



血流剪切力对ADAMTS13和VWF相互作用的影响

白一辰, 米立志*

天津大学生命科学学院, 天津 300072

* 联系人, E-mail: lizhi.mi@tju.edu.cn

2022-05-02 收稿, 2022-06-07 修回, 2022-06-08 接受, 2022-06-09 网络版发表

摘要 ADAMTS13是分泌在血液中的一种重要的金属蛋白酶, 可特异性水解血管性血友病因子(von Willebrand factor, VWF), 抑制VWF介导的血小板血栓形成. 血流剪切力(flow shear stress, FSS)是血液流动时, 因内部流层之间的流速差异所产生的成对切向内摩擦力. 它被证明是一种调控ADAMTS13与VWF相互作用及ADAMTS13水解酶活性的重要因素. 对于ADAMTS13和VWF的结构、功能及其活性调节机制的研究一直是血栓性疾病研究领域的热点之一, 但目前仍有诸多问题未被完全阐明. 本文系统回顾了VWF和ADAMTS13蛋白的结构与功能研究, 重点关注VWF、ADAMTS13蛋白在静态和剪切力条件下各结构域之间的相互作用、构象变化和变构激活的机理, 从结构生物学角度进一步分析了VWF和ADAMTS13相互作用及其活性调节的分子机制, 期望对血栓型疾病的药物开发与治疗提供新的思路.

关键词 血管性血友病因子, ADAMTS13, 血流剪切力, 血栓型疾病

ADAMTS13和血管性血友病因子(von Willebrand factor, VWF)是血管损伤后导致血小板黏附的决定性因子. 二者的功能性失调与血栓性血小板减少性紫癜(thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP)和血管性血友病(冯维勒布兰德氏病, von Willebrands disease, VWD)密切相关. VWF多聚体分子就如一个可拉伸的“卷尺”, 可以度量血流剪切力的变化. 而ADAMTS13则如一把“剪刀”, 可以裁剪这个“尺子”的大小. 在血管损伤和血栓形成过程中, 血流剪切力发生变化, 导致VWF伸展、变性, 从而诱导血小板的黏附与凝集. 尽管对它们的病理、生理功能已有大量研究, 但关于这两种蛋白质是如何相互作用, 以及在止血过程中ADAMTS13的活性又是如何调节等关键问题仍不清楚.

血流剪切力对ADAMTS-13与VWF相互作用的调控受到相关领域研究者的广泛关注, 为血液学与生物

力学研究中的热点问题. 本文旨在对这一过程中的关键生物学问题、ADAMTS13和VWF的结构, 以及二者在剪切力作用下的相互作用进行阐述.

1 VWF基因和蛋白的结构与功能

VWF因子是Willebrand^[1]于1926年发现的一种多聚体糖蛋白, 可结合并稳定凝血因子VIII, 并通过与血管壁成分和血小板膜糖蛋白Ib(GPIb)结合来介导血小板黏附. 最大的VWF多聚体具有最强的止血活性, 这不仅是因为它们含有更多的配体结合位点, 还因为它们对血管剪切力的变化具有更显著的响应. 作为止血的关键分子, 其主要包含两部分功能: 作为凝血因子VIII的载体以及作为损伤的血管壁与血小板之间黏附的桥梁^[2]. VWF多聚体的数量及其长度分布发生变化可导致血管性血友病(VWD), 这是最常见的遗传性人类出血性疾病^[3].

引用格式: 白一辰, 米立志. 血流剪切力对ADAMTS13和VWF相互作用的影响. 科学通报, 2022, 67: 3520–3530

Bai Y C, Mi L Z. The effects of shear stress on the interaction between ADAMTS13 and VWF (in Chinese). Chin Sci Bull, 2022, 67: 3520–3530, doi: 10.1360/TB-2022-0214

1.1 VWF的合成与分泌

VWF基因位于12号染色体上。主要基因产物是分子量约为250 kD的蛋白质^[4]。VWF在内皮细胞和巨核细胞中合成,两种细胞具有相似的VWF生物合成途径^[5]。内皮细胞Weibel-Palade小体是储存和加工VWF蛋白的细胞器^[6]。VWF合成后被分泌至血液中,通过与胶原蛋白结合使血小板附着在受损的血管壁上,进而作为凝血因子Ⅷ的载体发挥止血功能^[7]。已有多项研究表明,VWF的释放受到多种途径的调控^[8],包括Weibel-Palade小体组成性和调节性胞吐作用以及自噬体等3种机制。VWF胞吐作用会受到多种条件的影响和调控,例如剪切应力、炎症与缺氧、血管破裂,以及膜受体的激活^[9]。

1.2 VWF主要结构域的结构和功能

VWF单体由信号肽(signal peptide, SP)、前导肽(propeptide)(D1~D2)和成熟VWF单体(D'~CK)结构域组成。成熟VWF单体包括结合凝血因子Ⅷ的D'~D3区、结合血小板糖蛋白GPIb α 的A1结构域、结合ADAMT13的A2结构域、与胶原结合的A3结构域和结合血小板整合素GPIIb/IIIa的C4结构域^[10]。

基于蛋白质结构的生物信息学分析,可将VWF结构域分为:D1-D2-D'-D3-A1-A2-A3-D4-C1-C2-C3-C4-C5-C6-CK(图1)。D域由各种不同的结构组成:D1、D2和D3域各包含一个VWD域、一个C8折叠、一个胰蛋白酶抑制剂样(trypsin Inhibitor-Like domain, TIL)结构域和一个E模块。D'结构域不包含VWD结构域和C8折叠。而D4结构域缺少E模块,但包含1个独特的D4N子结构域。在VWF的C端包含6个连续的C结构域和1个半胱氨酸结结构域CK^[11]。

如前所述,A结构域对VWF发挥部分功能起着关键作用。其中A2结构域含有ADAMTS13的识别和水解

位点,可以通过其水解调节血流中VWF多聚体的大小。A1和A3结构域的N与C末端之间的二硫键可以将这两个结构域各自固定在相对刚性的结构中。但是A2结构域没有这对保守的二硫键。因此,在血液快速流动时的高剪切力作用下,它会伸展,使其上的ADAMTS13识别位点暴露,并被ADAMTS13水解(图2)。A3结构域与位于血管内皮下细胞外基质的胶原蛋白 I 和 III 通过静电相互作用结合^[12,13]。C1结构域包含RGD(Arg-Gly-Asp)序列,是整合素GPIIb/IIIa的识别位点^[14]。

1.3 VWF的组装

1964年,Weibel和Palade^[15]在血管内皮细胞和心内膜细胞中发现了一种棒状细胞器,并将之命名为Weibel-Palade Body (WPB)。Wagner等人^[6]在1982年应用透射电子显微镜发现,WPB呈现一种与长轴平行的规则管状结构,是VWF分子的多聚体组装形式。

