

PSGL-1 与皮肤恶性黑色素瘤预后的相关性分析*

刘梓燊, 郑瑛瑛, 袁梦琪, 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: 为了探究 PSGL-1 与皮肤恶性黑色素瘤预后是否具有相关性, 从全基因组关联研究 (GWAS) 提取 PSGL-1 和皮肤恶性黑色素瘤的遗传数据, 使用逆方差加权法、MR-Egger 回归法、加权中位数法、加权模式法和简单模式法进行分析, 并对数据进行敏感性分析。从 TCGA 数据库提取皮肤恶性黑色素瘤的生存信息, 根据 PSGL-1 表达高低进行分组, 通过 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, Log-rank 检验比较两者生存期之间的差异。通过体外实验探究 PSGL-1 对 A375 细胞生物学功能影响。结果显示 PSGL-1 对皮肤恶性黑色素瘤的逆方差加权法分析结果为 $OR=0.666$, 95% CI (0.494~0.899), $P=0.008$ 。PSGL-1 高表达组中位生存期为 44.70 个月, PSGL-1 低表达组中位生存期为 29.13 个月, $P=0.0002$ 。PSGL-1 体外抑制 A375 细胞的迁移。研究结果发现 PSGL-1 表达增高是皮肤恶性黑色素瘤的保护因素, 是一种潜在的皮肤黑色素瘤预后标志物。

关键词: PSGL-1; 皮肤恶性黑色素瘤; 孟德尔随机化; TCGA 数据库

中图分类号: R73 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-0137 (2024) 05-0083-07

Correlation analysis between PSGL-1 and cutaneous malignant melanoma

LIU Zishen, ZHENG Yingying, YUAN Mengqi, ZHANG Ganlin, YANG Guowang

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

Abstract: To investigate whether PSGL-1 is correlated with the prognosis of cutaneous malignant melanoma. Genetic data of PSGL-1 and cutaneous malignant melanoma were extracted from genome-wide association studies (GWAS) and analyzed using inverse variance weighting, MR-Egger regression, weighted median, weighted mode, and simple mode methods, and sensitivity analyses were performed on the data. Survival information of cutaneous malignant melanoma was extracted from the TCGA database, and grouped according to high and low PSGL-1 expression, survival curves were plotted by the Kaplan-Meier method, and the Log-rank test was used to compare the difference between the two survival periods. Exploring the effects of PSGL-1 on the biological functions of A375 cells through *in vitro* experiments. The inverse variance weighted method analysis of PSGL-1 on cutaneous malignant melanoma resulted in $OR=0.666$, 95% CI (0.494-0.899), $P=0.008$. The median survival was 44.70 months in the PSGL-1 high expression group and 29.13 months in the PSGL-1 low expression group, $P=0.0002$. PSGL-1 inhibits the migration of A375 cells *in vitro*. Increased PSGL-1 expression is a protective factor against cutaneous malignant melanoma and is a potential prognostic marker for cutaneous melanoma.

Key words: PSGL-1; cutaneous malignant melanoma; Mendelian randomization study; TCGA database

* 收稿日期: 2024-02-04

录用日期: 2024-03-24

网络首发日期: 2024-04-22

基金项目: 国家自然科学基金(82174453, 82374538); 北京市自然科学基金(7222270)

作者简介: 刘梓燊(1995年生), 女; 研究方向: 中医药防治恶性肿瘤; E-mail: liuzishen1001@163.com

通信作者: 杨国旺(1969年生), 男; 研究方向: 中医药防治恶性肿瘤; E-mail: guowang_yang@163.com

全文阅读



ZR20240041

GLOBOCAN2021 数据显示, 全世界范围内皮肤恶性黑色素瘤(cutaneous malignant melanoma)每年新发病例 32 万多人, 死亡病例 5 万多人, 严重危害人类健康(Sung et al., 2021)。紫外线照射和肿瘤突变负荷是黑色素瘤发病的重要原因(Law et al., 2012)。恶性黑色素瘤在早期可以通过手术切除治疗, 但极易发生转移(Timár et al., 2022), 亚洲人群预后不佳, 我国IV期患者的 5 年生存率仅为 4.6%(Chi et al., 2011)。PD-1 单抗、CTLA-4 单抗等免疫检查点抑制剂在黑色素瘤治疗上取得了提高生存率的疗效(Si et al., 2019; Tang et al., 2019; Larkin et al., 2019; Wolchok et al., 2022)。但临床上常因免疫相关不良反应、药物耐受性差等情况而限制了应用。提高免疫应答、探索肿瘤微环境的免疫表型和特征、开发用于预测和评估的标志物仍是亟待解决的问题(沙姗姗等, 2021)。

