

高迁移率族蛋白 B-1 在直肠癌中的表达及其与 ZO-1、Occludin、TNF- α 、IFN- γ 的相关性分析

赵威威¹, 原娜², 陈安祺¹, 张贤雨², 张凡², 张志林²

(1. 河北北方学院研究生学院, 河北 张家口 075000;

2. 河北北方学院附属第一医院, 河北 张家口 075000)

摘要: [目的] 探讨高迁移率族蛋白 B-1(HMGB-1)在直肠癌中的表达及其对肠黏膜屏障、炎症因子的影响。[方法] 通过免疫组织化学法检测并分析 110 例 I~III 期直肠癌患者中 HMGB-1 的表达, 及其与临床病理特征、预后的关系。采用免疫组化检测并分析 HMGB-1 与紧密连接蛋白(ZO-1)、闭合蛋白(Occludin)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素- γ (IFN- γ)的关系。[结果] 110 例直肠癌患者中, HMGB-1 阳性表达率为 66.4%, 阴性表达率为 33.6%。HMGB-1 表达与直肠癌患者分化程度、淋巴结转移、脉管癌栓和 TNM 分期有关($P<0.05$); 而与性别、年龄、肿瘤直径和神经受侵无关($P>0.05$)。Cox 回归分析提示 HMGB-1 (HR=0.437, 95%CI: 0.202~0.947, $P=0.036$) 和脉管癌栓 (HR=0.461, 95%CI: 0.233~0.912, $P=0.026$) 是直肠癌患者预后不良的独立危险因素。HMGB-1 阳性与阴性患者的 5 年生存率分别为 45.2% 和 78.4%, 差异有统计学意义($P=0.003$)。HMGB-1 与 ZO-1、Occludin 的表达呈负相关($r=-0.202$, $P=0.034$; $r=-0.287$, $P=0.003$), 与 TNF- α 、IFN- γ 的表达呈正相关($r=0.232$, $P=0.015$; $r=0.327$, $P=0.001$)。[结论] 高表达 HMGB-1 的直肠癌患者生存期明显缩短, 可能与肠黏膜屏障的损害及炎症因子 TNF- α 、IFN- γ 的产生有关。

关键词: 直肠癌; 高迁移率族蛋白 B-1; 肠黏膜屏障; 闭合蛋白; 紧密连接蛋白; 肿瘤坏死因子- α ; 干扰素- γ

中图分类号: R735.3⁷ 文献标识码: A 文章编号: 1671-170X(2022)02-0111-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2022.02.B006

Expression of HMGB-1 in Rectal Cancer and Its Relationship with ZO-1, Occludin, TNF- α and IFN- γ

ZHAO Wei-wei¹, YUAN Na², CHEN An-qi¹, ZHANG Xian-yu², ZHANG Fan², ZHANG Zhi-lin²

(1. Graduate School of Hebei Northern University, Zhangjiakou 075000, China;

2. The First Affiliated Hospital of Hebei Northern University, Zhangjiakou 075000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression of high mobility group protein B-1 (HMGB-1) in rectal cancer and its relationship with clinicopathological features and the prognosis of patients. [Methods] The expression of HMGB-1 was detected with immunohistochemistry in 110 patients with stage I~III rectal cancer, and its relationship with clinicopathological characteristics and prognosis of patients was analyzed. The correlation of HMGB-1 expression with zonula occludens-1(ZO-1), occluding protein (Occludin), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interferon gamma(IFN- γ) was also analyzed. [Results] Among 110 patients with rectal cancer, the positive and negative rates of HMGB-1 were 66.4% and 33.6%, respectively. The expression of HMGB-1 was correlated with tumor differentiation, lymph node metastasis, vascular tumor thrombus and TNM staging in patients with rectal cancer(all $P<0.05$); while was not correlated with gender, age, tumor diameter and nerve invasion (all $P>0.05$). Cox regression analysis indicated that HMGB-1(HR=0.437, 95%CI: 0.202~0.947, $P=0.036$) and vascular tumor thrombus(HR=0.461, 95%CI: 0.233~0.912, $P=0.026$) were independent risk factors for poor prognosis in rectal cancer patients. The 5-year overall survive (OS) of HMGB-1 positive and negative patients was 45.2% and 78.4%, respectively ($P=0.003$). HMGB-1 expression was negatively correlated with ZO-1 and Occludin ($r=-0.202$, $P=0.034$; $r=-0.287$, $P=0.003$), and positively correlated with TNF- α and IFN- γ ($r=0.232$; $P=0.015$; $r=0.327$, $P=0.001$). [Conclusion] The survival of rectal cancer patients with the higher expression of HMGB-1 is significantly reduced, which may be related to the damage of intestinal mucosa and the production of TNF- α and IFN- γ .

