

• 综述 •

PCSK9 抑制剂的机制及其临床进展*

陆言巧¹ 沈兰¹ 何奔¹

【摘要】 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9(PCSK9)是一类前蛋白转化酶家族蛋白酶 K 亚家族成员,与低密度脂蛋白(LDL)竞争性结合低密度脂蛋白受体(LDL-R),导致机体通过溶酶体降解 LDL 的水平降低,引起外周血 LDL 水平增高,从而引起血脂代谢异常、动脉粥样斑块等一系列病理生理过程,而 PCSK9 抑制剂可以有效地改善 LDL 降解减少的情况,降低机体 LDL 水平。本文系统性地回顾了 PCSK9 及其抑制剂的发现及其作用机制,并对近年来 PCSK9 抑制剂的研究进展及其在心血管系统方面临床应用作一综述。

【关键词】 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 抑制剂;低密度脂蛋白;动脉粥样硬化

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2020.01.003

【中图分类号】 R541.7 **【文献标志码】** A

Mechanism of PCSK9 inhibitor and its clinical progress

LU Yanqiao SHEN Lan HE Ben

(Department of Cardiology, Shanghai Chest Hospital, Shanghai Jiao Tong University; Clinical Research Center, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, 200030, China)

Corresponding author: HE Ben, E-mail: drheben@126.com

Summary The proprotein convertase subtilisin 9 (PCSK9) is a member of pro-protein convertase family. PCSK9 competes with low-density lipoprotein (LDL) for binding to low-density lipoprotein receptor (LDL-R). It reduces the degradation of LDL level through lysosomes and increases the concentration of LDL in peripheral blood. This process causes a series of pathophysiological processes such as abnormal lipid metabolism and atherosclerotic plaque. PCSK9 inhibitors can effectively improve the reduction of LDL degradation and reduce the level of LDL. This article systematically reviews the discovery and mechanism of PCSK9 inhibitors and summarizes the progress of PCSK9 inhibitors in recent years and its clinical application in cardiovascular system.

Key words PCSK9 inhibitor; low density lipoprotein; atherosclerosis

* 基金项目:国家自然科学基金项目(No:81900308);上海交通大学医学院临床研究项目(No:Dly201512)

¹上海交通大学附属胸科医院心内科;上海交通大学医学院临床研究中心(上海,200030)

通信作者:何奔, E-mail: drheben@126.com

[6] Packer M. Epicardial adipose tissue may mediate deleterious effects of obesity and inflammation on the myocardium[J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 71(20): 2360-2372.

[7] Liu Q, Zhang F, Yang M, et al. Increasing Level of Interleukin-1 β in Epicardial Adipose Tissue Is Associated with Persistent Atrial Fibrillation[J]. J Interferon Cytokine Res. 2019 Oct 4. doi:10.1089/jir.2019.0098.

[8] Packer M. Disease-treatment interactions in the management of patients with obesity and diabetes who have atrial fibrillation; the potential mediating influence of epicardial adipose tissue[J]. Cardiovasc Diabetol, 2019, 18(1): 121.

[9] Toczylowski K, Hirnle T, Harasiuk D, et al. Plasma concentration and expression of adipokines in epicardial and subcutaneous adipose tissue are associated with impaired left ventricular filling pattern[J]. J Transl Med, 2019, 17(1): 310.

[10] Vianello E, Dozio E, Bandera F, et al. Dysfunctional EAT thickness may promote maladaptive heart remodeling in CVD patients through the ST2-IL33 system, directly related to EPAC protein expression[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 10331.

[11] Zhao YX, Zhu HJ, Pan H, et al. Comparative proteome analysis of epicardial and subcutaneous adipose tissues from patients with or without coronary artery disease [J]. Int J Endocrinol, 2019, Aug 25. doi: 10.1155/2019/6976712.

[12] 张晗晖, 孟祥彬, 王文光, 等. 社区人群心外膜脂肪体积与冠心病危险因素和冠状动脉钙化积分的关系 [J]. 中华心血管病杂志, 2018, 46(5): 364-369.

[13] Pracon R, Kruk M, Kepka C, et al. Epicardial adipose tissue radiodensity is independently related to coronary atherosclerosis. A multidetector computed tomography study[J]. Circ J, 2011, 75(2): 391-397.

[14] Lu C, Jia H, Wang Z. Association between epicardial adipose tissue and adverse outcomes in coronary heart disease patients with percutaneous coronary intervention[J]. Biosci Rep, 2019, 39(5): BSR20182278.

