

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.11.1425

• 综述 •

## 降胆固醇药物新靶标前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 的研究进展

李昊,陶龙啸,章卫平\*

第二军医大学基础医学部病理生理学教研室,上海 200433

**[摘要]** 他汀类药物主要用于降低血低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)以及预防心血管疾病,但其临床疗效和机体的耐受性尚存在不稳定性。人类前蛋白转化酶枯草溶菌素 9(PCSK9)属于前蛋白转化酶家族,主要由肝脏产生并分泌入血,可促进肝脏中低密度脂蛋白受体(LDLR)的降解,从而参与调控血 LDL-C 水平。人群中 PCSK9 的功能获得型或缺失型基因突变与血 LDL-C 含量、心血管疾病患病率密切相关。可通过负反馈机制上调 PCSK9,促进 LDLR 的降解,从而降低他汀类药物的疗效。因此,抑制 PCSK9 活性可望成为治疗高胆固醇血症的一种新的有效方法。本文主要综述 PCSK9 调节胆固醇代谢及其临床应用的研究进展。

**[关键词]** 胆固醇代谢;低密度脂蛋白胆固醇;低密度脂蛋白受体;前蛋白转化酶枯草溶菌素 9

**[中图分类号]** R 972.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2017)11-1425-07

### Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 as a new target of anticholesteremic agent: an update

LI Hao, TAO Long-xiao, ZHANG Wei-ping\*

Department of Pathophysiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** Statins are mainly used to reduce the content of low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) and to prevent cardiovascular disease, but its clinical efficacy and the tolerance of body are still uncertain. Human proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9), a member of pre-protein convertase family, is mainly produced in the liver and then released into blood, and plays an important role in regulating plasma LDL-C levels by promoting the degradation of low-density lipoprotein receptor (LDLR) in the liver. Both gain-of-function- and loss-of-function-mutation of PCSK9 have great impact on circulating LDL-C levels and the risk of cardiovascular diseases. Statins can up-regulate the expression of PCSK9 through negative feedback regulation by decreasing hepatic cholesterol. As a result, PCSK9 can reduce the efficiency of statins by promoting the degradation of LDLR; therefore inhibiting PCSK9 is expected to be an effective treatment for hypercholesterolemia. In this paper we reviewed the function of PCSK9 in cholesterol metabolism and its clinical application.

**[Key words]** cholesterol metabolism; low-density lipoprotein-cholesterol; low-density lipoprotein receptors; proprotein convertase subtilisin/kexin type 9

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(11): 1425-1431]

随着社会经济的发展和生活方式的改变,心血管疾病已经成为导致发达国家和发展中国家人民死亡的主要病因之一。低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)是心血管疾病发展的独立危险因素,降低 LDL-C 对防治心血管事件具有重要意义<sup>[1]</sup>。在过去的 20 年里,使用他汀类药物降低 LDL-C 已经成为降低心血管疾病患病

率和死亡率的主要方法。然而,他汀类药物存在着疗效和耐受性等方面的不足。部分患者,如家族性高胆固醇血症的患者,即使服用可耐受的最大剂量他汀类药物,LDL-C 仍不能达到目标值<sup>[2]</sup>。其次,一些患者由于各种原因根本不能耐受或者仅能服用小剂量他汀类药物。此外,由于不良反应等原因,约 12%服用他汀类药物的患者不能坚持长期服药<sup>[3]</sup>。

**[收稿日期]** 2017-04-25 **[接受日期]** 2017-06-24

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(“973 计划”,2013CB530603),国家自然科学基金(31730042)。Supported by National Program on Key Basic Research (“973 Project”, 2013CB530603) and National Natural Science Foundation of China (31730042)。

**[作者简介]** 李昊,硕士生。E-mail: jz\_lihao@163.com

\*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81871018, E-mail: wzhang@smmu.edu.cn

因此,急需寻找新的降胆固醇药物。人类前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9) 是一种新发现的前蛋白转化酶 (proprotein convertases, PCs), 可促进低密度脂蛋白受体 (low-density lipoprotein receptor, LDLR) 降解, 从而使血 LDL-C 升高。PCSK9 抑制剂可减少细胞表面 LDLR 降解, 增加 LDL-C 摄取, 具有降低血 LDL-C 的作用, 还可增加他汀类药物的疗效, 可望成为一类新的降 LDL-C 药物。

### 1 PCSK9 的分子生物学基础

2003 年, Seidah 等首先发现 PCSK9 基因。此后不久, Abifadel 等<sup>[4]</sup>发现 PCSK9 突变可导致家族性高胆固醇血症。PCSK9 属于 PCs。PCs 是一类 Ca<sup>2+</sup> 依赖的丝氨酸内切酶, 目前为止, 该家族在哺乳类动物中共有 9 个成员, 分别是 PC1/3、PC2、弗林蛋白酶 (Furin)、PC4、PC5/6、PACE4 和 PC7 以及 2 个非碱性氨基酸特异性的转化酶 SKI-1/S1P 和 NARC-1/PCSK9<sup>[5]</sup>。PCs 的结构分为信号肽、前肽区、催化区、中间区和胞质区。

