

血浆 PCSK9 水平与冠状动脉狭窄程度的相关性研究

吴娜琼¹ 李莎¹ 郭远林¹ 徐瑞霞¹ 张彦¹ 朱成刚¹ 孙静¹ 卿平¹ 李建军¹

【摘要】 目的:验证血浆前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶 Kexin9 型(PCSK9)水平与冠状动脉狭窄程度的相关性。方法:连续入选因心绞痛样胸痛和(或)运动试验阳性接受冠状动脉造影的患者 243 例,收集基线临床资料,采用 ELISA 方法检测血浆 PCSK9 水平。根据标准 Gensini 积分四分位法将患者分为 3 组(低分值组 0~14,135 例;中等分值组 25~53,54 例;高分值组 ≥ 54 ,54 例),对 PCSK9 水平与冠状动脉狭窄程度的相关性进行分析。结果:与低分值组相比,高分值组患者 PCSK9 血浆水平显著升高(208.61、217.43、246.81 ng/ml)。血浆 PCSK9 水平与 Gensini 积分呈正相关($r=0.191$, $P=0.003$)。经多因素回归分析调整传统危险因素后,证实 PCSK9 是冠状动脉狭窄程度的独立危险因素($r=0.139$, $P=0.034$)。另外,经非配对检验后发现多支冠状动脉狭窄的患者其 PCSK9 水平更高($P=0.011$)。结论:血浆 PCSK9 水平与冠状动脉粥样硬化性狭窄的严重程度具有相关性。

【关键词】 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶 Kexin9 型;血脂;动脉粥样硬化;Gensini 积分

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2016.03.012

【中图分类号】 R541.4 **【文献标志码】** A

Correlation between plasma PCSK9 levels and the severity of coronary stenosis

WU Naqiong LI Sha GUO Yuanlin XU Ruixia ZHANG Yan
ZHU Chenggang SUN Jing QING Ping LI Jianjun

(Division of Dyslipidemia, State Key Laboratory of Cardiovascular Disease, Fuwai Hospital, National Center for Cardiovascular Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing, 100037, China)

Corresponding author: LI Jianjun, E-mail: 13901010368@163.com

Abstract Objective: To test the hypothesis that plasma PCSK9 levels may be associated with the severity of coronary stenosis. **Method:** In this cross-sectional study, we consecutively enrolled 243 patients who had angina-like chest pain and/or positive exercise tests and underwent coronary angiography. Baseline clinical characteristics were collected and plasma PCSK9 levels were determined by ELISA. Patients were classified into three groups according to tertiles of standard Gensini score (low group 0~24, $n=135$; intermediate group 25~53, $n=54$; high group ≥ 54 , $n=54$). The relationship between PCSK9 levels and the severity of coronary stenosis were evaluated. **Result:** Patients in high score group had significant elevated PCSK9 concentrations compared with those in low score group (208.61, 217.43, 246.81 ng/ml, respectively). A positive association between plasma PCSK9 and the Gensini score was found ($r=0.191$, $P=0.003$). In multivariate regression analysis, PCSK9 was demonstrated to be an independent factor of coronary stenosis after adjustment for classical risk factors ($r=0.139$, $P=0.034$). In addition, patients with multi-vessel stenosis tended to have higher PCSK9 levels according to nonparametric test ($P=0.011$). **Conclusion:** Plasma PCSK9 levels are associated with the severity of coronary stenosis in patients with atherosclerosis.

Key words proprotein convertase subtilisin/kexin type 9; lipid; atherosclerosis; Gensini score

冠心病是全球第 1 位死因^[1-2]。低密度脂蛋白(LDL-C)是动脉粥样硬化的主要独立危险因素^[1-3]。

前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶 Kexin9 型(PCSK9)基因是在家族性高胆固醇血症患者中发现的第 3 个致病基因,通过与 LDL 受体(LDL-R)的作用在 LDL 代谢过程中发挥重要作用,近 10 余年来引起广泛关注^[4-7]。研究发现,PCSK9 过表达可引起广泛动脉粥

