

血小板黏附受体 GPIb-IX-V 介导的信号通路研究进展

胡萍^{1,2} 综述 谢如锋² 王志成³ 审校

摘要 血小板在生理性止血和病理性血栓形成中起关键作用。血小板黏附受体 GPIb-IX-V 复合物能与血管性血友病因子(VWF)、P-选择素、凝血酶等结合,在血小板血栓形成的起始阶段和凝血过程中起重要作用。磷脂酶 C(PLC)、磷脂酶 A2(PLA2)、14-3-3 ζ 蛋白、细胞骨架等参与 GPIb-IX-V 介导的信号通路,现就 GPIb-IX-V 复合物介导的信号通路作一综述。

关键词 血小板;糖蛋白;信号通路;血栓;止血

中图分类号 R 558; R 331.1+43; R 34

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)03-0419-05

当血管内皮细胞受到损伤(如:动脉粥样硬化斑块破裂)或在病理性血流高剪切力作用下,血小板通过其表面糖蛋白(glycoprotein,GP) Ib-IX-V 复

合物中的 GPIb α 的膜外功能区,与血管内皮表面或血管性血友病因子(von Willebrand factor, VWF)结合,这种结合使得血小板以滚动方式黏附在损伤血管表面^[1];同时,GPIb α 与 VWF 结合启动血小板信号转导途径,血小板内发生 Ca²⁺ 浓度升高、蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC) 等蛋白激酶活化、二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP) 释放等一系列反应,导致血小板表面另一受体整合素 α IIb/ β 3 的活化,活化的 α IIb/ β 3 与血浆中纤维蛋白原和 VWF 结合,最终导致血小板相互聚集成团,形成血小板血栓^[1-2]。因此,GPIb-IX-V 介导的信号通路在血小板血栓形成过程中起关键作用。

1 GPIb-IX-V 结构

GPIb-IX-V 复合物由 4 个跨膜亚单位组成: GPIb α 通过二硫键与 GPIb β 按 1:1 比例形成 GPIb, GPIb 与 GPIX 以 1:1 的比例通过非共价键组成 GPIb-IX 复合物。GPIb-IX 复合物对于配体结合和信号转导是有效的。糖蛋白 V(glycoprotein V, GPV) 以 1:2 的比例与 GPIb-IX 通过松散的方式构成 GPIb-IX-V 复合物^[3], 见图 1。

1.1 GPIb α GPIb α 是 GPIb-IX-V 复合物中最大、也是最重要的 1 个亚基,由 610 个氨基酸残基组成,

2013-07-08 接收

基金项目:上海市教委科技创新项目(编号:12YZ068);上海市自然科学基金(编号:12ZR1429900)

作者单位:¹华东师范大学生命科学学院,上海 200241

²上海市血液中心血液工程研究室,上海 200051

³上海市中医医院实验中心,上海 200071

作者简介:胡萍,女,硕士研究生;

谢如锋,女,主任技师,责任作者,E-mail: rufeng33@hotmail.com;

王志成,男,助理研究员,责任作者,E-mail: ahwzc@126.com

- [20] Xu D H, Zhou C H. Antioxidative effects of berberine pretreatment on hydrogen peroxide-induced PC12 cell toxicity [J]. *NRR*, 2010, 5(18): 1391-5.
- [21] Ceng J S, Ni H J, Dong J C, et al. Effect of Nao Yi kang on choline acetyltransferase and caspase-3 brain expression in a rat model of Alzheimer's disease [J]. *NRR*, 2009, 4(12): 1073-7.
- [22] 曾雪爱, 黄俊山, 陈道亮. 复方参归汤对拟阿尔茨海默病小鼠学习记忆的改善作用 [J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(4): 626-7.
- [23] 谭展望, 胡海燕, 陈翔等. 清心开窍方皂苷对 AD 大鼠大脑皮层及海马区 Bax、Bcl-2、A β 、 β APP 表达的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32(9): 1258-63.
- [24] Yeh C H, Hsieh M T, Hsueh C M, et al. Therapeutic Effect of Yi-Chi-Tsung-Ming-Tang on Amyloid β -Induced Alzheimer's Disease-Like Phenotype via an Increase of Acetylcholine and Decrease of Amyloid β [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012,

2012: 414536.