在内质网中,VWF单体可通过C末端半胱氨酸结节结构域CK上的半胱氨酸形成分子间二硫键,并形成二聚体。随后,VWF转移至高尔基体中。在这一过程中,因pH降低至6.2,VWF单体与单体间会从C端CK结构域到N端A2结构域相互缔合形成二聚体(图3(a))。在低pH和钙离子存在时,D1和D2结构域也会发生二聚化。因此,VWF单体会像拉链一样,沿着其整个结构形成花束状二聚体。随后,二聚体继续组装形成螺旋。在螺旋中,相邻的D3结构域经二硫键交联,同时C端的CK结构域也通过分子间二硫键交联,从而将VWF串联起来,并通过D1D2结构域间的二聚化相互作用盘绕形成螺旋。在D2和D'D3间存在弗林蛋白酶切位点,但弗林蛋白酶切割后,由D1D2形成的前体结构域仍会与成熟VWF单体D'~CK结构域之间保持很强的非共价相互作用。VWF的螺旋对称性会在A1结构域的糖基化区域被打破,因此,VWF二体的C末端在螺旋中是以一种无序的

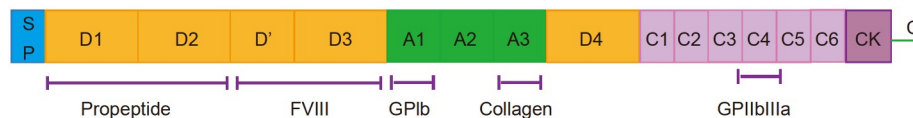


图1 VWF的单体结构示意图。VWF单体由信号肽(SP)、前导肽(D1~D2)和成熟VWF单体(D'~CK)组成。成熟VWF单体包括结合凝血因子Ⅷ(FVIII)的D'~D3区、结合血小板糖蛋白GPIb α 的A1结构域、结合ADAMT13的A2结构域、与胶原结合的A3结构域和结合血小板整合素GPIIb/IIIa的C4结构域

Figure 1 Schematic diagram of the monomeric structure of VWF. VWF monomer consists of signal peptide (SP), propeptide (D1~D2), and mature VWF monomer (D' to CK). Mature VWF monomer includes the D'~D3 domains that bind to coagulation factor eight (FVIII), the A1 domain that binds to platelet glycoprotein GPIb α , the A2 domain that binds to ADAMT13, the A3 domain that binds to collagen, and the C4 domain that binds to platelet integrin GPIIb/IIIa

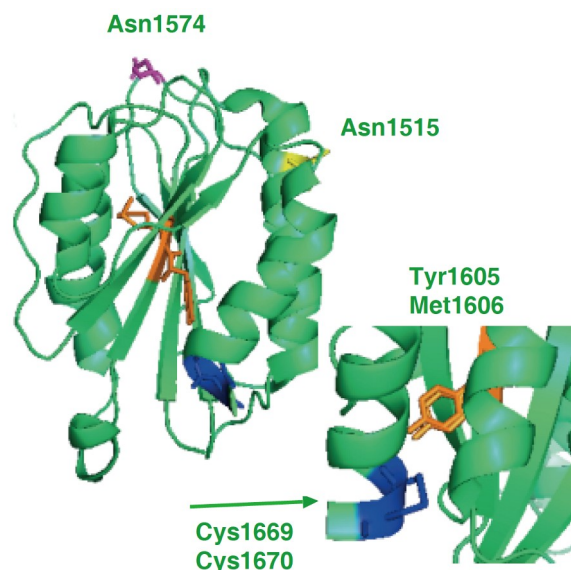


图2 VWF的A2结构域。VWF的A2结构域中包含重要的Asn1574聚糖连接位点, 如果将其突变, 则会显著增加VWF A2域展开和蛋白水解的敏感性。因此, 这一修饰有助于A2域形成稳定的折叠, 进而影响蛋白水解。ADAMTS13切割位点(Tyr1605-Met1606)位于VWF A2结构域内部, 在静息条件下难以暴露

Figure 2 The A2 domain of VWF. The A2 domain of VWF contains an important glycosylation site (Asn1574), which, if mutated, will significantly increase the susceptibility of VWF A2 domain to unfolding and proteolysis. Therefore, this post-translational modification stabilizes the A2 domain and prevents its proteolysis. The ADAMTS13 cleavage site (Tyr1605-Met1606) is located at the inside of A2 domain, and thus is hidden from exposure to proteolysis under resting state

方式向外延伸。最终, VWF螺旋被包装进WPB内, 呈现出紧密的管状结构。VWF这一组装形式对于其存储和释放均至关重要。当血小板或内皮细胞受到刺激时, WPB和质膜融合, WPB内pH升高至7.4, 使得高度盘绕的VWF可以快速有序地解螺旋, 并在WPB周围的肌动蛋白辅助下分泌至血管内。此时, 前体结构域解离, 二聚体解聚, VWF串联体被拉伸为几毫米长的不规则的链式结构, 募集血小板形成血凝块(图3(b))^[16-21]。

2 ADAMTS13的结构与功能

2001年, Levy等人^[22]和Zheng等人^[23]首次鉴定并克隆了ADAMTS13(a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type motifs 13)。它是血液中的一种金属蛋白酶, 为ADAMTS家族成员, 可以切割血管性血友病因子(VWF)的A2结构域, 将血小板募集在血管损伤的部位, 在初级止血过程中发挥重要作用。自免疫抗体或基因突变引起的ADAMTS13功能不足是导致血栓性血小板减少性紫癜的主要病因。目前对ADAMTS13的

结构及其与功能的认识已取得了较大的进展^[24,25]。

2.1 ADAMTS13的合成与分泌

ADAMTS13的编码基因由29个外显子组成, 共编码1427个氨基酸, 是一种含I型凝血酶敏感蛋白重复序列的去整合素样金属蛋白酶。它主要在肝星状细胞中合成^[26], 也在包括内皮细胞、巨核细胞或血小板中合成。合成后的活性酶被分泌到血浆中, 其血浆浓度大约为1 μg/mL。血管中大量内皮细胞会组成性释放ADAMTS13, 这是血液中ADAMTS13的一个重要来源, 也是补充血浆中ADAMTS13的一种潜在途径。而血小板中的ADAMTS13则是在凝血酶受体激活肽刺激下分泌的^[27]。

2.2 ADAMTS13的主要结构域

ADAMTS13由信号肽、前导肽(propeptide)、金属蛋白酶结构域(M)、去整合素样结构域(D)、凝血酶敏感蛋白域1(TSP1, T1)、富含半胱氨酸结构域(C)、间隔区(S)、TSP基序区(T2~T8)和2个CUB结构域组成(图4, 5)。此外, 在T2~T3、T4~T5和T8~CUB1结构域之间有3个连接片段(L)。ADAMTS13的N端部分从金属蛋白酶结构域至间隔区称为MDTCS, 从T2结构域开始到C末端尾部称为T2C2^[28]。

ADAMTS家族金属蛋白酶结构域含Zn²⁺结合基序(HEXXHXXGXXHD)。该基序包含3个保守的组氨酸残基, 其中的谷氨酸为催化蛋白水解的残基。ADAMTS家族成员识别特定位点和水解蛋白底物需要二价阳离子, 除了活性中心的Zn²⁺离子外, 还需要Ca²⁺离子。与金属蛋白酶结构域相邻的是去整合素样结构域, 它包含1个接头区域, 该区域围绕金属蛋白酶域的背面延伸。ADAMTS13富含半胱氨酸的结构域具有高度序列保守性, 包含10个保守的半胱氨酸。