PCSK9 基因可编码 692 个氨基酸。在最初合

成时, PCSK9 是一种相对分子质量为 73 000 的酶原, 主要由信号肽、前片段、催化结构域以及富含半胱氨酸和组氨酸的羧基末端结构域组成。PCSK9 通过在 Val-Phe-Ala-Gln ↓ Ser-Ile-Pro 处进行分子内自剪切形成了一个相对分子质量为 14 000 的前片段和一个相对分子质量为 63 000 的成熟 PCSK9。剪切后的前片段仍然与其催化区非共价连接。分泌的 PCSK9 作为分子伴侣而不是酶发挥作用<sup>[6]</sup>。到目前为止, PCSK9 作为内切酶的底物只有它自身。

### 2 PCSK9 在胆固醇代谢中的作用

2.1 PCSK9 与 LDLR PCSK9 调节 LDLR 降解有细胞外途径和细胞内途径两种方式, 前者是主要途径。细胞外途径中, PCSK9 从反面高尔基体管网状结构 (trans-Golgi network, TGN) 中分泌出胞, 与 LDLR 结合后内吞至内体, 最后在溶酶体中被降解<sup>[7]</sup>。细胞内途径中, 从 TGN 直接分泌至细胞质的 PCSK9 与 LDLR 在细胞内结合, 进入溶酶体降解<sup>[8]</sup> (图 1)。PCSK9-LDLR 经溶酶体降解的途径并不涉及泛素化, 也与蛋白酶体和自噬途径无关<sup>[9]</sup>。PCSK9 可以形成二聚体或三聚体发挥作用, 这使其促 LDLR 降解活性明显增强<sup>[10]</sup>。

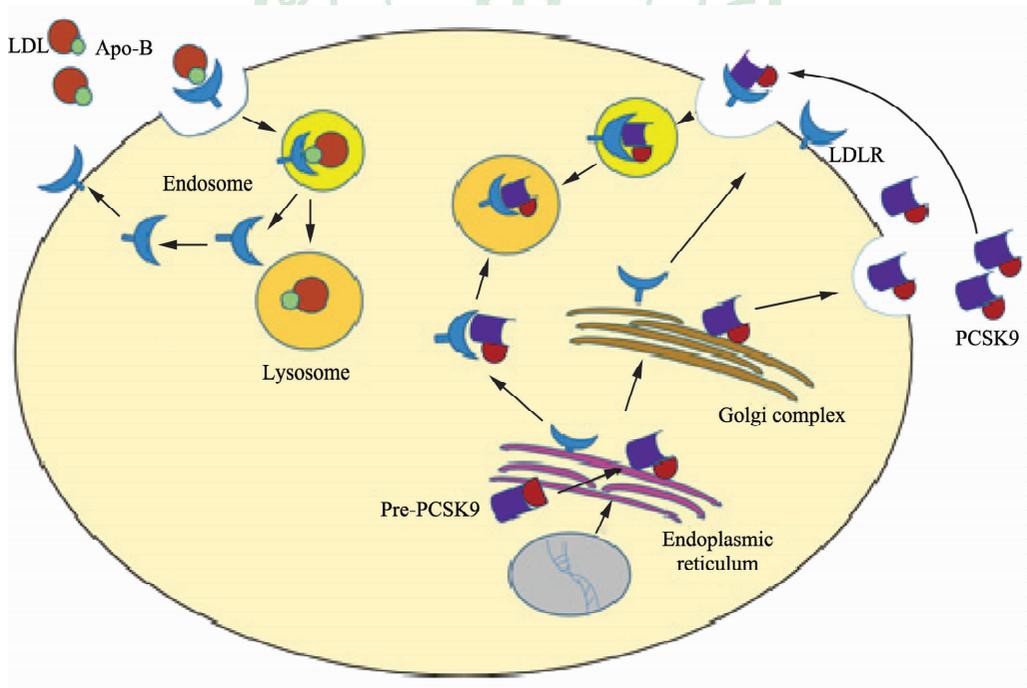


图 1 PCSK9 调节肝脏 LDLR

Fig 1 Regulation of hepatic LDLR expression by PCSK9

The major part of circulating LDL-C is removed from the plasma by hepatic uptake, which is mediated via transmembrane LDLR that internalizes bound LDL particles by endocytosis; PCSK9 undergoes intramolecular autocatalytic processing in the endoplasmic reticulum to form a prodomain and mature PCSK9. And then autocatalytic prodomain closely attaches to the catalytic domain of PCSK9. PCSK9 is secreted in plasma, where it binds the epidermal growth factor-like domain of the LDLR. The LDLR-PCSK9 complex in both intracellular and extracellular PCSK9 is directed to lysosomal degradation. LDL: Low-density lipoprotein; LDL-C: Low-density lipoprotein-cholesterol; Apo-B: Apolipoprotein-B; PCSK9: Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9; LDLR: Low-density lipoprotein receptor