¹ 中国医学科学院 北京协和医学院 国家心血管病中心 阜外医院 血脂异常与心血管疾病诊治中心(北京,100037)
通信作者:李建军, E-mail: 13901010368@163.com

样硬化,而 PCSK9 缺乏则可以降低心血管疾病风险,因此认为 PCSK9 的功能变化参与了心血管疾病的进展以及动脉粥样硬化的过程^[8-12]。近期研究还发现,在应用低剂量他汀治疗的患者中,PCSK9 对于心血管事件的预测作用并不比 LDL-C 的强度弱^[13-14]。不过,PCSK9 与动脉粥样硬化严重程度之间,尤其在稳定冠心病患者中可能的关联性目前尚不清楚。本研究的目的在于探讨冠心病患者血浆 PCSK9 水平与冠状动脉(冠脉)粥样硬化程度(Gensini 积分体系)之间的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

从阜外医院血脂中心的一项注册观察性研究数据库中(目的为在疑诊冠心病患者中筛选具有预后预测价值的生物标记物)连续入选 2012-10—2013-10 的 243 例未接受过调脂治疗的患者,男 173 例,女 70 例,均因心绞痛样胸痛和(或)运动试验阳性以及冠脉狭窄证据而接受冠脉造影。冠脉造影发现至少 1 支血管管腔直径减少 $\geq 25\%$ 的稳定病变开始计算 Gensini 积分^[15]。排除急性冠脉综合征(ACS)、血运重建、心力衰竭(LVEF $< 45\%$)、血细胞计数明显异常(血白细胞 $\leq 3.0 \times 10^9/L$ 或 $\geq 20 \times 10^9/L$)、感染或全身性炎症、甲状腺异常、严重肝/肾功能异常和恶性疾病等。收集临床信息包括现病史、既往史以及冠心病的传统危险因素如吸烟、高血压、血脂异常、肥胖、糖尿病(DM)、既往卒中以及冠心病家族史。高血压定义为血压 $\geq 140/90$ mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)和(或)正在服用降压药物。DM 定义为空腹血糖 ≥ 6.99 mmol/L 或接受胰岛素或口服降糖药物治疗。血脂异常定义为 TC ≥ 5.18 mmol/L 或 TG ≥ 1.70 mmol/L。

该横断面研究符合赫尔辛基宣言并获得阜外医院及国家心血管病中心伦理委员会批准。所有入选患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 实验室检查 所有研究对象均空腹过夜 12 h 后经肘静脉采集外周血标本(EDTA 抗凝)。所有血浆标本保存在 -80°C 以备分析。应用全自动生化分析仪(日立 7150,东京,日本)检测血浆 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 水平。其中 TC、TG 以及 HDL-C 通过酶法检测,LDL-C 则通过 Friedewald 公式计算得出。根据以前的研究,血浆 PCSK9 水平采用高敏、三明治定量酶联免疫方法检测(Quantikine ELISA, R & D Systems Europe Ltd),检测的下限值为 0.096 ng/ml^[11-12]。

1.2.2 冠粥样硬化严重程度 采用标准 Judkin 技术进行多体位冠脉造影,冠脉造影结果需经至少两名介入医生判读。根据 Gensini 积分系统记录扩展的冠脉狭窄程度,根据每支冠脉管腔狭窄程度以

及解剖重要程度计算出 Gensini 积分。冠脉管腔直径狭窄 1%~25%者 Gensini 积分为 1 分,26%~50%者为 2 分,51%~75%者为 4 分,76%~90%者为 8 分,91%~99%者为 16 分,完全闭塞为 32 分。然后以积分乘以病变部位的系数,左主干系数为 5,前降支或回旋支 2.5,中段 1.5,前降支远段或回旋支中远段 1,小血管分支 0.5。根据 Gensini 积分将患者分为 0~24、25~53 及 ≥ 54 分这 3 组^[15]。根据病变血管支数将患者分为 4 个亚组。需接受 PTCA 或冠脉旁路移植的患者其冠脉严重程度在血运重建之前进行评估。

