

# 环磷酰胺对免疫系统的影响

张云波 (广东海洋大学农学院, 广东湛江 524088)

**摘要** 环磷酰胺是医学上常用的抗癌药,也是一种免疫抑制剂,可以抑制各种动物的体液与细胞免疫应答。综述了环磷酰胺对免疫系统影响的研究进展。

**关键词** 环磷酰胺;免疫;抑制

**中图分类号** S948 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)30-12040-03

## The Effect of Cyclophosphamide on the Immune System

ZHANG Yun-bo (Agricultural School of Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088)

**Abstract** Cyclophosphamide (CY) is commonly considered as an anticancer drug, and an immunosuppressive agent. The research advances of the effects of cyclophosphamide on immune system were reviewed.

**Key words** Cyclophosphamide; Immune; Inhibition

环磷酰胺(Cyclophosphamide, CP)是目前常用的一种烷化剂类抗肿瘤药物和细胞毒性药物,是一种免疫制剂,临床上主要用于治疗肿瘤、自身免疫性疾病和器官移植等。环磷酰胺的主要不良反应是对免疫功能和造血系统有抑制作用,目前对其尚无有效的防治手段。环磷酰胺对活化增殖的细胞有毒性作用,因为处于有丝分裂循环周期的细胞能够被其所破坏和杀灭,对免疫相关细胞呈现出较强的免疫抑制作用,所以环磷酰胺免疫常作为毒理学研究中的阳性对照物,如细胞免疫、体液免疫和巨噬细胞测定<sup>[1]</sup>。研究表明,一方面低剂量环磷酰胺能够增强动物<sup>[2-6]</sup>和人类<sup>[7]</sup>机体免疫反应,但更多是抑制肿瘤细胞的增殖,另一方面高剂量环磷酰胺抑制健康小鼠免疫功能,且不同添加方式(灌胃和注射方式及强度)对免疫功能的作用不同<sup>[8-9]</sup>。对环磷酰胺对机体所引起的双重作用主要取决于其用药的剂量和用药形式的不同。基于此,笔者对环磷酰胺对免疫系统的影响进行了综述。

## 1 环磷酰胺的定义及其理化性质

**1.1 定义** 环磷酰胺(Cyclophosphamide, CTX)是磷酰胺基和氮芥与结合构成的一种烷化剂,在临床上常用作化疗建模药物和免疫抑制剂,具有治疗多种自身免疫性疾病,能够非特异性杀伤抗原敏感性小淋巴细胞,限制抗原敏感性小淋巴细胞转化为免疫母细胞,且能抑制肿瘤等细胞增殖<sup>[10]</sup>。

**1.2 理化性质**<sup>[11]</sup> 环磷酰胺是一种溶于水但溶解度不大的结晶性粉末或白色结晶,易溶于乙醇,室温下稳定。因其在水溶液中不稳定,所以溶解后应在短时间内使用,否则会失效。环磷酰胺的药理毒理特性表现为在体外无抗肿瘤活性,进入生物机体后在肝脏酶作用下分解出对肿瘤细胞有细胞毒作用的强烷化作用的酰胺氮芥,其能使 DNA 形成交叉联结结构,抑制 DNA 合成,抑制细胞增殖,其中对细胞 S 期作用最为明显。

## 2 环磷酰胺的生物学功能

环磷酰胺进入生物体后,经肝微粒体酶催化作用,分解

出具有较强烷化作用的磷酰胺氮芥,对肿瘤细胞有细胞毒作用<sup>[12]</sup>。此外,环磷酰胺具有显著抑制机体免疫功能的作用,常作为化疗药物模型和免疫抑制模型的建立。现已证实的环磷酰胺的生物学功能有以下方面<sup>[13]</sup>:①影响细胞的形态和功能,即增加染色体畸变率、引起细胞类型的转变、引起免疫细胞数量(百分比)的改变和增加细胞之间的信号传递作用;②对生殖系统的损害,表现为引起小鼠精子的损伤和活力的减弱和增加子代致畸率及死亡率;③环磷酰胺毒副作用,主要为其可以诱导致癌相关基因的表达、诱导细胞凋亡和引起细胞周期的改变。