PCSK9 除了促进 LDLR 的降解外,也可以在网质网中与 LDLR 相互作用。研究发现,在内质网中,PCSK9 以分子伴侣的形式与 LDLR 结合,促进 LDLR 向高尔基体转运并在高尔基体中获得其成熟所需的碳水化合物残基。另一方面,与 LDLR 的结合有助于 PCSK9 前体的自我剪切<sup>[11]</sup>。

2.2 PCSK9 与载脂蛋白 E 受体 2 (apolipoprotein E receptor 2, ApoER2) 和 VLDL 受体 (very low-density lipoprotein receptor, VLDLR) 与 LDLR 相似,ApoER2 和 VLDLR 含有一个高度保守的表皮生长因子样结构域 A (epidermal growth factor-like domain A, EGF-A)。PCSK9 可促进这两种受体的降解,而且这种作用并不依赖于 LDLR。ApoER2 存在于中枢神经系统、睾丸和胎盘中,VLDLR 存在于游离脂质丰富的组织,如脑和心脏等。抑制 PCSK9 会增加这两种受体的数量,对于 ApoER2 而言这可能有助于保护脑血管<sup>[12]</sup>,而对于 VLDLR 而言,这可能会增加脂肪细胞对脂质的摄取<sup>[13]</sup>。

2.3 PCSK9 与 LDLR 相关蛋白 1 (LDLR-related protein 1, LRP1) LRP1 是一种结构和功能与 LDLR 高度相似的 LDLR 家族成员,可与至少 40 种配体结合。LRP1 参与吞噬细胞清除细菌毒素和凋亡细胞碎片等颗粒过程中的运输和溶酶体降解,对炎症反应具有调节作用<sup>[14]</sup>。PCSK9 参与 LRP1 的降解。研究显示,在感染性休克小鼠模型中,PCSK9 敲除或使用 PCSK9 抑制剂可明显改善预后;脓毒败血症的临床回顾性研究证据也显示,PCSK9 活性与炎症反应、生存率之间存在相关关系<sup>[15]</sup>。

2.4 PCSK9 与 CD36 作为脂质转运蛋白,CD36 在多种组织细胞中高表达。体外实验发现,PCSK9 对 CD36 的调节作用因细胞种类而异。在小肠上皮细胞系中,PCSK9 可以上调 CD36 表达,促进食物性胆固醇的摄取<sup>[16]</sup>;在肝细胞和肾脏细胞系中,PCSK9 可直接诱发 LDLR 非依赖性的 CD36 降解;在小鼠脂肪细胞中,PCSK9 可促进 CD36 降解。PCSK9 敲除可增强肝脏和脂肪组织的脂肪酸摄取能力、升高肝脏三酰甘油水平<sup>[17]</sup>。

### 3 PCSK9 基因表达的转录调节机制

参与 PCSK9 基因转录调节的转录因子和共作用分子主要包括固醇调节元件结合蛋白 2 (sterol response element binding protein 2, SREBP2)、肝细胞核因子 (hepatocyte nuclear factor, HNF)1 $\alpha$  等。

3.1 SREBP2 SREBP2 主要调节与固醇合成和摄取相关基因的表达,包括固醇合成的限速酶 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A, HMG-CoA) 还原酶、LDLR 和 PCSK9 等。在细胞内低胆固醇水平的状态下,SREBP 经过蛋白水解变成活性形式<sup>[18]</sup>。他汀类药物通过抑制 HMG-CoA 还原酶抑制胆固醇合成,从而激活 SREBP2、上调肝脏 LDL 表达和对血清 LDL-C 的摄取。但 SREBP2 激活导致 PCSK9 水平升高,使 LDLR 降解增加,从而削弱了他汀类药物的作用<sup>[19]</sup>。研究表明,SREBP2 通过 PCSK9 启动子区域的固醇调节元件 (sterol regulatory element, SRE) 发挥作用<sup>[20]</sup>。SREBP2 同时激活 PCSK9 和 LDLR,使 PCSK9 作为一种对抗的机制参与 SREBP2 调节通路,与 LDLR 共同维持细胞内胆固醇的稳态。另外,SREBP1 也可激活 PCSK9 基因转录,在肝脏中主要是 SREBP2 对 PCSK9 起调节作用<sup>[20]</sup>。

