

# 2022 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號	100002
參展科別	工程學
作品名稱	探討海藻酸鈉與卡拉膠對角膜塑型片表面物化 性質之影響
得獎獎項	一等獎 美國ISEF正選代表
就讀學校	臺北市立麗山高級中學
指導教師	郭瓊華、方旭偉
作者姓名	張馨、林楷庭
關鍵詞	<u>角膜塑型片、清潔效能、多醣類</u>

## 作者簡介



大家好，我們是台北市立麗山高級中學二年級的學生

我是林楷庭(右)，從小喜歡自然科學的我升上高中後參加了我們學校生物研方專題的課程，在課程期間和組員一起多次拜訪相關領域的教授，討論專題未來的走向並學習與之相關的專業知識。在過程中完成了中學生獎助計畫，使我更加了解該領域未來的發展方向。

我是張馨(左)，在麗山高中的專題研究中，提供我一個最佳的平台來發展這樣具系統且有邏輯性學習科學研究的過程。我和組員都是角膜塑型片的使用者，因此希望透過我們的實驗來解決問題，並將研究成果實際應用在生活上。進入實驗室從頭開始跟著教授及學長姐們學習，感謝大家不藏私的細心指導，以及老師們的協助和指教。

## 摘要

角膜塑型術的原理是於夜晚睡覺時，採用多弧的逆幾何設計來壓迫角膜，使角膜表皮細胞重新排列以達到矯正的效果。然而在夜晚配戴期間淚液分泌物會吸附於角膜塑型片表面，造成角膜擦傷、感染。本研究探討多醣類對角膜塑型片表面淚液分泌物之吸附的影響。從實驗結果中可以看到淚液分泌物會隨天數而堆積於鏡片上且表面粗糙度有大幅上升趨勢，在進行了市售主流系統產品之測試後發現其清潔效果並不顯著，而我們藉由蛋白質、脂質濃度分析、掃瞄式電子顯微鏡觀察及表面水接觸角觀察可以得出加入多醣類(AA/CRG 各 4.5mg/ml)的複方清潔可以最有效的提升清潔效果。未來我們期望可以將多糖類複方清潔液帶入安全性評估及成本分析並成功商品化。

## Abstract

The principle of orthokeratology is during the sleep period, the lens' multi reverse geometry design molds the epithelia of the cornea using fluid forces to rearrange the cells and correct nearsightedness. Tear proteins and lipids will adsorb on it during the sleeping time, causing Corneal abrasions and bacterial infections. In that case, In this study, we investigated the effect of polysaccharides on the protein adsorption of orthokeratology lenses.

From the experimental results, it can be seen that tear secretions accumulate on the lens with the number of days and the surface roughness has an obvious upward trend after testing the mainstream system products on the market, it was found that the cleaning effect was not significant. We use protein and lipid concentration analyze, scanning electron microscopy and surface water contact angle observation

It can be concluded that compound cleaning with the addition of polysaccharides (AA/CRG 4.5mg/ml each) can most effectively improve the cleaning effect. In the future, we expect to bring polysaccharide compound cleaning fluids into safety assessments and successfully commercialize them.

## 壹、研究動機

近視已經是一個現在社會中很普遍的症狀，除了配戴一般眼鏡或是隱形眼鏡外，角膜塑型片是一種較新穎的治療方法。從近年的研究中能了解到，它是一個於夜間配戴的硬式高透氧性鏡片，按照醫生指示和每日建議配戴時數為 6~8 小時，利用角膜的可塑性，在此期間使用鏡片來把角膜中間的部分壓迫趨近於正常值之狀態，使得原本落在視網膜前的成像焦點經矯正後準確落在視網膜上，同時可以矯正近視和減緩近視度數的遞增。其優點為配戴時間在晚上，不影響到白天活動，但是在晚上的配戴期間，淚液無法藉由眨眼運動及流淚帶離眼睛，故眼內的淚液蛋白和脂質會大量吸附到鏡片上，因此清潔鏡片的工作變的尤為重要，並且其白天浸泡在清潔液中，進而避免發生感染的現象。在長期配戴下會因清潔不乾淨，而導致鏡片上殘留分泌物，除了有可能導致眼睛內部的感染外，也有風險在早上拆掉鏡片時因淚液分泌物殘留和角膜摩擦進而造成角膜傷害，另外也可能影響到角膜塑型片的矯正效果。(Kakita, T., Hiraoka, T., & Oshika, T. 2011)故本研究就針對清潔力來進行探討不同清潔系統及自行開發富含生物潤滑因子之清潔液進行對比，希望能夠藉此解決兩大問題：一為因清潔不乾淨造成角膜發炎及過敏，二為角膜摘除時因為阻力太大造成其受傷等問題。

