

# 血管性血友病因子和血小板表面受体突变的数据库构建及数据分析

李娜<sup>1</sup>, 李趣欢<sup>1</sup>, 王安琪<sup>2</sup> (<sup>1</sup>华南理工大学生物科学与工程学院, 广东省广州市 510006; <sup>2</sup>华南理工大学计算机科学与工程学院, 广东省广州市 510006)

## 文章亮点:

血管性血友病因子及血小板糖蛋白 Iba 突变的数据库构建, 具有重要的生物学意义。第一, 汇集目前血管性血友病因子突变信息 341 条, 血小板糖蛋白 Iba 突变信息 13 条以及 A1 结构域虚拟突变 3 920 条, 并集条件组合检索和图表动态条件检索两种检索方法, 可方便进行突变位点与疾病类型相关联信息的查询; 第二, 对数据库汇集的突变信息进行统计分析, 表明外显子第 18-20、28、45 和 52 号是相对容易发生突变的区域; 第三, 首次提供了 Discovery Studio 3.5 对血管性血友病因子 A1 结构域的虚拟突变位点信息。因此, 该数据库的构建有利于研究人员对血管性血友病因子及血小板糖蛋白 Iba 相关突变方面的研究, 有助于新型抗血栓药物的开发, 进一步提高临床诊断和治疗水平。

## 关键词:

组织构建; 组织工程; 干细胞; 血管性血友病因子; 血小板糖蛋白 Iba; 突变数据库; 国家自然科学基金

## 主题词:

血管性血友病疾病; 血小板糖蛋白 GP I b-IX 复合物; 突变蛋白质类; 数据库, 蛋白质

## 基金资助:

国家自然科学基金青年基金(31200705); 高等学校博士学科点专项科研基金(20100172120042); 中央高校基本科研业务费(2014ZZ0051)

## 缩略语:

血管性血友病因子: von Willebrand Factor, VWF; 血小板表面受体血小板糖蛋白 Iba: Platelet glycoprotein Ib alpha, GPIba

## 摘要

**背景:** 血管性血友病因子和血小板表面受体之间的相互作用在血小板黏附、传播、聚集等血栓形成过程中起到关键作用。目前关于血管性血友病因子突变信息的数据库并不完善且血小板表面受体相关的数据库仍未构建。

**目的:** 致力于构建血管性血友病因子及血小板糖蛋白 Iba 相关突变的数据库, 以利于相关领域的研究人员快速查找该分子对的重要突变信息。

**方法:** 以数据库 Uniprot、VWFdb 及文献报道的突变信息为数据源, 采用 MySQL 和 Apache 为后台数据库和服务器, 运用 PHP 语言开发血管性血友病因子及血小板糖蛋白 Iba 突变数据库。

**结果与结论:** 收集了 341 条血管性血友病因子, 13 条血小板糖蛋白 Iba 的野生或者突变序列数据, 并人工构建 A1 结构域的虚拟突变 3 920 条, 建立了包括背景介绍、相关病理图册和资料下载等登录页面, 初步实现了数据检索、突变位点分析以及虚拟突变位点信息等相关功能。该数据库较全面搜集及分析血管性血友病因子及血小板糖蛋白 Iba 的数据信息, 有利于研究人员对血管性血友病因子和血小板糖蛋白 Iba 相关信息的查询, 有助于新型抗血栓药物的研发, 进一步提高临床诊断和治疗水平。

李娜, 李趣欢, 王安琪. 血管性血友病因子和血小板表面受体突变的数据库构建及数据分析[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(29):4599-4604.

## Database construction and data analysis of von Willebrand factor and platelet glycoprotein Ib alpha mutations

Li Na<sup>1</sup>, Li Qu-huan<sup>1</sup>, Wang An-qi<sup>2</sup> (<sup>1</sup>School of Bioscience and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China; <sup>2</sup>School of Computer Science & Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China)

## Abstract

**BACKGROUND:** The interaction between von Willebrand Factor (VWF) and platelet surface receptor, platelet glycoprotein Ib alpha (GPIba), plays a key role in the process of platelet adhesion, spread and aggregation. Currently, the database collecting VWF mutations is not complete and GPIba database has not been constructed yet.