3 ADAMTS13/VWF在剪切力下的相互作用

3.1 剪切力的定义

流体剪切应力是黏性液体流动时因多位点流速差异产生的每单位面积的摩擦力, 可以被描述为“无数个极小的薄层相互滑动, 每个薄层都与相邻的薄层发生摩擦相互作用”。血管中同一横截面上剪切率分布不同, 血流中央部流速最高, 但层与层之间的流速梯度不大, 故中央区剪切率是最小的, 而血管壁附近流速最慢, 但

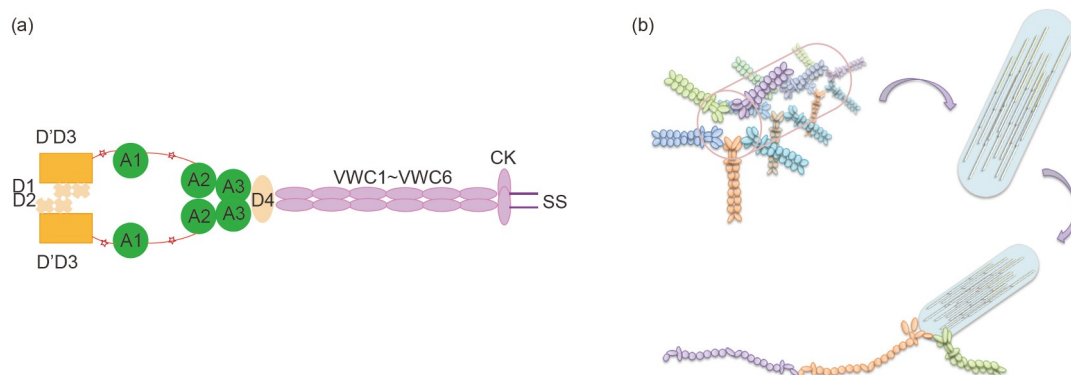


图3 VWF的二聚体结构示意图(a)及WPBs中VWF的生物组装示意图(b). (a) VWF单体通过C端二硫键形成“尾-尾”共价交联的花束型二聚体结构. VWF二聚体组装后, 其前体结构域和D3结构域之间的二硫键被打开, 使得不同二聚体D3结构域之间可形成二硫键, D1~D2结构域间的二聚化相互作用使得VWF聚合成大分子螺旋状蛋白. (b) 弗林蛋白酶可切割前体结构域与成熟肽之间的肽键. 最终VWF多聚体形成螺旋, 并被包装进WPB中以管状形式存在. 有部分VWF会被持续释放至胞外, 其余部分则在受到外界刺激时才会被释放至血管内, 进而串联成几毫米长的蛋白分子

Figure 3 Schematic diagram of the dimer structure of VWF (a), and schematic diagram of the biosynthesis and packaging of VWF in WPBs (b). (a) Two VWF monomers are covalently linked into a “tail-to-tail” bouquet-like structure through the disulfide bond at their C-termini. After VWF forming dimers, the disulfide bond between the precursor domain and the D3 domain is broken and disulfide bond between D3 domains in the dimer is formed. Dimerization between the D1~D2 domains enables the polymerization of VWF into a macromolecular helix. (b) Furin cleaves the covalent bond between the precursor domain and the mature peptide. Finally, VWF multimer forms a helix and is packed into WPB in a tubular form. Some of the VWF in WPB will be continuously released to the outside of the cell, while the rest will be released into the blood vessels when stimulated by the external signals and subsequently be casted into millimeter-long protein fibers

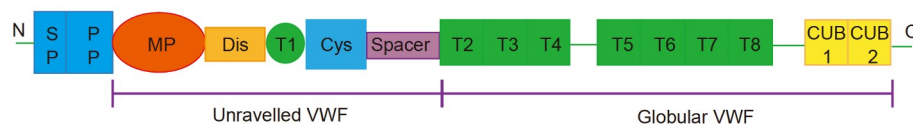


图4 ADAMTS13的结构示意图. ADAMTS13由信号肽(SP)、前导肽(PP)、金属蛋白酶结构域(M)、去整合素样结构域(D)、凝血酶敏感蛋白域1(TSP1, T1)、富含半胱氨酸结构域(C)、间隔区(S)、TSP基序区(T2~T8)和2个CUB结构域组成. 在T2~T3、T4~T5和T8~CUB1结构域之间有3个连接片段(L). ADAMTS13的N末端部分称为MDTCS, 从T2结构域开始到C末端尾部称为T2C2

Figure 4 Schematic diagram of the primary structure of ADAMTS13. ADAMTS13 consists of signal peptide (SP), leader peptide (PP), metalloproteinase domain (M), disintegrin-like domain (D), thrombospondin domain 1 (TSP1, T1), a cysteine-rich domain (C), a spacer (S), a TSP motif region (T2~T8), and two CUB domains. There are three linker segments (L) connecting the T2~T3, T4~T5 and T8~CUB1 domains. The N-terminal part of ADAMTS13 is called MDTCS, and the C-terminal part starting from the T2 domain to C-terminal end is called T2C2

流速梯度大, 壁剪切率反而最大^[30].

体内各血管的平均壁剪切力为大动脉11.4~30.4 dynes/cm²、中小动脉19.0~60.8 dynes/cm²、静脉0.76~7.6 dynes/cm², 换算成剪切率分别为300~800、500~1600、20~200 s⁻¹. 当血管因动脉粥样硬化、陈旧性血栓、肿瘤压迫、动脉畸形、或异物置入等病理性因素导致局部狭窄时, 壁剪切率明显升高, 可达800~10000 s⁻¹, 在严重阻塞时甚至可上升到100000 s⁻¹^[31]. 内皮细胞可将血流剪切力转换为生化信号, 通过特定的机制和途径调节基因表达和细胞行为. 这些信号传导在发育过程中, 以及出生后和成年期塑造血管系统, 以维持血液及淋巴液的正常循环, 而当这些信号传导

发生异常时则会导致动脉粥样硬化和血管畸形^[32].

