

# 结肠癌脓毒症患者外周血单个核细胞整合素 $\alpha$ L甲基化特征

张巍<sup>1</sup> 邵明亮<sup>1</sup> 孙建华<sup>1</sup> 戴世荣<sup>1</sup> 吴金娜<sup>2</sup>

**【摘要】目的** 分析结肠癌并发脓毒症患者外周血单个核细胞(PBMC)整合素 $\alpha$ L(ITGAL)启动子区域的甲基化特征及其诊断价值。**方法** 选取南通市第二人民医院2022年3月1日~2023年3月31日初诊为结肠癌患者共209例,根据是否并发脓毒症分为单纯结肠癌组(117例)和结肠癌合并脓毒症组(92例);选取同期健康体检者50例作为对照组。采用甲基化特异PCR(MSP)方法分析外周血ITGAL启动子区域7个位点的甲基化水平,采用化学发光法检测单纯结肠癌组和结肠癌并发脓毒症组患者降钙素原(PCT)、白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 表达水平,多组间比较行单因素方差分析。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析各项指标对结肠癌患者并发脓毒症的诊断价值。采用多因素Logistic回归分析性别、年龄、病理分级、TNM分期、治疗方式、PCT、IL-6、NLR及ITGAL水平与结肠癌患者并发脓毒症风险的关联。**结果** 结肠癌合并脓毒症组患者ITGAL40、128、342位点甲基化水平高于单纯结肠癌组( $t=3.69$ 、 $2.51$ 、 $4.76$ ,  $P=0.017$ 、 $0.032$ 、 $0.010$ ),ITGAL-310位点甲基化低于单纯结肠癌组( $t=5.19$ ,  $P<0.001$ ),差异均有统计学意义。PCT、NLR、IL-6和TNF- $\alpha$ 联合诊断结肠癌患者并发脓毒症ROC曲线下面积(AUC)值最高(0.902),其次为PCT(0.857)、ITGAL(0.842)和IL-6(0.783)。多因素Logistic回归分析显示,年龄( $OR=1.075$ 、 $95\%CI: 1.022\sim 1.060$ 、 $P=0.041$ )、TNM分期( $OR=1.056$ 、 $95\%CI: 1.009\sim 9.894$ 、 $P=0.047$ )、治疗方式( $OR=3.933$ 、 $95\%CI: 1.482\sim 10.442$ 、 $P=0.006$ )、PCT( $OR=1.353$ 、 $95\%CI: 0.002\sim 6.818$ 、 $P=0.031$ )和ITGAL( $OR=2.014$ 、 $95\%CI: 0.000\sim 5.726$ 、 $P=0.014$ )均为结肠癌患者发生脓毒症的影响因素。**结论** ITGAL与炎症因子参与结肠癌脓毒症进展,是诊断结肠癌发生脓毒症的敏感标志物。PBMC-ITGAL甲基化对结肠癌并发脓毒症具有鉴别诊断意义。

**【关键词】** 结肠癌;脓毒症;外周血单个核细胞;整合素 $\alpha$ L;降钙素原

**Characterization of integrin  $\alpha$ L methylation in peripheral blood mononuclear cells from colon cancer patients with sepsis** Zhang Wei<sup>1</sup>, Shao Mingliang<sup>1</sup>, Sun Jianhua<sup>1</sup>, Dai Shirong<sup>1</sup>, Wu Jinna<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine, The Second People's Hospital of Nantong, Nantong 226000, China; <sup>2</sup>Department of Breast Surgery, Nantong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nantong 226300, China

Corresponding author: Shao Mingliang, Email: wygybys@163.com

**【Abstract】Objective** To investigate the methylation characteristics of the integrin  $\alpha$ L (ITGAL) promoter region in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and its diagnostic value in patients with colon cancer complicated with sepsis. **Methods** Total of 209 patients initially diagnosed with colon cancer in the Second People's Hospital of Nantong from March 1st, 2022 to March 31st, 2023 were selected and divided into simple colon cancer group (117 cases) and colon cancer with sepsis group (92 cases) based on the presence of sepsis complications, while 50 healthy subjects were selected as control group. The methylation levels at seven sites of the ITGAL promoter region in peripheral blood were analyzed by methylation-specific polymerase chain reaction (MSP). The levels of procalcitonin (PCT), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) of patients in both groups were detected by Chemiluminescence method and compared by one-way ANOVA among multiple groups. The diagnostic

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2025.05.003

基金项目:江苏省中医药发展计划项目(No. MS2022092)

