

杏仁對 DSS 誘發大鼠結腸炎之影響

賴韋誌 潘鶴佳 林筱茹 張博勝 莊凱翔 黃惠玲*

嘉南藥理科技大學保健營養系（所）

摘要

研究顯示杏仁（almond）皮粉末可以降低發炎反應，因此本實驗採用中國苦味杏仁，目的在於探討直接飲用杏仁茶是否有緩和結腸炎病程的效應。採用 7 週齡 Wistar 品系雄鼠 16 隻，隨機分成兩組，飼料採用粉狀 Chow diet，分為控制組（C group）、杏仁組（A group），杏仁組供給 5% 杏仁粉添加於飲用水直接飲用，而且每日新鮮配製，飼料與飲用水或杏仁飲皆採自由攝取 (*ad libitum*)。飼養 5 週，第 6 週開始於飲用水中添加 2% DSS (w/v) (Dextran sulfate sodium)，誘發腸道發炎，每天計算疾病活動指數 (Disease activity index, DAI)，連續 5 天後換回一般飲用水 2 天，第 8 天犧牲，採集血液與大腸組織，分析相關指標。結果顯示：給予 2% DSS 後，第 1~3 天急性結腸炎間，糞便潛血指數 A 組顯著低於 C 組，並且在 DAI 指數判定於第 2 天，A 組顯著低於 C 組，顯示杏仁具有減緩糞便潛血程度之功效。飲用杏仁茶並不會影響到大鼠的生長狀況與肝功能指標，大腸的長度、脂質過氧化指標 TBARS 含量、GSH、SOD 酶素活性兩組間無統計差異。**結論：**大鼠誘發結腸炎模式下餵食杏仁，能改善糞便潛血程度並降低第二天之 DAI 指數，推測杏仁有輕微緩和腸炎效應，如果增加杏仁的劑量，可能會有更顯著的效果。

關鍵詞：杏仁、結腸炎、大鼠

*通訊作者：嘉南藥理科技大學保健營養系（所）
Tel: +886-6-2664911Ext3410
Fax: +886-6-2667327
E-mail: cherry85@mail.chna.edu.tw / cherry8565@gmail.com

前言

慢性腸道黏膜發炎疾病 (Inflammatory bowel disease, IBD)，主要包括潰瘍性結腸炎 (Ulcerative colitis, UC) 及克隆氏症 (Crohn's disease, CD) 兩種，其疾病的成因至今仍不明瞭，遺傳基因、環境因素(營養)及免疫病理機轉各方面因素都可能相關 (Boismenu & Chen, 2000; Epstein et al., 2010)。IBD 患病時間愈長，容易讓腸黏膜發育不全，增加日後癌症的危險性 (Clapper et al., 2007)。

誘發實驗動物鼠之急性結腸炎有多種方式

(Boismenu & Chen, 2000; Melgar et al., 2005; Melgar et al., 2007)，包括：基因剔除 (IL-10 knockout、基因轉殖 (細胞激素的調控)、免疫缺陷 (CD4⁺ T cells/SCID) 與化學藥劑誘 (Dextran sulfate sodium, DSS) 處理。DSS 誘導結腸炎是最常用也是最佳的 UC 痘症臨床前動物模式。近年來有文獻使用大鼠進行腸炎相關研究 (Lenoir et al., 2011) 並針對結腸的抗氧化酵素活性分析，脂質過氧化的程度或是疾病發展指數 (Disease activity index, DAI) 的判定。許多文獻已經證實堅果類具有改善

冠狀動脈心臟病之危險因子，特別是不飽和脂肪酸；堅果類中多酚類物質具有正面效益，杏仁皮中包含 flavonols、flavanones 和 phenolic acids 物質，具有減少慢性發炎疾病危險因子、抗衰老、抗氧化和清除自由基...等功能^(Garrido et al., 2008; Mandalari et al., 2010; Mandalari et al., 2011)。

