

放疗诱导内皮细胞活化导致嗜酸性粒细胞浸润促进抗肿瘤作用

刘 静^{1,2,3,4} 赵 蔚^{1,2} 孙 阳^{3,4*}

1. 重庆医科大学第二附属医院：肿瘤科 重庆 400010

2. 肿瘤免疫治疗重庆市重点实验室 重庆 400010

3. 重庆医科大学附属第二医院：超声科，超声影像学研究所 重庆 400010

4. 超声分子影像诊疗重庆市重点实验室 重庆 400010

摘 要：目的 探索放疗导致肿瘤微环境中嗜酸性粒细胞浸润增加的抗肿瘤效应以及可能的机制。方法 利用 6~8 周龄 BALB/C 小鼠皮下接种肿瘤细胞构建动物模型，按随机数字表法分为 2 组：对照组、放疗组；荷瘤第 14~16 天给予肿瘤局部 8 Gy 放疗，监测小鼠肿瘤大小及生存，采用流式细胞仪分析肿瘤组织中嗜酸性粒细胞的表达。通过构建单侧皮下荷瘤模型（4T1、CT26）明确放疗后肿瘤嗜酸性粒细胞浸润增加抗肿瘤作用；采用免疫组化分析肿瘤组织中 CD31 表达的变化；采用体外细胞粘附实验来明确内皮细胞功能的变化，通过 Western blot 检测内皮细胞上可能上调的分子。结果 基于多瘤种单侧皮下荷瘤模型重复验证显示放疗后肿瘤组织中嗜酸性粒细胞浸润增加（*** $P<0.005$ ）可显著抑制肿瘤生长，延长小鼠生存期（* $P<0.05$ ）；我们采用免疫组化分析发现，对照组在接种第 24 天对比接种第 14 天，CD31 阳性细胞增加明显（*** $P<0.005$ ），而 RT 组在第 24 天肿瘤组织中 CD31 阳性细胞较接种后 14 天变化不大（ns, $P>0.05$ ），还有一个有趣的发现是在第 24 天 Control 组中 CD31 阳性细胞表达明显高于 RT 组（*** $P<0.005$ ）。之后我们进行了细胞粘附实验发现，放疗后的内皮细胞，相比未放疗的内皮细胞，可以黏附更多的嗜酸性粒细胞（*** $P<0.005$ ）。采用 WB 检测发现放疗后的内皮细胞可以表达更多的黏附分子 VCAM-1（* $P<0.05$ ）。结论 嗜酸性粒细胞不仅能够通过直接作用影响肿瘤细胞，还能通过调节肿瘤微环境间接影响肿瘤的发展过程，放疗在此起到重要作用，它通过促进嗜酸性粒细胞在肿瘤微环境的聚集，进而抑制肿瘤的生长过程，并显著延长生存。另外放疗能活化血管内皮细胞上调黏附分子 VCAM-1 的表达，从而招募更多的嗜酸性粒细胞。

关键词：放疗；嗜酸性粒细胞；血管内皮细胞；细胞粘附

放疗是恶性肿瘤局部治疗的有效方法之一。传统观点认为，放疗主要通过释放高能射线产生电离辐射，直接或间接地破坏脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid, DNA）双链从而杀伤肿瘤细胞。近来多项研究发现，放疗还可通过调节局部以及全身免疫反应发挥抗肿瘤作用，包括通过 I 型干扰素（type I Interferon, IFN）依赖的方式激活固有免疫加强适应性免疫^[1-3]，增加肿瘤新抗原，上调主要组织相容性复合体 MHC II（major histocompatibility complex II）表达，增加肿瘤细胞表面死亡受体 FAS/CD95（factor-related apoptosis）和 DR5 表达^[4]，诱导嗜酸性粒细胞浸润促进细胞毒性 T 淋巴细胞的招募和功能^[5]等。但目前放疗后嗜酸性粒细胞浸润肿瘤微环境的具体调控机制仍不清楚，如何全面阐明具体的调控机制为肿瘤的治疗带来了新的机遇。

