

研究报告

人参果汁浓缩液对环磷酰胺诱导免疫抑制小鼠免疫功能的影响

石峻岭,孙宇立,郑志清,王婷,苏怡
(上海市预防医学研究院,上海 200336)

摘要:目的 研究人参果汁浓缩液对环磷酰胺致小鼠免疫损伤的作用及其可能机制。方法 将72只SPF级雄性C57BL/6J小鼠随机分成空白对照组、环磷酰胺组、阳性药物组、人参果汁浓缩液低、中、高剂量组(83、166、249 mg/kg),每组12只。第1~14天,人参果汁浓缩液3个剂量组小鼠灌胃相应的人参果汁浓缩液,空白对照组和环磷酰胺组小鼠灌胃等量的水;第1~7天,阳性药物组小鼠灌胃等量的水,第8~14天,阳性药物组小鼠灌胃20 mg/kg盐酸左旋咪唑(LH);第12~14天,环磷酰胺组、阳性药物组和人参果汁浓缩液各剂量组小鼠腹腔注射80 mg/kg环磷酰胺,空白对照组腹腔注射等量的生理盐水。实验结束后,计算小鼠脾脏指数、测定小鼠外周血白细胞(WBC)、淋巴细胞(LYM)和LYM%以及检测小鼠血清和脾脏中乳酸脱氢酶(LDH)和酸性磷酸酶(ACP)活性、小鼠脾脏中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性和丙二醛(MDA)含量。结果 各组小鼠体质量比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。与空白对照组比较,环磷酰胺组小鼠脾脏指数降低($P<0.01$)、外周血WBC、LYM和LYM%降低($P<0.05$)、血清和脾脏中ACP活性降低($P<0.05$)或呈降低趋势、脾脏中SOD、CAT活性降低、MDA含量升高($P<0.05$);与环磷酰胺组比较,人参果汁浓缩液各剂量组脾脏指数升高($P<0.05, P<0.01$)、人参果汁浓缩液低、高剂量组LYM%升高($P<0.05$)、人参果汁浓缩液各剂量组血清和脾脏组织中ACP活性呈升高趋势或升高($P<0.05$)、人参果汁浓缩液低剂量组SOD和CAT活性呈升高趋势、人参果汁浓缩液各剂量组MDA含量降低($P<0.05, P<0.01$)。结论 人参果汁浓缩液在一定程度上可改善环磷酰胺引起的小鼠免疫损伤作用,可能与减轻小鼠免疫器官氧化损伤作用相关。

关键词:人参果;环磷酰胺;免疫抑制;氧化损伤;免疫调节

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)04-0377-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.04.002

Effects of *Panax ginseng fructus* juice concentrate on immune injury induced by cyclophosphamide in mice

SHI Junling, SUN Yuli, ZHENG Zhiqing, WANG Ting, SU Yi
(Shanghai Institute of Preventive Medicine, Shanghai 200336, China)

Abstract: Objective To study the effect and possible mechanism of *Panax ginseng fructus* juice concentrate on immune injury induced by cyclophosphamide in mice. **Methods** Seventy-two specific pathogen-free (SPF) C57BL/6J male mice were randomly divided into six groups (12 per group), including blank group, cyclophosphamide group, positive drug group, low-, middle- and high-dose *Panax ginseng fructus* juice concentrate groups (83, 166, 249 mg/kg). From day 1 to day 14, mice in three groups of *Panax ginseng fructus* juice concentrate were intragastrically administered with concentrate at volumes of corresponding dosage, and mice in blank group and cyclophosphamide group were gavaged with the same amount of distilled water. Mice in positive drug group were also intragastrically administered with the same amount of water from day 1 to day 7, and then from day 8 to day 14, gavaged with 20 mg/kg levamisole hydrochloride (LH). From day 12 to day 14, mice in cyclophosphamide group, positive drug group and three *Panax ginseng fructus* juice concentrate groups were intraperitoneally injected with 80 mg/kg cyclophosphamide, while those in blank group were injected with the same amount of normal saline. At the end of the experiment, the spleen index was calculated, leukocyte (WBC), lymphocyte (LYM) and LYM% in peripheral blood were measured, and the activities of lactate dehydrogenase (LDH) and acid phosphatase (ACP) in serum and spleen, activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) content in spleen homogenate were measured. **Results** There was no significant difference in