杏仁 (almond)，屬於薔薇科草本植物，可分為源於中國的苦味杏仁，呈心臟型略扁，左右不對稱，種皮紅棕色或暗棕色，又稱為「北杏」。另一種甜味杏仁，又稱為「南杏」，甜杏仁外型較大，左右對稱，種皮淡棕色至暗棕色，微甜而不苦。杏仁果的營養成分 (表2)，含有多種維生素、微量元素、不飽和脂肪酸與多種胺基酸，藥用成分苦杏仁素 (Amygdalin) 具有特殊生理價值^(張家琪, 2008; 劉燕樺, 2008)，主要的有效成分為 Cyanogenic glycosides。

Mandalari 等學者⁽²⁰¹¹⁾針對杏仁皮研究指出，在 CD1 小鼠品系，每日以 4mg DNBS (dinitrobenzene sulfonic acid) 經由肛門進入直腸 (約 4.5 cm) 進行注射誘發小鼠腸炎連續四天，施後分別在第 1 小時與 6 小時後管餵 30mg/kg BW (杏仁皮粉末溶於生理食鹽水)，結果發現給予杏仁皮粉末組別在體重流失程度、組織病理學分數、促發炎相關細胞激素 Tumor necrosis factor- α (TNF- α) 、Interleukin-1 β (IL-1 β)、脂質過氧化程度均有顯著下降^(Mandalari et al., 2011)。杏仁為天然食物來源，屬核果類富含單元不飽和脂肪酸，且含有多種生物活性的成份，於核果類中維生素 E 含量最為豐富，文獻顯示杏仁具降低血脂功能、氧化壓力的傷害與降低心血管疾病發生率...等生理效用，但目前文獻對於堅果類改善大鼠腸炎病症發展相關文獻很少，因此本實驗目的在於模擬人類膳食中額外補充杏仁，探討對於結腸炎病程發展是否有減緩效果。

材料與方法

1. 動物飼養與實驗設計

本試驗已通過嘉南藥理科技大學動物實驗小組審核 (CN-IACUC-100029)。實驗動物採用 Wistar

品系 7 週齡雄性大鼠 16 隻，購自樂斯科生物科技公司。餵食粉末飼料適應三天後，依體重隨機分為兩組，每組 8 隻，分別為控制組 (C 組，飲用蒸餾水) 與杏仁組 (A 組，5% 杏仁茶水)，均餵食齧齒類專用飼料 Chow diet (Laboratory Rodent Diet 5001)，水與飼料均令其自由攝食；受試動物均個別飼養於不鏽鋼網籠，動物房溫度維持在 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ，光照及黑暗各 12 小時 (08:00 ~ 20:00 屬光周期，其餘為黑暗期)。每日記錄飼料攝取量，每 3 日記錄體重，並觀察大鼠外觀與行為是否異常。

動物飼養 5 週後再於飲水中添加 2% DSS (MP Biomedicals. CAT NO. 160110) 誘發大鼠急性結腸炎，連續 5 天後換成蒸餾水，記錄體重、攝食量、糞便潛血及活動力，並計算疾病活動指數(DAI 指數)，觀察杏仁對 DSS 誘發大鼠結腸炎病程之影響，於急性結腸炎第八天以 CO_2 窒息犧牲，收集血液與結腸組織進行相關分析。

2. 杏仁茶配製及成分

杏仁粉末採用順天堂藥廠製備，內含有 60% 濃縮杏仁萃取物與 40% 濃粉，每公克粉末含有 5.3 大卡。依據行政院衛生署—台灣地區食品營養成分資料庫表示，杏仁成分如 (表 2) 所示，杏仁茶的配製採用一般飲品之添加比例 (5-10%)，由於 10% 的濃度放置數小時後易產生沉澱，容易塞住水瓶，因此本實驗採用 5%，於飲用水添加 5% 杏仁粉末，以磁石攪拌加熱 80°C 維持 1 小時，每日新鮮配製。

表 1. 杏仁粉末營養素成分 (每 100 g)

Calories (kcal)	396
Water(g)	5.9
Protein(g)	3.5
Fat(g)	5.2
Carbohydrates(g)	84.7
Fiber(g)	0.5
Dietary fiber(g)	0.7
Ash (g)	0.7
Cholesterol (mg)	-