**OBJECTIVE:** The construction of VWF and GPIba mutation database can help the researchers in this field to find the important mutation information of these two molecules quickly.

**METHODS:** For constructing VWF and GPIba mutation database, data were collected from Uniprot, VWFdb and literatures by keywords search, the dynamics website was designed using MySQL+Apache+PHP combination.

李娜, 女, 1989 年生, 广东省揭阳市人, 汉族, 华南理工大学在读硕士, 主要从事生物力学方面的研究。

通讯作者: 李趣欢, 博士, 副教授, 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东省广州市 510006

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.

2014.29.002

[http://www.crter.org]

中图分类号:R318

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2014)29-04599-06

稿件接受: 2014-05-04

Li Na, Studying for master's degree, School of Bioscience and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

Corresponding author: Li Qu-huan, M.D., Associate professor, School of Bioscience and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

Accepted: 2014-05-04

**RESULTS AND CONCLUSION:** The database contains 341, 13 and 3 920 wild and mutation records of VWF, GPIIb $\alpha$ , and A1 domain. The website connecting with backend database is comprised of the background introduction, the pathological pictures and data download page and so on. Especially, the information of mutations and virtual mutations can be searched and analyzed through search engine with sample and logical strategy. This database will be greatly beneficial to study VWF and GPIIb $\alpha$ . Furthermore, it can offer some new therapeutic approaches to inhibit the binding of VWF and GPIIb $\alpha$ , which serve as an attractive drug target in von Willebrand Disease.

**Subject headings:** von Willebrand diseases; platelet glycoprotein GPIIb-IX complex; mutant proteins; databases, protein

**Funding:** the National Natural Science Foundation of China for Youths, No. 31200705; Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education, No. 20100172120042; Fundamental Research Funds for the Central Universities, No. 2014ZZ0051

Li N, Li QH, Wang AQ. Database construction and data analysis of von Willebrand factor and platelet glycoprotein I $\alpha$  mutations. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2014;18(29):4599-4604.

## 0 引言 Introduction

血小板是由骨髓巨核细胞生成的无核细胞小块<sup>[1]</sup>, 是机体正常止血所必需的关键组分, 但在病理条件下也可以引发血栓的形成, 引起心肌梗死、脑卒中等严重疾病<sup>[2-3]</sup>。血管性血友病因子(von willebrand factor, VWF)与血小板表面受体血小板糖蛋白I $\alpha$ (platelet glycoprotein I $\alpha$ , GPIIb $\alpha$ )之间的相互作用在凝血过程中起到重要作用<sup>[4-5]</sup>。VWF是多体血浆糖蛋白, 介导血小板在血管损伤部位的初始黏附, 是止血与血栓形成过程中的重要参与者之一<sup>[6-7]</sup>。GPIIb $\alpha$ 是血小板膜表面的主要糖蛋白之一<sup>[8-10]</sup>。当血管发生损伤, 胶原暴露在内皮细胞上, 血液中的VWF分子会通过其A3结构域与胶原分子结合, 此时胶原发生构象变化而被激活<sup>[11]</sup>。接着, VWF通过A1结构域与亚基GPIIb $\alpha$ 结合, 募集血液中自由流动的血小板, 介导血小板在受损的血管壁上的黏附, 显著降低了血小板的运动速度, 使血小板稳定黏附在损伤部位, 从而实现止血的作用<sup>[12]</sup>。在正常的生理条件下, VWF和GPIIb $\alpha$ 之间的相互作用实现止血功能, 但在病理和高剪切应力的条件下, VWF和GPIIb $\alpha$ 之间的异常相互作用则能引起血栓性疾病<sup>[13-14]</sup>。