[15] Packer M. Drugs That ameliorate epicardial adipose tissue inflammation have concordant benefits on atrial fibrillation and on heart failure with a preserved ejection fraction[J]. J Card Fail, 2019, 25(12): 986-1003.

[16] 廖玉华, 杨杰孚, 张健, 等. 代表中国心肌炎心肌病协作组. 舒张性心力衰竭诊断和治疗专家共识 [J]. 临床心血管病杂志, 2020, 36(1): 1-10.

(收稿日期: 2019-12-09)

前蛋白转化酶枯草溶菌素 9(PCSK9)最早被认为是一种神经系统凋亡调控相关的转化酶(NARC-1),主要在肾脏、肝脏和肠道中表达,是分泌性枯草杆菌酶家族的第 9 个成员^[1],属于前蛋白转化酶家族蛋白酶 K 亚家族成员。正常循环中的低密度脂蛋白(LDL)主要通过肝脏中的低密度脂蛋白受体(LDL-R)高度特异性摄取,结合成 LDL/LDLR 复合物,继而通过细胞内吞作用降解^[2]。而 PCSK9 在细胞表面通过与 LDL 竞争性结合 LDL-R,导致溶酶体介导的 LDL 的降解水平降低,从而引起外周血 LDL 水平增高,而血清 LDL 水平的增高往往同血脂代谢异常、动脉粥样斑块等心血管疾病相关。PCSK9 的功能突变可以造成循环血脂代谢的异常,功能获得型突变往往造成高胆固醇血症,而功能缺失型突变往往造成低胆固醇血症^[2]。PCSK9 抑制剂可以有效的改善 LDL 降解减少的情况,降低机体 LDL 水平。

1 PCSK9 的结构及其生物学功能

人 PCSK9 基因位于一号染色体短臂 3 区 2 带 3 亚带上,包含 12 个外显子,编码 692 个蛋白转化酶家族的氨基酸糖蛋白^[3]。PCSK9 基因的启动子区域含有 Sp1 位点,HNF1 位点和两个甾醇反应元件(SRE-1),后者负责通过甾醇反应元件结合蛋白 2 的核转位(SREBP-2)介导 PCSK9 转录的甾醇依赖性调节^[4]。PCSK9 的基本结构包括信号肽、前结构域、催化结构域以及 C-末端结构域。C-末端的富含半胱氨酸的结构域(CRD)位于催化结构域旁边,形成显示清晰假三联体的三叶草形子结构域,CRD 松散地与催化结构域链接,在蛋白酶结构域接触面之间封闭 1450 Å² 的表面积^[5]。而钙原子在 D60 和 T335 的侧链以及 A328, A330, V333 和 C358 的羧基协调下结合于已知的枯草杆菌蛋白酶钙结合位点之一^[5]。PCSK9 前结构域的 C 末端 Gln152 与 His226 形成氢键,阻止底物进一步进入催化位点^[6]。

研究表明,过表达 PCSK9 可以引起低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平的上升^[7],而敲除 PCSK9 则会引起 LDL-R 蛋白水平的增高^[8],但其 mRNA 水平无明显增高,提示在脂质代谢中 PCSK9 是通过翻译后途径下调 LDL-R 来降低循环中的 LDL-C。功能缺失型的突变与 PCSK9 的无义突变或加工、折叠、活性部位异常的突变相关,从而造成 LDL-R 水平的提高^[5],增加 LDL-R 介导的 LDL 降解。例如,功能缺失的 R46L 突变可以使杂合个体的血浆 LDL-C 水平降低 15%^[9]。而功能获得型突变在表型的作用中更加多样化,普遍认为突变增加了对底物的结合亲和力,从而使 PCSK9 分子的活性更大。例如,前结构域 S127R 的突变可以增加结合力或增强结构域对蛋白酶如弗林蛋白酶切割的

敏感性^[5]。目前,在 PCSK9 中已经发现许多功能缺失型突变和功能获得性突变位点。因此,PCSK9 基本结构的改变可以改变其生物学功能,从而为临床的治疗提供靶点以及新的研究方向。