收稿日期:2023-05-22

作者简介:石峻岭 男 副主任医师 研究方向为卫生毒理学 E-mail:shijunling@scdc.sh.cn

通信作者:苏怡 女 副主任医师 研究方向为健康相关产品评价 E-mail:suyi@scdc.sh.cn

body weight among groups ($P>0.05$). Compared with blank group, the spleen index of mice decreased ($P<0.01$), WBC, LYM and LYM% decreased, the activity of ACP in serum and spleen of mice decreased or showed a downward trend, the activity of SOD and CAT in spleen decreased and the content of MDA increased in cyclophosphamide group ($P<0.05$). Compared with cyclophosphamide group, spleen index of mice in the *panax ginseng fructus* juice concentrate groups increased ($P<0.05$, $P<0.01$), LYM% in the low- and high-dose panax ginseng fruit juice concentrate groups increased, activity of ACP increased or showed an upward trend in the *panax ginseng fructus* juice concentrate groups, activities of SOD and CAT showed an increasing trend in the low-dose group of *panax ginseng fructus* juice concentrate, and contents of MDA decreased in all three groups of *panax ginseng fructus* juice concentrate ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion** To some extent, *panax ginseng fructus* juice concentrate can improve the immune injury induced by cyclophosphamide in mice, which may be related to its effect of reducing oxidative damage of the immune organs in mice.

Key words: *Panax ginseng fructus*; cyclophosphamide; immunosuppression; oxidative damage; immune regulation

近年来,植物化学物在促进人类健康和治疗疾病方面发挥着重要作用。人参中富含具有生物活性的植物化学物,其根、根茎、叶、茎和果实均含有人参皂苷等植物化学物^[1-2]。据文献报道,人参皂苷等植物化学物具有抗炎、抗氧化、免疫调节和保护神经等功能^[3]。目前对人参组成成分和生理活性进行了大量研究,但对人参果实药理学活性的研究相对较少^[4]。人参果为五加科植物人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)的成熟果实,一般参龄在4年以上的人参会开花结果,果实在七、八月间成熟^[5]。杨正丽等^[6]的研究中发现,人参果汁浓缩液可增强免疫低下小鼠的免疫功能。

环磷酰胺是一种被广泛用于治疗卵巢癌、肺癌和乳腺癌等恶性肿瘤的烷化剂^[7]。然而,环磷酰胺也会损伤免疫细胞等正常细胞,其临床化疗效果有限^[8]。环磷酰胺或其代谢产物引起的免疫抑制可影响细胞免疫和体液免疫功能,当免疫功能受到抑制,机体感染疾病的可能性和对其他疾病的易感性将增加^[9-10]。环磷酰胺引起免疫抑制的机制包含诱导氧化应激、促进细胞凋亡、抑制细胞增殖以及干扰细胞因子的表达^[11]。而人参在增强免疫、调节内分泌和抗氧化损伤方面又具有重要作用^[12]。故本研究拟通过探讨人参果汁浓缩液对环磷酰胺诱导的免疫抑制小鼠免疫功能的影响及其可能机制,为开发其潜在用途提供科学依据和理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 人参果汁浓缩液的制备

夏末秋初果实成熟时采摘,除去果梗和杂质后,经压榨、浓缩、过滤、浓缩和杀菌等流程后制备成人参果汁浓缩液,成品为一种褐色黏稠液体,总固体 $\geq 45\%$,人参总皂苷(以人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re 及人参皂苷 Rb1 之和计) ≥ 0.7 g/100 g。

1.1.2 实验动物

使用 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠,6~8 周龄,18~22 g,共 72 只,购自浙江维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号为 SCXK(浙)2019-0001。饲养环境:温度 22~25 °C,湿度 50%~70%,12 h 昼夜更替,自由摄食与饮水。本实验通过上海市疾病预防控制中心动物伦理委员会的审批。