3.2 HNF1 $\alpha$  PCSK9 近端启动子有 3 个高度保守的序列: SRE1、SP1 和 HNF1 $\alpha$  结合位点,其中 HNF1 $\alpha$  位点位于 SP1 与 SRE1 之间。除 SREBP2 以外,HNF1 $\alpha$  对 PCSK9 的基因转录也具有重要的激活作用,并且二者有协同作用;而 SP1 对 PCSK9 的调节作用较弱<sup>[20]</sup>。HNF1 有 HNF1 $\alpha$  和 HNF1 $\beta$  两种亚型,调节 PCSK9 的主要是 HNF1 $\alpha$ <sup>[21]</sup>。黄连素可通过降低 SREBP2 和 HNF1 $\alpha$  的活性下调 PCSK9 表达<sup>[21]</sup>,而胰岛素可通过雷帕霉素复合体 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 信号通路下调 HNF1 含量,从而降低 PCSK9 的转录<sup>[22]</sup>。最近的研究发现,用雌激素或者特定的兴奋剂激活 G 蛋白偶联雌激素受体 1 (G protein-coupled estrogen receptor 1, GPER1) 可通过 HNF1 $\alpha$  途径降低 PCSK9 转录及蛋白表达,但对 LDLR 的 mRNA 表达没有影响,从而增加了 LDLR 含量及其对 LDL-C 的摄取<sup>[23]</sup>,这可能与携带 GPER 获能性突变女性的 LDL-C 水平较低有关。

3.3 其他调节因子 过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ , PPAR $\alpha$ ) 可以通过抑制 PCSK9 基因转录以及增加弗林蛋白酶/PC5/6 来抑制 PCSK9,而 PPAR $\gamma$  则可增加 PCSK9 在肝细胞中的表达。其他可以抑制 PCSK9 的有法尼醇 X 受体 (farnesoid X receptor, FXR) 和长寿蛋白 1/6 (sirtuins 1/6, SIRT1/6);对 PCSK9 有促进作用的有肝 X 受体 (liver X receptor, LXR)、组蛋白核因子 P (histone nuclear factor P, HINFP)、脂肪组织源性

脂肪因子和抵抗素等。

#### 4 PCSK9 基因突变与胆固醇代谢

PCSK9 突变对胆固醇代谢的影响可以分为功能获得性突变(gain of function, GOF)和功能缺失性突变(loss of function, LOF)。在转基因小鼠中过表达人 PCSK9 可引起高胆固醇血症<sup>[24]</sup>,而 PCSK9 基因敲除小鼠的 LDL-C 水平很低<sup>[4]</sup>。在 PCSK9 无义突变人群中,血 LDL-C 水平下降了 40%<sup>[25]</sup>。Y142X 和 C679X 是 PCSK9 的两种主要 LOF 变异类型,表现出家族性低 LDL-C 水平,提示是 LOF<sup>[25]</sup>。另外一些研究鉴定出了罕见的错义和非编码 PCSK9 LOF 变异,它们也表现出较低的 LDL-C 水平<sup>[26]</sup>。在一项关于社区动脉粥样硬化危险因素的研究中,发现携带 PCSK9 LOF 变异的人群中,血 LDL-C 水平较无变异者低 40%,15 年的随访中,这些携带 PCSK9 变异基因的人患冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary atherosclerotic heart disease, CHD)的风险下降了约 88%<sup>[27]</sup>。这种 PCSK9 LOF 变异与低 LDL-C 之间的关系以及低 LDL-C 与 CHD 之间的关系,使得 PCSK9 成为一个潜在的药物靶点<sup>[28]</sup>。

人类 PCSK9 的 GOF 变异通过多种特有的机制在分子水平上发挥作用,但最终都会导致 PCSK9 的表达量或者活性增加,并增加 LDLR 的降解<sup>[29]</sup>。同样,LOF 变异也会导致循环中 PCSK9 水平降低,肝细胞表面 LDLR 密度增加。LOF 变异主要出现在蛋白质的催化区,但也有报道会出现在前结构域、C 端和 P-结构域<sup>[30-31]</sup>。这种变异大多会降低或者抑制 PCSK9 合成,或者阻断运输导致分泌减少<sup>[31]</sup>。例如,Y142X 变异会导致无义介导的 RNA 衰变,L253F 会阻碍 PCSK9 的自剪切,抑制其分泌<sup>[14]</sup>。PCSK9 LOF 变异会降低循环中的 PCSK9 含量,阻止或者减弱其与 LDLR 的相互作用,减少 LDLR 在溶酶体中的降解,增加了 LDLR 的循环次数和寿命,并降低循环 LDL-C 水平<sup>[29]</sup>。虽然 GOF 变异在人群中很少出现,但对家族性和杂合子的 GOF 变异研究显示,这些携带者早期发生 CHD 的危险增加。而极其稀少的纯合型 GOF 变异携带者,其血胆固醇水平更高<sup>[32]</sup>。

