

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250327.005

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250327.1140.010>

血小板指数与皮肤恶性黑色素瘤的相关性研究

郑瑛瑛, 袁梦琪, 刘梓桑, 吴桐桐, 张甘霖, 杨国旺✉

(首都医科大学附属北京中医医院肿瘤科, 北京 100010)

[摘要] **目的:** 研究基因测定的血小板指数与皮肤恶性黑色素瘤(cutaneous malignant melanoma, CMM)之间的关系。**方法:** 从全基因组关联研究(GWAS)提取来自UK Biobank数据库的血小板计数(platelet count, PLT)、平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)、血小板分布宽度(platelet distribution width, PDW)、血小板压积(thrombocytopenia, PCT)遗传数据和来自FinnGen数据库的CMM遗传数据。使用逆方差加权法(inverse variance weighting, IVW)、MR-Egger回归法、加权中位数方法和加权模式法进行孟德尔随机化分析, 并进行敏感性分析; 通过体外实验探讨血小板对A375细胞体外表型的影响。**结果:** PLT对CMM的IVW分析示 $OR=1.814$, 95% $CI(1.027, 3.203)$, $P=0.040$; MPV的IVW分析示 $OR=0.617$, 95% $CI(0.403, 0.945)$, $P=0.026$; PDW的IVW分析示 $OR=1.148$, 95% $CI(0.674, 1.958)$, $P=0.611$; PCT的IVW分析示 $OR=1.238$, 95% $CI(0.727, 2.110)$, $P=0.432$ 。体外实验证实血小板能促进A375细胞增殖。**结论:** 血小板数量增多和平均体积下降可能是CMM的危险因素; 高水平血小板促进A375细胞体外增殖。

[关键词] 血小板指数; 皮肤恶性黑色素瘤; 孟德尔随机化

[中图分类号] R739.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)15-1129-09

The correlation research between platelet index and cutaneous malignant melanoma

ZHENG Yingying, YUAN Mengqi, LIU Zishen, WU Tongtong, ZHANG Ganlin, YANG Guowang✉

(Department of Oncology, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100010, China)

[Foundation Project]: This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (82174453, 82374538); Beijing Natural Science Foundation (7222270); National Science and Technology Major Project (2024ZD0521400)

[Author]: ZHENG Yingying, E-mail: zyy879_bjzyy@163.com.

[Correspondence to]: YANG Guowang, Professor, Doctoral Supervisor, E-mail: guowang_yang@163.com.

Received: 2025-01-07

Revised: 2025-03-13

JHMU, 2026;32(15);1129-1137

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective:** To investigate the association between genetically determined platelet index and cutaneous malignant melanoma (CMM). **Methods:** Genetic data of platelet count (PLT), mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW), and thrombocytopenia (PCT) from the UK Biobank Database and genetic data of CMM from the FinnGen Database were extracted from Genome-wide association studies (GWAS). Inverse variance weighting (IVW), MR-Egger regression, weighted median and weighted pattern methods were used for Mendelian randomization analysis, and sensitivity analysis was performed as well. The effect of platelets on the phenotype of A375 cells was studied *in vitro*. **Results:** The IVW analysis of PLT for CMM was $OR=1.814$, 95% $CI(1.027, 3.203)$, $P=0.040$; The IVW analysis of MPV for CMM was $OR=0.617$, 95% $CI(0.403, 0.945)$, $P=0.026$; The IVW analysis of PDW was $OR=1.148$, 95% $CI(0.674, 1.958)$, $P=0.611$; The IVW analysis of PCT was $OR=1.238$, 95% $CI(0.727, 2.110)$, $P=0.432$. *In vitro* experiments confirmed that platelets could promote the proliferation of A375. **Conclusion:** The increase of platelet count and the decrease of mean platelet volume may be the risk factors for CMM. Increased platelets promote A375 cells proliferation *in vitro*.

[Key words] Platelet index; Cutaneous malignant melanoma; Mendelian randomization

[基金项目] 国家自然科学基金(82174453, 82374538); 北京市自然科学基金(7222270); 国家科技重大专项(2024ZD0521400)

[作者简介] 郑瑛瑛, E-mail: zyy879_bjzyy@163.com。

[通讯作者] 杨国旺, 教授, 博士生导师, E-mail: guowang_yang@163.com。

[收稿日期] 2025-01-07

[修回日期] 2025-03-13

网络出版时间: 2025-03-27 14:06:26

血小板是由来自骨髓的成熟巨核细胞的细胞质分裂产生的双面微凹、圆盘状无核细胞^[1]。血小板计数(platelet count, PLT)、平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)、血小板分布宽度(platelet distribution width, PDW)和血小板压积(plateletcrit, PCT)是临床常见的血小板指标,用于指示血小板生化和功能变化。正常血小板具有黏附、聚集、释放、收缩和吸附等功能^[2],在先天性免疫、适应性免疫、炎症中具有重要作用,也是伤口愈合和组织修复中首要响应的血细胞^[3]。肿瘤性质转变被认为是慢性炎症过程迁延有关,因此可能会影响血小板指数(platelet index)。大量证据表明血小板参与了恶性肿瘤的发生、进展、侵袭、转移过程^[4-8]。血小板水平的升高是恶性肿瘤血行转移致死的第一要素^[9,10]。此外,副血小板增多症也常见于在恶性肿瘤患者,肿瘤微环境内血管的异常增生使得血小板积极响应并活化,以确保肿瘤血管完整性^[11-13]。因此血小板常被募集至肿瘤周围,与肿瘤细胞发生互作,该机制也被称为肿瘤细胞诱导血小板聚集(tumor cell induced platelet aggregation, TCIPA)^[14],血小板即通过 TCIPA 过程进一步加速肿瘤发生、发展^[15-17]。