P-选择素糖蛋白配体-1(PSGL-1, P-selectin glycoprotein ligand-1)是一种有复杂糖基化修饰的膜蛋白, 是 P-选择素、E-选择素、L-选择素的配体, 黏附分子家族的成员, 已被认为是髓细胞免疫反应的调节因子, 能够启动炎症反应(Zhang et al., 2020)、促进 T 细胞衰竭(Tinoco et al., 2016)、诱导单核细胞 Akt/mTOR、I κ B α /NF κ B 磷酸化、促进单核细胞和中性粒细胞黏附迁移(Stivala et al., 2022; Ye et al., 2022)。有研究发现 PSGL-1 相关信号通路通过调控 C5a/C5aR1 轴促进结直肠癌进展(Li et al., 2023)。另有研究证实 PSGL-1 作用于 PD-1 的上游(Hope et al., 2023)。鉴于 PD-1 单抗在黑色素瘤治疗上取得的疗效, PSGL-1 能否作为一个生物预测指标为皮肤恶性黑色素瘤的预后提供依据暂不清楚。

孟德尔随机化(MR, Mendelian randomization)研究使用单核苷酸多态性(SNP, single nucleotide polymorphism)作为工具变量, 探索暴露对结局的影响。在 MR 研究中, 暴露因素对结局因素的影响具有方向性, 同时不受外界因素的影响。TCGA 数据库, 又称癌症基因组图谱计划, 涵盖了肿瘤患者的测序数据, 用于生物信息学分析。本研究通过孟德尔随机化研究和生物信息学分析的方法, 探讨 PSGL-1 与皮肤恶性黑色素瘤预后之间关系, 通过体外实验对分析结果进行初步验证。

1 资料与方法

1.1 孟德尔随机化研究的资料来源

通过 GWAS 数据库(<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>)

获得 PSGL-1(Gilly et al., 2020)和皮肤恶性黑色素瘤(Sakaue et al., 2021)的相关资料, 均源自公开的论文研究。PSGL-1 的资料来自 1 328 个病例样本的全基因组测序, 对其蛋白生物标志物的遗传结构进行评估分析(GWAS ID: ebi-a-GCST90010165)。皮肤恶性黑色素瘤的资料来自 FinnGen 生物样本库(GWAS ID: finn-b-C3_MELANOMA_SKIN)。为保持一致性, 2 个资料均选择欧洲血统人群进行分析。

1.2 孟德尔随机化研究的研究设计

研究设计(图 1)应满足以下 3 个假设(Burgess et al., 2023): ① 工具变量与暴露因素相关; ② 工具变量不受混杂因素的影响; ③ 工具变量只通过暴露因素影响结局因素。

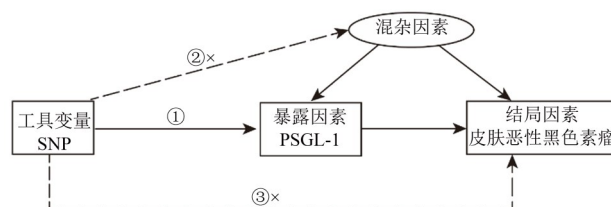


图 1 研究设计

Fig. 1 Study design

暴露因素的选择: 依据研究目的, 选择“PSGL-1”作为暴露因素。

结局因素的选择: 依据研究目的, 选择“皮肤恶性黑色素瘤”作为结局因素。

工具变量的选择与筛选: 提取与暴露因素 PSGL-1 显著相关的 SNP 作为工具变量。SNP 筛选步骤如下:

1) 设定阈值 $P < 5 \times 10^{-8}$ 。

2) 设定连锁不平衡条件, r^2 的范围为 0~1, 1 表示两个 SNP 是完全连锁不平衡关系, 0 表示两个 SNP 是完全连锁平衡关系, 此处设置 $r^2 < 0.001$, 连锁不平衡的区域长度 $> 10\ 000$ kb。

3) F 统计量计算公式

$$F = \beta^2 / SE^2,$$

其中 β 指 SNP 对暴露因素的效应量, SE 指 β 的标准误。保留 $F > 10$ 的强工具变量(Feng et al., 2022)。

4) 提取工具变量在结局中的信息, 协调暴露与结局等位基因数据, 剔除回文 SNP, 余下的 SNP 用于后续 MR 分析。

1.3 孟德尔随机化研究的研究方法

1.3.1 MR 分析 使用 R 软件(v4.3.1)“TwoSampleMR”包进行 MR 分析。分析方法上选用逆方差加权法(IVW, inverse variance weighted)、MR-Egger

回归法(MR Egger)、加权中位数法(weighted median)、加权模式法(weighted mode)和简单模式法(simple mode),其中以逆方差加权法为主,其余为补充, $P<0.05$ 表示有统计学差异。