相較硬式的隱形眼鏡，配戴角膜塑型片會殘留更大量的活菌，且配戴角膜塑型片造成的蛋白質大量堆積會造成角膜上之活菌增加至平時的十五倍，進而提高角膜感染發生的機率，大約高出十五到二十五倍。(林文賓博士、陳亞憶、林昱君，2021)眼球在配戴時也會造成機械性的傷害以及摩擦，進而導致眼球表面的缺損。(如圖一所示)這將促使使用者在配戴期間眼睛受到細菌感染的現象，其中最普遍常見的就是細菌性的角膜炎，嚴重的話大約有 10%到 15%的患者會有部分的視力損失。並且能夠由過去的研究(江忻如，2016)確認眼睛因塑形片而導致的感染機率，不受配戴頻率或鏡片使用時間而有較多的鏡片汙染，主要關鍵依舊是回歸鏡片的清潔與護理。

臨床併發症	乳突性結膜炎	巨狀乳突擊膜炎	角膜上皮糜爛	紅眼症
造成原因	隱形眼鏡形成的機械摩擦刺激或蛋白質引起的免疫反應	對鏡片的機械摩擦之傷害產生得免疫反應	外力刮傷或磨耗	蛋白質吸附及細菌感染

表一、角膜塑型片對於眼睛所產生的副作用

我們的研究是希望能夠開發出合適的生物相容性潤滑劑，解決因蛋白質與脂質的吸附所造成的細菌感染與角膜摩擦。經由閱讀文獻我們發現優化生物分子添加劑符合我們尋找的條件，所以我們試圖將其帶入實驗中並進行測試。

文獻中指出(Su, C. Y. Chen, C. C. Huang, Y. L. Chen, S. W. & Fang, H. W, 2017)在關節炎患者的滑液中透明質酸(HA)含量較低。而之前的研究中有提到，滑液中的透明質酸(HA)對潤滑功效起到重要的作用，可以有效的減少關節表面的摩擦，已被證明是一種良好的潤滑劑。不過 HA 的作用會因人而異，因此如果使用 HA 需要考慮兩者間的相互作用。所以我們選擇了文獻中提到的其他生物相容性分子，添加進保養液中測試清潔效果。

## 貳、研究目的及研究問題

### 一、研究目的

目前在使用角膜塑型片中遇到最大問題為「清潔」，因此我們設計此實驗是為了在清潔方面為找到可以解決淚液蛋白質吸附在角膜塑型片的最佳清潔液配方，進而減少因為配戴 8 小時後，角膜發生過敏性結膜炎及角膜炎的機率；若能有效清除吸附於鏡片上的淚液分泌物就能減少因為取下角膜塑型片時鏡片刮傷角膜的可能及有效提升矯正效果和配戴時的舒適度。

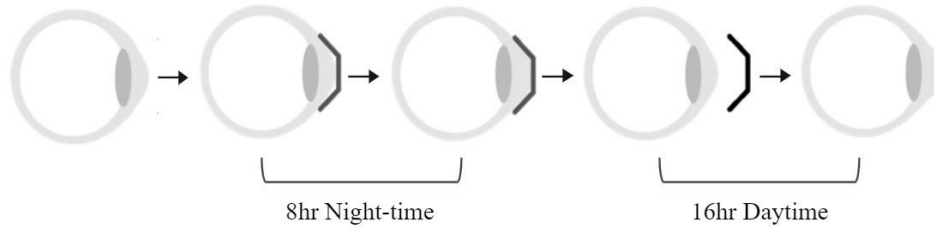
### 二、研究問題

使用現在已上市之商品及實驗室所配置之富含生物潤滑因子清潔液進行比對，探討哪種清洗方式及浸泡角膜塑型片的藥劑，可以有效降低淚液分泌物的殘留量，並且對角膜塑型片不會有損傷且可以維持良好之近視矯正功用。本實驗尋找能夠有效清除附著物的方法，與市售的商品進行比較，以了解是否有更佳的功效。

1. 找出較市面上商品更有效的自製清潔商品
2. 找到能夠有最佳清洗效果的複方多醣
3. 提升清潔液之清潔效果，進而減少淚液分泌物的吸附，以確保矯正效果

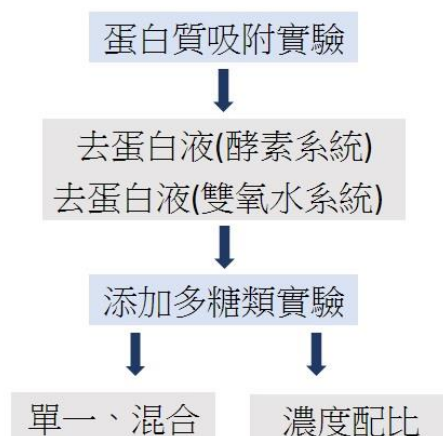
## 參、研究過程與辦法

一、實驗基礎設計架構如下圖所示：其餘實驗將會針對不同變因進行相對應的修正



圖一、模擬 24 小時配戴流程

1. 配置人工淚液
2. 測量初始人工淚蛋白質濃度，以利對照模擬晚上配戴 8 小時浸泡在調配好的人工淚液中並存放在培養箱中(配合人體體溫 37°C)
3. 檢測浸泡鏡片後殘餘溶液蛋白質濃度
4. 模擬白天鏡片浸泡在保養液中 16 小時 (室溫 25°C)
5. 檢測鏡片浸泡 16 小時後的清洗液
6. 使用清洗液搓洗鏡片
7. 用生理食鹽水泡鏡片
8. 檢測清洗後的鏡片戴白質吸附量



