，其結果與人工評分之間的相關度可高達 $R^2 = 0.75$ (Popik et al., 2024)，在阿茲海默症 (AD) 模式研究，Sutoko (2021) 將小鼠早期的強迫行為及學習行為輸入深度神經網路 (DNN) 進行模型訓練，獲得 $89.3\% \pm 9.8\%$ 的準確度，此模式晚期，更透過衝動性、注意力達到 100% 準確度 (Sutoko et al., 2021)。

此外，Li (2023) 使用結合 CNN 與 BGRU (CNN-BGRU) 的神經網路，分析大鼠行走的 3D 動作協調性，憑藉 CNN 提取空間特徵以及 BGRU 捕捉時間維度特性的能力，快速辨識巴金森氏症 (PD) 模式大鼠，正確率高達 98.73% (Li et al., 2023)。

在自閉症類群障礙症 (ASD) 模式，Huang (2021) 透過動態時間校準核心 (DTAK) 測量高維度的非運動行為，並進行降維與投影分析，發現 Shank3B 基因敲除的 ASD 模式小鼠在運動強度與垂直運動方面表現較低，針對多種行為參數的時間序列進行模型化，可輕易區分 ASD 動物與正常對照 (Huang et al., 2021)。

Klibaite 利用 7 種 ASD 模式小鼠建立 s-DANNCE 演算法，透過半監督式學習 (semi-supervised learning) 與圖神經網路 (GNN) 模組解決動物間互相遮擋造成的追蹤困難，有效克服遮擋情況的行為分析 (Klibaite et al.)。

Coffey (2019) 針對齧齒類常見的超聲波發聲 (ultrasonic vocalizations, USV)，運用 DeepSqueak (基於 Faster-RCNN 的卷積神經網路) 提升 USV 的精確度，並自動辨別不同頻率、時長與形狀的聲音訊號，推測可能的情緒或社交功能 (Coffey et al., 2019)。

這些深度學習與機器學習技術，在面對長期觀察所累積的龐大行為資料時，能在高維度空間中找出區別不同實驗組或基因型的關鍵特徵，並預測動物在時間推移或外在干預下的行為變化，例如：監測阿茲海默症模式動物記憶或運動功能的逐漸退化，或分析焦慮模式動物在不同藥物條件下的行為走向。

自動化分析讓研究者得以更早且精細偵測異常行為，優化早期診斷與治療的成效。未來結合腦電、鈣離子影像及基因表現，將有助於全面理解神經機制，並提升跨領域合作的研究深度與廣度。(現將近十年「AI 演算法在神經科學的應用」整理於表一、「AI 於特定疾病的關鍵發現」整理於表二)

4. 挑戰與未來發展

儘管 AI 在動物實驗設計與行為分析上成效卓著，仍面臨挑戰。首先，模型訓練極需大量且高品質的數據，但各實驗室間的動物品系、飼養條件與行為測試裝置可能大相逕庭，造成資料整合與通用性受限。若未來能建立更標準化的數據收集與標註流程，以及可公開共享的動物行為數據庫，將有助於提昇演算法的穩定度與可擴展性。

此外，動物實驗同樣牽涉倫理與動物福利考量，即使不涉及人類隱私，研究者仍需在長期自動監測中，確保干預措施不超越倫理界限，並降低對實驗動物的應激反應，公開分享實驗流程與失敗經驗亦有助於促進技術與倫理的平衡發展。

深度學習模型往往被批評為「黑箱」(black box)，因為判斷依據不易被直接理解，臨床或藥物開發若無法明瞭演算法的機制與考量，將難以擬定合理的治療策略或釐清因果關係 (Hassija et al., 2024)。

未來的研究方向除追求更高預測精準度，也需著重「可解釋 AI (Explainable AI)」，將模型特徵與決策可視化並模組化，協助評估其安全性與科學價值。

AI 在動物實驗中的角色，已從前期設計到後續行為分析，並可進一步與基因編輯、光遺傳 (optogenetics) 及組織透明化成像技術結合，開闢嶄新的研究視角，只要能兼顧技術發展與倫理規範，AI 將推動生物醫學的進步，為人類和治療疾病鋪設更有效途徑。

四、數位科技對於動物實驗設計優化的進展與貢獻

數位科技的快速發展，為生物醫學研究帶來前所未有的變革，特別是動物實驗設計與動物福祉 (animal welfare)，從早期手動觀察與紀錄，到現代化的高解析度攝影、雲端運算 (cloud computing) 與可穿戴感測器 (wearable devices)，不

僅提高實驗效率與數據質量，透過電腦模擬，可預先分析動物在不同處理條件下可能的反應，評估最適合的實驗參數配置，更精準監控、評估動物福祉並即時調整，減少不必要的犧牲。

1. 數位化與雲端運算

伴隨生物醫學的資料量日益龐大，傳統單機或人工作業的處理模式逐漸跟不上研究需求，透過雲端運算 (Cloud Computing) 與高效能運算 (High-Performance Computing) 平臺，提供動態調配資源與集中式的資料管理。

結合雲端運算和電子實驗筆記本 (electronic lab notebook, ELN) 進行集中式數據管理，可即時分析並視覺化實驗結果，搭配版本控制與權限管理，確保數據安全與可追溯性，跨國研究團隊也能共享並使用同一批實驗數據 (Higgins, Nogiwa-Valdez, & Stevens, 2022)。

未來智慧實驗室的概念落實，除了雲端運算外，還包括自動化樣本處理與感測器網路整合，透過多種感測器長期監測動物生理或行為參數，並即時回傳至中樞伺服器進行分析，研究人員可在儀表板上一次掌握所有指標。

一旦系統偵測到異常值，能主動警示並協助研究者介入，若將這些監測數據與基因定序、蛋白表現或組織切片影像匯入同一雲端平臺，能進行整合性研究並提高再現性。

2. 大型資料與穿戴設備

大型資料 (big data) 在生物醫學領域的價值，展現在對「大量、快速、多樣且真實」4V 特徵的有效管理與分析上。穿戴感測器與微型無線裝置，能長期量測動物的生理參數，並透過無線傳輸至後端進行即時分析。以此為基礎，不僅能掌握疾病模式在不同行為階段的生理動態，也可即時偵測異常事件，大幅降低動物因極端壓力或實驗失誤而犧牲的風險，也有助於實踐 3R 原則中的「減量」(Reduction) 與「精緻化」(Refinement)。

除了生理信號，智慧籠具也能同步紀錄動物的日夜節律 (circadian rhythm) 和行為節奏，觀察是否存在運動量異常或睡眠—覺醒規律錯亂。將長期監測數據、基因表現、腦影像與臨床患者資料相結合，能進一步進行跨物種的醫學研究，找出疾病機制與潛在治療，避免過度使用實驗動物。

3. 整合與優化動物實驗設計

現代動物實驗設計已不再侷限於單一學科或單一技術，而強調多種量測手段

在相同平台上的即時整合與交互，藉電子實驗筆記本、雲端運算與 AI 演算法的搭配，研究者可同時掌握不同維度的生物數據，並在任意時間點迅速查閱或比較先前的實驗結果。

「實驗資料管線 (pipeline)」與「整合式儀表板 (dashboard)」，加速研究進程，提升研究透明度與可溯源性，自動化異常偵測能在實驗進行期間即時發出警訊，避免錯誤累積並及時調整。

數位科技在強化動物福祉 (animal welfare) 扮演重要角色。若系統發現某隻動物表現過度焦慮、自殘行為或生理狀態迅速惡化，可主動通知，研究者便能立即調整飼養條件或給予適當醫療照護。相較於過去只能定時巡檢、被動介入，智慧監測有效提升動物實驗的科學嚴謹度與倫理標準，減少對動物的不必要干擾，有助「精緻化」實驗，避免人為因素造成不必要的壓力或偏差。

五、未來研究與發展趨勢

未來，數位科技在動物實驗中將更深入與其他技術結合，形成更加自動化、智慧化與整合化的研究生態系。例如：虛擬實境與擴增實境的發展，可在行為研究中創造可控且多變的刺激環境，量子運算 (quantum computing) 可在極短時間內處理大數據分析所需的複雜演算法。

1. 數位科技持續與新興技術結合

虛擬實境與擴增實境使動物的感官，在可控且沉浸式的條件被塑造，大幅擴展動物實驗的應用範疇。例如：在行為神經科學中，運用 VR 營造虛擬迷宮或視覺刺激，可更精準探討動物對特定感官條件的反應，加上 5G/6G 網路提供的高速、低延遲傳輸，遠端實驗監測與操控也能更順利實現，減少研究者進入動物飼養空間的需求。

優化研究效率，也降低對動物環境的干擾，生物感測器與微流體晶片 (microfluidics) 的結合，能更精細模擬體內微環境，提供即時且高精度的數據分析，更強化 3R 原則中的「替代」(Replacement)，降低對動物實驗的依賴。

2. 與臨床數據整合以進行轉譯醫學研究

為了縮短基礎研究與臨床應用的距離，動物實驗數據與人類臨床資料的整合是必然，數位科技協助串接臨床電子病歷、基因體資料庫與動物實驗資料，透過大數據分析與模型預測，提供更客觀的疾病機制推論與新藥篩選依據。

當發現基因或生理指標在動物與人體有一致的變化趨勢時，能更迅速進行後

續的臨床試驗設計與藥物開發，跨國際的合作更頻繁，全球化與線上化的實驗模式會成為常態。例如：國際大型研究可能由多個實驗室，同時針對相同的基因型或疾病模式進行，收集更具代表性與多樣性的樣本，透過雲端與大型資料分析平台進行整合，顯著提高研究的信度與再現性，利於快速辨識並修正實驗中可能的偏誤或系統性誤差。

感測器技術與高速網路的持續演進，將使動物研究具備更完善的資料整合能力，為醫學研究開啟前所未見的廣闊視野，隨著 5G、6G 乃至未來更高速的通訊系統逐漸成熟，跨域技術門檻將大幅降低，在強化 AI 的可解釋性及推動數據共享、標準化的同時，研究者亦需嚴守動物福利與科學倫理底線，確保成果的可靠性與社會價值。這些技術不僅為神經與精神疾病帶來影響，能加速臨床介入與精準醫療的落實，為複雜腦疾病的診斷與治療創造新的可能。

表一、AI 演算法在神經科學的應用

演算法	運作機制	應用方法	比較優勢	近年應用之研究
卷積神經網路 (CNN)	從空間資料中提取分層特徵	圖像/影片分析、EEG 信號處理	模式識別精度高、處理能力強、適用於複雜空間資料	(Ali et al., 2021; Artoni et al., 2019; Carlos et al., 2022; Illouz, Ascher, Madar, & Okun, 2024; D. Lu et al., 2020; Pantelis & J, 2020; Qianli et al., 2024)
隨機森林	訓練多顆決策樹，各自獨立預測或分類，再綜合結果降	神經科學資料的特徵選取、分類、回歸 (如基因表	對異質性資料有良好穩定度，對參數調整敏感度	(Aljovic et al., 2022; Colic et al., 2017; Renne, Lei, &

	低錯誤。	現、神經影像 指標)	較低，且相對 具解釋性	Zhang, 2022)
深度殘差網路	可以跳躍連接 極深 CNN	大規模神經 影像分類、神 經活動模式 分析、高維行 為影像辨識 如運動追蹤	可構建非常 深的網路以 提取更多特 徵，同時保持 高效率訓練	(Aljovic et al., 2022; D. Lu et al., 2020)
遞迴神經網路 Recurrent Neural Networks (RNN/LSTM)	RNN 透過「循 環」結構把前 面狀態傳到下 一步； LSTM/GRU 是 RNN 的改 良，避免長序 列學習中梯度 消失。	電生理訊號 (如 EEG、 Spike Train)、 行為序列，或 任何需要預 測前後關係 的資料。	擅於處理長 短期依賴、序 列預測與分 類，適用各種 序列型資料	(Pantelis & J, 2020)
全連接神經網 路 (FCNN)	透過多層線性 加權與激活函 數，直接把輸 入映射到輸 出。	結構較單純 的分類、回 歸，或者已經 做過特徵擷 取的資料。	結構直觀、易 於實作與訓 練，適合小規 模或已提取 好特徵的資 料	(Pantelis & J, 2020)
支援向量機	根據訓練資料 找出能最好區 分不同類別的 決策邊界，利 用支援向量決 定最適邊界， 確保最終模型 更專注在影響	基因表現分 析、疾病預後 分群、影像判 讀、神經訊號 預測、行為參 數估計，適用 於辨識度較 高且樣本量	不容易過度 擬合、適用小 量數據、對於 中小型資料 集也可得到 穩定結果、彈 性高、可處理 高維度資料	(Colic et al., 2017; Joo- Heon et al., 2009; J. Lu & Sorooshyari, 2022)

	結果最顯著的特徵。	不大的情境 如罕見疾病		
混合模型	多種 AI 技術的組合	多模態數據分析，複雜行為建模	利用不同演算法的優勢來提高性能	(Gharagozloo, Amrani, Wittingstall, Hamilton-Wright, & Gris, 2021)
K-median/K-mean 叢集 + 人工神經網路 (ANN)	先用 K-means/K-median 把資料分群，然後用 ANN 針對每群或整體做更精細的預測或分類。	大量未標記資料的分群 (例如行為型態分群)，之後再做進一步分析或預測。	同時兼具非監督探索資料結構與監督式高階判斷的優點，較能貼近真實資料分佈	(Kshitij, B, V, D, & B, 2021)
深度卷積神經網路 (DCNN) (GoogLeNet)	Inception 模組同時做不同大小的卷積核，並合併多尺度特徵。	大型影像、行為辨識、姿勢估計等高複雜度的資料。	透過多通道並行卷積，能更有效率抓到不同大小或不同面向的特徵。	(Kotloski, 2023)
卷積神經網路 + 雙向門控循環單元 (CNN-BGRU)	CNN 負責抓空間特徵，BGRU(雙向GRU)再處理時間序列的前後文依賴。	資料同時含空間與時間資訊，如行為影像、神經訊號序列等。	能一次兼顧空間與時間特徵，對需要前後文脈絡的分析更準確。	(Li et al., 2023)
多層感知器 (MLP) 神經	和 FCNN 類似，主要用激	小規模的分類、回歸，或	網路結構簡單、易於調	(Zeynab, Mahda, N, M,

網路	活函數提供非線性，能學到簡單但重要的映射	已做完特徵工程後做簡單的預測	整，適合入門或基本分析	& Javad, 2019)
DeepLabCut + 利用 DLC 在 open field 的行為影像分割 (B-SoiD)	DeepLabCut：自動抓取影像中動物身體關節位置(姿勢追蹤) B-SoiD：對取得的姿勢軌跡進行分群與分類，辨識各種行為	快速辨識、量化多種行為、觀察基因、藥物或神經迴路變動對行為的影響、大量影片批次處理，減少手動標註負擔	需要較少人工標註即可完成大量影片的自動化分析精準量化、自動分群，無需事先定義行為類別，能自動萃取潛在行為模式、彈性高	(Shen et al., 2025)
卷積神經網路 (CNN) + 遞迴神經網路 (RNN)	混合模型：CNN 處理空間特徵，RNN(或其改良型 LSTM/GRU) 處理時間序列。	行為影片分析、神經元活動的時序資料，同時涉及動態變化和空間結構。	把「看到的畫面」與「變化過程」都納入考量，適合多模態複雜資料。	(Ryait et al., 2019)
非監督聚叢集 + 支援向量機 (SVM)	先利用非監督叢集(如 K-means、階層式叢集等)自動探索資料結構，將樣本分群之後，再以支援向量機 (SVM) 針對	基因表現分群、高通量資料篩選、分群後微調	能自動找出資料集的內在結構，適合未知分佈或少量標籤資料、彈性高、能處理高維度資料、降維	(Tseng et al., 2023)