2 PCSK9 及其抑制剂与心血管疾病

流行病学研究证明,高总胆固醇和 LDL-C 水平与冠状动脉疾病(CAD)风险的升高相关,而高密度脂蛋白(HDL)水平的增高则与 CAD 风险的下降相关^[10]。CAD 患者 PCI 术后血脂的控制与支架内再狭窄等不良预后相关^[11]。PCSK9 主要通过其在肝脏胆固醇代谢上的效应诱导动脉粥样硬化^[12]。血浆 PCSK9 可以在动脉斑块中的细胞外基质中自由循环,斑块巨噬细胞和平滑肌细胞都可以分泌 PCSK9 并对其的作用有反应。正常情况下,动脉粥样硬化细胞中的 LDL-R 表达受 PCSK9 的局部浓度调节^[13]。目前有学者认为,稳定型冠心病患者血浆中 PCSK9 水平升高与冠脉病变的严重程度相关^[14]。

粥样斑块中的巨噬细胞可以分为促炎(M1 细胞)和抗炎(M2 细胞)两种类型,促炎型巨噬细胞释放炎症因子,并且通过诱导平滑肌细胞(SMC)的增殖和迁移促成动脉粥样硬化。有研究验证了 PCSK9 对巨噬细胞的促炎作用,其将 THP-1 衍生的巨噬细胞和人原代巨噬细胞暴露于不同浓度的人重组 PCSK9(hPCSK9)^[15],温育 24 h 后,在两种细胞类型中均观察到 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、CXCL2 和 MCP1 mRNA 的显著增加,将 THP-1 衍生的巨噬细胞与过表达 HepG2 的 hPCSK9 共同培养后也观察到了巨噬细胞诱导 TNF- α (2.4 ± 0.5 倍)和 IL-1 β (8.6 ± 1.8 倍)mRNA 的生成^[15]。与野生型相比,hPCSK9 对 LDL-R^{-/-} 小鼠髓巨噬细胞中 TNF- α mRNA 的诱导作用显著受损[LDLR^{-/-}: LDLR^{+/+}, (4.3 ± 1.6)倍: (31.1 ± 6.1)倍],作者还观察到健康成年受试者(男性 533 例,女性 537 例)的 PCSK9 和 TNF- α 血浆水平之间呈正相关($B=8.73, 95\% CI 7.54 \sim 9.93, P < 0.001$)^[15]。类似的研究同样证明了 PCSK9 是通过 LDL-R 相关蛋白 1 或 LRP1(LDLR 家族的另一成员)的作用对斑块巨噬细胞的炎症发挥强烈的调节作用,从而介导其在血管壁中的直接促炎作用,斑块中的 PCSK9 可以降低 LRP1 水平^[16-17],而 LRP1 的缺失可以诱导炎症的发生。

此外,某些刺激物例如 Toll 样受体(TLR)配体(脂多糖,LPS)和干扰素 γ 在体外可以诱导巨噬细胞向 M1 的状态极化^[15],促进炎症的发生。PCSK9 的 CRD 结构域和抵抗素的结构同源^[5],而抵抗素可以通过其羧基端结合到 TLR4 上并且上调 TLR4 的表达,导致 TLR4 信号通路的激活^[18-19]。研究发现^[20],PCSK9 在动脉粥样斑块的形成中作

为一种炎性递质,在高脂饮食的 apoE 敲除小鼠中干扰 PCSK9 可以通过减少血管炎症以及抑制 TLR4/NF- κ B 通路直接抑制动脉粥样硬化而不影响血浆胆固醇水平。

3 PCSK9 抑制剂的临床应用

3.1 单克隆抗体

目前全人源的 evolocumab 单克隆抗体和 alirocumab 单克隆抗体已经被批准用于临床治疗,主要通过皮下注射方式给药。美国 FDA 于 2015 年批准动脉粥样硬化性心血管疾病(ASCVD)患者或接受他汀治疗和饮食控制后仍无法达到理想的 LDL-C 水平的杂合子家族性高胆固醇血症(HeFH)患者使用 PCSK9i 疗法^[21]。有研究报道,在高胆固醇血症患者使用 PCSK9 抑制剂治疗后,高敏 C-反应蛋白水平没有明显变化,但在人单核细胞衍生的巨噬细胞中观察到促炎细胞因子显著减少^[22]。研究表明^[23],同单用他汀类药物对比,联用他汀类药物和 PCSK9 抑制剂治疗患者可以改善冠状动脉钙化的形成。目前,这两种单克隆抗体已经在临床投入使用,在一项纳入了 1 522 例患者的真实世界的研究中,他汀类药物耐药率、心血管并发症及 LDL-C 水平更高且接受了多线治疗的患者在医生的指导下接受了 PCSK9 抑制剂的治疗^[24]。

