

中藥對老鼠胚胎發育影響之研究

曾啓瑞 楊玲玲* 簡立維 張淑如 陳庵君

摘 要

爲研究傳統中藥對早期胚胎發育的影響，使用 ICR 小白鼠兩細胞胚胎，於 HTF+1%BSA 培養基中，在 37°C，5%CO₂，95%空氣下培養，觀察 96 小時後變成囊胚期之比例。實驗之中藥方劑共分四組：I 四物湯(和劑局方);II 四物湯(醫方集解);III 當歸芍藥散;IV 黃芩湯。分別加入依傳統中藥使用方法所萃取之中藥方劑 1mg/ml, 0.1mg/ml, 0.01mg/ml 濃度的培養基者爲實驗組，只含有培養基者爲對照組。在對照及實驗組中使用了 515 和 1,771 個老鼠兩細胞胚胎。對照組達到囊胚期的比例爲 85.4±2.6%(Mean±S.E.)，實驗組依濃度高低順序則各組結果分別爲 I 9.4±2.8%，70.0±9.1%，45.0±5.0%；II 13.9%，63.3±2.7%，47.7±5.1%；III 6.4±3.7%，79.0±4.7%，67.7±8.6%；IV 0，51.0±21.8%，54.4±14.8%。以上結果顯示四種實驗中藥均呈現對 ICR 小白鼠胚胎發育抑制的作用(P<0.01)，在 1mg/ml 濃度下即有明顯的反應出現，0.01mg/ml 濃度下此種現象仍然存在。兩種四物湯方劑在 0.01mg/ml 比 0.1mg/ml 濃度下有較爲明顯的胚胎抑制現象，顯示其中所含的成分對胚胎發育可能有不同的影響，即某些成分可能會對胚胎發育產生抑制作用，另外有一些成分可能會對胚胎發育有促進的作用。由於上述中藥方劑常被用於許多婦產科疾病的治療，上述的實驗結果顯示對早期胚胎發育會造成抑制作用，因此在早期懷孕婦女使用時應特別謹慎。

關鍵字：中藥、老鼠胚胎培養、早期懷孕

藥物對早期懷孕的影響，一直是醫學上極爲重視的課題，除了藥物可能造成胎兒的畸形問題外，在早期胚胎著床和胚胎發育過程中，是否有阻礙或是促進的功能，也是臨床上極想知道的。而傳統中藥中有許多被認爲具有調經補血，增加受孕能力或預防流產的功能，至今仍爲許多婦女所使用，但是其中具體的療效及真正的機轉如何，則大多不清楚⁽¹⁻⁷⁾。本實驗的目的則在於利用小白鼠的兩細胞胚胎體外培

養方法，研究幾種常用中藥方劑對早期胚胎發育之影響。

材料與方法

一、藥材的萃取

四種中藥方劑，I 四物湯(和劑局方);II 四物湯(醫方集解);III 當歸芍藥散;IV 黃芩湯分別

依傳統中醫之使用方法，加入十倍量之水，放於 70°C 水流中迴轉兩次，每次六小時，趁熱過濾，萃取三次後，合併濾液於 40°C 下減壓濃縮後，經冷凍乾燥後儲存在 -20°C 冰櫃中以備使用。

二、老鼠胚胎的取得

取 8 至 12 週正常排卵之 ICR 母小白鼠，腹腔注射 10 IU PMSG，48 小時後再注射 10 IU HCG，以一對一方式置於公鼠籠中。48 小時後，以頸椎脫臼法殺死母鼠，取其輸卵管，置於解剖顯微鏡下，以 30 號針頭刺破輸卵管後，沖出其中的兩細胞胚胎。

三、胚胎的培養

取卵前一天，準備好 HTF (Human Tubal Fluid) +1%BSA (Bovine Serum Albumin) 之培養液，置於 5%CO₂ 之保溫箱中，使其酸鹼值趨於穩定。取卵前三小時，將要測試的中藥方劑萃取物，分別加入培養液中成爲 1mg/ml，0.1mg/ml，0.01mg/ml 之

