◆特集 先天性血小板機能異常症◆

コラーゲン受容体異常症：GPVI欠損症

諸井 将明

Abnormalities in platelet collagen receptors: GPVI deficiency

Takaaki MOROI

Key words: Platelet, Glycoprotein VI, GPVI, collagen, GPVI deficiency

諸井将明

久留米大学分子生命科学研究所高分子化学研究部門教授
1974年：東京大学理学系大学院博士課程修了
同年：自治医科大学血液医学研究部門助手
1977年：自治医科大学学生化学第2講座講師
1977年-1979年：米国赤十字血液研究所へ留学
1986年：同 助教授
1989年より現職

血小板はコラーゲンと強く反応し凝集反応を引き起こすことから、血小板膜表面にはコラーゲンと特異的に反応するいわゆるコラーゲンレセプターが存在すると考えられ、古くからこのコラーゲンレセプターの同定が試みられている。Jamieson による Collagen: glycosyl transferase をはじめとして、Fibronectin, GP IIb/IIIa, GP IV (CD36), Factor XIII, vWF propolypeptide などがコラーゲンのレセプターではないかと提案されているが、コラーゲンは不溶性の蛋白であり、多くの蛋白と反応することから、コラーゲンと特異的に結合したというだけではコラーゲンレセプターと断定することは出来ない。

こういった中で、GP Ia/IIa (インテグリン $\alpha 2\beta 1$) の欠損患者血小板ではコラーゲンとの反応性のみが欠損していることが見出されることが示された¹⁾。 $\alpha 2\beta 1$ は他の細胞においてもコラーゲンレセプターとして機能している。一方コラーゲンと結合する分子量6万ぐらいの蛋白質が血小板に見出されていた²⁾³⁾。Chang と Kang の蛋白²⁾ は後に Type I Collagen Receptor としてクローニングされたが、追試がなされておらず、血小板での存在も確かではない。

Kotite の見出した蛋白³⁾ は GPVI の可能性があるがその後の研究は行われていない。また最近ではタイプ III コラーゲンに特異的とするコラーゲンレセプターも報告されている⁴⁾。これらの蛋白はコラーゲンと結合する血小板蛋白として見出されたが、生理的条件化でコラーゲンレセプターとして働いているとする確たる証拠が欠けており、コラーゲンレセプターとして働いているとしてもマイナーな作用しかしていないと考えられる。こういった状況で、もうひとつのコラーゲンレセプターである GPVI の同定も患者血小板の研究からもたらされた。

1. GPVI 欠損症の発見

我々は1983年頃より血小板のコラーゲン凝集のみ欠損する患者を見出していた(図1)。当時まったく報告されていなかった患者であることから、何か膜糖タンパクに異常がないかと、その当時の技術を用いて患者血小板の膜糖タンパクを分析したが、GPIIb や GPIIb/IIIa などの主要な糖蛋白の異常は見つからなかった。分析方法がないことからそのままになっていたが、1985年のNieuwenhuisらの論文¹⁾により GPIa

図1 GPVI欠損患者の血小板凝集

患者 (P) および正常人 (C) の PRP に $5\mu\text{l}/\text{ml}$ のコラーゲン, $10\mu\text{M}$ ADP, $1.5\text{ mg}/\text{ml}$ のリストセチンを加えて血小板凝集 (上図) および ATP 放出 (下図) を測定した. 文献 6) より.

図2 GTP欠損患者血小板の膜糖蛋白分析

正常人および患者血小板を I^{125} ラベルし, 非還元還元2次元 SDS ゲル電気泳動にて分析した. I^{125} ラベルされた各膜糖蛋白がスポットとして同定されている. 正常血小板で見られてスポット (星印) が患者血小板で大きく低下している. 文献 6) より.

がコラーゲン受容体であることが示された. この欠損患者も我々の患者同様コラーゲン凝集のみ特異的に欠損していることから, 我々の患者も GPIa の欠損患者ではないかと考え, この患者血小板の糖タンパクの分析をもう一度行っ

た. 血小板の膜糖蛋白を I^{125} でラベルし非還元還元2次元 SDS 電気泳動で分析したが, 予想に反して GPIa も GPIIa も正常であった. よく注意して電気泳動のパターンを見てみると, 分子量6万ぐらいのスポットが患者血小板で大