3.1.1 evolocumab 单克隆抗体

evolocumab 单抗是我国首个上市的 PCSK9 抑制剂,一项纳入 4 955 例患者的系统评价认为其可以有效改善高血脂患者的血脂异常^[25]。推荐的 evolocumab 使用剂量为皮下注射 140 mg 每两周或 420 mg 每月^[26]。evolocumab 和他汀联合治疗比起单独使用他汀治疗可以降低多达 71% 的 LDL-C 水平^[21]。他汀类药物治疗导致的 LDL 降低与血小板反应性的降低有关,目前关于 evolocumab 在除了他汀类药物治疗外对氯吡格雷治疗期间 ASCVD 患者及治疗后血小板反应性增高(HPR)患者的 HPR 率和血小板反应性的影响正在进行临床 IV 期试验(NCT03096288)。另一项研究(NCT03626831)则关注 evolocumab 对血管内皮功能的改善情况,这项研究的结果将为“低水平的 LDL-C 是获得更好的预后的关键”这一概念提供强有力的支持。

无论患者的基线血浆 PCSK9 水平如何,evolocumab 都可以降低 LDL-C 水平。但在纯合子 FH 患者中,治疗效果不如杂合子好。在一项双盲且具有安慰剂对照试验中,evolocumab 降低了 31% 的血浆 LDL-C 水平,当接受 evolocumab 治疗时,具有两个有 LDL-R 等位基因缺陷(定义为正常 LDL 摄取的 2%—25%)的患者血浆 LDL-C 水平降低 47%,等位基因一个缺陷一个阴性(定义为小于正常 LDL 摄取的 2%)的患者血浆 LDL-C 水平

降低 25%,两个等位基因都阴性的患者对治疗没有反应^[27]。另一项对 106 例纯合子 FH 患者进行的 evolocumab 研究显示了相似的结果:一个或多个 LDLR 等位基因缺陷患者中 LDL-C 水平降低 20%,两个等位基因阴性患者 LDL-C 水平无明显降低,ApoB 突变的患者 LDL-C 水平减少 47%,同时杂合具有 PCSK9 功能获得型突变和 LDL-R 阴性等位基因的复合杂合子患者的 LDL-R 减少 6%^[28]。因此,对于纯合子 FH 患者,尤其是 LDLR 阴性等位基因的患者,需要额外的治疗策略。

3.1.2 alirocumab 单克隆抗体

目前推荐的 alirocumab 使用剂量有两种,分别为每 2 周皮下注射 75 mg 或 150 mg,每个月 300 mg^[21]。通常建议较低剂量作为起始剂量,但也可以直接使用较高剂量作为起始剂量,使用高起始剂量时建议在给药间隔的低谷水平(例如起始剂量后第 14 天)监测其对 LDL-C 的影响^[21]。当起始剂量使用 75 mg 时,LDL-C 水平下降 45%~48%,而使用 150 mg 的起始剂量时,LDL-C 的水平下降约 60%^[29-32]。若患者在 4~8 周之后没有获得理想的 LDL-C 水平(<70 mg/dl),剂量可以调整到 150 mg^[29-31]。有研究表明,当患者没有联合使用他汀类药物时,LDL-C 可以降低约 45%^[33],而 alirocumab 和他汀联合治疗可以降低 58% 的 LDL-C 水平^[21]。而在纯合子 FH 患者中,根据患者不同的基因型,用 alirocumab 治疗所观察到的 LDL-C 水平从 7% 上升到 64%^[34]。此外,alirocumab 对冠状动脉(NCT02992301)与外周动脉(NCT02959047)粥样斑块的改善情况的研究已经进入了临床 IV 期试验,而对急性心肌梗死患者 PCI 术后的脂质斑块在应用 alirocumab 后改善情况的研究则处于临床 III 期阶段(PACMAN-AMI),该研究将进一步揭示 PCSK9 抑制剂在急性冠状动脉综合征的防治中的重要作用。

3.2 PCSK9 抑制剂与其他心脏病的临床研究

而除了在冠心病方面,有一项 III 期临床研究(NCT03051360)则关注 PCSK9 抑制剂是否能够控制主动脉瓣狭窄的进展以及在主动脉瓣置换术之前提高其治疗的有效性。此外,III 期试验 EVO-HF(NCT03791593)认为有可能通过 evolocumab 在有缺血病因的低射血分数心衰中严格地控制血脂及冠脉疾病,限制大血管与微血管疾病进展,从而减少心肌损伤所致的肌钙蛋白升高。