表一、實驗中藥濃度高低與發育至囊胚期之比率表

實驗中藥 \ 濃度	0 (對照組)	1 mg/ml	0.1 mg/ml	0.01 mg/ml
四物湯 (和劑局方)	85.4 ± 2.6% (454/515)	9.4 ± 2.8% (11/107)	70.0 ± 9.1% (45/61) a	45.0 ± 5.0% (47/110) b
四物湯 (醫方集解)	85.4 ± 2.6% (454/515)	13.9% (5/36)	63.3 ± 2.7% (190/300) c	47.7 ± 5.1% (150/310) d
當歸芍藥散	85.4 ± 2.6% (454/515)	6.4 ± 3.7% (4/83)	79.0 ± 4.7% (180/233)	67.6 ± 8.6% (98/140)
黃芩湯	85.4 ± 2.6% (454/515)	0 (0/100)	51.0 ± 21.8% (95/191)	54.4 ± 14.8% (50/100)

註：1. 數值表示方式爲平均值 ± 標準誤 (Mean ± Standard Error)

2. () 內數字表示 (發育至囊胚期之胚胎總數 / 實驗之胚胎總數)

3. 對照組的數值爲各次實驗之對照部分的總和計算，和各實驗組相比均有較高的比例，且都有統計學上的差別 (p < 0.01)。

4. a vs b, c vs d (p < 0.01)

濃度，分置於培養皿中。取出之兩細胞胚胎，以 10-20 個胚胎分置於各個加中藥之培養皿中，在 37°C，5% CO₂，95% 空氣之保溫箱中培養，觀察 96 小時後，胚胎發育成囊胚期之比例。由於每隻老鼠可取得的胚胎數目及發育能力均不相同，每次實驗都將取得的胚胎混合後再平均分配，同時也留一組只加培養液者爲對照組。

四、實驗數據的統計分析

每種中藥方劑各種濃度均做了一次以上的實驗，數據採用平均值 ± 標準誤 (Mean ± Standard Error) 的表示方法。對照組的數值爲各次實驗對照部分之總合計算。各組間並以 t-TEST 比較其統計學上的差別。

結果

實驗組四種中藥，總共使用了 1,771 個老鼠兩細胞胚胎，而對照組則使用了 515 個兩細胞胚胎。對照組達到囊胚期的比例爲 85.4 ± 2.

6%(平均值±標準誤),實驗組結果如表一所示。加入中藥後老鼠兩細胞胚胎發育至囊胚期的比例和對照組相比,均有顯著的降低($p < 0.01$),以高濃度(1mg/ml)時此種現象尤為明顯。四物湯(和劑局方)和四物湯(醫方集解)在三種濃度之間達到囊胚期的比例呈有意義的差別($p < 0.01$),而以0.1mg/ml濃度者發育至囊胚期的比例為最高,但仍比對照組為低。當歸芍藥散和黃芩湯在0.1mg/ml和0.01mg/ml濃度之間對胚胎發育的抑制作用則沒有差別($p > 0.1$)。

討論

本實驗結果顯示,四種實驗中藥方劑均呈現對ICR小白鼠胚胎有發育抑制的作用,在1mg/ml濃度下即有明顯的反應出現,0.01mg/ml濃度下此種現象仍然存在。兩種四物湯方劑在0.01mg/ml比0.1mg/ml濃度下有較為明顯的胚胎抑制現象,顯示其中所含的成分對胚胎發育可能有不同的影響,即某些成分可能會對胚胎發育產生抑制作用,另外有一些成分則可能會對胚胎發育有促進的作用,而造成此種低濃度中藥方劑比高濃度下有較為明顯的胚胎發育抑制現象出現。中藥方劑內均含有多種成分,因此須做進一步各別分析,才能知道是何種成分有作用⁽⁶⁾。當歸芍藥散和黃芩湯在0.1mg/ml和0.01mg/ml濃度之間則呈現較穩定的胚胎分裂抑制作用($p > 0.1$)。

傳統中藥對於適用範圍與療效上的描述較為籠統,例如:當歸芍藥散除可用來治療不孕症、月經異常和月經困難症外,也可適用於預防流產、早產和妊娠中毒症⁽¹⁻⁴⁾。此外由於這些方劑中所含的成分及其化學結構並不是十分清楚,使這些藥物在人體內代謝的情形也不得而知⁽⁶⁾。本實驗僅就早期胚胎發育的影響,以動物實驗,體外培養的模式來探討,並不能以此結果直接應用於臨床上。不過由於這幾種方劑在傳統中藥中常被用於許多婦產科疾病的治療,