- [25] Tian J, Shi J, Zhang L, et al. GEPT extract reduces Abeta deposition by regulating the balance between production and degradation of Abeta in APPV7171 transgenic mice [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2009, 6(2): 118-31.
- [26] 吴之煌, 张晓霞, 寇焰. 补肾填髓汤治疗老年性痴呆 30 例临床观察 [J]. *北京中医药*, 2008, 27(9): 715-7.
- [27] 曹利民, 胡志诚. 人参养荣汤治疗老年性痴呆临床分析 [J]. *实用中医药杂志*, 2008, 24(4): 207.
- [28] 徐光华. 补肝肾活血通窍中药治疗老年性痴呆 40 例疗效观察 [J]. *医学信息*, 2010, 23(5): 1387-8.
- [29] 陈烈, 黄君英, 薛俐. 复方何首乌浸膏治疗阿尔茨海默病的疗效研究 [J]. *中南大学学报*, 2010, 35(6): 612-5.
- [30] 王康锋, 张立娟. 抵当汤加减治疗老年性痴呆疗效观察 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2012, 19(10): 74-5.

分子量为 135 ku^[3]。GPIb α 基因定位在 17 号染色体短臂。GPIb α 含有多个结构域,从 N 端开始:1 - 282,含有多个 GPIb-IX-V 配体的结合位点;283 - 302,由富含带负电荷氨基酸残基组成,包括天冬氨酸、谷氨酸以及 3 个硫酸化的酪氨酸残基;303 - 485,由高度糖基化、黏蛋白样的聚糖多肽构成;486 - 514 为跨膜域;515 - 610 为胞质尾^[3]。GPIb α 胞质尾含有细胞内蛋白或信号分子(例如:14-3-3 ζ)结合位点。其中 GPIb α 559、587/590、609 位氨基酸残基为丝氨酸,磷酸化后能与信号蛋白 14-3-3 蛋白结合^[4-5]。550 - 570 位氨基酸残基含有肌动蛋白结合蛋白(actin binding protein , ABP) 的结合位点,通过 ABP 将 GPIb-IX-V 复合物锚定在细胞膜骨架上,这种结合对于调节 VWF 诱导的血小板黏附和活化非常重要^[6]。

1.2 GPIb β GPIb β 由 181 个氨基酸残基组成,分子量为 25 ku。GPIb β 基因定位在 22 号染色体长臂。GPIb β 通过位于膜外附近的二硫键与 GPIb α 连接,通过 15 - 32 位氨基酸残基与 GPIX 非共价键相连^[7]。胞质尾由 34 个氨基酸残基组成,含有钙调蛋白结合位点(149 - 167),其中 166 位是丝氨酸残基,能被蛋白激酶 A (protein kinase A , PKA) 磷酸化,磷酸化丝氨酸能与 14-3-3 蛋白结合^[11]。Maurer et al^[8] 使用抗 GPIb β 胞外域的单克隆抗体 RAM. 1 减少血小板黏附、GPIb 介导的信号、凝血酶产生和动脉血栓形成,表明 GPIb β 在 GPIb 介导的信号通路中起重要作用。

1.3 GPIX GPIX 由 160 个氨基酸残基组成,分子量 22 ku。GPIX 基因定位在 3 号染色体长臂。胞质尾非常短,只有 5 个氨基酸残基组成,在细胞膜内侧附近含有 1 个被十六烷酰化的半胱氨酸残基,十六烷酰化修饰可能为锚定 GPIb-IX-V 到细胞膜提供另外一个机制^[9]。

1.4 GPV GPV 由 544 个氨基酸残基组成,分子量为 82 ku。GPV 基因定位在 3 号染色体长臂。GPV 通过直接与 GPIb α 相互作用,连接 2 个 GPIb-IX 复合物。胞质尾由 16 个氨基酸残基组成,含有 14-3-3 蛋白和钙调蛋白结合位点^[3]。在高剪切力条件下,GPV 对于加强 GPIb-IX-V 复合物与 VWF 结合起关键作用^[10],见图 1。

2 GPIb-IX-V 介导的信号通路

VWF 结合 GPIb-IX-V 能启动血小板内细胞转

导途径,引起脱颗粒、胞内 Ca²⁺ 浓度增加、细胞骨架重排和“从内向外”活化整合素 α IIb/ β 3,活化的 α IIb/ β 3 与 VWF 或纤维蛋白原结合,引起血小板聚集成团,形成血小板血栓^[3]。GPIb-IX-V 复合物介导的信号通路主要涉及以下几条通路,见图 2。