1.3 统计学处理

243 例患者均纳入统计学分析。由于 PCSK9 水平、TG 水平及 Gensini 积分均呈偏态分布,故 PCSK9 和其他参数与 Gensini 积分的相关性检验采用 Spearman 相关分析。分组分布非配对检验用于比较临床指标。Pearson χ^2 检验用于比较连续变量的频率。多因素回归分析用于检验 Gensini 积分是否是独立因子。 $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学显著性。应用 SPSS19.0 软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 基线特征

243 例患者 Gensini 积分在 2~148 分,呈右偏态分布(中位数 20)。血浆 PCSK9 水平在 121.53~477.70 ng/ml,亦呈右偏态(中位数 218.77 ng/ml)。表 1 列出了整个研究对象以及按照 Gensini 积分分出的 0~24、25~53 及 ≥ 54 分这 3 个亚组的临床以及生物学特征。

2.2 PCSK9 与血脂谱、Gensini 积分的相关性

如表 1 所示,BMI 以及 PCSK9 水平随着 Gensini 积分(提示冠脉病变程度)升高而显著增加。年龄、性别、血压、血糖以及血脂等因素在各亚组间无显著差异。不过,与单项血脂谱相比,LDL/HDL 以及 TC/HDL 比值(其提示致动脉粥样硬化脂蛋白与抗动脉粥样硬化脂蛋白之平衡)与冠脉狭窄程度之间呈强相关。

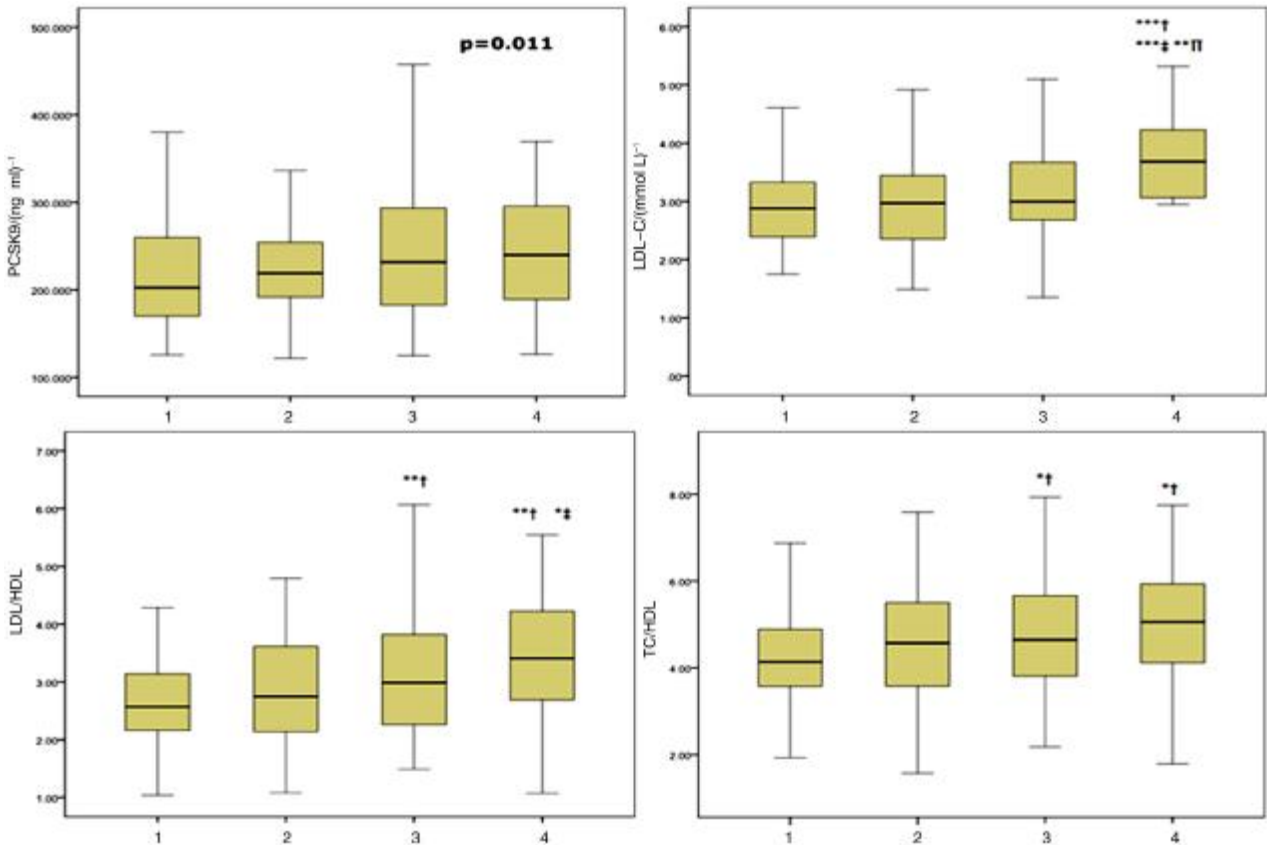
根据冠脉病变支数将患者进行分组,发现 PCSK9 水平、TC、LDL 以及脂质比值在不同亚组之间存在显著差异,而 TG 以及 HDL-C 则无显著差异。结果如图 1。