Subject words: rectal cancer; high mobility group protein B-1; zonula occludens-1; occluding protein; tight junction protein; tumor necrosis factor- α ; interferon gamma

基金项目: 河北省政府资助临床医学优秀人才培养项目计划

通信作者: 张志林, 科主任, 主任医师, 硕士研究生导师, 硕士; 河北北方学院附属第一医院, 河北省张家口市桥西区长青路 12 号(075000); E-mail: 121051706@qq.com

收稿日期: 2021-08-09; **修回日期:** 2021-09-29

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界上第三大最常见的肿瘤,其中直肠癌(rectal cancer)约占所有CRC患者的30%~50%^[1]。由于早期没有明显的临床症状,通常直肠癌患者被诊断时已处于晚期。虽然直肠癌在手术、化疗、放疗及分子靶向治疗方面取得了进展,但直肠癌的死亡率并未明显改善^[2]。高迁移率族蛋白B-1 (high mobility group protein B-1, HMGB-1)是一种位于细胞核内的多功能非组蛋白,参与DNA修复、转录和基因组稳定^[3]。研究证实, HMGB-1在直肠癌中高表达,参与直肠癌患者的淋巴结转移和远处转移,同时可作为患者预后不良的预测指标^[4]。然而, HMGB-1影响直肠癌进展的机制仍不清楚。

据报道, HMGB-1不仅参与肿瘤微环境的改变,而且可调节肿瘤免疫反应^[5]。肠黏膜屏障是肠道肿瘤微环境的部分组成,其屏障的破坏可加速直肠癌细胞的侵袭和转移^[6]。其中,肠黏膜屏障的表面指标包括紧密连接蛋白(zonula occludens-1, ZO-1)、闭锁蛋白(Occludin)等,研究发现,二者水平的变化与直肠癌的发生发展相关^[7]。另外,肠内炎性介质的增加如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素- γ (interferon gamma, IFN- γ)也会促进直肠癌的发生发展^[8]。本文通过检测 HMGB-1、ZO-1、Occludin、TNF- α 及 IFN- γ 在直肠癌组织中的表达,探讨 HMGB-1是否通过影响肠黏膜屏障及细胞因子的分泌而加速直肠癌的进展,为 HMGB-1在直肠癌中作用机制提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析2015年1—12月河北北方学院附属第一医院收治的直肠癌患者120例。纳入标准:①含根治性手术的同步放化疗患者;②病理符合直肠癌;③已获得书面的知情同意;④既往无恶性肿瘤或其他伴随的恶性疾病;⑤病历资料、影像学资料及随访资料完整。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②有手术禁忌证;③术后生存期<3个月;④合并血液系统疾病、急性损伤、慢性炎症、肠穿孔的患者;⑤患者信息不完整。依据纳入和排除标准,本研究共纳入110例直肠癌患者,其中男性71例,女性39例;中

位年龄59.61岁,年龄 ≤ 60 岁53例, > 60 岁57例;TNM分期(第8版):Ⅰ期10例,Ⅱ期51例,Ⅲ期49例;分化程度:低分化35例,中分化62例,高分化13例;淋巴结转移49例,无淋巴结转移61例;中位肿瘤直径5.11 cm,直径 ≤ 5 cm 60例, > 5 cm 50例;有脉管癌栓17例,无脉管癌栓93例;神经受侵23例,无神经受侵87例。本研究通过医院伦理委员会同意,所有患者均签署知情同意书。