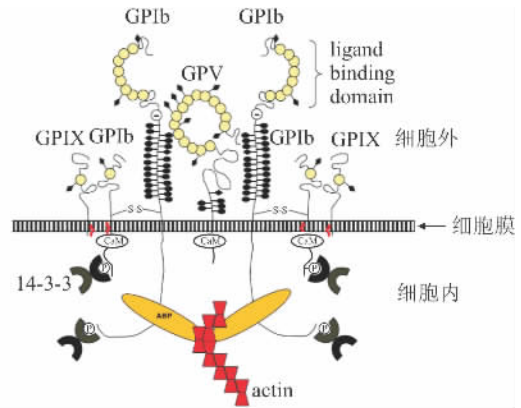


图 1 GPIb-IX-V 结构示意图

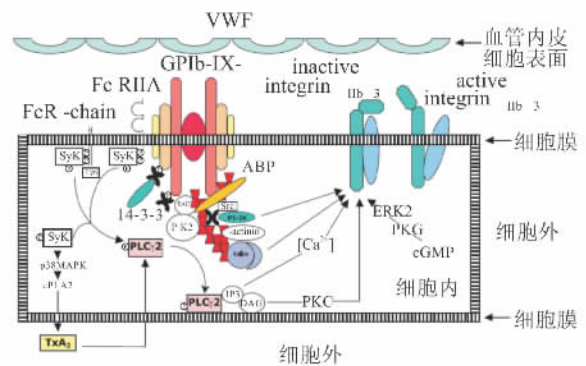


图 2 GPIb-IX-V 介导的主要信号通路示意图

2.1 活化免疫受体酪氨酸基础的活化模序 (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif , ITAM) 含有的受体 在理解 VWF 与 GPIb-IX-V 结合诱导的跨膜信号研究中,重大发现之一是发现两个 ITAM 含有的受体 Fc γ RIIA 和 FcR- γ 链酪氨酸残基的磷酸化。Fc γ RIIA 是 IgG 低亲和力受体,分子量为 40 ku 的跨膜蛋白,其细胞外域含有两个 IgG 样结构域,细胞内域含有一个 ITAM 模序。聚集的免疫球蛋白能诱导 Fc γ RIIA 成簇并活化 Fc γ RIIA,涉及肝素关联的血小板减少症^[11]。FcR- γ 链是 Fc 受体(如:Fc ϵ RI、Fc γ RI 和 Fc γ RIII)必需的 1 个亚基,也含有 ITAM 模序。在血小板中,FcR- γ 链主要与 GPVI 连接构成胶原受体^[12]。通常,当受体与配体结合后,ITAM 模序内的 2 个酪氨酸残基发生磷酸化,通过与

SH2 域结合招募并活化 Syk 酪氨酸激酶,启动细胞内酪氨酸激酶基础的信号通路^[13]。在完整的血小板中,VWF 与 GPIb-IX-V 结合诱导快速的 Fc γ RIIA 酪氨酸磷酸化^[13]。这个事件不是由血小板产生的血栓素 A₂(thromboxane A₂,TxA₂)介导,而是由 Src 激酶介导,因为 Src 激酶特异性抑制剂 PP1 能阻止这个过程^[13]。使用荧光能量转移和酵母双杂交实验都证实 GPIb-IX-V 与 Fc γ RIIA 是相互结合在一起的^[3]。GPIb-IX-V 与 Fc γ RIIA 的结合发生在特异的脂筏区域^[9]。VWF 与 GPIb-IX-V 结合也能诱导 Syk 激酶介导的 FcR- γ 链酪氨酸磷酸化。VWF 刺激诱导的 FcR- γ 链酪氨酸磷酸化是快速的、短暂的,最大在 15~60 s,5 min 内减少。PP1 抑制剂能阻止 FcR- γ 链酪氨酸磷酸化以及与 Syk 的连接,表明这些事件是关联的,同时也证实 Src 家族在这个事件中起重要作用^[14]。