3.2 ADAMTS13和VWF相互作用的力学调控机制

3.2.1 VWF的构象变化

血流中VWF以两种构象存在: 球状和去折叠态. 其构象取决于血管中血流的剪切速率^[33]. 在体外研究微血管中去折叠VWF在高剪切速率下自缔合能力时发现, 在血管变细、转弯、分叉、易增厚的区域血流加速, VWF多聚体股线伸长. 在具有复杂流动特性区域, VWF链倾向于形成网状结构. 同时, 在低剪切速率部位, VWF保持球状构象^[34]. VWF多聚体分子的大小(长度)决定了其与血小板的黏附能力, 而其大小受

ADAMTS13的水解控制. 在这一水解过程中, VWF A2结构域上的ADAMTS13的剪切位点只有在流体剪切力的作用下, 才能暴露出来^[35](图6). Schneider等人^[33]报道了在高剪切速率下由VWF形成的蜘蛛网状结构. Zhang等人^[36]证明VWF交联依赖于剪切速率下A2域的结构. 因此, A2域可能在VWF的蛋白水解和自交联中具有双重作用. 也有人提出, ADAMTS13和VWF之间的相互作用是以一种分子拉链机制形成的. 该机制有赖于ADAMTS13和VWF中不同结构域之间的逐步相互作用^[37]. 首先, ADAMTS13的T5-CUB2结构域与折叠态VWF的D4~CK结构域相互作用, 将ADAMTS13定位在VWF分子上, 但此时处于折叠态的VWF因其A2结构域及A2上的酶切位点没有暴露, 导致其不能被ADAMTS13切割^[38,39]. 而当血管损伤或形成血栓后, 在损伤部位或血栓位置, 血流剪切力升高, 致使折叠的

VWF分子展开, 暴露出A2结构域, 同时A2结构域上的不同残基可分别与ADAMTS13的间隔区、富含半胱氨酸域、去整合素样结构域和金属蛋白酶结构域相结合, 从而精确地将ADAMTS13的金属蛋白酶结构域定位在VWF A2上的酶切位点, 使ADAMTS13可以特异性地切割VWF A2上的Tyr1605-Met1606之间的肽键, 进而调控VWF多聚体的大小^[37].

尽管这种连续的逐步识别作用模型具有一定的合理性, 但仍有很多关键问题亟待解决. 在这一逐步识别作用模型中, 实际包含了一个隐含的假设, 即: 在连续发生的两步识别中, 后一步的结合必须发生在前一步的解离之前. 只有这样才能保证在这一拉链式结合过程中, 各步结合能够协同有序进行. 但这一假设的成立有赖于前一步的解离速率 K_{off} 较慢, 而后一步的结合速率 K_{on} 较快. 但迄今为止, 这种详细的域-域相互作用的

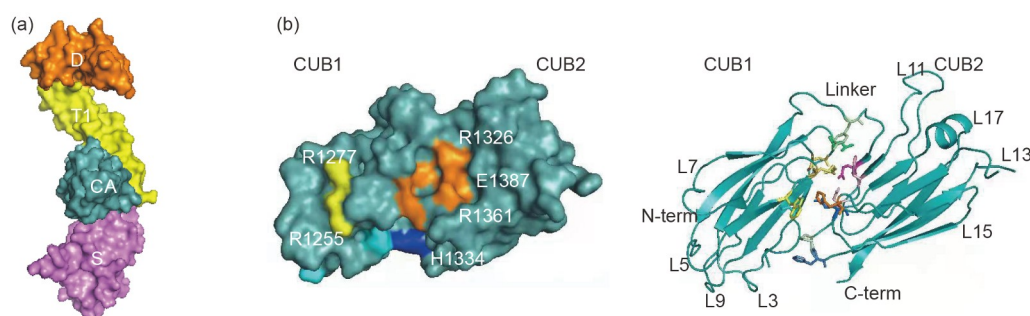


图 5 ADAMTS13的DTCS和CUB1-2结构示意图. (a) ADAMTS13-DTCS的晶体结构(PDB ID: 3GHM), 这一结构揭示了去整合素样结构域(D结构域)和富含半胱氨酸结构域(CA结构域)的N末端部分存在近似折叠. 间隔区(S结构域)形成一个球状功能单元, 具有多个与CA结构域相互作用的位点. (b) ADAMTS13 CUB1-2结构域的晶体结构(PDB ID: 7B01). 两个CUB结构域呈串联配置. 位于C末端的CUB结构域对于ADAMTS13的底物识别及蛋白水解活性具有重要调节作用^[27,29]

Figure 5 Schematic diagrams of the structures of ADAMTS13 DTCS and CUB1-2 domains. (a) The crystal structure of ADAMTS13-DTCS (PDB ID: 3GHM). The N-terminal parts of the disintegrin-like domain (D domain) and the cysteine-rich domain (CA domain) adopt a similar fold. The spacer (S domain) forms a globular structure having multiple binding sites with the CA domain. (b) The crystal structure of ADAMTS13 CUB1-2 domain (PDB ID: 7B01). The two CUB domains interact with each other in a tandem configuration. The C-terminal CUB domain plays an important role in regulating the substrate recognition and proteolytic activity of ADAMTS13^[27,29]

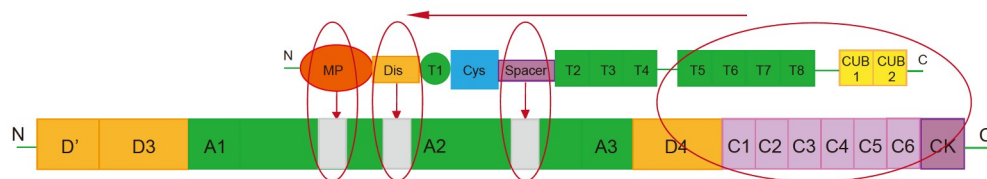


图 6 ADAMTS13通过分子拉链机制对VWF进行水解的模式示意图^[37]. 首先, ADAMTS13的T5-CUB2结构域与球状VWF上暴露的D4~CK结构域相互作用. 随后, 在血流的剪切力下, VWF的结构展开, 其A2结构域的C端部分与ADAMTS13的间隔区相互作用. 这些相互作用使去整合素样结构域和金属蛋白酶结构域可以精确定位, 从而特异性地水解VWF Y1605和M1606之间的肽键

Figure 6 Schematic diagram of the molecular zipper mechanism which ADAMTS13 uses to hydrolysis VWF^[37]. First, the T5-CUB2 domain of ADAMTS13 interacts with the exposed D4~CK domain on the globular VWF. Subsequently, under the shear force of blood flow, the structure of VWF unfolds and the C-terminal part of its A2 domain interacts with the spacer region of ADAMTS13. These interactions allow precise positioning of the disintegrin-like and metalloprotease domains to specifically hydrolyze the peptide bond between VWF Y1605 and M1606

动力学参数尚未完全表征。因此, 我们无法充分验证这一逐步识别模型。另外, 在流体剪切力下, 血浆中游离的VWF可能折叠得更紧凑, 而连接在内皮细胞上的VWF则会被剪切力拉伸展开(图7)。但由于在折叠、紧凑的VWF中D4~CK区域是暴露的, 那么基于上述模型, 游离的但处于折叠态的VWF也会与ADAMTS13结合。Feys等人^[38]曾发现1个ADAMTS13分子可与大约250个游离的VWF分子结合。因此, 关于折叠态的游离的VWF能否将ADAMTS13从伸展开的超长VWF(UL-VWF)上竞争下来并引发对ADAMTS13活性的负反馈调节仍有待深入探究。