作者单位:226000 南通市,南通市第二人民医院检验科<sup>1</sup>;226300 南通市,南通市中医院乳腺外科<sup>2</sup>

通信作者:邵明亮, Email: wygybys@163.com

value of various indicators for sepsis of patients with colon cancer were evaluated by receiver operating characteristic (ROC) curves. The associations of gender, age, pathological grade, TNM stage, treatment method, PCT, IL-6, neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and ITGAL levels with the risk of sepsis in patients with colon cancer were analyzed by multivariate Logistic regression models. **Results** The methylation levels at ITGAL sites 40, 128 and 342 were significantly higher of patients in colon cancer with sepsis group compared with simple colon cancer group ( $t = 3.69, 2.51, 4.76, P = 0.017, 0.032, 0.010$ ), but the methylation level at ITGAL-310 was significantly lower ( $t = 5.19, P < 0.001$ ), all with significant differences. The combined diagnosis of PCT, NLR, IL-6 and TNF- $\alpha$  showed the highest area under ROC curve (0.902), followed by PCT (0.857), ITGAL (0.842) and IL-6 (0.783). Multivariate Logistic regression analysis showed that age ( $OR = 1.075, 95\%CI: 1.022-1.060, P = 0.041$ ), TNM stage ( $OR = 1.056, 95\%CI: 1.009-9.894, P = 0.047$ ), treatment method ( $OR = 3.933, 95\%CI: 1.482-10.442, P = 0.006$ ), PCT ( $OR = 1.353, 95\%CI: 0.002-6.818, P = 0.031$ ) and ITGAL ( $OR = 2.014, 95\%CI: 0.000-5.726, P = 0.014$ ) were all influencing factors of the occurrence of sepsis in patients with colon cancer. **Conclusions** ITGAL and inflammatory factors are involved in the progression of sepsis in colon cancer and serve as sensitive biomarkers for the diagnosis of colon cancer-associated sepsis. PBMC-ITGAL methylation has discriminative diagnostic significance for colon cancer complicated with sepsis.

**【Key words】** Colon cancer; Sepsis; Peripheral blood mononuclear cell; Integrin alpha L; Procalcitonin

结肠癌在全球范围内恶性肿瘤中发病率仅次于肺癌，位居第二，而病死率居第4位<sup>[1]</sup>。因结肠癌患者免疫力差，在全周期肿瘤治疗中（包括化疗、放疗和手术等）中，均存在发生脓毒症风险。脓毒症是因机体感染反应失调引发的严重全身性炎症反应及器官功能障碍综合征，其致死率超过25%。据相关统计，肿瘤并发脓毒症患者占脓毒症患者总数的12%，且其病死率显著高于普通脓毒症患者；若未能及时诊治，患者易进展为感染性休克，从而增加死亡风险<sup>[2]</sup>。结肠镜检查结合病理组织学评估仍是结肠癌诊断的金标准<sup>[3]</sup>，结合血清蛋白标志物，如癌胚抗原、糖类抗原19-9、糖类抗原125、糖类抗原72-4和糖类抗原242广泛应用于结肠癌的诊断以及病情进展评估<sup>[4]</sup>。粪便潜血试验作为一种非侵入性结肠癌检测方法，因灵敏度较低致使其应用受到限制<sup>[5]</sup>。临床上还通过检测外周血中隔膜蛋白9、硫酸乙酰肝素蛋白2、Aristaless样同源基因4（aristaless-like homeobox 4, ALX4）和组织因子途径抑制因子2等多个基因的甲基化状态识别结肠癌患者，尤其是在检测结肠癌早期病变和小息肉方面具有较高的敏感性。但遗憾的是，目前尚未有研究报道这些标志物在结肠癌相关脓毒症评估及感染预警方面的效能<sup>[6]</sup>。尽早识别肿瘤患者并发脓毒症对于避免治疗延误至关重要。整合素 $\alpha L$ （integrin subunit alpha L, ITGAL）作为一种广泛表达于多种细胞包括免疫细胞和肿瘤细胞的多

核苷酸序列，通过与细胞间黏附分子（intercellular adhesion molecules, ICAMs）1~3相互作用，在白细胞黏附过程中扮演着关键角色<sup>[7]</sup>。既往研究表明，ITGAL在多种癌症中表达，其中在宫颈癌、肺癌、肉瘤样肾癌、头颈鳞癌和皮肤黑色素瘤中高表达与预后相关<sup>[8-10]</sup>。本研究拟分析结肠癌并发脓毒症患者外周血单个核细胞（peripheral blood mononuclear cells, PBMCs）中ITGAL特点及其与临床进展和预后的关联，为早期诊断和预警结肠癌患者并发脓毒症提供一定依据，报道如下。

## 资料与方法

### 一、研究对象

选取南通市第二人民医院2022年3月1日~2023年3月31日收治的初诊结肠癌患者，按照是否并发脓毒症分为单纯结肠癌组（117例）和结肠癌合并脓毒症组患者（92例），由本院HIS病历系统记录获得患者临床和病理资料；另外，选取同期健康体检者50例作为对照组。

纳入标准：①确诊为结肠癌，首次治疗且预计生存期 $\geq 3$ 个月；脓毒症标准：血细菌培养显示阳性确诊感染或疑似感染，且收缩压 $\leq 100$  mmHg（1 mmHg = 0.133 kPa），呼吸 $\geq 22$ 次/min，序贯器官衰竭评分 $\geq 2$ 分；②年龄 $> 19$ 岁；③接受手术治疗，术前均接受腹部CT检查；④接受术后随访

且获得随访结局。

排除标准：①CT影像学、血清学结果资料缺失，中途退出研究者；②术前探查、辅助检查发现肿瘤已经发生病情恶化者；③合并其他部位恶性肿瘤；④患有心血管、脑血管系统等严重的基础疾病者。

研究获本院伦理委员会批准通过（审批号：2022-085），所有样品采集及资料调查均取得患者及其家属知情同意并签字确认。

## 二、方法

1. 材料和试剂：低速离心机（上海卢湘仪TD5），RNeasyMini试剂盒Trizol试剂（亚科因公司），实时荧光定量反转录聚合酶链反应（reverse transcription quantitative real-time polymerase chain reaction, RT-qPCR）试剂盒、DNA提取试剂盒（上海博竞生物科技有限公司），CpG甲基化转移酶，DNA纯化与浓缩试剂盒（南京诺唯赞生物），多重微球流式荧光法细胞因子检测试剂盒（联合医学科技有限公司）。

