

# PCSK9在动脉粥样硬化性心血管疾病炎症反应中的作用

夏佳春 侯磊

**【摘要】** 动脉粥样硬化性心血管疾病 (ASCVD) 的发生发展与炎症反应密切相关。前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 通过脂质依赖途径或非脂质依赖途径参与对炎症反应的调节。该文介绍 PCSK9 对 ASCVD 炎症反应的调控机制及对炎症反应相关细胞的影响。

**【关键词】** 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 ; 炎症反应 ; 动脉粥样硬化 ; 心肌梗死

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2023.01.002

慢性炎症反应在动脉粥样硬化的形成和发展、斑块破裂及血栓形成中发挥重要作用。心肌梗死后心肌损伤引发的过度炎症反应对梗死面积及心脏重构有着重要作用<sup>[1]</sup>。研究表明,多种炎症标志物如超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL)、白细胞介素 (IL)-1 $\beta$  等<sup>[2]</sup>,与动脉粥样硬化性心血管疾病 (ASCVD) 的预后相关。抑制心血管炎症反应可以降低心血管疾病发病率及心血管不良事件发生率<sup>[3-4]</sup>。

前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 主要由肝脏产生,可靶向降解低密度脂蛋白受体 (LDLR),从而增加外周血低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 的水平。除肝细胞外,PCSK9 也在内皮细胞、血管平滑肌细胞 (VSMC) 和巨噬细胞中表达<sup>[5]</sup>。近年来研究发现,PCSK9 还具有促进炎症因子分泌、炎症细胞浸润、细胞凋亡、血小板活化等功能<sup>[1,6]</sup>。PCSK9 的分泌受到相关促炎性因子的调节<sup>[7]</sup>,提示 PCSK9 在全身和局部炎症反应中起重要的促进作用。PCSK9 在 ASCVD 中可能作为新的炎症标志物或潜在的抗炎治疗靶点。

## 1 PCSK9对ASCVD炎症反应的调控机制

多项研究表明,PCSK9 参与动脉粥样硬化的慢性炎症反应。ATHEROREMO-IVUS 研究<sup>[8]</sup>发现,血清 PCSK9 水平与冠状动脉粥样硬化斑块中坏死

核心组织比例呈线性相关,与 LDL-C 水平、他汀类药物的使用无关。给予 APOE\*3-Leiden.CETP 小鼠 PCSK9 单克隆抗体 (alirocumab) 或 PCSK9 疫苗 (AT04A),可减轻血管炎症反应,缩小斑块坏死核心<sup>[9-10]</sup>。PCSK9 与多种感染性疾病相关,在 HIV、HCV 感染及脓毒症患者中,PCSK9 水平均明显升高,提示 PCSK9 与炎症反应密切相关<sup>[11]</sup>。PCSK9 可能通过脂质依赖途径、非脂质依赖途径调控 ASCVD 炎症反应。

### 1.1 脂质依赖途径

循环 PCSK9 使外周血低密度脂蛋白 (LDL) 水平升高,而 LDL 在动脉内膜下的浸润、滞留及氧化是动脉粥样硬化斑块形成的重要阶段。在动脉粥样硬化斑块中,PCSK9 上调氧化低密度脂蛋白受体 1 (LOX-1) 并刺激还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) 氧化酶介导的 ox-LDL 形成,从而诱导 ox-LDL 的摄取增加<sup>[12]</sup>。LOX-1 是由巨噬细胞、VSMC 和内皮细胞表达的 ox-LDL 受体,ox-LDL 与 LOX-1 结合后诱导 NADPH 氧化酶激活,产生细胞内活性氧 (ROS)。ROS 的增加促进核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 在细胞核内易位,诱导 LOX-1、促炎性因子以及黏附分子的基因转录。Ox-LDL 与 LOX-1 的结合也可导致内皮细胞功能障碍、单核细胞浸润、泡沫细胞产生和血管平滑肌细胞增殖等<sup>[5]</sup>。Ox-LDL 可在清道夫受体如 CD36 和 LOX-1 介导下内化,诱导 PCSK9 的表达<sup>[12]</sup>。PCSK9 与 LOX-1 的正反馈调节,促进了动脉粥样硬化局部炎症反应。

