

血小板 GP I b-IX-V 受体介导的机制研究及其在血栓性疾病中的应用

周向慧 程志鹏 胡豫

华中科技大学同济医学院附属协和医院血液科, 武汉 430022

通信作者: 胡豫, Email: dr_huyu@126.com

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(81800134)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.06.017

Platelet GP I b-IX-V receptor-mediated mechanism and its application in thrombotic diseases

Zhou Xianghui, Cheng Zhipeng, Hu Yu

Department of Hematology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Corresponding author: Hu Yu, Email: dr_huyu@126.com

血栓性疾病几乎遍布各个临床科室, 包括以心肌梗死和脑梗死为代表的动脉血栓、以深静脉血栓和肺栓塞为代表的静脉血栓和以弥散性血管内凝血为代表的微血管血栓^[1]。血栓性疾病严重威胁着人类的生命健康, 其发病率在全世界高居各类疾病之首^[2]。世界卫生组织(WHO)的数据显示, 每年有超过750万人死于冠心病, 超过670万人死于中风^[3]。血栓性疾病的发生涉及众多因素, 包括血管内皮损伤、血流动力学变化和血液成分的改变。其中, 血小板激活是血栓性疾病的核心始动环节^[4]。以动脉血栓为例, 血液流经破裂的动脉粥样硬化斑块和受损的血管内皮时, 高剪切力的作用激活血小板, 进而血小板发生黏附、铺展和聚集, 启动血栓形成过程, 导致心肌梗死、脑梗死等严重疾病^[5]。

当前, 针对血小板的机制研究主要包括以下方面: ①血小板膜受体 GP I b-IX-V 复合物(GP I b-IX-V)、GP VI 介导的黏附; ②血小板 G 蛋白偶联受体(GPCR)介导的聚集; ③血小板整合素 α IIb β 3 介导的血小板铺展^[6]。基于血小板活化机制研发的阿司匹林、氯吡格雷、普拉格雷等抗血小板药物已得到广泛应用^[7]。遗憾的是, 现有的抗血小板药物也都存在一定程度的缺陷, 所以仍需深入研究血小板信号机制以提供药物治疗的新靶标。血小板膜受体 GP I b-IX-V 广泛参与到聚集、铺展和分泌等血小板活化进程中^[8], 但针对该受体的抗血小板药物尚未应用于临床, 因此深入了解和进一步研究血小板膜受体 GP I b-IX-V 的功能可以为防治血栓性疾病及研发新型抗血小板药物提供重要线索。在本文中, 我们对 GP I b-IX-V 复合物的结构、GP I b-IX-V 信号通路的启动和下游信号以及基于 GP I b-IX-V 受体的抗血小板药物等研究进展进行综述。

一、GP I b-IX-V 复合物的结构

GP I b-IX-V 表达于巨核细胞和血小板上, 是启动血小板活化的关键, 广泛参与聚集、铺展和分泌等血小板活化进程。每个血小板有约50 000个 GP I b-IX-V 复合物^[9], 每个 GP I b-IX-V 复合物含有4个不同的跨膜亚基(GP I b α 、GP I b β 、GP IX、GP V), 其亚基都属于富含亮氨酸的重复蛋白超家族^[10-11]。GP I b α 通过二硫键与 GP I b β 按1:2比例形成 GP I b, GP I b 又通过非共价键与 GP IX 以1:1的比例组成 GP I b-IX 复合物^[12]。最后 GP I b-IX 通过非共价方式与 GP V 以2:1的比例构成 GP I b-IX-V 复合物^[13]。