#### 5 PCSK9 抑制剂的分类

PCSK9 在胆固醇代谢中的重要作用使其成为新的药物靶点,PCSK9 抑制剂分为 PCSK9 的单克隆抗体和非抗体型抑制剂,后者包括小干扰 RNA

(small interfering RNA, siRNA)、反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASO)、模拟肽、小分子抑制剂等。

5.1 单克隆抗体 PCSK9 的单克隆抗体抑制剂于 2009 年被首次发现,它也是最常见的 PCSK9 抑制剂。这些单克隆抗体与 PCSK9 上和 LDLR 作用的区域结合,通过抑制二者之间的相互作用抑制 LDLR 的降解,从而提高肝细胞中 LDLR 的数量并最终使循环中导致动脉粥样硬化的脂蛋白减少。首个中和性的抗 PCSK9 抗体在小鼠和灵长类动物中使得肝细胞表面 LDLR 表达增加,并使血中 LDL-C 水平降低了大约 30%<sup>[33]</sup>。其他类型的抗体也使 LDL-C 下降了大约 20%~50%不等,这种作用是剂量依赖性的<sup>[34]</sup>。Alirocumab 和 evolocumab 是仅有的 2 个已在美国和欧盟被批准的人单克隆抗体药物,会在最大程度上降低针对这些抗体的免疫反应<sup>[35]</sup>。

另外 2 种 PCSK9 抗体 bococizumab 和 LY3015014 正在研发中<sup>[35]</sup>。其中 LY3015014 与 PCSK9 结合的位点不同于其他抗体,LY3015014 对 PCSK9 的内源性降解途径没有影响;而在 LY3015014-PCSK9 复合体被降解之前,LY3015014 就会从这个复合体解离下来,这些特性会延长其作用时间,增加患者的顺从性<sup>[36]</sup>。

5.2 PCSK9 的非抗体型抑制剂 与单克隆抗体不同,非抗体型抑制剂既可以在细胞外发挥作用,也可以在细胞内发挥作用,并且可以通过口服或者接种疫苗来发挥作用。其方便的使用方式以及可能对 PCSK9 更强的抑制作用,使其有可能取代 PCSK9 单克隆抗体成为主要的 PCSK9 抑制剂。

5.2.1 siRNA 在研究中发现,PCSK9 的 LOF 变异可以抑制其在肝细胞中的分泌,以及 PCSK9<sup>-/-</sup>小鼠表现出的低胆固醇血症,使得 PCSK9 的合成成为药物治疗的一个可能靶标。siRNA 是一种短的双链 RNA 分子,可直接导致特定的 mRNA 分子降解<sup>[37]</sup>。通过用脂质作为载体,使其进入肝细胞,从而实现静脉或者皮下注射 siRNA 抑制体内 PCSK9 的产生,降低细胞内外 PCSK9 水平。抗 PCSK9 的 siRNA 治疗方法与单克隆抗体一样,在提高肝细胞 LDLR 密度与降低血 LDL-C 水平方面的效果类似<sup>[38]</sup>。而且,这些治疗方法也具有较好的耐受性。在 PCSK9 或者 LDL-C 水平很低时,也并没有观察到不良影响。有一种皮下注射的 siRNA 产品正处于 I 期临床试验中<sup>[39]</sup>。

5.2.2 ASO ASO 通过直接与 mRNA 结合干扰

转录, ASO 治疗可以从源头上抑制 PCSK9 的合成, 同时降低其细胞内外水平。在临床动物模型研究中, 静脉注射抗 PCSK9 ASO 可以使 LDL-C 水平降低 32%~38%, 并且这种作用会持续 2~4 周<sup>[40]</sup>。人抗 PCSK9 ASO 治疗 2 周后, LDL-C 水平最多可以降低 24%, 然而, 与安慰剂组相比, 其急性肾损伤率增加<sup>[41]</sup>。另外, 锁核苷酸 ASO 比 ASO 拥有更高的亲和力, 有潜在的应用前景<sup>[42]</sup>。

5.2.3 模拟肽 模拟肽是一种模仿 LDLR 上与 PCSK9 结合的 EGF-A 的抑制剂。在 HepG2 细胞中, 合成的 EGF-A 肽类似物与 LDLR 结合, 可以抑制 PCSK9 介导的 LDLR 降解, 这种抑制作用是剂量依赖性的<sup>[24]</sup>。另外, PCSK9 的片段也可以与 PCSK9 竞争性结合 LDLR, 这成为另一种可选择的方法。