基金项目:国家自然科学基金 (81970236)

作者单位:200336 上海交通大学医学院附属同仁医院心血管病研究室

通信作者:侯磊, E-mail:HL4081@shtrhospital.com

## 1.2 非脂质依赖途径

1.2.1 NOD 样受体家族 3 炎性小体及 Toll 样受体 4/NF- $\kappa$ B 通路 NOD 样受体家族 3 (NLRP3) 炎性小体是一组胞质蛋白复合物,可激活 NF- $\kappa$ B 及胱天蛋白酶 (caspase) -1 并促进下游炎性因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的表达。PCSK9 可促进 NLRP3 炎性小体的产生<sup>[13]</sup>,而 NLRP3 炎性小体同样可促进 PCSK9 的分泌<sup>[7]</sup>。PCSK9 与 NLRP3 炎性小体的正反馈调节促进了 ASCVD 的炎性反应。Toll 样受体 4 (TLR4) /NF- $\kappa$ B 通路是促进炎性反应的重要通路,TLR4 是可促进 NF- $\kappa$ B 核转位的跨膜受体,其下游促炎性因子如肿瘤坏死因子 (TNF) - $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  等的表达在 ASCVD 的炎性反应中发挥重要作用,PCSK9 可上调 TLR4 并诱导 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路下游炎性因子表达增加<sup>[7]</sup>。因此,PCSK9 通过 NLRP3 炎性小体及 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路在 ASCVD 中发挥促炎作用。

1.2.2 PCSK9 的 C 端富含半胱氨酸结构域 PCSK9 独特的 C 端富含半胱氨酸结构域 (CRD) 被认为可能与炎性反应相关,该结构域与抵抗素的 C 端结构域同源<sup>[14]</sup>。抵抗素在动脉粥样硬化病灶中表达,并对单核细胞、内皮细胞和 VSMC 表现出促炎作用。此外,抵抗素也通过 NF- $\kappa$ B 促进炎性因子的表达<sup>[14]</sup>。由于半胱氨酸的氧化状态在抵抗素 CRD 引起的炎性反应中发挥重要作用,推测 PCSK9 的 CRD 的氧化还原状态与 PCSK9 功能有关<sup>[14]</sup>。动脉粥样硬化及其他炎性反应存在较高的氧化应激水平,可能使 PCSK9 维持氧化状态,而 PCSK9 的氧化状态可能影响其功能。但 CRD 的氧化还原状态如何影响 PCSK9 功能尚不清楚,需进一步研究 PCSK9 的 CRD 在炎性反应中作用机制。

1.2.3 PCSK9 对线粒体的影响 Palee 等<sup>[15]</sup>发现抑制 PCSK9 可减轻心脏线粒体功能障碍和减轻缺血心肌凋亡,改善心功能,减小梗死面积。此外,PCSK9 加重线粒体 DNA (mtDNA) 损伤,增加线粒体 ROS 产生,诱导 NLRP3 炎性小体产生并促进心肌细胞焦亡<sup>[13]</sup>。尽管近期研究表明,PCSK9 的缺失以独立于 LDLR 的方式影响心脏代谢,且促进射血分数保留型心力衰竭的发展,但仅循环 PCSK9 缺失不会影响心脏代谢,这也提示抑制循环 PCSK9 药物的安全性。维持心脏代谢的 PCSK9 的来源仍有待探索<sup>[16]</sup>。有研究发现心外膜脂肪组织 (EAT) 也表达和分泌 PCSK9,影响冠状动脉和心