VWF的结构突变所导致与GPIIb $\alpha$ 之间的反应动力学行为失常, 往往能引发各种血栓性和出血性疾病的发生, 如动脉粥样硬化、深静脉血栓、血栓性血小板减少性紫癜以及血管性血友病(von willebrand disease, VWD)等<sup>[15]</sup>。血管性血友病是最常见的遗传性出血疾病<sup>[16-17]</sup>, 预计发病率约为1%, 而临床显著病例的发病率约为1/10 000<sup>[18-19]</sup>。目前, 先天性血管性血友病可分成: 1型和2型和3型。其中, 1型和3型与VWF数量的缺失有关, 2型与VWF的功能异常有关<sup>[20]</sup>。根据2型的结构与功能的差异性, 又可以分为: 2A型、2B型、2M型、2N型。VWF分泌或酶切机制障碍引起的高分子量的VWF多聚物缺乏属于2A型。2B型是由A1结构域上的功能获得性突变引起的, 导致VWF和GPIIb $\alpha$ 分子之间亲和力增强<sup>[21]</sup>。相反, 2M型则是由A1结构域上的功能失去性突变导致VWF和GPIIb $\alpha$ 分子之间的亲和力减弱。由D'D3结构域的突变导致VWF与凝血因子VIII的结合能力降低属于2N型。另外, GPIIb $\alpha$ 分子的一些突变也能导致出血性疾病, 被称为血小

板型血管性血友病<sup>[22-23]</sup>。鉴于VWF和GPIIb $\alpha$ 结构和功能的重要性, 对分子之间的深入研究, 将有助于人们更深刻地认识与之相关疾病的病理及机制, 开发新型抗血栓药物, 进一步提高临床诊断和治疗水平。

现今许多科学家和实验室都争相研究VWF/GPIIb $\alpha$ 之间的相互作用或者与其他因子间的相互作用, 由此产生了大量的数据。虽然数据量庞大, 使研究更有说服力, 但是也存在诸多问题: ①数据信息分散, 难以建立完整的信息网络。②由于各种数据库建立的标准不一样, 容易产生冗余数据, 不利于快速开展严谨的研究。③涉及到GPIIb $\alpha$ 相关突变研究的二级数据库尚未建立。因此, 本文以大型蛋白质数据库Uniprot、VWFdb等数据库及国际文献报道的突变信息为数据源, 构建VWF及GPIIb $\alpha$ 相关突变的数据库(<http://204.44.97.92/>), 可供研究人员快速查询。

## 1 VWF及GPIIb $\alpha$ 数据库的构建 Construction of VWF and GPIIb $\alpha$ database

**1.1 数据采集** 本数据库收集的数据来自3个方面: 第一, 来自大型蛋白质数据库Uniprot或者VWFdb (The ISTH-SSC on vWF mutation and polymorphism database)等二级数据库; 第二, 来自文献检索解析归纳得到的突变信息; 第三, 用软件Discovery Studio进行虚拟突变的方法构建的人工突变。目前, 已收集到341条VWF数据信息, 13条GPIIb $\alpha$ 突变信息以及相关文献记录。按疾病分类, 除了有47条没有对应的疾病发现, 其他都对应了相应的疾病类型。所有的信息条目都有相应的蛋白质序列、突变位点描述、相关疾病类型以及明确的论文出处, 保证信息来源的准确性。此外, 3 920条VWF的A1结构域的虚拟突变信息也包含了突变的热稳定性和与GPIIb $\alpha$ 分子结合能等相关信息。

**1.2 数据库的构建** 建立基于Web的数据库系统, 一般是采用ASP+IIS+Access或Apache+PHP+MySQL两种方式, 后者组合更利于处理大量数据, 有更安全的存取模式, 同时均为开源软件, 使用方便, 可移植性强等, 是Web系统开发环境的最佳选择<sup>[24-25]</sup>。基于这些优点, 本系统以Windows XP为开发平台, 采用Apache作为Web服务器,

MySQL作为后台数据库管理服务器, PHP3作为程序解释器。其系统结构模型如图1。

为了保证数据库的简易性以及完整性, 减少数据的冗余, 节约存储空间, 提高查询速度, 通过PhpMyAdmin进行数据库的结构设计, 包括VWF和GPIIb $\alpha$ 的突变信息相关等实体表。VWF数据表的字段主要包括血管性血友病基本类型(I、II、III)、VWF域(D1、D2、D3等)、VWF外显子区域(1-59)、氨基酸突变相关信息、临床调查信息以及参考文献等。GPIIb $\alpha$ 数据存储主要包括氨基酸突变位点、突变描述以及参考文献等字段。