Vitamin A (retinol equivalent)	0.5
Vitamin E (α -tocopherol equivalent)	0.13
Vitamin B1 (mg)	0.03
Vitamin B2 (mg)	0.18
Niacin (mg)	0.17
Vitamin B6 (mg)	0
Vitamin B12 (μ g)	-
Vitamin C (mg)	0
Sodium (mg)	93
Potassium (mg)	64
Calcium (mg)	83
Magnesium (mg)	13
Phosphorus (mg)	88
Iron (mg)	0.8
Zinc (mg)	0.5

資料來源：行政院衛生署（2003）－台灣地區食品營養成分資料庫

3. 疾病活動指數

DAI 評分指標，主要參照前人文獻 (Melgar et al., 2005) 分別為：(1) 腹瀉程度 (2)糞便潛血程度 (3) 體重流失程度，三者加總分數平均後即為 DAI 指數。評分方式如之前文獻所示 (蔡怡婷, 蕭寧馨, & 黃惠玲, 2010)

4. 分析方法：

(1) 血清 AST、ALT：

均採用市售試劑套組 (RANDOX)，於 0.5 mL 石英管中加入樣品 50 μ L 及 0.5 mL 反應混合液，震盪均勻後，於室溫反應 (30°C~37°C) 1 分鐘，測 OD 340 nm/min 吸光值的下降速率 (OD 340 nm/min)，每分鐘記錄一次，總計三分鐘，依下列公式換算出樣品濃度。ALT 酶素活性 (U/L) = $1746 \times \Delta_{340}$ nm/min，AST 酶素活性 (U/L) = $1746 \times \Delta_{340}$ nm/min。

(2) 大腸 TBARS、GSH、SOD：

詳細流程如發表所示 (蕭慧美, 張廉筠, & 黃惠玲, 2009)。組織均質液製備，約 0.1 g 的組織加入冰的 0.01 M Potassium phosphate buffer (含 1.15% KCl)，以均質機 (Glas-Co1) 研磨約 10% ~ 15% (w/v) 的均質液，

當天分析 TBARS、GSH。適量均質液加入適量 TCA，使蛋白質沉澱後，於 4°C 下離心 10~20 分鐘，取上清液。

TBARS 方法：取適量 TCA 上清液進行 TBARS 分析，以不同濃度之標準品 TMP (1,1,3,3-tetra-methoxy propan) 作出標準曲線換算出樣品濃度，結果以 nmol/g tissue 表示。

GSH 方法：取適量 TCA 上清液與不同濃度之標準品 GSH (reduced form) 加 0.8 mL 0.4 M Tris buffer，pH 8.9 [含 0.02 M EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)] 再加入 0.1 mL DTNB (5,5-Dithiobis-2-nitro-benzoic acid) 以甲醇配製混勻後，室溫下靜置 5 分鐘，測 OD_{412 nm} 吸光值，比對標準曲線換算出樣品濃度，結果以 μ mol/g tissue 表示。

SOD 方法：SOD 活性之 1 個單位即在 OD 550 nm 進行 time scanning，使 0.025/min 的增加速率降低一半，經蛋白質校正後，得到比活性表示為 unit/mg PMS protein。

5. 統計分析

實驗結果均以平均值 \pm 標準差 (mean \pm SD) 表示，以 Student's t test 來檢定兩組獨立樣本其組間差異性，將顯著水準設定為 $p < 0.05$ ，以 SAS 軟體進行各項統計分析。

結果與討論

1. 生長狀況

(1) 生長體重與飼料利用率 (表 2、圖 1)

給予 2% DSS 前，體重變化方面，兩組沒有顯著差異；飼料攝取方結果；每日飲水量，杏仁茶水組於第二週顯著高於控制組 (圖 1)，平均飼料攝取量的結果 A 組為 C 組的 86%；終體重、每日平均體重增加量與總熱量攝取，兩組間皆無顯著差異。