1.2 免疫组化检测

1.2.1 主要试剂

兔抗人单克隆抗体抗 HMGB-1(EPR3507)、抗 ZO-1(EPR19945-296)、抗 Occludin(EPR20992)、抗 IFN- γ (EPR21704)、抗 TNF- α (P/T2)均购自上海艾博抗贸易有限公司;羊抗兔 IgG(SE134)、封闭山羊血清(SL038)、DAB显色液(DA1010)均购自北京索莱宝科技有限公司;小鼠二步法试剂盒(PV-6002)购自北京中杉生物技术有限公司。

1.2.2 免疫组织化学染色步骤及其结果判读

所有标本均经过10%福尔马林浸泡,脱水,透明,浸蜡,石蜡包埋,将3 μ m切片脱水、抗原修复、灭活内源性过氧化物酶活性、山羊血清封闭,将一抗按照比例(HMGB-1:1:350;ZO-1:1:250;Occludin:1:200;IFN- γ :1:250;TNF- α :1:100)滴加至组织上,4 $^{\circ}$ C过夜;次日复温后滴加二抗(1:200);显色、复染、封片。HMGB-1、ZO-1、Occludin、IFN- γ 、TNF- α 蛋白的结果采用双盲法由2位有经验的病理科医生在显微镜下观察,随机选取3个高倍视野进行图像采集。上述指标采用半定量积分法,表达强度判定标准:未见阳性细胞或阳性细胞比例<1%为0分,阳性细胞比例1%~10%为1分,阳性细胞比例10%~50%为2分,阳性细胞比例50%~75%为3分,阳性细胞比例>75%为4分;显色度评定标准:0分:无着色度,1分:浅黄色,2分:棕黄色,3分:棕褐色。两者积分相乘,0~4分为阴性,5~12分为阳性。

1.3 随访

随访主要通过查阅住院病历、电话随访等方式。3年无联系者归为失访。随访时间截至每例患者随访5年或5年内因本疾病死亡。随访所关注的指标为生存时间(overall survival, OS),生存时间为从术后开始至随访截止或因肿瘤原因死亡的时间,患者死亡为终点事件,失访、存活或死于非肿瘤的计为截

尾数据。计算生存时间以月为单位,不足 15 天的舍去,15 天及以上的计为 1 个月。

1.4 统计学处理

数据采用 SPSS 21.0 软件进行分析,计数资料采用卡方检验,采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,采用 Cox 回归行多因素预后分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HMGB-1 在直肠癌中的表达

HMGB-1 主要表达于直肠癌细胞胞核,呈棕褐色或棕黄色,其阳性表达率为 66.4% (73/110), 阴性表达率为 33.6% (37/110) (Figure 1)。

2.2 HMGB-1 与直肠癌临床病理特征的关系

HMGB-1 表达与直肠癌患者分化程度、淋巴结转移、脉管癌栓和 TNM 分期有关($P<0.05$);而与性别、年龄、肿瘤直径和神经受侵无关($P>0.05$) (Table 1)。

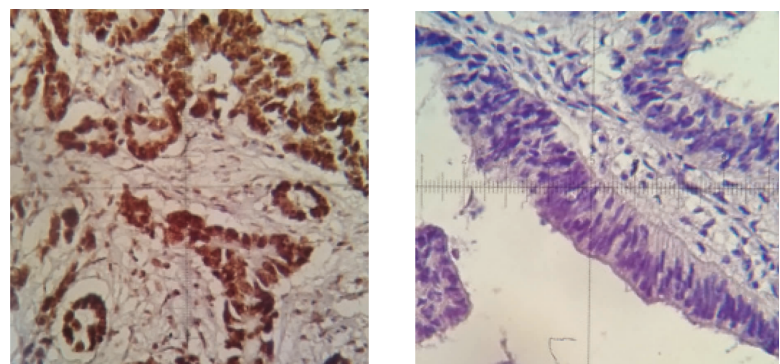
2.3 HMGB-1 表达与直肠癌患者预后的关系

随访截至 2020 年 12 月,110 例患者中生存者 62 例,5 年 OS 为 56.4%。HMGB-1 阳性与阴性患者的 5 年 OS 分别为 45.2% 和 78.4%,差异有统计学意义($P=0.003$) (Figure 2)。

