

# 2023 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 070005

參展科別 微生物學

作品名稱 探討清冠一號對小鼠腸道菌相的影響

得獎獎項

就讀學校 臺北市立麗山高級中學

指導教師 陳駿、孟子青

作者姓名 吳亭萱、黃韻捷

關鍵詞 清冠一號、腸道菌相

## 作者簡介



大家好！我們是麗山高中的吳亭萱和黃韻捷，由於對生物充滿熱忱所以加入了學校的生物專題。因為彼此的興趣相投，我們成為了隊友！在找指導老師時，歷經許多教授的婉拒後，我們很幸運的找到了現在的老師和實驗室，並開始了清冠一號和腸道菌相關的研究。雖然過程中有許多我們需要克服的困難，但我們的研究也成功的有了結果並參與了這次的國際科展。特別感謝實驗中給予我們指導及經驗分享的教授、老師和長姐們，讓我們能有這次的機會。

## 摘要

部分 COVID-19 的確診者及未感染的民眾有服用清冠一號的需求與經驗，並且大部分民眾出現腹瀉的狀況。因此，我們想了解服用清冠一號是否會對腸道菌相造成影響，以及停用後腸道菌相是否會恢復為未服用前的樣子。本研究設計連續管餵小鼠清冠一號 5 天，在這 5 天期間及停止管餵 5 天後測量小鼠的體重與採集糞便檢體。以此實驗來探討服用清冠一號前、中、後，小鼠的腸道菌相變化。我們發現，服用清冠一號期間小鼠的腸道菌豐富度及多樣性降低，而停止管餵 5 天後，整體的腸道菌組成趨向服用清冠一號前，並且豐富度及多樣性也有恢復；在體重方面，管餵清冠一號第 1 天後，體重下降最為明顯，停止管餵後，體重逐漸上升。

## Abstract

During the pandemic of COVID 19, some confirmed cases of COVID-19 and uninfected people are taking NRICM101, and parts of them have diarrhea. We want to know what will happen to the gut microbiome after taking NRICM101 and whether it will return to its original state. In this study, mice were fed NRICM101 by oral gavage for 5 days and then stopped for 5 days. During this period, we measured the body weight of the mice and collected the fecal sample. We compare gut microbiota changes in mice before and after taking NRICM101. We found that the richness and diversity of intestinal bacteria in mice decreased during the period of taking NRICM101. However, after stopping Oral gavage for 5 days, the overall composition of gut microbiota tended to be similar to the start point, and the richness and diversity also increased. In terms of body weight, after the first day of tube feeding NRICM101, the weight loss was the most obvious, and after the oral gavage was stopped, the body weight gradually increased.

# 壹、前言

## 一、研究動機

目前 COVID-19 肆虐全球，研究人員調配出清冠一號來減緩確診者的症狀。除了確診者外，甚至有部分未確診者的民眾服用清冠一號來預防染疫(吳詠霓,2022)。清冠一號是由黃芩、魚腥草、北板藍根、栝樓實、荊芥、薄荷、桑葉、厚朴、炙甘草及防風十種中藥材熬煮而成(Keng-Chang Tsai et al.,2017)。許多民眾在服用此藥後，雖然 COVID-19 的症狀有減輕，但卻出現腹瀉的現象(陳麗婷,2022)。當清冠一號在減緩 COVID-19 症狀的同時，是否對人體的健康造成影響還未釐清。

其中，清冠一號中有部分藥材的副作用為胃部不適與腹瀉。而人體中有高達 100 兆個微生物，其中就有 95%座落在腸道中；腸道菌群的組成和多樣性容易受到各種因素（飲食、藥物、病原體和環境等）的影響，進而影響人體的健康(Schroeder BO & Bäckhed F.,2016)。雖然腸道菌相的變化跟許多疾病的因果關係尚未被釐清，但在肥胖、心血管疾病、發炎性腸道疾病、過敏等健康問題都被發現與其存在關聯性。然而，清冠一號對於腸道菌相的組成是否造成影響還未有研究揭示。因此，本研究想進一步探討清冠一號對腸道菌相的影響，並探討是否存在可行的解決方法來緩解清冠一號造成的菌相變化。

## 二、問題及研究目的

腸道菌群的平衡對於人體健康非常重要(Makki K et al.,2018)。然而，清冠一號成分中的黃芩、栝樓實與北板藍根便潛在胃部不適的副作用，而魚腥草與厚朴則會造成腹瀉。當人吃了清冠一號之後，可能會造成腸胃道內的菌叢改變。

基於上述說明，本研究希望探討以下的問題：

- (一) 服用清冠一號後，腸道菌是否會減少？
- (二) 經過一段時間後，菌相是否會恢復成原本的狀況？

## 三、文獻回顧

(一)清冠一號各成分副作用

從下表可發現魚腥草、瓜蒌、板藍根、厚朴這四種中藥材會產生腹瀉。

表一、清冠一號各成分及副作用。(資料來源：Healthy Matters 獨立委員會，2022)

成分	副作用
黃芩	利尿、血壓下降、胃部不適
魚腥草	少數腹瀉、氣喘
桑葉	減緩食物吸收、部分人有過敏反應
防風	痙攣、抽蓄症狀加重
瓜蒌	胃部不適、腹瀉、胸悶及頭暈
板藍根	胃痛、腹瀉及食慾不振
炙甘草	過量會造成血壓上升
厚朴	腹脹、腹瀉
薄荷	頭痛、口腔發炎及火燒心的症狀
荊芥	噁心嘔吐、頭暈