2.2 Src 家族酪氨酸激酶与 GPIb-IX-V 信号通路

通过研究钙离子动员和磷脂酶 C γ 2(phospholipase C γ 2,PLC γ 2)研究发现,酪氨酸磷酸化信号事件涉及 GPIb-IX-V 介导的血小板活化。早在 1994 年,研究 GPIb-IX-V 介导的血小板活化时发现 Src 与细胞骨架连接,同时有多个蛋白酪氨酸磷酸化^[15]。随后的研究^[8]显示,VWF 与 GPIb-IX-V 结合,能诱导酪氨酸激酶 Syk 和接头蛋白 shc 的酪氨酸残基磷酸化。Wu et al^[14]使用 VWF 和 botrocetin 一起处理血小板,发现 GPIb-IX-V 介导的血小板活化能诱导 FcR- γ 链,Syk,LAT 和 PLC γ 2 的酪氨酸磷酸化。Src 激酶抑制剂能显著地抑制上述蛋白的酪氨酸磷酸化事件,同时,VWF 与 GPIb-IX-V 相互作用能诱导 Src、Lyn、FcR- γ 链和 Syk 形成复合物,表明 Src 激酶在这个过程中起重要作用^[16]。VWF 和瑞斯托霉素诱导的血小板活化,FcRIIA 在 Syk 和 PLC γ 2 活化之后也发生酪氨酸磷酸化,Src 激酶抑制剂 PP1 能显著抑制这些事件^[16]。在 GPIb-IX-V 介导的信号通路,Src 是其最邻近的下游信号分子之一^[16]。磷酸肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase,PI-3K)激酶 p85 调节亚单位组成性与 GPIb-IX-V 结合,PI-3K 抑制剂不影响该结合^[3]。在 VWF 结合 GPIb-IX-V 诱导的血小板活化,Src 通过其 SH3 域与连接在 GPIb 上的 PI-3K 的 p85 亚单位结合^[16]。已证实 Src 激酶和它的下游信号分子 PLC γ 2 参与许多血小板反应,包括在 VWF 包被的表面血小板 Ca²⁺ 动员和铺展^[2]。最近 Delaney et al^[17]使用血小板 Rac1-/-

小鼠和 Rac1 抑制剂,发现 Lyn-Vav-Rac1-PI3K-Akt 信号通路在介导 VWF/GPIb-IX 引起的整合素 α IIb/ β 3 活化中起重要作用。

2.3 磷脂酶 C(phospholipase C,PLC)与 GPIb-IX-V 信号通路

许多研究已证实 VWF 结合 GPIb-IX-V 诱导 PLC 活化。Kroll et al^[18]研究发现,用 VWF 和瑞斯托霉素处理血小板引起细胞内 Ca²⁺ 浓度升高和 PKC 介导的 pleckstrin 磷酸化,这两个事件都被 PLC 衍生的第二信使三磷酸肌醇(inositol triphosphate,IP₃)和二酯酰甘油(diacylglycerol,DAG)所调节。同时有研究^[13]显示,这两个事件能被环氧化酶抑制剂 indomethacin 阻止,表明在 GPIb-IX-V 信号通路 PLC 活化位于磷脂酶 A₂(phospholipase A₂,PLA₂)下游,需要 TxA₂ 的产生。TxA₂ 结合血小板表面偶联有 G_q 蛋白的 7 次跨膜受体,活化 PLC β 亚家族,主要是 PLC β 2^[19]。然而,由 GPIb-IX-V 介导的信号通路主要涉及 PLC γ 2 而不是 PLC β 2。PLC γ 2 活化受到酪氨酸磷酸化和 PI-3K 的脂质产物的调节^[20]。已证实 VWF 与 GPIb-IX-V 结合能促进 PLC γ 2 酪氨酸磷酸化,这个事件受到 ITAM 含有受体 Fc γ RIIA 和 FcR- γ 链的调节^[13]。另外,抑制 PI-3K 可显著抑制 GPIb-IX-V 诱导的 PLC 活化^[13]。

2.4 PLA₂ 与 GPIb-IX-V 信号通路

已有研究^[13]证实,TxA₂ 参与 VWF 诱导的血小板活化,特别是 VWF 诱导的 PLC 活化、Ca²⁺ 动员、pleckstrin 磷酸化和颗粒分泌,需要 PLA₂ 活化和随后 TxA₂ 的产生,所有这些事件能被阻止花生四烯酸转化为 TxA₂ 的环氧化酶抑制剂所阻断。但是,由 VWF 结合 GPIb-IX-V 复合物所引起的其他一些事件,如某些蛋白的酪氨酸磷酸化却不依赖 TxA₂ 的产生^[13]。这些研究表明 VWF 结合 GPIb-IX-V 引起血小板活化通过 TxA₂ 依赖的和 TxA₂ 非依赖的信号通路。在 VWF 刺激血小板产生 TxA₂ 依赖的 PLA₂ 活化,主要是 85 ku 的胞质 PLA₂(cPLA₂)^[21]。胞质内 Ca²⁺ 浓度升高和丝氨酸残基磷酸化都能活化 cPLA₂。在 VWF 与 GPIb-IX-V 结合诱导的 cPLA₂ 活化,可能主要是通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase,p38 MAPK)介导的 505 位丝氨酸残基磷酸化^[8]。最近 Estevez et al^[21]使用 LIMK-/-小鼠研究发现,LIMK-/-的血小板选择性损伤 VWF/GPIb-IX 诱导的 cPLA₂ 的磷酸化和随后的 TxA₂ 产生,提示 LIMK1 在 GPIb-IX 介导的 TxA₂ 合成和血