Cox 回归分析结果显示, HMGB-1 和脉管癌栓是直肠癌患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$), HMGB-1 阳性表达直肠癌患者死亡风险是阴性表达患者的 0.437 倍;有脉管癌栓的直肠癌患者死亡风险是无脉管癌栓患者的 0.461 倍 (Table 2)。

2.4 HMGB-1 与直肠癌肠黏膜屏障的关系

ZO-1、Occludin 蛋白在直肠癌细胞胞膜和胞质中呈棕褐色或棕黄色弥漫



A: Positive expression

B: Negative expression

Figure 1 Expression of HMGB-1 in rectal cancer (×400)

Table 1 Relationship between HMGB-1 expression and clinicopathological features in rectal cancer

Index	N	HMGB-1		χ^2	P
		Positive (%)	Negative (%)		
Age (years old)					
>60	57	35 (47.9)	22 (59.5)	1.304	0.254
≤60	53	38 (52.1)	15 (40.5)		
Gender					
Male	71	49 (67.1)	22 (59.5)	0.630	0.427
Female	39	24 (32.9)	15 (40.5)		
Tumor size (cm)					
>5	50	35 (47.9)	15 (40.5)	0.543	0.461
≤5	60	38 (52.1)	22 (59.5)		
Differentiation					
Low	35	25 (34.2)	10 (27.0)	8.369	0.015
Middle	62	44 (60.3)	18 (48.7)		
Well	13	4 (5.5)	9 (24.3)		
Lymph node metastasis					
No	61	35 (47.9)	26 (70.3)	4.954	0.026
Yes	49	38 (52.1)	11 (29.7)		
Nerve invasion					
No	87	56 (76.7)	31 (83.8)	0.742	0.389
Yes	23	17 (23.3)	6 (16.2)		
Vascular tumor thrombus					
No	91	58 (79.5)	35 (94.6)	4.309	0.038
Yes	17	15 (20.5)	2 (5.4)		
TNM stage					
I	10	3 (4.1)	7 (18.9)	8.970	0.011
II	51	32 (43.8)	19 (51.4)		
III	49	38 (52.1)	11 (29.7)		

Table 2 Multivariate Cox analysis of prognostic factors of rectal cancer

Index	B	SE	Wald	P	Exp(B) (95% CI)
HMGB-1	-0.827	0.394	4.404	0.036	0.437 (0.202~0.947)
Vascular tumor thrombus	-0.775	0.348	4.953	0.026	0.461 (0.233~0.912)
Lymph node metastasis	0.330	1.192	0.077	0.781	1.392 (0.135~14.381)
TNM stage	0.638	1.111	0.330	0.566	1.893 (0.214~16.700)
Differentiation	0.440	0.298	2.183	0.140	1.553 (0.866~2.783)

性分布,少量表达于胞核内(Figure 3)。HMGB-1 阳性患者中 ZO-1 蛋白阳性 14 例(19.2%),阴性 59 例(80.8%),两者相比差异有统计学意义 ($P=0.034$)。HMGB-1 阳性患者中 Occludin 蛋白阳性和阴性表达率分别为 27.4%和 72.6%(Table 3)。

2.5 HMGB-1 与直肠癌中炎症因子的关系

TNF- α 、IFN- γ 在直肠癌组织细胞膜和胞质呈现棕褐色或棕黄色着色(Figure 4)。73 例 HMGB-1 阳性患者中 TNF- α 阳性 56 例(76.7%),阴性 17 例(23.3%),差异有统计学意义($P=0.015$);HMGB-1 阳性患者中 IFN- γ 阳性 48 例(65.8%),阴性 25 例(34.2%),差异有统计学意义($P=0.001$)(Table 4)。