皮肤恶性黑色素瘤(cutaneous malignant melanoma, CMM)为皮肤黑色素细胞起源的恶性肿瘤。GLOBOCAN 2022 数据显示全世界范围内 CMM 新发病例超过 33 万/年,死亡病例近 6 万/年,发病率仍在攀升^[18]。我国黑色素瘤患病率不高,但由于人口基数庞大,每年仍有数以万计的新发病例,医疗负担较大^[19]。加之 CMM 的高侵袭转移的特质,使得黑色素瘤患者预后极差,据统计华人 CMM 的 IV 期患者生存率不足 5%^[20]。有研究认为血小板促进黑色素瘤血行转移,是黑色素瘤肿瘤免疫微环境

抑制因子之一^[17,21]。血小板计数被认为可预测黑色素瘤的临床分期与预后^[22],但是除了血小板数量以外,尚未确定其它血小板指数和 CMM 的因果关系。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)应用遗传变异作为暴露的工具变量(instrumental variable, IV),推断暴露因素与疾病等结局变量之间是否存在因果关系^[23-25]。MR 研究以孟德尔规则为基础,暴露与结局之间存在单一方向关系。那么以遗传变异作为因果关系的指标,可以消除观察性研究中出现的混杂偏倚,兼具类似随机对照试验的效应和低经济成本等优势^[26]。本研究采用双样本 MR 分析来探究血小板指数(PLT、MPV、PDW 和 PCT)与皮肤黑色素瘤之间的关联,旨在从临床实践角度更深入了解血小板对于皮肤黑色素瘤发生的作用。

1 材料与方法

1.1 MR 研究

1.1.1 MR 研究设计 MR 研究设计的基础在于如下 3 条^[27]:(1)IV 与暴露因素相关;(2)IV 与混杂因素不相关;(3)IV 与结局因素之间不存在独立关联,而仅通过暴露因素与结局因素间建立因果关联(图 1)。

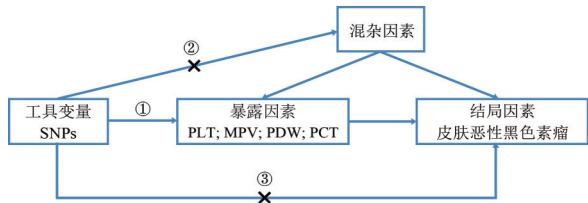


图 1 孟德尔随机化研究设计基础

Fig 1 Basis of MR study design

1.1.2 资料来源 PLT、MPV、PDW、PCT^[28]和皮肤恶性黑色素瘤^[29]的相关遗传数据资料来源于全基因组关联研究(Genome-wide association studies, GWAS)数据库(<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>)。

表 1 孟德尔随机化遗传数据

Tab 1 MR genetic data

数据资料	GWAS ID	数据来源	SNPs 数量	人群
皮肤恶性黑色素瘤	finn-b-C3_MELANOMA_SKIN	FinnGen	16 380 466	欧洲人群
PLT	ebi-a-GCST90018969	UK Biobank	19 056 453	
MPV	ebi-a-GCST90002395	UK Biobank	40 299 375	
PDW	ebi-a-GCST90002401	UK Biobank	40 300 122	
PCT	ebi-a-GCST90002400	UK Biobank	40 299 196	

1.1.3 研究方法

1.1.3.1 IV 筛选 按照研究设计,暴露因素为“血小板指数(PLT、MPV、PDW、PCT)”,结局因素为“皮肤恶性黑色素瘤”(图 2)。

IV 特指与暴露因素明显相关的 SNP,其筛选步

骤如下:(1)设定相关性阈值: $P < 5 \times 10^{-8}$;(2)考量连锁不平衡:系数 R^2 为 0~1,本研究设置 $R^2 < 0.001$,连锁不平衡区域长度限定为 10 000 kb;(3)评估 IV 强度:其统计量为 $F = \beta^2 / SE^2$,筛选出强 IV,阈值为 $F > 10$,去除弱 IV^[30];(4)数据处理:提取 IV 在

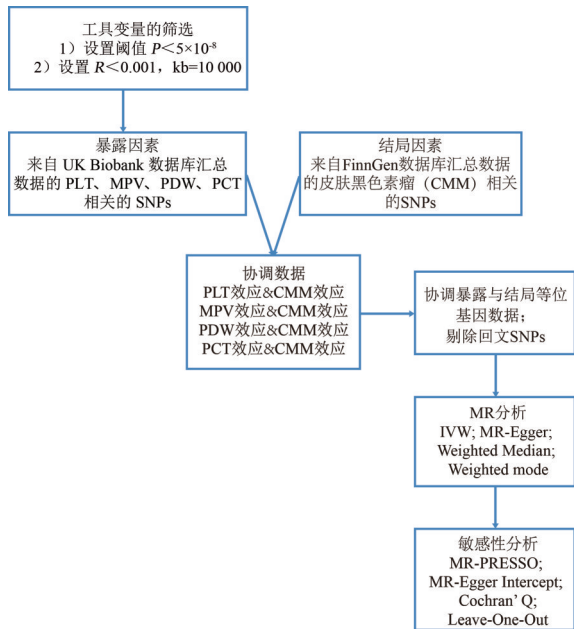


图2 孟德尔随机化研究设计

Fig 2 Study design of MR

结局因素中的相关信息,协调处理暴露与结局等位基因数据,并剔除回文 SNP,最终将剩余 SNP 纳入进行 MR 分析。

1.1.3.2 MR 分析 使用 R 软件(v4.4.0)“TwoSampleMR”程序包进行孟德尔随机化分析,方法选用逆方差加权法(inverse variance weighted, IVW)、MR-Egger 回归法(MR Egger)、加权中位数法(weighted median)、加权模式法(weighted mode), $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

1.1.3.3 敏感分析 通过 Cochran'Q Test 进行异质性检验, $P \geq 0.05$ 则使用 IVW 随机效应模型, $P < 0.05$ 则使用 IVW 固定效应模型;通过 MR-Egger 回归截距和 MR-PRESSO Global Test 检验水平多效性, $P > 0.05$ 提示不存在水平多效性;通过 Leave-One-Out Test 评估单个 SNP 是否与结局因素明显相关,若是则进行剔除并再次进行 MR 分析。