2. 甲基化特异PCR（methylmion specific PCR, MSP）检测ITGAL甲基化水平：（1）样本处理：取患者新鲜全血，经Ficoll-Hypaque密度梯度离心（2 000 r/min，离心半径 $r = 10$  cm，离心20 min）后，收集PBMCs层，使用细胞计数仪进行细胞计数。随后以2 000 r/min（离心半径 $r = 10$  cm）离心20 min收集细胞，弃去上清，加入200  $\mu$ l PBS缓冲液涡旋重悬细胞。

（2）基因组DNA提取纯化：使用以Trizol法对血细胞过总DNA进行提取。样品中加入200  $\mu$ l Buffer AL和20  $\mu$ l 蛋白酶K，涡旋10 s，70  $^{\circ}$ C振荡，温浴40 min。加入200  $\mu$ l无水乙醇，涡旋10 s。将HiPure DNA Mini Column I置于2 ml收集管中。转移750  $\mu$ l混合液至柱中。1 500 r/min离心1 min。加入500  $\mu$ l Buffer GW1至柱子中。2 000 r/min离心1 min。倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入650  $\mu$ l Buffer GW2至柱子中。1 500 r/min离心1 min。倒弃滤液，把柱子装回收集管中。2 000 r/min离心3 min。将柱子装在新的1.5 ml离心管中。加入50~100  $\mu$ l预热至70  $^{\circ}$ C Buffer AE至柱子的膜中央，放置3 min。1 500 r/min离心1 min。把洗脱液或50~100  $\mu$ l预热至70  $^{\circ}$ C Buffer AE加到柱子的膜中央，放置3 min。1 500 r/min离心1 min。DNA浓度经检测介于11.5~30 ng/ $\mu$ l，纯度（ $A_{260}/A_{280}$ ）为1.76~1.89。丢弃DNA结合柱，把DNA保存于2~8  $^{\circ}$ C。

（3）DNA的亚硫酸盐修饰：取1  $\mu$ g DNA进行亚硫酸盐转化EpiTect Fast DNA Bisulfite Kit对基因组DNA进行亚硫酸氢盐处理。在200  $\mu$ l PCR管中准备亚硫酸氢盐反应，亚硫酸氢盐反应成分如下：DNA 1  $\mu$ g，亚硫酸氢盐溶液85  $\mu$ l DNA保护缓冲液35  $\mu$ l，总体积140  $\mu$ l，使用热循环仪进行亚硫酸氢盐DNA转化。循环条件：变性95  $^{\circ}$ C 5 min；孵育60  $^{\circ}$ C 10 min；变性95  $^{\circ}$ C 5 min；孵育60  $^{\circ}$ C 10 min；保持20  $^{\circ}$ C。

（4）纯化：亚硫酸氢盐转化完成后，离心含有亚硫酸氢盐反应的PCR管，然后转移到干净的1.5 ml微离心管中。每个样本中加入310  $\mu$ l新配制的稀释缓冲液。每个样本中加入250  $\mu$ l无水乙醇，脉冲涡旋混合溶液15 s。MinElute DNA离心柱和收集管放置在合适的支架中。将上述混合物转移到对应的MinElute DNA离心柱中。每个离心柱中加入500  $\mu$ l缓冲液洗涤缓冲液，以最大转速离心1 min。弃去滤液，将离心柱放回收集管中。每个离心柱中加入500  $\mu$ l脱盐缓冲液，在室温（15~25  $^{\circ}$ C）下孵育15 min。15 000 r/min离心1 min以洗脱DNA。

3. 引物设计：检索文献确定包括位于ITGAL基因转录起始位点40（S1）、28（S2）、238（S3）、246（S4）、278（S5）、310（S6）和342（S7）位点7对二聚体ITGAL甲基化引物设计见表1。

4. ITGAL PCR扩增：PCR检测ITGAL表达水平。扩增条件：30  $\mu$ l体系包括10 $\times$  Taq Buffer 3  $\mu$ l，dNTP 1  $\mu$ l，酶1  $\mu$ l，ddH<sub>2</sub>O 21  $\mu$ l，上、下游引物（10  $\mu$ mol/L）各1  $\mu$ l，模板2  $\mu$ l。反应程序：95  $^{\circ}$ C、10 min；94  $^{\circ}$ C、30 s，55  $^{\circ}$ C、30 s，72  $^{\circ}$ C、40 s，40个循环；72  $^{\circ}$ C、5 min。采用相对定量分析方法，通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算目的基因相对于内参基因的表达量。

5. 指标检测：抽取患者外周血，采取全自动血细胞分析仪进行中粒细胞与淋巴细胞测定，计算中粒细胞/淋巴细胞比值（neutrophil/lymphocyte ratio, NLR），化学发光法检测降钙素原（procalcitonin, PCT）（参考值：2.0~2.5 pg/ml），通过流式细胞仪上的流式多重微球免疫荧光法检测白细胞介素（interleukin 6, IL-6）（参考值：0~5.4 ng/ml）和肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ）（参考值：0~16.5 pg/ml）。