3 讨论

HMGB-1 在直肠癌的发生、发展中起着至关重要的作用。本研究结果表明 HMGB-1 表达与直肠癌患者分化程度、淋巴结转移、脉管癌栓和 TNM 分期有关,与相关研究结果相似^[9]。进一步分析发现,HMGB-1 和脉管癌栓是直肠癌患者预后不良的独立危险因素,多项研究证实 HMGB-1 可作为预测直肠癌预后的因子^[10]。本研究也证实 HMGB-1 阳性表达直肠癌患者生存率明显低于阴性表达者。提示 HMGB-1 与直肠癌分期、淋巴结转移、分化程度及脉管癌栓关系密切,可能是其发生、发展的重要标志物。

据报道,肠道微环境的改变可参与直肠癌的发生发展,其中肠黏膜屏障的破坏与直肠癌发展密切相关。研究发现,直肠癌组血清 ZO-1、Occludin 水平低于肠息肉组和健康组,ZO-1、Occludin 水平与临床分期、伴肝转移、伴淋巴结浸润呈负相关^[11]。本研究发现 HMGB-1

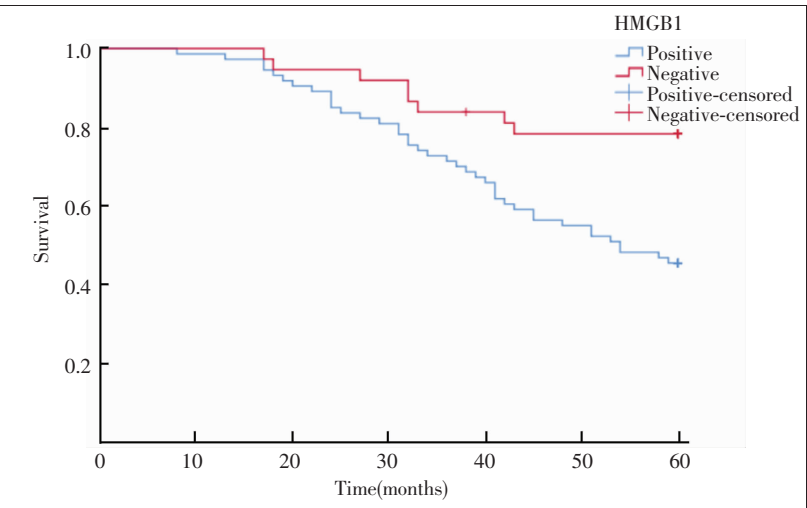


Figure 2 The survival of patients with different HMGB-1 expression

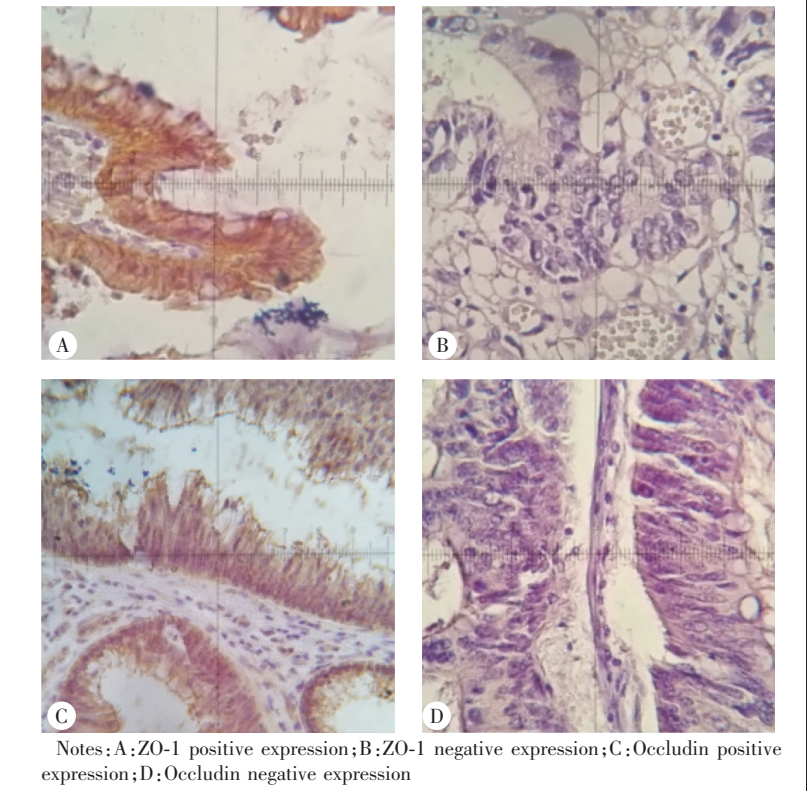
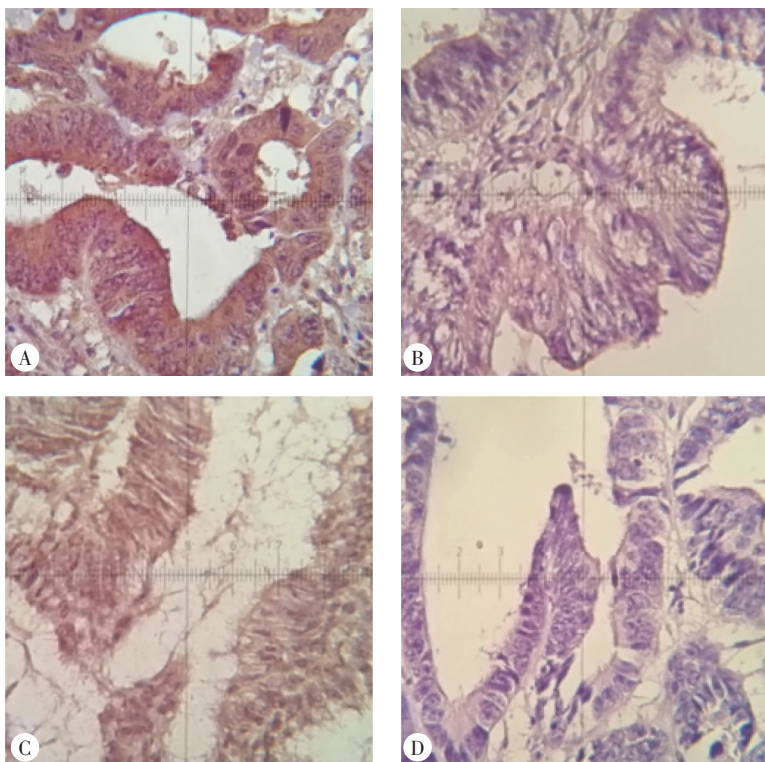


Figure 3 Expression of ZO-1 and Occludin in rectal cancer (×400)

Table 3 Relationship of HMGB-1 with ZO-1 and Occludin expression in rectal cancer

Protein	HMGB-1		χ^2	r	P
	Positive (%)	Negative (%)			
ZO-1					
Negative	59(80.8)	23(62.2)	4.506	-0.202	0.034
Positive	14(19.2)	14(37.8)			
Occludin					
Negative	53(72.6)	16(43.2)	9.053	-0.287	0.003
Positive	20(27.4)	21(56.8)			



Notes: A:TNF- α positive expression;B:TNF- α negative expression;C:IFN- γ positive expression;D:IFN- γ negative expression

Figure 4 Expression of TNF- α and IFN- γ in rectal cancer($\times 400$)

Table 4 Relationship of HMGB-1 with TNF- α and IFN- γ in rectal cancer

Index	HMGB-1		χ^2	r	P
	Positive(%)	Negative(%)			
TNF- α					
Negative	17(23.3)	17(45.9)	5.903	0.232	0.015
Positive	56(76.7)	20(54.1)			
IFN- γ					
Negative	19(26.0)	22(59.5)	11.738	0.327	0.001
Positive	54(74.0)	15(40.5)			