1.1.3 主要仪器与试剂

动物血液细胞分析仪(SYSMEX 公司,日本),全波长多功能酶标仪(TECAN 公司,瑞士)。

盐酸左旋咪唑(Levamisole hydrochloride, LH)(产品批号:220101,仁和堂药业有限公司),STROMATOLYSER-4DL 白细胞分类溶血剂(产品批号:R2503, SYSMEX 公司,日本),BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)(货号:P0010S,上海碧云天生物技术有限公司),乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒、酸性磷酸酶(Acid phosphatase, ACP)试剂盒、超氧化物歧化酶(Superoxidase dismutase, SOD)试剂盒、过氧化氢酶(Catalase, CAT)试剂盒和丙二醛(Malondialdehyde, MDA)试剂盒(货号:A020-2-2、A060-2-2、A001-3-2、A007-1-1 和 A003-1-2,南京建成生物工程研究所)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与处理

如图 1 所示,72 只小鼠随机分成 6 组,分别为空白对照组、环磷酰胺组、阳性药物组(LH, 20 mg/kg),低剂量组(人参果汁浓缩液, 83 mg/kg)、中剂量组(人参果汁浓缩液, 166 mg/kg)和高剂量组(人参果汁浓缩液, 249 mg/kg),每组 12 只小鼠。本研究中,人参果汁浓缩液使用的低、中、高剂量分别是其人体推荐剂量的 10、20 和 30 倍。第 1~14 天,人参果汁浓缩液 3 个剂量组小鼠灌胃人参果汁浓缩液 20 mL/kg,空白对照组和环磷酰胺组小鼠灌胃等量的水;第 1~7 天,阳性药物组小鼠灌胃等量的水,第 8~14 天,阳性药物组小鼠灌胃 LH 20 mL/kg;第 12~