## 3 环磷酰胺对免疫系统的影响

环磷酰胺是烷化剂类最常用的抗肿瘤药,在体外不具有活性,但进入生物体后随血液到达肝脏,经肝 P450 色素作用,生成醛磷酰胺,再经肝微粒体酶催化,分解出磷酰胺氮芥,其具有较强的烷化作用,对肿瘤细胞产生细胞毒作用。环磷酰胺表现出细胞毒性,主要因其烷基化作用能干扰 RNA 及 DNA 功能,特别是对 DNA 的影响更大,其能使 DNA 形成交叉联结,抑制 DNA 合成,抑制细胞增殖,对机体有细胞毒效应。此外,环磷酰胺具有较好的抑制免疫功效,常作为免疫抑制剂类药物或用于建模。常见的不良反应有骨髓抑制、胃肠道反应、出血性膀胱炎、肝功能损害、脱发、性腺抑制等<sup>[14]</sup>。

**3.1 非特异性免疫** 非特异性免疫,又称为天然免疫,是机体经过长期进化过程和种系发育不断与病原微生物抗争过程中所逐步建立形成的一套防御体系,这种免疫功能与动物体的组织结构和生理机能密切相关。特异性免疫是机体免疫系统受到抗原刺激后免疫细胞对抗原分子的识别并产生一系列复杂的免疫连锁反应的生物效应过程。天然免疫系统由组织屏障、天然免疫免疫细胞和免疫分子构成。非特异性免疫与特异性免疫之间相互协调、相互影响和共同调节免疫功能。例如,巨噬细胞吞噬、加工、处理抗原,然后将抗原信息呈递给淋巴细胞,淋巴细胞增殖分化产生淋巴因子或特异性抗体,作用和杀伤靶细胞。反之,淋巴因子和抗体的生成水平可促进巨噬细胞活化和增强其趋化作用与吞噬作用。

**作者简介** 张云波(1989-),男,重庆人,硕士研究生,研究方向:动物营养与免疫方向。

**收稿日期** 2013-09-25

因此,从提高机体整个免疫功能角度来看,增强机体非特异性免疫是必要的。经查阅相关资料发现,环磷酰胺对免疫系统天然免疫的影响主要表现为抑制性作用。

**3.1.1 肠粘膜免疫。**环磷酰胺可使 Peyer's 结数目在 24 h 降低最为明显,结内细胞数量和  $CD_3^+$ 、 $IgA^+$  细胞也明显减少,而细胞凋亡明显增加,据此推测环磷酰胺可以诱导肠粘膜免疫障碍,这可能是由于其引起淋巴细胞的细胞凋亡而产生的<sup>[15]</sup>。 $CD_3^+$  和  $IgA^+$  细胞数量的减少是由环磷酰胺诱导的细胞凋亡引起的,并进一步导致 Peyer's 结内总细胞数减少,表明环磷酰胺可诱导肠粘膜免疫功能障碍,可作为肠粘膜免疫障碍模型用于多糖类中药作用机理的研究。 $CD_4^+$ 、 $CD25^+$ T 和  $CD_8^+$ T 细胞与癌症密切相关,且二者具有降低肿瘤细胞免疫功能的作用。研究表明,环磷酰胺对  $CD_4^+$ 、 $CD25^+$ T 细胞的活动有明显的中和消除作用。但是对  $CD_8^+$ T 是通过阻碍  $CD_8^+$ T 相关联的抗原 4 (CTLA4) 间相互作用来抑制免疫反应<sup>[16]</sup>。通过调节阻碍 CTLA4 -  $CD_8^+$  0 和 CTLA4 -  $CD_8^+$  6 之间的分子环路而发挥免疫抑制反应的作用。