4 PCSK9 抑制剂新潜在靶点的研究进展

4.1 分子靶点

近两年来,有许多研究者发现了 PCSK9 抑制剂作用的新潜在靶点,为抗血脂治疗提供了新的思路。EGFA 结构域是 PCSK9 和 LDL-R 的主要结合位点,但由于 PCSK9 上相对平坦的 EGFA 结合

位点难以作为靶标,小分子治疗剂的发展一直受到阻碍。研究^[35]发现了 PCSK9 P螺旋表现出构象灵活性,从而使将该位点作为治疗的靶标成为可能。小肽段可以进入 PCSK9 分子中空出的与 EGFA 结合位点相邻的 N-末端凹槽,在噬菌体展示实验中,EGFA 模拟肽 Pep2-8 用作锚定肽^[35],在结构信息的指导下将鉴定的凹槽结合肽转化为拮抗剂,占用 EGFA 结合位点并抑制 LDLR 结合^[35]。

此外,最新研究表明^[36],肝脏的硫酸乙酰肝素蛋白多糖是 PCSK9 的受体,在 PCSK9 诱导 LDL-R 降解的过程中起重要作用,衬在肝细胞表面的硫酸乙酰肝素蛋白多糖捕获 PCSK9 并促进随后的 PCSK9/LDL-R 复合物形成。硫酸乙酰肝素的结合位点位于 PCSK9 的前结构域,由表面暴露的碱性残基与三硫酸化硫酸乙酰肝素二糖重复相互作用形成。直接拮抗硫酸乙酰肝素位点的硫酸乙酰肝素的类似物和单克隆抗体可以作为潜在的 PCSK9 抑制剂,因此使用硫酸乙酰肝素模拟物靶向 PCSK9 是冠状动脉疾病的潜在治疗策略^[36]。

4.2 基因编辑技术

Momozawa 在日本人群中的 GWAS 研究揭示了 LDLR 和 PCSK9 中的罕见变异通过改变 LDL-C 的水平,使变异的携带者的 LDL-C 水平和心肌梗风险更高,发病年龄更小^[37]。随着近年来基因编辑技术的迅猛发展,使用基因编辑技术沉默 PCSK9 或删除有害的基因突变也成为研究的热门。研究^[38]使用 CRISPR-Cas9 系统在成年小鼠肝脏中敲除了 PCSK9,发现在单次治疗后,PCSK9 抑制作用维持了 24 周,证明了在分裂末期的组织内 CRISPR-Cas9 系统有长期沉默基因表达的潜力。此外,Peranteau 等人的一项关于宫内基因编辑的最新研究认为对于某些先天性遗传疾病出生前进行有效的基因编辑是一种潜在的治疗方法。他们在子宫内评估了病毒载体介导的 CRISPR-Cas9 或碱基编辑器 3 的传递效能,分别在野生型小鼠或 1 型遗传性酪氨酸血症的小鼠模型中进行 PCSK9 或 Hpd 的治疗性修饰,作者在两个模型中长期观察了出生后持续存在的被编辑细胞,在子宫内靶向敲除 PCSK9 后血浆 PCSK9 和胆固醇水平降低,而在子宫内靶向敲除 Hpd 后挽救了 1 型遗传性酪氨酸血症的致死性^[39]。

4.3 siRNA 技术

RNA 干扰技术因其安全性和高效性被广泛研究,研究^[40]使用 siRNA 抑制小鼠和恒河猴肝 SCAP 表达,证明了 siRNA 可以稳定地敲低 PCSK9 相关蛋白的表达从而抑制 PCSK9,LDL-R 和脂质的水平。因此,构建相应的 siRNA 可以有效降低 PCSK9 的表达从而为降低外周血 LDL 水平提供了可行的治疗策略,作为他汀类药物治疗高