1.3.2 敏感性分析 异质性分析通过 Cochran Q 检验,若 $P\geq 0.05$,则使用 IVW 随机效应模型;若 $P<0.05$,则使用 IVW 固定效应模型。多效性分析通过 MR-Egger 回归截距判断,若 $P>0.05$,则不存在水平多效性。通过 Leave-One-Out 检验评估单个 SNP 是否显著影响结局因素,若存在显著影响的情况,则剔除该 SNP 后,重新进行 MR 分析。

1.4 生物信息分析的数据来源与分析方法

数据来源于 TCGA 数据库中皮肤恶性黑色素瘤数据集。使用在线 OncoLnc 数据库(<http://www.oncolnc.org/>)下载 TCGA 数据库中 PSGL-1 表达量、皮肤恶性黑色素瘤患者生存期的完整数据。以 PSGL-1 表达量的中位数为标准,分为高表达组和低表达组。因“5年生存期”是评价恶性肿瘤远期预后的重要指标,故随访时间设置为 60 个月,即 5 年。使用 GraphPad Prism v9.5.0 进行统计分析,通过 Log-rank 检验比较高表达组和低表达组的生存情况, $P<0.05$ 表示有统计学差异,应用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线。

1.5 体外实验

1.5.1 材料、试剂与仪器 人源性黑色素瘤细胞系 A375 由中国科学院营养研究所馈赠。胎牛血清、DMEM 培养基、DPBS 缓冲液购自美国 Gibco 公司,青霉素-链霉素(双抗)溶液(100 \times)、结晶紫溶液购自上海碧云天生物技术有限公司, $w=0.25\%$ 胰蛋白酶溶液、CCK8 购自苏州新赛美生物科技有限公司,PSGL-1 购自北京百普赛斯生物科技股份有限公司。24 孔板、96 孔板、8 μm Transwell 小室均购自美国 Corning 公司。倒置显微镜购自日本 OLYMPUS 公司,酶标仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.5.2 细胞增殖实验 胰蛋白酶溶液消化收集处于对数生长期的 A375 细胞并计数,调整细胞密度至 2×10^4 个/mL,取 100 μL /孔接种至 96 孔板内(2×10^3 个细胞)。按照分组将不同质量浓度的 PSGL-1 蛋白加入培养基中,分组如下:对照组、0.5、1、2 和 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$,每组设置 6 个复孔。同时设置对应分组的背景孔,用于后续计算,每组背景孔设置 3 个复孔。将 96 孔板移入 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $\varphi=5\%$ 的 CO_2 恒温培养箱中培养,待 24、48 h 后,分别取出

96 孔板,避光加入 CCK8 试剂 10 μL /孔,移入 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $\varphi=5\%$ 的 CO_2 恒温培养箱中孵育 3 h,使用酶标仪测量 450 nm 处的吸光值 A 。

1.5.3 细胞迁移实验 胰蛋白酶溶液消化收集处于对数生长期的 A375 细胞并计数,调整细胞密度至 2×10^5 个/mL。将 8 μm Transwell 小室置于 24 孔板中,上室加入 300 μL 细胞悬液(6×10^4 个细胞),下室按照分组将不同质量浓度的 PSGL-1 蛋白加入培养基中,分组如下:对照组、0.5、1、2 和 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。将 24 孔板小心平稳移入 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $\varphi=5\%$ 的 CO_2 恒温培养箱中培养 24 h。拿出 8 μm Transwell 小室,DPBS 缓冲液清洗,置于 $w=4\%$ 多聚甲醛中室温固定 30 min。DPBS 缓冲液清洗,置于结晶紫溶液室温染色 15 min。DPBS 缓冲液清洗,小心用棉签擦去小室内侧细胞。将小室置于载玻片上,于倒置显微镜下拍照,拍摄 4 个不同视野。

1.5.4 统计学分析 数据以平均值 \pm 标准误(Mean \pm SEM)表示,并使用 GraphPad Prism v9.5.0 进行分析。由于组别设置 >2 组,组间比较使用单因素方差分析, $P<0.05$ 表示有统计学差异。