阳性的患者中 ZO-1 和 Occludin 蛋白表达明显减少,其机制一方面可能是 HMGB1 通过刺激 TLR4 导致 ZO-1、Occludin 蛋白表达减少,从而破坏并改变内皮细胞通透性^[12];另一方面可能是 HMGB-1 通过刺激三甲胺氮氧化物(trimethylamine N-oxide,TMAO)的产生,减少 ZO-1、Occludin 的表达,破坏细胞间的紧密连接,增加肠黏膜屏障破坏,最终导致直肠癌的发生^[13]。HMGB1 以旁分泌或自分泌的方式破坏细胞间连接,当沉默 RAGE 后 ZO-1、Occludin 蛋白的表达明显增加,进而减弱了对肠黏膜屏障的破坏^[14]。

肠屏障结构的失衡可能会在肠道微环境中爆发无法控制的免疫反应。TNF- α 由单核细胞和巨噬细胞产生,既可以参与炎症反应,也可以参与免疫反应。大量的研究表明 TNF- α 在直肠癌的细胞增殖、血管生成、组织侵袭和转移中发挥重要作用,可以作为

直肠癌早期诊断的标志物^[15]。当肠黏膜受损后 HMGB-1 被特异性受体激活,可刺激 TNF- α 的产生,进而参与肿瘤的免疫反应^[16]。研究发现 III 和 IV 期直肠癌患者中 TNF- α mRNA 的表达显著高于 I ~ II 期患者^[17]。本研究表明 HMGB1 可以增加 TNF- α 在直肠癌中的表达。IFN- γ 在直肠癌的发生、转移方面起重要作用^[18]。HMGB-1 可以通过促进树突状细胞诱导的 CD8⁺T 细胞的活化来增加 IFN- γ 的产生,并且 IFN- γ 在 mRNA 水平与 HMGB1 表达呈正相关^[19]。本研究中 HMGB-1 与 IFN- γ 表达呈正相关,与以往研究结果^[19]相似。

研究表明,TNF- α 、IFN- γ 不仅影响肠黏膜的免疫屏障,还能通过减少 ZO-1、Occludin 的表达和分布,损害肠黏膜的机械屏障^[20]。本研究中 HMGB-1 在直肠癌患者中高表达,并且会减少 ZO-1、Occludin 的表达和增加 TNF- α 、IFN- γ 的表达,进而损害肠黏膜的屏障功能,导致直肠癌的发生。本研究也有一些不足之处,没有探讨 HMGB-1 与直肠癌分子分型的关系,及其对直肠癌局部复发率、远处转移率的影响;没有验证 HMGB-1 与 ZO-1、Occludin、TNF- α 及 IFN- γ 的相关性,具体机制也未深入研究。

综上所述,HMGB-1 表达与直肠癌患者分化程度、淋巴结转移、脉管癌栓和 TNM 分期有关;HMGB-1 和脉管癌栓是直肠癌患者预后不良的独立危险因素。HMGB-1 表达与 ZO-1、Occludin 表达呈负相关,与 TNF- α 、IFN- γ 表达呈正相关。HMGB-1 表达较高的患者总生存期较短,可能与肠黏膜屏障破坏及炎症因子的释放有关。

参考文献:

[1] Siegel RL,Miller KD,Jemal A,et al.