**3.1.2 天然免疫细胞。**齐丽娟<sup>[17]</sup>等研究表明每日灌胃 60 mg/kg 环磷酰胺的 CTX - 1 组小鼠体重、脾脏重量、外周血淋巴细胞计数、NK 细胞活性、细胞毒性 T 细胞活性、 $HC_{50}$  均低于对照组 ( $P < 0.05$ ),每天给予 60 mg/kg 环磷酰胺可以建立小鼠免疫低下模型。Xiao - Hui Huyan 等<sup>[18]</sup>对 T 细胞亚群研究表明通过腹腔注射高剂量环磷酰胺组 (100、150 mg/kg),低剂量组 (50 mg/kg) 除外的小鼠血液中白细胞数和淋巴细胞转换率呈逐渐下降的剂量效应,且在注射后第 4 天达到最低值,在第 10 天恢复正常水平,但当第 17 天再次注射 CTX 后又呈下降现象。第 4 天时低剂量组对血液中  $CD_3^+$ 、 $CD_4^+$  和  $CD_8^+$ 、 $CD_9^+$  的百分含量无明显影响,但高剂量组表现为 CTX 显著降低了  $CD_3^+$ 、 $CD_4^+$  和  $CD_9^+$  百分含量以及  $CD_4^+$ / $CD_8^+$  值,而  $CD_8^+$  却呈增长趋势。此后,其他不同剂量组  $CD_4^+$ / $CD_8^+$  值均呈现出回升与恢复正常。每 2 d 腹腔注射 CTX 150 mg/kg,注射 2 次,可以建立效果较好的 Balb/c 小鼠免疫低下模型。在吞噬细胞方面,已有研究表明环磷酰胺在鱼类<sup>[19]</sup>和动物机体内发挥免疫抑制作用主要是通过降低吞噬细胞的数量及其功能实现的。同时环磷酰胺能够降低外周血中 NK 细胞和 T 淋巴细胞比例及 T 淋巴细胞转化增殖能力、脾 NK 细胞活性<sup>[20]</sup>,环磷酰胺可以导致大鼠脾脏萎缩、脾重量减轻、脾指数变小、机体免疫力减低、白细胞数量减少<sup>[21-22]</sup>。

**3.1.3 天然免疫因子。**经过环磷酰胺化疗的肿瘤患者中骨髓、脾脏和外周血的 MDSCs 细胞的比例较未接受化疗的肿瘤患者更高。现已有研究表明环磷酰胺能够增强  $INF - \gamma$  的生成,同时正反馈性地作用于 T 细胞,T 细胞的增加能够促进其亚群细胞  $CD_4^+$ T 和  $CD_8^+$ T 增殖,同时  $CD_4^+$ T 和  $CD_8^+$ T 分泌  $INF - \gamma$  增加以共同作用与源抑制性细胞 (骨髓样抑制性细胞,MDSCs),据此推断 MDSCs 的增殖可能与被环磷酰胺 (CTX) 诱生的  $CD_4^+$  及  $CD_8^+$  分子和其被激活这个微小

子环境的变化密切相关,即  $CD_4^+$ T 和  $CD_8^+$ T 与 T 细胞分泌  $INF - \gamma$  均可促进 MDSCs 数量增殖,产生免疫抑制作用<sup>[23]</sup>。此外,环磷酰胺能够引起肿瘤小鼠体内  $CD_4^+$ T 和  $CD_8^+$ T 增殖与活化, $INF - \gamma$  分泌水平增加,而这些大量生成的  $INF - \gamma$  诱导了化疗后肿瘤小鼠体内 MFSCs 的比例的进一步上升<sup>[24]</sup>。这揭示了环磷酰胺化疗引起 MFSCs 比例升高的机制。此外,NO 作为生物体内新发现的一种免疫调节分子、效应分子和生物信使分子,其产生受一氧化氮合酶 (Nitric oxide synthase, NOS) 的调节。NO 与机体多种生理病理活动密切相关,在机体各个组织和器官中广泛分布,研究表明 NO 可以抑制和杀伤病毒、细菌、真菌以及寄生虫的感染、在免疫中起着重要的作用<sup>[25]</sup>。据报道,经注射环磷酰胺后的杂色鲍,其血清 NO 水平显著降低,NOS 活性显著降低,相关免疫指标 (AKP、LZM、SOD 和 ACP) 活性均显著降低,表明环磷酰胺通过注射方式能够用于杂色鲍免疫抑制动物实验模型的建立,也从另一个角度证实了动物免疫与 NOS 和 NO 有关<sup>[26]</sup>。适量 NOS 表达有利于宿主抗感染和抗肿瘤,但 NOS 过度表达会导致 NO 产生过量,促使免疫病理过程,造成组织细胞损伤;环磷酰胺所致低水平 NO 机体抗病 (菌) 能力减弱,并可推测出环磷酰胺通过降低 NOS 活性,减少体内 NO 合成表达量,削弱非特异性免疫能力,对免疫系统起着抑制的作用。