肌。EAT 炎性反应与局部 PCSK9 表达相关,与循环 PCSK9 水平无关,这表明从 EAT 衍生的 PCSK9 可能是心血管疾病的独立危险因素,因此 EAT 来源的 PCSK9 可能是在正常情况下维持心肌组织代谢及炎性反应状态下影响心脏的潜在机制<sup>[17]</sup>。心肌梗死后,上调的 PCSK9 对心脏线粒体的不良影响超过 PCSK9 缺失对心脏代谢的慢性损害,因此,早期抑制心肌梗死后上调的 PCSK9 可能是治疗心肌梗死的新策略。

## 2 PCSK9 对 ASCVD 炎性反应相关细胞的影响

ASCVD 炎性反应相关细胞如内皮细胞、VSMC、心肌细胞、血小板、单核/巨噬粒细胞、树突状细胞等在 ASCVD 的炎性反应中起关键作用。泡沫细胞的形成,炎性因子、趋化因子的分泌及血栓形成等促进了 ASCVD 的发生和发展<sup>[5]</sup>。近年来,PCSK9 对 ASCVD 相关细胞的影响受到广泛关注。

### 2.1 内皮细胞

内皮细胞的损伤是动脉粥样硬化的重要危险因素。在小鼠模型中,PCSK9 基因的缺失减少了动脉粥样硬化的形成,且独立于 LDLR。PCSK9<sup>-/-</sup>小鼠内皮细胞表达较少的黏附分子和趋化因子,如细胞间黏附分子 1 (ICAM-1)、单核细胞趋化蛋白 (MCP) 1 和 MCP3,从而减少了单核细胞的黏附和浸润<sup>[18]</sup>。此外,PCSK9 还促进内皮细胞凋亡。短发夹状 RNA (shRNA) -PCSK9 靶向 PCSK9,改变了 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38MAPK) 和 c-Jun N 末端激酶 (JNK) 的磷酸化,提示其可能通过 MAPK 信号通路抑制内皮细胞凋亡<sup>[5]</sup>。由此可见,PCSK9 通过促进内皮细胞黏附分子和趋化因子的表达及细胞凋亡,促进动脉粥样硬化局部炎性反应。

### 2.2 血管平滑肌细胞

在剪切应力和炎性反应刺激下,VSMC 从正常表型分化为迁移表型,这在动脉粥样硬化的形成中起重要作用。从 PCSK9<sup>-/-</sup>小鼠中分离的 VSMC 表现出较低程度的增殖和迁移能力,但收缩蛋白呈高表达<sup>[19]</sup>。PCSK9 在 VSMC 中受 TLR4- 应激活蛋白激酶 (SAPK) /JNK 信号通路的调节<sup>[20]</sup>。在炎性反应状态下,高水平的 mtDNA 损伤可以诱导 PCSK9 的表达,而 PCSK9 也可以增加平滑肌细胞的 mtDNA 损伤,促进细胞凋亡<sup>[21]</sup>。这些研究提示 PCSK9 通过促进 VSMC 向迁移表型转化和 mtDNA 损伤,加速动脉粥样硬化的发展。

## 2.3 心肌细胞

PCSK9 也在心肌细胞中表达, 原代小鼠心肌细胞在缺氧 / 复氧刺激下显著上调 PCSK9<sup>[22-23]</sup>。在动物模型中, 心脏组织的 PCSK9 在左冠状动脉结扎 1 周后表达最高, 且主要表达于心肌梗死边缘区<sup>[22]</sup>。心肌梗死边缘区的心肌细胞处于缺氧阶段, 不会立即死亡, 对梗死灶的大小起关键作用, 因此, 边缘区心肌细胞可能是心肌梗死治疗策略的重要靶点。此外, PCSK9 在心肌细胞中的表达与自噬相关, PCSK9 抑制剂的使用可以减少心肌梗死后缺血心肌组织的自噬, 改善心功能并减小梗死面积, 提示 PCSK9 抑制剂对心肌梗死后缺血心肌细胞具有保护作用<sup>[22]</sup>。