1.2 细胞实验

1.2.1 试剂耗材和仪器 人源黑色素瘤细胞系 A375 由中国科学院营养研究所惠赠。试剂中,胎牛血清、DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司,结晶紫溶液购自上海碧云天生物技术有限公司,青霉素-链霉素溶液(Penicillin 10 kU/mL+Streptomycin 10 mg/mL)、0.25% Trypsin(含 EDTA)、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)购自北京中生奥邦生物有限公司, CCK8 检测试剂盒购自大连美伦生物技术有限公司;耗材中, T_{25} 培养瓶、 T_{75} 培养瓶、24 孔板、0.8 μm Transwell 小室均购自美国 Corning 公司,96 孔板购自江苏

无锡耐思 NEST 公司。倒置显微镜购自日本 OLYMPUS 公司,多功能酶标仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.2.2 实验动物 Balb/c Nude 小鼠,雄性,6~8 周,购自北京维通利华生物公司,符合无特定病原体(specific pathogen free, SPF)标准。动物相关操作均符合北京中医医院动物伦理规范,并已获得北京中医医院动物伦理委员会批准(伦理编号:BJTCM-M-2021-12-05)。

1.2.3 实验方法

1.2.3.1 血小板上清的制备 在室温 22~23 $^{\circ}\text{C}$ 环境下,将 6~8 周龄的 Balb/c Nude 小鼠麻醉,经心脏采集新鲜全血,分离洗涤血小板。预先将 1 mL 注射器使用 3.2% 枸橼酸钠抗凝剂润管,完成心脏采血后将全血轻柔地注入含有枸橼酸钠抗凝剂的采血管内。静置 20 min 后,将血样在室温条件下以 156 g 离心 7 min,离心缓升缓降。离心后可观察到采血管中全血分层,分为 3 层:最上层为富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP),中间白膜层内含血小板和白细胞,最下层为红细胞。将 PRP 转入 1.5 mL 的 Eppendorf 管中进行第 2 次常温离心(1 000 g, 4 min, 无制动),快速吸弃上清液后,使用台式缓冲液(137 mmol/L NaCl, 12 mmol/L NaHCO_3 , 2.6 mmol/L KCl)重悬血小板即获得洗涤血小板。人工计数法计算未活化的洗涤血小板数量。将制备的洗涤血小板于 37 $^{\circ}\text{C}$ 环境下孵育 1 h。最后以 3 200 g 离心 10 min,收集上清液并以 0.22 μm 滤膜过滤,获得血小板上清。

1.2.3.2 细胞增殖实验 消化收集生长良好的 A375 细胞并进行细胞计数,调整其细胞浓度为 2×10^4 个/mL,取 100 μL 细胞悬液(含 2×10^3 个细胞)接种至 96 孔板内。次日按照分组将不同浓度的血小板制备的上清加入培养基中(对照组、1:50、1:100、1:200),每组设置 6 个复孔。同时设置对应分组的调零孔(3 个复孔)。将 96 孔板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、 $\varphi = 5\%$ 的 CO_2 恒温培养箱中培养。待 24 h 后,取出 96 孔板,避光加入 CCK8 试剂(10 μL /孔),再次放回培养箱中孵育。2 h 后使用酶标仪测量 450 nm 处的吸光值(OD 值)。

1.2.3.3 细胞迁移实验 消化收集生长良好的 A375 细胞并进行细胞计数,调整其细胞浓度为 2×10^5 个/mL。将 8 μm Transwell 小室置于 24 孔板中,上室加入 200 μL 细胞悬液(含 4×10^4 个细胞),下室加入洗涤血小板。而后将 24 孔板转移进 37 $^{\circ}\text{C}$ 、 $\varphi = 5\%$ 的 CO_2 恒温培养箱中培养。24 h 后取

出小室,PBS轻柔涮洗后置于4%多聚甲醛中室温固定30 min。PBS轻柔涮洗后置于结晶紫溶液中染色15 min。染色后再次使用PBS轻柔涮洗,使用棉签尖小心拭去小室内侧细胞。在载玻片上滴加1滴PBS,并将小室置于PBS上,于倒置显微镜下观察并拍摄5个不同视野。

1.3 统计学处理

统计分析采用SPSS 25.0软件进行的独立样本 t 检验或单因素方差分析(两组以上的多重比较),若数据为非正态分布,使用非参数Kruskal-Wallis秩和检验。使用GraphPad Prism软件绘图。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血小板指数与皮肤黑色素瘤的关系

依据“1.1.3.1”和“1.1.3.3”结果,最终纳入符合条件的SNPs进行MR分析(表2、图3)。

2.1.1 IVs的选择 当将PLT作为暴露因子考虑时,总共413个SNP被证明是CMM的可能遗传IVs;MPV作为暴露因子的情况下,430个SNP被证明是CMM推定的遗传IVs;PDW作为暴露因子时,确定356个SNP作为CMM推定的遗传IVs;在PCT

表2 血小板指数与皮肤黑色素瘤的MR分析结果

Tab 2 Results of MR analysis between platelet index and CMM

暴露因素	分析方法	SNP数量	OR(95% CI)	P
PLT	IVW	413	1.814(1.027, 3.203)	0.040
	MR Egger	413	1.629(0.608, 4.363)	0.333
	Weighted Median	413	2.302(0.883, 6.003)	0.088
	Weighted Mode	413	1.994(0.659, 6.031)	0.222
MPV	IVW	430	0.617(0.403, 0.945)	0.026
	MR Egger	430	0.696(0.368, 1.318)	0.267
	Weighted Median	430	0.834(0.411, 1.693)	0.615
	Weighted Mode	430	0.823(0.435, 1.554)	0.548
PDW	IVW	356	1.148(0.674, 1.958)	0.611
	MR Egger	356	1.108(0.464, 2.651)	0.817
	Weighted Median	356	1.627(0.680, 3.890)	0.274
	Weighted Mode	356	1.811(0.718, 4.572)	0.209
PCT	IVW	423	1.238(0.727, 2.110)	0.432
	MR Egger	423	0.802(0.319, 2.016)	0.640
	Weighted Median	423	1.052(0.412, 2.684)	0.916
	Weighted Mode	423	0.930(0.317, 2.725)	0.894