**3.2 特异性免疫** 特异性免疫又称为适应性免疫或获得性免疫,是机体获得免疫能力后经过后天感染或外界抗原刺激所得到的抵抗感染的能力。例如,经过微生物等抗原物刺激后,机体才能产生免疫球蛋白、免疫淋巴细胞,且它们能够与该抗原结合发生特异性反应<sup>[27]</sup>。

王冠军等<sup>[28]</sup>以大鼠胸腺为研究对象,通过 DNA 凝胶电泳方法和细胞凋亡原位特异性染色方法观察环磷酰胺剂量不同和环磷酰胺作用时间不同的处理后胸腺细胞的凋亡情况,环磷酰胺对免疫的抑制作用可能是通过诱导免疫细胞凋亡而产生的。同时研究发现,给 BALB/c 小鼠使用 CTX 后 3 ~ 5 d,其脾脏和淋巴结中的 T 细胞  $CD25^+$  $CD_4^+$  数量和百分比均明显减少<sup>[29]</sup>;与未用 CTX 处理的小鼠相比,使用 CTX 3 d 后小鼠的 T 细胞  $CD25^+$  $CD_4^+$  抑制细胞增殖的能力明显减弱。此外,研究还表明将未使用 CTX 的 BALB/c 小鼠的 T 细胞  $CD25^+$  $CD_4^+$  移植到使用过 CTX (50 ~ 200 mg/kg) 的 BALB/c 小鼠体内,受体小鼠对 TNCB (2,4,6 - trinitro - 1 - chloro - benzene) 诱导的过敏反应效果明显降低。同时,研究表明低剂量 (20 mg/kg) 的 CTX 比高剂量 (200 mg/kg) 的 CTX 更能降低 T 细胞  $CD_4^+$  $CD25^+$  的百分比,而高剂量的 CP 会产生细胞毒性<sup>[30]</sup>。在哺乳动物中环磷酰胺具有降低特异性免疫的作用,主要是通过其直接引起淋巴组织的损耗,并且抑制机体增强特异性免疫调节作用<sup>[31]</sup>。

#### 4 小结

目前,环磷酰胺是临床上常用的抗肿瘤药和免疫抑制剂,是人们研究最多的化学致畸剂之一,而且由于需经代谢活化的特点,也成为前致畸原研究中的代表性药物。随着国内外对环磷酰胺的不断探索与研究,为协调其在抗肿瘤时所

表现出的双重效应,一方面增加其抗肿瘤效力,另一方面降低其对机体正常细胞生与繁殖的抑制作用。此外,研究表明高剂量的环磷酰胺能使宿主肿瘤细胞数量减少,但同时会导致宿主自身防御与免疫机理的损伤以及对病菌更加易感和引起肿瘤细胞再次增殖几率加大,因此环磷酰胺化疗时所引起的一系列自身性免疫等所带来的不良后果同时机体免疫能力的降低程度、规律及其机制还不尽完善,有待进一步研究。笔者综述了环磷酰胺对机体免疫方面的影响,以期环磷酰胺类抗肿瘤药物的开发与利用提供一定的基础理论依据。