## 三、统计学处理

应用Stata 11.0版软件对数据进行统计学分析，

表1 ITGAL 甲基化引物设计

引物名称	引物序列 (5' →3')	引物长度 (bp)
S1-MF	GTTATTGGAGAAATGTTTATTTAAATC	141
S1-MR	TCTCACCATTACATTCCAACCT	
S1-UF	GTTATTGGAGAAATGTTTATTTAAATC	141
S1-UR	TCTCACCATTACATTCCAACCT	
S2-MF	GGTTATTATATGTTATTGGAGAAATG	148
S2-MR	CCATTACATTCCAACCTAAACG	
S2-UF	GGTTATTATATGTTATTGGAGAAATG	149
S2-UR	ACCATTACATTCCAACCTAAACA	
S3-MF	TAAGTAGTTGGGATTATAGGTATGC	160
S3-MR	CACACCTCTAATCCTAACCTATA	
S3-UF	TTAAGTAGTTGGGATTATAGGTATGT	161
S3-UR	CACACCTCTAATCCTAACCTATA	
S4-MF	TTAGGTTGGAATGTAATGGTGAGA	140
S4-MR	CAAAAATACAAAATTAACCAAACG	
S4-UF	TTAGGTTGGAATGTAATGGTGAGA	141
S4-UR	CAAAAATACAAAATTAACCAAACA	
S5-MF	GTTAATTTTTGTATTTTTGGTAGAGAC	122
S5-MR	CACACCTCTAATCCTAACCTATA	
S5-UF	GTTAATTTTTGTATTTTTGGTAGAGAT	122
S5-UR	CACACCTCTAATCCTAACCTATA	
S6-MR	AAATCACCTAAAATCAAAAATTCG	
S6-UF	TTTTAAGTAGTTGGGATTATAGGTAT	125
S6-UR	TAAATCACCTAAAATCAAAAATTC	
S7-MF	TTTTAAGTAGTTGGGATTATAGGTAT	155
S7-MR	AATCCTAACCTATAAAAAACCG	
S7-UF	TTTTAAGTAGTTGGGATTATAGGTAT	156
S7-UR	TAATCCTAACCTATAAAAAACCA	

性别、临床分期、病理分级和手术方式等计数资料采用[例(%) ]表示, 组间比较采用卡方检验; 年龄、ITGAL甲基化、PCT、IL-6和TNF-α水平等计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本t检

验, 多组间ITGAL甲基化水平比较采用单因素方差分析。应用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析PCT、IL-6、NLR、TNF-α、ITGAL联合应用各项指标对结肠癌患者发生脓毒症的诊断价值, 曲线下面积(area under curve, AUC)两两比较采用Z检验。检验值取 $\alpha = 0.05$ , 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

一、入组患者一般资料、临床分期和病理分级  
入组209例患者中单纯结肠癌患者117例(55.98%), 结肠癌合并脓毒症患者92例(44.02%), 平均年龄为(69.13 ± 0.15)岁, 男性患者为主(71例、77.17%)。结肠癌临床分期多为III~IV期(50例、23.93%), 病理分级以高分化为主(32例、15.31%), 见表2。单纯结肠癌组和结肠癌合并脓毒症组患者一般资料差异均无统计学意义( $P$ 均> 0.05), 具有可比性。

二、单纯结肠癌组和结肠癌合并脓毒症组患者ITGAL 甲基化和炎症因子

结肠癌合并脓毒症组患者92例, 其中术后随访3个月内发生脓毒症休克19例(20.65%、19/92), 死亡17例(18.47%、17/92)。术后6个月发生脓毒症休克31例(33.70%、31/92), 死亡25例(27.18%、25/92)。

结肠癌合并脓毒症组患者ITGAL40、128和342位点甲基化水平高于单纯结肠癌组( $t = 3.69$ 、 $2.51$ 、 $4.76$ ,  $P = 0.017$ 、 $0.030$ 、 $0.010$ ), 而ITGAL310位点甲基化水平低于单纯结肠癌组患

表2 单纯结肠癌组和结肠癌合并脓毒症组患者的一般资料、临床分期和病理分级

指标	单纯结肠癌组 (117 例)	结肠癌合并脓毒症组 (92 例)	统计量	P 值
年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	67.42 ± 0.13	69.13 ± 0.15	$t = 0.81$	0.605
性别 (男/女, 例)	84/33	71/21	$\chi^2 = 1.02$	0.924
临床分期 [例 (%)]				
I ~ II	39 (18.66)	42 (20.09)	$\chi^2 = 1.18$	0.803
III ~ IV	78 (37.32)	50 (23.93)	$\chi^2 = 1.06$	0.905
病理分级 [例 (%)]				
高分化	38 (18.18)	32 (15.31)	$\chi^2 = 1.49$	0.624
中分化	37 (17.70)	31 (14.83)	$\chi^2 = 1.51$	0.616
低分化	42 (20.09)	29 (13.88)	$\chi^2 = 1.74$	0.551
治疗方式 [例 (%)]				
手术切除	74 (35.41)	60 (28.71)	$\chi^2 = 1.14$	0.813
化疗	43 (20.57)	32 (15.31)	$\chi^2 = 1.02$	0.914

注:  $\chi^2$  检验采用 Pearson 卡方检验

者 ( $t = 5.19$ 、 $P = 0.001$ )；两组患者CpG278和238位点甲基化水平差异无统计学意义 ( $t = 1.64$ 、 $P = 0.057$ )。结肠癌合并脓毒症组患者PCT和TNF- $\alpha$ 水平高于单纯结肠癌组患者，3组患者TNF- $\alpha$ 水平差异有统计学意义 ( $t = 2.16$ 、 $P = 0.004$ )，单纯结肠癌组患者IL-6水平高于结肠癌合并脓毒症组患者 ( $t = 0.84$ 、 $P = 0.031$ )。见表3。