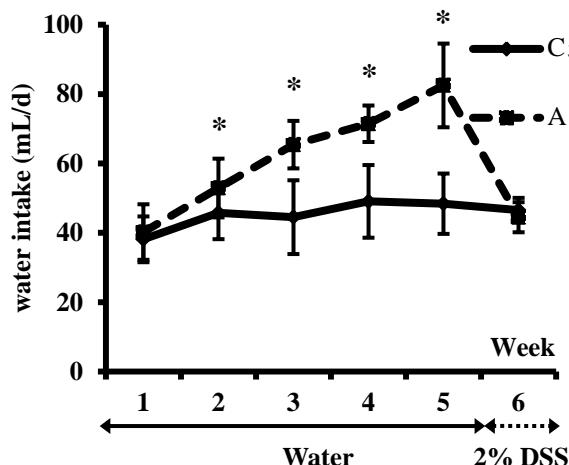


圖 1. 杏仁與飲用水攝取量

綜合以上結果顯示，A 組每日平均飼料攝取量顯著降低，由於 A 組的杏仁茶水含有熱量，每隻大鼠每天平均攝入 13.4 ± 0.3 大卡，導致兩組的每日總熱量攝取相當，因此雖然大鼠的攝食量在杏仁組顯著低於控制組，但是並沒有影響大鼠的生長狀況，體重增加量與終體重於兩組之間均無統計差異。行為與活動量均與控制組類似，由杏仁茶水的攝取量得知其適口性極佳，老鼠飲用量顯著高於蒸餾水。在每日總熱量攝取（飼料熱量+杏仁熱量）方面，兩組間無統計差異。

表 2. 添加杏仁對 DSS 處理大鼠之生長狀況與相對組織重

	C	A
n	8	8
<u>Body weight and food intake</u>		
Initial body weight (g)	103 ± 8	101 ± 9
Final body weight (g)	315 ± 23	314 ± 9
Gross energy (kcal/d/rat)	92.1 ± 7.1	94.5 ± 5.0
Body weight gain (g/d/rat)	6.06 ± 0.47	6.09 ± 0.30
Food intake (g/d/rat)	22.8 ± 1.8	$19.6 \pm 0.5^*$
<u>Relative tissue weight (%)</u>		
Heart	0.31 ± 0.02	0.29 ± 0.02
Thymus	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.02
Lung	0.35 ± 0.04	0.38 ± 0.05

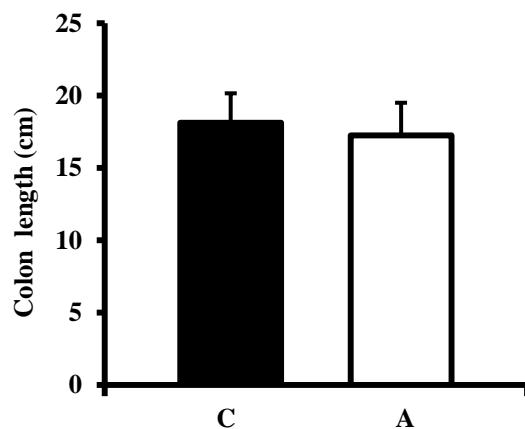
Liver	3.21 ± 0.10	3.27 ± 0.18
kidney	0.85 ± 0.05	0.78 ± 0.09
Spleen	0.23 ± 0.02	0.24 ± 0.03
Small intestine	2.75 ± 0.53	2.74 ± 0.12
Retroperitoneal fat	0.69 ± 0.20	0.95 ± 0.33
Epididymal fat pad	1.23 ± 0.15	1.18 ± 0.15
Testis	0.89 ± 0.01	0.91 ± 0.05
prostate	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01

1. Each value represents Mean \pm S.D.

2. gross energy = 飼料熱量 + 杏仁熱量

3. * $p < 0.05$ by Student's *t* test.4. Relative tissue weight (%) = [Tissue weight (g) / Body weight (g)] $\times 100$.

(A)



(B)

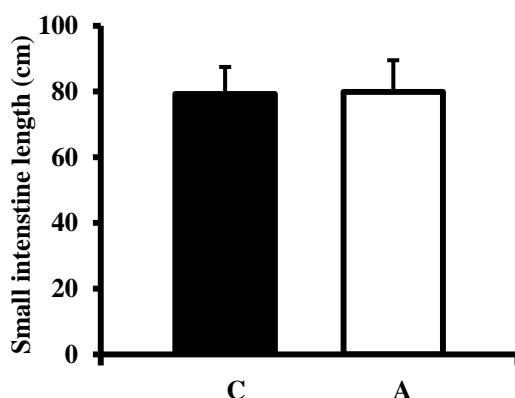


圖 2. (A) 結腸長度 (B) 小腸長度

(2) 相對組織重量

本實驗的大鼠各部位的相對組織重量、小腸長度與結腸長度，兩組之間皆沒有顯著差異（表 2、圖 2）。由於腸道縮短也是病程指標之一，結腸愈短代表損傷愈嚴重（Melgar et al., 2005），由此結果得知，餵食杏仁茶飲不會影響結腸長度，推測對於結腸損傷沒有正面亦無負面的影響。