2 结果

2.1 孟德尔随机化分析 PSGL-1 与皮肤恶性黑色素瘤的因果关系

根据“1.2 孟德尔随机化研究的研究设计”中的工具变量筛选方法和“1.3.2 敏感性分析”中 Leave-One-Out 法检验,最终纳入 8 个 SNP 进行后续 MR 分析(表 1)。

2.1.1 MR 分析结果 IVW 分析结果为 $\text{OR}=0.666$,95% CI(0.494~0.899), $P=0.008$,有统计学差异。MR-Egger 回归法、加权中位数法、加权模式法和简单模式法的结果效应方向与 IVW 一致(表 2、图 2)。

2.1.2 敏感性分析结果 经 Cochran Q 检验计算 $P=0.398$,使用 IVW 随机效应模型。经计算,MR-Egger 回归截距 $P=0.620$,不存在水平多效性。Leave-One-Out 检验提示结果并非由单个 SNP 驱动。

综上所述,PSGL-1 表达增多是皮肤恶性黑色素瘤的保护因素。

2.2 生物信息分析 PSGL-1 表达与皮肤恶性黑色素瘤的预后关系

通过分析 TCGA 数据库皮肤恶性黑色素瘤数据集,结果显示 PSGL-1 高表达组中位生存期为

表1 SNP信息
Table 1 SNP information

SNP	效应等位基因	非效应等位基因	β	SE	F
rs117209671	T	C	-0.990 16	0.135 602	53.318 69
rs142568931	A	G	-0.962 57	0.140 214	47.128 61
rs147175344	T	C	-0.595 63	0.101 947	34.134 88
rs147673876	A	C	0.981 35	0.174 647	31.573 71
rs190825201	A	G	-0.569 33	0.100 929	31.819 37
rs61732395	A	G	-0.641 70	0.103 964	38.097 41
rs7300972	C	T	-1.797 54	0.116 473	238.180 70
rs7312275	C	T	-1.096 76	0.131 999	69.037 00

表2 MR分析结果
Table 2 MR analysis results

结局因素	分析方法	SNP数量	OR (95% CI)	P
皮肤恶性黑色素瘤	逆方差加权法	8	0.666 (0.494 ~ 0.899)	0.008
皮肤恶性黑色素瘤	MR-Egger回归法	8	0.545 (0.242 ~ 1.232)	0.195
皮肤恶性黑色素瘤	加权中位数法	8	0.666 (0.462 ~ 0.959)	0.029
皮肤恶性黑色素瘤	加权模式法	8	0.662 (0.456 ~ 0.960)	0.066
皮肤恶性黑色素瘤	简单模式法	8	0.949 (0.453 ~ 1.988)	0.893

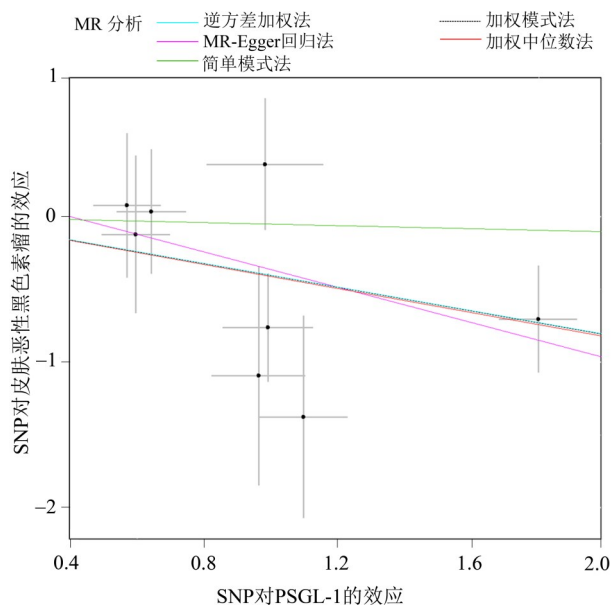


图2 孟德尔随机化结果散点图
Fig. 2 Scatterplot of Mendelian randomization results

44.70个月，PSGL-1低表达组中位生存期为29.13个月，两组比较 $P=0.0002$ ，有统计学差异。Kaplan-Meier生存曲线见图3。生物信息分析结果提示PSGL-1高表达的皮肤恶性黑色素瘤患者预后较低表达患者好。