## 2 VWF和GPIIb $\alpha$ 数据库分析平台 Analysis of VWF and GPIIb $\alpha$ database

为了保证数据库内容的动态性、有效性, 系统的登录内容包括主页面, 背景介绍页面, 病例图册页面, 资料下载页面以及检索页面, 见图2。

主页面介绍VWF和GPIIb $\alpha$ 之间的相互作用, 以及该相互作用如何介导在血液中自由流动的血小板在受损的血管壁上初始黏附、稳定黏附, 最终形成血栓的过程(图3左)。此外, 也提供了与相关生物数据库(NCBI、DDBJ、EMBL等)的各个链接, 便于研究者的查询。

背景介绍页面是将图片制成地图并设置成热点, 当获取鼠标单击动作, 即可打开详细介绍页面, 当获取到鼠标双击的动作时, 就关闭该图层, 恢复原页面。该页面详细介绍了VWF和GPIIb $\alpha$ 分子对相关字段的定义, 如血管性血友病的病因, 临床特征, GPIIb $\alpha$ 多态性等。

数据库信息检索是任何通用数据库管理系统的核心功能之一, 也是衡量开发成功与否的重要条件之一。本数据库的检索页面提供条件组合检索和结合图表的动态条件检索两种方法, 方便用户进行突变位点与疾病类型关联信息的查询及可视化网络显示查询。条件组合检索的实现是在html页面部分设置表单, 点击search后传值到PHP页面。然后在PHP页面通过字符连接重新设置检索条件并最终输出结果。用户可以根据需要只选择一种条件, 也可以选择2个条件或3个条件(图3右)。图像动态条件检索则是通过点击结构域相应区域, 可直接获取检索结果, 方便用户直观地看到检索结果。

资料下载页面提供了数据库所有关于VWF和GPIIb $\alpha$ 突变条目信息的下载, 病例图册页面则展示VWF和GPIIb $\alpha$ 分子对之间涉及的信号通路, 结构解析等经典图像及其明确的出处, 这些信息均有利于研究人员对VWF和GPIIb $\alpha$ 突变信息的相关研究。

## 3 突变数据分析 Mutation data analysis

**3.1 虚拟突变及分析方法** Discovery Studio 3.5是一个面向生命科学多个领域的跨平台大型综合商业模拟软件<sup>[26-28]</sup>, 主要用于蛋白质结构功能研究和药物设计软件。

本文利用Discovery Studio 3.5对A1-GPIIb $\alpha$ 复合物的三维晶体结构(PDB code: 1SQ0)的重要结构域A1进行批量虚拟氨基酸饱和突变<sup>[29-30]</sup>, 即在短时间内将目标序列的靶位点氨基酸分别替换成其他19种氨基酸, 通过研究不同的突变体的结合能和热稳定性得到相应的理想突变体。

采用Origin 8.0和对1SQ0的Discovery Studio突变计算结果进行统计分析, 以期通过大量的突变样本发现一些普遍规律。用维恩图形象直观展示现有突变研究结果与虚拟突变研究结果的相互关系。

**3.2 突变数据分析** VWF单体位于人类第12号染色体的短臂末端, 包含52个外显子, 跨越大约180 kb。外显子第28号非常大, 其长度大约1 379 kb, 包含了几个重要的配体结合位点和裂解酶结合位点<sup>[7]</sup>。

本文按不同外显子对数据库收集的突变数据进行聚类统计分析, 研究发现, 第28号外显子是VWF最容易发生突变的区域<sup>[31-32]</sup>, 其突变数量(175条)明显远高于其他外显子(图4)。同时, 外显子第18-20、45和52号也是相对容易发生突变的区域, 现有的突变体数目均6个以上。然而, 外显子第1、2、22、31、33、34、39、40、44、46、47、48和50号突变体数目为0, 表示这些外显子在进化中比较保守。

