

研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2021, 38(3): 213-219. DOI:10.7683/xyxyxb.2021.03.003.

## 【专题报告】

# 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶 9 及其抑制剂在动脉粥样硬化中的作用研究进展

崔朝初, 卢娜, 冯超丽, 杨建波, 郭志坤, 王现伟

(新乡医学院基础医学院,河南省医用组织再生重点实验室,河南 新乡 453003)

**摘要:** 动脉粥样硬化(AS)严重威胁着人类的生命健康。低密度脂蛋白胆固醇通过促进泡沫细胞的形成及炎症反应在AS的发生、发展中发挥重要作用。低密度脂蛋白受体(LDLR)是负责清除血液中低密度脂蛋白(LDL)的主要分子之一。前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶9(PCSK9)能够通过多种途径促进LDL介导的AS的发生和发展,其已被证实是治疗AS的重要靶点,目前已有多种类型的PCSK9抑制剂应用于AS的临床治疗或临床试验研究。本文综述了PCSK9的分子调节机制及其在AS中的作用,以及靶向PCSK9抑制剂的研究进展。

**关键词:** 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶9;低密度脂蛋白受体;胆固醇;动脉粥样硬化;心血管疾病

中图分类号: R56;X513 文献标志码: A 文章编号: 1004-7239(2021)03-0213-07

随着预防和治疗手段的不断提升,动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的致死率逐渐降低,但其在全球范围内仍然严重威胁着人类的生命健康<sup>[1]</sup>。血液中的低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)是促进 AS 发生、发展的最主要的因素之一<sup>[2]</sup>。前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶 9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9)是一种可溶性的分泌型丝氨酸蛋白酶,其能通过多种途径调节 LDL-C 相关的生理活动,如 PCSK9 可以促进低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDLR) 的内吞和降解,从而抑制 LDLC 从血液中的清除。PCSK9 还能上调凝集素型氧化低密度脂蛋白受体-1 (lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1, LOX-1) 的表达,促进巨噬细胞摄取氧化型低密度脂蛋白胆固醇 (oxidized LDL-C, ox-LDL-C) 而形成泡沫细胞。因此,PCSK9 是治疗低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 介导的 AS 的重要靶标<sup>[3-5]</sup>。目前,靶向 PCSK9 的抑制剂的研究和应用已经取得了可喜进展,如 Avelumab 和 Evolocumab 已经在临床上应用于 AS 的治

疗,此外还有多个抑制剂处在临床前或临床试验的研究中,并表现出强大的潜力<sup>[3,6-10]</sup>。本文主要综述 PCSK9 的分子调节机制及其在 AS 中的作用,以及靶向 PCSK9 的抑制剂的研究现状,旨在为靶向 PCSK9 药物的研发和临床应用提供参考。

## 1 AS 的发病机制及 LDL-C 在 AS 中的作用

AS 属于慢性炎症性疾病,是心肌梗死等心脑血管疾病的主要诱因<sup>[1]</sup>。高血脂、高血压、高血糖和肥胖等因素均能诱导 AS,这些因素常会诱导炎症反应和氧化应激,并进一步引起相关离子紊乱、脂质沉积、血管平滑肌细胞增殖和细胞泡沫化等病变,从而诱发和促进 AS<sup>[11-14]</sup>。

血液中的 LDL-C 可以通过损伤的内皮细胞 (endothelial cell, EC) 进入血管内膜。LDL-C 被氧化成 ox-LDL-C 后, 会进一步导致血管 EC 的损伤, 从而形成一个恶性循环。此外, 血管 EC 还能分泌黏附分子, 导致炎症细胞在受损处的聚集<sup>[15]</sup>, 因此, AS 病灶总是伴随着高水平的核苷酸结合寡聚化结构域 (nucleotide-binding oligomerization domain, NOD) 样受体家族蛋白 3 (NOD-like receptors family protein 3, NLRP3)。血管平滑肌细胞和免疫细胞也可以从血管腔和血管外膜侧入侵血管壁。巨噬细胞通过细胞膜上的清道夫受体 (scavenger receptor, SR) 识别并吞噬 LDL-C, 从而形成泡沫细胞并合成蛋白聚糖、胶原和弹力蛋白。如果这些细胞或者细胞外基质不能被及时清除, 则会在 EC 下层形成脂质纹或斑块。而斑块 (尤其是纤维帽) 的破碎是 AS 诱发急性心血管疾病的主要因素<sup>[13, 16-18]</sup>。