LDL-C 患者的一种潜在补充治疗。

在诸多研究之中,Inclisiran 已经在临床上被广泛研究。Inclisiran 是一种化学合成的 siRNA,与含有 3 个 N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)残基的配体共价连接,这些 GalNAc 残基与肝细胞上的脱唾液酸糖蛋白受体结合,导致 inclisiran 被摄取。进入肝细胞内部后,inclisiran 通过与 RNA 诱导的沉默复合物(RISC)结合而参与 RNA 干扰的自然途径,使 RISC 能够特异性切割 PCSK9 mRNA,从而减少 PCSK9 合成。单个 siRNA 结合的 RISC 复合物具有催化活性并且可以切割许多 mRNA 转录产物。单剂量的 inclisiran 的作用可以持续数月,允许每 6 个月给药 1 次,这也是其优于 PCSK9 单克隆抗体的地方^[41]。根据 II 期 ORION-1 试验的数据,每 6 个月 300 mg 的 inclisiran 剂量可以使血浆 LDL-C 水平平均降低约 50%。在 210 d 内,inclisiran 没有增加严重不良事件的发生率,其中有 7% 接受 300 mg inclisiran 剂量的患者发生了注射部位反应^[41-42]。目前,关于 inclisiran 的 III 期临床试验(HPS-4/TIMI 65-ORION-4 试验)正在进行中,以期揭示 Inclisiran 在有过心梗、卒中或外周动脉疾病病史的人群中是否能够安全地降低心梗和卒中的风险。而即将开始的三期试验 ORION-10 与 ORION-11 则侧重评估 Inclisiran 对冠脉粥样硬化与 LDL-C 升高的患者中的疗效及安全性。

4.4 其他抑制 PCSK9 的技术

除了寻找新的作用靶点抑制 PCSK9 以及使用基因编辑技术沉默 PCSK9 表达,目前还有许多学者从不同的角度研究可能抑制 PCSK9 的方法。

一种较为常见的方法是利用反义寡核苷酸技术来降低 PCSK9 的表达。研究^[43]设计了靶向 PCSK9 的两个反义寡核苷酸,发现非人灵长类动物在负荷剂量(20 mg/kg)和每周 4 次维持剂量(5 mg/kg)后产生的 LDL-C 持续减少,PCSK9 mRNA 和血清 PCSK9 蛋白减少了 85%,循环 LDL-C 减少 50%,血清总胆固醇(TC)水平降低至与 LDL-C 相同的程度。

此外,疫苗接种也是治疗和改善高胆固醇血症的一种有前景的方法。有研究筛选了靶向 PCSK9 的病毒样颗粒-肽疫苗,发现接种了 VLP-PCSK9 肽疫苗,尤其是 PCSK9Q β -003 疫苗的小鼠,产生了针对 PCSK9 的高滴度 IgG 抗体。在 Balb/c 小鼠和 LDLR^{+/-}小鼠中,PCSK9Q β -003 疫苗明显降低了其血浆总胆固醇和血浆 PCSK9 水平并上调肝脏中的 LDLR 表达。此外,PCSK9Q β -003 疫苗注射与 SREBP-2, HNF-1 α 和 HMGCoA 的显著上调相关^[44]。研究^[45]设计了新的“HFNAP”基因序列、翻译及体外选择系统,并且运用改良后的 HFNAP 系统产生了结合 PCSK9 的人造聚合物。

5 总结

PCSK9 抑制剂在降脂方面的作用目前已经获得了各项研究的证据支持。对于血脂异常患者, PCSK9 抑制剂可以显著降低患者血浆中 LDL-C 的水平,从而降低其发生心血管疾病的风险。目前仅有 evolocumab 和 alirocumab 两种单克隆抗体获得 FDA 批准上市,但还有许多药物以及潜在的 PCSK9 抑制剂靶点在研究中。总体而言,PCSK9 抑制剂是解决他汀抵抗患者降脂的一种较理想的方案,在相关靶点及药物开发中有着巨大的研究潜力。