圖二、實驗架構

## 二、實驗變因



圖三、實驗變因的操作及說明

變因一：在過程中添加市售的去蛋白液(探討是否影響鏡片的蛋白質殘留吸附量)

### a. 酵素系統一(A 牌)

成分為含有蛋白質水解素和丙三醇的已消毒的水溶液，其不含防腐劑，且建議每周只用一次。使用時將鏡片置已注滿入保養液的水盒中，並滴入兩滴酵素除蛋白清潔液，浸泡時間為四小時，務必於配戴前保養液搓洗並以生理食鹽水沖洗乾淨。

### b. 雙氧水系統一AB 劑(B 牌)

使用時先注入 A 劑接著再注入 B 劑於蛋白液盒中，確保盒蓋已閉緊後輕微的搖動混合。混合後將鏡片置入，浸泡 30 分鐘。若使用超過 30 分鐘鏡片可能會變色，但不會影響到鏡片的品質。務必於配戴前保養液搓洗並以生理食鹽水沖洗乾淨。

變因二:多醣類單一及混合使用(效果分析)

在單一(各 4.5mg/ml)的情況下測試其清洗效果並以不同濃度配比測試混合使用多醣類的情況下其效果是否會有不同。



變因三:多醣類濃度配比(探討最佳比例)

再混合使用多醣類的情況設計多組配比濃度，分別為

- a. AA+CRG 各 2.25(mg/ml)
- b. AA2.25+CRG 4.5 (mg/ml)
- c. AA4.5+CRG 2.25 (mg/ml)
- d. AA+CRG 各 4.5(mg/ml)

並找出有最佳效果的濃度配比，且因為較 4.5(mg/ml)更高濃度之配比無法有效地溶解於溶劑中，故沒有進行比較

### 三、探討參數

- a.每天吸附上去蛋白質及脂質的量，檢測蛋白質及脂質吸光值(OD 值)
  - b.加入去蛋白液後，被沖洗下的淚液分泌物量(OD 值)(由多功能微盤分析儀檢測)
- ✓ 比較經過去蛋白液跟未經過去蛋白液對角膜塑型片之影響

實驗組別:共 8 片

XO <sub>2</sub> 鏡片:溶菌酶	XO <sub>2</sub> 鏡片:溶菌酶+去蛋白液
XO <sub>2</sub> 鏡片:溶菌酶+酯質	XO <sub>2</sub> 鏡片:溶菌酶+酯質+去蛋白液
Extreme 鏡片:溶菌酶	Extreme 鏡片:溶菌酶+去蛋白液
Extreme 鏡片:溶菌酶+酯質	Extreme 鏡片:溶菌酶+酯質+去蛋白液

表二、不同鏡片及仿生淚液中物質的比較

產品名稱	材料	材料組成	透氧率 (Dk)	潤濕角 [°]	矽含量 (SC)	折光率 (RI)	比重 (g/cm <sup>3</sup> )
Boston XO <sub>2</sub>	Hexafocon B	PMMA/ 矽/氟	141	38°	12-13%	1.424	1.190
Optimum Extreme	Roflufocon E	PMMA/ 矽/氟	125	6°	11-12%	1.438	1.150

表三、角膜塑型片鏡片比較

#### 四、檢測性質.

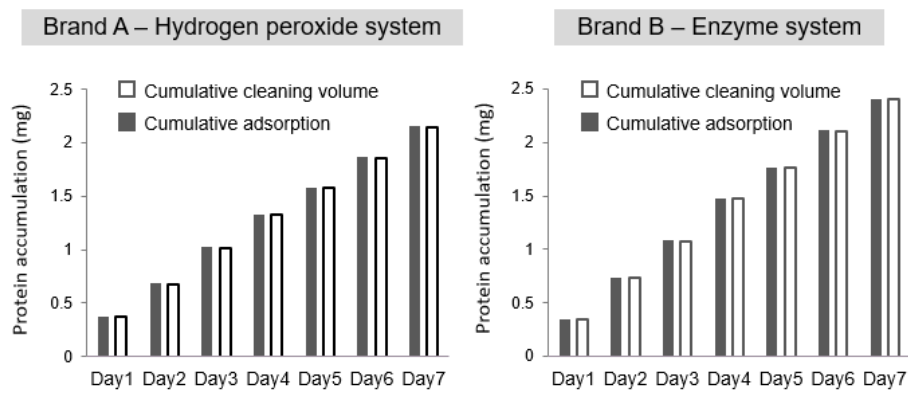
##### 實驗後分析:

- a. 光學性質
  - i. 從表面屈光度曲線判斷鏡片表面的大致形貌沒有發生太大的改變
- b. 淚液蛋白及脂質清洗值(OD 值)
  - i. 從濃度的變化代入至標準曲線以計算出其清洗量
- c. 掃描式電子顯微鏡觀察
  - i. 觀察表面吸附物
- d. 原子力顯微鏡觀察
  - i. 觀察表面吸附物
- e. 水接觸角之比較
  - i. 觀察水接觸角的變化，可以判斷其親水性比較及吸附情形

## 肆、研究結果

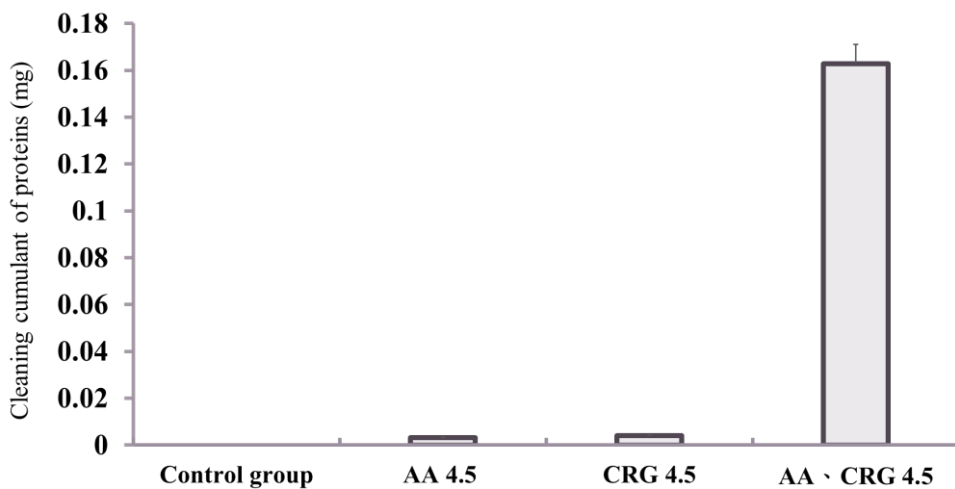
### 一、市售去蛋白液之清潔效果比較

從圖七左圖看到，使用 A 牌 ab 劑(雙氧水系統)清洗，蛋白質吸附於角膜塑型片上發現隨著天數增加，然而從蛋白質吸附量來看，使用每天的保養液並無法有效地將蛋白質移除表面; 從圖七右圖中可以觀測到，使用 B 牌清潔液(酵素系統)清洗，同樣發現蛋白質吸附量隨著天數增加於角膜塑型片上，且從吸脫附量有發現可以洗下部分蛋白質，但每日清洗量仍小於當日吸附量。