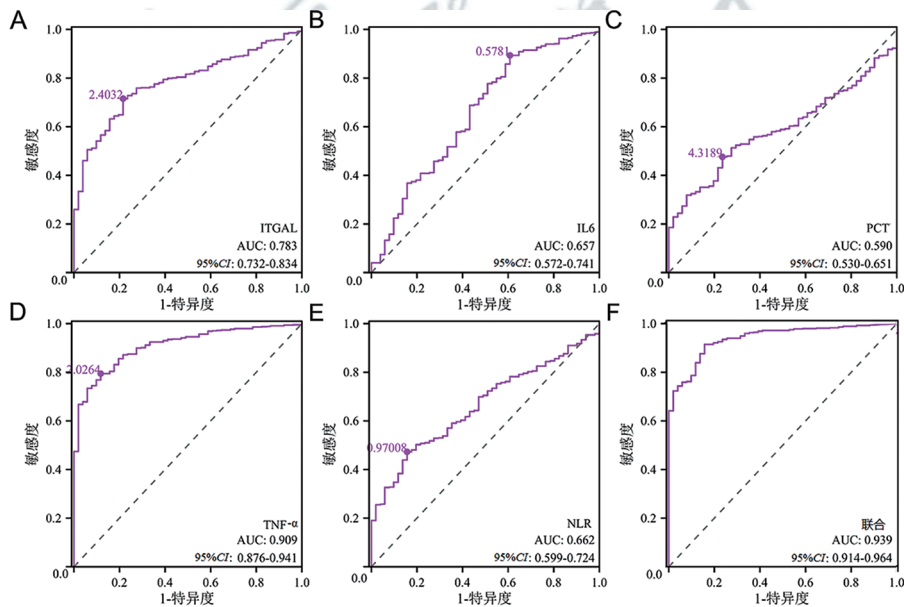
### 三、ITGAL 基因甲基化和炎症因子对结肠癌患者发生脓毒症的诊断价值

ROC曲线分析ITGAL甲基化水平、PCT、NLR、IL-6和TNF- $\alpha$ 水平对结肠癌合并脓毒症的诊断价值结果表明，5项指标联合诊断AUC值最高(0.939)，灵敏度和特异度分别为89.60%和78.23%，见图1和表4。

表3 单纯结肠癌组和结肠癌合并脓毒症组患者 ITGAL 甲基化和炎症因子水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	对照组 (50 例)	单纯结肠癌组 (117 例)	结肠癌合并脓毒症组 (92 例)	F 值	P 值
甲基化水平 (%)					
ITGAL-40	12.14 ± 1.02	23.37 ± 1.52	36.60 ± 1.46	3.69	0.017
ITGAL-128	18.25 ± 0.69	20.07 ± 1.15	33.15 ± 1.19	2.51	0.030
ITGAL-238	11.20 ± 1.03	13.18 ± 1.34	15.04 ± 0.84	0.53	0.070
ITGAL-246	10.47 ± 1.21	15.28 ± 1.05	13.62 ± 1.42	0.16	0.091
ITGAL-278	18.32 ± 0.48	30.19 ± 1.26	29.48 ± 0.52	1.64	0.057
ITGAL-310	11.93 ± 0.55	40.16 ± 1.26	23.52 ± 1.24	5.19	0.001
ITGAL-342	20.05 ± 0.75	34.29 ± 0.61	44.19 ± 0.94	4.76	0.010
炎症因子					
PCT (pg/ml)	0.04 ± 0.01	2.85 ± 0.53	7.19 ± 0.12	1.82	0.042
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	1.53 ± 0.24	4.72 ± 0.39	13.49 ± 0.54	2.16	0.040
IL-6 (ng/ml)	3.10 ± 0.21	16.04 ± 0.83	5.32 ± 0.21	0.84	0.051
NLR	1.15 ± 0.01	3.74 ± 0.51	1.42 ± 0.47	3.57	0.682

注：3组整体比较有统计学意义指标的组内两两比较：ITGAL-40：对照组 vs. 单纯结肠癌组： $t = 1.160$ 、 $P = 0.042$ ，对照组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 3.026$ 、 $P < 0.001$ ，单纯结肠癌组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 1.173$ 、 $P = 0.034$ ；ITGAL-128：对照组 vs. 单纯结肠癌组： $t = 0.724$ 、 $P = 0.316$ ，对照组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 1.171$ 、 $P = 0.038$ ，单纯结肠癌组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 1.175$ 、 $P = 0.033$ ；ITGAL-310：对照组 vs. 单纯结肠癌组： $t = 6.103$ 、 $P < 0.001$ ，对照组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 1.143$ 、 $P = 0.047$ ，单纯结肠癌组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 1.062$ 、 $P = 0.040$ ；ITGAL-342：对照组 vs. 单纯结肠癌组： $t = 1.165$ 、 $P = 0.040$ ，对照组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 1.270$ 、 $P = 0.030$ ，单纯结肠癌组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 1.180$ 、 $P = 0.034$ ；PCT：对照组 vs. 单纯结肠癌组： $t = 0.815$ 、 $P = 0.067$ ，对照组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 2.274$ 、 $P = 0.048$ ，单纯结肠癌组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 1.001$ 、 $P = 0.062$ ；TNF- $\alpha$ ：对照组 vs. 单纯结肠癌组： $t = 0.057$ 、 $P = 0.093$ ，对照组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 1.592$ 、 $P = 0.044$ ，单纯结肠癌组 vs. 结肠癌合并脓毒症组： $t = 1.015$ 、 $P = 0.057$