表 1 GPVI 欠損患者

		出血時間 (分) (正常範囲)	他の疾患		文献
遺伝的欠損					
1. 1989	Moroi et al.	8.5 (2-6)	No	両親はヘテロ	6
2. 1992	Ryo et al.	13 (<5)	No		7
3. 1995	Arai et al.	5 (3)	No	正常の 10-15%	8
自己抗体による欠損					
4. 1987	Sugiyama et al.	10 (<3)	ITP	FcR γ (-)	5
5. 2001	Takahashi et al.	9 (<5)	SLE		9
原因がはっきりしないもの					
6. 2004	Nurden et al.	-	GPS	抗血小板抗体 (-) R α (-)	10
7. 2004	Boylan et al.	>15 (1-7.5)	ITP	抗血小板抗体 (+) FcR γ (-)	11
8. 2004	Kojima et al.	-	ITP	抗血小板抗体 (-) FcR γ (+)	未発表

※ 3 および 6-7 では患者 GPVI コーディング部分の遺伝情報は正常であった。

大きく低下していることを見出した (図 2 参照)。このスポットは我々の泳動条件では最初の泳動で先端付近にまで泳動されることおよびバックグラウンドのラベルがあることなどより最初の実験では気づかれなかったものと思われる。また I²⁵ によるラベルでは GPVI はなかなか強くラベルされず、ここに示したようなはっきりした結果が得られたのは運がよかったとも言える。血小板膜糖蛋白の異常がはっきりと示されたことから、他の方法でも調べてみると、H³ ラベルでも患者血小板で分子量約 6 万のバンドが大きく低下していることが示され、患者血小板でこの分子量約 6 万の膜蛋白が欠損していることが確認された。この糖蛋白スポットは初期の膜蛋白の分析において GPVI として同定された蛋白と泳動位置が一致することから、患者血小板で欠損している蛋白を GPVI と命名した。患者血小板では GPVI が欠損しており、そのためコラーゲンとの反応が欠損していると考えられた。

一方 1987 年に Sugiyama らにより ITP 患者で血小板のコラーゲン凝集が特異的に欠損している例が報告された⁵⁾。この患者では血小板抗体が存在しており、この抗体は血小板の分子量約 6 万の蛋白 (P62) と反応し、患者血小板で

は P62 は存在していないことが報告されている。P62 と GPVI の性質が似ているためこの患者血清を京都大学より分けていただき我々の患者血小板の Immunoblotting 分析を行ったところ、我々の患者では P62 が欠損していることが明らかとなった。GPVI と P62 が同一の蛋白であることが示されたことになる。さらにこの血清を用いて患者両親の血小板の分析を行ったところ、両親の血小板では正常の約半分の GPVI が存在していることが示された。このことにより患者 GPVI は遺伝的に欠損しており、両親ではヘテロの異常であることが示された。50% の GPVI を持つ両親は出血性傾向を示さず、血小板のコラーゲン凝集はまったく正常であった。なお、遺伝的な GPVI 欠損がはっきりと示されているのは現在のところこの患者の例のみである。このような結果をまとめて 1989 年に論文として報告することができた⁶⁾。この報告の後いずれも日本から GPVI 欠損症として 2 例^{7,8)}、抗 GPVI 抗体を持つ患者として 1 例⁹⁾ が報告されている。また最近遺伝的な欠損症か自己抗体による欠損症か判断の難しい例が報告されている^{10,11)}。これらの患者例を表 1 にまとめて示す。

図3 血小板のコラーゲンへの粘着反応

正常人および GPVI 欠損患者の洗浄血小板を Cr^{51} でラベルし、コラーゲンをコートしたマイクロタイターウェルへの血小板の粘着反応を測定した。また $10\mu\text{g}/\text{ml}$ の抗 GPIIb/IIIa 抗体 Gi9 を加えてコラーゲンへの粘着反応に対する作用を測定した。患者は自己免疫抗体により GPVI 欠損となった患者である。文献9) より。

2. GPVI 欠損患者血小板の性質

抗 GPVI 抗体を有する患者血小板も血小板上の GPVI を欠損しており、欠損患者血小板とまったく同様な性質を示す。これらの血小板に特徴的な性質としては、コラーゲンとの反応が欠損していることが挙げられる。血小板凝集においては図1に示すようにコラーゲン凝集のみが大きく低下し、他の ADP、リストセチン、トロンビンなどによる凝集反応は正常である。これは GPVI 欠損を判断するための重要な指標となる性質である。コラーゲン凝集は放出反応の結果放出された ADP に強く依存しており、放出異常症においてもコラーゲン凝集が強く低下していることが観察される。GPVI 欠損患者血小板の場合、コラーゲン凝集がほぼ完全に欠損しており、また他の刺激剤による凝集がほぼ正常であることが特徴となる。次に患者血小板で GPVI が欠損していることを Immunoblotting