## 貳、研究方法或過程

### 一、實驗材料

#### (一) 實驗動物

##### 1. C57BL/6 小鼠

此實驗使用八周齡大的 C57BL/6 雄鼠 5 隻，於國家動物實驗中心購買。由於微生物於動物體內之研究因涉及生物體複雜的代謝反應，故無法以單純的細胞實驗探討微生物對於生物體造成之影響與可能產生的代謝產物，故須以活體動物進行實驗。

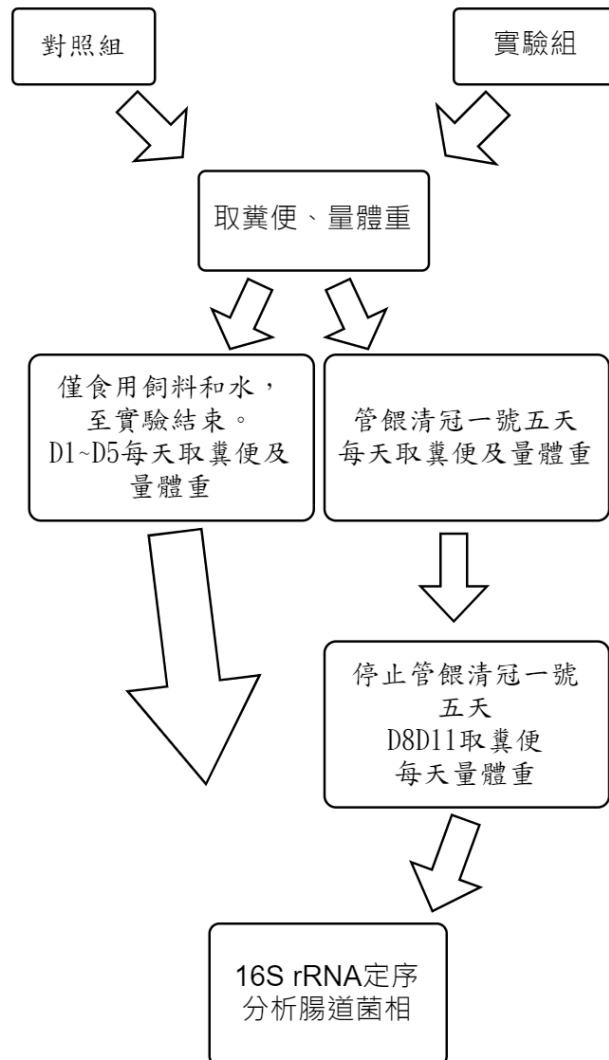
#### (二) 藥品試劑

##### 1. 清冠一號(NRICM101)

使用品牌為莊松榮製藥廠，一包粉末為 10 公克，藥品成分為魚腥草、桑葉、北板藍根、薄荷、黃芩、厚朴、栝樓實、防風、荊芥、炙甘草，共十種中藥材。服用方式：成人每天 1~3 次，每次 1 包加入 150~300ml 溫水。

## 二、實驗流程

### (一)實驗流程



圖一、實驗流程圖(資料來源:自行繪製)

## 二、清冠一號調配

### (一) 用量計算

小鼠一次食用的量：

$$10\text{g(每包的量)} \cdot (24.7\text{g(小鼠平均體重)}) / (40000\text{g(人可吃完整一包的體重)}) = 0.006175\text{g}$$

管餵一次的量：

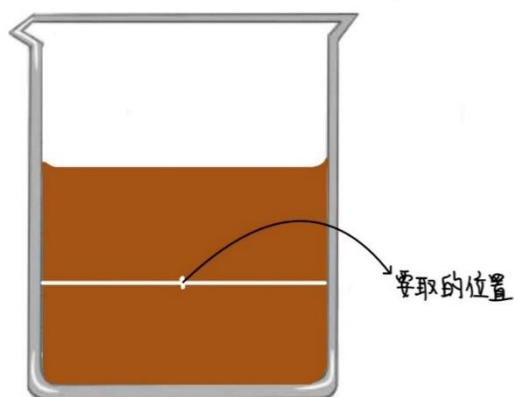
$$10\text{g} / (160(150\text{g 水} + 10\text{g})) = 0.006175\text{g} / (x\text{g(每次要餵的量)})$$

$$x = 0.0988 \text{ (g)} = 98.8(\mu\text{L})$$

因此取 100 ( $\mu\text{L}$ )

### (二) 調配方法

先取已經用滅菌器處理的二次水 150ml，加入一包(10 克)的清冠一號，在 40°C 下利用磁石攪拌，攪拌至均勻狀，用 pipette 取 1ml/管，共取 7 管(2 管備用)，因為粉末無法完全溶解於水中，為了避免取的粉量不均，所以每次取液體正中間位置(如下圖所示)。



圖二、取清冠一號的位置示意圖



### 三、實驗方法

#### (一) 實驗動物操作技術

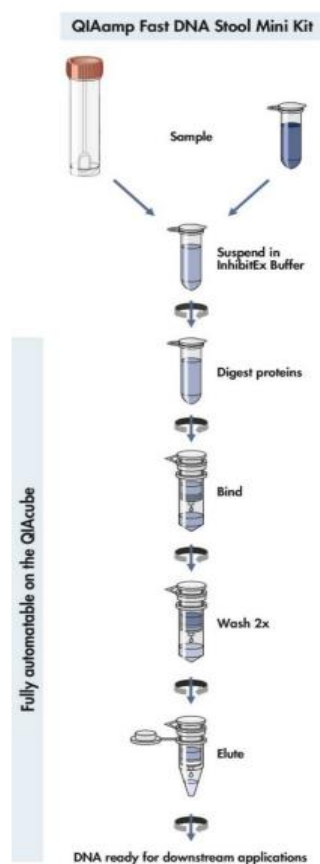
##### 1. 餵食管餵食(Oral gavage)