- Cancer statistics, 2021[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7–33.
- [2] Jankowski M, Las-Jankowska M, Rutkowski A, et al. Clinical reality and treatment for local recurrence of rectal cancer: a single-center retrospective study [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2021, 57(3): 286.
- [3] Cheng KJ, Mohammed AA, Elsa Haniffah ME, et al. HMGB-1: an overview of its versatile roles in the pathogenesis of colorectal cancer[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2020, 43(2): 177–193.
- [4] Zhang W, An F, Xia M, et al. Increased HMGB-1 expression correlates with higher expression of c-IAP2 and PERK in colorectal cancer[J]. *Medicine*, 2019, 98(3): e14069.
- [5] Ferrara M, Chialli G, Ruggieri E, et al. Oxidation of HMGB1 is a dynamically regulated process in physiological and pathological conditions [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1122.
- [6] Wang K, Ding Y, Xu C, et al. Cldn-7 deficiency promotes experimental colitis and associated carcinogenesis by regulating intestinal epithelial integrity [J]. *Oncoimmunology*, 2021, 10(1): 1923910.
- [7] Wang T, Zhang L, Wang P, et al. Lactobacillus coryniformis MXJ3-2 administration ameliorates azoxymethane/dextran sulfate sodium-induced colitis-associated colorectal cancer via reshaping intestinal microenvironment and alleviating inflammatory response[J]. *Eur J Nutr*, 2021 Jun 29. [E-pub ahead of print]
- [8] Kobelt D, Zhang C, Clayton-Lucey IA, et al. Pro-inflammatory TNF- α and IFN- γ promote tumor growth and metastasis via induction of MACC1[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 980.
- [9] 程世豪, 乐建培, 黄毅婷, 等. 高迁移率族蛋白 1 在直肠癌中的表达情况及与患者预后的关系 [J]. *癌症进展*, 2021, 19(12): 1233–1237.
Cheng SH, Le JP, Huang YT et al. Expression of high mobility group box 1 in rectal cancer and its relationship with prognosis[J]. *Oncology Progress*, 2021, 19(12): 1233–1237.
- [10] Wang CQ, Huang BF, Wang Y, et al. Subcellular localization of HMGB1 in colorectal cancer impacts on tumor grade and survival prognosis[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 18587.
- [11] Liang J, Li H, Chen J, et al. Dendrobium officinale polysaccharides alleviate colon tumorigenesis via restoring intestinal barrier function and enhancing anti-tumor immune response[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 148: 104417.
- [12] Li ZL, Gao M, Yang MS, et al. Sesamin attenuates intestinal injury in sepsis via the HMGB1/TLR4/IL-33 signalling pathway[J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 898–904.
- [13] Singh GB, Zhang Y, Boini KM, et al. High mobility group box-1 mediates TMAO-induced endothelial dysfunction[J]. *Mol Sci*, 2019, 20(14): 3570.
- [14] Chen Y, Pitzer AL, Li X, et al. Instigation of endothelial Nlrp3 inflammasome by adipokine visfatin promotes inter-endothelial junction disruption: role of HMGB1[J]. *Cell Mol Med*, 2015, 19(12): 2715–2727.
- [15] Marrone MT, Lu J, Visvanathan K, et al. Association between pre-diagnostic circulating adipokines and colorectal cancer and adenoma in the CLUE II cohort[J]. *Cancer Causes Control*, 2021, 32(8): 871–881.
- [16] Fan H, Jiang C, Zhong B, et al. Matrine ameliorates colorectal cancer in rats via inhibition of HMGB1 signaling and downregulation of IL-6, TNF- α and HMGB1[J]. *Immunol Res*, 2018, 2018: 5408324.
- [17] Yu YL, Fan CW, Tseng WK, et al. Correlation between the glasgow prognostic score and the serum cytokine profile in taiwanese patients with colorectal cancer[J]. *Int J Biol Markers*, 2021, 36(2): 40–49.
- [18] Jorgovanovic D, Song M, Wang L, et al. Roles of TNF- γ in tumor progression and regression: a review[J]. *Biomark Res*, 2020, 8: 49.
- [19] Gao Q, Li F, Wang S, et al. A cycle involving HMGB1, IFN- γ and dendritic cells plays a putative role in anti-tumor immunity[J]. *Cell Immunol*, 2019, 343: 103850.
- [20] Li Y, Li ZX, Xie CY, et al. Gegen Qinlian decoction enhances immunity and protects intestinal barrier function in colorectal cancer patients via gut microbiota [J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(48): 7633–7651.