图 2 显示,PCSK9 以及血脂比值包括 LDL/HDL($r=0.191$, $P=0.003$)、TC/HDL($r=0.197$, $P=0.002$)以及 TC/HDL($r=0.218$, $P=0.001$)与 Gensini 积分呈正相关,但 LDL-C 水平与 Gensini 积分无显著相关性。另外,Gensini 积分与年龄、血糖、血压、TG 以及 TC 水平无相关性,但 BMI($r=0.188$, $P=0.004$)以及 HDL-C($r=-0.204$, $P=0.002$)水平与积分显著相关。多因素回归分析检验冠脉粥样硬化严重程度的独立危险因素,经调整

年龄、性别、BMI、SBP、吸烟、冠心病家族史、血糖、LDL-C、HDL-C 以及脂质比值之后,发现血浆 PC- SK9 水平与 Gensini 积分呈显著相关($\beta=0.139, P=0.034$)。见表 2。

表 1 Gensini 积分亚组患者的基线资料

变量	入选患者 (243 例)	Gensini 积分分组			P 值
		1~24 分(135 例)	25~53 分(54 例)	≥54 分(54 例)	
年龄/岁	57.58±9.78	57.33±9.74	57.02±10.12	58.76±9.63	0.592
男性/例(%)	173(71.2)	94(69.6)	35(64.8)	44(81.5)	0.134
BMI	25.79 ±3.30	25.31±3.21	26.63±3.62	26.18±3.00	0.027
吸烟/例(%)	116(47.7)	68(50.4)	19(35.2)	29(53.7)	0.102
冠心病家族史/例(%)	32(13.2)	15(11.1)	6(11.1)	11(20.4)	0.207
SBP/mmHg	128±16	128±16	128±16	126±14	0.650
DBP/mmHg	77±10	77±10	77±12	76±8	0.835
血糖/(mmol·L ⁻¹)	5.60±1.35	5.54±1.21	5.74±1.53	5.59±1.48	0.631
TG/(mmol·L ⁻¹)	1.57(1.18~2.19)	1.47(1.12~2.00)	1.93(1.36~2.45)	1.52(1.18~2.17)	0.093
TC/(mmol·L ⁻¹)	4.86±1.01	4.75±0.95	4.97±0.95	5.02±1.19	0.167
HDL-C/(mmol·L ⁻¹)	1.12±0.36	1.16±0.39	1.05±0.27	1.09±0.35	0.150
LDL-C/(mmol·L ⁻¹)	3.08±0.84	2.99±0.78	3.13±0.86	3.24±0.96	0.151
LDL-C/HDL-C	2.91±0.97	2.74±0.87	3.12±1.01	3.13±1.08	0.009
TC/HDL-C	4.61±1.30	4.36±1.19	4.97±1.31	4.87±1.43	0.004
PCSK9/(ng·ml ⁻¹)	218.77 (179.84~271.64)	208.61 (170.05~255.19)	217.43 (194.66~256.52)	246.81 (193.38~314.73)	0.001