將小鼠保定後，確認小鼠食道伸直，藉由針筒管餵管將實驗物品送入小鼠胃中。  
此部分實驗由實驗室動物實驗人員操作。

#### (二) 小鼠糞便 DNA 萃取

DNA 萃取依照 QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit 的說明書進行，取 220mg 糞便放入 2ml 的微量離心管(microcentrifuge tube)放在冰桶上，避免 DNA 被分解。將 1 ml InhibitEX Buffer 加入糞便樣本裡，此溶液取代了笨重的抑制劑去除片劑，可有效去除糞便樣本中常見的 PCR 抑制劑。以 Vortex 震動 1 分鐘直到呈均勻液態懸浮物，去除糞便樣本中的 PCR 抑制劑來縮短萃取 DNA 的操作時間。接著置於 70°C 加熱 5 分鐘，分解樣本中的細胞。若樣本加熱 5 分鐘後尚未呈散狀，可再 95°C 加熱。接著 Vortex 震動 15 秒。用 14000rpm 離心 1 分鐘，將糞便沉於底部。將 15 $\mu$ l 的 Proteinase K 加入新的微量離心管，此溶液可消化蛋白質和去除核酸製劑中的污染物。接著從上清液抽取 200 $\mu$ l 加入其中，再加 200 $\mu$ l Buffer AL，為了促進細胞膜的裂解，蛋白質、DNA 和其他大分子的變性。Vortex 混合 15 秒後置於 70°C 10 分鐘。加入 200 $\mu$ l 的酒精 (96-100%) 均勻混合，因為 DNA 無法溶於酒精中，因此加入酒精讓 DNA 析出。將混合後的檢體液已同一管 QIAamp spin column 進行 14000rpm 離心，移除廢液後加 500 $\mu$ l Buffer AW1 清洗液，以 14000rpm 離心 1 分鐘後再移除廢液，檢體再加入 500 $\mu$ l Buffer AW2 清洗液，以 14000rpm 離心 3 分鐘後再移除廢液，這兩種清洗液可以洗去 DNA 中的污染物。再以 14000rpm 離心 1 分鐘後以移除殘餘的酒精清洗液。最後加入 200 $\mu$ l 的 Buffer ATE 靜置 1 分鐘以溶

出純化完成的 DNA，為了延長 DNA 的性能。整個 DNA 萃取的流程如下圖。



圖三、小鼠糞便檢體 DNA 萃取流程圖(資料來源：QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit 產品說明書)。萃取核酸的標準作業流程。

### (三) 檢測檢體 DNA 濃度

為確定之後 PCR 檢體所需的量，利用 NanoDrop 微量光譜儀，測量檢體中 DNA 的值，以作為 PCR 所取的檢體標準。此儀器的原理為:利用不同物質的吸收光的波長，檢測檢體中各個物質的含量。測量結束後，螢幕左側將會出現 DNA 濃度的曲線圖，右上角出現檢測值: 濃度、A260/A280、A260/A230。(A260 為 DNA 及 RNA 的波長，A280 及 A230 分別為蛋白質及檢體中其他的物質)，當  $1.8 \leq A260/A280 \leq 2.0$  則檢體中的 DNA 及 RNA 含量為正常值。

#### (四) 16S rRNA 定序前處理

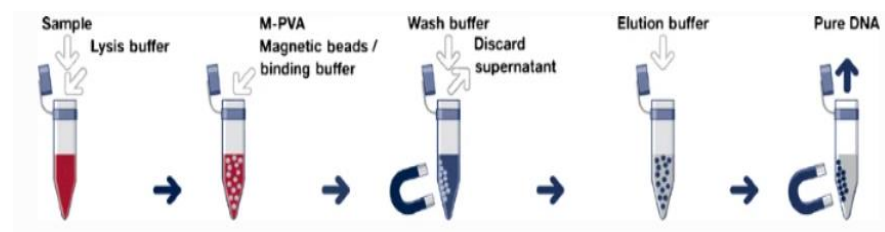
建立 16S rRNA 總基因體擴增定序文庫的用意:取得足夠的訊號並篩選欲定序的目標基因、添加分析所需的人工序列。本研究使用的人工序列為：341F：5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3'，806R：5'-GACTACHVGGGTAT CTAATCC -3'。

##### 1. 擴增子 PCR

取複製完的 PCR 產物 2.5 $\mu$ l、2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix 12.5  $\mu$ l、擴增子 PCR 正向和反向引物 1  $\mu$ M 各 5  $\mu$ l 配置成 25  $\mu$ l 溶液。接著進行 PCR。PCR 反應條件如下：denature 95 $^{\circ}$ C 3 分鐘；Amplification 95 $^{\circ}$ C 30 秒、55 $^{\circ}$ C 30 秒、72 $^{\circ}$ C 30 秒進行 25 cycles；final extension 72 $^{\circ}$ C 5 分鐘；最後保存於 4 $^{\circ}$ C。

##### 2. 磁珠純化(AMPure XP purification)

將 Amplicon PCR 板在 20 $^{\circ}$ C 下以 1,000  $\times$  g 離心 1 分鐘以收集凝結物，小心取下密封。使用 25  $\mu$ l 的多道移液器，將整個擴增子 PCR 產物從 PCR 板轉移到 MIDI 板。Vortex AMPure XP beads 30 秒，以確保珠子均勻分散。根據樣本數量調整要加入的珠子體積。接著在 Amplicon PCR 板的每個洞加入 20 $\mu$ l 的 AMPure XP beads。使用 96 孔 PCR 板，輕輕的上下移液 10 次。在室溫下放置 5 分鐘，不要搖晃。將 PCR 板放在磁台上等上清液清除，用 80%酒精清洗磁珠兩次，之後加入 52.5 $\mu$ l 的 10 mM Tris pH 8.5 打散磁珠，使 DNA 溶於溶液中，利用磁台再次吸附磁珠以獲得純化的 DNA。