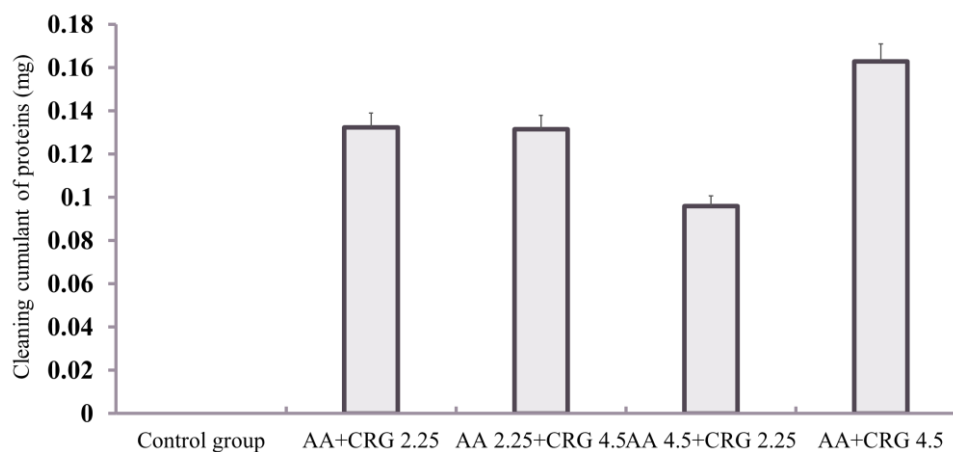
圖四、使用 A 牌、B 牌清潔液，一周之後蛋白質吸脫附狀況比較

### 二、多醣類單一混合使用



圖五、多醣類單一使用及混合使用之實驗結果

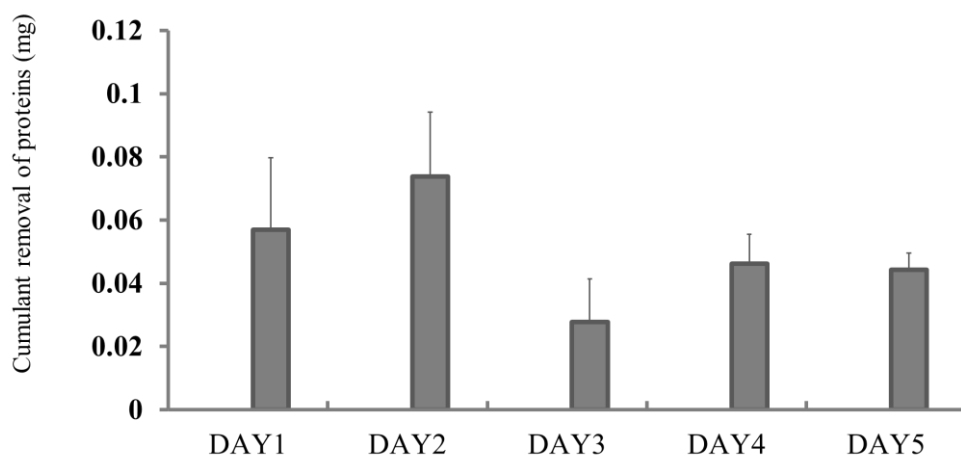
從圖表中可以得知，當 4.5 毫克/毫升 AA 搭配 4.5 毫克/毫升 CRG，顯示出了最高的清洗量。由結果表明，AA 和 CRG 的組合在提升清洗量達到潤滑效果方面發揮了明顯的作用。



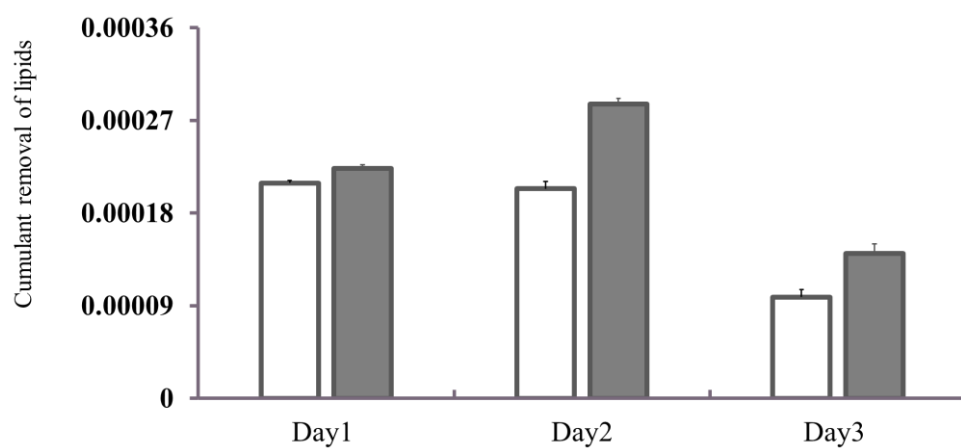
圖六、多醣類濃度配比之實驗結果

在確認多醣類對蛋白質的清洗和潤滑有效果後，接著測試兩種多醣類**最佳清洗效果的濃度比例**。從圖十六可以發現，經過三天連續使用的情況模擬，比較四種不同的濃度配比和市售產品，添加 4.5mg/ml 的 AA、CRG 吸附於鏡片上的蛋白質最少，有效降低蛋白質的吸附量。

從圖十七中則可以看到市售清潔液的清洗量趨近於零，當添加四種不同配比的多糖類 AA、CRG 於清潔液中，清洗效果皆有提升，並且可以發現添加 4.5mg/ml 的 AA、CRG 清洗蛋白質效果最好。



圖七、使用多醣類複方清潔液之蛋白質吸附實驗結果



圖八、使用多醣類複方清潔液之脂質吸附實驗結果

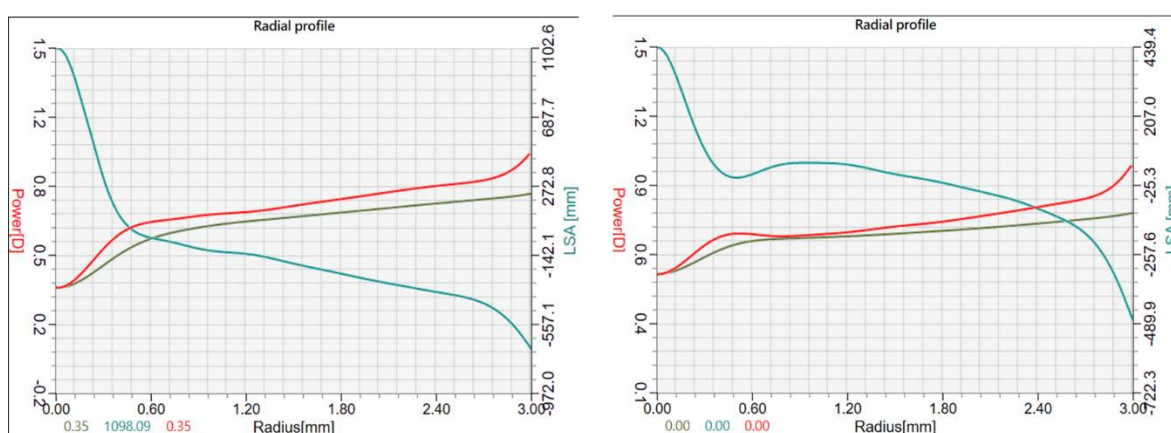
將效果最佳的多醣類複方清潔液(AA/CRG 各 4.5mg/ml)代入至脂質吸附的實驗可以看到清洗效果相較於市售商品的實驗有明顯的提升。