### 参考文献

- [1] 张铣,徐厚恩. 卫生毒理学基础[M]. 北京:北京医科大学,北京协和医科大学联合出版社,1990:219.
- [2] 罗洪清,孟庆勇. 不同剂量环磷酰胺对正常小鼠淋巴细胞增殖反应的影响[J]. 癌变·畸变·突变,2003,15(2):79-81.
- [3] AWWAD M, NORTH R J. Cyclophosphamide Cy<sup>-</sup> facilitated adoptive immunotherapy of a Cy<sup>-</sup> resistant tumour. Evidence that Cy permits the expression of adoptive T<sup>-</sup> cell mediated immunity by removing suppressor T cells rather than by reducing tumour burden[J]. Immunology, 1988, 65: 87-92.
- [4] MASTRANGELO M J, BERD D, MAGUIRE H JR. The immunoenhancing effects of cancer chemotherapeutic agents[J]. Semin Oncol, 1986, 13: 186-194.
- [5] RACCA A L, SCHAROVSKY O G, CELORIA G C, et al. Immunomodulation por ciclofosfamida de la respuesta antitumoral a un sarcoma de rata[J]. Immunologia, 1991, 10: 91-96.
- [6] TZAI T S, LIN J S, CHOW N H. Modulation of antitumor immunity of tumor-bearing mice with low-dose cyclophosphamide[J]. J Surg Res, 1996, 65: 139-144.
- [7] BERD D, MASTRANGELO M J, ENGSTROM P F, et al. Augmentation of the human immune response by cyclophosphamide[J]. Cancer Res, 1982, 42: 4862-4866.
- [8] 赵弋清, 罗霞, 陈东辉, 等. 不同剂量环磷酰胺诱导正常小鼠免疫抑制的对比研究[J]. 免疫学杂志, 2005, 21(3): 122-124.
- [9] 齐丽娟, 宋雁, 王伟, 等. 用环磷酰胺建立小鼠免疫抑制动物模型[J]. 卫生研究, 2010, 39(3): 313-315.
- [10] 韦凤华. 环磷酰胺临床应用研究进展[J]. 中国药事, 2013, 27(3): 324-326.
- [11] 甄士伟. 犬用化疗药物(一)氟尿嘧啶、环磷酰胺、顺铂[EB/OL]. (2013-11-07). [http://blog.sina.com.cn/s/blog\\_65c20ae10101bykf.html](http://blog.sina.com.cn/s/blog_65c20ae10101bykf.html).
- [12] 李家伦, 雷世庸. 六味地黄汤对免疫功能低下小鼠的药理作用[J]. 中国医药指南, 2008, 6(16): 13-14.
- [13] 王新禹, 梁前进. 环磷酰胺的毒副作用机制及应对措施[J]. 药学进展, 2006, 30(10): 452-456.
- [14] 李力, 张彩霞, 曹丽蓉, 等. 养血升白方对环磷酰胺致小鼠骨髓抑制及免疫抑制的研究[J]. 北京中医, 2007, 26(7): 447-450.