14天,环磷酰胺组、阳性药物组和人参果汁浓缩液各剂量组小鼠腹腔注射 80 mg/kg 环磷酰胺,空白对照组腹腔注射等量的生理盐水。第 14 天下午小鼠

禁食,次日上午小鼠称体质量后眼眶采血,而后颈椎脱臼处死小鼠,解剖小鼠取脾脏,用预冷的生理盐水冲洗,擦干并称其质量。见图 1。

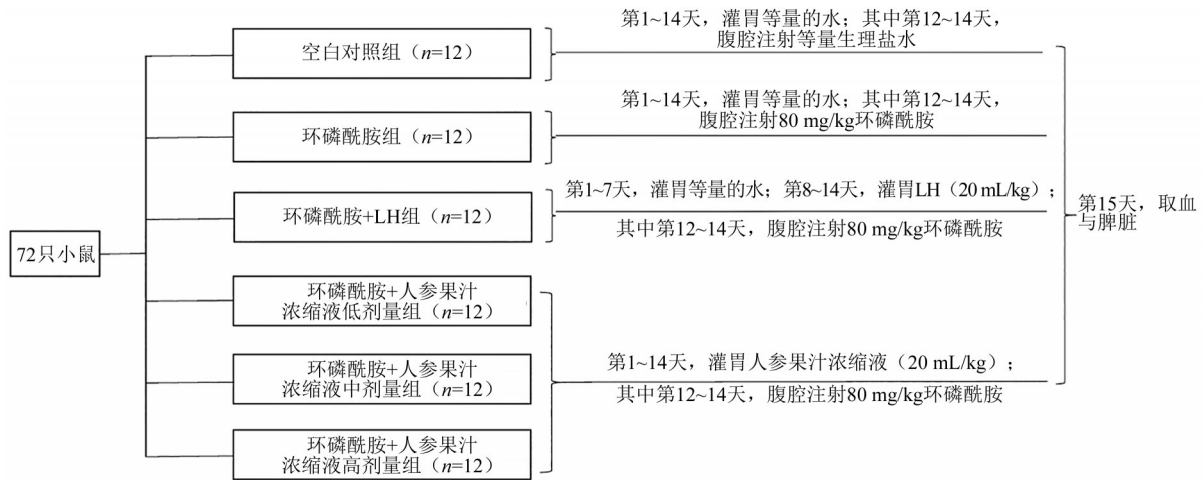


图1 小鼠分组与处理

Figure 1 Grouping and treatment of mice

1.2.2 脾脏指数计算

根据各组小鼠脾脏质量及处死前体质量,计算各组小鼠的脾脏指数。脏器指数=脾脏质量(mg)/体质量(g)。

1.2.3 小鼠外周血液学指标测定

小鼠眼眶采血后,于EDTA-K2抗凝管中添加适量全血,混匀,用动物血液细胞分析仪测定小鼠外周血白细胞(White blood cell, WBC)、淋巴细胞(Lymphocyte, LYM)数量及其比例。

1.2.4 血清中ACP和LDH测定

小鼠眼眶采血后,2 500 r/min,离心 15 min,收集上清,分装并冻存。取适量血清按照试剂盒说明书测定血清中 ACP 和 LDH。

1.2.5 脾脏匀浆中 ACP、LDH、SOD、CAT 和 MDA 测定

小鼠脾脏按照 1(g):9(mL)的比例加入生理盐水,冰浴条件下匀浆 10 min,制备成 10% 组织匀浆,

2 500 r/min,离心 10 min,取上清液,而后按照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)说明书测定蛋白浓度,分装备用。取适量的上清液按照试剂盒说明书测定 ACP、LDH、SOD、CAT 和 MDA。

1.3 统计学分析

实验数据用均数±标准差($\bar{x}\pm S$)表示,采用 SPSS25.0 软件进行统计学分析。先对数据进行正态性和方差齐性检验,若方差齐,采用单因素方差分析(ANOVA)进行总体比较,发现差异再用 LSD 法进行多个剂量组与一个对照组均数间的两两比较;方差不齐时,采用非参数检验。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠体质量的变化

如表 1 所示,各组小鼠初始体质量和终末体质量比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表1 小鼠体质量比较/g

Table 1 Comparison of body weight in each group/g

组别	初始体质量(平均数±标准差)	终末体质量(平均数±标准差)
空白对照组	21.58±1.16	21.58±1.31
环磷酰胺组	21.58±0.79	20.75±1.29
环磷酰胺+LH组	21.50±0.80	21.00±1.13
环磷酰胺+人参果汁浓缩液低剂量组	21.50±0.80	21.33±0.89
环磷酰胺+人参果汁浓缩液中剂量组	21.42±0.90	20.83±0.83
环磷酰胺+人参果汁浓缩液高剂量组	21.50±1.00	20.92±1.38

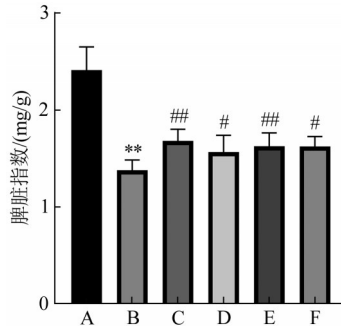
2.2 脾脏指数的变化

如图 2 所示,与空白对照组比较,环磷酰胺组小鼠脾脏指数降低($P<0.01$);与环磷酰胺组比较,阳性药物组和人参果汁浓缩液各剂量组小鼠脾脏

指数增加,差异有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。

2.3 外周血液学指标数量的变化

如表 2 所示,与空白对照组比较,环磷酰胺组小鼠 WBC 和 LYM 数量均降低($P<0.01$);与环磷酰



注: **与空白对照组比较 $P < 0.01$; #与环磷酰胺组比较 $P < 0.05$;
##与环磷酰胺组比较 $P < 0.01$; A为空白对照组, B为环磷酰胺组,
C为阳性药物组, D、E、F分别为人参果汁浓缩液低、中、高剂量组