3.2.2 ADAMTS13的变构激活

基于SAXS和负染电子显微镜实验结果, 人们推测, ADAMTS13尾部结构域可以与头部结构域相互作用, 使之保持折叠构象^[40]。除间隔区与CUB结构域之间的相互作用外, 头部与尾部结构域之间具体的相互作用方式仍然未知^[41]。VWF D4~CK结构域与折叠状态的ADAMTS13的结合会使ADAMTS13的结构打开, 暴露出包埋的D、T、C和S结构域中的关键位点, 最终使金属蛋白酶变构激活(图8)。Vanhoorelbeke团队^[42]最近开发了一种鼠抗人ADAMTS13 CUB1结构域的抗体。这一抗体与VWF相似, 可打开ADAMTS13的结构, 使间隔区暴露出相同的位点。这一发现部分验证了ADAMTS13的变构激活假设。

3.2.3 ADAMTS13/VWF在剪切力下的相互作用

现在ADAMTS13与VWF的相互作用依赖于流体剪切力^[37], ADAMTS13在流体剪切力下优先作用于血小板-VWF复合物已得到广泛认可^[43]。但是, 对于剪切力依赖性的底物识别与切割的具体机制目前仍存在争议。有研究显示, 在静息变性条件下, 从间隔区以后截

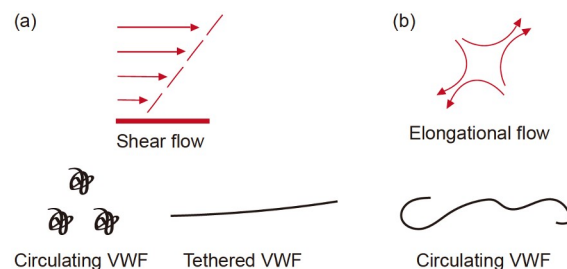


图7 流体剪切力作用下VWF的构象变化。剪切流(a)可以分解为拉伸流动(b)和旋转流动。在流体剪切力作用下, 血浆中游离的VWF会折叠得较紧凑, 而连接于内皮细胞表面的VWF则会被伸展开。当血液流经微循环系统时, 随着拉伸流动的增加, 折叠的VWF会伸展打开, 暴露其A2结构域, 从而使ADAMTS13可识别并切割VWF

Figure 7 Conformational change of VWF under shear flow. Shear flow can be decomposed into elongational and rotational flow. Under the action of fluid shear force, free VWF in plasma will fold more compactly, while VWF attached to the surface of endothelial cells will be stretched. As blood flows through the microcirculation system, with increased elongational flow, the folded VWF will be stretched to expose its A2 domain, allowing ADAMTS13 to recognize and cleave VWF

掉的ADAMTS13截短体突变对VWF的切割活性几乎没有影响。但也有研究表明, 截短突变体的切割活性是依赖于流体剪切力的。此外, 还有证据表明, 在剪切力条件下, ADAMTS13 TSP和CUB结构域对VWF的切割至关重要^[44]。

Zanardelli等人^[39]分析了ADAMTS13缺失突变体在静息和剪切力条件下对VWF的结合与切割活性。根据他们的实验结果, 我们可以计算发生于每次结合过程中的自由能变化。令人惊讶的是, 我们发现, ADAMTS13的MDTCS和T2C2结构域在识别与切割底物VWF上存在负协同效应(表1), 表明在ADAMTS13的N、C两个末端之间存在未知的分子内沟通机制。如何深入理解这种分子内的沟通机制, 是理解VWF/

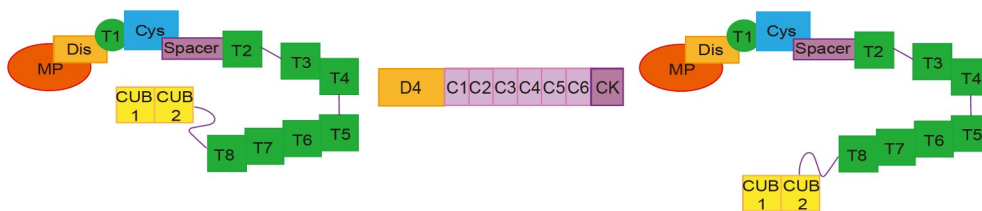


图8 ADAMTS13的折叠和展开构象。头部的间隔区与尾部的CUB结构域相互作用使ADAMTS13保持折叠构象(左)。在激活的ADAMTS13构象中, 间隔区与CUB结构域之间的相互作用会被破坏。实验发现, 加入VWF的D4CK结构域、CUB抗体或将pH降至6都会诱导ADAMTS13结构展开(右)

Figure 8 Folded and unfolded conformations of ADAMTS13. The spacer region of the head and the CUB domain of the tail interact to keep ADAMTS13 in a folded conformation (left). In the activated ADAMTS13 conformation, the interaction between the spacer and the CUB domain is disrupted. It was found that addition of the D4CK domain of VWF, CUB antibody, or lowering the pH to 6 induced the unfolding of ADAMTS13 structure (right)

表 1 ADAMTS13突变体与VWF片段的结合常数

Table 1 Binding constants of ADAMTS13 mutants to VWF fragments

VWF结构域	ADAMTS13结构域 k_D^{app} (nmol/L) (ΔG (kCal/mol))		
	ADAMTS13	MDTCS	Δ (TSP5-CUB)
VWFA2	32.8 $\pm$ 3.6 (−10.19)		
VWFA1A2A3	82.7 $\pm$ 13.4 (−9.65)	90.8 $\pm$ 3.0 (−9.60)	83.2 $\pm$ 4.2 (−9.65)
VWFA1CK	10.0 $\pm$ 1.8 (−10.90)	129 $\pm$ 12 (−9.39)	103 $\pm$ 17 (−9.52)
VWFD4CK	143 $\pm$ 21 (−9.33)	nb	> 500 (>−8.59)
VWFA3CK	100 $\pm$ 27 (−9.54)		
VWFB1CK	> 500 (>−8.59)		
VWFD4	> 500 (>−8.59)		
VWFD'D3	nb		
全长VWF	21.6 $\pm$ 4.7 (−10.45)		
结合能 ($\Delta\Delta G$ (kCal/mol))			
ADAMTS13/VWFA1CK	$\Delta G_{A1CK} - (\Delta G_{D4CK} + \Delta G_{A1A2A3})$		8.03

ADAMTS13相互作用的关键。例如,探究负协同作用的分子本质以及这种负协同作用如何影响ADAMTS13与VWF的结合以及ADAMTS13的水解活性。

将VWF片段直接固定在微量滴定板上,通过平板结合实验检测全长ADAMTS13、截短体MDTCS和 Δ (TSP5-CUB)与不同VWF片段的结合能力。数据为基于3~13次独立实验的统计结果,表示为平均值 $\pm$ 均方差。在低亲和力结合的情况下($k_D^{app} > 500$ nmol/L), k_D^{app} 值无法精确计算。在不结合的情况下, k_D^{app} 值不适用。数据来自Zanardelli等人^[39]的研究,基于这些数据,我们计算了 ΔG 和 $\Delta\Delta G$ 。