嗜酸性粒细胞是进化上保守的多形细胞，在哮喘等过敏性疾病中发挥关键的效应功能^[6]。尽管如此，嗜酸性粒细胞可浸润多种肿瘤，并具备通过直接与肿瘤细胞相互作用或通过塑造肿瘤微环境间接调节肿瘤进展的能力^[7]。嗜酸性粒细胞能够分泌细胞毒蛋白，如主要碱性蛋白（MBP）、嗜酸性粒细胞阳离子蛋白（ECP）、嗜酸性粒细胞衍生神经毒素（EDN）和颗粒酶等，可诱导肿瘤细胞死亡^[8]。此外，嗜酸性粒细胞来源的 IL-12 和 IL-10 可通过增强肿瘤细胞上 E-cadherin 的表达，增强肿瘤细胞的黏附，从而减少肿瘤细胞的转移迁移^[9]。间接地，嗜酸性粒细胞通过释放 IFN γ 来促进抗肿瘤免疫，IFN γ 以自分泌方式或与 CD8+T 细胞来源的 IFN γ 联合分泌 CXC-趋化因子配体 9（CXCL9）和 CXCL10，诱导 CD8+T 细胞迁移和随后的细胞毒性^[10]。

本研究利用荷瘤小鼠模型，观察放疗后肿瘤组织中嗜酸性粒细胞浸润增加，并进一步探究了放疗在调控嗜酸性粒细胞于肿瘤微环境中聚集的作用机制，为开发新型临床抗肿瘤治疗策略提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验选取健康 BALB/C 小白鼠（雌性，6-8 周龄，体重 20-25g），所有实验动物均购自重庆腾鑫生物技术（中国重庆）有限公司。在 20-22℃、50-60% 相对湿度和 12h 白/12h 黑周期（分别从 07:00 和 19:00 开始）下，小鼠放在标准的实验室笼子里，SPF 条件下分笼饲养，自由进食饮水。所有的动物实验都得到了重庆医科大学动物护理和治疗机构委员会的批准，所有的小鼠都得到了人道的对待。

1.2 细胞及培养

小鼠乳腺癌细胞系 4T1 由四川大学生物治疗国家重点实验室提供，小鼠结肠癌细胞系 CT26 由陆军医学大学实验室提供。4T1 细胞使用高糖 DMEM 培养基（Gibco，澳洲）+10% 胎牛血清（Gibco，澳洲）进行培养。CT26 细胞使用 RPMI 1640 培养基（Gibco，澳洲）+10% 胎牛血清（Gibco，澳洲）进行培养。实验采用 37℃ 恒温培养箱，维持饱和湿度和 5% CO₂ 的环境。在细胞融合度达到 70% 至 80% 时，使用胰酶进行消化，并按照 1:3 的比例进行传代。当细胞状态良好且处于对数生长期时，进行细胞接种实验。人脐静脉内皮细胞（HUVECs）购自普诺赛生命科技有限公司，并在含 5% FBS 和内皮生长培养基补充剂的内皮细胞专用培养基（EGM2-MV）中培养，内皮细胞专用培养基购自 Cambrex Biosciences。人急性髓性嗜酸性粒细胞（EOL-1）购自上海中乔新舟生物科技有限公司，并在 EOL-1 人急性髓性嗜酸性粒细胞专用培养基（购自上海中乔新舟生物科技有限公司）中培养。

1.3 主要试剂及设备

直线加速加速器（瑞士医科达公司）、流式细胞仪（Beckman Coulter, Miami, FL, USA）、荧光显微镜（Olympus, 日本）。流式细胞术使用抗体均购自 BD 公司，包含：CD45-PerCP 抗体、Gr1-FITC 抗体、Siglec-F-PE 抗体。流式细胞术使用试剂包含：胶原酶 IV（Sigma-Aldrich）、DNase I（Sigma-Aldrich）。4% 多聚甲醛购自碧云天科技有限公司。免疫组化抗体 CD31 抗体（ab182981, Abcam）。7.5% 牛血