あるいは Flow Cytometer で確認できれば GPVI 欠損であることが証明できたことになる。最近では抗 GPVI 抗体が利用可能であり、また GPVI と特異的に結合する Convulxin (Cvx) をビオチン化したものを用いることによりこれらの分析を行うことができる。さらに、後で述べるように遺伝的な GPVI 欠損であるかどうかを確かめるために近親者の血小板 GPVI の分析も可能な限り行うことが望まれる。

GPVI 欠損患者のコラーゲン凝集反応はよく見てみると完全には欠損しておらず、特にコラーゲンを高濃度用いるとわずかな直線的に上昇する凝集反応がはっきりと認められるようになる。これは患者血小板に存在するインテグリン $\alpha 2\beta 1$ が一部活性化しコラーゲンと結合するようになったためと思われ、抗インテグリン $\alpha 2\beta 1$ 抗体を加えるとこの弱い凝集反応は完全に抑制される。インテグリン $\alpha 2\beta 1$ とコラーゲンの反応だけではコラーゲン繊維と結合するも

図4 血管内皮下組織への血小板の粘着凝集反応

正常人 (A) および GPVI 欠損患者 (B) 血液をウサギの反転静脈上に流し、流血下における内皮下組織への血小板の粘着凝集反応を測定した。5 分間還流した後に固定染色した像である。正常人で形成される大きな血小板凝集塊が GPVI 欠損患者では見られず、小さな凝集塊の粘着が見られるだけである。文献 23) より。

の、血小板を活性化し凝集塊の形成に至ることができないため直線的な凝集曲線が得られるものと考えられる。このことも GPVI がコラーゲンによる血小板の活性化に関与し、 $\alpha 2\beta 1$ がコラーゲンとの結合粘着反応に関与していることを裏付けている。一方静的条件下でのコラーゲンへの血小板の粘着反応は GPVI を介した活性化により $\alpha 2\beta 1$ が活性化されてはじめて強い結合粘着反応が引き起こされることが考えられるため、GPVI 欠損血小板でも大きく低下している⁹⁾ (図 3)。抗 $\alpha 2\beta 1$ 抗体の添加によっても同程度血小板の粘着反応は阻害されており、さらに GPVI 欠損患者血小板に抗 $\alpha 2\beta 1$ 抗体を加えるとほぼ完全に血小板のコラーゲンへの粘着反応が阻害される。これらの事実はこの二つのコラーゲンレセプターが血小板のコラーゲンへの粘着反応に関与していることを示している。

これら GPVI 欠損血小板の生理的条件下に近いと考えられる流血下でのコラーゲン表面への粘着凝集反応も検討されている。これら欠損患者血液、あるいは GPVI 欠損マウス血液を用

いて流血下での血小板のコラーゲンへの粘着反応が強く低下しているという報告もあるが^{12) 13)}、我々あるいは他の研究者の結果では GPVI 欠損患者では血小板の粘着反応は起こるものの、それに続く血小板凝集塊の形成が起こらないことを示している^{14) 15)}。欠損患者血小板でも $\alpha 2\beta 1$ を介した非常に弱いコラーゲン凝集が引き起こされることがからも、流血下でのコラーゲン表面への血小板の粘着反応は GPVI 欠損血小板でも引き起こされているのではないかと考えられる。図 4 はウサギの血管内皮下組織への流血下での血小板の粘着凝集反応を測定したものであるが、正常血小板は内皮下表面に大きな凝集塊を形成して粘着しているのに反し、下図の GPVI 欠損血小板は小さな凝集塊あるいは血小板単独で粘着している像が観察されているだけである。GPVI 欠損血小板は内皮下組織への粘着反応は引き起こされるがそれに続く凝集塊の形成が大きく低下していることを示している。また最近の論文でも¹⁶⁾ 流血下での血小板のコラーゲンへの粘着凝集反応において、抗