## 五、實驗結果之定性分析

### (一)光學性質:optical property

#### 角膜塑型片鏡片表面屈光度曲線

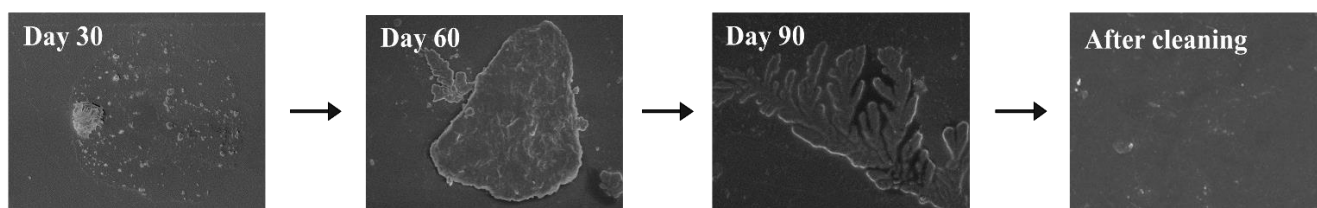
從屈光度曲線可以看到鏡片表面的大致形貌沒有發生太大的改變，但可以發現經過使用後仍然有部分物質在表面累積導致鏡片表面較不平整，所以可以看到曲線中有部分的起伏



圖九、角膜塑型片之 Power Profile、Integrated Profile、LSA

### (二)掃描式電子顯微鏡觀察

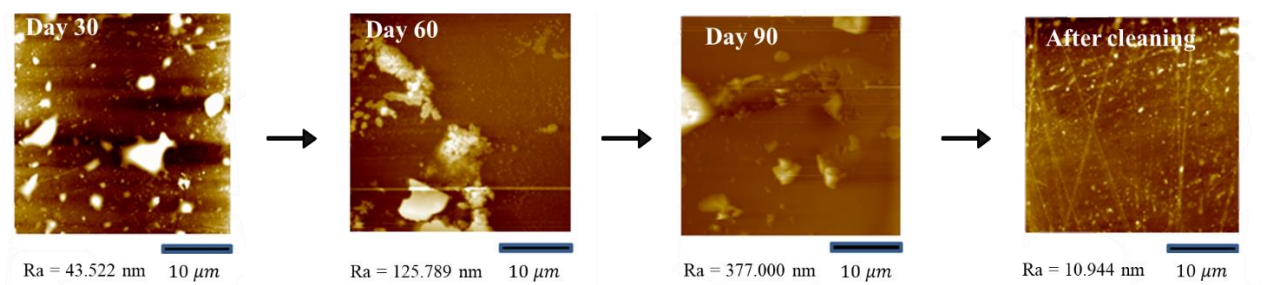
透過掃描式電子顯微鏡之照片，可以觀察到 30 天 60 天及 90 天的實驗皆有淚液分泌物吸附於鏡片的表面，而在經多醣類複方清潔液清洗後淚液分泌物有明顯的減少，因此我們可以判定其清洗效果有明顯的提升。



圖十、角膜塑型片表面形貌

### (三)原子力顯微鏡觀察

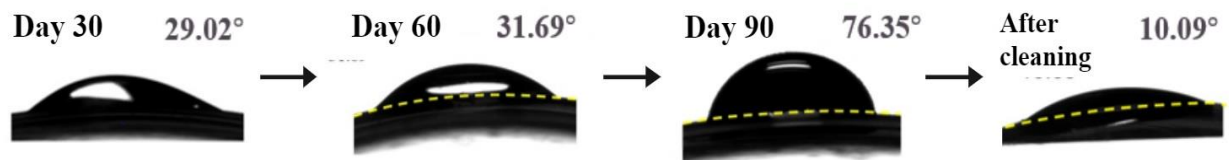
從實驗的研究結果可知(如圖六所示)，當模擬鏡片浸泡在模擬淚液，並且按照指示每天清潔鏡片，經浸泡不同天數淚液蛋白的吸附量明顯增加且有堆積的狀況出現，且表面粗糙程度(Ra 值)為 30 天時的 Ra=43.522(nm)，在經過的 60 天後 Ra=125.789(nm)，90 天後則大幅上升至 Ra=377.000(nm)，並寫在經過多醣類複方清潔液的清洗後變回 Ra=10.944。