(3) DAI 指數與結腸炎發展

餵食 2% DSS 誘導結腸炎期間，第 1~3 天急性結腸炎期間，糞便潛血指數如圖 3 所示，A 組顯著低於 C 組 ($p<0.05$)，並且 DAI 指數判定於第 2 天之 A 組顯著低於 C 組 ($p<0.05$)（圖 4），另外在腹瀉程度及體重流失程度上，兩組並沒有顯著差異（結果未顯示）。

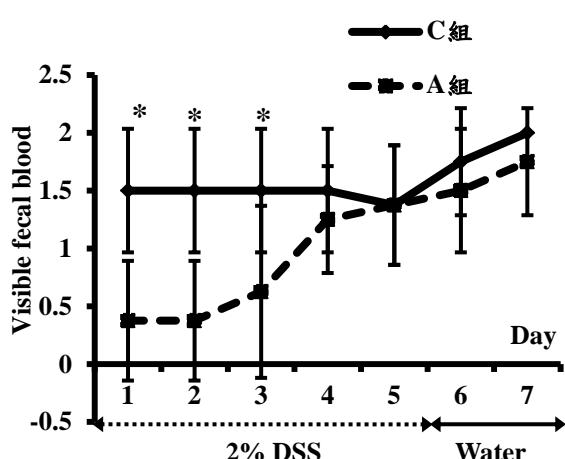


圖 3. 餵食 DSS 急性結腸炎之臨床分析-糞便潛血指數

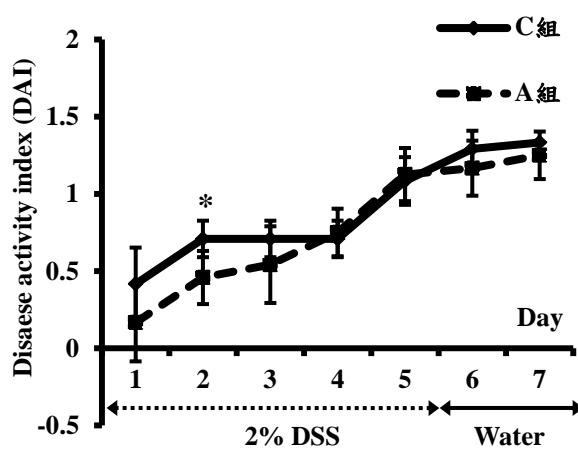


圖 4. 餵食 DSS 之疾病活動指數 (DAI)。DAI=(腹瀉計分+糞便潛血計分+體重流失計分)/3

綜合以上結果顯示，杏仁在急性期初期有輕微緩和腸炎病程的發展，特別對於糞便潛血的改善有很大的效果。腸炎模式的急性期一般為前 7-8 天，之後進入慢性恢復期（Melgar et al., 2005），糞便潛血的發生時間常被視為腸道損傷嚴重程度的直接指標，因此杏仁組雖然僅於第二天的 DAI 指數有顯著低於控制組，但糞便潛血直到第四天才比較明顯，因此仍可推測其對腸黏膜可能具有保護效應。杏仁的效應推測可能是(1) 與杏仁中的膳食纖維有關，能改善腸道菌叢平衡，對於腸黏膜有保護效應；(2) 抗發炎效應，最近的細胞培養實驗顯示，苦杏仁的活性成分 amygdalin 具有減少 LPS 刺激下 IL-1 β 、IL-6 與 TNF- α 增加，推測具有抗發炎作用（Hwang et al., 2008; Lin & Lin, 2011），由於杏仁茶水中的膳食纖維量並不高，推測影響不大，因此未來實驗將可以著重於發炎反應進行探討。推測提高杏仁的濃度，可能會看到更顯著的腸道保護效果。