清白蛋白（BSA）培养液（Gibco Laboratories, NY, USA）。

1.4 动物模型

动物模型的构建方法具体如下：将 100 μ L 肿瘤细胞（4T1 细胞浓度为 1.5×10^5 ，CT26 细胞浓度为 5×10^5 ）注射至小鼠右后肢皮下。荷瘤后第 14-16 天，予以单次 8 Gy 的肿瘤局部放疗，辐射剂量率为 400 cGy/min，非肿瘤部位用铅板屏蔽，避免暴露于放射。每隔一天测量肿瘤大小并记录生存情况，数据整理后绘制成曲线图。根据实验目的不同分组为：对照组（Control）、放疗组（RT）。肿瘤体积计算公式：肿瘤体积（mm³）= 长 $\times$ 宽² / 2。在第 24 天一部分小鼠颈椎脱臼处死，采集小鼠肿瘤组织，称重后用于流式细胞技术和免疫组化分析，其余的小鼠被用来观察生存情况，然后描绘生存曲线。同时，我们测量了这些老鼠的肿瘤体积直到死亡。当肿瘤体积超过 4cm³ 时，所有小鼠都被处死。

1.5 流式细胞术

构建荷瘤模型后，在第 24 天取出小鼠肿瘤组织，并在含有 2% FBS 的预冷 PBS 溶液中进行机械研碎。随后，将组织置于含有 1 mg/mL 胶原酶 IV 和 0.002% DNase I 的 DMEM 培养液中，在 37℃ 条件下进行消化处理 45 分钟。消化完成后，通过 70 目筛网进行过滤，制备成单细胞悬液。接着，以 2200 转/分钟的速度离心 2 分钟，收集细胞悬液并加入抗体进行冰上染色 30 分钟。染色完成后，用 PBS 重悬并离心，制备成适合检测的上样管。随后，使用流式细胞分析仪（贝克曼，美国）进行检测，进一步圈门分析，评估嗜酸性粒细胞在肿瘤组织中的浸润情况。

1.6 免疫组化染色

第 24 天将取下的小鼠肿瘤组织用 10% 中性福尔马林溶液固定，石蜡包埋，用切片机切成 4 μ m 厚的切片，然后脱蜡、脱水并在热介导的抗原修复中孵育，将组织切片用 CD31 抗体（1: 2000, ab182981, Abcam）在 4℃ 下孵育过夜。捕获每个切片的图像，并使用光学显微镜以 $\times 100$ 的放大倍率进行分析。CD31 阳性细胞为胞膜染成棕色的细胞，在 100 倍光学显微镜下每张切片随机选取 5 个视野，计数每个视野 100 个细胞中阳性细胞的百分率，最后取其平均值。

1.7 细胞粘附测定

分别培养 EOL-1 人急性髓性嗜酸性粒细胞及人脐静脉内皮细胞至融合状态，将人脐静脉内皮细胞消化离心（ 1×10^6 /ml 专用培养液）在 250 kV/15 mA/40 cm 聚焦细胞单

层距离,剂量率为 1.15 Gy/min 的条件下,给与单次 8Gy 放疗后,放疗后将细胞放在 37℃、95% 空气、5%CO₂ 的培养箱中培养 4 小时,然后进行粘附试验。将内皮细胞消化离心后以 4×10^5 /well 铺 6 孔板,孵育 4 个小时,待细胞充分在培养板中黏附伸展后,用含 0.2% BSA 的 EBM-2 培养液清洗 2 次,将嗜酸性粒细胞用 CFDA-SE 标记,消化离心 EOL-1 人急性髓性嗜酸性粒细胞后,用专用培养基将细胞稀释至 5×10^5 /mL,将嗜酸性粒细胞悬液加入培养内皮细胞的 6 孔板,500uL/well,将培养内皮细胞的 6 孔板于 37℃ 含 5%CO₂ 培养箱中孵育 20min,吸去上清,用含 0.2% BSA 的 EBM-2 培养液清洗 2 次,洗去未黏附细胞,以 3.7% 甲醛室温固定 15min, PBS 洗 3 次,95% 甘油封片,将剩余黏附细胞进行荧光倒置显微镜观察照相。