## 2.4 血小板

内皮损伤部位活化的血小板可促进血栓形成, 贴壁血小板的激活导致促炎性因子及趋化因子的分泌, 加重局部炎症反应和动脉粥样硬化<sup>[24]</sup>。血小板中的 CD36 受体能够激活多条信号通路, 如 Src 家族激酶、MAPK 和 NADPH 氧化酶 2 (NOX2) 相关信号通路。这些信号通路均促进 ROS 的产生, 激活血小板<sup>[24]</sup>。Qi 等<sup>[6]</sup>发现 PCSK9 与 CD36 结合后, 通过激活 Src、细胞外信号调节激酶 5 (ERK5) 和 JNK, 促进 ROS 的产生, 进一步激活 p38MAPK/ 胞浆磷脂酶 2 (cPLA2) / 环氧合酶 1 (COX-1) / 血栓素 A2 (TXA2) 通路, 增强血小板活化, 从而促进血栓形成, 扩大心肌梗死面积。

## 2.5 单核/巨噬细胞

单核细胞浸润到病变部位后分化为巨噬细胞并分泌炎症介质, 加速局部炎症反应。巨噬细胞来源的 PCSK9 在动脉粥样硬化斑块中积累, 通过 LDLR 依赖但独立于 LDL-C 水平的方式, 促进 Ly6C<sup>hi</sup> 单核细胞的浸润和分化<sup>[5]</sup>。Grune 等<sup>[20]</sup>发现 VSMC 产生的 PCSK9 可上调 LDL-C/LDLR 介导的单核细胞 C-C 趋化因子受体 2 型 (CCR2) 的表达, 增加单核细胞的浸润。这些研究提示, PCSK9 通过影响单核细胞的迁移能力, 促进粥样硬化的形成。

Ricci 等<sup>[25]</sup>通过体外研究发现, PCSK9 促进巨噬细胞促炎性因子和趋化因子的表达, 且不完全依赖于 LDLR。Badimon 等<sup>[26]</sup>发现低密度脂蛋白受体相关蛋白 5 (LRP5) 和 PCSK9 均参与巨噬细胞对脂质的摄取。此外, 内源性和外源性 PCSK9 还可以通过调节巨噬细胞清道夫受体 LOX-1、CD36

和 SRA, 增加 ox-LDL 的摄取, 从而增加泡沫细胞的数量<sup>[5]</sup>。这些研究表明, PCSK9 通过促进巨噬细胞炎症表型的表达及泡沫细胞的形成, 加重动脉粥样硬化。

## 2.6 树突状细胞与 T 细胞

在斑块破裂部位存在树突状细胞和 T 细胞的共定位, 提示它们的相互作用可能对动脉粥样硬化的免疫激活起重要作用。Liu 等<sup>[27]</sup>发现暴露于 ox-LDL 中的树突状细胞 PCSK9 表达增加, 而抑制 PCSK9 可以减少炎症因子如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的产生; 与 CD4<sup>+</sup>T 细胞共培养后发现, 抑制 PCSK9 能够减少 T 细胞向辅助性 T 细胞 (Th) 1 和 Th17 极化及增加调节性 T 细胞比例, 提示 PCSK9 可以通过促进树突状细胞的成熟及调节树突状细胞与 T 细胞的相互作用, 参与动脉粥样硬化炎症反应。

## 3 PCSK9抑制剂的临床应用

临床研究发现, PCSK9 抑制剂可对炎症反应产生作用。FOURIER 研究<sup>[28]</sup>发现, PCSK9 抑制剂 evolocumab 可显著降低脂蛋白 (a) [Lp(a)] 水平, 基线 Lp(a) 水平较高的患者 Lp(a) 水平绝对值降低更多; 但 PCSK9 抑制剂对临床常用的炎症标志物 hs-CRP 的水平没有影响<sup>[7]</sup>。1 项多中心随机对照研究发现, 使用 evolocumab 可以减轻血管炎症反应, 但不影响循环中的炎症标志物, 提示 PCSK9 抑制剂具有局部抗炎作用<sup>[29]</sup>。PACMAN-AMI 研究<sup>[30]</sup>在高强度他汀治疗基础上, 自经皮冠状动脉介入术 (PCI) 术后 24 h 开始, 每 2 周注射 1 次 alirocumab (150 mg/次), 持续 52 周, 结果显示 alirocumab 治疗后非梗死相关动脉的冠状动脉斑块显著消退, 提示早期使用较高剂量 PCSK9 抑制剂可能改善动脉粥样硬化斑块, 但该研究没有评估其是否对心血管炎症反应有影响。PCSK9 抑制剂可能减轻 ASCVD 炎症反应, 但仍缺乏高质量的临床研究加以证实。