上述的實驗結果顯示對早期胚胎發育會造成抑制作用,因此對早期懷孕婦女的使用應特別謹慎。

感謝

本研究由衛生署專題研究計劃DOHT0441452所贊助。

參考文獻

1. 大塚敬節、矢數道明、清水藤太郎著,何志鋒譯:漢方診療醫典,國立中國醫藥研究所出版。183-210頁。
2. Zhao LW: Treatment of 206 cases of gynecological abdominal pain with Danggui Shaoyao Powder. Abstracts of Chinese Medicines 4; 430, 1990.
3. Xie CG, Wang XH, et al.: Treatment of dysmenorrhea with Danggui Shaoyao Powder. Abstracts of Chinese Medicines 4; 54, 1990.
4. Deng WL, Gong SR, et al.: Advance in pharmacological studies and clinical applications of Danggui Shaoyao Powder. Abstracts of Chinese Medicines 2; 230, 1988.
5. Yuan JR, Li YY, et al.: Experimental studies on the Siwu Decoction. Abstracts of Chinese Medicines 5; 361, 1991.
6. Zang HY: A review on the pharmacology and clinical applications of Daggui Shaoyao Powder. Abstracts of Chinese Medicines 2; 229, 1988.
7. Huang L, Liu JF, et al.: A study on components and compound prescription of Huang-qin Decoction. Abstracts of Chinese Medicines 5; 397, 1991.
8. Huang JC: Biopharmaceutical studies on

EFFECT OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE ON MOUSE EMBRYO DEVELOPMENT

Chii-Ruey Tzeng, Ling-Ling Yang*, Li-Wei Chien, Shew-Ru Chang and An-Chiun Chen

ABSTRACT

To clarify the influence of traditional chinese medicine on early embryogenesis, the effect on mouse embryo development in vitro was studied. Two-cell ICR mouse embryos were cultured at 37°C in 5% CO₂, 95% air with a HTF + 1% BSA medium. Four prescriptions including Siwu Decoction (Ho-Chi-Chu-Fang) (group A), Siwu Decoction (I-Fang-Chi-Chieh) (group B), Danggui Shaoyao Powder (group C) and Huangqin Decoction (group D) were investigated. Each water extract of Chinese medicinal prescriptions in a concentration of 1mg/ml, 0.1mg/ml and 0.01mg/ml were added to nutrient media as the test group. The control group was culture medium only. A total of 515 and 1,771 mouse two-cell embryos were used in the control and test groups respectively.

The percentage of progression to blastocyst stage at 96 hours in the control group was 85.4 ± 2.6% (Mean ± SE). In the test groups, the percentages of blastocyst formation for 1mg/ml, 0.1mg/ml and 0.01mg/ml were as follows: group A 9.4 ± 2.8%, 70.0 ± 9.1%, 45.0 ± 5.0%; group B 13.9%, 63.3 ± 2.7%, 47.7 ± 5.1%; group C 6.4 ± 3.7%, 79.0 ± 4.7%, 67.7 ± 8.6%; and group D 0%, 51.0 ± 21.8%, 54.4 ± 14.8%. All four drugs appeared to be associated with an inhibition of early embryogenesis in comparison with control ($p < 0.01$), especially at the concentrations of 1mg/ml. The higher percentage of embryos reached blastocyst stage at 0.1mg/ml than at 0.01mg/ml ($p < 0.01$) in two Siwu Decoctions suggests that components with different effects on embryogenesis may exist in these two prescriptions.

The demonstration of inhibition on mouse early embryogenesis in these four compound prescriptions indicates that they should be used cautiously during early pregnancy, especially they have been used in preventing abortion and many other gynecological and obstetrical diseases.

Key words: Chinese drugs, mouse embryo culture, early pregnancy

Department of Obstetrics & Gynecology, Taipei Medical College Hospital

* School of Pharmacy, Taipei Medical College

Received for Publication: October 1, 1992