* $P<0.05$, * * $P<0.01$, * * * $P\leq 0.001$; † 表示与单支冠脉狭窄比较, ‡ 表示与双支冠脉狭窄比较, ‡ 表示与 3 支冠脉狭窄比较。

图 1 PCSK9 及 LDL-C 水平/血脂比值与冠脉病变的比较分析
Figure 1 PCSK9, LDL-C/lipid ratio and coronary lesion

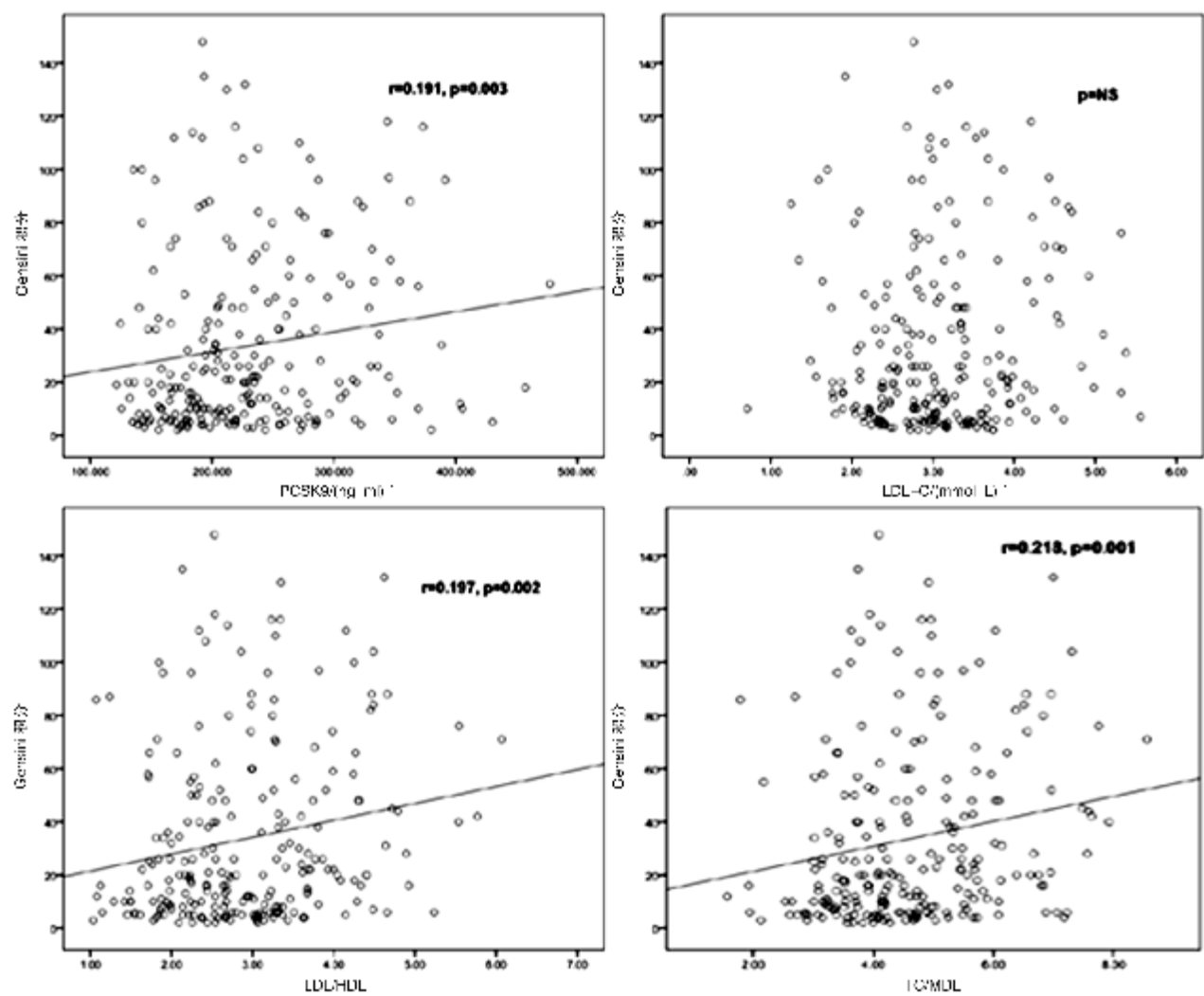


图 2 PCSK9 及 LDL-C 水平/血脂比值与 Gensini 积分的关系
Figure 2 PCSK9, LDL-C/lipid ratio and Gensini score