GP I b α (CD42b)是组成 GP I b-IX-V 受体复合物的核心成分, 其N-末端部分是主要配体结合区, 在高剪切应力条件下, 对调节血管性血友病因子(VWF)的黏附起关键作用。此外, GP I b α 的胞外域还能与涉及凝血和免疫的多种配体(FXI、FXII、凝血酶、血小板反应蛋白、高分子量激肽原、白细胞整合素 α M β 2和P-选择素等)结合^[14]。这些配体广泛参与到血小板的信号转导, 共同交织成血小板的信号通路网。GP I b β (CD42c)仅含有一个N-糖基化位点(Asn41), 通过位于细胞外和跨膜结构域连接处的Cys122与紧邻的 GP I b α 以二硫键相连。GP I b β 胞质尾部的功能序列可与钙调蛋白和凋亡抑制蛋白14-3-3 ζ 相结合, 并且参与血小板细胞骨架的重排。GP IX(CD42a)的细胞外结构域与 GP I b β 具有超过45%的序列同一性, 其细胞质尾部由8个残基组成, 并且与细胞内蛋白质结合。GP V(CD42d)仅通过跨膜结构域之间的微弱作用与 GP I b-IX 相关联, 有研究表明 GP V 能负向调节 GP I b-IX 功能^[9, 15-16], 总之 GP V 需与 GP I b-IX 共表达于胞膜上才能具有相关功能^[17], 因此其在 GP I b-IX-V 受

体复合物中的作用尚有待进一步研究。

二、GP I b-IX-V 与 VWF 结合启动通路

血小板配体和受体的识别与结合是启动血小板信号传导(即血小板活化)的开始。VWF是GP I b-IX-V复合物的相关配体之一,主要介导血小板的黏附反应^[18]。在血流发生异常变化,特别是在高剪切应力的条件下,存在于内皮细胞上及内皮下基质中的VWF通过其A1结构域与GP I b-IX-V复合物中的GP I b α 的N末端结构识别并结合。有报道显示,GP I b α 的胞外近膜区域具有机械敏感性,能在VWF介导的拉力作用下发生延展^[19-20]。GP I b α 的另一个富亮氨酸重复结构(LRRD)同样在VWF的介导下发生构象变化^[21],这些构象变化启动了血小板胞内信号的传导、聚集、铺展和分泌等一系列血小板活化进程^[22]。

三、GP I b-IX-V 的主要下游信号分子及调节分子

在高剪切力的作用下,GP I b-IX-V与VWF之间的结合多是短暂而松散的,需要激活血小板整合素受体 α II b β 3才能形成稳定的血小板黏附和聚集。因而在血小板活化过程中,由GP I b-IX-V启动的信号需通过下游信号传递并激活整合素受体 α II b β 3,以下将重点介绍GP I b-IX-V的主要下游信号分子及调节分子。

1. Src家族激酶(SFK):人血小板中包括7种SFK:Src、Yes、Lyn、Hck、Fyn、Fgr和Lck^[23]。SFK广泛参与增殖、分化、黏附、运动等细胞活动。Src的结构是由N-末端14-碳肉豆蔻酰基、独特区段、SH3结构域、SH2结构域、蛋白质-酪氨酸激酶结构域和C-末端调节尾所构成^[23]。Src、Lyn、Fyn这三种在血小板中高表达的SFK均涉及整合素和GP I b-IX-V受体信号传导的早期阶段。其中,Src和Fyn被认为是血小板的正性调节因子,而Lyn对血小板活化起双重调节作用^[23]。GP I b-IX-V与VWF结合后,Src、Lyn与GP I b α 的胞质尾部 and 细胞骨架相互作用^[24],同时,Fyn与蛋白激酶C ζ 型(PKC ζ)相互作用,诱导磷酸化和促进激活^[23]。SFK的下游靶标包括衔接蛋白LAT和ADAP、PLC γ 2、酪氨酸激酶Btk、丝裂原活化蛋白激酶Erk1和Erk2等^[25]。抑制磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)和Ca²⁺会阻碍GP I b-IX-V介导的整合素激活但不抑制酪氨酸磷酸化,而抑制SFK则会阻断所有GP I b-IX-V介导的信号^[26],表明SFK在GP I b-IX-V信号传导中发挥着重要作用。