圖四、磁珠萃取流程及原理(Sonja Berensmeier,2006)

### 3. Index PCR

利用多通道移液器，將每一個洞中移出 5 $\mu$ l 到新的 96 孔板中。接著將 Index 1 垂直排列、Index 2 水平排列在 TruSeq Index Plate Fixture，將 5 $\mu$ l 的 PCR 產物 DNA 的 96 孔 PCR 板也放入此中。加入 Nextera XT Index Primer 1、Nextera XT Index Primer 2 各 5 $\mu$ l，25 $\mu$ l 的 2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix 和 10 $\mu$ l PCR Grade water。用 Microseal 'A' 覆蓋，在 20°C 下以 1,000  $\times$  g 離心 1 分鐘。接著進行 PCR。PCR 反應條件如下：denature 95°C 3 分鐘；Amplification 95°C 30 秒、55°C 30 秒、72°C 30 秒進行 8 cycles；final extension 72°C 5 分鐘；最後保存於 4°C。

### 4. 第二次磁珠純化

此步驟與第一次的作法相同，僅改變 Amplicon PCR 在 20°C 下以 280  $\times$  g 離心 1 分鐘以收集凝結物、56 $\mu$ l 的 AMPure XP beads 和 27.5 $\mu$ l 的 10 mM Tris pH 8.5。

## (五) 統計方法

在取得定序結果後，由實驗室資訊分析員工進行數據處理。藉由比對定序數據與微生物資料庫，取得本次實驗中，各檢體之表現之基因與其對應之微生物，並分析其表現量。

### 1. 菌相多樣性分析

(1) Chao1：用來估計群落中物種豐富度，豐富度為群落中的物種數目。

(2) Shannon：用來考量物種的豐富度與均勻度，均勻度為群落中的種類多寡。指數數值愈高，即具有較高的多樣性

### 2. 菌相組成豐富度差異

(1) LEfSe：用來分析具有統計學意義的生物標誌物不同樣本類型之間存在顯著差異，可以用 LDA 分數來表示。如果 LDA 數值大於 4，代表具有顯著差異。

### 3. 菌相相似度分析

(1) 非度量多維度分析(NMDS)：根據檢體中所有的基因數據，以點的形式反映於多維空間，點和點間的距離反映樣本差異，距離越遠，差異越大。

(2) PCoA：經由一系列特徵值及特徵向量排序後，從多維資料中找到最主要的元素及結構。樣品距離越近，表示物種的組成結構越相似。

#### 4. 差異標的分析

(1) 線性回歸判別分析(LDA)：估算每個物種豐度對差異效果影響的大小，用來判別此群落或物種是否具有顯著差異。

(2) False discovery rate (FDR)：一種衡量錯誤程度的方法，用來考慮顯著結果中錯誤的比例。

## 參、結果與討論

### 一、結果

#### (一) 清冠一號對實驗小鼠的體重影響

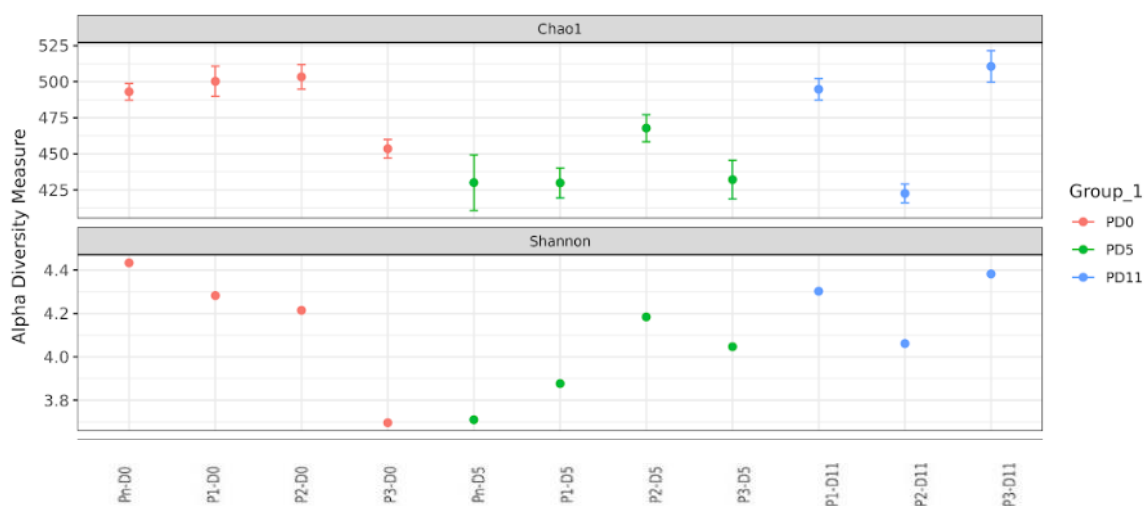
D0 為實驗尚未開始時的原始體重。D1~D5 為管餵清冠一號期間時間。實驗紀錄發現，每隻小鼠的體重都有下降的趨勢。其中以編號 Pnon 和 P3 小鼠體重下降 2 公克，其幅度最為明顯。並且每一隻實驗組在服用清冠一號第一天後(D2)體重下降程度最大。而所有小鼠在停止餵食清冠一號(D5 為最後一天餵食清冠一號)之後，體重都有逐漸上升的情形。(圖五)