图2 各组小鼠脾脏指数比较

Figure 2 Comparison of spleen index in each group

胺组比较, 阳性药物组和人参果汁浓缩液各剂量组小鼠 WBC 和 LYM 数量有所改善, 但差异尚无统计学意义 ($P > 0.05$)。与空白对照组比较, 环磷酰胺组小鼠 LYM% 降低 ($P < 0.01$); 与环磷酰胺组比较, 阳性药物组和人参果汁浓缩液各剂量组 LYM% 均升高, 其中人参果汁浓缩液低、高剂量组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 并且, 人参果汁浓缩液低剂量组 LYM% 接近空白对照组水平。

2.4 血清与脾脏中 ACP 和 LDH 活性的变化

如表 3 所示, 与空白对照组比较, 环磷酰胺组小鼠血清中 ACP 活性降低 ($P < 0.05$); 与环磷酰胺组比较, 人参果汁浓缩液各剂量组小鼠血清中 ACP

表2 各组小鼠外周血液学指标比较

Table 2 Comparison of peripheral hematological indexes in each group

组别	剂量/ (mg/kg)	WBC/ ($10^3/\mu\text{L}$)	LYM/ ($10^3/\mu\text{L}$)	LYM/%
空白对照组	—	2.16±0.46	1.91±0.45	82.50±4.09
环磷酰胺组	—	0.60±0.08**	0.42±0.06**	70.34±0.98**
阳性药物组	20	0.67±0.12	0.43±0.13	74.58±3.46
人参果汁浓缩液	83	0.72±0.15	0.51±0.09	77.74±2.96#
人参果汁浓缩液	166	0.61±0.09	0.44±0.08	72.02±6.72
人参果汁浓缩液	249	0.72±0.19	0.52±0.19	76.61±5.38#

注: **与空白对照组比较 $P < 0.01$; #与环磷酰胺组比较 $P < 0.05$

活性均升高 ($P < 0.01$)。与空白对照组比较, 环磷酰胺组小鼠脾脏中 ACP 活性降低, 差异尚无统计学意义 ($P > 0.05$); 与环磷酰胺组比较, 阳性药物组和人参果汁浓缩液各剂量组小鼠脾脏中 ACP 活性均升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。各组小鼠血清和脾脏中 LDH 活性比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.5 脾脏中 SOD 活性、CAT 活性和 MDA 含量的变化

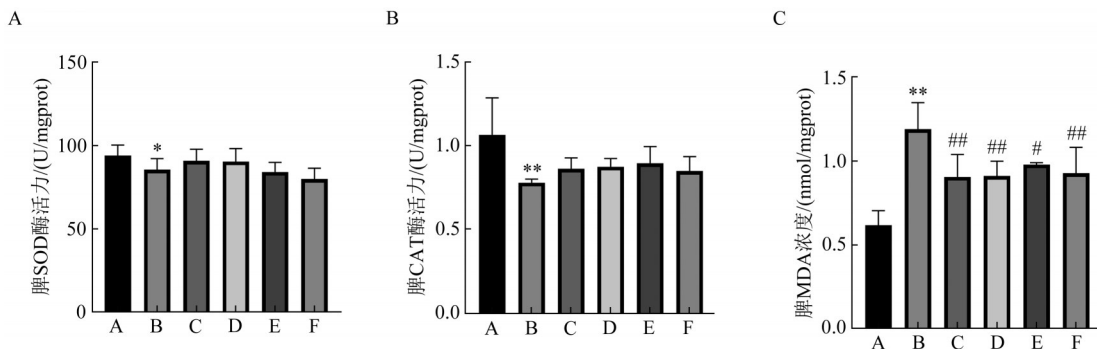
如图 3A 所示, 与空白对照组比较, 环磷酰胺组小鼠脾脏中 SOD 活性降低 ($P < 0.05$); 与环磷酰胺组比较, 阳性药物组和人参果汁浓缩液低剂量组小鼠脾脏中 SOD 活性升高, 接近空白对照组水平。如图 3B 所示, 与空白对照组比较, 环磷酰胺组小鼠脾脏中 CAT 活性降低 ($P < 0.01$); 与环磷酰胺组比较, 阳性药物组和人参果汁浓缩液各剂量组小鼠脾脏中