2. PLC γ 2:磷脂酶C家族(PLC)是连接多条血小板活化信号通路的枢纽,人血小板的PLC家族成员包括PLC γ 2、PLC β 2、PLC β 3^[27-28]。血小板GP I b-IX-V信号通路主要涉及PLC γ 2,其结构包含SH2、SH3和分裂PH域^[29]。PLC γ 2活化主要是通过Syk介导的蛋白酪氨酸磷酸化,其活化受到PI3K的调节,抑制PI3K可显著抑制GP I b-IX-V诱导的PLC γ 2的活化^[30]。此外,近年来研究表明GPCR激动剂(如凝血酶)也可以通过活性氧(ROS)依赖的信号通路诱导PLC γ 2磷酸化和活化^[31]。活化的PLC γ 2能将二磷酸磷脂酰肌醇(PIP2)水解成二酰基甘油(DAG)和三磷酸肌醇(IP3),IP3结合IP3受体,使Ca²⁺从致密管状系统释放到细胞质中,胞质钙离子浓

度升高,进一步调节血小板黏附、铺展等活动^[32]。

3. PI3K:PI3K是一种磷脂酰肌醇激酶,其本身既具有丝氨酸/苏氨酸(Ser/Thr)激酶的活性,也具有磷脂酰肌醇激酶的活性。p85作为PI3K的调节亚基,与GP I b-IX-V作用,并且介导Src与GP I b的结合^[24]。PI3K能够磷酸化磷脂酰肌醇二磷酸(PIP2)肌醇环将其转化为三磷酸磷脂酰肌醇(PIP3),从而介导3-磷酸肌醇依赖性激酶1(PDK1)和Akt(Protein kinase B, PKB)同种型的膜易位,激活Akt^[33]。Akt又能磷酸化并激活内皮NOS,刺激cGMP途径,导致颗粒分泌和GP I b-IX-V依赖性血小板活化^[34]。PTEN蛋白能通过水解PIP3抑制PI3K-Akt和cGMP信号通路^[35]。在静态条件下,GP I b-IX-V介导的Src、PLC γ 2活化和钙离子浓度改变的信号途径不受PI3K活性的影响^[25]。而在高剪切力的影响下,抑制PI3K可降低血小板的聚集能力^[36],其中的机制仍有待深入研究。

4. 14-3-3 ζ :14-3-3 ζ 作为14-3-3蛋白家族的成员,能识别许多胞内蛋白质中磷酸丝氨酸/磷酸苏氨酸的结合基序,在真核细胞的信号转导途径中发挥衔接子/调节剂作用^[37]。在哺乳动物中,14-3-3蛋白家族包括7个亚型: β 、 α 、 ϵ 、 η 、 γ 、 τ 、 θ 、 ζ 和 σ ,14-3-3 ζ 被认为与细胞转化、增殖和抑制凋亡直接相关^[38]。就血小板而言,14-3-3家族成员一般位于胞质中,也有报道显示14-3-3 ζ 可以存在于致密颗粒^[37]。14-3-3蛋白与GP I b α 的C末端序列结合,在GP I b-IX-V信号传导中起着重要的衔接作用^[39]。实验显示,在表达人GP I b-IX-V和 α II b β 3的CHO细胞中,GP I b α 的C-末端14-3-3 ζ 结合位点的缺失抑制了VWF诱导的整联蛋白的激活^[40]。相关实验表明由VWF或低剂量凝血酶诱导的GP I b-IX-V依赖性的血小板活化信号传导可能都需要14-3-3 ζ 与GP I b α 的胞质结构域的结合,其共同的下游信号分子包括Rac1、Lyn、PI3K、Akt、cGMP、p38、ERK1/2和LIMK1^[37]。此外,14-3-3 ζ 可与GP I b-IX-V复合物中的GP I b β 结合,但破坏GP I b β 结合位点不会影响14-3-3 ζ 与GP I b-IX-V相互作用,提示14-3-3 ζ 与GP I b α 结合并不依赖GP I b β ^[41]。