作为暴露因子时,发现CMM的可能遗传IVs为423个SNP。以上这些SNP不仅都被协调并去除了具有中间等位基因频率的回文SNP,而且还通过了

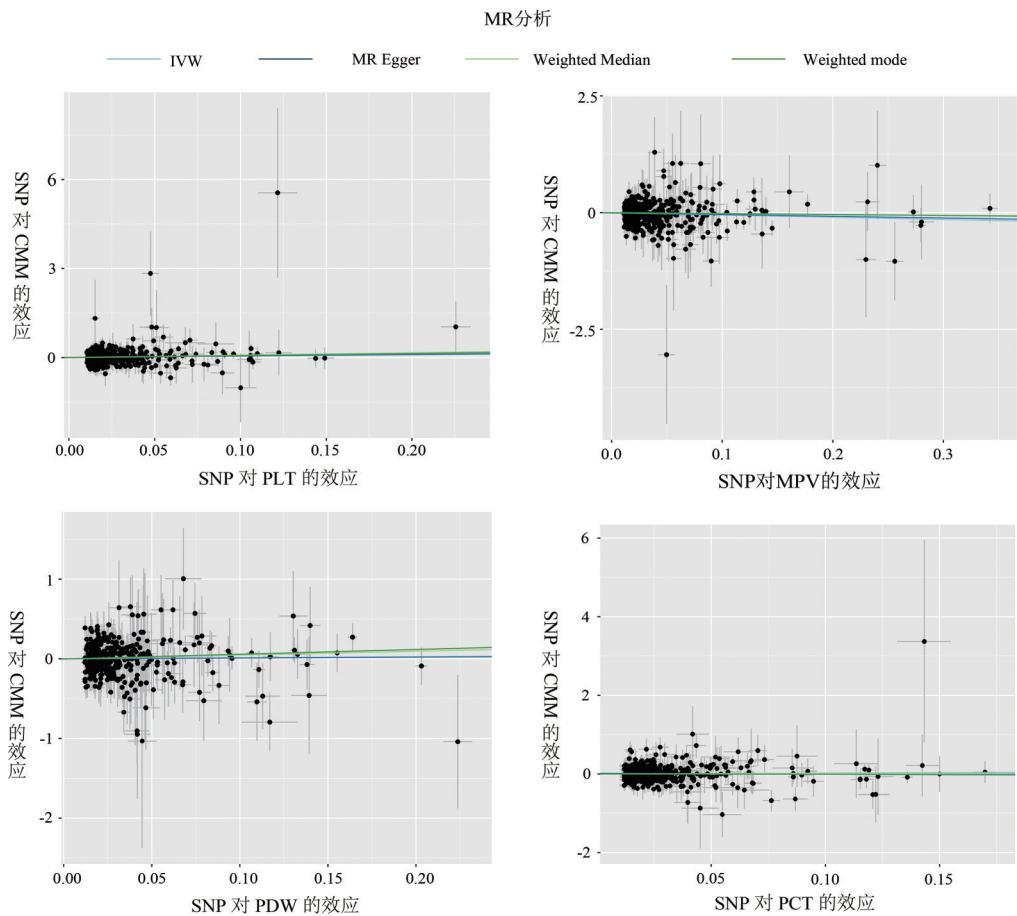


图3 孟德尔随机化结果散点图
Fig 3 Scatterplot of MR results

MR-PRESSO 测试(识别和消除异常值 IVs)。一旦消除异常值 IVs,需重新进行 MR 分析。因此,上面列出的 SNP 被考虑用于 MR 分析。此外,每个 SNP 的 F 值都大于 10,这表明弱 IV 偏差的可能性很小。

2.1.2 MR 分析结果 用于建立血小板指数(PLT、MPV、PDW 和 PCT)与 CMM 之间因果关系的 4 种方法的结果并不一致。根据 IVW 方法的 MR 分析,PLT 的结果显示 OR 为 1.814(1.027, 3.203), $P=0.040$; MPV 的 OR 为 0.617(0.403, 0.945), $P=0.026$,均具有统计学差异,这与 MR-PRESSO 分析 RAW 结果一致,说明 PLT 和 MPV 与 CMM 之间具有明显相关性;PDW 的 IVW 分析提示 OR 为 1.148(0.674, 1.958), $P=0.611$; PCT 的 IVW 分析提示 OR 为 1.238(0.727, 2.110), $P=0.432$,未达到统计学意义(表 2、图 3、表 3)。

表 3 血小板指数与 CMM 的 MR-PRESSO 分析结果

Tab 3 Results of MR-PRESSO analysis between platelet index and CMM				
暴露因素	RAWOR(95% CI)	P	Outlier-Corrected	Global Test's P
PLT	1.814(1.046, 3.145)	0.035	-	0.824
MPV	0.617(0.403, 0.945)	0.027	-	0.345
PDW	1.148(0.690, 1.910)	0.594	-	0.890
PCT	1.238(0.733, 2.092)	0.425	-	0.672

2.1.3 敏感性分析结果 Cochran' Q 检验可得 $P_{PLT}=0.815$, $P_{MPV}=0.343$, $P_{PDW}=0.888$, $P_{PCT}=0.671$,说明 4 个模型不具有异质性,故而均使用 IVW 随机效应模型;水平多效性检测 Egger intercept 显示 $P_{PLT}=0.793$, $P_{MPV}=0.619$, $P_{PDW}=0.920$, $P_{PCT}=0.258$, Global Test 显示 $P_{PLT}=0.824$, $P_{MPV}=0.345$, $P_{PDW}=0.890$, $P_{PCT}=0.672$ (表 3),说明以上 4 个模型均不存在水平多效性;Leave-One-Out 检验提示任何单一 SNP 均无法获得上述统计结果。