1.8 Western blot (WB) analysis 检测

用冰冻的放射免疫沉淀缓冲液 (Beyotime) 裂解放疗后的内皮细胞,并在 4℃、15000g 的转速离心 15 分钟,收集上清液作为蛋白质样品。样品通过 10% 或 12% (w/v) 的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,然后转膜到聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上 (Millipore, Billerica, USA)。随后,采用 5% (w/v) 脱脂牛奶进行膜的封闭处理。特异性一抗在 4℃ 条件下过夜孵育,辣根过氧化物酶偶联二抗 (Cell Signaling Technology, Beverly, USA) 在室温下连续孵育 1 小时。

所有的一抗的蛋白如下: VCAM-1 (Santa Cruz, USA)、GAPDH (Abcam, Cambridge, UK)。然后通过与 Clarity Western ECL 底物 (Bio-Rad, Hercules, USA) 孵育来可视化蛋白质条带信号,使用 Tanon-4500 凝胶成像系统 (Tanon Science & Technology, Shanghai, China) 扫描膜。GAPDH 用作负载对照。使用 Image J 软件定量蛋白质条带的强度。

1.9 统计学分析

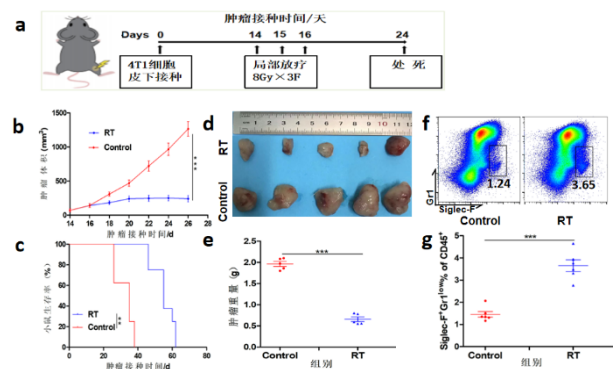
数据分析采用 GraphPad Prism 10.0.3 软件处理,所有实验均进行至少 3 次重复。两组数据的比较采用 t 检验方法,生存曲线的分析则使用 Log-rank 检验。判断差异具有统计学意义的标准是 P 值小于 0.05。

2 结果

2.1 放疗能导致嗜酸性粒细胞浸润肿瘤,增强抗肿瘤效应

将 6-8 周雌性 BALB/C 小鼠分为两组。建立荷瘤小鼠

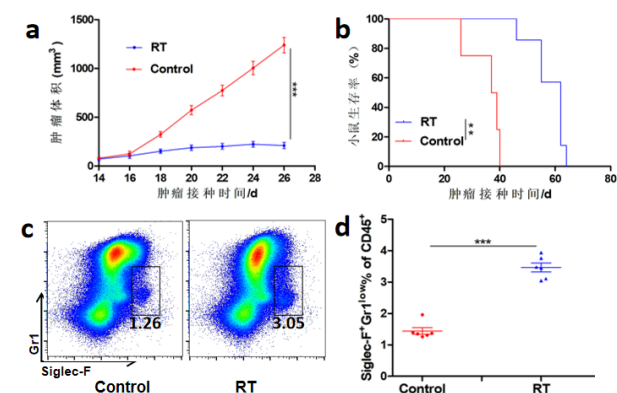
模型:在每只 BALB/C 小鼠的右后肢皮下注射 (1.5×10^5) 4T1 肿瘤细胞,在第 14 天开始,对肿瘤给与 8Gy $\times$ 3F 局部照射后随机分为实验组及对照组,模型建立见【图 1a】。每日记录小鼠临床症状,每隔 1 天对肿瘤大小进行测量,用游标卡尺测量每个肿瘤的长径及短径,用以下公式计算肿瘤体积:长 $\times$ 宽 $2/2$ 。与对照组相比,放疗组可明显抑制肿瘤生长【 $P < 0.005$,图 1b】。通过比较小鼠生存期发现,放疗组小鼠生存时间较对照组明显延长【 $P < 0.01$,图 1c】。另外,为进一步验证,在第 24 天处死小鼠,取肿瘤组织,测量重量发现,放疗组肿瘤质量则明显低于对照组【 $P < 0.005$,图 1d 和 e】。再用取出的肿瘤组织,流式分析肿瘤中嗜酸性粒细胞浸润情况发现放疗组嗜酸性粒细胞浸润明显高于对照组【 $P < 0.005$,图 1f 和 g】。