5. 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK):MAPK在GP I b-IX-V介导的血小板聚集和黏附中起着至关重要的作用。已经在血小板上发现4个MAPK亚组:ERK1/2、p38、JNK1/2和ERK5^[42]。其中p38和ERK1/2最早被证明在GP I b-IX-V介导的信号转导中对整合素激活具有重要作用^[8]。ERK5也称为大丝裂原活化蛋白激酶-1(BMK1),与细胞增殖、迁移、血管生成等多种细胞活动过程有关^[43]。ERK5在小鼠胚胎成纤维细胞和TNF- α 诱导的成骨细胞凋亡中可以调节Akt的活化^[44]。近年来已有多项研究显示ERK5参与调节血小板活化。Cameron等^[45]发现ERK5是缺血条件下的血小板激动剂,它能调节心肌梗死后多种血小板蛋白的表达。本课题组前期研究发现ERK5参与调控Botrocetin/VWF诱导的血小板GP I b-IX-V信号通路,并且发现了人血小板中与ERK5特异性结合的蛋白CK II以及Src-Raf-MEK5-ERK5/CK II-PTEN信号途径^[46]。

四、GP I b-IX-V通路与其他血小板活化信号的关联

血小板活化的信号通路研究已经开展数十年,近年来的研究观点揭示了极其复杂的信号传导和扩增网络^[34]。同样,GP I b-IX-V介导的信号传导并不是单一通路,也是由复杂的信号网构成。GP I b-IX-V既可以通过与VWF识别结合引发一系列的级联反应,促使血小板聚集、形成血栓,也可以与其他的血小板活化的信号通路相关联,如由凝血酶引发的蛋白酶激活受体(PAR,G蛋白偶联受体家族成员)介导的信号通路。其原因是GP I b-IX上除了有结合VWF配体的位点外,还能与凝血酶等配体结合,这一点对低剂量凝血酶诱导的血小板活化尤为关键。通常情况下,当PAR的N末端结构域被凝血酶切割时,暴露一个与受体分子结合的配体序列,使得PAR激活,从而通过G蛋白启动胞内信号传导^[39]。当血管损伤(如激光诱导的动脉损伤模型)较微弱,只能检测到低浓度凝血酶的情况下,GP I b-IX与凝血酶的结合对体内血小板血栓的形成至关重要^[39]。当然,GP I b-IX在凝血酶诱导的血小板活化过程中的作用尚存在争议,部分报道支持GP I b-IX是作为一种独立的凝血酶受体,引发血小板活化^[47];更多的学者认为GP I b-IX本身不足以引发血小板对凝血酶的反应,而是协同PAR依赖性的信号传导共同促进血小板反应^[48],GP I b-IX和PAR之间的这种相互协作过程需要GP I b-IX特异性的14-3-3-Rac1-LIMK1信号通路以及GP I b-IX非依赖性的PAR信号传导^[39],其详细的信号通路的交联与调节机制仍有待研究。

五、GP I b-IX-V信号的抗血小板药物研发和前景

目前广泛应用于临床的阿司匹林、氯吡格雷、普拉格雷等抗血小板药物都不尽完美,如阿司匹林通过乙酰化COX-1(环氧合酶)来抑制血栓素A2的产生,发挥抗血小板的作用,但阿司匹林可能出现抗栓无效的阿司匹林抵抗现象,以及延长出血时间和严重呕吐等不良反应;氯吡格雷和普拉格雷作为血小板P2Y₁₂受体拮抗剂,可以抑制ADP引起的血小板活化,却也可以引起颅内出血等严重出血事件^[49]。此外,部分患者(如冠脉支架植入术后)需要联合应用两种甚至多种抗血小板药物防止血栓事件。所以新型药物的研究与开发迫在眉睫,仍需深入研究血小板信号机制以提供药物治疗的新靶标^[50]。

近年来处于研究阶段的靶向药物逐日增多,如针对GP VI(Troα6和Troα10)、P2Y₁/P2Y₁₂(GLS-409)、PAR1(PZ-128)、PAR4(BMS-986120)和Syk(BI1002494和PRT-060318)分子的相关药物^[51]。其中,基于GP I b-IX-V受体的抗血小板药物主要包括以下研究:ALX-0081和ARC1779作为两种新型的抗VWF药物,其研究目前已经进入临床试验阶段;Anfibatide是一种从Agkistrodon acutus蛇毒中纯化出来的直接抗GP I bα药物,能有效降低心梗发生率且不影响生理止血功能^[52];RAM.1(大鼠单克隆抗体)靶向作用于GP I bβ,研究显示其能抑制凝血酶的产生和血栓生长^[53];14-3-3ζ信号分子的靶向药物MPαC能选择性干扰14-3-3ζ与GP I bα的结合,是血小板黏附的抑制剂^[41];RB-011作为

