

PCSK9 在血脂调节中的研究进展

韩 旭 龙明智

【摘要】 血脂异常是最重要的心血管疾病危险因素之一,降脂可减少动脉粥样硬化及其并发症的发生发展。他汀类药物能有效降脂,并已形成标准的治疗方案。然而,许多患者在最大耐受剂量的情况下血脂仍不能达标。人前蛋白转化酶枯草溶菌素 9(PCSK9)基因与血脂代谢密切相关,它通过降解低密度脂蛋白受体(LDL-R)升高血胆固醇水平。

【关键词】 血脂异常;低密度脂蛋白胆固醇;前蛋白转化酶枯草溶菌素 9

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2014.03.014

降低低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)是目前对心血管疾病进行干预的有效措施之一,可减少动脉粥样硬化及其并发症。欧美的治疗指南中提出,高风险心脏病患者的 LDL-C 推荐目标为 70 mg/dl^[1]。他汀类药物通过降低 LDL-C 水平可有效地降低心血管疾病风险,但他汀类药只能使患者胆固醇水平降低 40%~55%,仍有很多患者尽管使用了高剂量他汀类药物,仍无法使 LDL-C 达到目标值。人前蛋白转化枯草杆菌/丝氨酸蛋白酶 9(proprotein convertase subtilisin/kexin 9, PCSK9)在低密度脂蛋白受体(LDL-R)的降解中起着举足轻重的作用^[2-3]。PCSK9 通过与 LDL-R 结合,降解 LDL-R 从而升高血中 LDL-C 水平,该过程与血脂代谢密切相关。因此,阻断 PCSK9 与 LDL-R 的结合,已成为血脂异常一个新的治疗靶点。

1 PCSK9 的作用机制

1.1 LDL-R

LDL-R 是一种多结构域蛋白,在肝细胞表面的表达是决定血浆 LDL-C 水平的重要因素,在维持胆固醇平衡中起着核心的作用^[4-5]。LDL-R 能识别并结合含有载脂蛋白(apo)B-100 和 apoE 成分的脂蛋白(主要是 LDL),进入肝细胞内部被网格蛋白有被小窝内化,网格蛋白解离出 LDL-R,而含 apoB 和 apoE 成分的脂蛋白则通过溶酶体降解释放出胆固醇^[4-6]。LDL-R 又回到肝细胞表面再结合含 apoB 和 apoE 的脂蛋白,如此循环往复,进而有效清除血液中的 LDL-C。

1.2 PCSK9 的作用

人 PCSK9 基因最早被发现与神经系统细胞分

化和凋亡有关,属于前蛋白转化酶家族中的一员。其编码的蛋白质曾称为神经细胞凋亡转化酶-1(neural apoptosis regulated convertase 1, NARC-1),主要由信号序列(1~30 氨基酸)、前结构域(氨基酸 31~152)、催化结构域(氨基酸 153~425)和羧基末端结构域(氨基酸 426~694)组成^[7],可在肝脏、小肠、肾脏及神经系统中表达^[8],主要由肝脏分泌。PCSK9 蛋白的表达受许多转录因子的调控,其中最主要的反式激活因子为 SREBP-2(sterol response element binding protein 2)^[9]。PCSK9 蛋白由肝脏分泌后,进入血液与 LDL-R 上的表皮生长因子 A(EGF-A)结合,形成 PCSK9-EGF-A 复合物,减少 LDL-R 的回收利用,增加其退化^[3-4, 10],促使 LDL-C 的聚集。目前已证实,PCSK9 基因为家族性高胆固醇血症的第 3 个易感基因(另外两个分别为 LDL-R 基因和 apoB 基因)^[11-12]。

1.3 PCSK9 的突变分型

根据 PCSK9 基因突变对血胆固醇水平的影响,将其分为功能获得型突变和功能缺失型突变。功能获得型突变比较罕见,可增加 PCSK9 功能并降低 LDL-R 的表达,从而升高血液中胆固醇的水平^[13];相反,功能缺失型突变可减少 LDL-R 的退化,更多地驻留在肝脏表面,从而降低胆固醇浓度,降低患心血管疾病的风险。与那些缺乏这种突变的患者相比,功能缺失型突变可使 LDL-C 降低 15%~28%,缺血性心脏病疾病的发生率可降低 47%~88%^[14]。

2 PCSK9 抑制剂

2.1 作用原理

他汀类药物、胆汁酸多价螯合剂、依泽替米贝这些药物的作用机理都是通过刺激 LDL-R 表达上调而降低肝细胞中胆固醇的量,这一过程受到机体的精密调控。此外,他汀类药物也可引起 PCSK9