5.2.4 小分子抑制剂 小分子是一类可以与靶蛋白、DNA 或者 RNA 结合并抑制靶标生物学功能的复合物。这些小分子比单克隆抗体和 siRNA 更有优势, 因为它们可以口服并且更便宜。理论上, 小分子抑制剂可以在任何地方与 PCSK9 序列反应, 并影响其自剪切过程, 以及分泌和(或)与 LDLR 的反应。在应用小分子抑制剂的过程中存在两个问题, 一是 PCSK9 的活性与 LDLR 的降解无关, 二是其催化三聚体与其他许多 PCs 相似, 这影响了其作用的特异性。此外, PCSK9 与小分子抑制剂相互作用是比较困难的, 因为其表面并没有可以促进特异性结合的结合口袋<sup>[43]</sup>。因此, 小分子抑制剂的发展较慢。

## 6 PCSK9 抑制剂的临床应用

PCSK9 抑制剂中应用比较成熟的是 PCSK9 单克隆抗体, 其已被证明在应用单药治疗后可有效降低血液循环中的 LDL-C 水平, 也可以作为他汀类药物的补充药物<sup>[44]</sup>。关于 PCSK9 抑制剂(alirocumab 和 evolocumab)安全性和有效性的主要研究 ODYSSEY LONG TERM、OSLER-1、OSLER-2 于 2015 年发表, 根据这些和其他一些研究结果, 美国国家脂质学会(National Lipid Association, NLA)发表了使用 PCSK9 抑制剂的建议(2015 版)。NLA 根据 2016 年发表的一项通过血管超声评估粥样斑块体积及退化程度的试验<sup>[45]</sup>和 2017 年发表的一项关于心血管疾病预后结果的试验<sup>[46]</sup>的结果更新了 2015 版建议, 发表了 2017 版<sup>[44]</sup>。新版主要推荐 PCSK9 抑制剂适合以下 4 种情况:(1)患有稳定性动脉粥样硬化性心血管疾病(atherosclerotic cardiovascular disease, ASCVD)的患者可以考虑使

用 PCSK9 抑制剂来降低 ASCVD 的危险因素;(2)患有进展性 ASCVD 的患者可以使用 PCSK9 抑制剂进一步降低 LDL-C 水平;(3)表型家族性高胆固醇血症, 预治疗后 LDL-C $\geq$ 1 900 mg/L;(4)极高危且他汀类药物不耐受者<sup>[44]</sup>。

## 7 展望

在 15 年的时间里, 研究者们对 PCSK9 的了解已经有了一定的认识, 但对其许多机制仍不够清楚, 人群中自然存在的 PCSK9 LOF 变异以及 PCSK9 在胆固醇代谢中的作用, 使 PCSK9 抑制剂有望成为新的降胆固醇的药物。然而, 任何一种新药物从研发到临床应用都需要面对各种困难, 目前以 PCSK9-LDLR 为靶点的许多新药仍在临床试验中, 其中包括一些 PCSK9 抑制剂在糖尿病中作用的实验, 随着对 PCSK9 病理生理机制认识的不断加深, 其必将为临床治疗带来更大的益处。

## [参考文献]

- [1] BOEKHOLDT S M, ARSENAULT B J, MORA S, PEDERSEN T R, LAROSA J C, NESTEL P J, et al. Association of LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B levels with risk of cardiovascular events among patients treated with statins: a meta-analysis[J]. JAMA, 2012, 307: 1302-1309.
- [2] BRAAMSKAMP M J A M, LANGSLET G, MCCRINDLE B W, CASSIMAN D, FRANCIS G A, GAGNÉ C, et al. Efficacy and safety of rosuvastatin therapy in children and adolescents with familial hypercholesterolemia: results from the CHARON study[J]. J Clin Lipidol, 2015, 9: 741-750.
- [3] TOTTH P P, HARPER C R, JACOBSON T A. Clinical characterization and molecular mechanisms of statin myopathy [J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2008, 6: 955-969.
- [4] ABIFADEL M, VARRET M, RABÉS J P, ALLARD D, OUGUERRAM K, DEVILLERS M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia [J]. Nat Genet, 2003, 34: 154-156.
- [5] SEIDAH N G. The proprotein convertases, 20 years later[J]. Methods Mol Biol, 2011, 768: 23-57.
- [6] LI J, TUMANUT C, GAVIGAN J A, HUANG W J, HAMPTON E N, TUMANUT R, et al. Secreted PCSK9 promotes LDL receptor degradation independently of proteolytic activity[J]. Biochem J, 2007, 406: 203-207.
- [7] LEREN T P. Sorting an LDL receptor with bound PCSK9