a. 4T1 肿瘤模型建立和处理流程图。b. 小鼠瘤体积变化 ($n=12$) ($*P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.005$)。c. 小鼠生存曲线 ($n=8$) ($**P < 0.01$)。d. 小鼠肿瘤大小 ($n=5$)。e. 小鼠肿瘤重量 ($***P < 0.005$)。f. 流式分析肿瘤组织嗜酸性粒细胞情况 ($n=6$)。g. 比较实验组对照组嗜酸性粒细胞浸润比例 ($***P < 0.005$)。

图 1 观察放疗能诱导嗜酸性粒细胞浸润肿瘤微环境。

为了进一步证实上述现象,我们又建立了结肠癌肿瘤模型 (CT26), 同样发现放疗组肿瘤生长与对照组相比明显受到抑制, 且生存期明显延长【 $P < 0.005$, 图 2a 和 b】, 取肿瘤组织进行流式分析嗜酸性粒细胞发现, 放疗组嗜酸性粒细胞浸润明显增多【 $P < 0.005$, 图 2c 和 d】。结果证实, 嗜酸性粒细胞的浸润在放疗的抗肿瘤效应中起到关键作用。

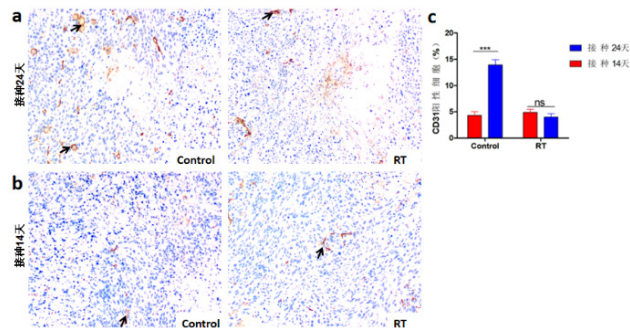


a. 小鼠瘤体变化 (n=12) (**P<0.005)。b. 小鼠生存曲线 (n=8) (**P<0.01)。c. 流式分析肿瘤组织嗜酸性粒细胞情况 (n=6)。d. 比较实验组对照组嗜酸性粒细胞浸润比例 (**P<0.005)。