$\alpha 2\beta 1$ 抗体あるいは抗 GPVI 抗体単独の阻害作用は完全ではないがこの両者を同時に加えるとほぼ完全に血小板の粘着反応が阻害されることが示されている。血小板のコラーゲンへの粘着凝集反応には $\alpha 2\beta 1$ と GPVI の二つのコラーゲンレセプターが必要であることを示唆している。このようなことから、GPVI 欠損血小板でも $\alpha 2\beta 1$ を介してコラーゲンとの粘着反応は引き起こされるが、GPVI 欠損血小板では GPVI とコラーゲンの反応に起因する血小板の強い活性化が起こらず、粘着した血小板を核にした凝集塊の形成が引き起こされないと考えることができる。

GPVI の欠損患者では、遺伝性および自己抗体による欠損症において、弱い出血性傾向を示すことが報告されている。出血時間を比較しても一例を除いてすべてわずかな延長を示すだけである。上に述べたように GPVI 欠損血小板でもコラーゲン表面に粘着する活性は残しており、また ADP やトロンビンを介した活性化反応は正常であることから GPVI 欠損だけでは強い出血傾向は示さないと考えることができる。GPVI 欠損マウスを用いた実験でも出血時間はわずかに延長するか正常と変わらないと報告されている。GPVI 欠損患者は通常はほぼ何のトラブルもなく生活していることから、GPVI 欠損だけでは出血を引き起こすまでにはいならず、血小板低下などほかのストレスが加わったときに出血傾向を示すようになると考えられる。事実弱い血小板低下に伴って出血傾向を示した GPVI 欠損を伴う ITP 患者の例が存在する。

3. 自己抗体による GPVI 欠損

初期に ITP⁵⁾ あるいは SLE⁹⁾ の患者で GPVI に対する自己抗体を有し、血小板での GPVI の欠損している患者が見出されていた。なぜ患者血小板の GPVI が欠損しているのかその機構に関しては疑問の残るところであったが、マウス

に抗マウス GPVI 抗体を投与すると血小板の GPVI が消失することが見出され¹⁷⁾、上記患者でも同様のことが起こっていたと考えられた。患者血漿中の抗 GPVI 抗体は GPVI に結合することにより正常血小板を強く活性化することが知られており自己抗体は血小板凝集活性を通して GPVI を消失させるのではないかと、あるいは血小板産生過程で抗体の存在により GPVI の発現が抑制されたのではないかなどと考えられていたが、マウスの実験では凝集活性のない抗 GPVI 抗体でも、Fab 断片でも血小板の GPVI を消失させることが見出された¹⁸⁾。また GPVI の消失は抗体投与後 6 時間という早い時期に観察されることから、新たに GPVI 欠損血小板が生成されたのではなく、既存の血小板から GPVI が消失したものと考えられる。このような事実から血小板の GPVI を消失させる何か特殊なメカニズムの存在が予想されたが、最近 GPVI が血小板の活性化に伴って分解することが見出された^{19) 20)}。このような血小板膜糖蛋白が血小板の活性化に伴って分解される現象は GPIIb や GPV あるいは P セレクチンに関して知られており、血小板の活性化に伴って血小板膜上のプロテアーゼが活性化するためと考えられている。GPVI の分解は GPVI の活性化剤である Cvx などが最も効果的であることから、抗 GPVI 抗体が GPVI に結合することにより膜上のプロテアーゼにより GPVI が分解され、GPVI の細胞外部分が細胞外液中に遊離されることにより見かけ上血小板の GPVI が消失したものと推測される。しかし、現在まだこの仮説を裏づける実験事実は報告されておらず、抗体による GPVI の欠損がこのようなプロテアーゼを介した機構によるものかどうかまだ確定していないのが現在の状況である。近い将来明らかになるものと思われる。

上記 2 例の自己抗体に伴う GPVI 欠損患者では抗 GPVI 抗体が患者血漿中に確認されており、また ITP や SLE などの疾患を伴っていることから自己抗体により GPVI 欠損になったと