表 2 多因素回归分析 Gensini 积分与代谢因素包括 PCSK9 的关系

Table 2 Logistic multivariate regression analysis		
变量	β	P 值
BMI	0.153	0.036
SBP	0.112	0.102
血糖	0.003	0.968
TG	-0.092	0.466
TC	0.064	0.894
LDL-C	-0.158	0.791
HDL-C	0.108	0.492
LDL/HDL-C 比值	0.178	0.795
TC/HDL-C 比值	0.120	0.852
PCSK9	0.139	0.034

3 讨论

本研究首次报道 PCSK9 水平与采用 Gensini 积分系统评价的冠脉狭窄程度之间的相关性。既往研究证实了 PCSK9 突变引起的功能变化与动脉粥样硬化程度之间的相关性^[7-8,10]。近期 Lee 等^[16]

在 126 例高血压患者中发现,PCSK9 与颈动脉内膜中膜厚度成独立正相关,因此我们提出假说认为 PCSK9 水平的定量变化可能影响冠脉粥样硬化。本研究显示 PCSK9 水平与冠脉粥样硬化程度呈独立正相关。

PCSK9 是新近发现、治疗动脉粥样硬化前景良好的靶点^[17]。PCSK9 主要通过介导 LDLR 降解,增加 LDL-C 浓度具有促进动脉粥样硬化的作用^[7]。越来越多证据表明,PCSK9 在降解 LDLR 方面的效应不仅对 LDL-C 水平有重要影响,而且对糖代谢^[18]以及其他血脂代谢产生影响^[19-20]。而且有研究表明,PCSK9 可以通过降解 LDLR 之外的机制加速动脉粥样硬化,包括促炎以及促进 ox-LDL 诱导的内皮细胞凋亡^[7]。已有研究发现,PCSK9 在血管生物学方面对炎症和凋亡甚至血压的影响,但有关其临床效应有待进一步研究^[4-7]。我们提出假说认为 PCSK9 在动脉粥样硬化中发挥重要的预测作用,所以 PCSK9 浓度与冠脉粥样硬化严重程度之间的相关性是值得研究的课题。本研

究的新发现提示,PCSK9 可能具有新的生物学机制,影响冠脉粥样硬化程度,该效应独立于代谢因素(包括血脂)之外。PCSK9 与冠脉粥样硬化严重程度之间的关联性有助于更好地制定管理动脉粥样硬化患者的治疗策略。

本研究有以下局限性:首先,该研究是一项横断面研究,仅仅发现 PCSK9 与动脉粥样硬化之间具有相关性,而不是因果关系,不过可以根据本研究结果提出假说以揭示 PCSK9 在冠心病进展方面的可能效应;其次,单中心小样本的研究揭示弱相关性的能力有限,本研究仅在单个稳定冠脉粥样硬化患者队列中证实 PCSK9 与冠心病的严重程度,因此有必要在更广泛冠心病类型以及更广泛狭窄程度的患者队列中进行进一步研究。最后,由于 PTCA 或 CABG 患者在血运重建之后冠脉解剖发生变化而不能计算 Gensini 积分,所以分析时这组患者被剔除。总之,本研究观察到冠脉粥样硬化患者中 PCSK9 与冠脉狭窄程度之间呈独立正相关,该研究为进一步观察血浆 PCSK9 水平在动脉粥样硬化甚至心血管疾病中的生物学效应提供了新的证据。