图 2 观察 CT26 荷瘤小鼠模型放疗诱导嗜酸性粒细胞浸润肿瘤微环境

2.2 内皮细胞分化数量不影响嗜酸性粒细胞浸润

嗜酸性粒细胞和其他白细胞一样，其迁移到组织中的关键性变化是其与血管内皮细胞发生黏附。血管内皮细胞数量增加或者血管内皮细胞活化表达更多黏附分子是细胞黏附增加的关键环节。已有研究表明，血管内皮细胞被 LPS、TNF 或 IL-1 激活与嗜酸性粒细胞发生黏附作用，主要由血管内皮细胞上的黏附分子 VCAM-1 作为配体与嗜酸性粒细胞表面相应受体相互作用介导产生^[11]。CD31 阳性用于评估肿瘤血管内皮分化，因此，我们首先利用肿瘤组织进行免疫组化对 CD31 的表达情况进行检测。我们发现在对照组，随着瘤体增大，在接种第 24 天对比接种第 14 天，CD31 阳性细胞增加明显 (**P<0.005，图 3c)，而 RT 组虽然在第 24 天瘤体较对照组明显缩小，但在放疗后肿瘤组织中 CD31 阳性细胞较接种后 14 天变化不大 (nsP > 0.05，图 3c)，还有一个有趣的发现是在第 24 天 Control 组中 CD31 阳性细胞表达明显高于 RT 组 (**P<0.005，图 3c)，这表明嗜酸性粒细胞增加可能跟内皮细胞分化数量关系不大，可能跟分化的内皮细胞功能有关。

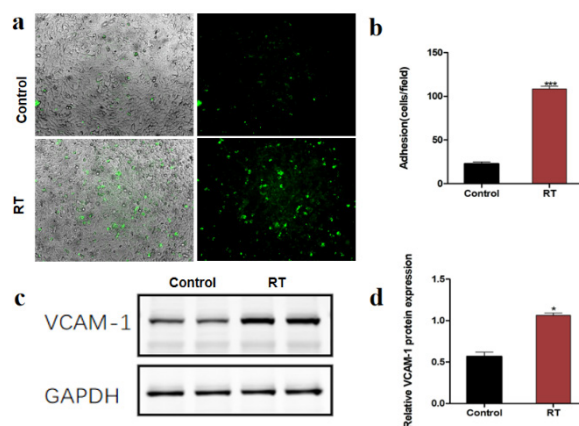


a. 免疫组织化学在小鼠接种 4T1 肿瘤 24 天后肿瘤中 CD31 的表达。比例尺：50 μ m (n=5)。b. 免疫组织化学在小鼠接种 4T1 肿瘤 14 天后肿瘤中 CD31 的表达。比例尺：50 μ m。c. 比较各组 CD31 阳性细胞表达比例 (**P<0.005，nsP > 0.05)。

图 3 观察 4T1 荷瘤小鼠肿瘤中内皮细胞分化情况

2.3 放疗能使血管内皮细胞活化，使 VCAM-1 表达上调

我们推测放疗可能使肿瘤中存活的血管内皮细胞活化。为进一步验证，我们进行了体外实验，将人脐静脉血管内皮细胞和人嗜酸性粒细胞进行细胞黏附实验，分为 2 组，实验组将人脐静脉血管内皮细胞进行单次 8Gy 放疗后进行粘附实验，对照组不进行放疗直接与嗜酸性粒细胞进行粘附。我们发现放疗后的内皮细胞，相比未放疗的内皮细胞，可以黏附更多的嗜酸性粒细胞 (**P<0.005，图 4a 和 b)。之后我们发现采用 WB 检测放疗后的内皮细胞可以表达更多的黏附分子 VCAM-1 (*P<0.05，图 4c 和 d)。由此说明 VCAM-1 上调使血管内皮细胞活化是放疗后嗜酸性粒细胞黏附浸润进入肿瘤微环境的关键环节。



(a.b) 标记的 EOL-1 细胞粘附在放疗后的 HUVEC 上。比例尺，50 μ m。(n=3)。(c.d)WB 分析内皮细胞中 VCAM-1 的表达。(n=3)。(***P<0.005，*P < 0.05)。