- to intracellular degradation [J]. *Atherosclerosis*, 2014, 237: 76-81.
- [8] SEIDAH N G, PRAT A. The biology and therapeutic targeting of the proprotein convertases [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11: 367-383.
- [9] WANG Y, HUANG Y, HOBBS H H, COHEN J C. Molecular characterization of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9-mediated degradation of the LDLR [J]. *J Lipid Res*, 2012, 53: 1932-1943.
- [10] FAN D, YANCEY P G, QIU S, DING L, WEEBER E J, LINTON M F, et al. Self-association of human PCSK9 correlates with its LDLR-degrading activity [J]. *Biochemistry*, 2008, 47: 1631-1639.
- [11] STRØM T B, TVETEN K, LEREN T P. PCSK9 acts as a chaperone for the LDL receptor in the endoplasmic reticulum [J]. *Biochem J*, 2014, 457: 99-105.
- [12] KYSENIUS K, MUGGALLA P, MÄTLIK K, ARUMÄE U, HUTTUNEN H J. PCSK9 regulates neuronal apoptosis by adjusting ApoER2 levels and signaling [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69: 1903-1916.
- [13] ROUBTSOVA A, MUNKONDA M N, AWAN Z, MARCINKIEWICZ J, CHAMBERLAND A, LAZURE C, et al. Circulating proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) regulates VLDLR protein and triglyceride accumulation in visceral adipose tissue [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31: 785-791.
- [14] ZHAO Z, TUAKLI-WOSORNU Y, LAGACE T A, KINCH L, GRISHIN N V, HORTON J D, et al. Molecular characterization of loss-of-function mutations in PCSK9 and identification of a compound heterozygote [J]. *Am J Hum Genet*, 2006, 79: 514-523.
- [15] WALLEY K R, THAIN K R, RUSSELL J A, REILLY M P, MEYER N J, FERGUSON J F, et al. PCSK9 is a critical regulator of the innate immune response and septic shock outcome [J/OL]. *Sci Transl Med*, 2014, 6: 258ra143. doi: 10.1126/scitranslmed.3008782.
- [16] LEVY E, BEN DJOUDI OUADDA A, SPAHIS S, SANE A T, GAROFALO C, GRENIER É, et al. PCSK9 plays a significant role in cholesterol homeostasis and lipid transport in intestinal epithelial cells [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 227: 297-306.
- [17] DEMERS A, SAMAMI S, LAUZIER B, DES ROSIERS C, NGO SOCK E T, ONG H, et al. PCSK9 induces CD36 degradation and affects long-chain fatty acid uptake and triglyceride metabolism in adipocytes and in mouse liver [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35: 2517-2525.
- [18] LAGACE T A. PCSK9 and LDLR degradation: regulatory mechanisms in circulation and in cells [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2014, 25: 387-393.
- [19] DUBUC G, CHAMBERLAND A, WASSEF H, DAVIGNON J, SEIDAH N G, BERNIER L, et al. Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24: 1454-1459.
- [20] JEONG H J, LEE H S, KIM K S, KIM Y K, YOON D, PARK S W. Sterol-dependent regulation of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 expression by sterol-regulatory element binding protein-2 [J]. *J Lipid Res*, 2008, 49: 399-409.
- [21] LI H, DONG B, PARK S W, LEE H S, CHEN W, LIU J. Hepatocyte nuclear factor 1alpha plays a critical role in PCSK9 gene transcription and regulation by the natural hypocholesterolemic compound berberine [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284: 28885-28895.
- [22] AI D, CHEN C, HAN S, GANDA A, MURPHY A J, HAEUSLER R, et al. Regulation of hepatic LDL receptors by mTORC1 and PCSK9 in mice [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122: 1262-1270.
- [23] HUSSAIN Y, DING Q, CONNELLY P W, BRUNT J H, BAN M R, MCINTYRE A D, et al. G-protein estrogen receptor as a regulator of low-density lipoprotein cholesterol metabolism: cellular and population genetic studies [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35: 213-221.
- [24] MAXWELL K N, BRESLOW J L. Adenoviral-mediated expression of Pcsk9 in mice results in a low-density lipoprotein receptor knockout phenotype [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 7100-7105.
- [25] COHEN J, PERTSEMLIDIS A, KOTOWSKI I K, GRAHAM R, GARCIA C K, HOBBS H H. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9 [J]. *Nat Genet*, 2005, 37: 161-165.
- [26] KOTOWSKI I K, PERTSEMLIDIS A, LUKE A, COOPER R S, VEGA G L, COHEN J C, et al. A spectrum of PCSK9 alleles contributes to plasma levels of low-density lipoprotein cholesterol [J]. *Am J Hum Genet*, 2006, 78: 410-422.
- [27] COHEN J C, BOERWINKLE E, MOSLEY T H Jr, Hobbs H H. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease [J]. *N Engl J Med*, 2006, 354: 1264-1272.
- [28] STENDER S, TYBJAERG-HANSEN A. Using human genetics to predict the effects and side-effects of