- [15] 周华, 王培训, 刘良, 等. 环磷酰胺对小鼠 Peyer's 结和肠道粘膜相关淋巴细胞的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2000, 17(4): 186-189.
- [16] ILARIA TRAVERSO, DANIELA FENOGLIO, SIMONE NEGRINI, et al. Cyclophosphamide inhibits the generation and function of CD<sub>8</sub><sup>+</sup> regulatory T cells[J]. Human Immunology, 2012, 73: 207-213.
- [17] 齐丽娟, 宋雁, 王伟, 等. 用环磷酰胺建立小鼠免疫抑制动物模型[J]. 卫生研究, 2010, 39(3): 313-315.
- [18] HUYAN X H, LIN Y P, GAO T, et al. Immunosuppressive effect of cyclophosphamide on white blood cells and lymphocyte subpopulations from peripheral blood of Balb/c mice[J]. International Immunopharmacology, 2011(11): 1293-1297.
- [19] KITAO T, YOSHIDA Y. Effect of an immunopotentiator on Aeromonas salmonicida infection in rainbow trout[J]. Vet Immunol Immunopathol, 1986, 12: 287-296.
- [20] 杨颖, 蔡玟, 黄志彪. 环磷酰胺致小鼠免疫功能低下模型建立与评价[J]. 中国公共卫生, 2008, 24(5): 581-582.
- [21] 毕蓬, 吴晓勇, 傅汝林. 化疗后低白细胞及低免疫力动物模型研究[J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(8): 850-851.
- [22] 李金贵, 谷文英, 刘传敏, 等. 牛膝多糖对环磷酰胺致小鼠免疫抑制作用的影响[J]. 中国兽医杂志, 2010, 46(4): 24-28.
- [23] GUO Q M, LV Z C, FU Q H, et al. IFN- $\gamma$  producing T cells contribute to the increase of myeloid derived suppressor cells in tumor-bearing mice after cyclophosphamide treatment[J]. International Immunopharmacology, 2012(12): 425-432.
- [24] 郭庆明. T 细胞分泌的  $\gamma$  干扰素促进了环磷酰胺 (CTX) 化疗引起的髓系抑制性细胞 (MDSs) 比例的升高[D]. 杭州: 浙江大学医学院, 2011: 6-29.
- [25] 王天云. 一氧化氮: 新发现的一种信使分子[J]. 生物学通报, 1999, 34(12): 40.
- [26] 王广军, 谢骏, 余德光, 等. 注射 L-精氨酸和环磷酰胺对杂色鲍血清 NO 水平、NOS 活性及免疫指标的影响[J]. 中国水产科学, 2008, 15(6): 902-909.
- [27] 于大奎, 孙江. 动物的特异性免疫和非特异性免疫及其发挥保护功能的屏障[J]. 养殖技术顾问, 2011(4): 234.
- [28] 王冠军, 李薇, 蔡露. 环磷酰胺诱发大鼠胸腺细胞凋亡的研究[J]. 中国免疫学杂志, 1999, 15(8): 359-360.
- [29] YUKO I, MASATOSHI N, CHIZURU T, et al. Cyclophosphamide decreases the number, percentage and the function of CD25<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> regulatory T cells, which suppress induction of contact hypersensitivity[J]. J Dermatol Sci, 2005, 39(2): 105-112.
- [30] MOTOYOSHI Y, KAMINODA K, SAITOH O, et al. Different mechanisms for anti-tumor effects of low- and high-dose cyclophosphamide[J]. Oncol Rep, 2006, 16(1): 141-146.
- [31] HICKMAN - DAVIS J M, LINDSEY J R, MATALON S. Cyclophosphamide decreases nitrotyrosine formation and inhibits nitric oxide production by alveolar macrophages in mycoplasmosis[J]. Infect Immun, 2001, 69: 6401-6410.
- [32] CHEN X H, TONG L, WANG J H, et al. Effect of Four Taste Tibet Inula Root Soft Capsule on Immunodeficiency Mice Model Induced by Cyclophosphamide[J]. Medicinal Plant, 2012, 3(2): 48-50.

(上接第 12039 页)

程度。乳酸作为肌肉活动的主要代谢产物,是评价机体疲劳的重要指标,疲劳的程度及其恢复可以通过肌肉乳酸的含量及乳酸脱氢酶的活力来评价。该试验中高剂量新疆马奶粉组小鼠游泳和爬杆时间延长,肝糖原耗竭减少、乳酸脱氢酶活力增加,乳酸含量降低、血清尿素氮含量降低,说明新疆马奶粉能够提高机体的运动耐力、改善机体能量代谢、延缓疲劳的产生和加快疲劳的消除,具有抗疲劳保健功效。

### 参考文献

- [1] 杨文华, 德慧, 张珉. 马乳及乳产品利用[J]. 内蒙古民族大学学报, 2008, 14(2): 89-90.
- [2] 杨永平, 芒来, 布仁巴雅尔, 等. 内蒙古马产品开发与生产可行性分析[J]. 产业经济, 2010(6): 30-32.
- [3] 何俊霞, 刘微, 张敏, 等. 驼乳对小鼠抗疲劳作用的研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(5): 19-23.
- [4] 夏星, 钟振国, 林彩云, 等. 罗汉果皂苷抗疲劳及耐缺氧作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 198-201.
- [5] 王忠, 厉彦翔, 骆新. 桑葚多糖抗疲劳作用及其机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 234-236.
- [6] 王建光, 孙玉江, 芒来. 马奶与几种奶营养成分的比较分析[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(8): 146-149.