栓形成中起重要作用。

2.5 14-3-3 ζ 与 GPIb-IX-V 信号通路 14-3-3 蛋白家族是细胞内接头蛋白,由异二聚体或同二聚体组成,含有两个配体结合位点,广泛参与细胞内信号传导^[3]。人的血小板有 5 个 14-3-3 亚型, ϵ 和 η 亚型弱表达, γ 、 ζ 和 β 亚型高表达^[22]。最初在纯化 GPIb-IX-V 时首次发现 14-3-3 ζ 与 GPIb-IX-V 结合,随后的研究^[23]发现 GPIb α C 端最后 5 个氨基酸残基(605-610)SGHpSL610 包含 609 磷酸化丝氨酸对于 14-3-3 ζ 与 GPIb-IX 结合非常重要,删除或封闭 C 端 14-3-3 ζ 结合位点引起 14-3-3 ζ 与 GPIb-IX 分离,同时抑制 VWF 与 GPIb-IX 的结合^[23-24]。GPIb-IX 第 2 个 14-3-3 ζ 结合位点位于 GPIb β 胞质域,其中 166 丝氨酸残基对于结合 14-3-3 ζ 非常关键^[3]。在静息血小板 609 位丝氨酸残基组成性磷酸化^[23],而 166 位丝氨酸残基磷酸化受到 PKA 的动态调节^[25]。PKA 通过磷酸化 166 位丝氨酸残基负性调节 VWF 与 GPIb-IX 的结合^[33]。另外,Mangin et al^[5]研究发现在 GPIb α 580-590 位氨基酸序列也能结合 14-3-3 ζ ,其中 587 和 590 位丝氨酸的磷酸化在与 14-3-3 ζ 结合中非常关键,该结合位点在调节整合素依赖的血小板铺展具有重要作用。Yuan et al^[4]发现,在 GPIb α 551-564 位氨基酸序列也能结合 14-3-3 ζ ,其中 559 位丝氨酸残基磷酸化非常关键。

2.6 GPIb-IX-V 与细胞骨架 血小板骨架组成收缩装置调节血小板形状改变和铺展,而且细胞骨架参与形成细胞内信号网络,能连接和组装许多信号分子。许多研究已证实,配体与 GPIb-IX-V 结合能诱导细胞骨架重排,几个信号蛋白重新分布到新形成的肌动蛋白网络^[1]。而且,有证据^[3]表明,细胞骨架参与调节配体与 GPIb-IX-V 的结合。在高剪切力作用下,GPIb 与 VWF 相互作用刺激纤维状肌动蛋白组装到 GPIb-IX-V 复合物^[26]。VWF 与 GPIb-IX-V 相互作用能诱导形成由细丝蛋白、肌动蛋白和 GPIb-IX-V 构成的复合物^[8]。Feng et al^[6]发现,ABP 结合到 GPIb α 对于细胞骨架重排、血小板聚集和一些信号蛋白酪氨酸磷酸化是必需的。通过肌动蛋白结合蛋白将 GPIb α 结合到细胞膜骨架可能负性调节 VWF 与 GPIb α 的结合^[27]。

2.7 PI-3K 与 GPIb-IX-V 信号通路 PI-3K 的调节亚单位 p85 与 GPIb-IX-V 复合物结合,能介导 Src 结合到 GPIb^[16]。血小板黏附到固定的 VWF 能诱导 PI-3K 活化,或在瑞斯托霉素诱导下,可溶性