参考文献

- [1] Seidah NG, Benjannet S, Wickham L, et al. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(3): 928–933.
- [2] Tibolla G, Norata GD, Artali R, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): from structure-function relation to therapeutic inhibition[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2011, 21(11): 835–843.
- [3] Benjannet S, Rhainds D, Essalmani R, et al. NARC-1/PCSK9 and its natural mutants: zymogen cleavage and effects on the low density lipoprotein (LDL) receptor and LDL cholesterol[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(47): 48865–48875.
- [4] Jeong HJ, Lee HS, Kim KS, et al. Sterol-dependent regulation of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 expression by sterol-regulatory element binding protein-2[J]. *J Lipid Res*, 2008, 49(2): 399–409.
- [5] Hampton EN, Knuth MW, Li J, et al. The self-inhibited structure of full-length PCSK9 at 1.9 Å reveals structural homology with resistin within the C-terminal domain[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(37): 14604–14609.
- [6] Cunningham D, Danley DE, Geoghegan KF, et al. Structural and biophysical studies of PCSK9 and its mutants linked to familial hypercholesterolemia[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(5): 413–419.
- [7] Maxwell KN, Breslow JL. Adenoviral-mediated expression of PCSK9 in mice results in a low-density lipoprotein receptor knockout phenotype[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(18): 7100–7105.
- [8] Rashid S, Curtis DE, Garuti R, et al. Decreased plasma cholesterol and hypersensitivity to statins in mice lacking PCSK9[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(15): 5374–5379.
- [9] Kotowski IK, Pertsemlidis A, Luke A, et al. A spectrum of PCSK9 alleles contributes to plasma levels of low-density lipoprotein cholesterol[J]. *Am J Hum Genet*, 2006, 78(3): 410–422.
- [10] Clarke R, Emberson JR, Parish S, et al. Cholesterol fractions and apolipoproteins as risk factors for heart disease mortality in older men[J]. *Arch Intern Med*, 2007, 167(13): 1373–1378.
- [11] 杨珍珍, 赵存瑞, 张锦, 等. 从血脂控制状况与支架内再狭窄的相关性看心脏康复管理的重要性[J]. *临床心血管病杂志*, 2017, 33(7): 650–652.
- [12] Cariou B, Le May C, Costet P. Clinical aspects of PCSK9[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 216(2): 258–265.
- [13] Linton MF, Babaev VR, Gleaves LA, et al. A direct role for the macrophage low density lipoprotein receptor in atherosclerotic lesion formation [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(27): 19204–19210.
- [14] 张辉, 周文平, 刘刚琼, 等. 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶 9 与稳定性冠心病患者冠状动脉病变严重程度的关系研究[J]. *临床心血管病杂志*, 2019, 35(6): 506–509.
- [15] Ricci C, Ruscica M, Camera M, et al. PCSK9 induces a pro-inflammatory response in macrophages [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2267.
- [16] Tavori H, Giunzioni I, Predazzi IM, et al. Human PCSK9 promotes hepatic lipogenesis and atherosclerosis development via apoE- and LDLR-mediated mechanisms[J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 110(2): 268–278.
- [17] Zhu L, Giunzioni I, Tavori H, et al. Loss of macrophage low-density lipoprotein receptor-related protein 1 confers resistance to the antiatherogenic effects of tumor necrosis factor- α inhibition[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(8): 1483–1495.
- [18] Kang SW, Kim MS, Kim HS, et al. Celastrol attenuates adipokine resistin-associated matrix interaction and migration of vascular smooth muscle cells[J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(2): 398–408.
- [19] Tarkowski A, Bjersing J, Shestakov A, et al. Resistin competes with lipopolysaccharide for binding to toll-like receptor 4[J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(6b): 1419–1431.
- [20] Tang ZH, Peng J, Ren Z, et al. New role of PCSK9 in atherosclerotic inflammation promotion involving the TLR4/NF- κ B pathway [J]. *Atherosclerosis*, 2017, 262: 113–122.
- [21] Rosenson RS, Hegele RA, Fazio S, et al. The Evolving Future of PCSK9 Inhibitors[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(3): 314–329.
- [22] Bernelot Moens SJ, Neele AE, Kroon J, et al. PCSK9 monoclonal antibodies reverse the pro-inflammatory profile of monocytes in familial hypercholesterolaemia [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(20): 1584–1593.
- [23] Ikegami Y, Inoue I, Inoue K, et al. The annual rate of coronary artery calcification with combination therapy with a PCSK9 inhibitor and a statin is lower than that with statin monotherapy[J]. *NPJ Aging Mech Dis*, 2018, 4: 7.
- [24] Rane PB, Patel J, Harrison DJ, et al. Patient characteristics and real-world treatment patterns among early users of PCSK9 inhibitors [J]. *Am J Cardiovasc*