参考文献

- [1] KULLER L H. Ethnic differences in atherosclerosis, current cardiovascular and lipid metabolism diseases [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2004, 915: 109—113.
- [2] LI J J, LI Y S, FANG C H, et al. Effects of simvastatin within two weeks on anti-inflammatory cytokine interleukin 10 in patients with unstable angina [J]. *Heart*, 2006, 92: 529—530.
- [3] GUO Y L, LIU J, LI J J, et al. A multi-center survey of achieving recommended lipid goals in Chinese patients with coronary artery disease in real world cardiovascular practice [J]. *Int J Cardiol*, 2011, 153: 211—212.
- [4] FARNIER M. PCSK9: From discovery to therapeutic applications [J]. *Arch Cardiovasc Dis*, 2014, 107: 58—66.
- [5] LAMBERT G, SJOUEKE B, CHOQUE B, et al. The PCSK9 decade [J]. *J Lipid Res*, 2012, 53: 2515—2524.
- [6] TAVORI H, FAN D, BLAKEMORE J L, et al. Serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 and cell surface low-density lipoprotein receptor: evidence for a reciprocal regulation [J]. *Circulation*, 2013, 127: 2403—2413.
- [7] URBAN D, PÖSS J, BÖHM M, et al. Targeting the Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 for the Treatment of Dyslipidemia and Atherosclerosis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62: 1401—1408.
- [8] DENIS M, MARCINKIEWICZ J, ZAID A, et al. Gene inactivation of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces atherosclerosis in mice [J]. *Circulation*, 2012, 125: 894—901.
- [9] WU N Q, GUO Y L, XU R X, et al. Acute myocardial infarction in an 8-year old male child with homozygous familial hypercholesterolemia: laboratory findings and response to lipid-lowering drugs [J]. *Clin Lab*, 2013, 59: 901—907.
- [10] JEAN D, GENEVIÈVE D, NABIL G S. The influence of PCSK9 polymorphisms on serum low-density lipoprotein cholesterol and risk of atherosclerosis [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2010, 12: 308—315.
- [11] LIU J, GUO Y L, XU R X, et al. Rapid effects of different lipid-lowering drugs on PCSK9 in humans [J]. *Clin Lipidol*, 2013, 8: 519—524.
- [12] GUO Y L, LIU J, XU R X, et al. Short-term impact of low-dose atorvastatin on serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 [J]. *Clin Drug Invest*, 2013, 33: 877—883.
- [13] CHEN S N, BALLANTYNE C M, GOTTO A M JR, et al. A common PCSK9 haplotype, encompassing the E670G coding single nucleotide polymorphism, is a novel genetic marker for plasma low-density lipoprotein cholesterol levels and severity of coronary atherosclerosis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45: 1611—1619.
- [14] HUIJGEN R, BOEKHOLDT S M, ARSENAULT B J, et al. Plasma PCSK9 Levels and Clinical Outcomes in the TNT (Treating to New Targets) Trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59: 1778—1784.
- [15] SINNING C, LILLPOPP L, APPELBAUM S, et al. Angiographic score assessment improves cardiovascular risk prediction: the clinical value of SYNTAX and Gensini application [J]. *Clin Res Cardiol*, 2013, 102: 495—503.
- [16] LEE C J, LEE Y H, PARK S W, et al. Association of serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 with carotid intima media thickness in hypertensive subjects [J]. *Metabolism*, 2013, 62: 845—850.
- [17] MARIAN A J. PCSK9 as a therapeutic target in atherosclerosis [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2010, 12: 151—154.
- [18] MBIKAY M, SIROIS F, MAYNE J, et al. PCSK9-deficient mice exhibit impaired glucose tolerance and pancreatic islet abnormalities [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584: 701—706.
- [19] ROUBTSOVA A, MUNKONDA M N, AWAN Z, et al. Circulating pro-protein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) regulates VLDL protein and triglyceride accumulation in visceral adipose tissue [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31: 785—791.
- [20] CHOI S, KORSTANJE R. Proprotein convertases in high-density lipoprotein metabolism [J]. *Biomark Res*, 2013, 1: 27.