VWF 和 GPIb-IX-V 结合也能诱导 PI-3K 活化^[3]。在高剪切力条件下,PI-3K 与酪氨酸激酶 Syk 连接,而且,已证实在 VWF 刺激的血小板,PI-3K 通过 p85 调节亚单位与 GPIb-IX-V 和 Src 形成复合物^[16]。PI-3K 活性状态不影响 PI-3K 与 Src 结合形成复合物,因为特异性 PI-3K 抑制剂 wortmannin 不抑制复合物的形成^[16]。有研究^[28]显示,GPIb-IX-V 介导的 Src 和 PLC γ 2 活化以及 Ca²⁺ 升高不受 PI-3K 活性的影响,但血小板聚集和铺展在 VWF 表面则依赖 PI-3K 的活性。但是,PI-3K 在通过 GPIb-IX-V 引起血小板活化中的具体作用目前还不是很清楚。

2.8 环鸟苷一磷酸(cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 依赖的蛋白激酶 之前通常被接受的观点是提高血小板胞质内 cGMP 浓度和 cGMP 依赖的蛋白激酶(protein kinase G, PKG) 活性抑制血小板活化^[29]。然而,最近的研究^[30]表明,cGMP-PKG 信号通路在 GPIb-IX-V 介导的血小板活化中扮演重要的刺激作用。在细胞模型中,表达重组 PKG 提高 VWF 诱导的整合素 α IIb/ β 3 活化。

3 结语

GPIb-IX-V 是血小板表面含量多的膜蛋白之一,在血小板血栓形成的起始和凝血过程中起关键作用。虽然 GPIb-IX-V 相关联的信号通路还没有完全阐明,但是越来越多的证据表明 Src 家族激酶和 PLC γ 2 相关联的信号在 GPIb-IX-V 介导的血小板活化过程中发挥重要作用。在高剪切力条件下,GPIb-IX-V 与整合素 α IIb/ β 3 之间对话对于血小板血栓形成起重要作用,但该对话所涉及的机制还需要深入研究。

参考文献

- [1] Clemetson K J. Platelets and primary haemostasis [J]. *Thromb Res*, 2012, 129(3): 220-4.
- [2] Barinov E F, Sulaeva O N. Molecular mechanisms of thrombogenesis [J]. *Kardiologiia*, 2012, 52(12): 45-56.
- [3] Canobbio I, Balduino C, Torti M. Signalling through the platelet glycoprotein Ib-V-IX complex [J]. *Cell Signal*, 2004, 16(12): 1329-44.
- [4] Yuan Y, Zhang W, Yan R, et al. Identification of a novel 14-3-3 ζ binding site within the cytoplasmic domain platelet glycoprotein Ib α that plays a key role in regulating the von Willebrand factor binding function of glycoprotein Ib-IX [J]. *Circ Res*, 2009, 105(12): 1177-85.
- [5] Mangin P, David T, Lavaud V, et al. Identification of a novel 14-