圖五、D0~D11 小鼠體重折線圖。橫軸為實驗時間，縱軸為體重(單位：公克)虛線為對照組，其餘四條為實驗組。Pnon、P1、P2、P3 是依耳洞位置所命名。

## (二) 清冠一號對腸道菌相多樣性的影響

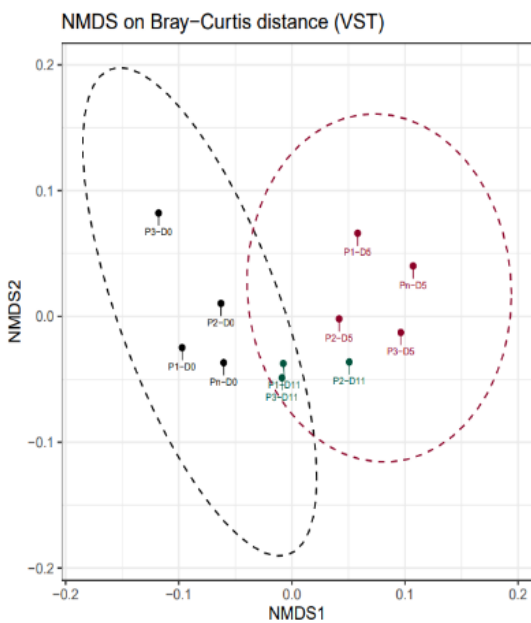
我們利用 Chao1 與 Shannon 兩種不同統計方式，分析小鼠糞便檢體中的菌相豐富度與多樣性。從 Chao1 的分析結果中，我們發現實驗組每一隻小鼠在管餵清冠一號五天後 (D5)，菌相的豐富度多有所下降，而在結束管餵後休息六天時(D11)，編號 P1 和 P3 的小鼠腸道菌相的豐富度有逐漸恢復的趨勢，其中以 P1 小鼠最為明顯；而 Shannon 的分析結果顯示，小鼠在管餵清冠一號五天後(D5)，編號 Pnon、P1 與 P2 的小鼠，腸道菌相的多樣性明顯下降，P3 則是上升；而在結束管餵後休息六天時(D11)，編號 P1 小鼠的菌相多樣性回復至實驗開始前(D0)的水平，而編號 P3 的小鼠，其數值則是超過實驗開始前 (D0)的狀態，而編號 P2 小鼠卻呈現下降的趨勢。(圖六)



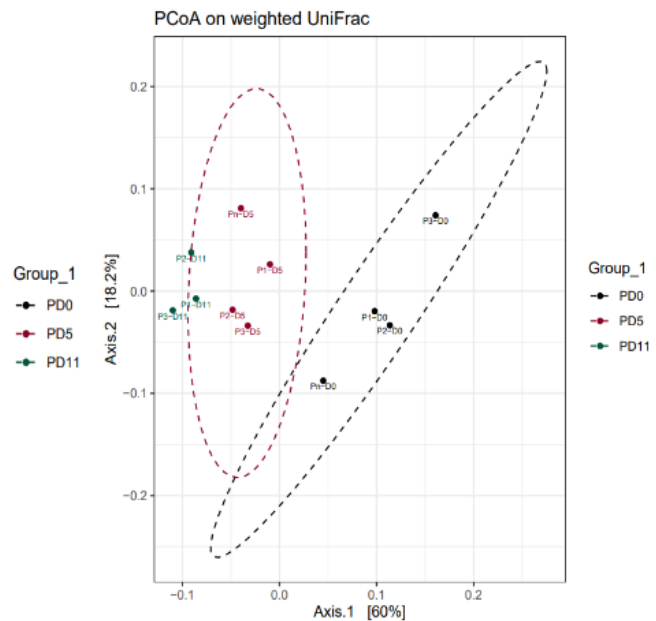
圖六、在 D0、D5、D11 中實驗組小鼠的 Alpha 多樣性指數分布圖。Chao1 為菌群的豐富度、Shannon 為菌群的豐富度以及均勻度。

### (三) 不同期間之小鼠腸道菌相相似度

在圖七中，我們利用 NMDS 分析，將全部菌相基因數據降維，結果顯示，小鼠在管餵清冠一號五天後(D5)的菌相組成和未服用前時(D0)存在較大的差異，而在結束管餵後休息六天時(D11)，小鼠的菌相組成則介於餵清清冠一號五天後(D5)與未服用前(D0)之間；然而，在圖八中，利用 PCoA 的方式分析，此統計方法先透過特徵值排序，先找出差別最大的兩個維度後，再進行分析。結果顯示，餵清清冠一號五天後(D5)與未服用前(D0)存在明顯差異，而結束管餵後休息六天時(D11)與餵清清冠一號五天後(D5)較為相似。