2. 抗氧化/助氧化系統

(1) 杏仁對結腸抗氧化酵素與脂質過氧化指標

餵食 5% 杏仁茶 5 週後，結腸組織中 GSH 濃度與抗氧化酵素 SOD 活性，於兩組間均無顯著差異，脂質過氧化程度亦無顯著差異。血清 ALT 與 AST 於兩組間沒有顯著差異，代表沒有肝功能異常現象（表 3）。

表 3. 添加杏仁對 DSS 處理之大鼠抗氧化酵素與脂質過氧化程度之分析

	C	A
n	8	8
Serum ALT (U/L)	15.8 ± 4.0	15.6 ± 6.9
Serum AST (U/L)	31.6 ± 3.1	29.8 ± 4.1
SOD activity (unit/mg PMS protein)	9.31 ± 2.29	6.99 ± 2.21
GSH (umol/g)	1.52 ± 1.25	1.02 ± 0.46

TBARS (nmol/g)	14.5 ± 7.3	16.1 ± 4.7
----------------	------------	------------

1. Each value represents Mean ± S.D.

2. * $p < 0.05$ by Student's t test.

由於 DSS 誘發結腸炎病程之機轉尚未明朗，推測與發炎反應與氧化壓力加劇有關，由文獻得知腸道黏膜容易受到活性氧自由基刺激，致使腸道內細胞受損，且氧化壓力足以影響 IBD 病程進展 (Melgar et al., 2005; Mandalari et al., 2011)。本實驗模擬人類飲用杏仁茶的習慣，給予大鼠 5% 杏仁茶水 5 週，對於大腸組織抗氧化酵素並沒有顯著影響，推測可能與 (1)杏仁的使用劑量太低有關，所以沒有明顯的增強抗氧化能力效應；(2)與測定時間點有關，由於第八天犧牲時，兩組均處於急性期最嚴重時期，DAI 並無顯著差異，建議日後可以採用時間點 (time course study) 偵測，於 0、2、4、8 天犧牲，更可以得知不同指標在病程發展上變化。雖然整體而言，抗氧化的指標均無顯著差異，至少可以確認餵食杏仁茶飲並不會惡化 DSS 誘發結腸炎病程，而且對於血便程度確實有緩和效果，至於其明確的保護機轉則尚待進一步探討。

結論

以 DSS 誘發 Wistar 大鼠結腸炎模式下，餵食杏仁茶飲能改善糞便潛血程度，並降低第二天之 DAI 指數，推測杏仁有輕微緩和腸炎效應，建議增加杏仁的劑量，可能對腸道保護有更正面的影響。

謝辭

本實驗承蒙行政院國家科學委員會補助大專學生參與專題研究計畫研究（NSC 100-2815-C-041-012-B）經費協助，讓研究得以順利完成，謹致謝忱。

參考文獻

- 蕭慧美, 張廉筠, & 黃惠玲. (2009). 糖水餵食與限食對大鼠抗氧化狀況的影響. *嘉南學報*, (35), 172-180.
- 蔡怡婷, 蕭寧馨, & 黃惠玲. (2010). 傳統米食對 DSS-誘發小鼠結腸發炎病程之影響. *嘉南學報*, (36), 135-140.
- 劉燕樺. (2008). 杏仁果飲食介入對第 2 型糖尿病患者之心血管疾病危險因子的影響. *臺北醫學大學保健營養學系碩士論文*
- 張家瑋. (2008). 不同加工條件對苦杏仁品質之影響. *國立屏東科技大學食品科學系所碩士論文*
- Boismenu, R., & Chen, Y. (2000). Insights from mouse models of colitis. *Journal of Leukocyte Biology*, 67(3), 267-278.
- Campa, C., Schmitt-Kopplin, P., Cataldi, T. R., Bufo, S. A., Freitag, D., & Kettrup, A. (2000). Analysis of cyanogenic glycosides by micellar capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B, Biomedical Sciences and Applications*, 739(1), 95-100.
- Clapper, M. L., Cooper, H. S., & Chang, W. C. (2007). Dextran sulfate sodium-induced colitis-associated neoplasia: A promising model for the development of chemopreventive interventions. *Acta Pharmacologica Sinica*, 28(9), 1450-1459.
- Epstein J, Docena G, MacDonald T.T., Sanderson I.R., (2010). Curcumin suppresses p38 mitogen-activated protein kinase activation, reduces IL-1beta and matrix metalloproteinase-3 and enhances IL-10 in the mucosa of children and adults with inflammatory bowel disease. *Brish Journal of Nutrition*, 103(6):824-832.
- Garrido I, Monagas M, Gomez-Cordoves C, Bartolome B. (2008). Polyphenols and antioxidant properties of almond skins: influence of industrial processing. *Jounal of Food Science*, 73(2):C106-115.