本数据库收集的VWF突变数据基本覆盖了目前已知的血管性血友病类型, 此外还有部分未知的血管性血友病类型(Unclassified)。按不同血管性血友病类型分类统计不同外显子的突变体数目, 除2N型突变体, 血管性血友病的突变都集中在第28号外显子。这是因为外显子第28号是功能性基因相对集中的区域, 编码GPIIb $\alpha$ 结合位点和ADAMTS13酶切位点, 发生突变后可能导致VWF多聚体大小和凝血过程的异常。因此, 第28号外显子发生突变的数目多, 导致的疾病类型也多。2N型血管性血友病的突变分布在18-25号外显子区域(主要集中在18号外显子), 对应的是D'D3结构域和凝血因子VIII的结合部位, 该区域的异常影响VWF对凝血因子VIII的亲合力, 进而导致血管性血友病的发生。3型血管性血友病的突变较多, 且分布范围广, 推测该型血管性血友病在自然条件下更可能由多点突变诱发。

**3.3 虚拟突变数据分析** 本数据库提供Discovery Studio 3.5对VWF A1结构域的虚拟突变计算的3 920个饱和突变体及其突变复合物结合能力与热稳定性相关信息, 详细提供突变复合物的血管性血友病分类, 氨基酸突变, 突变类型, 突变能量, 突变效果, 范德华能量, 静电能量等相关信息, 部分虚拟突变相关信息见表1。

作者将虚拟突变的结果与现有A1结构域的突变数据进行对比分析(图5)。其中, 相一致的非冗余记录有46条, 约占43.4%, 说明该方法具有一定的可靠性, 同时也提供了大量可供参考的突变, 有助于研究人员对VWF的突变机制以及氨基酸突变与相关疾病关系的研究。



图 1 Apache+PHP+MySQL 结构模型  
Figure 1 Apache+PHP+MySQL structure model

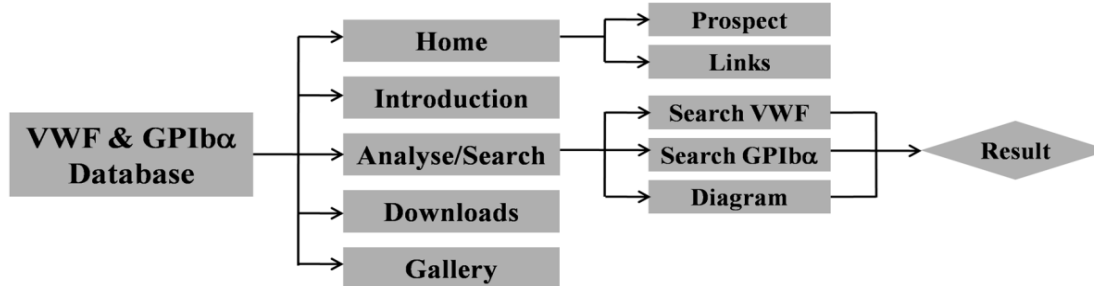


图 2 网站结构图  
Figure 2 The structure of the website

Classification	Description
Type 1	Partial quantitative deficiency of VWF. Multimers may be abnormal, but the proportion of large multimers is not significantly decreased. Typically autosomal dominant in inheritance although diagnosis is complicated by reduced penetrance and variable expressivity.
Type 2A	Qualitative VWF defect resulting in a reduction of VWF-dependent platelet adhesion. Associated with absence of the largest multimers. Generally autosomal dominant.
Type 2B	Qualitative VWF defect resulting in increased VWF-dependent platelet adhesion. Associated with (usually) reduced high molecular weight multimers. Inheritance is autosomal dominant.
Type 2M	Qualitative VWF defect associated with specific defects in platelet/VWF interaction but with a normal range of multimers. Inheritance is autosomal dominant.
Type 2N	Qualitative VWF defect resulting from defective VWF binding to FVIII and consequently low levels of circulating FVIII. Inheritance is autosomal recessive.
Type 3	Clinically severe quantitative disorder resulting from a markedly reduced or absent platelet and plasma VWF (less than 50/UL). Consequently, FVIII activity is also reduced. Inheritance is autosomal recessive.