基于以上结果推测,皮肤恶性黑色素瘤的发生与 PLT 和 MPV 密切相关,PLT 升高和 MPV 下降是 CMM 发生的危险因素。

2.2 细胞实验探究血小板对 A375 细胞表型的影响

本研究通过 CCK8 法探究血小板在体外环境下对 A375 细胞增殖的影响,结果显示当 A375 细胞与血小板比例为 1:200 时,血小板能够明显促进 A375 细胞体外增殖($P=0.024$, $n=6$),而 1:50 和 1:100 组相比对照组无明显的促肿瘤细胞的增殖作用。随着血小板比例升高,OD 值逐渐升高,1:200 组明显高于 1:50 组($P=0.044$, $n=6$),这侧面证明高水平血小板是肿瘤进展的危险因素(图 4)。

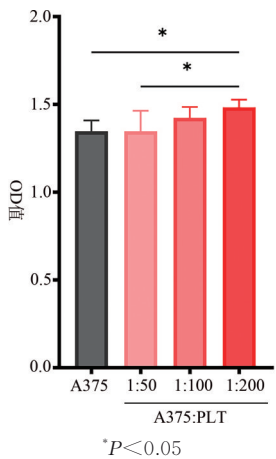


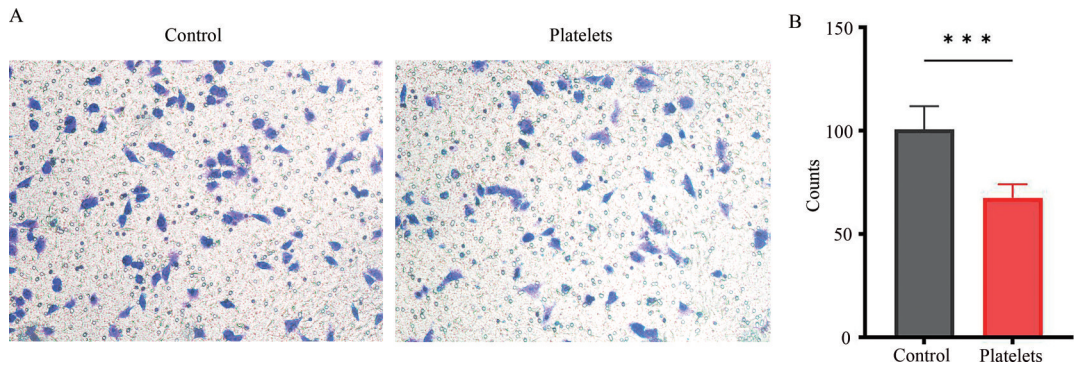
图 4 血小板对 A375 细胞体外增殖的影响

Fig 4 Effect of platelets on the proliferation of A375 in vitro

依据上述增殖实验,选择 1:200 的比例进一步进行 Transwell 迁移实验。对照组 A375 迁移数量为 (100.80 ± 11.23) 个,下室加入血小板后,A375 迁移能力明显被抑制,迁移数量为 (67.6 ± 6.6) 个,两者具有明显差异($t=5.70$, $P=0.0005$),见图 5。

3 讨论

血小板指数检测是临床实践中最为简单易行



A: A375 细胞 Transwell 迁移图;B: A375 细胞迁移统计结果;*** $P<0.001$

图 5 血小板对 A375 细胞体外迁移的影响

Fig 5 Effect of platelets on the migration of A375 in vitro

的血液检查。PLT表示单位体积血液中血小板的数量,MPV表示血小板的平均体积,PCT表示血小板占血液体积的比例。PCT与MPV和PLT的乘积有关,可以近似代表血小板的总体积。PDW是另一个重要指标,表示血小板体积大小异质性的参数。本研究采用孟德尔随机化方法探究CMM的发生与血小板指数的关系,血小板指数的变化表明血小板在CMM的发生、发展中存在一定作用。本研究发现PLT和MPV与CMM之间存在相关性,故而血小板指数的变化可能是评估CMM病程的有效指标。因此在临床中,对于CMM患者的4项血小板指数解读,应当重视PLT、MPV的突出作用。

血小板计数是适用于贯穿癌症预防、癌症监测的方便易行的血液检测手段。将血小板升高($>450\times 10^9/L$)定义为血小板增多症,研究表明其与癌症发生风险正相关^[31-33]。一项英国的前瞻性癌症登记注册研究显示在大于40岁群体中,诊断血小板增多症的人群在1年内诊断癌症的比率高于血小板正常水平人群(男性:11.6% vs. 4.1%;女性:6.8% vs. 2.2%);肺癌和结肠癌是最常见癌种^[32]。一项加拿大的回顾性队列研究显示在5年的随访期内,血小板增多症患者罹患血液肿瘤的相关危险度(RR)为4.03 95% CI (3.73, 4.35),罹患实体肿瘤的RR值为1.88 95% CI (1.82, 1.95)^[31]。由于血小板数量因种族、性别、年龄等因素存在异质性,Mounce等^[33]对血小板计数正常人群中按性别、年龄、血小板计数分层,观察并统计癌症发生率,结果显示随着年龄和血小板计数的增加,男性1年癌症发病率明显增加,正常高值血小板($376\times 10^9\sim 400\times 10^9/L$)比正常低值($150\times 10^9\sim 325\times 10^9/L$)的同年龄组发病率高3.1%。与此同时他们也认为血小板计数正常群体中患肺癌和结直肠癌的风险最大,并且通常发现即已是晚期。Li等^[34]的研究也显示血小板增多症对非小细胞肺癌患者不良预后有关。MR研究结果表明增高的血小板数量增加了非小细胞肺癌和小细胞肺癌发生的风险^[35]。一项纳入所有阶段CMM患者的回顾性队列研究报道伴血小板增多症的CMM患者5年总生存率明显下降,血小板增多与远处转移相关^[22]。基础研究证据也表明血小板通过多途径介导肿瘤细胞免疫逃逸、促进肿瘤进展转移^[14,36,37]。血小板通过TGF- β 相关信号通路(GARP/TGF- β 、TGF- β /Smad等)介导效应T细胞功能抑制^[38-40];此外血小板还可通过TCIPA途径促进肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophage, TAM)向M₂型极化并上调PD-L1表达,加速