的表达上调^[9],这可能在一定程度上限制了一些降脂药物在降低 LDL-C 方面的作用。因此,抑制 PCSK9 可作为提高他汀类药物降脂作用的有效方法。

2.2 PCSK9 单克隆抗体

临床研究已经证实了几个 PCSK9 单克隆抗体(mAbs)的作用机理,它们通过扰乱 PCSK9 与 LDL-R 的相互作用^[15-17],或抑制 PCSK9 内在化^[18],有效地降低 LDL-C、非高密度脂蛋白胆固醇(non-HDL-C)和 apoB 水平。同时,PCSK9 单克隆抗体对脂蛋白-a 和三酰甘油水平也能产生积极影响。目前已经有 3 种 PCSK9 单克隆抗体处于临床研发中,它们是 SAR236553(赛诺菲)/ REGN727(Regeneron)、AMG145(安进公司)和 RN316(辉瑞);其他如 LGT209(诺华)、RG7652(罗氏)均在 I 期和 II 期临床试验中。

SAR236553/ REGN727 是一种 PCSK9 高特异性的完全人类单克隆抗体,在所有的研究中,均能显著降低 LDL-C 水平。2012 年在芝加哥召开的美国血脂协会年度科学会议上公布了 SAR236553/ REGN727 的 2 项 II 期临床试验结果^[19-21]。第一阶段研究为一随机双盲安慰剂对照试验,受试者为 183 例高胆固醇血症患者,入选者长期稳定服用了不同剂量的阿托伐他汀且 LDL-C 仍 >100 mg/dl,经过为期 12 周的治疗观察,静脉注射 REGN727 150 mg(每周 2 次)被认为是降低 LDL-C 的最有效剂量,LDL-C 可减少 72%,且 non-HDL-C、甘油三酯、脂蛋白-a 也显著降低。所有接受此剂量的患者均实现了 LDL-C <70 mg/dl,apoB <80 mg/dl 以及 non-HDL-C <100 mg/dl 的目标^[19]。试验中,LDL-C 的降低不受阿托伐他汀剂量的影响,最常见的不良反应为注射部位反应。在第二阶段的研究中,92 例患者(LDL-C >100 mg/dl)被随机分为 3 组,分别接受阿托伐他汀 80 mg + SAR236553/REGN727,阿托伐他汀 10 mg + SAR236553/REGN727 以及阿托伐他汀 80 mg + 安慰剂。经过为期 8 周的观察,所有接受 SAR236553/REGN727 的患者 LDL-C 均达到 <100 mg/dl 的目标,其中有 90% 的患者 LDL-C 达到了 <70 mg/dl 的目标,而接受阿托伐他汀 80 mg + 安慰剂的患者中只有 57% LDL-C 达到 <100 mg/dl,17% 达到了 <70 mg/dl 的目标^[21]。此试验中,最常见的不良反应为感染。由此可见,PCSK9 抑制剂至少在短期内具有安全性和有效性。目前,关于 REGN727 的 III 期临床试验正在

开展,主要是评价长期用药的安全性与耐受性。

AMG145 第一和第二阶段试验的结果也证明了 PCSK9 抑制剂的安全性和有效性^[22-26]。在第二阶段试验中,受试者分为 2 组,一组每 2 周接受 AMG145 皮下注射,治疗 12 周后的 LDL-C 下降 42%~66%;另一组每 4 周接受 AMG145 皮下注射的病人 LDL-C 下降 42%~50%,且作用大小和持续时间有剂量相关性^[26]。试验中,AMG145 和安慰剂治疗相关不良事件发生的频率是相似的(分别为 8%和 7%),并没有严重或危及生命的不良事件发生。

3 结论和前景

虽然他汀类药物能够有效地降低 LDL-C、non-HDL-C 和 apoB,但很多患者仍不能达到指南推荐的靶目标,还有一些患者不能耐受高剂量的他汀类药物。PCSK9 抑制剂与他汀类药物相结合,可以增加获益。研究表明,PCSK9 的单克隆抗体能够降低 LDL-C 水平最高达 70%以上,尤其对于他汀类药物不耐受的患者、不能达到 LDL-C 目标水平的患者以及难治性高胆固醇血症患者。最新研究表明,FoxO3 和 Sirt6 可抑制 PCSK9 表达^[27],具体机制需进一步研究。当然,还有许多其他影响脂质代谢的基因,研究这些基因遗传变异的影响,可能会发现更多新的目标靶点以调节血脂。

参 考 文 献

- [1] Reiner Ž, Catapano AL, De Backer G, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS)[J]. Eur Heart J, 2011,32(14):1769-1818.
- [2] Lambert G. Unravelling the functional significance of PCSK9. [J]. Curr Opin Lipidolol, 2007,18(3):304-309.
- [3] Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism[J]. J Lipid Res, 2009,50(Suppl):S172-S177.
- [4] Qian Y, Schmidt RJ, Zhang Y, et al. Secreted PCSK9 downregulates low density lipoprotein receptor through receptor-mediated endocytosis[J]. J Lipid Res, 2007,48(7):1488-1498.
- [5] Steinberg D, Witztum JL. Inhibition of PCSK9: a powerful weapon for achieving ideal LDL cholesterol levels[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009,106(24):9546-9547.
- [6] Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009,29(4):431-438.
- [7] Abifadel M, Rabès JP, Devillers M, et al. Mutations and polymorphisms in the proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) gene in cholesterol metabolism and disease[J].