圖七、利用 NMDS 分析 D0、D5、D11 的菌相相似程度。



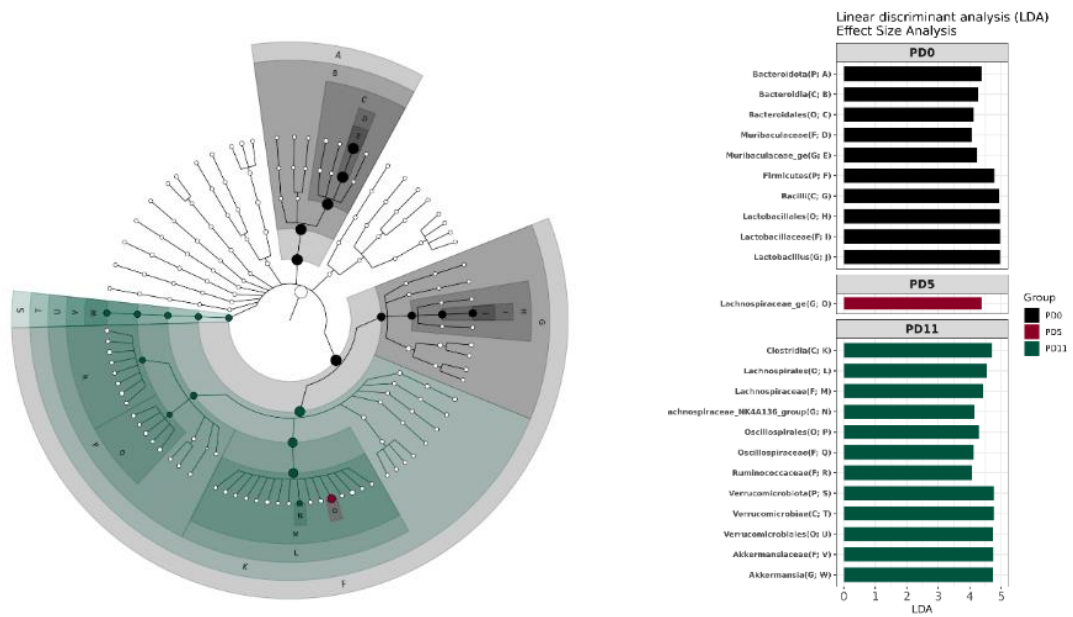
圖八、利用 PCoA 分析 D0、D5、D11 的菌相相似程度。

60%、18.2%為差異的貢獻度。



#### (四) 不同期間之小鼠腸道菌相成分豐富度差異

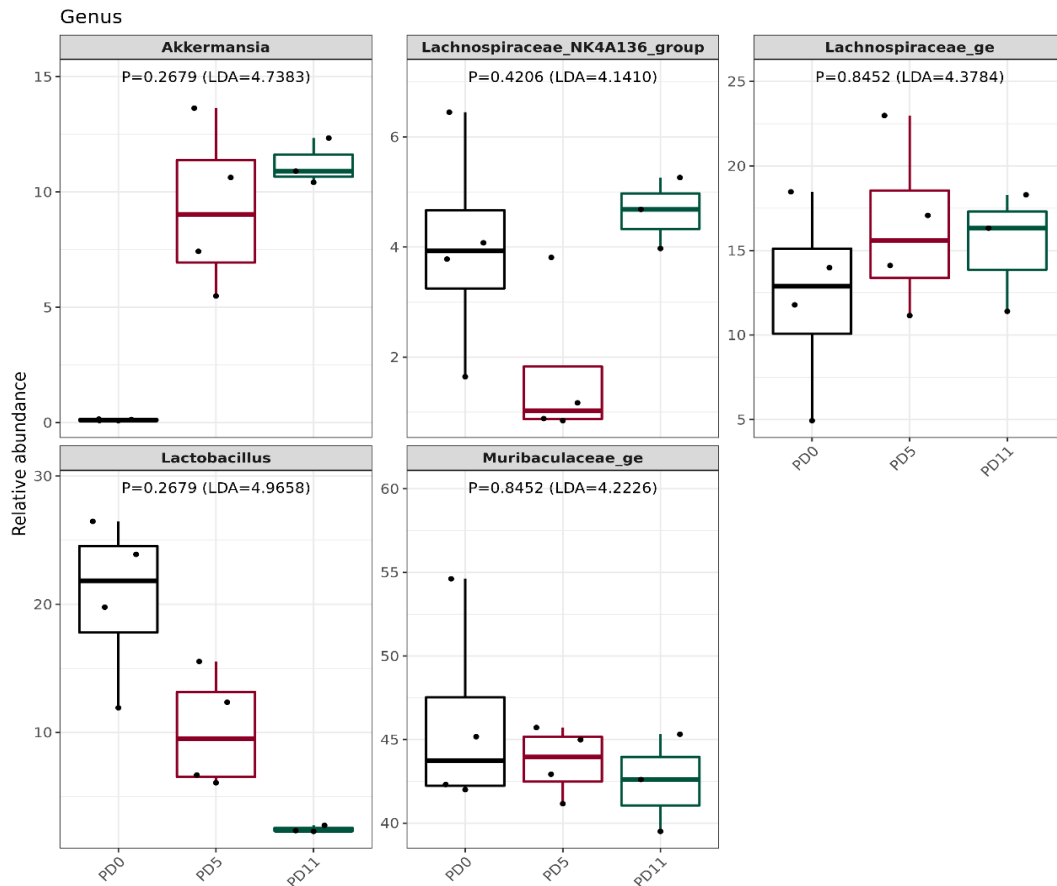
在圖九中，我們利用 LefSe 分析，對比三個時段：管餵清冠一號前(PD0)、管餵五天時(PD5)、停餵五天後(PD11)，並利用演化樹圖標示出 LDA 大於 4 的生物標識。結果顯示在三個時段中有許多 LDA 大於 4 的差異標的，而且在管餵清冠一號五天後(D5)，LDA 大於 4 的標誌物有 *Lachnospiraceae*\_ge 菌屬。然而停止管餵五天後的腸道菌相與管餵清冠一號前則有非常多的差異標的。