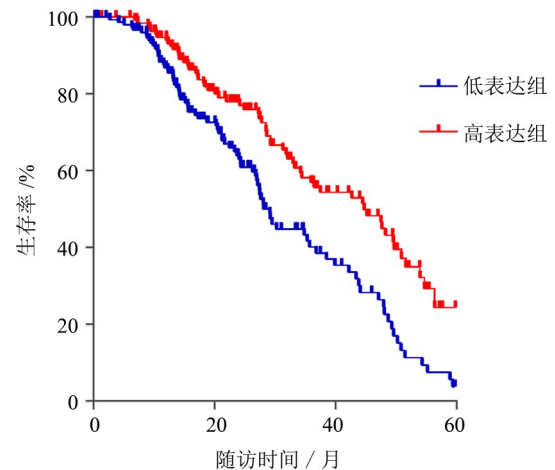


图3 PSGL-1高低表达对皮肤恶性黑色素瘤患者生存期的Kaplan-Meier生存曲线

Fig. 3 Kaplan-Meier curves of survival of patients with cutaneous malignant melanoma by high and low PSGL-1 expression

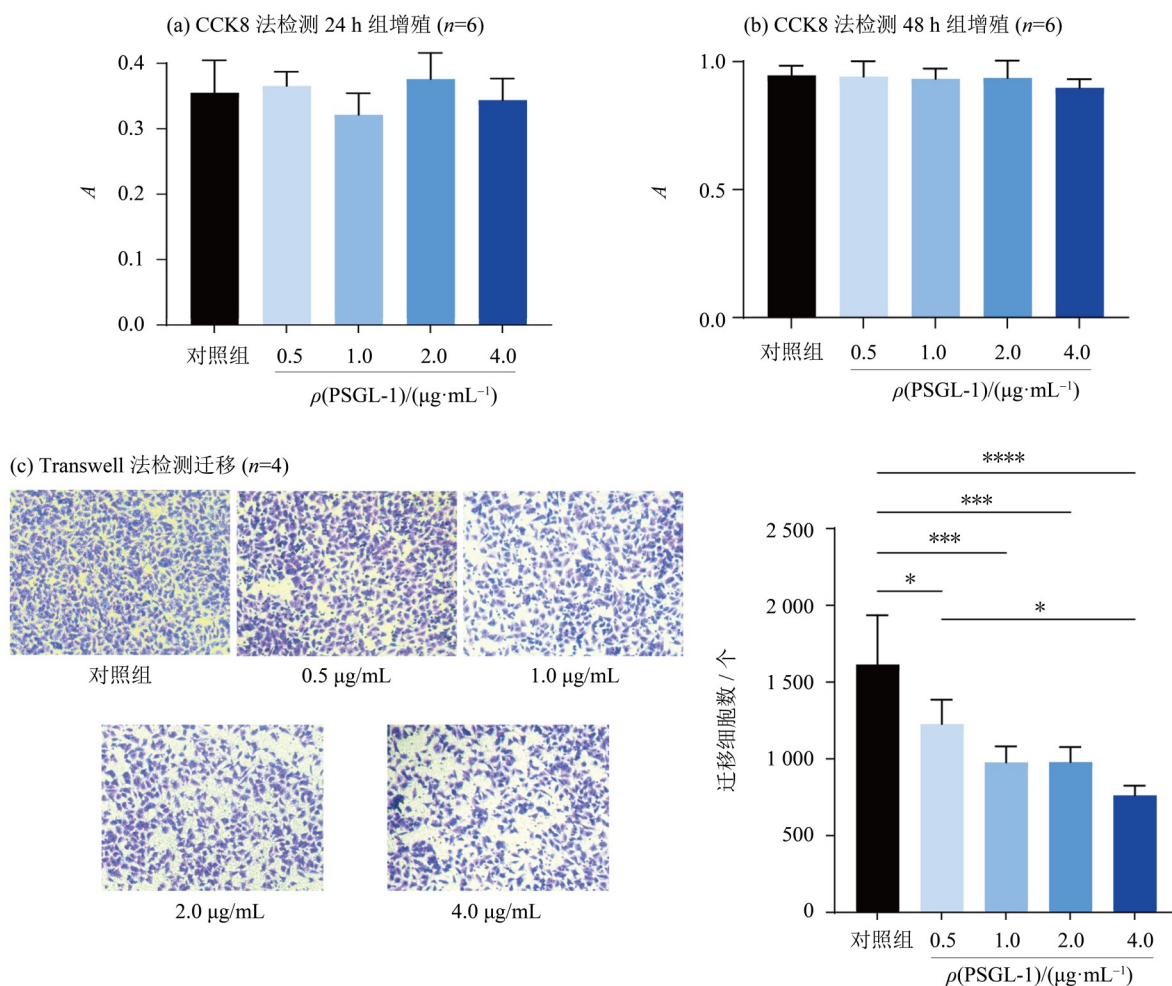
2.3 体外实验探讨PSGL-1对A375细胞的生物学功能影响

本研究使用CCK8法检测PSGL-1对A375细胞增殖的影响，图4a为24h组，图4b为48h组，与对照组相比，各质量浓度PSGL-1组A375细胞的增殖差异无统计学意义，结果提示PSGL-1不影响