	已分群或經部分標籤的資料進行分類或回歸		與特徵選擇	
深度神經網路	廣義的深度學習模型	醫學影像診斷、基因或蛋白質序列分析、fMRI、神經訊號解碼或行為影像分析	高階特徵萃取、彈性模型結構、用於大規模、高維度的資料分析與預測，如影像辨識、語音識別、時間序列預測	(Lei, Quan, Hezhi, & Long, 2020) Akira et al., 2021
雙向長短期記憶 (BiLSTM)、長短期記憶 (LSTM)	專門處理序列的 RNN 升級版，BiLSTM 會同時向前、向後處理序列。	需要掌握前後文 context 的任務，例如行為序列分析、腦電訊號分類。	對長時間序列和雙向脈絡的掌握特別強，預測精度通常更高。	(Zhong et al., 2021)
DeepLabCut, SimBA	透過標定(或半監督)學習來偵測關鍵點，並自動預測動物姿勢與行為模式。	動物行為研究，常見於小鼠、果蠅或其他實驗動物的自動化行為追蹤。	大幅減少人工標記的負擔，可精準且批量處理大量影像。	(Zhou & Hansson, 2004)
非監督式機器學習 (MoSeq)+ 自迴歸隱藏馬可夫模型 (AR-HMM)	MoSeq(Motion Sequencing) 會抽取動作片段並用 AR-HMM 建立模型，找到重複	不需要人工標籤，就能自動辨識動物複雜的行為組成和轉換模式。	能在大量未標記的行為影片中，發現行為模式段落，是種強大的探索工具。	(Gschwind et al., 2023)

	出現的「行為單位」。			
--	------------	--	--	--

表二、AI 於特定疾病模式的關鍵發現

近年研究	疾病類別	傳統方法	AI 增強取向	關鍵發現
(Pantelis & J, 2020)	癲癇	手動 EEG 分析、行為觀察	CNN、RNN、LSTM 用於自動腦電圖分析、以影像為基礎的深度學習來偵測癲癇	提高癲癇發作檢測的準確性（高達 95.6%）、可以識別發作前模式、減少分析時間
(Ali et al., 2021)	帕金森氏症	運動功能測試、組織學分析	CNN、用於 EEG/神經活動分析的 SVM; 用於 3D 運動分析的深度學習	區辨 PD 模型準確性高（高達 98.73%）、識別細微的運動障礙、具有早期診斷的潛力
(Artoni et al., 2019)	自閉症類群障礙症	行為評分、社交互動測試	CNN 用於瞳孔波動分析、ML 用於群體行為分析	以 97% 的準確性檢測 ASD 相關行為、識別新的行為標誌物、具有早期診斷的潛力
(Illouz et al., 2024)	阿茲海默症	認知測試、組織病理學	深度學習用於空間學習分析、CNN 用於行為分類	AD 模型分類準確（高達 91.86%） 檢測早期認知

				障礙、辨識出新的行為生物標記
(Tseng et al., 2023)	憂鬱症	強迫游泳試驗、蔗糖偏好試驗	非監督式叢集 + SVM 用於行為分析	對抑鬱樣行為進行分類的準確性為 80%；識別細微的行為變化；可透過自發性的行為預測類憂鬱行為
(Ryait et al., 2019)	中風	神經功能缺損評分、組織學	CNN + RNN 用於自動行為分析	區分中風組和控制組的準確性達 100%；識別新的運動改變；提高與受損範圍的相關性
(Jadhav, Boury Jamot, Deroche-Gamonet, Belin, & Boutrel, 2022)	物質成癮	自我注射藥物作業、場地偏好制約	K-median/K-mean 群集分析 + ANN 用於類成癮行為的分析	預測成癮可能性的準確性高 (93-96%)、具有早期干預策略的潛力

六、數位科技在實驗動物臨床手術的應用

當人類疾病需要深入研究時，為模擬有臨床意義的機轉，常利用實驗動物作為人類疾病模型，透過藥物、手術或基因改造，模擬人類疾病的進展，希望透過動物模式進行新型藥物或醫材的臨床前測試。

因此，實驗動物的臨床手術在藥物開發及疾病研究扮演重要的角色，傳統的手術在精準度、再現性及動物福祉仍面臨許多挑戰，尤其在高風險或需要精細操作的手術中。

隨著數位科技的發展，如：生醫影像、人工智慧、虛擬實境和擴增實境等新技術，若這些技術能應用在實驗動物的手術上，將有助於提升手術的精準度與效率，同時減少對實驗動物的傷害。

1. 手術前的規劃與訓練

■ 生醫影像技術與 3D 重建 (Three-dimensional reconstruction)

隨著磁共振造影 (MRI)、電腦斷層 (CT) 與超音波 (Ultrasound Imaging) 的發展，比起傳統手術依賴解剖圖譜規劃手術，數位影像能針對個體的實際位置，預測手術中可能的失誤。

在神經科學領域，尤其是實驗動物手術，MRI 可在高解析度下觀察腦部結構，在腦部解剖結構或微小神經核區需要精確定位時，MRI 提供的高解析度影像能有效區分腦區或微小神經核，為手術提供詳細的解剖參數。

除了 MRI 外，CT 在術前規劃中也是一項重要的工具，提供高解析度的結構性影像，特別在硬組織造影中具優勢，CT 造影快速且清晰，不僅減少麻醉時間，也降低長時間麻醉的風險。

進行中大型動物的開顱手術時，CT 影像可提供精確的三維骨骼影像，幫助在術前模擬手術，避免手術過程中對動物造成不必要的損傷，MRI 和 CT 影像還可透過三維的立體重建技術，轉換為三維模型，幫助在術前全面了解動物的腦部結構和神經核區的相對位置，再藉助 3D 視覺化軟體，能從多個角度觀察並模擬手術，以便選擇最佳的手術路徑，達到更精確的手術規劃。

■ VR/AR 的數位模擬技術

隨著虛擬實境 (VR) 和擴增實境 (AR) 的發展，使術者能結合虛擬影像或實境投影，進行手術模擬，或在手術中提供更完整且即時的資訊，術者在面對複雜或高技術的手術前，能夠事先模擬多種情境，積累經驗，提升操作的熟練度。

此外，AR 技術憑藉能將指引訊息與真實影像融合的特點，在手術過程中，術者可透過 AR 技術看到術前預設的虛擬導航路徑、深度和角度，有助於提高手術精準度，還能減少操作失誤。

■ 人工智慧 (AI) 輔助手術規劃

AI 對巨量的影像數據分析，根據不同的解剖結構或病理機制，生成最佳手術規劃。例如:AI 根據 MRI 影像自動識別大腦核區，進行影像切割和區域標註，幫助術者精確手術範圍，不僅提升手術精確度，並有效減少操作失誤，此外，AI 透過深度學習，能根據動物的生理狀況及術前影像進行綜合風險評估，預測實際手術中可能遇到的風險。

2. 手術過程中的數位科技輔助

■ 機器人手術輔助系統

手術機器人是高度自動化的醫療設備，旨在輔助或自動執行特定外科手術，這類智慧型機械由主控系統、精密機械手臂、高解析機器視覺及操作系統組成，提供精確度與穩定性，同時保持靈活性，超越人手的極限，尤其在高風險或複雜的手術中，機器人系統結合 AI 技術後，手術機器人可進行手術規劃、預測手術風險，並透過回饋數據即時自我學習完善模型。

在實驗動物手術中，特別是在精細操作與微創手術的應用，手術機器人系統已展現出巨大潛力。例如:腦部手術的 Rosa 手術機器人系統，其高精度操作不僅顯著提高手術安全性，還能在極為狹小的空間內，進行精細穩定的操作，如切創、縫合及夾取。

對於腦部手術而言，任一個微小的操作誤差都可能導致嚴重後果，然而機器人系統能提供極高的運動控制精度，並且在反覆操作過程中保持穩定性，從而提高手術成功率；手術機器人系統特別適用於微創手術，能在極狹小的空間內完成精細操作，減少動物因大範圍開創的痛苦，並縮短術後恢復時間。

■ 影像與手術導航技術輔助

術中影像與手術導航技術的發展，使得手術過程中的定位更加精確。以光學導航系統為例，這類系統能夠在手術中實時提供影像引導，並根據實際情況進行動態調整，實現精確導航。對於腦部手術更為重要，因腦部的解剖結構緊密又微小，而手術導航系統能即時提供準確的指引，有效協助執刀者避開高風險區域，防止不必要的腦損傷或嚴重出血。此外，術中的 AR 技術能將虛擬導航信息與實時影像融合，提供直觀的操作提示和引導，從而進一步提升手術的精準度。

■ 理監測與即時數據分析

手術過程中，會對手術動物即時監控心率、血壓、血氧濃度及心電圖，以便即時調整手術或即時用藥，即時數據透過 AI 進行分析，發現異常變化，提前發出警示，並提供適當建議。

七、數位科技在大型實驗動物腦科手術的發展

1. 中大型動物是神經科學研究的關鍵模式

中大型實驗動物，已被認為是神經科學的重要模型，擁有與人類相似的腦部結構和腦體積，為疾病機轉的探索、神經外科手術的發展提供幫助。與小鼠相比，中大型動物的腦結構與灰白質分佈更接近人類，使它們在研究大腦功能及疾病機理具有優勢，由於腦部手術需要的操作精度和安全性不易達成，因此，高精度影像技術和機器人輔助手術系統的引入，能夠幫助解決。

■ 中大型動物腦科手術的挑戰

中大型動物的腦科手術相較小型動物手術更加困難，主因在解剖結構的複雜性高，且精準度要求也高。例如：實驗豬的腦部結構、腦體積及灰白值分佈比例，相較於小型啮齒動物，與人類相近，因此具有較多研究價值。

中大型動物的腦部面積較大，在手術時更需要精確計算與導航，避免手術過程造成嚴重神經損傷，而術後照護因術後康復時間較長，且術後併發症風險較高，如何確保在術中能完成手術、術後能快速恢復，並減少手術的痛苦，是中大型實驗動物在腦科手術的重要課題。

2. 先進數位科技的導入

■ 高階生醫影像技術

在中大型動物的神經外科手術，透過 CT 和 MRI 提供高解析度的非侵入式活體影像，精確腦部的結構性，使術前準確定位以設計最佳的手術。在傳統手術或資源受限的情況下，執刀人員只能依賴書籍、解剖圖譜、動物標本或實際解剖，確定基本解剖結構，實際手術中，腦部的立體定位會面臨困難，尤其是個體間的差異，導致腦立體定位錯誤，影響後續的腦注射或電極植入準確性，導致手術失敗，不僅犧牲實驗動物的生命也增加實驗成本。

■ 神經手術導航手術系統與微創手術

隨神經手術導航、機械手臂系統與微創的發展，這些技術在腦瘤切除、特定腦區消融中得到應用，不僅提高手術成功率，還有效減少手術創傷，降低術後併

發症的風險，縮短術後康復時間。

在實驗動物，這些技術普及程度較低，主要原因是設備的高昂價格，使研究機構無法負擔，實驗動物的手術依賴生醫影像進行路徑計算與規劃，並將其應用於立體定位儀中進行手術。例如：在筆者的實驗豬神經外科手術中，執行立體定位、腦內注射與神經探針植入操作時，會利用 MRI 和 CT 影像進行手工計算與路徑規劃，然後將實驗豬固定於專用的立體定位儀上，以囟門 (Bregma) 為定位原點，進行多角度的精確植入，與啮齒動物的腦定位方式類似。

手工操作存在一定風險，可能因人為疏忽造成定位不精確，導致手術失敗，藉馬達控制的精密 3D，可進行腦立體定位、顱孔開啟和電極緩速植入，降低人為失誤，使中大型動物的神經外科手術更加完善，進一步提升動物福祉。

八、 未來展望與挑戰

目前中大型動物的手術中，臨床的數位科技尚未普及，隨著機器學習和自動化技術的成熟，操作成本逐漸降低，未來全自動手術在實驗動物手術中的應用仍具可行性，這些系統能輔助外科醫師在術前和術中，更準確掌握動物的生理結構與生理數值，甚至可以讓手術機器人自動完成部分或整個手術，確保手術的精確性和最佳化。

通過深度學習，系統能從大量的手術影像中提出最佳操作策略，並將這些策略應用於實際手術中，提高手術成功率並減少風險。數位科技將推動手術的精準化、個體化與自動化，對動物福祉和科學研究產生正面作用。因此，跨領域的合作，特別是生物醫學、數據分析及標準化，是實現技術突破的關鍵。

第四章節 AR/VR 技術於實驗動物替代的實踐

4-1 AR/VR 技術的教育實踐：虛擬動物實驗

一、虛擬實境之技術理論 (Technical Theory of Virtual Reality)

- 1.1 虛擬實境 (VR) 之基本概念與定義 (Basic Concepts and Definitions of Virtual Reality (VR))

- 1.1.1 沉浸感 (Immersion) 、互動性 (Interaction) 與想像力 (Imagination)

虛擬實境 (Virtual Reality, VR) 是一種利用電腦技術創造的模擬環境，使用者可以透過特定硬體設備 (如頭戴式顯示器、追蹤器等) 與虛擬世界互動。沉浸感指使用者進入虛擬環境的程度，受顯示器的視野範圍、解析度、更新率及追蹤系統精準度影響。高度沉浸感能有效隔絕使用者的真實世界感官輸入，使其更投入於虛擬環境中。互動性是一種使用者在虛擬環境中進行任務的能力。透過虛擬實境技術，打破過去真實環境等限制，激發使用者的想像力，帶來不同的可能性。

- 1.1.2 虛擬環境之構成要素 (Components of a Virtual Environment)

一個典型的虛擬環境包含多個關鍵要素，營造沉浸式和互動式的體驗。首先是視覺呈現 (Visual Rendering)，透過電腦圖形技術生成三維 (3D) 的虛擬場景和物件，並透過顯示設備呈現給使用者。其次是聽覺呈現 (Auditory Rendering)，利用空間音訊技術模擬虛擬環境中的聲音，增強臨場感。互動性 (Interactivity) 是虛擬實境的核心，使用者能透過輸入設備 (如控制器、手勢追蹤、語音輸入等) 與虛擬環境中的物件和角色互動，並獲得即時回饋。此外，更先進的虛擬環境還可能包含觸覺回饋 (Haptic Feedback)，透過穿戴式設備或特殊控制器，讓使用者感受到虛擬物體的形狀、紋理、重量，甚至是力量和振動。嗅覺 (Olfaction) 和味覺 (Gustation) 等感官輸入也在某些實驗性虛擬實境系統中被整合，以期提供更全面的沉浸式體驗。這些要素的整合程度和品質直接影響使用者在虛擬環境中的沉浸感和臨場感。

- **1.1.3 擴增實境 (AR)、混合實境 (MR) 與延伸實境 (XR) 之區別與關聯 (Differences and Relationships between Augmented Reality (AR), Mixed Reality (MR), and Extended Reality (XR))**

除了虛擬實境 (VR) 之外，擴增實境 (Augmented Reality, AR) 和混合實境 (Mixed Reality, MR) 也是重要的沉浸式技術。AR 技術將數位資訊或虛擬物件疊加到真實世界的視野上，增強使用者對現實環境的感知。使用者通常透過智慧型手機、平板電腦或特定的 AR 眼鏡來體驗 AR。與 AR 不同，MR 技術更進一步將虛擬物件融入真實世界，允許使用者與這些虛擬物件互動，彷彿它們真實存在於環境中。MR 系統通常需要更先進的硬體設備，如具有空間感知能力的頭戴式顯示器。延伸實境 (Extended Reality, XR) 是一個更廣泛的術語，涵蓋了 VR、AR、MR 及所有介於真實世界和完全虛擬世界之間的沉浸式技術。XR 作為總稱，強調這些技術的共同特性，即透過數位方式擴展或改變使用者對現實的感知和互動方式。在醫學模擬教育領域，XR 被視為一個快速發展的新興領域，涵蓋解剖學教學到手術模擬，擴展到臨床照護等廣泛的應用。

- **1.2 虛擬實境之技術原理 (Technical Principles of Virtual Reality)**

- **1.2.1 硬體設備 (Hardware Devices)**

- **頭戴式顯示器 (Head-Mounted Displays, HMDs)**

頭戴式顯示器是虛擬實境系統中最關鍵的硬體設備之一，通常包含兩個小型顯示螢幕（每個眼睛一個）及光學透鏡，用於將影像放大並投射到使用者的視網膜上，產生立體視覺效果。先進的 HMDs 還配備內建感測器，如陀螺儀、加速計和磁力計，用於追蹤使用者的頭部運動，確保虛擬環境的視角隨著使用者的頭部轉動而即時更新，維持沉浸感。近年來，HMDs 的技術不斷進步，提供極其清晰和逼真的視覺體驗。此外，無線和獨立運作的 HMDs（如 Standalone VR 系列）的出現，大大提升了虛擬實境的便攜性和易用性。