- Drugs, 2018, 18(2):103–108.
- [25] 钟小燕, 杨旭平, 余彬, 等. Evolocumab 治疗血脂异常的疗效与安全性的系统评价[J]. 临床心血管病杂志, 2016, 32(1):19–24.
- [26] Blom DJ, Hala T, Bolognese M, et al. A 52-week placebo-controlled trial of evolocumab in hyperlipidemia [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(19):1809–1819.
- [27] Raal FJ, Honarpour N, Blom DJ, et al. Inhibition of PCSK9 with evolocumab in homozygous familial hypercholesterolaemia (TESLA Part B): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2015, 385(9965):341–350.
- [28] Raal FJ, Hovingh GK, Blom D, et al. Long-term treatment with evolocumab added to conventional drug therapy, with or without apheresis, in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia; an interim subset analysis of the open-label TAUSSIG study[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017, 5(4):280–290.
- [29] Cannon CP, Cariou B, Blom D, et al. Efficacy and safety of alirocumab in high cardiovascular risk patients with inadequately controlled hypercholesterolaemia on maximally tolerated doses of statins; the ODYSSEY COMBO II randomized controlled trial[J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(19):1186–1194.
- [30] Farnier M, Jones P, Severance R, et al. Efficacy and safety of adding alirocumab to rosuvastatin versus adding ezetimibe or doubling the rosuvastatin dose in high cardiovascular-risk patients: The ODYSSEY OPTIONS II randomized trial[J]. *Atherosclerosis*, 2016, 244:138–146.
- [31] Kastelein JJ, Ginsberg HN, Langslet G, et al. ODYSSEY FH I and FH II: 78 week results with alirocumab treatment in 735 patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia[J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(43):2996–3003.
- [32] Kereiakes DJ, Robinson JG, Cannon CP, et al. Efficacy and safety of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitor alirocumab among high cardiovascular risk patients on maximally tolerated statin therapy: The ODYSSEY COMBO I study[J]. *Am Heart J*, 2015, 169(6):906–915. e913.
- [33] Roth EM, Taskinen MR, Ginsberg HN, et al. Monotherapy with the PCSK9 inhibitor alirocumab versus ezetimibe in patients with hypercholesterolemia: results of a 24 week, double-blind, randomized Phase 3 trial[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 176(1):55–61.
- [34] Hartgers ML, Defeseche JC, Langslet G, et al. Alirocumab efficacy in patients with double heterozygous, compound heterozygous, or homozygous familial hypercholesterolemia[J]. *J Clin Lipidol*, 2018, 12(2):390–396. e398.
- [35] Zhang Y, Ultsch M, Skelton NJ, et al. Discovery of a cryptic peptide-binding site on PCSK9 and design of antagonists[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2017, 24(10):848–856.
- [36] Gustafsen C, Olsen D, Vilstrup J, et al. Heparan sulfate proteoglycans present PCSK9 to the LDL receptor [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):503.
- [37] Tajima T, Morita H, Ito K, et al. Blood lipid-related low-frequency variants in LDLR and PCSK9 are associated with onset age and risk of myocardial infarction in Japanese[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):8107.
- [38] Thakore PI, Kwon JB, Nelson CE, et al. RNA-guided transcriptional silencing in vivo with *S. aureus* CRISPR-Cas9 repressors [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):1674.
- [39] Rossidis AC, Stratigis JD, Chadwick AC, et al. In utero CRISPR-mediated therapeutic editing of metabolic genes[J]. *Nat Med*, 2018, 24(10):1513–1518.
- [40] Jensen KK, Tadin-Strapps M, Wang SP, et al. Dose-dependent effects of siRNA-mediated inhibition of SCAP on PCSK9, LDLR, and plasma lipids in mouse and rhesus monkey [J]. *J Lipid Res*, 2016, 57(12):2150–2162.
- [41] Fitzgerald K, White S, Borodovsky A, et al. A Highly Durable RNAi Therapeutic Inhibitor of PCSK9[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(1):41–51.
- [42] Ray KK, Landmesser U, Leiter LA, et al. Inclisiran in Patients at High Cardiovascular Risk with Elevated LDL Cholesterol[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(15):1430–1440.
- [43] Lindholm MW, Elmen J, Fisker N, et al. PCSK9 LNA antisense oligonucleotides induce sustained reduction of LDL cholesterol in nonhuman primates[J]. *Mol Ther*, 2012, 20(2):376–381.
- [44] Pan Y, Zhou Y, Wu H, et al. A Therapeutic Peptide Vaccine Against PCSK9 [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):12534.
- [45] Chen Z, Lichtor PA, Berliner AP, et al. Evolution of sequence-defined highly functionalized nucleic acid polymers[J]. *Nat Chem*, 2018, 10(4):420–427.

(收稿日期:2019-07-17)