考えるのも十分妥当であると考えられる。しかしながら最近自己抗体を持たなく、また遺伝的な欠損とも考えられないような例が報告されるようになった。Gray Platelet Syndrome²¹⁾あるいはITP²²⁾を伴う患者でGPVI欠損血小板が確認されている。我々も同様なITP患者を見出している。これらの患者では抗GPVI抗体を検出できず、また患者血小板中に十分量の正常GPVI mRNAが存在している。文献22の患者の場合は抗血小板抗体を検出しているが、他の2例では抗血小板抗体も検出されていない。また残念ながら遺伝的な解析も行われていない。これらはどう解釈すべきなのであろうか。Gray Platelet Syndromeの場合は他の患者でも患者によりコラーゲン凝集が特に強く低下している場合があるということで、GPVIの欠損がこの疾患と何らかの関連を持っている可能性がある。ITP患者の場合は自己抗体によるGPVI欠損の可能性が高いと考えられ、1) 検出感度以下の抗GPVI抗体が存在しており、この抗体によりGPVI欠損が引き起こされている、2) 過去のある時期に抗GPVI抗体によりGPVI欠損が引き起こされ、抗体の消失した後もGPVI欠損が続いている、3) 自己免疫疾患に共通した抗体あるいはそれ以外の因子の作用により血小板のプロテアーゼが活性化された状態にありGPVI欠損となっている、などの原因が考えられる。また遺伝子異常としてGPVI遺伝子のコーディング部分には変異はないものの、ノンコーディング部分の変異により発現が抑えられている可能性も残っている。このようにGPVI欠損に多くの異なった表現型が見出されてきた現在、より多くの患者を見出しこれら患者の詳しい分析を行いGPVI欠損の原因をひとつずつ突き止めていくことが重要であると考えている。

4. おわりに

GPVI欠損患者が見出された初期には、遺伝的疾患と抗GPVI抗体による疾患とははっきり

原因が区別された患者と考えられていたが、最近の報告によりこれらの区別がはっきりしなくなってきた。抗GPVI抗体により血小板GPVIが消失する機構は現在でも不明であるが、最近の研究により血小板膜プロテアーゼが関与する可能性が示唆されている。このプロテアーゼの同定と抗体によるGPVI消失への関与の解明が待たれる。GPVI欠損患者の出血性傾向は弱く、正常人にも多くのGPVI欠損患者が存在していると考えられる。これまで見出された患者は全てある一時期に出血性傾向を示し、その後の検査によりGPVI欠損が見出された例である。現在コラーゲンなどによる血小板凝集検査は多くの病院で実施されなくなっており、これらGPVI欠損患者の同定にはGPVI欠損の簡単な検査法の確立が重要である。抗GPVI抗体を用いたフローサイトメーターによる検出キットが有効と考えられるが現在市販されていない。簡便な検査法によりより多くのGPVI欠損患者が見出されることによりこのように複雑な原因因子が明らかにされることを期待している。

文 献

- 1) Nieuwenhuis HK, Akkerman JWN, Houdijk WPM, Sixma JJ: Human blood platelets showing no response to collagen fail to express surface glycoprotein Ia. *Nature* **318** : 470-472, 1985.
- 2) Chiang TM, Kang AH: Isolation and purification of collagen $\alpha_1(I)$ receptor from human platelet membrane. *J Biol Chem* **257** : 7581-7586, 1982.
- 3) Kotite NJ, Cunningham LW: Specific adsorption of a platelet membrane glycoprotein by human insoluble collagen. *J Biol Chem* **261** : 8342-8347, 1986.
- 4) Monnet E, Fauvel-Lafeve F: A new platelet receptor specific to type III collagen. Type III collagen-binding protein. *J Biol Chem* **275** : 10912-10917, 2000.
- 5) Sugiyama T, Okuma M, Ushikubi F, Sensaki S, Kanaji K, Uchino H: A novel platelet aggregating factor found in a patient with defective collagen-induced platelet aggregation and autoimmune thrombocytopenia. *Blood* **69** : 1714-1720, 1987.
- 6) Moroi M, Jung SM, Okuma M, Shinmyozu K: A patient with platelets deficient in glycoprotein VI that lack both collagen-induced aggregation and adhesion. *J Clin Invest* **84** : 1440-1445, 1989.
- 7) Ryo R, Yoshida A, Sugano W, Yasunaga M, Nakayama K, Saigo K, Adachi M, Yamaguchi N, Okuma M: Deficiency of P62, a putative collagen receptor, in platelets from a patient with defective collagen-induced platelet aggregation. *Am J Hematol* **39** : 25-31, 1992.