- **追蹤與定位系統 (Tracking and Positional Systems)**

追蹤與定位系統在虛擬環境中自由移動和互動中扮演重要角色。這些系統負責實時追蹤使用者的頭部、手部甚至全身運動，並將這些運動數據傳輸給電腦，以更新虛擬環境的狀態。

態。常見的追蹤技術包括基於外部感測器的光學追蹤、內建於 HMD 的內向外追蹤及電磁追蹤等。更精準和低延遲的追蹤系統能顯著提升虛擬實境的沉浸感和互動體驗，減少暈動症等不適感。

- **人機介面與輸入設備 (Human-Computer Interfaces and Input Devices)**

人機介面讓使用者能夠與虛擬環境進行互動。最常見的輸入設備是手持控制器，通常配備按鈕、觸控板和扳機等，用於進行選擇、移動和操作等動作。觸覺回饋技術讓使用者在虛擬環境中感受到觸摸、壓力、振動等物理感覺，增強沉浸感和互動性。觸覺回饋可以透過多種方式實現，例如手套上的振動馬達、力反饋控制器，甚至是全身穿戴的觸覺服裝。

- **生物感測器在虛擬實境中的應用 (Application of Biometric Sensors in VR)**

生物感測器被整合到虛擬實境系統中，用於收集使用者的生理數據，如心率、呼吸頻率、皮膚電導率等。這些數據可應用於多個方面，例如生物回饋，讓使用者了解自身的生理反應並學習調節。此外，生物數據還可增強虛擬體驗的個人化，系統可根據使用者的情緒狀態或認知負荷動態調整虛擬環境的內容和難度。

- 1.2.2 **軟體與內容開發 (Software and Content Development)**

- **3D 建模與環境建構 (3D Modeling and Environment Construction)**

虛擬環境的建構依賴於 3D 建模技術，專業的 3D 建模軟體用於創造虛擬世界中的各種物件、角色和場景。醫學應用中的模型需要高度精確，例如用於解剖學教學的器官模型，通常基於真實的醫學影像數據進行重建。

- **互動設計與使用者體驗 (Interaction Design and User Experience, UI/UX)**

優良的互動設計應直觀易懂，讓使用者能自然地與虛擬環境互動，而不會感到困惑。人為中心的設計原則強調在開發過程中充分考慮使用者的需求和能力。

- **虛擬實境引擎與開發平台 (VR Engines and Development Platforms)**

是開發互動式虛擬實境內容的核心工具。常見的 VR 引擎（如 Unity 和 Unreal Engine）提供豐富的工具和函式庫，用於處理 3D 圖形渲染、物理模擬、音訊處理等，方便開發者創建複雜的虛擬環境和互動邏輯。

- **1.2.3 感知與心理機制 (Perception and Psychological Mechanisms)**

- **多感官整合 (Multisensory Integration)**

人類感知世界的方式是透過多感官整合，即大腦將來自不同感官的信息整合在一起，形成對環境的統一認識。虛擬實境系統的沉浸感依賴於能否有效模擬並同步不同感官的輸入。

- **注意力與認知負荷 (Attention and Cognitive Load)**

虛擬實境環境對使用者的注意力具有強大的吸引力，Hunter Hoffman 的雪世界 (Snow World) 案例充分展示了 VR 如何將燒傷患者的注意力從劇烈的疼痛中轉移開，從而達到疼痛管理的效果。這種注意力焦點轉移 (Spotlight of Attention) 是 VR 治療潛力的重要機制之一。而過於複雜或不協調的虛擬環境可能導致認知負荷過高，降低學習效率。因此在設計虛擬實境應用時，需平衡資訊的呈現和互動的複雜度，以優化使用者的體驗和學習效果。

- **虛擬化身 (Virtual Avatar)**

是使用者在虛擬環境中的數位分身。可透過虛擬化身的資料庫做選擇外，更可以透過掃描人像建模方式完成。隨著技術的演進，也可以透過一張照片模擬生成虛擬化身，如 VIVERSE 平台，匯入照片之後，平台會依據照片轉化成虛擬化身，再由使用者進行編輯，符合化身的設定。

- 沉浸感與臨場感對使用者行為之影響 (Influence of Immersion and Presence on User Behavior)

高沉浸感和臨場感的虛擬實境體驗顯著影響使用者的行為、認知和情感反應。在高度沉浸的虛擬環境中，使用者更容易產生真實感，並根據環境的規則進行互動。這種真實感使虛擬實境成為強大的訓練和模擬平台，例如在手術模擬中，高臨場感可讓學員更認真對待每次操作，提升訓練效果。同理心機器的概念也基於高臨場感，透過讓使用者體驗他人的處境（如家暴受害者或職場霸凌），改變其認知和態度。但需注意高臨場感可能帶來的負面影響，例如在創傷後壓力症候群 (PTSD) 的治療中，需謹慎控制虛擬暴露的程度，以避免過度情緒反應。

- **1.3 虛擬實境技術之發展趨勢 (Development Trends of Virtual Reality Technology)**

- **1.3.1 硬體技術之進步 (Advances in Hardware Technology)**

- 更高解析度與更新率之顯示技術 (Higher Resolution and Refresh Rate Display Technology)

為了提供更清晰、更流暢的視覺體驗，減少紗窗效應和運動模糊，虛擬實境顯示技術正朝著更高解析度和更高更新率的方向發展。例如，高像素密度顯示器可以提供接近人眼極限的視覺清晰度。更高的更新率可以減少影像延遲，提升反應速度，從而降低暈動症的風險並增強沉浸感。先進的顯示技術，如微型 OLED 和 MicroLED，有望在未來實現更小巧、更輕便、更高效能的虛擬實境顯示器。

- 更精準與輕便之追蹤系統 (More Precise and Lightweight Tracking Systems)

更精準和更輕便的追蹤系統是提升虛擬實境使用者體驗的關鍵技術。無線的內向外追蹤技術正在變得越來越成熟，它無需外部感測器即可實現較為精確的頭部和手部追蹤，大幅簡化了使用流程並提高了移動自由度。未來的追蹤系統可能會整合多種感測技術，如慣性測量單元、光學感測器和超聲波感測器，以實現更全面和更精確的全身追蹤。

- 更細膩之觸覺與其他感官回饋（如嗅覺和味覺）的技術發展

將使虛擬實境體驗更加真實和引人入勝。產業研究人員正在探索各種觸覺回饋機制，例如利用微流體、超音波和電刺激等技術，模擬更複雜的觸覺感受，如紋理、溫度和壓力。雖然嗅覺和味覺回饋的技術仍處於早期發展階段，但它們在某些特定應用（如森林療癒、美食體驗或危險氣體洩漏模擬）中具有巨大的潛力。

○ 1.3.2 軟體與應用之拓展 (Expansion of Software and Applications)

- 人工智慧 (AI) 在虛擬實境中的整合與應用 (Integration and Application of Artificial Intelligence (AI) in Virtual Reality)

人工智慧正逐漸融入虛擬實境技術，帶來更強大的功能和應用。AI 代理 (AI Agents) 作為虛擬環境中的智慧角色，能與使用者進行自然語言互動，提供真實的社交體驗和互動式學習。AI 醫療模擬根據學習者的互動動態調整情境，提供個人化的回饋和學習內容。自然語言處理 (Natural Language Processing, NLP) 技術使使用者能通過語音與虛擬環境交互。電腦視覺 (Computer Vision) 實現更精確的手勢追蹤和環境理解。生成式 AI (Generative AI) 能根據簡單提示或 2D 圖像創建整個虛擬世界，簡化內容創建過程。

- 醫療延伸實境 (Medical Extended Reality, MXR) 之發展 (Development of Medical Extended Reality (MXR))

醫療延伸實境 (Medical Extended Reality, MXR) 已成為一個受到監管機構認可的獨立醫療領域。MXR 涵蓋了 VR、AR 和 MR 在醫療保健領域的各種應用，包括醫學教育、診斷、治療和復健等。

- 元宇宙 (Metaverse) 概念及其在醫學教育之潛力 (The Concept of Metaverse and Its Potential in Medical Education)

元宇宙 (Metaverse) 結合了 AI 和 XR 技術，讓使用者在一個持久的、多人同時在線的虛擬環境，提供強烈的臨場感及互動性。在醫學教育 (Medical Metaverse) 領域，元宇宙可提供革命性的學習體驗。它可以實現逼真的醫療情境模擬，

讓學生在安全可控的環境中練習各種程序和決策。AI 賦能的元宇宙更可以提供自適應的學習、個人化的回饋和動態的學習內容。此外，元宇宙還可以促進全球醫學生、教育者和專業人士之間的合作與知識交流。

二、虛擬實境之實務應用 (Practical Applications of Virtual Reality)

• 2.1 虛擬實境在醫學教育與訓練之應用 (Applications of Virtual Reality in Medical Education and Training)

○ 2.1.1 解剖學教學與學習 (Anatomy Teaching and Learning)

- 3D 器官模型與結構探索 (3D Organ Models and Structural Exploration)

虛擬實境技術為**解剖學教學**帶來革命性改變。傳統解剖教學依賴屍體解剖，成本高、重複使用性差，且存在健康和倫理問題。**3D Organon** 等 XR 應用提供詳細且互動的 3D 人體解剖模型，學生可以自由探索複雜結構，這在傳統屍體解剖中難以實現。**LlamaZOO 的 JetsonVR** 展示犬類解剖的 VR 體驗，使用者可抓取和分解每一個解剖結構，並獲取相關資訊。這些 VR 應用不僅提高學習興趣和參與度，還有助於學生更深入理解解剖學概念。

- 虛擬解剖與手術模擬 (Virtual Dissection and Surgical Simulation)

VR 技術不僅能探索完整的解剖結構，還可進行虛擬解剖和手術模擬。學生可以在虛擬環境中重複進行解剖練習，熟悉人體結構的空間關係，而無需擔心損壞真實屍體。**VR 手術模擬器**，如 FundamentalVR 等平台，提供逼真的手術操作環境，學員可在無風險的環境中練習各種手術程序，提高操作技能和信心。這些模擬器通常包含觸覺回饋，以模擬手術中的組織阻力。研究證明 VR 手術模擬能有效提升外科醫生的手術表現，未來可擴展至獸醫等相關應用。

- 醫學影像可視化 (Medical Image Visualization)

如前所述，VR 技術能將傳統的二維醫學影像轉換為沉浸式三維模型，提供直觀的**醫學影像可視化**體驗。這對診斷、手

術規劃和患者或飼主溝通非常有價值。醫生和獸醫可利用 VR 模型更清晰地觀察病灶位置、大小及與周圍組織的關係，從而制定更精確的治療方案。在手術規劃方面，VR 幫助外科醫生術前預覽手術過程，選擇最佳手術入路。

○ 2.1.2 臨床技能訓練 (Clinical Skills Training)

▪ 手術程序模擬與練習 (Simulation and Practice of Surgical Procedures)

手術程序模擬與練習是 VR 在醫學教育中最成功的應用之一。VR 手術模擬器能模擬各種複雜的手術程序，如腹腔鏡手術、骨科手術和心血管手術等。以 Virti 為例，教師可利用 360 攝影機拍攝環景及特寫部位製作教材，學員在模擬器中反覆練習關鍵步驟，熟悉手術器械的使用，並學習應對突發情況。模擬器通常提供即時反饋，幫助學員了解操作的正確性，有效縮短學習曲線，提高在真實手術中的表現。

▪ 診斷與決策制定訓練 (Diagnosis and Decision-Making Training)

VR 技術被應用於**診斷與決策訓練**。教師可利用 VR 虛擬病人平台創建虛擬病人，學員與這些病人互動，詢問病史、進行體檢，並根據收集的資訊做出診斷和治療決策。這些虛擬病人可由 AI 驅動，提供更真實的互動體驗。系統根據學員的決策提供反饋，幫助提高臨床推理能力。傳統的 OSCE (Objective Structured Clinical Examination) 在評估診斷推理等認知技能方面存在局限性，而 VR 模擬提供了更安全的環境，讓學員練習診斷技能，並允許系統深入評估其決策過程。

▪ 病人互動與溝通技巧訓練 (Patient Interaction and Communication Skills Training)

良好的**病人互動與溝通技巧**是醫護人員的核心能力。VR 技術提供了一個練習這些軟技能的理想平台。例如，Virti 平台利用 AI 驅動的虛擬人類，創建逼真的角色扮演情境，讓學員練習與不同類型的病人（包括“困難溝通病人及飼主”）溝通，學習表達同理心、進行共享決策和處理衝突。系統記錄學員的互動過程，並提供基於數據的客觀評估。這種沉浸式

練習有助於提高學員的溝通信心和應對真實臨床情境的能力。

- 緊急應變與團隊合作訓練 (Emergency Response and Team Collaboration Training)

VR 技術適合用於**緊急應變與團隊合作訓練**。像 Lumeto 和 Oxford Medical Simulations 這樣的平台可以模擬自然災害、大規模傷亡事件或醫院內的突發醫療狀況等。醫護人員可以在虛擬環境中練習應急響應流程、溝通協作和決策制定，而無需面臨真實風險。VR 還可以模擬跨專業團隊的合作，提高團隊成員之間的協調和溝通效率。

○ 2.1.3 病患教育與溝通 (Patient Education and Communication)

- 疾病機制與治療方案之視覺化呈現 (Visualization of Disease Mechanisms and Treatment Options)

VR 技術有效地**視覺化疾病機制和治療方案**，幫助患者理解健康狀況。例如，Aspertar 的 VR Patient Education Clinic 可以模擬疾病影響並展示手術過程。研究顯示如何利用 VR 向 HIV 感染者展示病毒在體內的運作及藥物的作用機制，從而提高用藥依從性並降低病毒載量。這種沉浸式體驗比傳統的書面材料或口頭解釋更易於理解和記憶。

- 提升病患參與度與依從性 (Enhancing Patient Engagement and Compliance)

透過提供更直觀和引人入勝的資訊，VR 顯著**提升病患的參與度和依從性**。當患者親身體驗疾病影響或治療過程時，他們更可能積極參與健康管理。例如，Dr. Bernice Coleman 的研究利用 VR 幫助教區居民了解飲食中鹽分的來源及高血壓對身體的影響，並鼓勵他們改變飲食習慣，結果顯示參與者的收縮壓顯著降低。

- XR 作為照護者的支持工具 (XR as a Support Tool for Caregivers)

XR 技術可作為**照護者的支持工具**。透過 VR 模擬，照護者能更好理解被照護者的感受和需求，例如體驗失智症患者的視角。此外，VR 還能為照護者提供培訓，幫助他們學習照護技能和應對挑戰。遠程 XR 諮詢為照護者提供了便捷的專業支持和指導途徑。

- **2.2 虛擬實境在實驗動物替代方案之理論基礎 (Theoretical Basis of Virtual Reality in Animal Experimentation Alternatives)**

- **2.2.1 模擬真實生物系統與反應 (Simulating Real Biological Systems and Responses)**

- **生理結構與功能之虛擬模型 (Virtual Models of Physiological Structures and Functions)**

虛擬實境技術的核心優勢在於**模擬真實生物系統與反應**的能力，為實驗動物替代方案提供扎實的理論基礎。透過高精度的 3D 建模，可以創建**生理結構與功能的虛擬模型**，例如犬類的詳細解剖模型，展示器官形態、組織結構及其空間關係，為生理學、藥理學和毒理學的研究與教學提供可視化工具。

- **藥物或刺激之虛擬反應模擬 (Virtual Simulation of Drug or Stimulus Responses)**

除了靜態結構模型，VR 還能**模擬藥物或刺激在生物體內的反應**。藉助生物物理模型和計算模擬，可以在虛擬環境中預測藥物與細胞、組織及器官的相互作用，以及不同刺激引起的生理和病理變化。這種**虛擬實驗**幫助研究人員在實際動物實驗前探索不同的實驗參數和預測結果，從而減少對動物的需求。

- **疾病進程與病理變化之虛擬呈現 (Virtual Representation of Disease Progression and Pathological Changes)**