表3 各组小鼠血清和脾脏中 ACP、LDH 比较

Table 3 Comparison of ACP、LDH activity in serum and spleen of each group

组别	剂量/(mg/kg)	血清中 ACP 活力/ (金氏单位/100 mL)	脾脏中 ACP 活力/ (金氏单位/100 mL)	血清中 LDH 活力/(U/L)	脾脏中 LDH 活力/(U/L)
空白对照组	—	6.34±0.96	179.39±6.92	6 749.69±647.52	6 834.29±674.83
环磷酰胺组	—	4.82±1.29*	171.86±18.52	5 953.01±965.40	6 049.32±1 165.38
阳性药物组	20	5.57±0.85	187.73±6.56#	5 804.19±325.48	6 146.09±451.87
人参果汁浓缩液	83	7.18±1.76##	192.91±8.34##	6 416.27±155 4.82	6 316.48±278.26
人参果汁浓缩液	166	7.61±0.53##	185.63±11.95#	5 553.79±115 9.36	6 926.89±842.18
人参果汁浓缩液	249	8.66±1.06##	187.27±6.48#	5 804.19±480.08	5 688.32±315.37

注: *与空白对照组比较 $P < 0.05$; #与环磷酰胺组比较 $P < 0.05$; ##与环磷酰胺组比较 $P < 0.01$



注: *与空白对照组比较 $P < 0.05$; **与空白对照组比较 $P < 0.01$; #与环磷酰胺组比较 $P < 0.05$; ##与环磷酰胺组比较 $P < 0.01$;

A 为空白对照组, B 为环磷酰胺组, C 为阳性药物组, D、E、F 分别为人参果汁浓缩液低、中、高剂量组

图3 各组小鼠脾脏中 SOD 活性、CAT 活性和 MDA 含量比较

Figure 3 Comparison of SOD activity, CAT activity, MDA content in spleen of each group

CAT 活性升高,但差异尚无统计学意义($P>0.05$)。如图 3C 所示,与空白对照组比较,环磷酰胺组小鼠脾脏中 MDA 含量升高($P<0.01$);与环磷酰胺组比较,阳性药物组和人参果汁浓缩液各剂量组小鼠脾脏中 MDA 含量均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。

3 讨论

环磷酰胺经常被用于建立免疫抑制动物模型^[13]。本研究中,环磷酰胺组小鼠脾脏指数降低,外周血白细胞(以淋巴细胞为主)数量降低,提示环磷酰胺引起小鼠非特异性免疫系统和特异性免疫系统损伤,这与其他研究者报道的结果相似^[14-15]。因盐酸左旋咪唑具有显著的增强免疫功能效果^[16],故在本研究中作为阳性剂使用。

脾脏是机体主要的免疫器官,脾脏指数在一定程度上可反映机体非特异性免疫系统的功能^[17]。人参果汁浓缩液预处理可显著增加小鼠脾脏指数,表明人参果汁浓缩液具有改善脾脏受损进而增强非特异性免疫的效果。

由多功能造血干细胞分化而来的白细胞,可保护机体免受病原体侵袭和组织受损^[8]。环磷酰胺对多种细胞类型具有直接的抗增殖和促凋亡作用^[18]。在本研究中,环磷酰胺降低小鼠外周血白细胞,主要表现为外周血淋巴细胞数量的减少。人参果汁浓缩液可显著增加外周血淋巴细胞的比例,提示人参果汁浓缩液在一定程度上可减轻小鼠细胞免疫功能受损,其中人参果汁浓缩液剂量组升高白细胞和淋巴细胞水平的效果优于阳性对照组,一方面表明人参果汁浓缩液在一定剂量下可以呈现出良好的增强细胞免疫的功效,另一方面可能是由于阳性药物在本研究给药方案中作用相对不敏感所致。