- 8) Arai M, Yamamoto N, Moroi M, Akamatsu N, Fukutake K, Tanoue K: Platelets with 10 % of the normal amount of glycoprotein VI have an impaired response to collagen that results in a mild bleeding tendency. *Br J Haematol* **89** : 124-130, 1995.
- 9) Takahashi H, Moroi M: Antibody against platelet membrane glycoprotein VI in a patient with systemic lupus erythematosus. *Am J Hematol* **67** : 262-267, 2001.
- 10) Nurden P, Jandrot-Perrus M, Combrie R, Winckler J, Arocas V, Lecut C, Pasquet J-M, Kunicki TJ, Nurden AT: Severe deficiency of glycoprotein VI in a patient with gray platelet syndrome. *Blood* **104** : 107-114, 2004.
- 11) Boylan B, Chen H, Rathore V, Paddock C, Salacz M, Friedman KD, Curtis BR, Stapleton M, Newman DK, Kahn ML, Newman PJ: Anti-GPVI-associated ITP: an acquired platelet disorder caused by autoantibody-mediated clearance of the GPVI/FcR γ -chain complex from the human platelet surface. *Blood* **104** : 1350-1355, 2004.
- 12) Goto S, Tamura N, Handa S, Arai M, Kodama K, Takayama H: Involvement of glycoprotein VI in platelet thrombus formation on both collagen and von Willebrand factor surfaces under flow conditions. *Circulation* **106** : 266-272, 2002.
- 13) Nieswandt B, Brakebusch C, Bergmeier W, Schulte V, Bouvard D, Mokhtari-Nejad R, Lindhout T, Heemskerk JWM, Zirngibl H, Fassler R: Glycoprotein VI but not $\alpha 2\beta 1$ integrin is essential for platelet interaction with collagen. *EMBO J* **20** : 2120-2130, 2001.
- 14) Moroi M, Jung SM, Shinmyozu K, Tomiyama Y, Ordinas A, Diaz-Ricart M: Analysis of platelet adhesion to a collagen-coated surface under flow conditions: The involvement of glycoprotein VI in the platelet adhesion. *Blood* **88** : 2081-2092, 1996.
- 15) Kato K, Kanaji T, Russell S, Kunicki TJ, Furihata K, Kanaji S, Marchese P, Reininger A, Rugger ZM, Ware J: The contribution of glycoprotein VI to stable platelet adhesion and thrombus formation illustrated by targeted gene deletion. *Blood* **102** : 1701-1707, 2003.
- 16) Siljander PRM, Munniz ICA, Smethurst PA, Deckmyn H, Lindhout T, Ouwehand WH, Farndale RW, Heemskerk JWM: Platelet receptor interplay regulates collagen-induced thrombus formation in flowing human blood. *Blood* **103** : 1333-1341, 2004.
- 17) Nieswandt B, Schulte V, Bergmeier W, Mokhtari-Nejad R, Rackebandt K, Cazenave J-P, Ohlmann P, Gachet C, Zirngibl H: Long-term antithrombotic protection by in vivo depletion of platelet glycoprotein VI in mice. *J Exp Med* **193** : 459-469, 2001.
- 18) Schulte V, Rabie T, Prostredna M, Aktas B, Gruner S, Nieswandt B: Targeting of the collagen-binding site on glycoprotein VI is not essential for in vivo depletion of the receptor. *Blood* **101** : 3948-3952, 2003.
- 19) Gardiner EE, Arthur JF, Kahn ML, Berndt MC, Andrews RK: Regulation of platelet membrane levels of glycoprotein VI by a platelet-derived metalloproteinase. *Blood* **104** : 3611-3617, 2004.
- 20) Stephens G, Yan Y, Jandrot-Perrus M, Villeval J-L, Clemetson KJ, Phillips DR: Platelet activation induces metalloproteinase-dependent GPVI cleavage to down-regulate platelet reactivity to collagen. *Blood* **105** : 186-191, 2005.
- 21) Nurden P, Jandrot-Perrus M, Combrie R, Winckler J, Arocas V, Lecut C, Pasquet J-M, Kunicki TJ, Nurden AT: Severe deficiency of glycoprotein VI in a patient with gray platelet syndrome. *Blood* **104** : 107-114, 2004.
- 22) Boylan B, Chen H, Rathore V, Paddock C, Salacz M, Friedman KD, Curtis BR, Stapleton M, Newman DK, Kahn ML, Newman PJ: Anti-GPVI-associated ITP: an acquired platelet disorder caused by autoantibody-mediated clearance of the GPVI/FcR γ -chain complex from the human platelet surface. *Blood* **104** : 1350-1355, 2004.
- 23) Moroi M, Jung SM: Platelet glycoprotein VI: its structure and function. *Thromb Res* **114** : 221-233, 2004.