VR 技術可以**虛擬呈現疾病進程和病理變化**。例如，創建模型展示腫瘤生長、感染發展或組織病理改變。這對醫學教育和藥物開發具有重要意義，學生可以在沉浸式環境中觀察疾

病發生與發展，研究人員則可利用這些模型測試新的治療策略。

○ 2.2.2 提供重複練習與多樣化情境 (Providing Repeated Practice and Diverse Scenarios)

- 克服動物實驗之倫理與成本限制 (Overcoming Ethical and Cost Limitations of Animal Experiments)

相較於動物實驗，VR 技術作為替代方案顯著克服倫理和成本限制。動物實驗需遵守嚴格的倫理規範，而 VR 模擬避免使用真實動物，符合 3R 原則（取代、減量、精緻化）及 4R 原則（負責）。此外，維護實驗動物的成本高，VR 模擬一旦開發完成可無限重複使用，顯著降低實驗成本。

- 提供可控且標準化之實驗環境 (Providing a Controllable and Standardized Experimental Environment)

VR 環境提供**可控且標準化**的實驗條件。在虛擬實驗中，所有變數都可精確控制，輕鬆重複相同的實驗條件，有助於提高結果的可重複性和科學性。而在動物實驗中，由於個體差異和環境因素影響，難以實現完全標準化的實驗條件。

- 允許無風險之錯誤學習與探索 (Allowing Risk-Free Error Learning and Exploration)

在 VR 模擬中，學習者可以在**無風險**的環境中操作和探索，即使犯錯也不會對生物體造成傷害，這為學習和技能提升提供了更大的自由度和安全性。例如，在虛擬手術訓練中，學員可以大膽嘗試不同的操作技巧，從錯誤中學習，直到完全掌握。

○ 2.2.3 提升學習動機與效果 (Enhancing Learning Motivation and Effectiveness)

- 互動性與沉浸感促進學習參與 (Interactivity and Immersion Promote Learning Engagement)

VR 技術的**互動性**和**沉浸感**顯著**促進學習參與**。相較於傳統書本或講述式教學，VR 提供的沉浸式體驗更能吸引學習者注意力，激發學習興趣和主動性。互動操作和即時回饋使學習過程更加生動有趣。

- 即時回饋與績效追蹤 (Real-Time Feedback and Performance Tracking)

VR 模擬系統提供**即時回饋**，幫助學習者了解操作的正確性及改進之處。此外，系統可**追蹤學習者的績效**，記錄準確性、速度和效率等指標，並提供個人化的學習建議和評估，以達到精準學習(Precision Education)。

- 客製化與適性化學習內容 (Customized and Adaptive Learning Content)

基於 AI 技術的 VR 學習平台可以根據學習者的進度和表現，**客製化和適性化**學習內容。系統可調整難度，提供針對性的練習和回饋，以滿足不同學習者的需求，提升學習效率。

- **2.3 虛擬實境在實驗動物替代之潛在應用領域 (Potential Application Areas of Virtual Reality in Animal Experimentation Alternatives)**

- **2.3.1 藥理學與毒理學研究 (Pharmacology and Toxicology Research)**

- 藥物作用機制之虛擬模擬 (Virtual Simulation of Drug Action Mechanisms)

VR 可以創建藥物與靶點分子、細胞和組織相互作用的**虛擬模擬**，幫助研究人員理解藥物的作用機制，加速藥物開發並減少早期對動物實驗的依賴。

- 藥物代謝與毒性反應之預測 (Prediction of Drug Metabolism and Toxic Reactions)

結合計算模型和 VR 技術，可以**預測藥物的代謝途徑和潛在毒性反應**。研究人員可在虛擬環境中觀察藥物在體內的分解、轉化和排泄過程，以及對不同器官和組織的不良影響，從而篩選出更安全有效的候選藥物，減少動物實驗的需求。

○ 2.3.2 **生理學教學與實驗 (Physiology Teaching and Experiments)**

- 心血管系統、神經系統等生理過程之虛擬展示 (Virtual Demonstration of Physiological Processes such as Cardiovascular and Nervous Systems)

VR 可以展示心血管系統、神經系統等複雜生理過程。學生可在沉浸式 3D 環境中觀察心臟跳動、血液流動和神經信號傳遞，這比傳統圖文描述更生動，有助於深入理解生理學原理。

- 虛擬生理實驗操作與數據分析 (Virtual Physiological Experiment Operation and Data Analysis)

VR 可以模擬各種生理實驗操作，如肌肉收縮和神經電生理實驗。學生可在虛擬實驗室中操作儀器，記錄和分析數據，學習科學研究方法，而無需使用真實動物。

○ 2.3.3 **手術技能訓練與評估 (Surgical Skills Training and Evaluation)**

- 針對特定動物模型之手術步驟進行虛擬訓練 (Virtual Training for Surgical Procedures Targeting Specific Animal Models)

VR 手術模擬器針對特定**動物模型**開發手術訓練模組，如小鼠和大鼠手術。研究人員和獸醫學生可在虛擬環境中練習手術步驟，熟悉解剖結構和手術技巧，提高操作熟練度和成功率，減少對真實動物的需求。VR 系統還能提供客觀的手術操作評估，包括時間、精確度和錯誤次數等指標。

○ 2.3.4 **動物行為學研究 (Animal Behavior Research)**

- 建構虛擬動物棲息環境以觀察行為 (Constructing Virtual Animal Habitats to Observe Behavior)

VR 可以**建構虛擬動物棲息環境**，研究人員可在其中觀察動物行為反應。這些環境能精確控制光照、溫度、食物和社交

互動等因素，以研究這些因素對動物行為的影響，避免在真實環境中觀察時可能出現的干擾和倫理問題。

- 模擬不同環境刺激對動物行為之影響 (Simulating the Impact of Different Environmental Stimuli on Animal Behavior)

VR 技術可以模擬不同的環境刺激，如捕食者的出現、社交群體的變化或壓迫性環境，並觀察動物的行為反應。這有助於研究動物的應激反應、逃避行為和社會互動，而無需對真實動物施加壓力或危險。

- **2.4 導入虛擬實境替代方案之考量與挑戰 (Considerations and Challenges of Implementing Virtual Reality Alternative Solutions)**

- **2.4.1 技術可行性與精確度 (Technical Feasibility and Accuracy)**

- 虛擬模型之生物真實性與有效性驗證 (Biological Realism and Validity Verification of Virtual Models)

導入 VR 作為實驗動物替代方案的關鍵挑戰之一是確保虛擬模型的生物真實性和有效性。虛擬模型需準確反映真實生物系統的結構、功能和反應，才能成為可靠的替代工具。因此，需要進行嚴格的驗證研究，將 VR 模擬結果與真實生物實驗結果比較，以評估其有效性。

- **2.4.2 倫理與法規考量 (Ethical and Regulatory Considerations)**

- 資料隱私與安全性 (Data Privacy and Security)

在使用 VR 技術進行教學、研究或臨床應用時，資料隱私與安全性是重要的倫理和法規考量。VR 系統可能收集使用者的生理數據、行為數據和個人資訊，這些數據需妥善保護，防止未經授權的存取和濫用，並需遵守相關的數據保護法規，例如 GDPR 和 HIPAA。

- 虛擬實境技術之濫用風險 (Risk of Misuse of Virtual Reality Technology)

任何強大的技術都存在被濫用的風險。VR 技術可能被用於不道德的目的，例如創建高度真實感的暴力或歧視性內容，

或進行心理操縱。因此，需要制定相應的倫理準則和監管措施，以規範 VR 技術的開發和使用，確保其促進人類和動物福祉。

○ 2.4.3 經濟成本與可及性 (Economic Costs and Accessibility)

- 硬體設備與軟體開發之成本效益分析 (Cost-Benefit Analysis of Hardware Equipment and Software Development)

導入 VR 技術需要一定的經濟投入，包括硬體設備的採購和軟體內容的開發。雖然長期來看，VR 可以降低動物實驗成本，但在初期階段需要進行成本效益分析，評估其經濟可行性。開發高品質的 VR 模擬需要專業技術和時間投入，這也會產生相應的成本。

- 技術普及與教育訓練之推廣 (Promotion of Technology Popularization and Education Training)

為了讓 VR 技術廣泛應用於實驗動物替代領域，需要加強教育訓練。研究人員、教育者和技術開發人員需相互合作，推動 VR 技術的應用。同時，需為使用者提供充分的培訓和技術支援，使其熟練使用 VR 設備和軟體。

○ 2.4.4 使用者接受度與學習曲線 (User Acceptance and Learning Curve)

- 教育者與學習者對虛擬實境之認知與態度 (Educators' and Learners' Perceptions and Attitudes towards Virtual Reality)

教育者和學習者對 VR 的認知和態度直接影響其在實驗動物替代方案中的接受度。一些人可能對新技術持懷疑態度，認為 VR 模擬無法完全取代真實的動物實驗。因此，需要加強 VR 技術的宣傳和教育，展示其優勢和潛力，消除疑慮，提高使用者的接受度。

- 虛擬實境系統之易用性與操作性 (Usability and Operability of Virtual Reality Systems)

虛擬實境系統的易用性和操作性對使用者體驗至關重要。如果 VR 系統操作複雜、介面不友好，使用者可能會感到沮喪，

降低使用意願。在開發 VR 應用時，需注重使用者介面的設計，使其直觀易懂、操作便捷，並提供清晰的使用指南和技術支援。**使用無需程式碼 (No-code)** 的 VR 開發工具可以降低技術門檻，讓更多教育者和研究人員創建自己的 VR 內容。

三、總結

虛擬實境技術在實驗動物替代方案領域展現巨大潛力。隨著技術進步和跨學科合作，將開發出更精確、更有效、更符合倫理的 AI 及 XR 模擬工具，為科學研究和教育帶來突破，達成 4R 目標。

4-2 虛擬與增強實境技術在替代研究中的潛力

4-2-1 虛擬實境之動物替代教案展示(1)隔離操作技術-

教案一、隔離操作技術教案

2022 年 5 月，科學研究指標期刊《科學》(Science) 封面刊登了 “THE SYSTEMIC MICROBIOME - How diverse microbial communities influence health and disease。” (圖 1) [1] 顯示體內微菌與人類健康及疾病的研究已成為顯學。近年來，關於腸道微菌-腸道-大腦軸線 (microbiota-gut-brain axis) 的研究證明，微菌在宿主腸道中共生形成「屏障 (Barrier)」，並通過其獨特的基因組和代謝環境中的小分子訊號物質 (如短鏈脂肪酸) 進入大腦，影響全身訊號傳導。此外，新證據支持腸道微菌與人體各器官之間的互動關係。支持體內微菌研究的關鍵技術為「無菌動物模式 (germ-free animal model)」，主要使用大鼠和小鼠在「隔離操作箱 (Isolator)」中進行相關研究。

與一般在動物房中飼育的「無特定病原 (specific pathogen free, SPF) 實驗鼠」不同，於隔離操作箱中產製的「完全無菌 (germ-free) 鼠」技術包括出生無菌化、飼育及微菌研究試驗。操作技術需具備無菌操作、動物飼育、動物試驗及手術等能力，並克服在有限空間內的挑戰。操作人員需戴著三層手套——丁腈橡膠手套、與操作箱氣密連結的隔離手套及防咬手套，執行所有工作，同時確保無菌環境。此技術的門檻及設備要求較高，若能使用虛擬實境進行操作，有助於一般民眾及基本教育訓練的體驗，提高對此技術的理解。

本教案由財團法人國家實驗研究院國家生物模式中心(前為國家實驗動物中心)的同仁共同製作。透過工作經驗分享，規畫並操作實際設備，打造出適用於一般大眾的科普參訪及校園「動物實驗 3R 原則」推廣的教案，也可用於專業技術的初階教育訓練，提供學員沉浸式的學習體驗。

一、教學目標

本教案旨在讓一般大眾及初階學員認識隔離操作箱技術，學習正確的操作觀念，並了解實驗動物的基本照護及試驗方式。學員可觀察操作過程，如同一對一指導，透過模擬操作習得必要知識及技能。

二、影片設計

1. 拍攝重點

本次拍攝重點放在隔離操作箱中的常用技術，如換籠、糞便採檢、管餵、剪毛及顏面採血等。若僅以第三者方式觀看，會產生旁觀者的疏離感。因此，我們採用第二人稱的拍攝方式，讓學員如同一對一接受訓練，增強實習的真實感。畫面中，操作人員與學員隔著透明操作箱，強調技術操作與一般動物房相同，但因為隔著操作箱及專用手套，增加了操作的困難，模擬真實的沉浸感。

僅以 VR 拍攝影片無法呈現隔離操作實驗室的整體樣貌及試驗原理，且故事性不足，顯得枯燥。本教案使用財團法人國家實驗研究院與東臺傳播公司合作製作的紀錄片《永不妥協-實驗室的挑戰故事》中有關隔離操作箱技術的片段作為導入。隨著研究人員介紹實驗室及技術，360 度實景拍攝的操作影片與劇情剪接在一起，讓學員更深入了解教學體驗的目的。

為符合動物實驗 3R 原則，避免不必要的犧牲，本次拍攝未使用活體實驗動物，而是以尺寸類似的模型鼠（仿生教材）作為替代。為讓學員看到真實實驗現場，我們使用實驗現場照片作為輔助熱點和資訊框。

同時，為增加互動性，我們加入了問答環節，透過題目反饋增進學員對技術的了解。整體影片設計將 2D 紀錄片及 360 度實景影片結合，推展劇情並示範技術，除了帶來 VR 的沉浸感，還提供學員平時不易見到的特殊實驗技術體驗。

2. 材料與方法

本教案使用具有 360 度實景影像拍攝能力的 HTC Insta360 X4 攝影機，紀錄操作手勢、實驗用品及籠架，並展示隔離操作箱內的封閉感。我們以操作者對面的第二人稱視角拍攝，實現完整的沉浸式體驗。

在剪輯及後製階段，使用 Virti 教案製作平台，整合影像並加入熱點、資訊點及問答框，增強教案的記憶點和 VR 影像的深入體驗。

影片製作成可用 VR 頭盔（HTC VIVE Focus 3）觀看的檔案，結合虛擬實境技術，讓民眾有更互動且身歷其境的科學技術操作體驗，促使民眾更貼近實驗動物科學，同時替代動物使用，達成動物實驗 3R 原則中的替代（Replacement）目的。



完整
導覽

3. 教案內容與腳本

幕次	場次	場景	劇情內容
第 1 幕	紀錄片段 1： 畫面由國家生物模式中心黃彥智博士走進隔離操作實驗室區域開始，介紹無菌隔離操作箱(簡稱隔離泡泡)可以模擬動物的子宮狀態，畫面帶到正壓及負壓隔離操作箱，畫面停留在「無菌鼠」。		
	1-1	資訊框	說明：隔離操作箱實驗室的潔淨度管制在箱內，故操作人員的服裝僅需外著實驗衣。
	1-2	熱點	圖片 1：每個隔離操作箱都是一個獨立空間
	1-3	熱點	圖片 2：正壓隔離操作箱
	1-4	熱點	圖片 3：負壓隔離操作箱
	1-5	熱點	文字：懷孕母鼠在手術台上以帝王切開術摘除子宮，並將子宮頸及子宮角以血管夾夾住後，經過滅菌藥水送到隔離操作箱中復甦，再傳送到隔離操作箱內靠無菌孕母照顧長大。
	1-6	熱點	圖片 4：無菌小鼠產出復甦
	1-7	問答	問題：以下為正壓隔離操作箱描述，何者錯誤？ 答題選項及解答回饋： a. 空氣流動方向，由內向外。(解答回饋：這是對的喲! 另由於向內吹入乾淨空氣大於吸出的空氣所以泡泡會胖胖的) b. 裡面是無菌動物或是已知菌動物。(解答回饋：這是對的喲!) c. 因環境已非常乾淨不需消毒。(解答回饋：錯! 因環境是乾淨的，所以需要進入的物料一定要滅菌消毒)
1-8	資訊框	文字：接下來讓我們用 360 度視角觀看如何換籠吧!	
第 2 幕	實境技術操作 1：換籠 換籠是飼育實驗動物最基本的工作。在隔離操作箱內採用開放式飼育籠，畫面中可以看到專業人員隔著「泡泡」，並戴著 3 層手套，將實驗鼠換到乾淨籠具的操作。		
	2-1	資訊框	文字：隔離操作箱的操作，要先戴上乳膠手套後，再套上較大的操作手套，手感跟一般在實驗室操作差別非常大，有些還要戴上第三層防咬手套防止被老鼠咬破手套。
	2-2	資訊框	文字：實驗人員正在隔離操作箱內幫老鼠換籠。