- Hum Mutat, 2009,30(4):520-529.
- [8] Le May C, Kourimate S, Langhi C, et al. Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 null mice are protected from postprandial triglyceridemia[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009,29(5):684-690.
- [9] Dubuc G, Chamberland A, Wassef H, 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(8):1454-1459.
- [10] Zhang D, Lagace TA, Garuti R, et al. Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation[J]. J Biol Chem, 2007,282(25):18602-18612.
- [11] Marduel M, Carrié A, Sassolas A, et al. Molecular spectrum of autosomal dominant hypercholesterolemia in France[J]. Hum Mutat, 2010,31(11):E1811-E1824.
- [12] 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.
- [13] Fasano T, Sun X, Patel DD, et al. Degradation of LDLR protein mediated by 'gain of function' PCSK9 mutants in normal and ARH cells[J]. Atherosclerosis, 2009,203(1):166-171.
- [14] Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley Jr TH, et al. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease[J]. N Engl J Med, 2006,354(12):1264-1272.
- [15] Chan JC, Piper DE, Cao Q, 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(24):9820-9825.
- [16] Ni YG, Di Marco S, Condra JH, et al. A PCSK9-binding antibody that structurally mimics the EGF (A) domain of LDL-receptor reduces LDL cholesterol in vivo[J]. J Lipid Res, 2011,52(1):78-86.
- [17] Liang H, Chaparro-Riggers J, Strop P, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 antagonism reduces low-density lipoprotein cholesterol in statin-treated hypercholesterolemic nonhuman primates[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2012,340(2):228-236.
- [18] Ni YG, Condra JH, Orsatti L, et al. A proprotein convertase subtilisin-like/kexin type 9 (PCSK9) C-terminal domain antibody antigen-binding fragment inhibits PCSK9 internalization and restores low density lipoprotein uptake[J]. J Biol Chem, 2010,285(17):12882-12891.
- [19] McKenney JM, Koren MJ, Kereiakes DJ, et al. Safety and efficacy of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease, SAR236553/REGN727, in patients with primary hypercholesterolemia receiving ongoing stable atorvastatin therapy[J]. J Am Coll Cardiol, 2012,59(25):2344-2353.
- [20] Roth EM, McKenney JM, Hanotin C, et al. Atorvastatin with or without an antibody to PCSK9 in primary hypercholesterolemia[J]. N Engl J Med, 2012,367(20):1891-1900.
- [21] Stein EA, Mellis S, Yancopoulos GD, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on LDL cholesterol[J]. N Engl J Med, 2012,366(12):1108-1118.
- [22] Dias CS, Shaywitz AJ, Wasserman SM, et al. Effects of AMG 145 on low-density lipoprotein cholesterol levels: results from 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, ascending-dose phase 1 studies in healthy volunteers and hypercholesterolemic subjects on statins[J]. J Am Coll Cardiol, 2012,60(19):1888-1898.
- [23] Raal F, Scott R, Somaratne R, et al. Low-density lipoprotein cholesterol-lowering effects of AMG 145, a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia clinical perspective the reduction of LDL-C with PCSK9 Inhibition in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia Disorder (RUTHERFORD) randomized trial[J]. Circulation, 2012,126(20):2408-2417.
- [24] Sullivan D, Olsson AG, Scott R, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on low-density lipoprotein cholesterol levels in statin-intolerant patients; the GAUSS randomized trial[J]. JAMA, 2012,308(23):2497-2506.
- [25] Koren MJ, Scott R, Kim JB, et al. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 as monotherapy in patients with hypercholesterolaemia (MENDEL): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study[J]. Lancet, 2012,380(9858):1995-2006.
- [26] Giugliano RP, Desai NR, Kohli P, et al. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in combination with a statin in patients with hypercholesterolaemia (LAPLACE-TIMI 57): a randomised, placebo-controlled, dose-ranging, phase 2 study[J]. Lancet, 2012,380(9858):2007-2017.
- [27] Tao R, Xiong X, DePinho RA, et al. FoxO3 transcription factor and sirt6 deacetylase regulate low density lipoprotein (LDL)-cholesterol homeostasis via control of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (Pcsk9) gene expression[J]. J Biol Chem, 2013,288(41):29252-29259.

(收稿:2013-11-19 修回:2014-04-09)

(本文编辑:金谷英)