- drugs[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2016, 27: 105-111.
- [29] SEIDAH N G, AWAN Z, CHRÉTIEN M, MBIKAY M. PCSK9: a key modulator of cardiovascular health [J]. *Circ Res*, 2014, 114: 1022-1036.
- [30] ABIFADEL M, ELBITAR S, EL KHOURY P, GHALEB Y, CHÉMALY M, MOUSSALLI M L, et al. Living the PCSK9 adventure: from the identification of a new gene in familial hypercholesterolemia towards a potential new class of anticholesterol drugs[J/OL]. *Curr Atheroscler Rep*, 2014, 16: 439. doi: 10.1007/s11883-014-0439-8.
- [31] MAYNE J, DEWPURA T, RAYMOND A, BERNIER L, COUSINS M, OOI T C, et al. Novel loss-of-function PCSK9 variant is associated with low plasma LDL cholesterol in a French-Canadian family and with impaired processing and secretion in cell culture[J]. *Clin Chem*, 2011, 57: 1415-1423.
- [32] ALVES A C, ETXEBARRIA A, MEDEIROS A M, BENITO-VICENTE A, THEDREZ A, PASSARD M, et al. Characterization of the first PCSK9 gain of function homozygote[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 66: 2152-2154.
- [33] CHAN J C, PIPER D E, CAO Q, LIU D, KING C, WANG W, et al. A proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 neutralizing antibody reduces serum cholesterol in mice and nonhuman primates[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 9820-9825.
- [34] ZHANG L, McCABE T, CONDRA J H, NI Y G, PETERSON L B, WANG W, et al. An anti-PCSK9 antibody reduces LDL-cholesterol on top of a statin and suppresses hepatocyte SREBP-regulated genes[J]. *Int J Biol Sci*, 2012, 8: 310-327.
- [35] McKENNEY J M. Understanding PCSK9 and anti-PCSK9 therapies[J]. *J Clin Lipidol*, 2015, 9: 170-186.
- [36] SCHROEDER K M, BEYER T P, HANSEN R J, HAN B, PICKARD R T, WROBLEWSKI V J, et al. Proteolytic cleavage of antigen extends the durability of an anti-PCSK9 monoclonal antibody[J]. *J Lipid Res*, 2015, 56: 2124-2132.
- [37] LAM J K, CHOW M Y, ZHANG Y, LEUNG S W. siRNA versus miRNA as therapeutics for gene silencing[J/OL]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2015, 4: e252. doi: 10.1038/mtna.2015.23.
- [38] FITZGERALD K, FRANK-KAMENETSKY M, SHULGA-MORSKAYA S, LIEBOW A, BETTENCOURT B R, SUTHERLAND J E, et al. Effect of an RNA interference drug on the synthesis of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) and the concentration of serum LDL cholesterol in healthy volunteers: a randomised, single-blind, placebo-controlled, phase 1 trial[J]. *Lancet*, 2014, 383: 60-68.
- [39] DO R Q, VOGEL R A, SCHWARTZ G G. PCSK9 inhibitors: potential in cardiovascular therapeutics[J/OL]. *Curr Cardiol Rep*, 2013, 15: 345. doi: 10.1007/s11886-012-0345-z.
- [40] GRAHAM M J, LEMONIDIS K M, WHIPPLE C P, SUBRAMANIAM A, MONIA B P, CROOKE S T, et al. Antisense inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces serum LDL in hyperlipidemic mice[J]. *J Lipid Res*, 2007, 48: 763-767.
- [41] VAN POELGEEST E P, SWART R M, BETJES M G, MOERLAND M, WEENING J J, TESSIER Y, et al. Acute kidney injury during therapy with an antisense oligonucleotide directed against PCSK9[J]. *Am J Kidney Dis*, 2013, 62: 796-800.
- [42] LINDHOLM M W, ELMÉN J, FISKEER N, HANSEN H F, PERSSON R, MØLLER M R, et al. PCSK9 LNA antisense oligonucleotides induce sustained reduction of LDL cholesterol in nonhuman primates[J]. *Mol Ther*, 2012, 20: 376-381.
- [43] LO SURDO P, BOTTOMLEY M J, CALZETTA A, SETTEMBRE E C, CIRILLO A, PANDIT S, et al. Mechanistic implications for LDL receptor degradation from the PCSK9/LDLR structure at neutral pH[J]. *EMBO Rep*, 2011, 12: 1300-1305.
- [44] ORRINGER C E, JACOBSON T A, SASEEN J J, BROWN A S, GOTTO A M, ROSS J L, et al. Update on the use of PCSK9 inhibitors in adults: recommendations from an Expert Panel of the National Lipid Association[J]. *J Clin Lipidol*, 2017, 11: 880-890.
- [45] NICHOLLS S J, PURI R, ANDERSON T, BALLANTYNE C M, CHO L, KASTELEIN J J, et al. Effect of evolocumab on progression of coronary disease in statin-treated patients: the GLAGOV randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2016, 316: 2373-2384.
- [46] HADJIPHILIPPOU S, RAY K K. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease [J]. *J R Coll Physicians Edinb*, 2017, 47: 153-155.