	2-3	熱點	圖片 5：換籠補水的方式
	2-4	資訊框	文字：溫柔的用鑷子夾取尾巴根部幫老鼠換房間。
	2-5	資訊框	文字：這樣就完成換籠囉!
第 3 幕	紀錄片段落 2： 畫面帶到專業人員在負壓隔離操作箱內執行試驗，內有以開放式飼育籠飼育的小鼠，並搭配說明小鼠為了維持全身無菌狀態住在「泡泡」裡，任何的觀察、傳遞、投藥都必須透過隔離手套進行操作。		
	3-1	資訊框	文字：隔離操作箱內使用開放式籠具
	3-2	資訊框	文字：接下來讓我們用 360 度的視角觀看如何投藥及進行相關試驗。
第 4 幕	實境技術操作 2：剪毛 隔離操作箱中所有設備皆需消毒滅菌後始能進入，一般試驗前需幫動物剃毛的電動剃毛剪無法進入，故僅能用剪刀幫動物剃毛。畫面中可看到先將老鼠保定後，再仔細剃毛，透過 3 層手套以及隔離泡泡，使用手術剪執行，完成後再將老鼠放回籠內，完成剪毛技術。		
	4-1	資訊框	文字：一些試驗須將老鼠剃毛之後執行，但在隔離操作箱內無法保證電剪消毒是否徹底，故以剪刀代替，戴著三層手套保定動物後剪毛可是一門功夫。
	4-2	熱點	圖片 6：試驗前剪毛
	4-3	熱點	圖片 7：剪完毛就可以在該處消毒執行注射等試驗。
第 5 幕	實境技術操作 3：顏面採血 實驗小鼠有數種採血方式，惟在隔離操作箱內，我們評估技術難度且須建立標準化流程，故採取顏面採血的方式執行。畫面中可以看到專業人員將老鼠保定後，快速的以採血針及微量試管取得血液樣本。		
	5-1	資訊框	文字：在隔離操作箱內，試驗採血會採顏面採血的方式。
第 6 幕	紀錄片段落 3： 黃博士說明無特定病原鼠及完全無菌鼠的差異，並與專業人員在操作箱內為小鼠換籠、管餵畫面切換。		
	6-1	資訊框	文字：現在進行的是換籠
	6-2	熱點	文字：這是 B6 小鼠
	6-3	資訊框	文字：現在進行的是管餵
	6-4	資訊框	文字：取糞便，主要用以檢測腸道微生物。
	6-5	問答	問題：無特定病原菌鼠跟無菌鼠以下敘述何者錯誤?

			<p>答題選項及解答回饋：</p> <p>a. 無特定病原菌鼠身上依然帶有細菌等微生物存在，只是沒有不想要的特定病原菌存在（解答回饋：這是對的喲!）</p> <p>b. 無菌鼠身上無法以目前已知方法培養出各種微生物，故稱無菌鼠。（解答回饋：這是對的喲!）</p> <p>c. 以上皆非（解答回饋：錯! 雙重否定才是對的）</p>
第 7 幕	<p>實境技術操作 5：糞便採檢</p> <p>要確認無菌鼠是否無菌，或是取出試驗鼠的檢體，都是要靠糞便採檢這項技術，畫面中可以看到技術人員將老鼠從籠內取出，保定後，將無菌試管放在肛門處取得糞便檢體，之後可將檢體做相關體外試驗。</p>		
	7-1	資訊框	<p>文字：將老鼠取出保定後，將尾巴拉高，無菌試管放在肛門處即可刺激老鼠，以取得糞便。</p>
第 8 幕	<p>實境技術操作 6：管餵</p> <p>無菌鼠可以藉由管餵將已知微菌或其他來源的糞便接種細菌至體內成為特定菌相的動物模式，管餵是常見的動物試驗技術，而在畫面中可以看到管餵難度也是因隔著泡泡以及手套而提高。</p>		
	8-1	熱點	<p>圖片 8：管餵</p>
	8-2	資訊框	<p>文字：若要將無菌鼠接種已知菌，或是糞菌移植 (FMT) 將以管餵方式進行。</p>
第 9 幕	<p>紀錄段落 4：</p> <p>無菌鼠的應用包含代謝症候群及發現對於重大疾病患者有幫助的微生物，畫面有微菌治療前後的差異，並說明：「希望，就在這些老鼠的身上。」作為本教案之結尾。</p>		
	9-1	資訊框	<p>文字：這是大鼠</p>
	9-2	資訊框	<p>文字：可以看到長腫瘤的腸道利用益生菌獲得改善，腸癌消失</p>
	9-3	資訊框	<p>文字：這是小鼠</p>
	9-4	問答	<p>問題：為了體內微菌研究需要建立「無菌鼠動物模式」，而不能直接從人體研究的原因為何?(複選題)</p> <p>答題選項及解答回饋：</p> <p>a. 法律規定為保護人類，在藥物測試階段，需先經過體外(<i>in vivo</i>)細胞測試及動物實驗。（解答回饋：這是對的喲!）</p> <p>b. 人體研究的實驗對照組較難定義，如須研究飲食與腸道菌相的關係要找一定數量以上的同卵雙胞胎始能排除先天基因影響。（解答回饋：這是對</p>

			<p>的喲!)</p> <p>c. 人類腸道無法變成無菌環境，既有一定的失敗率與副作用，不易成功 (解答回饋：這是對的喲!)</p> <p>d. 實驗動物模式的特性之一是可以標準化飼養，可將腸道菌研究的飲食變因控制住。(解答回饋：這是對的喲!)</p>
--	--	--	--

三、拍攝過程的挑戰與解決方案

團隊在決定拍攝主題後，面臨 360 度實景攝影機位置及拍攝地點的挑戰。我們首先在測試階段向臺灣大學實驗動物資源中心借用不銹鋼製隔離操作箱進行試拍。由於操作面為透明塑膠，我們嘗試在箱外、雙層門中間及操作箱內以第一人稱和第一人稱角度拍攝。發現隔離操作箱內部空間受限，外部拍攝無法捕捉手部動作，而雙層門會使畫面模糊。使用第一人稱角度時，操作人員執行動作困難，因此改用第一人稱拍攝，這樣可以感受 360 度實景視角，避免身體遮蔽。

我們原本想使用透明軟質塑膠的隔離操作箱拍攝無菌鼠實驗，但因攝影機需進出，使用真實動物會違反 3R 原則，且破壞無菌狀態，影響研究執行。因此，我們利用國家生物模式中心科普基地的隔離操作箱拍攝此次教案的所有畫面。

由於團隊成員首次使用 360 度實景攝影機，在有限的拍攝時間內，最終成果相當可觀。然而，使用 VR 頭盔觀看時，視角偏高。攝影機原本架設在操作人員對面的胸口位置，但 360 度影像的空間放大感使得要仔細觀察操作手法，攝影機應架設在手的正前方，以減少變形並獲得更清晰的畫面。藉由此次教案的製作，團隊累積了拍攝技巧，未來可持續優化並加入更多相關資訊，以提升教案品質與學習效果。

四、教學成效回饋與討論

根據過去與民眾互動的經驗，我們常以平面設計結合實體實驗器材或替代品展出，旨在向民眾普及科學技術。微菌研究在平面展覽中可透過圖文說明，但實際技術操作對非生醫相關領域的民眾來說較為抽象且難以理解。我們曾將實體隔離操作箱置於展區，或製作壓克力手套箱讓民眾在內部佈置鼠籠或摺紙，但一般民眾仍難以理解我們的工作及其意義。

藉由本次虛擬實境教案，我們於 113 年邀請 18 位全國高中及國中自然科教師體驗，透過虛擬實境影像取代實際操作，教師們不僅覺得新奇，還回饋本教案能提高校園對實驗動物科學及動物福祉的認知，並節省運送真實設備的成本，降

低設備損壞的風險。學員可透過 VR 裝置直接進入實驗現場，跟隨技術人員使用隔離操作箱，並輔以 2D 影片介紹技術，活潑的操作使學員更易理解技術貢獻，符合動物實驗 3R 原則，讓科學更貼近民眾。

本教案也提供實驗動物專業同仁體驗，回饋可作為隔離操作基礎訓練之一，先透過影像模擬提示，再搭配實驗桌操作，待熟練後再進行實際環境訓練，降低人力及時間成本。

綜上所述，以 VR 技術製作隔離操作技術影片，無需直接接觸動物，避免動物犧牲，推廣動物實驗 3R 原則，實現「替代」動物使用、「優化」教育訓練及「減量」使用動物的學習環境。對非專業大眾提升研究技術的趣味性，專業人員的教育訓練也可讓新手熟悉實驗環境及基本技術，透過 VR 影片的提醒與測驗，彌補 VR 設備缺乏真實操作感的不足，增加影像互動性。

五、未來應用的可行性探討

虛擬實境應用於實驗動物操作領域是一項全新的體驗，在替代實際操作訓練或是科普推廣上，都可增加效益。在技術訓練上，可以先行帶給初學人員環境及操作的概念，先以 VR 觀看操作後，再以用於仿生教材上，皆熟練後最後才可接觸動物，可以真正的減少在教育訓練上動物的使用；而在科普活動上對於就學階段的學生、一般社會大眾，可以利用 VR 的沉浸式體驗，讓人們像在真正的實驗室中操作實驗，獲得具有科學性的樂趣。

惟本教案所產生的虛擬實境須依賴 VR 頭盔的使用，一次僅一人可體驗，並有操作的入門操控需補充教學，且搖桿操作缺乏真實手感，在技術訓練許多細緻的觸覺是無法反饋，仍續輔以仿生教材熟悉操作；而 VR 頭盔成本高昂，較不適合於全齡且人數眾多的大眾科普展覽環境中使用。裸視 3D 或是加入現場布置的 AR、XR 等體驗也許是於人多的技術實習場域或未來展場可行的方式之一，也可提供線上展覽，讓科普展覽不僅於線下，也能提供給線上大眾體驗，讓科學展覽不僅被動等待民眾進入，而是走進民眾家中。

六、結論

我們一直努力落實動物實驗 3R 原則。本次製作的虛擬實境教案展示了數位科技在生醫領域的另一種可能。透過虛擬實境技術，學員能反覆練習虛擬操作，達到學習效果，同時降低實驗動物的使用。在實驗動物科學普及教育展覽或校園推廣生命教育時，虛擬實境可將實驗室帶入展覽場域或校園，提高活動的科學性和趣味性。

虛擬實境技術不僅可用於操作練習和科普活動，未來若能加入具手感的配件

研發，將能更細緻地執行實驗動物的手術和試驗操作，或結合實體物品以增強體驗的真實感。此外，這也可拓展在生醫研究、實驗動物操作技術及動物福祉的實作訓練，產出豐富的教案，落實動物實驗 3R 原則——減量、優化及替代，共創永續、友善的動物實驗環境與健全的生醫技術價值鏈。



圖 1、2022 年 5 月，在科研指標期刊「科學 (Science)」封面 (Science 6596, 2022)

4-2-2 虛擬實境之動物替代教案展示(2)

教案二、臺大實驗動物資源中心設施導覽

傳統實驗動物中心參訪受限於時間、人數及污染風險而難以全面導覽。本次運用全景相機拍攝，透過 Virti 平台製作虛擬參訪，讓使用者在模擬環境中學習。透過第三人稱視角了解設施動線，以遊戲化學習加深印象。而小鼠照護訓練採用第一人稱模擬，降低成本同時兼顧動物福利。此教案由臺大實驗動物資源中心與獸醫系學生共同製作，融入實景拍攝、剪輯與劇本設計，提供沉浸式學習體驗。

一、教學目標

本教案協助使用者熟悉實驗動物中心空間配置、正確著裝與進出流程，並學習實驗小鼠基本照護操作。參與者將掌握換籠、換水和補飼料等技能，為未來實驗動物照護奠定基礎。

二、影片設計

1. 拍攝重點

本次影片著重於場景自然轉換與資訊清晰傳遞，確保觀眾能順暢跟隨導覽，完整體驗從進入到離開的流程。影片從一樓入口開始，依序介紹公共空間、置物區、休息區，接著進入動物房管制區域。鏡頭引導觀眾完成更衣、更換防護裝備、進入動物房、執行操作，最後安全離開，打造完整學習體驗。

為提升沉浸感與學習效果，我們設計情境劇情，使參與者彷彿親身參訪。影片從抵達大門開始，帶領觀眾熟悉周圍環境與必要防疫措施。隨後影片示範進入中心的步驟，包括門禁系統操作與人員動線規劃。在更衣區，影片逐步引導完成正確著裝，並強調防護裝備的重要性。進入動物房後，影片帶領觀眾學習換籠、換水及補飼料的標準流程，並融入互動式學習環節。最後影片呈現離開動物房的標準流程，包括如何正確脫下防護裝備、個人清潔消毒，以及維持防疫安全的關鍵步驟。

2. 材料與方法

本次 VR 導覽影片全程使用 Insta360 全景相機拍攝，以確保完整記錄 360 度視角，達到沉浸式學習體驗。後製階段我們使用剪映進行影片剪輯與畫面調整，確保場景切換順暢、資訊呈現清晰並提升視覺效果。完成後的影片上傳至 Virti

教案製作平台，設置互動熱點與資訊提示，使學員能在觀看過程中參與互動式學習，加深對內容的理解與記憶。

在體驗與評估方面，我們使用 VIVE Focus 3 作為測試設備，讓學員透過 VR 裝置實際體驗拍攝成果，同時投放到螢幕上供學員討論導覽內容的呈現效果與互動設計的可行性。透過這樣的方式使我們能發現可能需改善的部分，進一步優化學習體驗。



3. 教案內容與腳本（以國立台灣大學為例）

目次	場次	場景	劇情內容
第 1 幕	學生初次到達臺灣大學實驗動物資源中心大門，看到周圍環境。		
	1-0	大樓外觀	初次到達臺灣大學實驗動物資源中心大門。
		資訊框	國立臺灣大學為提昇本校生物醫學研究之實驗動物照護品質與服務資源運用，促進生物科技研發水準，並裨益國家教育與經濟發展，特由研究發展處設置本中心。本中心設立之目的，不僅在於提供最好的飼育環境，更在於以動物福利為基礎，協助校內外使用者，獲得最佳的研究成果；並能媒合生技產業與學術研發，促進基礎研究能量與相關產業發展。
	1-1	大門口門禁	如果你第一次來、沒有開過門禁，就按白色門鈴～～
	1-2	一樓門內	進入後在大門口警衛處簽名登記。
	1-3	一樓電梯進入	按電梯，進入電梯前往其他樓層。
第 2 幕	進入臺大實驗動物資源中心二樓與三樓		
	2-1	2 樓大廳	
		資訊框	記得換鞋再上三樓!，鞋子有分尺寸。2F 休息室，大家可以來休息喝水
	2-2	三樓大廳	實驗用不到的物品，含包包、外套、書本、電腦都不可以帶入。請盡量使用單張紙做記錄，不要帶一整本實驗記錄本進入喔。
資訊框		進動物房更衣室之前請先放隨身物品，	