- 3- ζ binding site within the cytoplasmic tail of platelet glycoprotein Ib α [J]. *Blood*, 2004, 104(2): 420-7.
- [6] Feng S, Reséndiz J C, Lu X, et al. Filamin A binding to the cytoplasmic tail of glycoprotein Ib alpha regulates von Willebrand factor-induced platelet activation [J]. *Blood*, 2003, 102(6): 2122-9.
- [7] Kenny D, Morateck P A, Montgomery R R. The cysteine knot of platelet glycoprotein Ib beta (GPIb beta) is critical for the interaction of GPIb beta with GPIX [J]. *Blood*, 2002, 99(12): 4428-33.
- [8] Maurer E, Tang C, Schaff M, et al. Targeting platelet GPIb β reduces platelet adhesion, GPIb signaling, and thrombin generation and prevents arterial thrombosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(6): 1221-9.
- [9] Shrimpton C N, Borthakur G, Larrucea S, et al. Localization of the adhesion receptor glycoprotein Ib-IX-V complex to lipid rafts is required for platelet adhesion and activation [J]. *J Exp Med*, 2002, 196(8): 1057-66.
- [10] Fredrickson B J, Dong J F, McIntire L V, et al. Shear-dependent rolling on von Willebrand factor of mammalian cells expressing the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex [J]. *Blood*, 1998, 92(10): 3684-93.
- [11] Brandt J T, Isenhardt C E, Osborne J M, et al. On the role of platelet Fc gamma RIIa phenotype in heparin-induced thrombocytopenia [J]. *Thromb Haemost*, 1995, 74(6): 1564-72.
- [12] Falet H, Pollitt A Y, Begonja A J, et al. A novel interaction between FlnA and Syk regulates platelet ITAM-mediated receptor signaling and function [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(9): 1967-79.
- [13] Canobbio I, Bertoni A, Lova P, et al. Platelet activation by von Willebrand factor requires coordinated signaling through thromboxane A2 and Fc gamma IIA receptor [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(28): 26022-9.
- [14] Wu Y, Suzuki-Inoue K, Satoh K, et al. Role of Fc receptor gamma-chain in platelet glycoprotein Ib-mediated signaling [J]. *Blood*, 2001, 97(12): 3836-45.
- [15] Jackson S P, Schoenwaelder S M, Yuan Y, et al. Adhesion receptor activation of phosphatidylinositol 3-kinase. von Willebrand factor stimulates the cytoskeletal association and activation of phosphatidylinositol 3-kinase and pp60c-src in human platelets [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(43): 27093-9.
- [16] Wu Y, Asazuma N, Satoh K, et al. Interaction between von Willebrand factor and glycoprotein Ib activates Src kinase in human platelets: role of phosphoinositide 3-kinase [J]. *Blood*, 2003, 101(9): 3469-76.
- [17] Delaney M K, Liu J, Zheng Y, et al. The role of Rac1 in glycoprotein Ib-IX-mediated signal transduction and integrin activation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(11): 2761-8.
- [18] Kroll M H, Harris T S, Moake J L, et al. von Willebrand factor binding to platelet GPIb initiates signals for platelet activation [J]. *J Clin Invest*, 1991, 88(5): 1568-73.
- [19] Yang Y M, Chen J Z, Wang X X, et al. Resveratrol attenuates thromboxane A2 receptor agonist-induced platelet activation by reducing phospholipase C activity [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 583(1): 148-55.
- [20] Ragab A, Séverin S, Gratacap M P, et al. Role of the C-terminal tyrosine residues of LAT in GPVI-induced platelet activation: insights into the mechanism of PLC gamma 2 activation [J]. *Blood*, 2007, 110(7): 2466-74.
- [21] Estevez B, Stojanovic-Terpo A, Delaney M K, et al. LIM kinase-1 selectively promotes glycoprotein Ib-IX-mediated TXA2 synthesis, platelet activation, and thrombosis [J]. *Blood*, 2013, 121(22): 4586-94.
- [22] Mangin P H, Receveur N, Wurtz V, et al. Identification of five novel 14-3-3 isoforms interacting with the GPIb-IX complex in platelets [J]. *J Thromb Haemost*, 2009, 7(9): 1550-5.
- [23] Bodnar R J, Gu M, Li Z, et al. The cytoplasmic domain of the platelet glycoprotein Ibalpha is phosphorylated at serine 609 [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(47): 33474-9.
- [24] Dai K, Bodnar R, Berndt M C, et al. A critical role for 14-3-3zeta protein in regulating the VWF binding function of platelet glycoprotein Ib-IX and its therapeutic implications [J]. *Blood*, 2005, 106(6): 1975-81.
- [25] Bodnar R J, Xi X, Li Z, et al. Regulation of glycoprotein Ib-IX-von Willebrand factor interaction by cAMP-dependent protein kinase-mediated phosphorylation at Ser 166 of glycoprotein Ibbeta [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(49): 47080-7.
- [26] Cranmer S L, Ashworth K J, Yao Y, et al. High shear-dependent loss of membrane integrity and defective platelet adhesion following disruption of the GPIb α -filamin interaction [J]. *Blood*, 2011, 117(9): 2718-27.
- [27] Munday A D, Gaus K, Lopez J A. The platelet glycoprotein Ib-IX-V complex anchors lipid rafts to the membrane skeleton: implications for activation-dependent cytoskeletal translocation of signaling molecules [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(1): 163-72.
- [28] Nesbitt W S, Kulkarni S, Giuliano S, et al. Distinct glycoprotein Ib/V/IX and integrin α Ib β 3-dependent calcium signals cooperatively regulate platelet adhesion under flow [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(4): 2965-72.
- [29] Haslam R J, Dickinson N T, Jang E K. Cyclic nucleotides and phosphodiesterases in platelets [J]. *Thromb Haemost*, 1999, 82(2): 412-23.
- [30] Li Z, Xi X, Gu M, et al. A stimulatory role for cGMP-dependent protein kinase in platelet activation [J]. *Cell*, 2003, 112(1): 77-86.