A375细胞的增殖。

使用Transwell法检测PSGL-1对A375细胞迁移的影响,结果见图4c。各组迁移细胞数量如下:对照组(1 616±319.8)个、0.5 μg/mL组(1 228±157.7)个、1 μg/mL组(978.5±103.0)个、2 μg/mL组(979.5±

98.74)个、4 μg/mL组(764.3±61.03)个。与对照组相比,加入0.5、1、2和4 μg/mL的PSGL-1后,A375细胞迁移数量减少,显示有统计学差异,结果提示PSGL-1能够抑制A375细胞的迁移。



Mean±SEM, * $P<0.05$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ 。

图4 PSGL-1对A375细胞的生物学功能影响

Fig. 4 Biological functional effects of PSGL-1 on A375 cells

3 讨论

本研究通过孟德尔随机化探究PSGL-1与皮肤恶性黑色素瘤的因果关系,IVW结果OR=0.666,发现PSGL-1高表达是皮肤恶性黑色素瘤的保护因素;使用TCGA数据库皮肤恶性黑色素瘤数据集进行生存分析,PSGL-1高表达组中位生存期为44.70个月,PSGL-1低表达组中位生存期为29.13个月,验证了PSGL-1高表达患者的生存期较低表达患者显著延长;通过体外实验,证实PSGL-1能够抑制A375细胞的迁移。

PSGL-1主要在髓系细胞和淋巴细胞上表达(Tinoco et al., 2017),通过N端残基与P-选择素、E-选择素和L-选择素结合(Goetz et al., 1997; Xia et al., 2003; Spertini et al., 1996)。PSGL-1与选择素结合后,能够促进中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞、T细胞等发生迁移(Nuñez-Andrade et al., 2011),调节免疫细胞向炎症部位募集,在炎症启动和维持过程中发挥重要作用(闫秀文等, 2022)。鉴于PSGL-1在多种细胞上表达,它可以作为多途径检查点,参与肿瘤进展中的多种免疫过程。PSGL-1

可以作为巨噬细胞检查点(Mantovani et al., 2022)。有研究发现肿瘤相关巨噬细胞上 PSGL-1 高表达。血小板通过 P-选择素与肿瘤相关巨噬细胞上的 PSGL-1 结合, 调控 PSGL-1/JNK/STAT1 信号通路刺激肿瘤相关巨噬细胞上的 C5a/C5aR1 轴, 进而促进结直肠癌进展(Li et al., 2023), 为结直肠癌的临床治疗提供新的策略。VISTA, 又称 B7-H5, 是一种 B7 家族配体, 在髓系细胞上表达, 在活化淋巴细胞上弱表达, 是癌症联合免疫疗法的一个有前途的靶点(Johnston et al., 2019), VISTA 能够与 PSGL-1 结合。通过抗 PSGL-1, VISTA 能够促进肿瘤相关巨噬细胞的 M2 型向 M1 型极化(Johnston et al., 2019), M1 型巨噬细胞能够产生 ROS、NO、炎症因子等, 杀伤肿瘤细胞, 进而提高抗肿瘤活性。人体免疫系统中的 T 细胞能够参与细胞免疫, 调节免疫应答, 选择性地识别和杀伤肿瘤细胞。PSGL-1 还可以作为 T 细胞检查点。VISTA 可抑制 T 细胞增殖和细胞因子的产生, 并能影响自身免疫和抗肿瘤反应(Wang et al., 2011)。目前, 免疫检查点抑制剂已成为包括黑色素瘤在内的许多癌症的标准疗法(Topalian et al., 2012)。阻断 PD-1/PD-L1、CTLA-4 通路可激活抗肿瘤 T 细胞, 多项临床研究证实应用 PD-1 单抗和 CTLA-4 单抗能够延长黑色素瘤患者的生存期(Si et al., 2019; Tang et al., 2019; Larkin et al., 2019; Wolchok et al., 2022)。PSGL-1 作为 T 细胞检查点抑制剂的功能机制, 通过基础研究证实 PSGL-1 参与了抑制 T 细胞活化的 TCR 信号通路, 促进 CD8⁺T 细胞的衰竭, PSGL-1 是 CD8⁺T 细胞的关键负调控因子(Hope et al., 2023)。有研究体内使用侵袭性黑色素瘤肿瘤模型, 在肿瘤小鼠体内靶向 PSGL-1, 发现肿瘤中 CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞增加, 而 Treg 细胞减少(DeRogatis et al., 2022)。在药物递送方面,