注：图A~F分别表示ITGAL、IL-6、PCT、TNF- $\alpha$ 、NLR以及各指标联合诊断结肠癌患者发生脓毒症ROC曲线

图1 ITGAL和炎症因子以及各指标联合应用诊断结肠癌患者发生脓毒症的ROC曲线

表4 ITGAL 和 TNF- $\alpha$  等炎症因子对结肠癌患者发生脓毒症的诊断价值

指标	Cut-off 值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	准确率 (%)	AUC
ITGAL	2.40	73.52	76.07	78.90	0.783
TNF- $\alpha$	2.03	81.97	72.74	62.03	0.909
IL-6	0.57	89.33	39.21	72.67	0.657
PCT	4.31	52.17	61.17	63.81	0.590
NLR	0.97	46.16	76.47	39.11	0.662
联合诊断	—	89.60	78.23	82.09	0.939

注：“—”：无相关数据。AUC 两两比较：ITGAL vs. 联合诊断：Z = 0.829、P = 0.074，TNF- $\alpha$  vs. 联合诊断：Z = 0.410、P = 0.087，IL-6 vs. 联合诊断：Z = 1.150、P = 0.058，PCT vs. 联合诊断：Z = 3.141、P = 0.047，NLR vs. 联合诊断：Z = 0.962、P = 0.063

表5 结肠癌并发脓毒症影响因素的多因素 Logistic 回归分析

影响因素	$\beta$ 值	S.E. 值	Wald $\chi^2$ 值	OR 值	95%CI	P 值
性别	0.424	0.517	3.144	0.533	0.372~1.339	0.621
年龄	0.040	0.442	11.375	1.075	1.022~1.060	0.041
病理分级	0.598	0.483	2.482	0.818	0.687~4.809	0.228
TNM 分期	2.403	0.374	10.264	1.056	1.009~9.894	0.047
治疗方式	1.370	0.522	9.574	3.933	1.482~10.442	0.006
PCT	3.027	0.506	5.024	1.353	0.002~6.818	0.031
IL-6	0.404	0.371	3.953	0.041	0.103~9.514	0.314
NLR	0.108	0.491	1.182	0.897	0.587~1.373	0.687
ITGAL	-4.245	0.513	7.361	2.014	0.000~5.726	0.014
TNF- $\alpha$	0.042	0.406	1.453	0.048	0.000~11.294	0.428

#### 四、结肠癌患者并发脓毒症影响因素的多因素 Logistic 回归分析

结肠癌患者发生脓毒症变量因子：性别（0 = 女性、1 = 男性）、年龄（0 =  $\leq 60$  岁、1 =  $> 60$  岁）、病理分级（0 = 中低分化、1 = 高分化）、TNM 分期（0 = I ~ II 级、1 = III ~ IV 级）、治疗方式（0 = 化疗、1 = 手术切除、2 = 化疗联合手术切除），PCT、IL-6、NLR 和 ITGAL 界值分别为 11.0 ng/ml、7.10 pg/ml、9.0 和 12.50，纳入多因素 Logistic 回归风险模型结果显示：年龄（OR = 1.075、95%CI：1.022~1.060、P = 0.041）、TNM 分期（OR = 1.056、95%CI：1.009~9.894、P = 0.047）、治疗方式（OR = 3.933、95%CI：1.482~10.442、P = 0.006）、PCT（OR = 1.353、95%CI：0.002~6.818、P = 0.031）和 ITGAL（OR = 2.014、95%CI：0.000~5.726、P = 0.014）均为结肠癌患者发生脓毒症的影响因素，见表5。

#### 讨 论

结肠癌患者常伴有慢性代谢性疾病和衰老等共病状态，其死亡原因不仅限于肿瘤增殖本身<sup>[11]</sup>。

超过60%的肿瘤患者存在凝血功能障碍、免疫功能下降及营养不良等问题<sup>[12]</sup>。脓毒症作为结肠癌术后严重并发症，其发生与患者年龄、肿瘤分期、治疗干预及感染因素呈现多维度关联。高龄（ $\geq 75$  岁）和晚期肿瘤（如 T<sub>4</sub>N<sub>2</sub>M<sub>0</sub>）患者因免疫功能障碍和手术创伤应激更易发生脓毒症，而脓毒症又可进一步增加此类患者1年内癌症相关死亡及心血管死亡风险<sup>[13]</sup>。围手术期干预措施的影响尤为显著，既往研究提示输血不仅通过诱发全身炎症反应增加脓毒症风险，还与结肠癌患者肿瘤特异性生存率、心血管疾病生存率及总生存率下降独立相关<sup>[14]</sup>。值得注意的是，输血与脓毒症存在协同致死效应；此外，肠梗阻、肠穿孔等术后并发症也可导致腹腔感染而进展为脓毒症，在高龄患者中尤为常见。感染病原体种类亦直接影响患者预后，金黄色葡萄球菌（包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌）和铜绿假单胞菌所致脓毒症病死率较高，而大肠埃希菌感染发生率虽高，但致死率相对较低<sup>[15]</sup>。另外，结肠癌患者因肿瘤微环境改变和肠道菌群失调，可能增加艰难梭菌感染（*Clostridium difficile* infection, CDI）风险，此类感染常并发肠穿孔及脓毒性休克，进一步恶化临床结局。因此，亟需寻找与肿瘤进展及免疫功能调控均相关的生物标志物<sup>[16-17]</sup>。