目次	場次	場景	劇情內容
			並先上廁所。 置物櫃子可自行設定密碼。
	2-3	更衣室前門口	使用門禁卡逼卡進入
第 3 幕	進入三樓動物區更衣室，研究人員開始洗手，穿戴防護衣準備進入動物區。		
	3-1	更衣室	檢視更衣室內的環境
	3-2	傳遞箱	先將實驗物品放入傳遞箱照 UV
	3-3	3F 更衣室	示範正確穿戴防護步驟：戴口罩和頭帽、穿防護衣、手套有分大小、仔細看！ 手套要包住袖口喔！ 洗手穿衣完成！
	3-4	3F 更衣室	離開更衣室前往吹塵 手先噴酒精，穿好防護衣後進入吹氣室，雙手舉起轉圈圈，記得先踏地墊再進入。
	3-5	吹塵室	離開吹塵室進入動物房
		評量點	進入實驗動物資源中心前，下列哪個更衣步驟是正確的？ A. 戴口罩→穿防護衣→戴髮帽→戴手套 B. 穿防護衣→戴髮帽→戴口罩→戴手套 C. 戴口罩→戴髮帽→穿防護衣→戴手套(正確) D. 戴手套→戴口罩→穿防護衣→戴髮帽
第 4 幕	從走廊進入動物房後將鼠籠由動物房內籠架取下，移入操作台進行換籠、換水跟補飼料等基本操作。		
	4-1	動物房走道	動物房平面圖 1. 離開吹氣室進入動物房，出來後再拿過 UV 的物品 2. 到達動物房門口，看到門上的簽名板。進入、或離開動物房，都要記錄時間並簽名。 3. 觀察窗，可以透過小窗抬頭看溫度、濕度、壓力、送風、回風。 4. 門口簽完名後逼卡進入

目次	場次	場景	劇情內容
	4-2	動物房	前往籠架
	4-3	動物房內操作台	把籠子移入操作台準備操作
	4-4	動物房內操作台	開始練習換籠操作： 1. 準備好新的籠子、水瓶、飼料槽與籠蓋 2. 抓取小鼠的尾根部中段，以免小鼠受傷
		評量點	看到以下哪個狀況不需要換籠？ A. 墊料變色潮濕，面積超過 $\frac{1}{3}$ B. 每週例行更換一次 C. 母鼠剛分娩二天(正確) D. 動物毛髮一束一束潮濕、籠壁有水氣
		回答錯誤	由於你的胡來，動物房的小鼠們向你發起了反抗，現在請你回去重新換籠。
	4-5	動物房內操作台	補充飼料，觀察籠內的飼料剩餘量，飼料給予標準：每隻小鼠一天一顆。
		評量點	什麼時候需要補充飼料？ ● 老鼠看起來都沒吃，可能不想吃，不用補 ● 飼料盒快空了(正確) ● 母鼠剛生小孩，需要哺乳
		回答錯誤	由於你的胡來，動物房的小鼠們向你發起了反抗，現在請你回去重新換飼料！
	4-6	動物房內操作台	更換飲水瓶：飲水瓶水位已經接近銀色區域，小鼠很快會渴死！
		評量	舊水瓶換下來後是否要把水倒掉？ ● 否，髒水瓶的水不用倒掉，直接移到回收區即可(正確) ● 是，要找垃圾桶倒掉
		回答錯誤	由於你的疏失，動物房發生了汙染事件，請你重新進行換水步驟！
	4-7	動物房內操作台	將鼠籠放回架上，操作台完成清潔。 提示點：沒放好籠子的錯誤示範照
第 5 幕	操作完畢，研究人員離開動物房，脫除防護衣放入回收桶內。		
	5-1	動物房走道	在門上記錄離開的時間。

目次	場次	場景	劇情內容
			將手套跟實驗廢棄物丟入生醫廢棄物垃圾桶中
	5-2	二樓大廳	到二樓脫除防護衣，回收鞋子。
	5-3	一樓大門	到一樓大門離開，離開也要記得簽退喔!跟警衛伯伯說完辦辦就可以開心回家啦!

4. 互動設計與細部補充

影片在關鍵場景設計了互動熱點，透過資訊框(Infobox)與提示點(Hot spot)提供圖像與 2D 影片解說，增強沉浸感並減輕 360 度影片的遠景變形。搭配實景照片、標語及常見道具說明去幫助學員預期現場狀況。影片特別設計暫停點，需點擊確認後方能繼續觀看。評量點若答錯，將進入警告短片，重導回原始教學片段加深學習印象。

三、 拍攝過程的挑戰與解決方案

在教案拍攝過程中，我們面臨多項挑戰。由於本影片旨在提供沉浸式體驗，特別設計互動式問題，幫助學員更深入理解情境，提升學習效果。這種互動方式強化記憶，也使進入動物房的流程更有條理，降低實際操作的不確定感。

360 度全景拍攝為本次影片亮點，但也帶來技術挑戰，如團隊成員需時刻留意躲避鏡頭。雖部分 2D 影片拍攝未完全避免人員入鏡，但未影響整體觀感。

此外，攝影機高度與角度顯著影響觀看體驗。保持與人眼同高能增強臨場感；而小鼠操作時置於人員前方利於捕捉細節。這些技巧需實踐累積經驗，未來將持續優化以提升影片品質與學習成效。

四、 教學成效回饋與討論

本教案運用 VR 技術，打造實驗動物資源中心的虛擬導覽與操作訓練，為研究人員提供全新學習方式。透過沈浸式環境，使用者可不受時間與場地限制，反覆練習操作流程，提升對環境的熟悉度與技能。相較於傳統現場培訓，VR 教學讓學員在進入實驗動物設施前，先建立基本概念與動作記憶，減少初次接觸的不安與操作壓力，提升學習成效。

互動式學習環節是這項教案的亮點，學習過程不再僅限於被動觀看，而是透過問題設計與情境任務，引導參與者主動思考與實踐。在虛擬動物房內，學員可

以學習正確的換籠、補水與補飼料步驟，並透過系統即時回饋確認操作正確性。這種方式能強化記憶，幫助學員建立標準化作業流程，符合動物福祉與實驗規範。

此外，VR 技術提供無需直接接觸動物的學習機會，特別是在強調 3R 原則（減量、替代、優化）的環境中，降低對動物的影響，提高培訓的可及性與安全性。學員在掌握基礎操作後，再進入真實環境實作，減少人為錯誤，提升實驗動物管理的標準化程度。

總結而言，VR 技術在實驗動物教育上的應用具高度可行性，適用於新手訓練、場域熟悉及持續進修，提供靈活且有效的學習體驗。若能進一步優化互動內容並整合更多模擬情境，將進一步提升學習效果，確保動物實驗品質與動物福祉的維護。

五、 未來應用的可行性探討

這種嶄新的教學模式提升了學員的學習興趣與專業技能，並強化了動物照護的倫理觀念。未來，這項技術可擴展至生物醫學研究與教育領域，促進動物福祉。

而虛擬參觀模式提供極大彈性，參觀者可隨時透過 VR 技術深入了解實驗動物中心的設施與運作，打破時間與空間限制。對於外地學員、國際合作夥伴或無法親臨現場的研究人員，此模式極具價值。

VR 導覽的安全性高，參觀者無需進入真實的實驗動物中心即可獲得完整學習經驗，避免活體動物感染風險，降低實驗室的生物安全隱患。此設計符合動物福祉的 3R 原則，並為未來生物醫學教育提供永續且環保的解決方案。

六、 結論

本次 VR 教案的成功展現了數位科技在實驗動物教育中的應用潛力，為未來培訓模式提供創新方向。透過虛擬實境技術，學員在安全無壓的環境中熟悉實驗動物資源中心的操作規範，提升學習效果並減少對現場動物的影響。

此技術不僅限於基礎導覽與操作訓練，未來可拓展至生物醫學研究、醫療訓練及動物福祉教育。沉浸式學習幫助學員有效掌握關鍵知識與技能，模擬操作強化實作能力。此外，VR 技術可作為替代訓練工具，使學員在不依賴真實動物的情況下熟悉實驗流程，落實 3R 原則（減量、替代、優化）。

透過持續優化課程內容與互動設計，我們相信 VR 教學能為實驗動物領域帶來正向改變，推動更人道、精準且富有同理心的科學研究。期待此技術啟發更多機構與團隊探索數位科技在動物科學的應用。

4-2-3 虛擬實境之動物替代教案展示(3) 犬貓心肺復甦

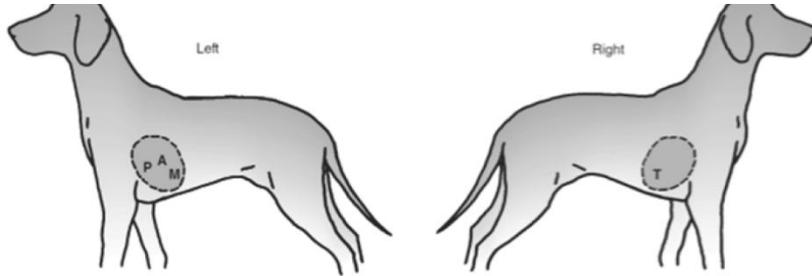
1. 教案主題：犬隻心血管檢查與心肺復甦
2. 教學對象：剛畢業之臨床獸醫師
3. 教學目的：協助剛畢業臨床獸醫師熟悉犬隻心血管檢查的臨床技術，並對緊急心肺復甦術做好心理準備
4. 教學目標：了解完整犬隻心血管檢查的時機與內容、心血管檢查的操作方法與流程、心肺復甦術(CPCR)的使用時機、體驗病患休克時進行心肺復甦術(CPCR)的氛圍，並理解基本 Basic life support(BLS)順序及分工
5. 評量標的（以問題呈現並評分）：選出正確的 ①犬隻心血管檢查的時機、內容、操作方法與流程，包括：犬隻保定、儀器操作 ②心肺復甦術(CPCR)使用時機及 Basic life support(BLS)順序及分工
6. 工作分配：
 - 劇本組：
 - ◆ 建立劇本，含場景規劃、演員列表、演員台詞、道具設備等。
 - ◆ 建立 VR 影片中各個 inforbox 的內容（搜尋相關文獻，確認內容正確並整理成 inforbox 格式）。
 - ◆ 準備 VR 影片中 Hotspot 的內容（網路資源/額外拍攝）。
 - 拍攝組：
 - ◆ 確認 VR 影片中需要拍攝的所有影片素材清單。
 - ◆ 訂定拍攝日期並負責拍攝過程的指導與器材操作，準備並熟悉 VR 影片拍攝硬體設備、拍攝注意事項（拍攝範圍、死角、擺設位置等）。
 - 後製組：
 - ◆ 確認 VR 影片中，需要的所有影片素材（拍攝與其他資源）。
 - ◆ 確認以上的 Inforbox、Hotspot 所需的圖片/文字。
7. 場地與設備：診療室、X光室、訓練急救用假犬、聽診器、血壓機、生理監視器、急救用器材。
8. 演員：主治獸醫師、住院醫師、寵物狗（來福）及家人

9. 腳本規劃：

場地 / 事件	細節		道具
	角色	動作 / 台詞	
<p>1-1</p> <p>家人帶狗進入診間問診</p> <p>20 秒；診間</p>	<p>主治獸醫師</p> <p>家人</p> <p>來福</p>	<p>獸醫師坐著，家人走進門診坐下，獸醫開始問診。</p> <p>獸醫師：您好！我是黃醫師，是來福的家人嗎？今天來評估什麼問題呢？</p> <p>家人：來福最近走路容易累，就在那邊喘很久，想來檢查一下！</p> <p>獸醫師：好的，聽起來有可能是心肺異常，我們安排一下完整的心肺檢查！除了基本的理學檢查外會包含：聽診、量測血壓、心電圖、胸腔 X 光，以及心臟超音波！</p>	
<p>Inforbox (時間暫停)：</p> <p>常見需要完整心肺評估的狀況：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 麻醉風險評估 2. 健康檢查 (特別是心肺疾病風險較高的品種犬貓) 3. 有相關臨床症狀或理學檢查的異常，如：運動不耐、咳嗽、呼吸速度增快、呼吸用力、暈倒、聽診發現心肺雜音等等。 			
<p>1-2</p> <p>聽診理學檢查</p> <p>1 分鐘；診間</p>	<p>主治獸醫師</p> <p>來福</p> <p>家人</p>	<p>來福在檢查台上，家人摸頭安撫，獸醫師先讓狗聞聞聽診器，從後方聽診。</p> <p>獸醫師：來福你好，接下來我們要進行聽診檢查！我會依序聽診胸腔兩側的不同位子來評估心臟與肺臟的狀況。</p> <p>家人：來福不要緊張，慢</p>	<p>聽診器</p>

慢呼吸～

Inforbox (時間暫停), 顯示聽診位置圖示:



重點:

- 在安靜的診間
- 動物盡量四隻腳正常站立
- 家人安撫動物，盡量維持穩定呼吸
- 完整聽診須包含心臟部分，左側的肺動脈瓣 (P)，動脈瓣 (A)，二尖瓣 (M)，右側的三尖瓣 (T)。完整的雙側肺臟區域及脖子氣管區域。
- 聽診除了留意心雜音外，也要留意心律，同時觸診脈搏，聽診後觀察頸部頸靜脈是否有異常跳動或漲大。

圖片出處:

- Nelson, Richard W., and C. Guillermo Couto. "Small Animal Internal Medicine 5th Edition, Ed Elsevier/Mosby, St." *Louis, MO, SUA* (2014).

<p>1-3 量血壓 1-2 分鐘；診間</p>	<p>主治獸醫師 來福 家人</p>	<p>獸醫師帶著來福與其家人進入門診，並告知先在這休息 5-10 分鐘，請家人協助安撫來福。</p> <p>字幕：(5-10min later)</p> <p>家人從後方協助保定來福的前手，獸醫師從前方量血壓邊做簡單解釋。</p> <p>獸醫師：來福先坐好，手借我，我們先量肢周徑。對於狗來說，手圍的 40%</p>	<p>Doppler 血壓機 血壓壓球 血壓壓脈帶 捲尺</p>
---	----------------------------	--	--

會是希望選擇壓脈帶的寬度。

獸醫師：綁壓脈帶的位置我們需要注意要在手肘與手腕的中間點，要綁好不能前後滑動。

獸醫師：接著我們會使用一些傳導膠塗在來福的手上，然後利用血壓機的探頭尋找脈搏。找到脈搏後，我們就可以開始量測血壓。

家人：來福乖，要冷靜喔，不然血壓會飆高！

Hotspot：量測血壓 2D 影片

Inforbox（時間暫停）：

血壓量測重點：

- 於舒適的地方進行，犬貓的家人應陪同使之心情放鬆不緊張。
- 測量位置可以是前手、後腳、尾巴、要注意位置需與心臟同高度。
- 血壓壓脈帶寬約為 30%~40% 的肢周徑（limb circumference），狗建議用 40%、貓建議用 30% 計算。
- 壓脈帶需固定良好維持穩定不脫落且不會前後滑動
- 量測血壓需完整記錄以下資訊：測量前後的心跳、5-7 個測量值（第一個量測值需要排除掉，並計算量測平均值）、動物的緊張程度、測量的人員、病患肢周徑以及選擇的壓脈帶大小。

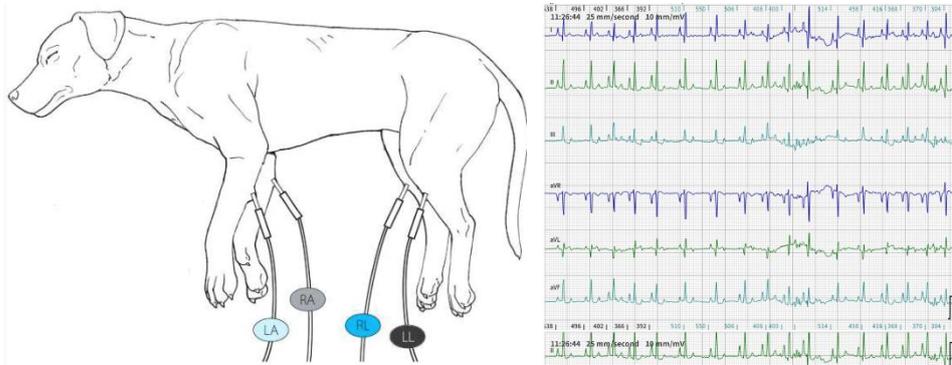
量血壓影片拍攝細節：

- 量血壓的影片要量肢周徑，要先比腕關節與肘關節的位置，手圍要量這兩個點的正中間，同時為壓脈帶固定的位置；肢周徑量測後，選壓脈帶時拍攝到同時量測壓脈帶的寬度，並顯示計算壓脈帶的公式（犬 40% 貓 30% 的肢周徑）。

- 拍攝量測人員紀錄及寫下重要資訊的畫面。

<p>1-4 心電圖檢查 1分鐘；診間</p>	<p>主治獸醫師 住院醫師 A、B 來福 家人</p>	<p>住院醫師與家人協助來福右側躺在軟墊上，主治獸醫師開始將心電圖接頭依序輕柔地接到來福身上並講解心電圖檢查。</p> <p>獸醫師：接著我們要來接心電圖喔，心電圖可以讓我們了解來福的心跳節律，並觀察是否有心律不整，或有傳導上的問題。麻煩家人協助我們讓來福右側躺在這個軟墊上。</p> <p>家人：來福乖，我們躺一下不要亂動。</p>	<p>心電圖設備 酒精棉</p>
--	---	---	----------------------

Inforbox（時間暫停）顯示心電圖檢查圖示：



心電圖檢查重點：

- 動物右側躺於不導電的軟墊上，穩定讓脊椎呈現水平。
- 雙手/雙腳需分開，讓四肢與脊椎垂直。
- 使用心電圖夾，並用酒精棉或接觸膠協助傳導。
- 為避免呼吸時胸腔移動造成誤差，心電圖夾子放置稍微遠離胸腔，可在手掌與肘關節的中點。

圖片出處：

- Santilli, Roberto, et al. "Electrocardiography of the dog and cat.: Diagnosis of arrhythmias." Edra, 2019.