14-3-3ζ二聚体的去稳定剂,能够抑制血小板的活化,起到类似于14-3-3ζ缺乏的作用^[54]。此外,最新的研究显示,传统中草药人参的活性成分人参皂苷Rp3(Ginsenoside-Rp3)能通过干扰血小板活化信号轴(SFK/PLCγ₂/Ca²⁺、cAMP/P-VASP、MAPK)阻止整合素α II bβ₃a活化,降低体内血栓形成风险^[55]。

六、结语

血小板膜受体GP I b-IX-V在血小板活化中具有关键作用,且广泛参与血栓形成的各个阶段。对于GP I b-IX-V受体机制的研究日益增多,但基于GP I b-IX-V的抗血小板药物尚未应用于临床。因此,血小板膜受体GP I b-IX-V的机制仍有待深入研究,进而为研发新型抗血小板药物及血栓性疾病的防治提供理论基础。

参考文献

- [1] Cayla G, Cuisset T, Silvain J, et al. Platelet function monitoring to adjust antiplatelet therapy in elderly patients stented for an acute coronary syndrome (ANTARCTIC): an open-label, blinded-endpoint, randomised controlled superiority trial [J]. *Lancet*, 2016, 388(10055): 2015-2022. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31323-X.
- [2] Goodwin AJ, Adcock DM. Thrombophilia testing and venous thrombosis [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(23): 2297-2298. DOI: 10.1056/NEJMc1713797.
- [3] Angiolillo DJ. Dual antiplatelet therapy guided by platelet function testing [J]. *Lancet*, 2017, 390(10104): 1718-1720. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32279-1.
- [4] van Rooy MJ, Pretorius E. Platelet interaction with erythrocytes and propensity to aggregation in essential thrombocythaemia [J]. *Lancet*, 2016, 387(10024): 1210. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)62293-5.
- [5] Flevaris P, Li Z, Zhang G, et al. Two distinct roles of mitogen-activated protein kinases in platelets and a novel Rac1-MAPK-dependent integrin outside-in retractile signaling pathway [J]. *Blood*, 2009, 113(4): 893-901. DOI: 10.1182/blood-2008-05-155978.
- [6] Koupenova M, Kehrel BE, Corkrey HA, et al. Thrombosis and platelets: an update [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(11): 785-791. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw550.
- [7] Mega JL, Simon T. Pharmacology of antithrombotic drugs: an assessment of oral antiplatelet and anticoagulant treatments [J]. *Lancet*, 2015, 386(9990): 281-291. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60243-4.
- [8] Du X. Signaling and regulation of the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex [J]. *Curr Opin Hematol*, 2007, 14(3): 262-269. DOI: 10.1097/MOH.0b013e3280dce51a.
- [9] Bryckaert M, Rosa JP, Denis CV, et al. Of von Willebrand factor and platelets [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(2): 307-326. DOI: 10.1007/s00018-014-1743-8.
- [10] Luo SZ, Mo X, Afshar-Kharghan V, et al. Glycoprotein Ibalpha forms disulfide bonds with 2 glycoprotein Ibbeta subunits in the