图 4 观察放疗后人脐静脉内皮细胞粘附情况。

3 讨论

放疗诱导肿瘤微环境改变, 增强肿瘤内嗜酸性粒细胞的浸润, 而嗜酸性粒细胞的耗竭会抑制 CD8+ T 细胞浸润并降低放射线的抗肿瘤效果^[5], 在我们的研究中也观察到局部放疗后肿瘤组织中嗜酸性粒细胞浸润增加, 并且增强了放疗的抗肿瘤作用。因此嗜酸性粒细胞的浸润机制成为我们需要解决的问题。血管内皮细胞是形成排列所有血管的单细胞层。肿瘤相关内皮细胞显示出显著的异质性和可塑性, 它们控制蛋白质、细胞、氧气和液体进入周围组织的通道。与正常内皮细胞不同的是, 肿瘤相关内皮细胞表达较低水平的粘附分子, 导致屏障功能受损, 并且它们表达增加水平的抑制性免疫检查点分子, 这有助于免疫抑制^[12]。辐射对内皮细胞的影响包括辐射诱导的细胞凋亡^[13], 辐射后内皮细胞的激活^[14]、诱导血管收缩和舒张能力下降^[15]以及凝血系统的激活^[16]。在我们的试验中也观察到对人脐静脉内皮细胞进行体外照射后放入培养箱 4 小时, 悬浮死亡细胞增加明显。尽管存活细胞减少, 但根据粘附实验也观察到存活的人脐静脉内皮细胞粘附嗜酸性能力增强。研究一致表明, 无论是在体内还是体外实验中, 照射后血管内皮细胞都会被活化。活化后的内皮细胞在调动白细胞和提升黏附蛋白的表达方面发挥作用。此外, 在体外条件下照射内皮细胞后, 血管黏附分子-1 (VCAM-1)、细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)、血小板/内皮细胞黏附分子-1 (PECAM-1)、E-选择素 (ELAM-1) 以及 P-选择素 (P-selectin) 的表达均显著上调。值得注意的是, 无论是体外还是体内照射内皮细胞, 血小板的数量都会增加^[14]。照射诱发血小板黏附于血管内皮细胞表面, 并抑制抗 PECAM-1 的表达^[14]。

但内皮细胞活化的时间窗难以精确掌握, 因此, 确定可靠的标志物对于在最佳的血管活化时机内联合其他抗肿瘤治疗具有重要意义。研究表明, 肿瘤组织 CD8+ T 细胞浸润和血管正常化有很强的相关性, 有望成为血管活化的有效生物标志物^[17]。其次, 最佳的使血管活化放疗剂量的选择也存在困难, 大剂量的照射会使血管内皮凋亡, 有研究表明在体外低于 10Gy 的剂量照射血管内皮细胞可通过增加血管内皮生长因子受体而保护血管内皮细胞活力不受损^[18]。确定具体的放疗剂量仍需进一步深入研究。考虑到肿瘤具有高度的异质性, 不同类型的肿瘤可能需要不同的放疗剂量来实现血管内皮细胞的活化。这提示我们需要针对不同的肿瘤类

型进行个体化研究, 从而为联合放疗治疗方案的优化以及临床抗肿瘤策略的制定提供新的理论依据。

参考文献:

- [1] JIN W J, ZANGL L M, HOSTM, 等. 在 小 鼠 肿 瘤 模 型 中, ATM 抑制与放射治疗联合使用可增强 I 型干扰素反应和抗肿瘤 T 细胞免疫 [J]. 癌症免疫学杂志, 2023, 11(9): 07474.
- [2] HERRERA F G, RONE C, DE OLZA M O, et al. Low dose radiotherapy reverses tumor immune desertification and resistance to immunotherapy [J]. Cancer Discov, 2022, 12 (1): 108-133. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-0003.
- [3] BURNETTE B C, LIANG H, LEE Y J, et al. The efficacy of radiotherapy relies upon induction of type i interferon-dependent innate and adaptive immunity [J]. Cancer Res, 2011, 71 (7): 2488-2496. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2820.
- [4] LHUILLIER C, RUDQVIST N P, YAMAZAKI T, et al. Radiotherapy-exposed CD8 + and CD4 + neoantigens enhance tumor control [J]. J Clin Invest, 2021, 131 (5): e138740. DOI: 10.1172/JCI138740.
- [5] 程建宁, 罗, 孙, 等. 辐射诱导嗜酸性粒细胞提高细胞毒性 T 淋巴细胞募集和免疫治疗反应 [J]. 《科学进展》, 2021, 7.
- [6] GRISARU-TAL S, ITAN M, KLION AD, 等. 肿瘤微环境中嗜酸性粒细胞的新曙光 [J]. Nat Rev 癌症, 2020, 10; 20 (10): 594-607.
- [7] MACK E A, PEAR W S. Transcription factor and cytokine regulation of eosinophil lineage commitment [J]. Curr Opin Hematol, 2020, 27 : 27 - 33. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000552.
- [8] SIBILLE A, CORHAY J L, LOUIS R, et al. Eosinophils and lung cancer: from bench to bedside [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23 : 5066. DOI: 10.3390/ijms23095066.
- [9] MESNIL C, RAULIER S, PAULISSEN G, et al. Lung-resident eosinophils represent a distinct regulatory eosinophil subset [J]. J Clin Invest, 2016, 126 : 3279 - 3295. DOI: 10.1172/JCI85664.
- [10] PADIGEL U M, LEE J J, NOLAN T J, et al. Eosinophils can function as antigen-presenting cells to induce primary and