圖九、利用 LefSe 分析 D0、D5、D11 的菌相成分豐富度差異。

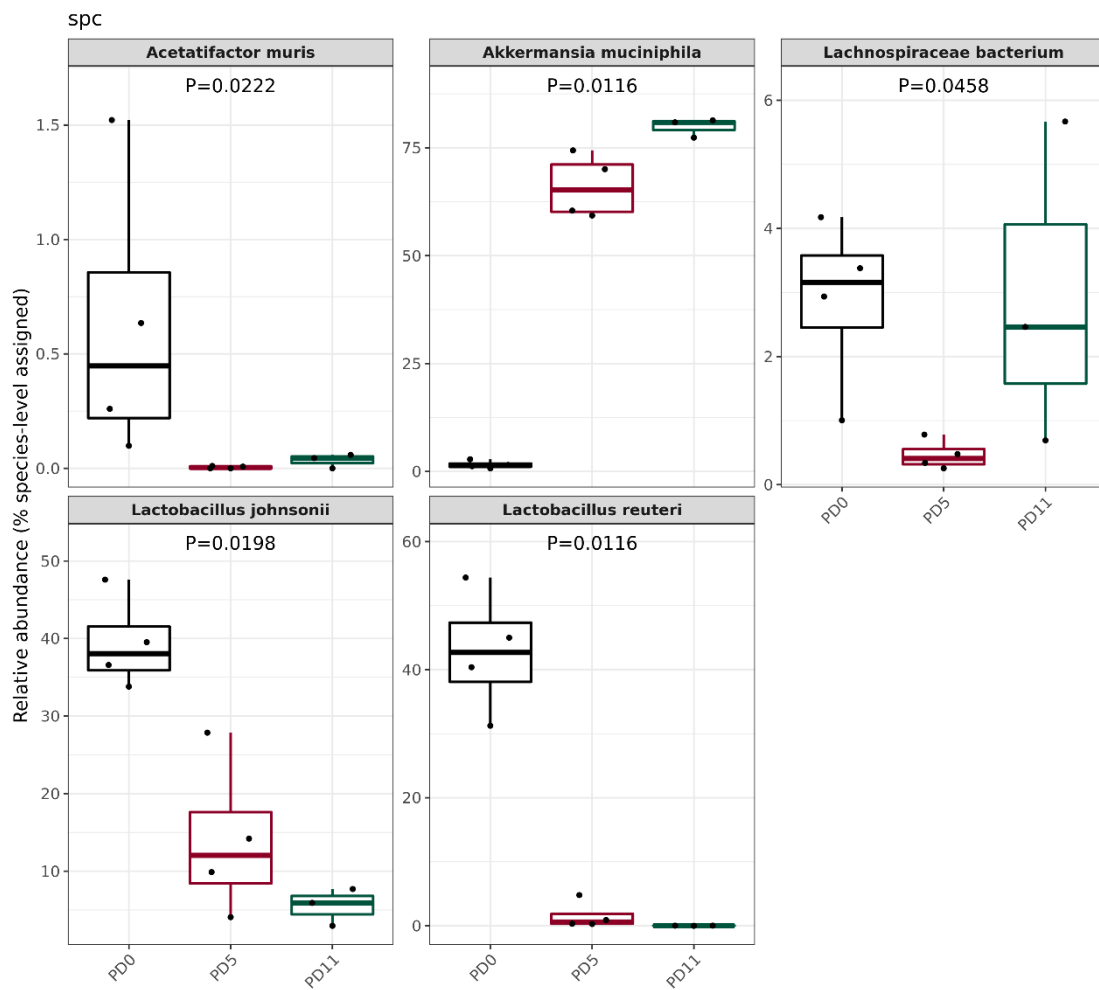
(五) 不同期間出現差異的菌屬及菌種

從圖九中可以看到 *Akkermansia* 這個菌屬的表現量在管餵清冠一號五天後(D5)的小鼠腸道中有上升，且在休息六天後(D11)也沒有下降的情形；*Lachnospiraceae\_NK4A136\_group* 在管餵清冠一號五天後(D5)時表現量下降，但在休息六天後(D11)的豐富度有所恢復；*Lachnospiraceae\_ge* 的表現量在管餵清冠一號五天後(D5)上升，休息六天後(D11)仍未下降；*Lactobacillus* 的表現量則持續下降；*Muribaculaceae\_ge* 的表現量疑似在則是休息六天後(D11)較低。



圖十、不同時段出現差異的菌屬相對豐度圖。

圖十一中，*Acetatifactor muris* 這個菌種在管餵清冠一號五天後(D5)的時候表現量降低( $p=0.029$ )，在休息六天後(D11)依舊很低；*Akkermansia muciniphila* 在 D5 時上升( $p=0.029$ )，在休息六天後(D11)仍在上升；*Lachnospiraceae bacterium* 在管餵清冠一號五天後(D5)有下降的情形( $p=0.029$ )，而在休息六天後(D11)有恢復；*Lactobacillus johnsonii* 有持續下降的情形；*Lactobacillus reuteri* 的表現量在管餵清冠一號五天後(D5)時下降( $p=0.029$ )，休息六天後(D11)也未恢復。



圖十一、不同時段出現差異的菌種相對豐度圖。

## 二、討論

### (一) 餵食清冠一號期間實驗組體重狀況

從上述的體重結果，我們可以發現，服用清冠一號第一天會造成小鼠體重下降，但每一隻的下降程度會因為個體差異而有所差別，可能表示老鼠在這期間食慾下降，或有部分腸胃不適的狀況；停止服用清冠一號後，可能因為食慾逐漸上升，以及腸胃不適的狀況減輕，而使體重逐漸增加至原本的狀況。若需要釐清是否影響食慾導致進食量下降，則需要另外定量與測量飼料減少的幅度。

### (二) 餵食清冠一號前、中與後的菌相組成分析

經由 Chao1、Shannon、NMDS 與 PCoA 分析後，可以發現小鼠被餵食清冠一號時菌群的豐富度與多樣性下降，我們覺得是因為 *Akkermansia* 此菌屬會抑制腸上皮黏膜生成 (N. Floch.,2017)，而它在餵食清冠一號期間增加，造成此結果。而菌群的種類變化也大多是呈現先下降再上升的趨勢，但是 p3 是個例外，原因是因為編號 P3 的小鼠在餵食清冠一號前，腸道的菌群豐富度與多樣性種類就很低，導致沒有完全一致的成果。若之後增加實驗動物數量，可能可以挑出離群值，使數據能進行更多統計分析並探討趨勢。