- resting platelet[J]. *Blood*, 2007, 109(2):603-609. DOI:10.1182/blood-2006-05-024091.
- [11] Rao AK, Songdej N. Parsing the repertoire of GPIb-IX-V disorders[J]. *Blood*, 2017, 129(4): 403-404. DOI: 10.1182/blood-2016-12-753186.
- [12] Zhou H, Ran Y, Da Q, et al. Defective Association of the Platelet Glycoprotein Ib-IX Complex with the Glycosphingolipid-Enriched Membrane Domain Inhibits Murine Thrombus and Atheroma Formation[J]. *J Immunol*, 2016, 197(1): 288-295. DOI: 10.4049/jimmunol.1501946.
- [13] Fegghi S, Munday AD, Tooley WW, et al. Glycoprotein Ib-IX-V Complex Transmits Cytoskeletal Forces That Enhance Platelet Adhesion[J]. *Biophys J*, 2016, 111(3): 601-608. DOI: 10.1016/j.bpj.2016.06.023.
- [14] Andrews RK, Gardiner EE. Metalloproteolytic receptor shedding...platelets "acting their age" [J]. *Platelets*, 2016, 27(6): 512-518. DOI: 10.1080/09537104.2016.1212001.
- [15] Xu G, Shang D, Zhang Z, et al. The transmembrane domains of β and IX subunits mediate the localization of the platelet glycoprotein Ib-IX complex to the glycosphingolipid-enriched membrane domain [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(36):22155-22162. DOI: 10.1074/jbc.M115.668145.
- [16] Mo X, Liu L, López JA, et al. Transmembrane domains are critical to the interaction between platelet glycoprotein V and glycoprotein Ib-IX complex [J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10(9): 1875-1886. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2012.04841.x.
- [17] Jeong JM, Kim JW, Kim DH, et al. First molecular cloning and gene expression analysis of teleost CD42 (glycoprotein Ib beta chain) GPIb-IX-V subunit from rock bream, *Oplegnathus fasciatus* [J]. *Dev Comp Immunol*, 2015, 49(2): 298-302. DOI: 10.1016/j.dci.2014.11.011.
- [18] 王兆钺. 血小板与凝血因子的相互作用及其意义[J]. *中华血液学杂志*, 2004, 25(3): 187-189.
- [19] Zhang W, Deng W, Zhou L, et al. Identification of a juxtamembrane mechanosensitive domain in the platelet mechanosensor glycoprotein Ib-IX complex[J]. *Blood*, 2015, 125(3): 562-569. DOI: 10.1182/blood-2014-07-589507.
- [20] Ruggeri ZM. Platelet GPIb: sensing force and responding [J]. *Blood*, 2015, 125(3): 423-424. DOI: 10.1182/blood-2014-12-610642.
- [21] Ju L, Lou J, Chen Y, et al. Force-induced unfolding of leucine-rich repeats of glycoprotein Ib α strengthens ligand interaction [J]. *Biophys J*, 2015, 109(9): 1781-1784. DOI: 10.1016/j.bpj.2015.08.050.
- [22] Ju L, Chen Y, Xue L, et al. Cooperative unfolding of distinctive mechanoreceptor domains transduces force into signals [J]. *Elife*, 2016, 5. pii: e15447. DOI: 10.7554/eLife.15447.
- [23] Senis YA, Mazharian A, Mori J. Src family kinases: at the forefront of platelet activation [J]. *Blood*, 2014, 124(13): 2013-2024. DOI: 10.1182/blood-2014-01-453134.