巨噬细胞通过吞噬病原体、呈递抗原以及释放细胞因子等参与免疫反应,在免疫系统中发挥重要作用^[19-20]。ACP 和 LDH 的活性与巨噬细胞的激活程度相关,随着巨噬细胞的活化而升高^[21-22]。环磷酰胺降低小鼠血清和脾脏中 ACP 的活性,人参果汁浓缩液预处理可有效增加 ACP 活性,提示人参果汁浓缩液在一定剂量下可保护机体非特异性免疫系统的功能受损。

氧化应激是由于生物系统中氧化与抗氧化失衡而产生的一种倾向于氧化的状态,这种不平衡与活性氧产生过多和/或抗氧化功能受损有关^[23]。而氧化应激是环磷酰胺诱导脾脏毒性的主要原因之一^[24-25]。SOD、CAT 是机体主要的抗氧化酶,可间接反映抗氧化能力^[26]。MDA 被用于评估细胞或组织脂质过氧化水平^[27]。本研究发现,环磷酰胺可降低

小鼠脾脏组织中 SOD、CAT 活性,增加 MDA 含量。人参果汁浓缩液可增加小鼠脾脏中 SOD 活性,降低 MDA 水平,上述研究结果提示人参果汁浓缩液在一定剂量下可以减轻脾脏组织中氧化损伤水平,进而起到预防小鼠脾脏受损的效果。

综上所述,人参果汁浓缩液在一定程度上可缓解环磷酰胺引起的小鼠免疫损伤作用,这可能与减轻小鼠免疫器官氧化损伤作用相关。

参考文献

- [1] SZCZUKA D, NOWAK A, ZAKŁOS-SZYDA M, et al. American ginseng (*Panax quinquefolium* L.) as a source of bioactive phytochemicals with pro-health properties[J]. *Nutrients*, 2019, 11(5): 1041.
- [2] PIAO X M, ZHANG H, KANG J P, et al. Advances in Saponin Diversity of *Panax ginseng*[J]. *Molecules*, 2020, 25(15): 3452.
- [3] LEE I A, HYAM S R, JANG S E, et al. Ginsenoside Re ameliorates inflammation by inhibiting the binding of lipopolysaccharide to TLR4 on macrophages[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(38): 9595-9602.
- [4] KIM E N, KIM T Y, PARK E K, et al. *Panax ginseng* fruit has anti-inflammatory effect and induces osteogenic differentiation by regulating Nrf2/HO-1 signaling pathway in *in vitro* and *in vivo* models of periodontitis[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(12): 1221.
- [5] 宋阳成, 李皓, 张利财, 等. 人参果汁饮料的研制[J]. *食品与机械*, 2010, 26(6): 113-115, 118.
SONG Y C, LI H, ZHANG L C, et al. Development on fruit juice drink of ginseng[J]. *Food & Machinery*, 2010, 26(6): 113-115, 118.
- [6] 杨正丽, 刘君丽, 钱科蕾, 等. 人参果汁浓缩液对免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. *食品科学*, 2023, 44(1): 175-181.
YANG Z L, LIU J L, QIAN K L, et al. Effect of ginseng juice concentrate on immune function in immunodeficient mice[J]. *Food Science*, 2023, 44(1): 175-181.
- [7] OMOLE J G, AYOKA O A, ALABI Q K, et al. Protective effect of kolaviron on cyclophosphamide-induced cardiac toxicity in rats[J]. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 2018, 23: 215658721875764.
- [8] LI Y, YU P, FU W, et al. *Ginseng-Astragalus*-oxymatrine injection ameliorates cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice and enhances the immune activity of RAW_{264.7} cells[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 279: 114387.
- [9] IQUBAL A, IQUBAL M K, SHARMA S, et al. Molecular mechanism involved in cyclophosphamide-induced cardiotoxicity: Old drug with a new vision[J]. *Life Sciences*, 2019, 218: 112-131.
- [10] NIU Y, DONG J, JIANG H, et al. Effects of polysaccharide from *Malus halliana* koehne flowers in cyclophosphamide-induced immunosuppression and oxidative stress on mice[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 2020: 1603735.
- [11] 钟金凤, 方热军. 环磷酰胺免疫抑制机制及在动物模型上的应用[J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(10): 1541-1546.
ZHONG J F, FANG R J. Immunosuppression mechanism of