图 3 网站主页面(左)和检索页面(右)  
Figure 3 The home page (left) and the analyse/search page (right) of the website

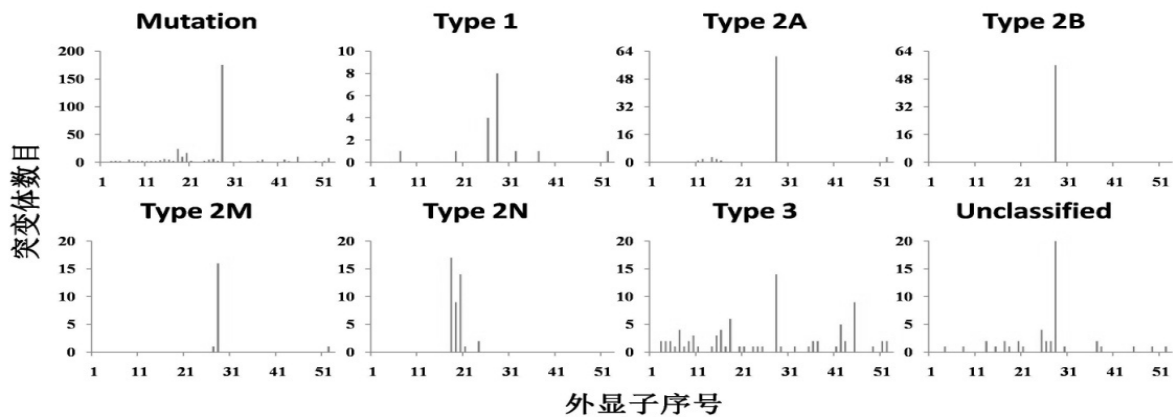


图 4 突变数据的统计分析  
Figure 4 The statistical analysis of the mutation data

表 1 虚拟突变相关信息

Table 1 The relevant information of virtual mutations

序号	VWD 类型	外显子编号	核苷酸突变	氨基酸突变	突变类型	与现有结果匹配	突变能量	突变结果	.....
1	Type 2M	28	3887T>G	L1296P	A:LEU533.PRO	yes	27.774 7	Destabilizing	
2	Type 2M	28	3905A>G	D1302G	A:ASP539.GLY	yes	0.065 66	Neutral	
3	Type 2B	28	3939G>C	W1313C	A:TRP550.CYS	yes	2.400 25	Destabilizing	
4	Type 2B	28	3940G>C	V1314L	A:VAL551.LEU	yes	2.956 12	Destabilizing	
5	Unclassified	28	3943C>T	R1315C	A:ARG552.CYS	yes	1.442 67	Destabilizing	
6	Type 3	28	3931C>T	Q1311X	-	No	-	-	

.....