黑色素瘤血行转移^[17];另有研究报道在黑色素瘤微环境中,TAM可进一步通过PD-L1/PD-1通路串扰效应T细胞功能,介导免疫抑制^[41]。血小板活化衍生的外囊泡(platelet-derived extracellular vesicles, Pevs)通过调节PI3K-Akt和MAPK等通路影响黑色素瘤细胞转录组,促进其增殖、侵袭、转移^[42]。本研究中孟德尔随机化研究结果提示血小板数量升高是CMM发生的危险因素 $[P=0.04, 95\% CI 1.814(1.027, 3.203)]$,体外实验也表明血小板增多会促进A375细胞的体外增殖。但是本研究显示在体外环境中血小板明显抑制A375细胞的迁移,该结果与Chen等^[17]的结果相似。笔者认为体外实验设计因存在技术层面限制,无法良好模拟血小板循环流动的体内环境,因此可能干扰实验现象的发生。未来需要在具有良好模拟体内环境的仪器设备条件下重复实验以获得更加科学可靠的实验结论。

MPV是一种反映血小板活化程度的有效指标,其正常参考值为7.5~12.0 fL,MPV增高可能提示血栓的形成和炎症反应的发生^[43-45]。而为了维持血小板止血功能和血小板质量,通常情况下PLT与MPV呈反比关系,意味着PLT升高会伴随出现MPV下降^[43,46]。MPV是多种癌症诊断和治疗后随访的潜在生物标志物^[34,44,47],但是其如何影响肿瘤的发生进展存在争议。2015年的一项研究显示接受根治术的非小细胞肺癌患者中低MPV者的无病生存期和总生存期更短^[48]。而Li等^[34]的队列研究表明MPV下降预示接受化免联合治疗的非小细胞肺癌患者总生存期获益。Kurt等^[49]的研究表明肝癌患者的MPV对比肝硬化患者、慢性肝炎患者和健康人的MPV明显升高。而另一项研究认为MPV下降却是合并2型糖尿病的肝癌患者的不良预后因素^[50]。MPV下降可能提示血小板参与血管生成和肿瘤细胞的迁移侵袭,一项280例甲状腺癌患者队列研究显示MPV下降与甲状腺癌淋巴结转移进展和TNM分期相关,被认为是甲状腺癌进展的独立因素^[51]。对比结肠息肉患者,结肠癌患者的MPV明显下降,伴随PLT明显升高,同时MPV/PLT比值被认为是更为敏感的结肠癌监测标志物^[52]。本研究首次发现MPV下降与CMM的发生有关 $[P=0.026, 95\% CI 0.617(0.403, 0.945)]$ 。结合前文PLT升高这一危险因素,也符合了血小板数量与平均体积负相关的特征,因此笔者推测在CMM患者中,PLT升高和MPV下降或许伴随存在。笔者深知MR是流行病学研究中评估病因推断

的数据分析技巧,目前尚未有黑色素瘤临床试验报道MPV与黑色素瘤进展的相关性,因此基于现有的证据,MPV与CMM间的直接关系仍待确证。

动态监测血小板相关指标及其与治疗预后的关联已成为精准医疗的重要方向,也可应用于黑色素瘤的临床诊疗中。一项回顾性研究系统评估接受一线免疫治疗的BRAF野生型转移性黑色素瘤患者在治疗1个月后,血小板计数、白细胞计数、中性粒细胞计数增加和淋巴细胞计数减少与较短的无进展生存期、总生存期相关;血小板计数和白细胞计数增加同较低的疾病控制率相关^[53]。多项研究认为血小板与淋巴细胞比值(platelets-to-lymphocytes ratio, PLR)可作为黑色素瘤预后的独立预测因子^[53-55],同时也可作为免疫治疗预后评价指标之一^[56]。另外,肿瘤教化血小板(tumor educated platelets, TEPs)过程中引起的血小板mRNA谱、蛋白质组的变化也使血小板成为癌症早期诊断和治疗反应预测的液体活检生物标志物^[57]。Yin等^[58]基于小鼠黑色素瘤模型通过血小板RNA构建黑色素瘤隐匿进展预测平台,为血小板作为早期癌症检测的前临床应用提供了证据。随着生物信息学、人工智能、机器学习算法等技术的优化和发展,血小板相关液体活检在未来的应用会更加广泛和深入。

本文存在一定局限性:(1)血小板指数受多因素影响,例如年龄、性别等,糖尿病、高血压、代谢综合征等疾病,甚至包括某些药物的使用。公共数据库的应用限制了对这些因素的控制和筛选,可能会混淆干扰结果;(2)本文所运用的公共数据库数据来源为欧洲人群,与亚洲人群相比,存在疾病流行病学、种族、国情、经济医疗条件等多方面差异,可能不利于在国内相关领域的参考;(3)以细胞实验作为孟德尔随机化结论的补充论证,具有一定科学性和可靠性,但是仍不够全面。

通过孟德尔随机化研究可知,血小板数量升高和平均体积下降是皮肤恶性黑色素瘤发生的危险因素;细胞实验证实高水平血小板能促进A375细胞体外增殖。血小板指数是在临床实践中简、便、廉的预测皮肤黑色素瘤发生的液体检测指标,但是其有效性仍需通过临床试验和基础研究进行周密科学的探索和确证。

作者贡献度说明:

郑瑛瑛:负责数据分析、基础实验操作、文章撰写;袁梦琪、刘梓桑、吴桐桐:协助数据分析、基础实验操作;张甘霖、

杨国旺:把握整体研究设计、审阅文章。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- White JG. Current concepts of platelet structure[J]. Am J Clin Pathol, 1979, 71(4): 363-378.
- Gremmel T, Frelinger A, Michelson A. Platelet Physiology [J]. Semin Thromb Hemost, 2016, 42 (3) : 191-204.
- Burnouf T, Chou ML, Lundy DJ, et al. Expanding applications of allogeneic platelets, platelet lysates, and platelet extracellular vesicles in cell therapy, regenerative medicine, and targeted drug delivery[J]. J Biomed Sci, 2023, 30(1): 79.
- Yao W, Zhao K, Li X. Platelet stimulation-regulated expression of ILK and ITGB3 contributes to intrahepatic cholangiocarcinoma progression through FAK/PI3K/AKT pathway activation[J]. Cell Mol Life Sci, 2024, 82(1): 19.
- Hinterleitner C, Strähle J, Malenke E, et al. Platelet PD-L1 reflects collective intratumoral PD-L1 expression and predicts immunotherapy response in non-small cell lung cancer[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 7005.
- De Visser KE, Joyce JA. The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth[J]. Cancer Cell, 2023, 41(3): 374-403.
- Sun Y, Li T, Ding L, et al. Platelet-mediated circulating tumor cell evasion from natural killer cell killing through immune checkpoint CD155-TIGIT[J]. Hepatology, 2025, 81(3): 791-807.
- Li X, Chen X, Gong S, et al. Platelets promote CRC by activating the C5a/C5aR1 axis via PSGL-1/JNK/STAT1 signaling in tumor-associated macrophages[J]. Theranostics, 2023, 13(6): 2040-2056.
- Bednarz-Knoll N, Popęda M, Kryczka T, et al. Higher platelet counts correlate to tumour progression and can be induced by intratumoural stroma in non-metastatic breast carcinomas [J]. Br J Cancer, 2022, 126 (3) : 464-471.
- Gasic GJ, Gasic TB, Stewart CC. Antimetastatic effects associated with platelet reduction [J]. Proc Natl Acad Sci, 1968, 61(1): 46-52.
- Gaertner F, Massberg S. Patrolling the vascular borders: Platelets in immunity to infection and cancer[J]. Nat Rev Immunol, 2019, 19(12): 747-760.
- Ho-Tin-Noé B, Boulaftali Y, Camerer E. Platelets and vascular integrity: How platelets prevent bleeding in inflammation[J]. Blood, 2018, 131(3): 277-288.
- Ho-Tin-Noé B, Goerge T, Wagner DD. Platelets: Guardians of tumor vasculature[J]. Cancer Res, 2009,

- 69(14): 5623-5626.
- 14 Li S, Lu Z, Wu S, et al. The dynamic role of platelets in cancer progression and their therapeutic implications [J]. *Nat Rev Cancer*, 2024, 24(1):72-87..
- 15 Garcia-Leon MJ, Liboni C, Mittelheisser V, et al. Platelets favor the outgrowth of established metastases [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 3297.
- 16 Dudiki T, Veleparambil M, Zhevlakova I, et al. Mechanism of tumor-platelet communications in cancer [J]. *Circ Res*, 2023, 132(11): 1447-1461.
- 17 Chen Y, Zhou J, Liu Z, et al. Tumor cell-induced platelet aggregation accelerates hematogenous metastasis of malignant melanoma by triggering macrophage recruitment [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 277.
- 18 Freddie B, Mathieu L, Hyuna S, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3):229-263.
- 19 Tian Q, Hu L, Bai R, et al. Changes in the epidemiological burden of melanoma in China from 1990 to 2019 based on the global burden of disease [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2024, 137(21): 2636-2637.
- 20 Chi Z, Li S, Sheng X, et al. Clinical presentation, histology, and prognoses of malignant melanoma in ethnic Chinese: A study of 522 consecutive cases [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11:85.
- 21 Philippe C, Philippe B, Fouqueray B, et al. Protection from tumor necrosis factor-mediated cytotoxicity by platelets [J]. *Am J Pathol*, 1993, 143(6): 1713-1723.
- 22 Rachidi S, Kaur M, Lautenschlaeger T, et al. Platelet count correlates with stage and predicts survival in melanoma [J]. *Platelets*, 2019, 30(8): 1042-1046.
- 23 Smith GD, Ebrahim S. "Mendelian randomization": Can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? [J]. *Int J Epidemiol*, 2003, 32(1): 1-22.
- 24 Peggy S, Fabioal DGM, Cristian P, et al. Mendelian randomization as an approach to assess causality using observational data [J]. *J Am Soc Nephrol JASN*, 2016, 27(11):3253-3265.
- 25 Davey Smith G, Hemani G. Mendelian randomization: Genetic anchors for causal inference in epidemiological studies [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(R1): R89-R98.
- 26 Zhu X. Mendelian randomization and pleiotropy analysis [J]. *Quant Biol*, 2021, 9(2): 122-132.
- 27 Burgess S, Davey Smith G, Davies NM, et al. Guidelines for performing Mendelian randomization investigations: Update for summer 2023 [J]. *Wellcome Open Res*, 2019, 4: 186.
- 28 Li H, Liu T. Platelet indices and inflammatory bowel disease: A Mendelian randomization study [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1377915.
- 29 Sakaue S, Kanai M, Tanigawa Y, et al. A cross-population atlas of genetic associations for 220 human phenotypes [J]. *Nat Genet*, 2021, 53(10): 1415-1424.
- 30 Huang W, Xiao J, Ji J, et al. Association of lipid-lowering drugs with COVID-19 outcomes from a Mendelian randomization study [J]. *eLife*, 2021, 10: e73873.
- 31 Giannakeas V, Narod SA. Incidence of cancer among adults with thrombocytosis in Ontario, Canada [J]. *JAMA Netw Open*, 2021, 4(8): e2120633.
- 32 Bailey SE, Ukoumunne OC, Shephard EA, et al. Clinical relevance of thrombocytosis in primary care: A prospective cohort study of cancer incidence using English electronic medical records and cancer registry data [J]. *Br J Gen Pract*, 2017, 67(659): e405-e413.
- 33 Mounce LT, Hamilton W, Bailey SE. Cancer incidence following a high-normal platelet count: Cohort study using electronic healthcare records from English primary care [J]. *Br J Gen Pract*, 2020, 70(698): e622-e628.
- 34 Li M, Zhao S, Lopez G, et al. Mean platelet volume, thrombocytosis, and survival in non-small cell lung cancer patients treated with first-line pembrolizumab alone or with chemotherapy [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2023, 72(7): 2067-2074.
- 35 Zhu Y, Wei Y, Zhang R, et al. Elevated platelet count appears to be causally associated with increased risk of lung cancer: A mendelian randomization analysis [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2019, 28(5): 935-942.
- 36 Liao K, Zhang X, Liu J, et al. The role of platelets in the regulation of tumor growth and metastasis: The mechanisms and targeted therapy [J]. *MedComm*, 2023, 4(5): e350.
- 37 Zhang X, Yu S, Li X, et al. Research progress on the interaction between oxidative stress and platelets: Another avenue for cancer? [J]. *Pharmacol Res*, 2023, 191: 106777.
- 38 Metelli A, Wu BX, Riesenberger B, et al. Thrombin contributes to cancer immune evasion *via* proteolysis of platelet-bound GARP to activate LTGF- β [J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(525): eaay4860.
- 39 Rachidi S, Metelli A, Riesenberger B, et al. Platelets subvert T cell immunity against cancer *via* GARP-TGF β axis [J]. *Sci Immunol*, 2017, 2(11): eaai7911.
- 40 Nixon BG, Gao S, Wang X, et al. TGF β control of im-