圖十一、原子力顯微鏡(AFM)顯示浸泡於模擬人工淚液 30 天、60 天、90 天及清洗後角膜塑型片表面性質並觀察表面粗糙度

### (四)水接觸角的比較

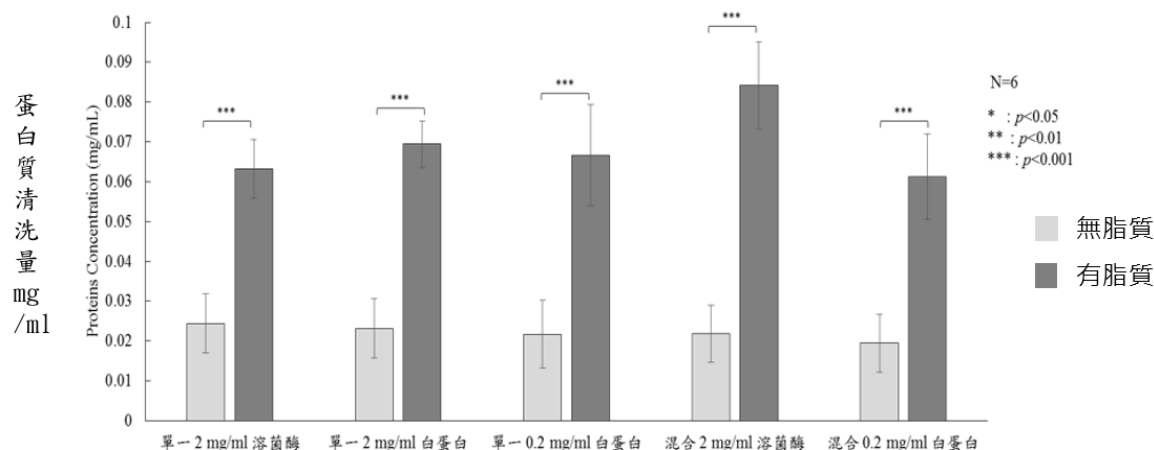
從試驗結果中可以看到水接觸角會因為時間的增加而不斷提升，因此角膜塑型片也會越來越偏離親水性，而偏向疏水的表面會使眼睛感到異物感進而降低舒適度



圖十二、水接觸之比較

## 伍、討論

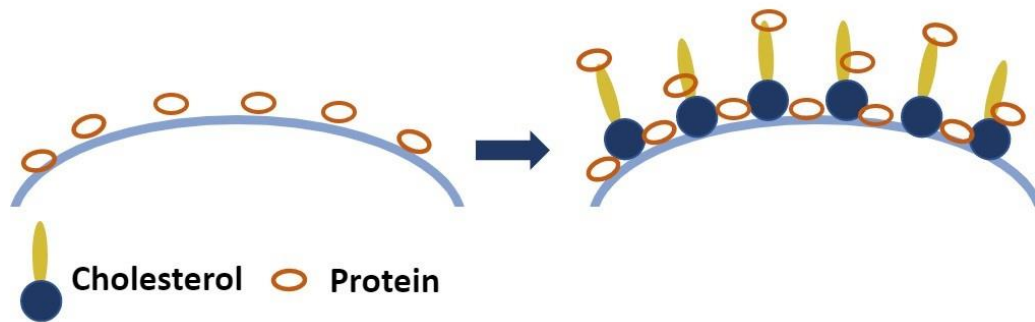
### 一、脂質對蛋白質吸附之影響



圖十二、脂質對蛋白質吸附之影響

當角膜塑型片放入眼睛，便會直接與淚液和角膜接觸，使得淚液中許多種類蛋白質與脂質吸附到角膜塑型片上。在眾多淚液蛋白種類中，其中以溶菌酶(lysozyme)佔最多，佔總蛋白質的 36%，其次依序為乳鐵蛋白(lactoferrin)，佔 21%、分泌型免疫球蛋白 A (secretory IgA)，佔 7%。而吸附在角膜塑型片上的蛋白質中，最多被探討的為溶菌酶(lysozyme)以及白蛋白(albumin)。蛋白質一旦吸附至表面，通常疏水性的胺基酸被保護在蛋白質分子內部，而親水性的胺基酸(有電荷或沒電荷)則在外部和環境中其他分子互動，當帶電荷的部分接觸到相反的電荷時，吸附作用則會被加強，此時蛋白質結構會重新組成以確保能量降低，這種結構變化會在角膜塑型片中添加矽氧烷能增加透氧率，但材質則成為疏水性，因此會先吸引淚液中的脂質疏水端吸附於鏡片上，使得鏡片材質上的親水端會被排擠而暴露於淚液中，因此鏡片的疏水性會降低，使得蛋白質的親水端吸附於鏡片。