Banno等人^[45]进行的体内功能研究为剪切力在血栓形成中的调节作用提供了进一步的佐证。他们通过使用转基因小鼠证明ADAMTS13的T7~T8和CUB结构域的缺失对调节正常血流剪切力下血浆中VWF多聚体大小几乎没有影响。然而,这些转基因小鼠在高剪切力作用条件下则易于形成血栓。结构域缺失的ADAMTS13在1000 s^{−1}剪切速率下没有促进血栓形成,但在5000 s^{−1}剪切速率下显著促进了血栓形成,即截短体是有活性的但不足以切割VWF,表明其C端结构域在高剪切力下对血栓形成有重要作用。此外,体内动脉损伤模型实验也得到了类似结论,在剪切速率为1500 s^{−1}时,血栓形成时间不受影响,但当血栓增大,动脉管腔缩窄,剪切率增加时,与全长ADAMTS13相比,结构域缺失的ADAMTS13限制血栓形成的活性显著降低,血栓形成时间缩短。

利用融合荧光蛋白标记方法, Lillicrap^[46]与 Rädler^[47]课题组分别研究了剪切力对ADAMTS13的定位与活性的影响。Lillicrap等人^[46]利用mCherry荧光蛋白标记ADAMTS13,并发现其主要定位于血栓顶部,可在血栓闭塞过程中减小血栓体积。在病理性7500 s^{−1}高剪切力条件下,血小板通过GPIb对VWF施加拉力,来调控ADAMTS13在血栓上的定位。这种剪切力和血小板依赖的反馈调节机制的,可以防止血管闭塞和病理性血栓形成。Rädler等人^[47]利用VWF-eGFP重组蛋白研究了剪切力对于ADAMTS13水解VWF的酶反应动力学影响。通过荧光相关光谱监测,他们发现,ADAMTS13水解VWF的反应速率随剪切速率呈S形增长,剪切速率阈值($\gamma_{1/2}$)为5522/s。血流中ADAMTS13活性也具有相似剪切力依赖特性。

综上所述,ADAMTS13具有重要的生物学功能,其活性受血流剪切力调控。但目前对于ADAMTS13及其与VWF复合物在剪切力作用下的结构,以及活性调节的分子机制仍不清楚。设计、开发用于确定在剪切力作用下ADAMTS13全长及其与VWF复合物结构的新方法具有重要理论意义,并可应用于研究其他重要生物大分子在机械力作用下的结构与功能。

4 问题与展望

除血栓与溶血外,ADAMTS13还与阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)等多种疾病的发生密切相关。AD是影响人类健康的一种神经退行性疾病,其致病机

理复杂. 其中血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)缺陷和脑血管功能障碍是导致淀粉样蛋白- β (beta-amyloid, A β)变性聚集, 引发AD的一个重要因素^[48]. ADAMTS13能通过增强VWF水解来保护BBB的完整性, 而ADAMTS13缺陷会导致AD脑血管功能障碍及认知功能障碍^[49,50]. ADAMTS13缺失的APPs 1小鼠由于其血脑屏障介导的脑A β 清除被阻断, 增加了脑斑块负荷和A β 水平, 加速了脑淀粉样血管病变, 导致出现认知功能下降. 相反通过增加ADAMTS13的表达可以减轻血脑屏障的破坏, 增加微血管、毛细血管灌注和脑血流量, 增强脑A β 清除率、减少A β 脑蓄积并改善认知功能^[51].

也有研究在探讨VWF和ADAMTS13活性是否可以作为COVID-19患者临床严重程度的标志物. 研究表明, COVID-19感染后, VWF增多和血浆ADAMTS13活性降低与疾病的严重程度相关. 与其他非COVID-19住院患者相比, COVID-19感染患者中可观察到ADAMTS13活性显著降低. COVID-19患者VWF/ADAMTS13比值失衡, 其中ICU患者与普通门诊和住院患者相比, VWF/ADAMTS13比值最高^[52]. 此外, 在COVID-9感染导致微血管血栓形成的情况下, 高分子量的VWF多聚体显著减少, 可抑制ADAMTS13活性的细胞介素-6、血小板应答蛋白-1和血小板因子4的水平均显著升高, 因此在高剪切力的血流条件下, 可能需要更高水平的ADAMTS13才能有效切割被释放出的超大VWF多聚体, 避免COVID-19感染引发血栓形成^[53]. 因此, 重组ADAMTS13可能有助于恢复COVID-19患者VWF/ADAMTS比值失衡, 具有潜在的治疗作用^[54]. 但值得注意的是, 也有研究表明, 高度升高的VWF和轻微降低或正常的ADAMTS13活性是强炎症和内皮损伤的反映, 而不是COVID-19感染导致的血栓形成的驱动因素^[55]. 因此, 如何治疗和干预COVID-19感染引起的微血管血栓与血管病变仍有待进一步研究.

ADAMTS13的构象变化对其行使正常的生理功能

至关重要. 前期研究发现, ADAMTS13头部结构域中参与VWF结合的关键位点会被其尾部结构域所掩盖. 只有当ADAMTS13的尾部结构域与VWF结合后, ADAMTS13的构象发生变化, 才能使其头部结构域中的隐藏位点暴露出来. 随后, 当VWF受到剪切应力发生伸展、变性后, 预结合的ADAMTS13方可与去折叠的VWF A2结构域结合, 并在此结合位置切割VWF. 因此, 我们认为, ADAMTS13的活性调节是通过其与底物VWF的相互作用, 使它从一个折叠构象变为开放构象, 从而完成变构激活. 但到目前为止, 对ADAMTS13在静息态和剪切力条件下, 各结构域之间是如何相互作用的, 并在结合VWF后发生了怎样的结构变化、变构激活的机理等一系列问题均尚不明.

解析在静息态和剪切力条件下ADAMTS13不同构象的结构以及ADAMTS13与VWF复合物的结构, 对于阐明ADAMTS13与VWF的相互识别以及VWF对ADAMTS13变构激活的分子机制至关重要. 但到目前为止, 只有部分ADAMTS13的头部结构域被解析^[56]. 多项研究曾尝试解析全长ADAMTS13的结构, 但到目前为止均未成功. 全长ADAMTS13的结构柔性非常大, 很难获得其高质量、均一的结构样品. 此外, VWF与ADAMTS13的相互作用受到剪切力的调控, 但目前结构生物学手段(包括冷冻电子显微镜和晶体学)尚无法直接获得蛋白质复合物在剪切力作用下的精细结构信息.

因此, 阐明ADAMTS13与VWF相互作用及其活性调节的分子机制, 是目前本领域亟待解决的关键科学问题, 将为筛选及开发治疗血栓性血小板减少性紫癜以及血管性血友病的新型药物提供理论基础. 同时, 关于血流剪切力对内皮细胞分泌功能的影响仍不清楚, 因此, 研究内皮细胞对剪切力的独特响应, 也将为理解各种信号转导途径如何被剪切力调控以引发内皮功能障碍及动脉粥样硬化提供理论依据, 也有助于动脉粥样硬化的临床治疗和病理机制研究.