本研究中结肠癌患者外周血ITGAL表达降低,提示其在肿瘤免疫浸润中起关键作用,参与免疫细胞间黏附及共刺激。ITGAL与整合素 $\beta 2$  (integrin $\beta 2$ , ITGB2)形成异源二聚体,构成淋巴细胞功能相关抗原-1 (lymphocyte function-associated antigen-1, LFA-1),表达于多种白细胞表面,对于T细胞受体 (T cell receptor, TCR)与主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC)间持久相互作用及T细胞充分活化至关重要<sup>[13]</sup>。ITGAL还通过镁离子依赖的免疫突触形成参与CD8<sup>+</sup> T细胞的细胞毒性作用<sup>[14]</sup>,其表达水平与多种免疫细胞浸润程度及免疫治疗敏感性相关<sup>[15]</sup>。LFA-1与配体ICAM-1结合介导白细胞从血循环向淋巴结或炎症部位迁移。既往研究报道,ITGAL在胃癌中表达下调与不良预后相关,并与免疫细胞及炎症因子浸润密切相关<sup>[16]</sup>。

ITGAL在炎症性疾病中同样发挥重要作用。本研究中并发脓毒症患者ITGAL表达降低,与既往结果一致<sup>[17]</sup>。ITGAL缺陷小鼠实验显示其对细菌感染的敏感性增加,细菌清除能力下降,向感染部位募集的白细胞减少<sup>[18]</sup>。在结核分枝杆菌感染中,ITGAL缺失导致弥漫性肺肉芽肿形成及疾病快速进展<sup>[19]</sup>。ITGAL亦参与沙门菌感染应答及溃疡性结肠炎的发病机制<sup>[20]</sup>,增加溃疡性结肠炎风险<sup>[21-22]</sup>。

本研究显示,结肠癌合并脓症患者ITGAL基因特定位点甲基化水平升高,可能抑制ITGAL表达,进而影响患者的预后。DNA甲基化作为重要表观遗传修饰方式,参与基因表达调控及结肠癌免疫应答机制<sup>[23-24]</sup>。启动子区域甲基化可引起染色质构象改变,抑制转录因子结合及基因转录<sup>[25]</sup>。ITGAL启动子区域特定序列对其表达具有调控作用,甲基化可导致其转录及翻译水平受到抑制<sup>[26-27]</sup>。去甲基化处理可恢复CD4<sup>+</sup> T细胞中ITGAL表达及相关功能<sup>[28]</sup>。

本研究中多因素Logistic回归分析显示,肿瘤分期(III/IV期)、年龄、ITGAL表达水平及PCT与脓毒症发生风险相关,表明ITGAL参与结肠癌合并脓毒症的预后进程。类似研究也表明ITGAL可作为胃癌及三阴性乳腺癌等肿瘤免疫浸润相关预后的生物标志物<sup>[29-30]</sup>。

综上,ITGAL作为结肠癌相关脓毒症的潜在生物标志物,参与脓毒症发生发展过程,并可与炎症因子协同发挥诊断价值,特定位点甲基化发挥关

键的调控作用。进一步探究ITGAL在结肠癌与脓毒症间的桥梁机制将为控制脓毒症进展、改善临床预后提供新策略。

## 参 考 文 献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin,2021,71(3):209-249
- [2] Wang SH, Chen YL, Huang SH, et al. Tumor cell-derived ISG15 promotes fibroblast recruitment in oral squamous cell carcinoma via CD11a-dependent glycolytic reprogramming[J]. Oncogenesis, 2025,14(1):6.
- [3] Shadman H, Gomrok S, Litle C, et al. A machine learning-based investigation of integrin expression patterns in cancer and metastasis[J]. Sci Rep,2025,15(1):5270.
- [4] Bergqvist M, Park KS, Karimi N, et al. Extracellular vesicle surface engineering with integrins (ITGAL & ITGB2) to specifically target ICAM-1-expressing endothelial cells[J]. J Nanobiotechnology, 2025,23(1):64.
- [5] Nie LY, Zhao K, Xu C, et al. Identification of potential genes in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease using RNA-seq and in vitro analyses[J]. Cell Biochem Funct,2025,43(1):c70033.
- [6] Lin FJ, Yang HX, Huang ZW, et al. Magnesium-related gene ITGAL: a key immunotherapy predictor and prognostic biomarker in pancreatic cancer[J]. Front Pharmacol,2024,15:1464830.
- [7] Veronez LC, Xavier AE, Nagano LF, et al. Identifying prognostic hub genes and key pathways in pediatric adrenocortical tumors through RNA sequencing and Co-expression analysis[J]. Mol Cell Endocrinol,2024,594:112383.
- [8] Liu BB, Fan YH, Zhang XJ, et al. Identification of immune-related genes as potential biomarkers in early septic shock[J]. Int Arch Allergy Immunol,2025,186(3):264-279.
- [9] Cheng J, Ji DR, Ma J, et al. Proteomic analysis of serum small extracellular vesicles identifies diagnostic biomarkers for neuroblastoma[J]. Front Oncol,2024,14:1367159.
- [10] Thierry GR, Baudon EM, Bijnen M, et al. Non-classical monocytes scavenge the growth factor CSF1 from endothelial cells in the peripheral vascular tree to ensure survival and homeostasis[J]. Immunity,2024,57(9):2108-2121. e6.
- [11] Chen LJ, Huang YQ, Zhang N, et al. Single-cell RNA sequencing reveals reduced intercellular adhesion molecule crosstalk between activated hepatic stellate cells and neutrophils alleviating liver fibrosis in hepatitis B virus transgenic mice post menstrual blood-derived mesenchymal stem cell transplantation[J]. Med Comm,2024,5(8):e654.
- [12] Lv JY, Shi SQ, Fu ZY, et al. Exploring the inflammation-related mechanisms of Lingguizhugan decoction on right ventricular remodeling secondary to pulmonary arterial hypertension based on integrated strategy using UPLC-HRMS, systems biology approach, and experimental validation[J]. Phytomedicine,2024,132:155879.
- [13] 于欣睿, 曾辉. Janus激酶-信号转导与转录激活因子信号通路及脓毒症关系的复杂性[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2022,16(6):366-369.
- [14] Rabia I, Zaigham UI, Ahmad TB, et al. Prevalence and outcomes of sepsis in patients with colon carcinoma: organism-specific