PSGL-1 的选择性结合特性能够发挥抗肿瘤效果。有研究利用肿瘤相关内皮细胞表达选择素, 而 PSGL-1 具有能够与选择素相结合的特性, 将 PSGL-1 修饰在脂质体上, 使得脂质体能够被靶向聚集在肿瘤部位, 进而增加疗效(Carlisle et al., 2013)。

PSGL-1 参与肿瘤进展的多种途径, 我们的结果证实它可以作为一种潜在的皮肤黑色素瘤预后预测标志物。本研究的优势在于: ①资料来源于公共数据库, 样本量大, 人群统一。②孟德尔随机化研究从基因层面分析 PSGL-1 对皮肤恶性黑色素瘤的影响, 能够避免混杂因素和反向因果关系的影响, 使用多种孟德尔随机化方法进行分析, 使用 TCGA 数据库、体外实验对孟德尔随机化结果进行补充证明, 数据结果可靠性高。本研究的局限性在于: ①公共数据库缺少其他血统 PSGL-1 资料, 为了数据的统一性, 使用了欧洲血统人群数据进行分析, 会限制我们结果的外推。②受到公共数据库资料的限制, 没有对性别、年龄等条件进一步分组分析。在未来的研究中, 将进一步验证 PSGL-1 在其他类型黑色素瘤中的作用, 深入探索 PSGL-1 作用机制, 探索 PSGL-1 作为治疗靶点的潜力。

4 结 论

通过孟德尔随机化研究和生物信息学分析, PSGL-1 高表达是皮肤恶性黑色素瘤预后的保护因素; 体外实验结果发现 PSGL-1 能够抑制 A375 细胞的迁移。综上所述, PSGL-1 是一种潜在的皮肤黑色素瘤预后预测标志物, 仍需后续通过高级别循证医学证据的临床研究和基础研究进行补充探索和证明。

参考文献:

- 沙姗姗, 李军, 陶娟, 2021. 黑色素瘤免疫治疗的难点及对策 [J]. 中华皮肤科杂志, 54(4): 313-317.
- 闫秀文, 赵艺璞, 李亚军, 等, 2022. 血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 对 COPD 急性发作并发肺部感染的诊断价值 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 14(2): 274-277+281.
- BURGESS S, SMITH G D, DAVIES N M, et al, 2023. Guidelines for performing Mendelian randomization investigations: Update for summer 2023 [J]. Wellcome Open Res, 4: 186.
- CARLISLE R, SEYMOUR L W, COUSSIOS C C, 2013. Targeting of liposomes via PSGL1 for enhanced tumor accumulation [J]. Pharm Res, 30(2): 352-361.
- CHI Z, LI S, SHENG X, et al, 2011. Clinical presentation, histology, and prognoses of malignant melanoma in ethnic Chinese: A study of 522 consecutive cases [J]. BMC Cancer, 11: 85.
- DeROGATIS J M, VIRAMONTES K M, NEUBERT E N, et al, 2022. Targeting the PSGL-1 immune checkpoint promotes immunity to PD-1-resistant melanoma [J]. Cancer Immunol Res, 10(5): 612-625.