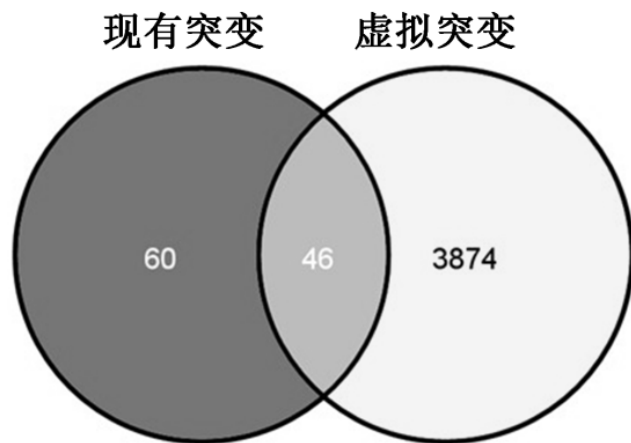


图 5 现有突变与虚拟突变的维恩图

Figure 5 The venn diagrams between existing and virtual mutations

#### 4 结论 Conclusion

基于VWF和GPIIb $\alpha$ 在血栓形成过程中的紧密联系和重要性,本研究首次构建关于VWF和GPIIb $\alpha$ 突变信息的数据库,采用的方式是Apache+PHP+MySQL,整体性能较好,安全性能更佳。其中,收录VWF突变信息有341条,GPIIb $\alpha$ 突变信息有13条,均来源于蛋白质数据库Uniprot和VWFdb等二级数据库以及文献的检索分析和整理归纳,所有的信息条目均标明明确的论文出处,保证其真实可靠性。其次,本研究对突变位点的信息进行统计分析,结果表明第18-20、28、45和52号外显子也是相对容易发生突变的区域。最后,本数据库还提供了Discovery Studio 3.5对VWF的A1结构域的虚拟突变位点相关信息,为研究人员对VWF突变体的热稳定性和与GPIIb $\alpha$ 结合能力等相关研究内容提供参考。

本数据库登录界面简明生动,采用了条件组合检索和图表动态条件检索两种检索方法,可供用户方便进行突变位点与疾病类型相关联信息的查询。同时,也注重信息的共享价值,提供了所有关于VWF和GPIIb $\alpha$ 突变条目信息的下载以及相关病理过程的简介,可供研究人员快速全面掌握相关背景,进行个性化的研究。

基于本文构建的非冗余的VWF和GPIIb $\alpha$ 数据库,可对VWF或GPIIb $\alpha$ 进行全面系统的分析,促进对血栓等相

关疾病的研究。但从需要来看,目前的工作仅仅是一部分较为基础的工作,进一步的工作首先需要细化网站的元素,如搜索方式更多样化,界面更友好生动等。其次可致力于它们突变之后相互作用的研究,例如通过虚拟点突变技术测试蛋白的热稳定性,探究哪些氨基酸与底物结合能力更强,或者对蛋白质的稳定性起到关键作用,使数据库得以完善。

**作者贡献:** 资料收集和成文为李娜,实验实施为王安琪,实验设计、评估和审校为李趣欢。

**利益冲突:** 文章及内容不涉及相关利益冲突。

**伦理要求:** 未涉及与相关伦理道德冲突的内容。

**学术术语:** 血管性血友病因子(VWF)-多体血浆糖蛋白,在生物体内主要有两大功能:介导血小板在血管损伤部位的初始黏附和血栓形成;与促凝血因子VIII形成复合体,作为载体,是机体止血与血栓形成过程中的重要参与者之一。在病理情况下,血管性血友病因子异常会导致出血紊乱,即血管性血友病。

**作者声明:** 文章为原创作品,无抄袭剽窃,无泄密及署名和专利争议,内容及数据真实,文责自负。

#### 5 参考文献 References

- [1] Junt T, Schulze H, Chen Z, et al. Dynamic visualization of thrombopoiesis within bone marrow. *Science*. 2007;317(5845):1767-1770.
- [2] Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med*. 2008;359(9):938-949.
- [3] Ruggeri ZM. Mechanisms initiating platelet thrombus formation. *Thromb Haemost*. 1997;78(1):611-616.
- [4] Varga-Szabo D, Pleines I, Nieswandt B. Cell adhesion mechanisms in platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(3):403-412.
- [5] McEver RP, Zhu C. Rolling cell adhesion. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2010;26:363-396.
- [6] Ruggeri ZM. Structure of von Willebrand factor and its function in platelet adhesion and thrombus formation. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2001;14(2):257-279.
- [7] Sadler JE. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu Rev Biochem*. 1998;67:395-424.
- [8] Huizinga EG, Tsuji S, Romijn RA, et al. Structures of glycoprotein Iba $\alpha$  and its complex with von Willebrand factor A1 domain. *Science*. 2002;297(5584):1176-1179.