参考文献

- 1 Willebrand E V. Hereditär pseudohe-mofili. *Fin Lakaresällsk Handl*, 1926, 68: 7-112
- 2 Tsai H M, Sussman I I, Ginsburg D, et al. Proteolytic cleavage of recombinant type 2A von Willebrand factor mutants R834W and R834Q: Inhibition by doxycycline and by monoclonal antibody VP-1. *Blood*, 1997, 89: 1954-1962
- 3 Sadler J. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu Rev Biochem*, 1998, 67: 395-424
- 4 Wilde J T. von Willebrand disease. *Clin Med*, 2007, 7: 629-632
- 5 Sporn L A, Chavin S I, Marder V J, et al. Biosynthesis of von Willebrand protein by human megakaryocytes. *J Clin Invest*, 1985, 76: 1102-1106

- 6 Wagner D D, Olmsted J B, Marder V J. Immunolocalization of von Willebrand protein in weibel-palade bodies of human endothelial cells. *J Cell Biol*, 1982, 95: 355–360
- 7 Terraube V, O'Donnell J S, Jenkins P V. Factor VIII and von Willebrand factor interaction: Biological, clinical and therapeutic importance. *Haemophilia*, 2010, 16: 3–13
- 8 Nightingale T D, McCormack J J, Grimes W, et al. Tuning the endothelial response: Differential release of exocytic cargos from Weibel-Palade bodies. *J Thromb Haemost*, 2018, 16: 1873–1886
- 9 Avdonin P P, Tsvetaeva N V, Goncharov N V, et al. von Willebrand factor in health and disease. *Biochem Suppl Ser A: Membr Cell Biol*, 2021, 15: 201–218
- 10 Borchellini A, Fijnvandraat K, ten Cate J W, et al. Quantitative analysis of von Willebrand factor propeptide release *in vivo*: Effect of experimental endotoxemia and administration of 1-deamino-8-D-arginine vasopressin in humans. *Blood*, 1996, 88: 2951–2958
- 11 Lenting P J, Christophe O D, Denis C V. von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: Connecting the far ends. *Blood*, 2015, 125: 2019–2028
- 12 Zhang X, Halvorsen K, Zhang C Z, et al. Mechanoenzymatic cleavage of the ultralarge vascular protein von Willebrand factor. *Science*, 2009, 324: 1330–1334
- 13 Huizinga E G, Plas R M, Kroon J, et al. Crystal structure of the A3 domain of human von Willebrand factor: Implications for collagen binding. *Structure*, 1997, 5: 1147–1156
- 14 Robinson C R, Pieper I L, Kanamarlapudi V. von Willebrand factor. In: Choi S, ed. *Encyclopedia of Signaling Molecules*. Cham: Springer, 2017. 5950–5954
- 15 Weibel E R, Palade G E. New cytoplasmic components in arterial endothelia. *J Cell Biol*, 1964, 23: 101–112
- 16 Qian L Q, Gong G S, Wu S M. Structure and function of VWF (in Chinese). *Adv Biochem Biophys*, 1994, 3: 196–199 [钱丽清, 龚国胜, 吴圣楣. VWF的结构与功能. *生物化学与生物物理进展*, 1994, 3: 196–199]
- 17 Huang R H, Wang Y, Roth R, et al. Assembly of Weibel-Palade body-like tubules from N-terminal domains of von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 482–487
- 18 Zhou Y F, Eng E T, Nishida N, et al. A pH-regulated dimeric bouquet in the structure of von Willebrand factor. *EMBO J*, 2011, 30: 4098–4111
- 19 Springer T. von Willebrand factor, Jedi knight of the bloodstream. *Blood*, 2014, 124: 1412–1425
- 20 Yin J. Study on the pathogenesis of von Willebrand disease (in Chinese). Doctor Dissertation. Suzhou: Soochow University, 2015 [殷杰. 血管性血友病发病机制的研究. 博士学位论文. 苏州: 苏州大学, 2015]
- 21 Zhang Y, Guo Z. Research progress of von Willebrand factor (in Chinese). *Chin J Pract Diagn Therapy*, 2010, 11: 1045–1047 [张媛, 郭智. 血管性血友病因子研究进展. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2010, 11: 1045–1047]
- 22 Levy G G, Nichols W C, Lian E C, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature*, 2001, 413: 488–494
- 23 Zheng X, Chung D, Takayama T K, et al. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biol Chem*, 2001, 276: 41059–41063
- 24 Kobayashi T, Wada H, Kamikura Y, et al. Decreased ADAMTS13 activity in plasma from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res*, 2007, 119: 447–452
- 25 Sadler J E. Thrombotic thrombocytopenic purpura: A moving target. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*, 2006, 1: 415–420
- 26 Zhou W, Inada M, Lee T P, et al. ADAMTS13 is expressed in hepatic stellate cells. *Lab Invest*, 2005, 85: 780–788
- 27 Turner N, Nolasco L, Tao Z, et al. Human endothelial cells synthesize and release ADAMTS-13. *J Thromb Haemost*, 2006, 4: 1396–1404
- 28 George J N. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nat Rev Dis Primers*, 2006, 354: 1927–1935
- 29 Kim H J, Xu Y, Petri A, et al. Crystal structure of ADAMTS13 cub domains reveals their role in global latency. *Sci Adv*, 2021, 7: 4403–4415
- 30 Hatcock J J. Flow effects on coagulation and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26: 1729–1737
- 31 Shi X F, Huang J S, Zhou Y L, et al. Research progress on the effect of shear force on thrombosis (in Chinese). *Chin J Cardiovasc Dis*, 2013, 41: 893–896 [施小凤, 黄建松, 周玉兰, 等. 剪切力对血栓形成作用的研究进展. *中华心血管病杂志*, 2013, 41: 893–896]
- 32 Baeyens N, Bandyopadhyay C, Coon B G, et al. Endothelial fluid shear stress sensing in vascular health and disease. *J Clin Invest*, 2016, 126: 821–828
- 33 Schneider S W, Nuschele S, Wixforth A, et al. Shear-induced unfolding triggers adhesion of von Willebrand factor fibers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 7899–7903
- 34 Zheng Y, Chen J, López J A. Flow-driven assembly of VWF fibres and webs in *in vitro* microvessels. *Nat Commun*, 2015, 6: 7858–7869
- 35 Zhang Q, Zhou Y F, Zhang C Z, et al. Structural specializations of A2, a force-sensing domain in the ultralarge vascular protein von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 9226–9231
- 36 Zhang C, Kelkar A, Neelamegham S. von Willebrand factor self-association is regulated by the shear-dependent unfolding of the A2 domain. *Blood*