- FENG R, LU M, XU J, et al, 2022. Pulmonary embolism and 529 human blood metabolites: Genetic correlation and two-sample Mendelian randomization study [J]. *BMC Genom Data*, 23(1): 69.
- GILLY A, PARK Y C, PNG G, et al, 2020. Whole-genome sequencing analysis of the cardiometabolic proteome [J]. *Nat Commun*, 11(1): 6336.
- GOETZ D J, GREIF D M, DING H, et al, 1997. Isolated P-selectin glycoprotein ligand-1 dynamic adhesion to P- and E-selectin [J]. *J Cell Biol*, 137(2): 509-519.
- HOPE J L, OTERO D C, BAE E A, et al, 2023. PSGL-1 attenuates early TCR signaling to suppress CD8⁺ T cell progenitor differentiation and elicit terminal CD8⁺ T cell exhaustion [J]. *Cell Rep*, 42(5): 112436.
- JOHNSTON R J, SU L J, PINCKNEY J, et al, 2019. VISTA is an acidic pH-selective ligand for PSGL-1 [J]. *Nature*, 574(7779): 565-570.
- LARKIN J, CHIARION-SILENI V, GONZALEZ R, et al, 2019. Five-year survival with combined nivolumab and ipilimumab in advanced melanoma [J]. *N Engl J Med*, 381(16): 1535-1546.
- LAW M H, MACGREGOR S, HAYWARD N K, 2012. Melanoma genetics: Recent findings take us beyond well-traveled pathways [J]. *J Invest Dermatol*, 132(7): 1763-1774.
- LI X, CHEN X, GONG S, et al, 2023. Platelets promote CRC by activating the C5a/C5aR1 axis via PSGL-1/JNK/STAT1 signaling in tumor-associated macrophages [J]. *Theranostics*, 13(6): 2040-2056.
- MANTOVANI A, ALLAVENA P, MARCHESI F, et al, 2022. Macrophages as tools and targets in cancer therapy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 21(11): 799-820.
- NUÑEZ-ANDRADE N, LAMANA A, SANCHO D, et al, 2011. P-selectin glycoprotein ligand-1 modulates immune inflammatory responses in the enteric lamina propria [J]. *J Pathol*, 224(2): 212-221.
- SAKAUE S, KANAI M, TANIGAWA Y, et al, 2021. A cross-population atlas of genetic associations for 220 human phenotypes [J]. *Nat Genet*, 53(10): 1415-1424.
- SI L, ZHANG X, SHU Y, et al, 2019. A phase Ib study of pembrolizumab as second-line therapy for Chinese patients with advanced or metastatic melanoma (KEYNOTE-151) [J]. *Transl Oncol*, 12(6): 828-835.
- SPERTINI O, CORDEY A S, MONAI N, et al, 1996. P-selectin glycoprotein ligand 1 is a ligand for L-selectin on neutrophils, monocytes, and CD34⁺ hematopoietic progenitor cells [J]. *J Cell Biol*, 135(2): 523-531.
- STIVALA S, GOBBATO S, BONETTI N, et al, 2022. Dietary alpha-linolenic acid reduces platelet activation and collagen-mediated cell adhesion in sickle cell disease mice [J]. *J Thromb Haemost*, 20(2): 375-386.
- SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al, 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 71(3): 209-249.
- TANG B, YAN X, SHENG X, et al, 2019. Safety and clinical activity with an anti-PD-1 antibody JS001 in advanced melanoma or urologic cancer patients [J]. *J Hematol Oncol*, 12(1): 7.
- TÍMÁR J, LADÁNYI A, 2022. Molecular pathology of skin melanoma: Epidemiology, differential diagnostics, prognosis and therapy prediction [J]. *Int J Mol Sci*, 23(10): 5384.
- TINOCO R, CARRETTE F, BARRAZA M L, et al, 2016. PSGL-1 is an immune checkpoint regulator that promotes T cell exhaustion [J]. *Immunity*, 44(5): 1190-1203.
- TINOCO R, OTERO D C, TAKAHASHI A A, et al, 2017. PSGL-1: A new player in the immune checkpoint landscape [J]. *Trends Immunol*, 38(5): 323-335.
- TOPALIAN S L, HODI F S, BRAHMER J R, et al, 2012. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer [J]. *N Engl J Med*, 366(26): 2443-2454.
- WANG L, RUBINSTEIN R, LINES J L, et al, 2011. VISTA, a novel mouse Ig superfamily ligand that negatively regulates T cell responses [J]. *J Exp Med*, 208(3): 577-592.
- WOLCHOK J D, CHIARION-SILENI V, GONZALEZ R, et al, 2022. Long-term outcomes with nivolumab plus ipilimumab or nivolumab alone versus ipilimumab in patients with advanced melanoma [J]. *J Clin Oncol*, 40(2): 127-137.
- XIA L, RAMACHANDRAN V, McDANIEL J M, et al, 2003. N-terminal residues in murine P-selectin glycoprotein ligand-1 required for binding to murine P-selectin [J]. *Blood*, 101(2): 552-559.
- YE Z, GUO H, WANG L, et al, 2022. GALNT4 primes monocytes adhesion and transmigration by regulating O-Glycosylation of PSGL-1 in atherosclerosis [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 165: 54-63.
- ZHANG X, ZHU M, JIANG X L, et al, 2020. P-selectin glycoprotein ligand 1 deficiency prevents development of acute pancreatitis by attenuating leukocyte infiltration [J]. *World J Gastroenterol*, 26(41): 6361-6377.