secondary immune responses to strongyloides stercoralis [J]. Infect Immun, 2006, 74 : 3232 – 3238. DOI: 10.1128 /IAI.02067–05.

[11] Reichman H, Karo-Atar D, Munitz A, et al. Emerging Roles for Eosinophils in the Tumor Microenvironment [J].

Trends in Cancer, 2016, 2 (11) : 664–675. DOI: 10.1016/j.trecan.2016.10.002.

[12] Yang T, Xiao H, Liu X, et al. Vascular Normalization: A New Window Opened for Cancer Therapies [J]. Frontiers in Oncology, 2021, 12 : 11 : 719836. DOI: 10.3389/fonc.2021.719836.

[13] 法哈尔多 LF. 形态学模式定义的电离辐射病理学 [J]. 肿瘤学报, 2005, 44(1):13–22

[14] Rubin P, Casarett GW. Clinical radiation pathology as applied to curative radiotherapy [J]. Cancer, 1968, 22 (4) : 767–778. DOI: 10.1002/1097-0142(196810)22:4<767::aid-encr2820220412>3.0.co;2-7.

[15] Milliat F, Francois A, Isoir M, et al. Influence of endothelial cells on vascular smooth muscle cells phenotype after irradiation: implication in radiation-induced vascular damages [J]. Am J Pathol, 2006, 169 (4) : 1484–1495. DOI: 10.2353/ajpath.2006.060116.

[16] Sugihara T, Hattori Y, Yamamoto Y, et al. Preferential impairment of nitric oxide-mediated endothelium-dependent

relaxation in human cervical arteries after irradiation [J]. Circulation, 1999, 100 (6) : 635–641. DOI: 10.1161/01.cir.100.6.635.

[17] Huang Y, Yuan J, Righi E, et al. Vascular normalizing doses of antiangiogenic treatment reprogram the immunosuppressive tumor microenvironment and enhance immunotherapy [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(43) : 17561–17566. DOI: 10.1073/pnas.1215397109.

[18] Kermani P, Leclerc G, Martel R, et al. Effect of ionizing radiation on thymidine uptake, differentiation, and VEG FR2 receptor expression in endothelial cells: the role of VEGF 165 [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2001, 50 (1) : 213–220. DOI: 10.1016/S0360-3016(01)01445-6.

作者简介：

刘静（1990—），女，汉，四川广安，博士学历，重庆医科大学附属第二医院肿瘤科，主治医师，主要从事肿瘤放疗免疫相关研究。

通信作者：孙阳

基金项目：

基金项目必须包含：2022 年，重庆医科大学，重庆市自然科学基金面上项目，DYRK1A 介导 STAT3 磷酸化调控肿瘤微环境的机制研究，项目编号：(CSTB2022NSCQ-MSX1239)。