## 4 小结

PCSK9 不仅作用于 LDLR 受体, 还作用于其他清道夫受体如 LOX-1、TLR4 及 CD36 等, 在炎症反应中发挥作用。PCSK9 抑制剂能够降低 ASCVD 患者的主要心血管不良事件, 但仍需更多的研究探讨 PCSK9 促炎作用的潜在机制及 PCSK9 抑制剂的使用时机和负荷剂量与抗炎作用的关系。

## 参 考 文 献

- [1] Ding ZF, Pothineni NVK, Goel A, et al. PCSK9 and inflammation: role of shear stress, pro-inflammatory cytokines,



- and LOX-1[J]. *Cardiovasc Res*, 2020, 116(5):908-915.
- [2] Patoulias D, Stavropoulos K, Imprialos K, et al. Inflammatory markers in cardiovascular disease; lessons learned and future perspectives[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2021, 19(3):323-342.
  - [3] Everett BM, MacFadyen JG, Thuren T, et al. Inhibition of interleukin-1 $\beta$  and reduction in atherothrombotic cardiovascular events in the CANTOS trial[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(14):1660-1670.
  - [4] Nidorf SM, Fiolet ATL, Mosterd A, et al. Colchicine in patients with chronic coronary disease[J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(19):1838-1847.
  - [5] Ragusa R, Basta G, Neglia D, et al. PCSK9 and atherosclerosis: looking beyond LDL regulation[J]. *Eur J Clin Invest*, 2021, 51(4):e13459.
  - [6] Qi ZY, Hu L, Zhang JJ, et al. PCSK9 (proprotein convertase subtilisin/kexin 9) enhances platelet activation, thrombosis, and myocardial infarct expansion by binding to platelet CD36[J]. *Circulation*, 2021, 143(1):45-61.
  - [7] Patriki D, Saravi SSS, Camici GG, et al. PCSK 9: a link between inflammation and atherosclerosis[J]. *Curr Med Chem*, 2022, 29(2):251-267.
  - [8] Cheng JM, Oemrawsingh RM, Garcia-Garcia HM, et al. PCSK9 in relation to coronary plaque inflammation: results of the ATHEROREMO-IVUS study[J]. *Atherosclerosis*, 2016, 248:117-122.
  - [9] Kühnast S, van der Hoorn JWA, Pieterman EJ, et al. Alirocumab inhibits atherosclerosis, improves the plaque morphology, and enhances the effects of a statin[J]. *J Lipid Res*, 2014, 55(10):2103-2112.
  - [10] Landlinger C, Pouwer MG, Juno C, et al. The AT04A vaccine against proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces total cholesterol, vascular inflammation, and atherosclerosis in APOE\*3Leiden.CETP mice[J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(32):2499-2507.
  - [11] Magnasco L, Sepulcri C, Antonello RM, et al. The role of PCSK9 in infectious diseases[J]. *Curr Med Chem*, 2022, 29(6):1000-1015.
  - [12] Cammisotto V, Baratta F, Simeone PG, et al. Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) beyond lipids: the role in oxidative stress and thrombosis[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(3):569.
  - [13] Wang XW, Li X, Liu SJ, et al. PCSK9 regulates pyroptosis via mtDNA damage in chronic myocardial ischemia[J]. *Basic Res Cardiol*, 2020, 115(6):66.
  - [14] Punch E, Klein J, Diaba-Nuhoho P, et al. Effects of PCSK9 targeting: alleviating oxidation, inflammation, and atherosclerosis[J]. *J Am Heart Assoc*, 2022, 11(3):e023328.
  - [15] Palee S, McSweeney CM, Maneechote C, et al. PCSK9 inhibitor improves cardiac function and reduces infarct size in rats with ischaemia/reperfusion injury: benefits beyond lipid-lowering effects[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(11):7310-7319.