- cyclophosphamide and its application in animal models [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2016, 32(10): 1541-1546.
- [12] 贾执瑛, 谢燮, 王晓艳, 等. 人参主要成分对大鼠免疫功能的比较研究[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(17): 3363-3366.
JIA Z Y, XIE X, WANG X Y, et al. Comparative study of main components of ginseng on immune function of rats [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2014, 39(17): 3363-3366.
- [13] LI W J, LI L, ZHEN W Y, et al. Ganoderma atrum polysaccharide ameliorates ROS generation and apoptosis in spleen and thymus of immunosuppressed mice [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2017, 99: 199-208.
- [14] ZHOU Y L, CHEN X Y, YI R K, et al. Immunomodulatory effect of *Tremella* polysaccharides against cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice [J]. *Molecules*, 2018, 23(2): 239.
- [15] WANG S, HUANG S, YE Q, et al. Prevention of cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice with the antimicrobial peptide sublancin [J]. *Journal of Immunology Research*, 2018, 2018: 4353580.
- [16] 叶雪丹, 徐彤彤, 陆圆圆, 等. 盐酸左旋咪唑对免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(6): 550-552.
YE X D, XU T T, LU Y Y, et al. Effect of levamisole hydrochloride on the immune function in immunosuppressed mice [J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2019, 35(6): 550-552.
- [17] DING G B, NIE R H, LV L H, et al. Preparation and biological evaluation of a novel selenium-containing exopolysaccharide from *Rhizobium* sp. N₆₁₃ [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 109: 28-34.
- [18] ZIMECKI M, ARTYM J, KOCIEBA M, et al. Immune function in cyclophosphamide-treated mice is restored by the T-cell-tropic isoxazole derivative R-13 [J]. *Journal of Immunotoxicology*, 2015, 12(4): 322-329.
- [19] LI H, ZHAO B L, HOU J W, et al. Two-peak kinetic curve of the chemiluminescence in phorbol-induced macrophage [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1996, 223(2): 311-314.
- [20] BELSKA N V, GURIEV A M, DANILETS M G, et al. Water-soluble polysaccharide obtained from *Acorus calamus* L. classically activates macrophages and stimulates Th1 response [J]. *International Immunopharmacology*, 2010, 10(8): 933-942.
- [21] CHEN X, LU J, ZHANG Y, et al. Studies of macrophage immunomodulating activity of polysaccharides isolated from *Paecilomyces tenuipes* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2008, 43(3): 252-256.
- [22] MONMAI C, YOU S, PARK W J. Immune-enhancing effects of anionic macromolecules extracted from *Codium fragile* on cyclophosphamide-treated mice [J]. *PLoS One*, 2019, 14(2): e0211570.
- [23] CHIURCHIÙ V, ORLACCHIO A, MACCARRONE M. Is modulation of oxidative stress an answer? the state of the art of redox therapeutic actions in neurodegenerative diseases [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2016: 7909380.
- [24] DOUSTIMOTLAGH A H, KOKHDAN E P, VAKILPOUR H, et al. Protective effect of *Nasturtium officinale* R. Br and quercetin against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats [J]. *Molecular Biology Reports*, 2020, 47(7): 5001-5012.
- [25] EBOKAIWE A P, OBASI D O, NJOKU R C C, et al. Cyclophosphamide instigated hepatic-renal oxidative/inflammatory stress aggravates immunosuppressive indoleamine 2,3-dioxygenase in male rats: Abatement by quercetin [J]. *Toxicology*, 2021, 464: 153027.
- [26] PORRES-MARTINEZ M, GONZÁLEZ-BURGOS E, CARRETERO M E, et al. Protective properties of *Salvia lavandulifolia* Vahl. essential oil against oxidative stress-induced neuronal injury [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2015, 80: 154-162.
- [27] XIAO L, LIU C, CHEN X, et al. Zinc oxide nanoparticles induce renal toxicity through reactive oxygen species [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2016, 90: 76-83.