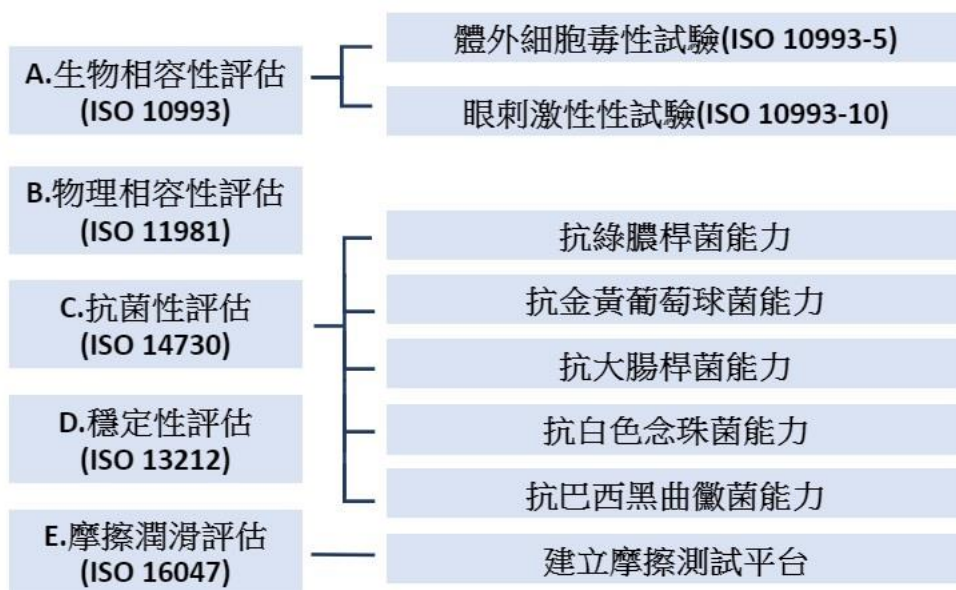




圖十三、脂質與蛋白質吸附實驗結果

## 陸、未來應用

1. 測試出能夠提供患者更有效、便利清潔鏡片的藥劑之最佳配比
2. 期望多糖類複方清潔液通過安全性評估(生物相容性測試、抗菌性測試)並成功商品化



圖十四、商品化測試與評估

## 柒、參考資料

1. 江忻如 (2016) 。角膜塑型片試戴片之微生物汙染分析。中臺科技大學醫學工程暨材料研究所：碩士論文。
2. Kakita, T., Hiraoka, T., & Oshika, T. (2011). Influence of overnight orthokeratology on axial elongation in childhood myopia. *Investigative ophthalmology & visual science* , 52 (5), 2170-2174.
3. Chen-Ying Su, Chi-Chun Lai, Lung-Kun Yeh, Kuan-Yi Li, Bo-Wu Shih, Ching-Li Tseng, and Hsu-Wei Fang\*. The characteristics of a preservative-free contact lens care solution on lysozyme adsorption and interfacial friction behavior. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. 2018 Aug; 171:538-543.
4. You-Cheng Chang, Chen-Ying Su, Chia-Hua Chang, Hsu-Wei Fang\*, Yang Wei  
\*. Correlation between tribological properties and the quantified structural changes of lysozyme on poly (2-hydroxyethyl methacrylate) contact lens. *Polymers*. 2020.
5. Su, C. Y., Chen, C. C., Huang, Y. L., Chen, S. W., & Fang, H. W. (2017). Optimization of biomolecular additives for a reduction of friction in the artificial joint system. *Tribology International*, 111, 220-225.
6. Holden, B. A., Fricke, T. R., Wilson, D. A., Jong, M., Naidoo, K. S., Sankaridurg, P., ... & Resnikoff, S. (2016). Global prevalence of myopia and high myopia and temporal trends from 2000 through 2050. *Ophthalmology*, 123(5), 1036-1042.

## 【評語】 100002

該研究延續先前去蛋白液對於角膜塑型片的清潔效果，有以下建議提供參考：

1. 此次發展富含生物潤滑因子的清潔液，針對脂質、蛋白質、胺基酸間結合效果之學理機制用以清潔效能在文獻內容內說明清楚，唯建議雖雖使用具有潤滑因子的物質，其降低摩擦係數之實驗結果屬於參考文獻，可考慮針對濕式磨潤實驗測試進行分析，以確定其清潔、潤滑之雙效成果。
2. 建議探討添加 AA 和 CRG 的組合在降低摩擦係數達到潤滑效果與劑量的原理
3. 實驗中說明市售清潔液的清洗量幾近為零，意味表示市售清潔液完全無效能，這是乎對於已經商品化的產品較有爭議，需再次確認。
4. 所開發清潔液系統旨在改善清潔力和磨擦力，其對角膜塑型片本身是否會產生影響？如鏡片隨時間物化性的穩定性、軟硬度等機械性質等。