  - [16] Da Dalt L, Castiglioni L, Baraetti A, et al. PCSK9 deficiency rewires heart metabolism and drives heart failure with preserved ejection fraction[J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(32):3078-3090.
  - [17] Dozio E, Ruscica M, Vianello E, et al. PCSK9 expression in epicardial adipose tissue: molecular association with local tissue inflammation[J]. *Mediators Inflamm*, 2020, 2020:1348913.
  - [18] Sun H, Krauss RM, Chang JT, et al. PCSK9 deficiency reduces atherosclerosis, apolipoprotein B secretion, and endothelial dysfunction[J]. *J Lipid Res*, 2018, 59(2):207-223.
  - [19] Ferri N, Marchianò S, Tibolla G, et al. PCSK9 knock-out mice are protected from neointimal formation in response to perivascular carotid collar placement[J]. *Atherosclerosis*, 2016, 253:214-224.
  - [20] Grune J, Meyborg H, Bezhaeva T, et al. PCSK9 regulates the chemokine receptor CCR2 on monocytes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017:312-318.
  - [21] Wu NQ, Shi HW, Li JJ. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 and inflammation: an updated review[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9:763516.
  - [22] Ding ZF, Wang XW, Liu SJ, et al. PCSK9 expression in the ischaemic heart and its relationship to infarct size, cardiac function, and development of autophagy[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(13):1738-1751.
  - [23] Yang CL, Zeng YD, Hu ZX, et al. PCSK9 promotes the secretion of pro-inflammatory cytokines by macrophages to aggravate H/R-induced cardiomyocyte injury via activating NF- $\kappa$ B signalling[J]. *Gen Physiol Biophys*, 2020, 39(2):123-134.
  - [24] Puteri MU, Azmi NU, Kato M, et al. PCSK9 promotes cardiovascular diseases: recent evidence about its association with platelet activation-induced myocardial infarction[J]. *Life (Basel)*, 2022, 12(2):190.
  - [25] Ricci C, Ruscica M, Camera M, et al. PCSK9 induces a pro-inflammatory response in macrophages[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):2267.
  - [26] Badimon L, Luquero A, Crespo J, et al. PCSK9 and LRP5 in macrophage lipid internalization and inflammation[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(9):2054-2068.
  - [27] Liu A, Frostegård J. PCSK9 plays a novel immunological role in oxidized LDL-induced dendritic cell maturation and activation of T cells from human blood and atherosclerotic plaque[J]. *J Intern Med*, 2018, 284(2):193-210.
  - [28] O'Donoghue M, Giugliano R, Keech A, et al. Lipoprotein(a), PCSK9 inhibition and cardiovascular risk: insights from the fourier trial[J]. *Atherosclerosis*, 2018, 275:e9-e10.
  - [29] Stiekema LCA, Stroes ESG, Verweij SL, et al. Persistent arterial wall inflammation in patients with elevated lipoprotein(a) despite strong low-density lipoprotein cholesterol reduction by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 antibody treatment[J]. *Eur Heart J*, 2019, 40(33):2775-2781.
  - [30] Räber L, Ueki Y, Otsuka T, et al. Effect of alirocumab added to high-intensity statin therapy on coronary atherosclerosis in patients with acute myocardial infarction: the PACMAN-AMI randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2022, 327(18):1771-1781.

( 收稿:2022-06-06 修回:2022-11-24 )

( 本文编辑:胡晓静 )