- [Adv](#), 2019, 3: 957–968
- 37 Crawley J T B, de Groot R, Xiang Y, et al. Unraveling the scissile bond: How ADAMTS13 recognizes and cleaves von Willebrand factor. [Blood](#), 2011, 118: 3212–3221
 - 38 Feys H B, Anderson P J, Vanhoorelbeke K, et al. Multi-step binding of ADAMTS-13 to von Willebrand factor. [J Thromb Haemost](#), 2010, 7: 2088–2095
 - 39 Zanardelli S, Chion A C K, Groot E, et al. A novel binding site for ADAMTS13 constitutively exposed on the surface of globular VWF. [Blood](#), 2009, 114: 2819–2828
 - 40 Fu H, Jiang Y, Yang D, et al. Flow-induced elongation of von Willebrand factor precedes tension-dependent activation. [Nat Commun](#), 2017, 8: 324–336
 - 41 South K, Luken B M, Crawley J T B, et al. Conformational activation of ADAMTS13. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2014, 111: 18578–18583
 - 42 Deforche L, Roose E, Vandenbulcke A, et al. Linker regions and flexibility around the metalloprotease domain account for conformational activation of ADAMTS-13. [J Thromb Haemost](#), 2015, 13: 2063–2075
 - 43 Shim K, Anderson P J, Tuley E A, et al. Platelet-VWF complexes are preferred substrates of ADAMTS13 under fluid shear stress. [Blood](#), 2008, 111: 651–657
 - 44 Zhen Y T, Yuan D P, Nolasco L, et al. Recombinant CUB-1 domain polypeptide inhibits the cleavage of ULVWF strings by ADAMTS13 under flow conditions. [Blood](#), 2005, 106: 4139–4145
 - 45 Banno F, Chauhan A K, Kokame K, et al. The distal carboxyl-terminal domains of ADAMTS13 are required for regulation of *in vivo* thrombus formation. [Blood](#), 2009, 113: 5323–5329
 - 46 Shida Y, Swystun L L, Brown C, et al. Shear stress and platelet-induced tensile forces regulate ADAMTS13-localization within the platelet thrombus. [Res Pract Thromb Haemost](#), 2019, 3: 254–260
 - 47 Lippok S, Radtke M, Obser T, et al. Shear-induced unfolding and enzymatic cleavage of full-length VWF multimers. [Biophys J](#), 2016, 110: 545–554
 - 48 Du X, Wang X, Geng M. Alzheimer's disease hypothesis and related therapies. [Transl Neurodegener](#), 2018, 7: 2–9
 - 49 Wu Y G, Liu W, Zhou Y, et al. von Willebrand factor enhances microvesicle-induced vascular leakage and coagulopathy in mice with traumatic brain injury. [Blood](#), 2018, 132: 1075–1084
 - 50 Xu H, Cao Y, Yang X, et al. ADAMTS13 controls vascular remodeling by modifying VWF reactivity during stroke recovery. [Blood](#), 2017, 130: 11–22
 - 51 Cao Y, Xu H, Zhu Y, et al. ADAMTS13 maintains cerebrovascular integrity to ameliorate Alzheimer-like pathology. [PLoS Biol](#), 2019, 17: e3000313–1
 - 52 Marco A, Marco P. von Willebrand factor and ADAMTS13 activity as clinical severity markers in patients with COVID-19. [J Thromb Thrombolys](#), 2021, 52: 493–507
 - 53 Ward S E, Fogarty H, Karampini E, et al. ADAMTS13 regulation of VWF multimer distribution in severe COVID-19. [J Thromb Haemost](#), 2021, 19: 1914–1921
 - 54 Turecek P L, Peck R C, Rangarajan S, et al. Recombinant ADAMTS13 reduces abnormally up-regulated von Willebrand factor in plasma from patients with severe COVID-19. [Thrombosis Res](#), 2021, 201: 100–112
 - 55 Joly B S, Darmon M, Dekimpe C, et al. Imbalance of von Willebrand factor and ADAMTS13 axis is rather a biomarker of strong inflammation and endothelial damage than a cause of thrombotic process in critically ill COVID-19 patients. [J Thrombosis Haemost](#), 2021, 19: 2193–2198
 - 56 Akiyama M, Takeda S, Kokame K, et al. Crystal structures of the noncatalytic domains of ADAMTS13 reveal multiple discontinuous exosites for von Willebrand factor. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2009, 106: 19274–19279

Summary for “血流剪切力对ADAMTS13和VWF相互作用的影响”

The effects of shear stress on the interaction between ADAMTS13 and VWF

Yichen Bai & Li-Zhi Mi*

School of Life Sciences, Tianjin University, Tianjin 300072, China

* Corresponding author, E-mail: lizhi.mi@tju.edu.cn

Both ADAMTS13 (a disintegrin and metalloprotease with a thrombospondin type-1 motif, member 13) and VWF (von Willebrand factor) are critical in the regulation of platelet adhesion in hemostasis and thrombosis. Dysregulation of their functions is associated with thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) and von Willebrand disease (VWD). VWF is a multimeric glycoprotein discovered by Erik A. von Willebrand in 1926. It can bind and stabilize coagulation factor VIII. In addition, it can mediate platelet adhesion by binding to the components of the blood vessel wall and the glycoprotein Ib (GPIb) on the platelet membrane. Under physiology, VWF is synthesized as a disulfide-linked dimer in the endoplasmic reticulum and transported into the Golgi apparatus for further processing. In the Golgi, the intra- and inter-VWF disulfide bonds are reorganized so that VWF can polymerize into macro-molecular helices and be packed into Weibel-Palade Bodies in a tubular form. Upon stimulation by blood vessel injury, packed VWF can be rapidly unwound and released into the blood vessels, forming millimeter-long protein fibers. Under the stretch of increased shear force at the injury site, the cryptic platelet binding site on the A1 domain of VWF will be exposed, enabling the recruitment and aggregation of platelets on VWF fibers for hemostasis. However, the accumulation of ultra-long VWF in the blood would lead to the formation of microthrombi, blocking blood vessels and capillaries and causing the failure of multiple organs. To prevent thrombosis, multimeric VWF is cleaved by ADAMTS13 into short fragments to reduce platelet binding and aggregation. As such, the length and distribution of VWF multimers, which ADAMTS13 regulates, are essential for the precise balance between hemostasis and thrombosis. Unlike other proteases, which are secreted in an inactive state and activated proteolytically, ADAMTS13 is secreted in an active form and circulates in the blood as an active enzyme. Its activity is regulated by VWF binding and shear stress. Under resting state, the head and the tail of ADAMTS13 interact with each other to mask the exosites of ADAMTS13 on its DTCS domains. VWF binding induces conformational changes of ADAMTS13 to expose its exosites. On the other hand, shear stress not only causes the conformational changes of VWF to expose its ADAMTS13 cleavage site on the VWF A2 domain, but also regulates the interactions between VWF and ADAMTS13. Studies have shown that, under shear stress, VWF and ADAMTS13 need to be properly aligned so that the VWF A2 domain can be positioned in the vicinity of the ADAMTS13 M domain for cleavage. In this article, we summarize recent progress in the structural and functional studies of VWF and ADAMTS13. Primarily, we focus on how the conformations and interactions between VWF and ADAMTS13 are regulated under static and shear force conditions. The collected information will be helpful for better understanding the regulation of ADAMTS13 and VWF activities under physiological and pathological conditions. Such understanding could facilitate the screening and development of novel therapeutics in the treatment of TTP and VWD.

von Willebrand factor, ADAMTS13, flow shear stress, thrombotic disease

doi: [10.1360/TB-2022-0214](https://doi.org/10.1360/TB-2022-0214)