<p>2-1 胸腔 X 光拍攝 1 分鐘；X 光室</p>	<p>主治獸醫師 來福 家人 影像科醫師</p>	<p>來福家人與獸醫師一起保定來福，並拍攝三張胸腔 X 光，家人保定前手，獸醫師保定後腳，影像科醫師邊講解邊協助。</p> <p>影像科醫師：協助拍攝 x 光時，需穿防輻射鉛衣保護自己！</p> <p>影像科醫師：胸腔 x 光需拍攝三張來獲得最完整的資訊，分別為左右側躺及仰躺。我們先從右側躺開始，手要盡量往前拉開避免遮擋胸腔！</p> <p>影像科醫師：我們自己的手也要保護好(用防輻射鉛布蓋暴露在拍攝範圍的手)</p> <p>影像科醫師：接下來是左側躺</p> <p>影像科醫師：最後是仰躺，要注意胸骨跟脊椎要重疊好。</p> <p>主治獸醫師：來福加油，快拍好了！</p> <p>影像科醫師：盡量在吸氣末期拍攝才有擴張的肺臟影像，吸、吐、吸、吐、吸，就是現在！</p>	<p>防輻射鉛衣 防輻射鉛布</p>
--	--------------------------------------	---	------------------------

Inforbox (時間暫停):

胸腔 X 光拍攝重點:

- 需要三個角度，左右側躺以及仰躺，來完整評估胸腔狀況。
- 動物需要配合，必要時配合鎮靜或麻醉來獲得良好的影像品質。
- 如果病患病況不穩定，需先穩定動物狀況，強迫拍攝可能導致休克。
- 胸腔 X 光拍攝盡量在吸氣末期拍攝以獲得擴張的肺臟。

<p>3-1</p> <p>心臟超音波檢查</p> <p>時間：2 分鐘</p> <p>地點：超音波室</p>	<p>主治獸醫師</p> <p>住院醫師 A、B</p> <p>來福</p> <p>家人</p>	<p>家人在前方安撫來福，住院醫師 A、B 前後保定來福，讓來福右側躺在檢查墊上。主治醫師先接心電圖後進行心臟超音波檢查，一側結束後翻身繼續，邊講解給家人聽。</p> <p>主治獸醫師：接下來進行心臟超音波檢查，掃描時需要同時接心電圖喔！</p> <p>主治獸醫師：我們在心臟超音波下可以看到心臟實際跳動的畫面、血流的方向、流速、心肌與瓣膜的狀況，來完整評估心臟狀況。</p> <p>主治獸醫師：乖乖躺好喔，緊張的話心跳會太快不好判讀！</p> <p>主治獸醫師：超音波下我們有許多不同的切面要評估，右側躺完需要換成左側。來，我們慢慢翻身，小心不要讓心電圖滑落了。</p>	<p>心臟超音波檢查墊</p> <p>超音波儀器</p>
--	--	--	------------------------------

Inforbox (時間暫停):

心臟超音波重點:

- 如果病患病況不穩定，需先穩定動物狀況，強迫檢查可能導致休克。
- 可配合鎮靜來減少動物的情緒壓力以及掙扎，更容易獲得具有判斷價值的影像，但也要注意藥物造成的影響。
- 完整的心臟超音波檢查包含許多不同的角度跟標準化切面，須優化影像品質以獲得正確判讀，掃描過程務必同時記錄心電圖。
- 若病患狀況緊急時可使用重點快速掃描方式取代完整掃描，快速篩檢當下需要的關鍵資訊。

<p>4-1</p> <p>病患突然休克並開始急救</p> <p>時間：5分鐘</p> <p>地點：診間</p>	<p>主治獸醫師</p> <p>訓練用假犬</p> <p>家人</p> <p>住院醫師 ABC</p> <p>助理</p>	<p>家人敲門，抱著沒有反應的狗來求助。主治獸醫發現狗休克先呼救並開始著手急救，住院醫師推著生理監測儀，急救用器材進入診間，快速分工後進行急救。</p> <p>主人：醫師，我的狗怪怪的，可以幫我看一下嗎？</p> <p>主治獸醫師：ER condition！這裡有狗休克，需要急救！（並開始壓胸）</p> <p>住院醫師 A 推生理監視器</p> <p>住院醫師 B/C/助理推著上面有上針套組跟插管器材的推車進門診。</p> <p>住院醫師 A：我們來插管，你跟助理嘗試上針！</p> <p>10點10分開始急救。</p> <p>插管完成，住院醫師 A 開始協助換氣。住院醫師 B</p>	<p>訓練用假犬</p> <p>生理監視儀</p> <p>插管相關器材</p> <p>上針相關器材</p> <p>聽診器</p> <p>氧氣瓶</p> <p>甦醒球 (Ambu bag)</p>
---	---	---	---

		<p>開始嘗試接上生理監視儀。</p> <p>住院醫師 C：我們上好針了 10 點 12 分，給 epinephrine 第一次。</p> <p>助理：我來紀錄時間點。</p> <p>主治獸醫師：快兩分鐘了，下一個人準備！</p> <p>住院醫師 A 看 ECG 觀察呼吸 5 秒後說：還沒回來，換我繼續壓胸！</p> <p>助理：再一分鐘後給予第二劑 epinephrine。</p> <p>住院醫師 A：快兩分鐘了，下一個人準備！</p> <p>住院醫師 A 停止壓胸並觀察 ECG 跟假狗並聽診：心電圖有波形，聽診心臟有在跳，有自發呼吸了，暫停壓胸！</p>	
<p>Inforbox（時間暫停）並顯示“有時候也有突發狀況”。</p> <p>Hotspot：不同犬隻壓胸影片（拍攝獸醫師在不同胸型的狗，使用不同姿勢的壓胸示意影片）</p> <p>Hotspot：上針影片（拍攝獸醫師在其他病患建立靜脈留置針的影片）</p> <p>Hotspot：插管影片（拍攝獸醫師在其他病患進行插管的影片）</p> <p>Basic life support (BLS)重點：</p> <ul style="list-style-type: none"> - 快速辨識 CPA 並開始進行 CPR：當動物失去意識以及反應/無呼吸/無脈搏或心跳時應盡快開始 CPR。考慮到盡快開始 CPR 的好處，當 CPA 可能無法排除時，應盡快開始進行 CPR - 儘快開始壓胸：應使胸腔側躺高度減少 1/3~1/2，頻率為至少每分鐘 100-120 下，要給予完整回彈時間，因此要快且用力壓，建議要有兩分鐘不 			

間斷壓胸，組間要用最少的時間辨識心電圖狀況，不同犬種的壓胸姿勢會不同。

- 開始壓胸後應儘快建立呼吸道並開始協助換氣：換氣應每分鐘 10 下，並不干擾壓胸。目前建議換氣設定為潮氣量每公斤 10 毫升，並給予約 1 秒的吸氣期。
- 甦醒球（Ambu bag）使用方法：選擇約動物體重 15 倍體積的甦醒球，不用等接上氧氣，插管後盡快開始使用甦醒球換氣，如果接著 reservoir bag，可以讓病患吸入的氧氣濃度更高。使用甦醒球時會很難確定潮氣量，注意閥門設定讓氣道壓力不要超過固定數值以避免損傷肺臟。
- 如無法插管，建議給予口對吻（mouth-to-snout ventilation）換氣，跟壓胸比為 30：2。
- 建立血管通道後的處置：每 3-5 分鐘給予 Epinephrine，如有懷疑副交感神經亢進/心跳慢的動物，可給予 atropine，可以解除的麻醉藥物都解除。

<p>4-2</p> <p>通知家人急救狀況以及預後</p> <p>時間：1-2 分鐘</p> <p>地點：診間</p>	<p>主治獸醫師</p> <p>家人</p>	<p>獸醫師告知家人狗恢復呼吸心跳/告知家人預後，並住院觀察。</p> <p>主治獸醫師：您的狗目前恢復呼吸心跳，但不代表一定可以順利出院，因此接下來我會詳細的詢問您他過去的狀況，並同時進行完整的理學檢查、血液檢查以及影像檢查來尋找休克的原因，而他會需要住院一段時間做詳細的監控。我們準備一下，等等帶著他跟家人一起到住院部。</p>	
---	------------------------	--	--

Inforbox :

- 休克犬貓恢復自主循環 spontaneous circulation (ROSC)的機會為 35~45%
- 但這些犬貓可以順利出院的比例為 2-10%
- 因此休克病患 ROSC 後需要非常嚴謹的生理監控，小心尋找病因。

評量題目

題目設定為是非題：

1. 應至少量血壓確定血壓很低才能確認 CPA 並開始急救。(錯)
2. 壓胸速度應不能太快，每分鐘 30 下剛好。(錯)
3. 胸腔 X 光很貴且會暴露輻射線，通常一張仰躺就足夠。(錯)
4. 休克恢復自主循環後出院的機會超過一半。(錯)
5. 血壓測量應讓家人在外面等才不會干擾測量。(錯)

第五章節 動物實驗替代技術的未來發展

5-1 數位與替代技術的未來發展趨勢

從「必要之惡」到「精準之善」：實驗動物替代科技的全球革命與台灣機遇

第一章、緒論：百年典範的轉移

在生物醫學發展的長河中，人類與實驗動物的關係始終充滿著矛盾與掙扎。過去的一百多年來，現代醫學的幾乎每一項重大突破——從抗生素的發現、疫苗的研製，到外科手術技術的精進——其背後都堆疊著無數實驗動物的犧牲。根據統計，全球每年約有超過 1.15 億隻脊椎動物被用於科學實驗。長久以來，科學界將這種犧牲視為一種「必要之惡 (Necessary Evil)」：為了拯救人類的生命，我們不得不犧牲動物。

1959 年，英國科學家 William Russell 與 Rex Burch 提出了著名的 **3R 原則** (**R**eplacement 取代、**R**eduction 減量、**R**efinement 優化)，試圖在科學需求與倫理良知之間尋找平衡。這套原則在隨後的半個世紀裡，成為了全球實驗動物法規的基石。然而，直到 21 世紀初，3R 的實踐大多仍停留在「減量」與「優化」的層次——也就是「少用一點」和「讓牠們少痛一點」。至於「完全取代 (Replacement)」，往往被視為一個遙不可及的烏托邦理想。

但是，歷史的轉折點已經出現。站在 2026 年的今天回望，我們會發現，過去這五年間發生了一場寧靜卻劇烈的革命。這場革命的驅動力不再單純來自於動物保護團體的道德呼籲，而是來自於科學本身對「精準度」的極致追求。

當我們的醫療手段從「大眾醫療」走向「個人化精準醫療」，當我們對疾病的理解深入到基因與分子層次時，科學家們震驚地發現：**動物模型這把使用了百年的尺，已經量不準人類這具複雜的軀體了。**這不再只是一個倫理問題，更是一個嚴肅的科學與經濟問題。因此，全球的規則正在被改寫，而台灣，正站在這場巨變的風口浪尖。

第二章、科學與經濟的雙重覺醒：為何我們必須改變？

1. 「死亡之谷」的警訊：物種差異的科學壁壘

藥物開發領域存在一個著名的「死亡之谷 (Valley of Death)」。根據權威期刊的數據分析，在動物實驗（臨床前試驗）中表現出安全且有效的候選藥物，一旦進入人體臨床試驗，有高達 **90% 至 95%** 會宣告失敗。這是一個驚人的資源浪費。

為什麼會這樣？過去我們認為「老鼠是縮小版的人類」，但現代基因體學與代謝體學的研究無情地打破了這個迷思。

- **代謝差異**：小鼠的基礎代謝率是人類的七倍，且其肝臟中的細胞色素 P450 酵素系統（負責藥物代謝的關鍵酵素）與人類存在顯著的亞型差異。這導致許多藥物在小鼠體內能被快速代謝排出，看似無毒，但在人體內卻會累積並造成嚴重的肝毒性。
- **免疫系統鴻溝**：人類與小鼠在演化上分家了數千萬年，免疫系統的運作機制大相逕庭。例如，在針對敗血症 (Sepsis) 的研究中，科學家曾耗費數十年在小鼠模型上開發出多種能成功治療小鼠敗血症的藥物，但在隨後的 150 多項人類臨床試驗中，這些藥物全軍覆沒。這是因為小鼠對發炎反應的基因調控路徑，與人類有著本質上的不同。

這些科學鐵證告訴我們：繼續依賴動物模型來預測人類疾病反應，就像是用一張錯誤的地圖去尋找寶藏，無論投入多少資源，都註定迷路。

2. 法規的里程碑：FDA 現代化法案 2.0 與 NIH 的新戰略

面對科學上的瓶頸，全球監管機構終於跨出了歷史性的一步。2022 年 12 月，美國總統拜登簽署了具有劃時代意義的**《FDA 現代化法案 2.0》(FDA Modernization Act 2.0)。這項法案修訂了自 1938 年《聯邦食品、藥品和化妝品法案》以來的一項強制性規定——「所有新藥在進入人體試驗前，必須在動物身上進行測試」。新法案的通過，意味著 FDA 首次獲得了法律授權，可以接受非動物測試方法 (NAMs, New Approach Methodologies) **——如器官晶片、微生理系統、AI 演算數據——作為藥物安全性的有效證據。這不僅是法規的鬆綁，更是對替代科技「科學有效性」的官方背書。

緊接著在 2025 年 4 月，變革進一步加速。

- **FDA 戰略藍圖**：FDA 正式發布了針對單株抗體 (mAbs) 與生物製劑的替代方法指引，明確指出這類高度特異性的藥物在動物身上的測試往往缺乏意義，應優先採用人類細胞基礎的體外模型。

- **NIH 的 Complement-ARIE 計畫**：美國國立衛生研究院（NIH）宣布成立「研究創新、驗證與應用辦公室」（ORIVA），並啟動 Complement-ARIE 計畫。這項計畫不同於以往零星的科研補助，而是國家級的戰略部署，旨在建立一個標準化的驗證體系，確保新開發的替代方法能夠被監管機構與產業界無縫接軌地採用。

歐盟方面，自 2013 年全面禁止化妝品動物試驗後，目前的政策重心已轉向化學品風險評估（REACH 法規）的修正，目標是在 2030 年代末期，逐步淘汰化學品安全性測試中的動物使用。OECD（經濟合作暨發展組織）也持續發布新的測試指引（Test Guidelines），為全球提供統一的非動物測試標準。

第三章、推動變革的催化劑：PETA Science 與國際資源網絡

在這場科學革命中，非政府組織（NGO）的角色發生了根本性的質變。過去，動保團體留給大眾的印象往往是街頭抗議、潑灑紅漆或訴諸情感的道德譴責。然而，以 **PETA Science Consortium International e.V. (PSCI)** 為代表的新一代動保力量，展示了另一種更具建設性的路徑——「**用科學數據說服科學家**」。

1. 從對抗到合作：科學實證的路線

PETA Science 是一個由 25 位以上擁有博士學位的科學家（包括毒理學家、分子生物學家、獸醫師）組成的專業團隊。他們深知，要改變藥廠與監管機構的習慣，光靠喊口號是無效的，必須提供比動物實驗**更準確、更便宜、更快速**的替代方案。