- analysis[J]. *Cureus*,2024,16(11):e74175.
- [15] Natchaya P, Sakditad S, Aunchalee J, et al. Impact of colon cancer on outcomes in hospitalized patients with *Clostridioides difficile* infection: a national inpatient analysis[J]. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*, 2024,37(4):544-550.
- [16] Yeung E, Biedrzycki RJ, Gómez HL, et al. Maternal age is related to offspring DNA methylation: A Meta-analysis of results from the PACE consortium[J]. *Aging Cell*,2024,23(8):e14194.
- [17] Potter SJ, Zhang L, Kotliar M, et al. KMT2D regulates activation, localization, and integrin expression by T-cells[J]. *Front Immunol*, 2024,15:1341745.
- [18] Yang YT, Zhen B, Cao X, et al. Machine learning algorithm-based discovery of potential regulators of immune-related dilated cardiomyopathy[J]. *Acta Cardiol Sin*,2025,41(2):230-241.
- [19] Boccarelli A, Del BN, Esposito F, et al. Review of patient gene profiles obtained through a non-negative matrix factorization-based framework to determine the role inflammation plays in neuroblastoma pathogenesis[J]. *Int J Mol Sci*,2024,25(8):4406.
- [20] Zhang RH, Zhu GS, Li ZS, et al. ITGAL expression in non-small-cell lung cancer tissue and its association with immune infiltrates[J]. *Front Immunol*,2024,15:1382231.
- [21] 边晓倩, 王莎莎, 赵淑芬, 等. III期结直肠癌血清细胞因子水平与术后短期复发关系[J]. *青岛大学学报(医学版)*,2024,60(1):72-76.
- [22] Niu T, Li Z, Huang Y, et al. LFA-1 knockout inhibited the tumor growth and is correlated with treg cells[J]. *Cell Commun Signal*,2023, 21:233.
- [23] Martin TM, Burke SJ, Wasserfall CH, Collier JJ. Islet beta-cells and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1): Integrating immune responses that influence autoimmunity and graft rejection[J]. *Autoimmun Rev*,2023,22(10):103414.
- [24] Hickman A, Koetsier J, Kurtanich T, et al. LFA-1 activation enriches tumor-specific T cells in a cold tumor model and synergizes with CTLA-4 blockade[J]. *J Clin Invest*,2022,132(13):e154152.
- [25] De Andrade CA, Chatterjee J, Cobb O, et al. RNA sequence analysis reveals ITGAL/CD11A as a stromal regulator of murine low-grade glioma growth[J]. *Neuro Oncol*,2022,24(1):14-26.
- [26] Chinchilla-Tábor LM, Montero JC, Corchete LA, et al. Differentially expressed genes involved in primary resistance to immunotherapy in patients with advanced-stage pulmonary cancer[J]. *Int J Mol Sci*,2024,25(4):2048.
- [27] 陈莉莉, 吴天宇, 张铭, 等. 类风湿关节炎的潜在生物标志物及其免疫调控机制[J]. *南方医科大学学报*,2024,44(6):1098-1108
- [28] Li C, Zhang L, Zhang L, et al. Correlation between elevated HCLS1 levels and heart failure: A diagnostic biomarker[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2024,103(23):e38484.
- [29] Xie B, Wu T, Hong D, et al. Comprehensive landscape of junctional genes and their association with overall survival of patients with lung adenocarcinoma[J]. *Front Mol Biosci*,2024,11:1380384.
- [30] Wang HJ, Zhou CJ. Occult colon cancer with sepsis as the primary manifestation identified by bone marrow puncture: A case report[J]. *World J Clin Cases*,2022,10(9):2969-2975.

(收稿日期: 2025-04-08)

(本文编辑: 孙荣华)

张巍, 邵明亮, 孙建华, 等. 结肠癌脓毒症患者外周血单个核细胞整合素  $\alpha$ L 甲基化特征 [J/OL]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2025,19(5):271-278.

1915  
CHINESE MEDICAL ASSOCIATION  
中华医学会