- [24] Wu Y, Asazuma N, Satoh K, et al. Interaction between von Willibrand factor and glycoprotein Ib activates Src kinase in human platelets: role of phosphoinositide 3-kinase[J]. *Blood*, 2003, 101(9): 3469-3476. DOI: 10.1182/blood-2002-03-0806.
- [25] Ozaki Y, Asazuma N, Suzuki-Inoue K, et al. Platelet GPIb-IX-V dependent signaling [J]. *J Thromb Haemost*, 2005, 3(8): 1745-1751. DOI:10.1111/j.1538-7836.2005.01379.x.
- [26] Kasirer-Friede A, Cozzi MR, Mazzucato M, et al. Signaling through GP Ib-IX-V activates alpha IIb beta 3 independently of other receptors [J]. *Blood*, 2004, 103(9): 3403-3411. DOI: 10.1182/blood-2003-10-3664.
- [27] Pradhan S, Khatlani T, Nairn AC, et al. The heterotrimeric G protein G β 1 interacts with the catalytic subunit of protein phosphatase 1 and modulates G protein-coupled receptor signaling in platelets [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(32): 13133-13142. DOI: 10.1074/jbc.M117.796656.
- [28] Liu Y, Liu T, Ding K, et al. Phospholipase C γ 2 Signaling Cascade Contribute to the Antiplatelet Effect of Nötoginsenoside Fc [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1293. DOI: 10.3389/fphar.2018.01293.
- [29] Krawczyk P, Matuszyk J. The mechanism of phospholipase C γ 1 activation [J]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2011, 65: 470-477.
- [30] Ragab A, Séverin S, Gratacap MP, et al. Roles 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): 2466-2474. DOI: 10.1182/blood-2007-02-075432.
- [31] Delaney MK, Kim K, Estevez B, et al. Differential roles of the NADPH-Oxidase 1 and 2 in platelet activation and thrombosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(5): 846-854. DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.307308.
- [32] Vardon Bounes F, Mujalli A, Cenac C, et al. The importance of blood platelet lipid signaling in thrombosis and in sepsis [J]. *Adv Biol Regul*, 2018, 67: 66-73. DOI: 10.1016/j.jbior.2017.09.011.
- [33] Ma Q, Zhang W, Zhu C, et al. FUNDC2 regulates platelet activation through AKT/GSK-3 β /cGMP axis [J]. *Cardiovasc Res*, 2018. DOI: 10.1093/cvr/cvy311.
- [34] Estevez B, Du X. New concepts and mechanisms of platelet activation signaling [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2017, 32(2): 162-177. DOI: 10.1152/physiol.00020.2016.
- [35] Weng Z, Li D, Zhang L, et al. PTEN regulates collagen-induced platelet activation [J]. *Blood*, 2010, 116(14): 2579-2581. DOI: 10.1182/blood-2010-03-277236.
- [36] Valet C, Severin S, Chicanne G, et al. The role of class I, II and III PI 3-kinases in platelet production and activation and their implication in thrombosis [J]. *Adv Biol Regul*, 2016, 61: 33-41. DOI: 10.1016/j.jbior.2015.11.008.
- [37] Chen Y, Ruggeri ZM, Du X. 14-3-3 proteins in platelet biology and glycoprotein Ib-IX signaling [J]. *Blood*, 2018, 131(22): 2436-2448. DOI: 10.1182/blood-2017-09-742650.
- [38] 邱亚娟, 张明智. 14-3-3 ζ 蛋白在晚期NK/T细胞淋巴瘤患者中的表达及其意义 [J]. *中华血液学杂志*, 2018, 39(4): 325-327.

- DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.04.014.
- [39] Estevez B, Kim K, Delaney MK, et al. Signaling-mediated cooperativity between glycoprotein Ib-IX and protease-activated receptors in thrombin-induced platelet activation [J]. *Blood*, 2016, 127(5): 626-636. DOI: 10.1182/blood-2015-04-638387.
- [40] Gu M, Xi X, Englund GD, et al. Analysis of the roles of 14-3-3 in the platelet glycoprotein Ib-IX-mediated activation of integrin α Ib β 3 using a reconstituted mammalian cell expression model [J]. *J Cell Biol*, 1999, 147(5): 1085-1096.
- [41] Dai K, Bodnar R, Berndt MC, et al. A critical role for 14-3-3 ζ protein in regulating the VWF binding function of platelet glycoprotein Ib-IX and its therapeutic implications [J]. *Blood*, 2005, 106(6): 1975-1981. DOI: 10.1182/blood-2005-01-0440.
- [42] Song W, Ma YY, Miao S, et al. Pharmacological actions of miltirone in the modulation of platelet function [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40(2): 199-207. DOI: 10.1038/s41401-018-0010-1.
- [43] Yang M, Kholmukhamedov A, Schulte ML, et al. Platelet CD36 signaling through ERK5 promotes caspase-dependent procoagulant activity and fibrin deposition in vivo [J]. *Blood Adv*, 2018, 2(21): 2848-2861. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018025411.
- [44] Bin G, Bo Z, Jing W, et al. Fluid shear stress suppresses TNF- α -induced apoptosis in MC3T3-E1 cells: Involvement of ERK5-AKT-FoxO3a-Bim/FasL signaling pathways [J]. *Experimental Cell Research*, 2016, 343(2): 208-217. DOI: 10.1016/j.yexcr.2016.03.014.
- [45] Cameron SJ, Ture SK, Mickelsen D, et al. Platelet extracellular regulated protein kinase 5 is a redox switch and triggers maladaptive platelet responses and myocardial infarct expansion [J]. *Circulation*, 2015, 132(1): 47-58. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.015656.
- [46] Cheng Z, Gao W, Fan X, et al. Extracellular signal-regulated kinase 5 associates with casein kinase II to regulate GPIb-IX-mediated platelet activation via the PTEN/PI3K/Akt pathway [J]. *J Thromb Haemost*, 2017, 15(8): 1679-1688. DOI: 10.1111/jth.13755.
- [47] Adam F, Guillin MC, Jandrot-Perrus M. Glycoprotein Ib-mediated platelet activation. A signalling pathway triggered by thrombin [J]. *Eur J Biochem*, 2003, 270(14): 2959-2970. DOI: 10.1046/j.1432-1033.2003.03670.x.
- [48] De Candia E, Hall SW, Rutella S, et al. Binding of thrombin to glycoprotein Ib accelerates the hydrolysis of Par-1 on intact platelets [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(7): 4692-4698. DOI: 10.1074/jbc.M008160200.
- [49] Kapoor JR. Platelet activation and atherothrombosis [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(15): 1638. DOI: 10.1056/NEJMc080056.
- [50] Vilahur G, Gutiérrez M, Arzanauskaitė M, et al. Intracellular platelet signalling as a target for drug development [J]. *Vascul Pharmacol*, 2018, 111: 22-25. DOI: 10.1016/j.vph.2018.08.007.
- [51] Grover SP, Bergmeier W, Mackman N. Platelet signaling pathways and new inhibitors [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(4): e28-e35. DOI: 10.1161/ATVBAHA.118.310224.
- [52] Blombery P, Scully M. Management of thrombotic thrombocytopenic purpura: current perspectives [J]. *J Blood Med*, 2014, 5: 15-23. DOI: 10.2147/JBM.S46458.
- [53] Maurer E, Tang C, Schaff M, et al. Targeting platelet GPIIb β reduces platelet adhesion, GPIb signaling and thrombin generation and prevents arterial thrombosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(6): 1221-1229. DOI: 10.1161/ATVBAHA.112.301013.
- [54] Schoenwaelder SM, Darbousset R, Cranmer SL, et al. 14-3-3 ζ regulates the mitochondrial respiratory reserve linked to platelet phosphatidylserine exposure and procoagulant function [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12862. DOI: 10.1038/ncomms12862.
- [55] Irfan M, Jeong D, Kwon HW, et al. Ginsenoside-Rp3 inhibits platelet activation and thrombus formation by regulating MAPK and cyclic nucleotide signaling [J]. *Vascul Pharmacol*, 2018, 109: 45-55. DOI: 10.1016/j.vph.2018.06.002.

(收稿日期: 2018-11-02)

(本文编辑: 徐茂强)

·读者·作者·编者·

关于重视引用国内文献的意见

部分作者在撰写论文时,只引用国外文献(或非中文语种的文献)。诚然,在医学的许多领域,国内的研究水平确实有待提高,有引用国外文献的必要。但是,不引用国内相关文献,将存在以下问题:①作者没有阅读国内文献,这样作者阅读的文献就不全面,作者所撰写的论文、综述等的科学性、先进性就值得商榷。②不引用国内文献,就不能准确、全面地反映国内的研究水平和进展,毕竟本刊发表的文章主要的阅读对象是中国医师。③有的作者虽然阅读了国内文献,但未引用。不引用国内文献的想法可能更为复杂,如轻视或忽略国内同行,或暗示首创权。除非是专门的国外医学文摘或国外文献综述,均应有国内文献的复习、引用和注解。本刊倡导在论文的撰写中应维护参考文献的科学性,鼓励作者在引用国外文献的同时检索并引用国内相关的文献。

本刊编辑部