- Hwang, H. J., Lee, H. J., Kim, C. J., Shim, I., & Hahn, D. H. (2008). Inhibitory effect of amygdalin on lipopolysaccharide-inducible TNF-alpha and IL-1beta mRNA expression and carrageenan-induced rat arthritis. *Journal of Microbiological Biotechnology*, 18(10), 1641-1647.
- Lenoir, L., Rossary, A., Joubert-Zakeyh, J., Vergnaud-Gauduchon, J., Farges, M. C., Fraisse, D., et al. (2011). Lemon verbena infusion consumption attenuates oxidative stress in dextran sulfate sodium-induced colitis in the rat. *Digestive Diseases and Sciences*, 56(12), 3534-3545.
- Lin, W.C., & Lin, J.Y. (2011). Five bitter compounds display different anti-inflammatory effects through modulating cytokine secretion using mouse primary splenocytes in vitro. *Journal of Agricultural Chemistry*, 59(1), 184-192.
- Mandalari, G., Bisignano, C., D'Arrigo, M., Ginestra, G., Arena, A., Tomaino, A., et al. (2010). Antimicrobial potential of polyphenols extracted from almond skins. *Letters in Applied Microbiology*, 51(1), 83-89.
- Mandalari, G., Bisignano, C., Genovese, T., Mazzon, E., Wickham, M. S., Paterniti, I., et al. (2011). Natural almond skin reduced oxidative stress and inflammation in an experimental model of inflammatory bowel disease. *International Immunopharmacology*, 11(8), 915-924.
- Melgar, S., Bjursell, M., Gerdin, A. K., Svensson, L., Michaelsson, E., & Bohlooly-Y, M. (2007). Mice with experimental colitis show an altered metabolism with decreased metabolic rate. *American Journal of Physiology*.
- Gastrointestinal and Liver Physiology*, 292(1), G165-72.
- Melgar, S., Karlsson, A., & Michaelsson, E. (2005). Acute colitis induced by dextran sulfate sodium progresses to chronicity in C57BL/6 but not in BALB/c mice: Correlation between symptoms and inflammation. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 288(6), G1328-38.

The effect of dietary almond on the pathogenesis of DSS-induced colitis in rats

Wei Chih Lai He Jia Pan Hsiao Ju Lin Po Sheng Chang
Kai Hsiang Zhuang Hui Ling Huang*

Department of Health & Nutrition,
Chia-Nan University of Pharmacy and Science, Tainan, Taiwan 71710, R.O.C.

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of almond on the pathogenesis of dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in rats. 7-wks-old male Wistar rats were assigned to 2 groups (n=8), control group (C) and 5% almond water-fed group (A). After 5-wks feeding, rats were induced colitis by receiving 2% DSS (w/v) in their drinking water for 5 days. During the acute colitis, clinical manifestations and disease activity index (DAI) were recorded everyday. All rats were killed at day 8, blood and colon were collected for further analysis. Our results showed that rats treated with almond caused a decrease in DAI at day 2, this ameliorative effect mainly was attributed to the reduction of gross bleeding. There were no differences in body weight gain, serum GOT and GPT activities between the two groups. The length of colon, TBARS, GSH content and superoxide dismutase (SOD) activity in colon didn't differ between the two groups. Therefore, we suggested that almond water could ameliorate the progression of DSS-induced acute colitis in rats, but the protective mechanisms of almond need to further explore.

Key words : Almond, Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis, Rats

* Correspondence: Department of Health & Nutrition, Chia-Nan University of Pharmacy and Science, Tainan, Taiwan 71710, R.O.C.
Tel: +886-6-2664911Ext3410
Fax: +886-6-2667327
E-mail: cherry85@mail.chna.edu.tw / cherry8565@gmail.com