- [9] Berndt MC, Shen Y, Doppeide SM, et al. The vascular biology of the glycoprotein Ib-IX-V complex. *Thromb Haemost.* 2001; 86(1):178-188.
- [10] Andrews RK, Gardiner EE, Shen Y, et al. Glycoprotein Ib-IX-V. *Int J Biochem Cell Biol.* 2003;35(8):1170-1174.
- [11] Nuytens BP, Thijs T, Deckmyn H, et al. Platelet adhesion to collagen. *Thromb Res.* 2011;127 Suppl 2:S26-29.
- [12] de Groot PG, Urbanus RT, Roest M. Platelet interaction with the vessel wall. *Handb Exp Pharmacol.* 2012;(210):87-110.
- [13] 赵莲, 苏丽, 王字玲. 血小板糖蛋白 I $\alpha$ 上血管性血友病因子结合域的研究进展[J]. *国外医学(药学分册)*, 2004,31(5): 284-287.
- [14] Spiel AO, Gilbert JC, Jilma B. von Willebrand factor in cardiovascular disease: focus on acute coronary syndromes. *Circulation.* 2008;117(11):1449-1459.
- [15] Zhou Z, Dong JF. Thrombotic thrombocytopenic purpura and anti-thrombotic therapy targeted to von Willebrand factor. *Curr Vasc Pharmacol.* 2012;10(6):762-766.
- [16] Zimmerman TS, Ruggeri ZM. von Willebrand disease. *Hum Pathol.* 1987;18(2):140-152.
- [17] Sadler JE. New concepts in von Willebrand disease. *Annu Rev Med.* 2005;56:173-191.
- [18] Lillicrap D. Von Willebrand disease - phenotype versus genotype: deficiency versus disease. *Thromb Res.* 2007;120 Suppl 1:S11-16.
- [19] Sadler JE, Budde U, Eikenboom JC, et al. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. *J Thromb Haemost.* 2006;4(10):2103-2114.
- [20] Federici AB. Classification of inherited von Willebrand disease and implications in clinical practice. *Thromb Res.* 2009;124 Suppl 1:S2-6.
- [21] Facey DA, Favalaro EJ, Koutts J, et al. Identification and characterization of a novel mutation in von Willebrand factor causing type 2B von Willebrand's disease. *Br J Haematol.* 1999;105(2):538-541.
- [22] Miller JL, Castella A. Platelet-type von Willebrand's disease: characterization of a new bleeding disorder. *Blood.* 1982;60(3): 790-794.
- [23] Russell SD, Roth GJ. Pseudo-von Willebrand disease: a mutation in the platelet glycoprotein Ib alpha gene associated with a hyperactive surface receptor. *Blood.* 1993;81(7): 1787-1791.
- [24] 夏大文. Web系统开发模型及其环境的分析与应用[J]. *现代计算机*: 上半月版, 2011(7):77-80.
- [25] 廖海燕. Access数据库与SQL Server数据库的区别及应用[J]. *计算机光盘软件与应用*, 2010(5):146-147.
- [26] Hirashima A, Huang H. Homology modeling, agonist binding site identification, and docking in octopamine receptor of *Periplaneta americana*. *Comput Biol Chem.* 2008;32(3): 185-190.
- [27] McCullagh M, Prytkova T, Tonzani S, et al. Modeling self-assembly processes driven by nonbonded interactions in soft materials. *J Phys Chem B.* 2008;112(34): 10388-10398.
- [28] 杨雁芳, 王磊, 闫世军, 等. Discovery Studio软件在分析中药成分透过血脑屏障中的应用[J]. *中国药理学通报*, 2011,27(5): 739-740.
- [29] Huizinga EG, Tsuji S, Romijn RA, et al. Structures of glycoprotein Ib $\alpha$  and its complex with von Willebrand factor A1 domain. *Science.* 2002;297(5584):1176-1179.
- [30] Romijn RAP. Structural studies on the von Willebrand factor A1 and A3 domains. *Geneeskunde Proefschriften.* 2003.
- [31] Flood VH, Gill JC, Morateck PA, et al. Common VWF exon 28 polymorphisms in African Americans affecting the VWF activity assay by ristocetin cofactor. *Blood.* 2010;116(2): 280-286.
- [32] Casaña P, Martínez F, Espinós C, et al. Search for mutations in a segment of the exon 28 of the human von Willebrand factor gene: new mutations, R1315C and R1341W, associated with type 2M and 2B variants. *Am J Hematol.* 1998;59(1):57-63.