- immune responses in cancer: A holistic immuno-oncology perspective[J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 23(6): 346.
- 41 Habib S, Osborn G, Willsmore Z, et al. Tumor associated macrophages as key contributors and targets in current and future therapies for melanoma[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2024, 20(8): 895-911.
 - 42 Tavukcuoglu Z, Butt U, Faria AVS, et al. Platelet-derived extracellular vesicles induced through different activation pathways drive melanoma progression by functional and transcriptional changes [J]. *Cell Commun Signal CCS*, 2024, 22: 601.
 - 43 Llorente-Chávez A, Martín-Nares E, Núñez-Álvarez C, et al. Thrombosis and thrombocytopenia in antiphospholipid syndrome: Their association with mean platelet volume and hematological ratios [J]. *Thromb Res*, 2021, 203: 12-17.
 - 44 Korniluk A, Koper-Lenkiewicz OM, Kamińska J, et al. Mean platelet volume (MPV): New perspectives for an old marker in the course and prognosis of inflammatory conditions [J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 9213074.
 - 45 Li H, Liu T. Platelet indices and inflammatory bowel disease: A Mendelian randomization study[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1377915.
 - 46 Thompson CB, Jakubowski JA. The pathophysiology and clinical relevance of platelet heterogeneity [J]. *Blood*, 1988, 72(1): 1-8.
 - 47 Yi X, Li J, Li Y, et al. Predictive diagnostic value of mean platelet volume to platelet count and neutrophil to lymphocyte ratios in the gray zone of prostate cancer with tPSA between 4 to 10 ng/mL [J]. *Front Oncol*, 2024, 14: 1454124.
 - 48 Kumagai S, Tokuno J, Ueda Y, et al. Prognostic significance of preoperative mean platelet volume in resected non-small-cell lung cancer[J]. *Mol Clin Oncol*, 2015, 3(1): 197-201.
 - 49 Kurt M, Onal IK, Sayilir AY, et al. The role of mean platelet volume in the diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease [J]. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59(117): 1580-1582.
 - 50 Yin J, Niu Y, Qian L, et al. Mean platelet volume predicts survival in patients with hepatocellular carcinoma and type 2 diabetes [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2019, 151: 120-127.
 - 51 Yu Y, Li N, Yun Z, et al. Preoperative mean platelet volume and platelet distribution associated with thyroid cancer[J]. *Neoplasma*, 2017, 64(4): 594-598.
 - 52 Wu Y, Zhang X, Qin Y, et al. Mean platelet volume/platelet count ratio in colorectal cancer: A retrospective clinical study[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 314.
 - 53 Guida M, Bartolomeo N, Quaresmini D, et al. Basal and one-month differed neutrophil, lymphocyte and platelet values and their ratios strongly predict the efficacy of checkpoint inhibitors immunotherapy in patients with advanced BRAF wild-type melanoma [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 159.
 - 54 Ertekin SS, Mangas C, Riquelme-Mc Loughlin C, et al. Prognostic value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio and monocyte-to-lymphocyte ratio in melanoma patients: A cohort study [J]. *Acta Derm Venereol*, 2024, 104: 27571.
 - 55 Zhang F, Gong W. Prognostic value of the platelet-to-lymphocyte ratio in patients with melanoma: A meta-analysis[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 1116.
 - 56 Ou Y, Liang S, Gao Q, et al. Prognostic value of inflammatory markers NLR, PLR, LMR, dNLR, ANC in melanoma patients treated with immune checkpoint inhibitors: A meta-analysis and systematic review [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1482746.
 - 57 Veld SGJGI't, Arkani M, Post E, et al. Detection and localization of early-and late-stage cancers using platelet RNA[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(9): 999-1009.e6.
 - 58 Yin Y, Jiang R, Shen M, et al. Prediction of occult tumor progression *via* platelet RNAs in a mouse melanoma model: A potential new platform for early detection of cancer[J]. *J Transl Med*, 2022, 20: 71.

[本文编辑] 朱金月