以****吸入性毒性測試（Inhalation Toxicity）****為例：傳統的方法是將大鼠塞入狹窄的固定管中，強迫其吸入農藥或化學氣體數小時甚至數天。這不僅對動物極其殘忍，且大鼠的鼻腔結構、呼吸頻率與人類完全不同，數據轉譯困難。PETA Science 並沒有止步於抗議，他們主動出資，與路易斯安那州立大學及生技公司合作，驗證了 **EpiAlveolar** 模型。這是一種利用人類肺泡細胞在氣液介面（Air-Liquid Interface）培養出的 3D 組織模型，能夠真實模擬人類肺部接觸化學氣體時的發炎與損傷反應。此外，他們還推廣了 **Tecan D300e** 數位點藥技術，能精準控制奈米級的給藥量。這些努力最終促成了 EPA（美國環保署）接受非動物數據作為某些吸入性毒性的評估依據。

2. 解決抗體生產的倫理痛點

另一個重要的戰場是**抗體生產**。在生物醫學研究中，抗體是不可或缺的工具。傳統的多株與單株抗體生產，需要將抗原注射到兔子或小鼠體內，並抽取其血液或腹水來純化抗體，這過程對動物造成極大的緊迫與痛苦。PETA Science 積極推動**「重組抗體 (Recombinant Antibodies)」**的普及。這項技術利用噬菌體展示 (Phage Display) 等基因工程手段，完全在體外環境中篩選並生產抗體。

- **科學優勢**：重組抗體具有明確的基因序列，批次間的一致性極高，解決了傳統動物源抗體常見的「批次變異」導致實驗無法重複的問題。
- **倫理成果**：歐盟參考實驗室 (EURL ECVAM) 已於 2020 年正式建議，應停止為了抗體生產而使用動物，宣示了重組抗體時代的來臨。

3. 為全球研究者搭建的知識庫

對於台灣的研究者與學生來說，PETA Science 最寶貴的貢獻在於其開放的教育資源。其官網建立了一個龐大的**替代方法資料庫 (New Approach Methodologies Database)**，詳列了各國監管機構已認可的非動物測試清單。此外，他們定期舉辦高水準的**線上研討會 (Webinars)**，邀請 FDA 官員親自解說法規變動，並設立「早期職業科學家獎助金」(Travel Grants)，資助像我們這樣的台灣年輕學者前往德國或美國參加替代科技大會。這提醒我們：在推動替代科技的路上，台灣並不孤單，我們擁有豐富的國際盟友與資源可以借力。

第四章、台灣的戰略定位：從代工島嶼到生技創新樞紐

鏡頭轉回台灣。在這個全球替代科技的浪潮中，台灣憑藉著特殊的產業背景與科研實力，正處於一個極佳的戰略位置。我們不應該只是國際標準的「追隨者」，更有潛力成為技術的「提供者」與「創新者」。

1. 政策基石：跨部會平台的宏觀佈局

過去，台灣的替代科技推動較為零散，缺乏統一的指揮體系。為了回應國際趨勢，行政院於 2022 年 11 月正式召集國科會、農業部、衛福部、環境部與經濟部，成立了**「臺灣動物實驗替代科技跨部會平台」**。這個平台的成立具有指標性意義：

- **衛福部食藥署 (TFDA)**：負責修訂藥品與化妝品法規，確保器官晶片等新數據能被審查人員接受。

- **環境部**：負責化學物質登錄的風險評估，推動以 QSAR（定量結構活性關係）電腦模擬數據取代部分動物測試。
- **國科會**：作為科研經費的主要挹注者，開始設立專案計畫，鼓勵學術界進行替代方法的研發與驗證。這五大部會的聯手，打通了從「基礎研發」、「驗證評估」到「法規落地」的任督二脈，為產業發展鋪平了道路。

2. 關鍵機構：TaiCVAM 與 TAAT 的雙引擎

在執行層面，台灣依託國家衛生研究院（NHRI），建立了兩個核心機構：

- **TaiCVAM（台灣替代方法驗證中心）**：這是台灣對接國際驗證體系的單一窗口。TaiCVAM 的任務相當艱鉅，它必須參照 OECD 的標準，評估引進的替代方法是否在台灣的實驗室也能產生穩定數據。一個成功的案例是**單核球活化試驗（MAT）**的推廣。過去檢測疫苗是否含有熱原（會引起發燒的物質），需要使用大量的活體兔子進行「免熱原試驗」。TaiCVAM 成功推動了 MAT 方法的在地化應用，利用人類血液細胞取代了兔子，這不僅減少了動物犧牲，且因為直接使用人類細胞，對預測人體發燒反應更為準確。
- **TAAT（非動物性替代方法資訊網）**：這是一個專為台灣產學研界打造的知識庫。TAAT 彙整了繁複的國際法規與技術文件，將其轉化為中文資訊，降低了國內廠商與研究者接觸新技術的門檻。它就像是台灣替代科技的「圖書館」與「導航員」。

3. 產業利基：當「晶片王國」遇上「生物醫學」

台灣最獨特的競爭優勢，在於我們世界第一的半導體與微機電（MEMS）製造能力。器官晶片（Organ-on-Chip）的核心技術是微流體（Microfluidics），這需要在微米等級的通道上精準控制流體，並整合感測器來即時監測細胞狀態。這正是台灣電子產業與精密機械產業的強項。不同於歐美實驗室往往依賴昂貴且手工製作的原型晶片，台灣有能力將這些晶片「標準化」與「量產化」。想像一下，如果台灣能像生產電腦晶片一樣，生產出高品質、低成本的「肝臟晶片」或「心臟晶片」，供應全球藥廠使用，這將是台灣生技產業升級的巨大契機。我們有機會從「製造運算用的晶片」，轉型為「製造救命用的晶片」，成為全球替代科技供應鏈中不可或缺的一環。

預演未來：從虛擬實境到晶片微宇宙的科學實踐

第五章、教育現場的寧靜革命：當 VR 進入獸醫課堂

替代科技的落實，最終取決於「人」。如果新一代的科學家與獸醫師只受過傳統動物實驗的訓練，不懂得操作數位模擬工具或微流體晶片，那麼即便法規再開放，新技術也難以落地。因此，教育推廣是這場變革中最基礎、也最深遠的工程。

1. 告別「活體練習」的時代

在過去的獸醫教育中，學生往往面臨著巨大的心理壓力。為了練習抽血、插管或外科手術，他們必須在活體動物身上操作。這不僅讓學生感到痛苦，也讓教學動物承受不必要的風險。如今，隨著**虛擬實境（VR）與高擬真模擬器（High-Fidelity Simulators）**的引入，台灣的教學現場正在發生翻天覆地的變化。

以本書第四章提到的**急救訓練（CPR）**為例，這是獸醫系學生必須精熟的技能，但我們不可能拿一隻健康的狗來讓學生練習心臟按壓。過去只能用簡單的玩偶，手感與真實情況相去甚遠。現在，台灣大學與中興大學等教學醫院已引入了名為 "Jerry" 或 "Critical Care Jerry" 的高階模擬犬。這不是普通的模型，它是一具精密的電子教具：

- **生理回饋：**Jerry 內建了電子肺與心臟搏動模組。學生可以從聽診器中聽到真實的心雜音、肺囉音，甚至能觸摸到股動脈的微弱跳動。
- **真實情境模擬：**在模擬教案中，學生組成急救團隊。住院醫師 A 負責壓胸，感測器會即時回饋壓胸深度是否足夠（約胸腔厚度的 1/3 至 1/2）；住院醫師 B 負責插管並接上氣體麻醉機；助理則負責記錄時間並遞送 Epinephrine（腎上腺素）。
- **無風險的試錯：**如果學生操作失誤，模擬犬的「心電圖（ECG）」會顯示心律不整甚至停搏。學生可以在這裡犯錯一百次，修正一百次，直到技術完美無瑕。當他們終於面對真實的病患時，他們是準備好的，而不是在拿生命練習。

2. VR 虛擬實境：打破時空的實驗室

除了實體模型，VR 技術則解決了「空間」與「標準化」的問題。進入高規格的實驗動物房（如 SPF 等級）需要繁瑣的更衣、消毒流程，且過多人員進出會干

擾動物作息。透過國立台灣大學實驗動物資源中心開發的 VR 虛擬導覽系統，學生戴上頭盔，就能身歷其境地練習：

- **動線管制**：學習潔淨區與污染區的嚴格劃分。
- **無菌操作**：在虛擬的生物安全櫃 (Biosafety Cabinet) 中練習移液管的操作手勢，系統會自動偵測手部是否觸碰到污染源。這正是 3R 原則中 **Refinement (優化) 與 Replacement (取代)** 的完美結合——用數位工具取代了初學者對活體動物的非必要干擾。

3. 教育部的戰略投資：培養「雙語」人才

為了支撐這些改變，教育部推動了**「大學校院動物實驗替代科技人才培育計畫」**。這項計畫的核心目標是培養具備**「雙語能力」**的新型科學家——他們既懂生物學 (Biology)，也懂工程學 (Engineering)。未來的生技人才，不能只會養老鼠。他們必須懂得如何設計微流體通道、如何利用 Python 分析大數據、如何操作 3D 生物列印機。這些跨領域的技能，將是台灣下一代科學家在國際舞台上的核心競爭力。

第六章、技術深探：晶片上的微宇宙 (The Micro-Universe on a Chip)

如果說 VR 改變了教學，那麼**器官晶片 (Organ-on-Chip)** 則徹底重塑了我們對「實驗模型」的想像。這是本書第二章的核心技術，值得我們在結語中再次深入檢視其革命性意義。

1. 為什麼培養皿裡的細胞「不夠像人」？

傳統的細胞培養 (2D Culture) 是在塑膠培養皿上養一層扁平的細胞。這雖然簡單，但完全失去了人體器官的立體結構與動態環境。人體的細胞不是靜止的，它們每分每秒都感受到血液流動的剪切力 (Shear Stress)、肺部呼吸的拉伸力，以及周圍細胞的化學訊號。

2. 微流體技術的魔術：重建「活」的環境

器官晶片利用半導體製程中的**微流體技術 (Microfluidics)**，在顯微鏡載玻片大小的晶片上，刻蝕出微米等級的通道。讓我們以書中詳述的**「肝臟晶片 (Liver-on-Chip)」** 為例，看看它如何精巧地模擬肝臟功能：

- **模擬肝小葉結構**：晶片內部設計了多層結構。中間層培養著人類肝細胞 (Hepatocytes)，模擬肝細胞板；上下層則有流體通道，模擬微血管。

- **重建狄氏空間 (Dissé Space)**：最關鍵的突破在於，晶片成功模擬了肝細胞與血管內皮細胞之間的微小縫隙——狄氏空間。這是肝臟進行物質交換的核心區域。在晶片上，肝細胞呈現出極性 (Polarity)，一側是負責物質交換的**基底面 (Basal)**，另一側是負責排泄膽汁的**頂端面 (Apical)**，形成毛細膽管結構。這種精細的結構，是傳統培養皿甚至動物模型都難以完美複製的。

3. 腸道晶片：微生物與免疫的戰場

另一個精彩的應用是**「腸道晶片 (Intestine-on-Chip)」

。腸道不僅僅是消化器官，更是人體最大的免疫戰場。腸道晶片在微流體通道中培養了人類腸道上皮細胞，並引入了持續流動的培養液來模擬腸道蠕動 (Peristalsis)。更驚人的是，科學家可以在晶片中加入腸道菌群 (Gut Microbiota)，甚至引入免疫細胞，來模擬發炎性腸道疾病 (IBD)** 的病理過程。我們可以觀察益生菌如何修復受損的上皮屏障，或是病原菌 (如大腸桿菌 O157) 如何引發免疫風暴。這一切，都不需要犧牲任何一隻小鼠。

4. 終極願景：人體聯網 (Body-on-a-Chip)

單一器官還不夠。目前的研發前沿正走向**「多器官串聯 (Multi-Organ-on-Chip)」

。例如，將「腸道晶片」與「肝臟晶片」串聯，就能模擬口服藥物被腸道吸收後，經過肝臟首度代謝 (First-pass Effect) 的過程。這就是所謂的 Body-on-a-Chip**。結合誘導性多能幹細胞 (iPSC) 技術，我們甚至能從患者身上抽取血液，誘導分化成心臟、肝臟、神經細胞，然後放上晶片。這意味著我們可以為每一位病患製造一個「替身」，用這個替身來試藥。這才是真正的個人化精準醫療 (Personalized Medicine)。

第七章、結語：從「必要之惡」走向「人道之善」

1. 回望與前瞻

長久以來，科學家們懷著沉重的心情，將動物實驗視為推動醫學進步的**「必要之惡 (Necessary Evil)」

。我們感謝那些為人類健康獻身的動物，在實驗動物紀念碑前獻上鮮花，但內心深處始終渴望著一種無需傷害的選擇。

今天，這本書所展示的每一項技術——從 FDA 的法規鬆綁、PETA Science 的科學轉型，到台灣實驗室裡的微流體晶片與 VR 模擬犬——都在告訴我們：那個選擇已經出現了。

2. 挑戰依然存在，但方向已定

我們必須誠實，這條路並不好走。器官晶片目前仍難以完全模擬大腦的意識活動或全身性的複雜內分泌系統；法規單位的審查標準在全球尚未完全統一；跨領域人才的缺口依然巨大。但是，科學的車輪一旦轉動，就不會停下。未來的生醫研究將是**「以人類生物學為核心（Human-based）」**的。

- **更精準**：因為我們用的是人類細胞，而非小鼠細胞。
- **更安全**：因為 AI 已經在電腦中篩選掉了絕大多數毒性分子。
- **更人道**：因為動物不再是科研的預設工具(Default)，而是最後的手段(Last Resort)。

3. 給台灣讀者的話：責任與希望

對於台灣的讀者、學生、家長與政策制定者來說，這不僅僅是一個遙遠的國際趨勢，而是發生在我們身邊的進行式。台灣擁有世界級的晶片製造技術，擁有頂尖的醫療體系，更擁有充滿創意與同情心的年輕世代。我們有責任，也有能力，在這場全球浪潮中成為關鍵的推進者。

這不一定意味著我們要在一夜之間取代所有動物實驗，那是不切實際的。但這意味著我們要具備**智慧與技術**，去選擇那條對生命傷害最小、對人類貢獻最大的路。

「從必要之惡，走向人道之善。」這不僅是秦咸靜主任在緒論中的期許，也是替代科技教育推廣的終極目標。當未來的某一天，我們的孩子在教科書上讀到「過去人類曾經必須依賴動物來測試藥物」時，希望他們會感到驚訝，就像我們現在驚訝於過去的醫生曾經不洗手就開刀一樣。那將是科學進步的證明，也是文明高度的體現。

這份願景，需要你我共同來實現。

《跨數位科技於實驗動物替代方案之運用》

主 編：陳德勳、陳文英、辛岱倫
作 者：秦咸靜、鄧景浩、莊子林、田雅靚、鍾佩蓉、蔡宜倫、林莉萱、鍾承澍、陳貞志、蔡明安、沈國屏、孫敬閔、林文琦、連一洋、邱明堂、林昭男、鄭明珠、李旭薰、林春福、林韋豪、陳雅媚、林璟鴻、潘昱儀、林思廷、李伊嘉、鄭獻仁、羅月霞、田川陽一、賴治民、徐珮娟、王逢興、連韋雄、呂承傑、林郁涵、陳于珊、戴延真、廖俊旺、童俊維、梅玉瑩、潘涵琦、張庭榕、陳慧文、黃心蓀、簡雅慧、楊佩蓉、黃柏堯、陳德勳、陳文英、辛岱倫
校 稿：辛岱倫、蔡宜蓓、余采運、劉俞均
發 行 人：陳德勳
發 行 所：國立中興大學動物實驗替代科技教學推動中心
出 版 者：國立中興大學動物實驗替代科技教學推動中心
地 址：40227 台中市南區興大路 145 號國立中興大學獸醫學院動物疾病診斷中心 612 室
電 話：(04)-22840369 #40
出版年月：2026 年 1 月
版 次：初版
電子書格式：PDF
ISBN： 978-626-97864-9-7(PDF)

©著作權所有，翻印必究

Reduction

跨數位科技於 實驗動物

替代方案之運用

Replacement

Refinement