整體的菌相組成在結束餵食清冠一號之後有朝向原本狀態恢復的趨勢，但若只看差異前兩大的標的，則是沒有恢復的明顯跡象，我們認為是因為這兩個基因標的的差異太大，可能五天的時間內不夠使他恢復，而造成此結果。

### (三) 清冠一號實驗期間之差異菌屬與菌種

在餵食清冠一號前中後，不同期間的檢體中，我們發現有一些菌屬的表現量出現  $LDA > 4$  的明顯差異，但因為實驗動物的數量較少，因此難以在一般微生物研究常用的 False discovery rate (FDR, adjust p value) 的統計方法下同時達到顯著差異，但本研究依然觀察到有些菌屬在餵食小鼠清冠一號後上升，並沒有下降，例如：*Lachnospiraceae*\_ge。而也有部分菌屬流失，休息六天後也沒有復原，例如：*Lactobacillus*。

在菌種的部分，我們也針對能定義的菌種的基因進行分析，發現有些菌種在餵食清冠一號後上升，並沒有下降的情形，例如: *Akkermansia muciniphila*。也有些菌種流失後休息六天依舊沒有復原，例如:*Lactobacillus reuteri*。

## 肆、結論與應用

經由上述實驗以及討論，本研究可以得知食用清冠一號前中後對腸道菌相的變化如下：

一、服用清冠一號期間：

- (一) 腸道菌相豐富度以及多樣性下降。
- (二) 腸道菌相組成與服用清冠一號前不同。

二、服用清冠一號後五天：

- (一) 腸道菌相豐富度與多樣性恢復至服用清冠一號前。
- (二) 整體的腸道菌組成趨向服用清冠一號前，但若僅看差較大之基因 則未恢復。

目前民眾在確診之後服用清冠一號或者是用來預防感染的情形日漸增多，我們認為本研究的結果能協助了解清冠一號對腸道菌相的影響，作為之後與此相關研究的背景參考，進一步討論清冠一號對其他生理機制，例如：行為、發炎、免疫等的影響。繼續延伸的話，也可以再針對上述的菌相研究是否有其他保健食品可以使這些菌相恢復。提供大眾能在服用清冠一號後，再服用此食品減輕腸道菌相改變的現象，使腸道菌相更健康。

## 伍、參考文獻

- 一、吳詠霓 (2022 年 5 月 13 日) 不用瘋搶清冠一號！中醫師疾呼做好「這兩件事」更重要 未染疫勿隨意服用。健康 2.0。 <https://health.tvbs.com.tw/medical/332839>
- 二、陳麗婷(2022 年 6 月 8 日)清冠一號、防疫茶配方多 癌友可安心使用？腹瀉副作用怎麼辦？癌症問康健。 <https://cancer.commonhealth.com.tw/article/311>
- 三、Healthy Matters 獨立委員會。(2022) 香港中藥指南。Healthy Matters。 <https://www.healthymatters.com.hk/zh/chinese-medicines/>
- 四、Keng-Chang Tsai, Yi-Chia Huang, Chia-Ching Liaw, Chia-I Tsai, Chun-Tang Chiou, Chien-Jung Lin, Wen-Chi Wei, Sunny Jui-Shan Lin, Yu-Hwei Tseng, Kuo-Ming Yeh, Yi-Ling Lin, Jia-Tsong Jan, Jian-Jong Liang, Chun-Che Liao, Wen-Fei Chiou, Yao-Haur Kuo, Shen-Ming Lee, Ming-Yung Lee, and Yi-Chang Sua. (2021) A traditional Chinese medicine formula NRICM101 to target COVID-19 through multiple pathways: A bedside-to-bench study. Biomed Pharmacother. 133, 111037. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7676327/>
- 五、Makki K, Deehan EC, Walter J, Bäckhed F. (2018) The Impact of Dietary Fiber on Gut Microbiota in Host Health and Disease. Cell Host Microbe. 23(6):705-715. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29902436/>
- 六、N. Floch. (2017) Influence of Microbiota on Mechanisms of Bariatric Surgery. The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology. 267-281. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128040249000318>
- 七、QIAGEN. (2020, February). QIAamp Fast DNA Stool Mini Handbook. <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=2a3f2c0b-2e8a-49fd-b442-829108ae1a4a&lang=en>

八、Schroeder BO, Bäckhed F.(2016). Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease. *Nature Medicine*.22(10),1079-1089.<https://www.nature.com/articles/nm.4185>

九、Sonja Berensmeier.(2006).Magnetic particles for the separation and purification of nucleic acids. *Applied Microbiology and Biotechnology*,73,495–504.<https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-006-0675-0>

## 【評語】 070005

大部分服用清冠一號的民眾出現腹瀉的狀況，本研究分析餵食老鼠清冠一號是否會對腸道菌相造成影響，以及停用後腸道菌相是否會恢復原微生物相。結果發現服用清冠一號會降低腸道菌豐富度及多樣性，停止服藥會恢復菌相。實驗結合時事的研究十分重要，並獲初步結果，是有趣的研究。

建議：

1. 本研究注重觀查，但無解釋為何清冠一號會造成腹瀉的狀況。  
其實其中三味藥已知會造成腹瀉。
2. 清冠一號對實驗小鼠的體重影響，每隻小鼠狀況不盡相同。  
P2 第二天體重就開始增加，Pnon 這隻第五天後就沒記錄體重。只有二隻符合所述停止管餵後，體重逐漸上升。應該要增加樣本數！
3. 清冠一號對腸道菌相多樣性的影響實驗中，P3 在 0 天的菌相豐富度與多樣性太低，P2 在餵 5 天後腸道菌相的多樣性並無減少，無 Ph:D11 的數據。



4. 不同期間出現差異的菌屬及菌種的實驗中，是取四隻小鼠的平均值嗎？個體差異很大！