DOI:10.7683/xxvxyxb.2021.03.003

收稿日期:2021-02-02

**基金项目:**国家自然科学基金项目(编号:U1804166,81873459,81902442);河南省高校科技创新人才计划项目(编号:19HASTIT004);河南省杰出青年科学基金项目(编号:212300410012);河南省优秀青年科学基金(编号:202300410309)。

作者简介:崔朝初(1987-),男,河南安阳人,博士,教授,研究方向:肿瘤心脏病学。

通信作者:王现伟(1976-),男,河南遂平人,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:心脑血管疾病的发病机制;E-mail:wangxianwei116@126.com。

## 2 PCSK9 的作用及其活性调节机制

自从发现 PCSK9 与脂质代谢紊乱有关后, PCSK9 迅速成为治疗 AS 的研究靶点<sup>[19-20]</sup>。PCSK9 主要在肝脏内合成并释放至血液循环中。尽管肾脏、肠道、巨噬细胞和 EC 中也能合成少量的 PCSK9, 但这类 PCSK9 可能主要是用于自分泌或在细胞内部起作用<sup>[4,21-23]</sup>。PCSK9 的结构含有信号肽、前体结构域、催化结构域和羧基末端结构域。PCSK9 酶原(相对分子质量 74 000)自我催化裂解并释放出前肽(相对分子质量 14 000), 产生成熟的 PCSK9(相对分子质量 60 000)并分泌至细胞外。PCSK9 具有多种生物功能, 可以调节血浆脂质稳态、肝再生、胰岛素分泌、神经发育以及肿瘤的免疫特性等。现已证实, PCSK9 在动脉斑块、心肌缺血、心肌梗死等心血管疾病中均起重要作用<sup>[10,24-25]</sup>。

PCSK9 的表达受到包括炎症因子、微 RNA(miRNA)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)、线粒体 DNA 和非编码 RNA 等多种因素的调节。转录因子叉头框蛋白 O3(forkhead box O3, FOXO3)/肝细胞核因子 1 $\alpha$ (hepatocyte nuclear factor 1 $\alpha$ , HNF1 $\alpha$ )、胆固醇调节元件结合蛋白-1/2(sterol regulatory element-binding protein-1/2, SREBP-1/2)均能够促进 PCSK9 的转录。而 miR-483-5p 和成纤维细胞生长因子 21(fibroblast growth factor 21, FGF21)可抑制 PCSK9 的表达<sup>[21,26-28]</sup>。

PCSK9 的活性不仅依赖于其表达水平, 还与其突变形式、剪切体形式以及翻译后的修饰密切相关<sup>[19,29-31]</sup>, 如 PCSK9 的 S127R 和 F216L 突变为功能获得型突变, Y142X 和 C679X 突变为失活型突变<sup>[19-29]</sup>。PCSK9 还存在一种相对分子质量为 55 000 的剪切体, 且活性相对较低。此剪切体来源于细胞外弗林蛋白对已被分泌至细胞外的成熟的 PCSK9 的剪接。如果在细胞内人为地过表达此剪切体, 则其不能被分泌至细胞外, 但仍能够发挥降低 LDLR 的作用, 其活性低于相对分子质量为 60 000 的 PCSK9<sup>[32]</sup>。

PCSK9 的翻译后修饰包括天冬酰胺(Asn533)的糖基化、酪氨酸(Tyr38)的硫化以及丝氨酸(Ser47/Ser688)的磷酸化等方式。PCSK9 的磷酸化不仅能增强其与 LDLR 中表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)AB 结构域的结合能力, 还能上调 PCSK9 的分泌<sup>[30]</sup>。最近, 有研究发现了 3 个新的内源性的能够与 PCSK9 相互作用的蛋白, 分别为 A1AT、APOH 和 AMBP, 其中 A1AT 可能是 PCSK9 的内源性抑制蛋白, 而 APOH 和 AMBP 对 PCSK9 的作用还有待进一步研究<sup>[33]</sup>。PCSK9 还含有膜联蛋

白 A2(annexin A2, AnxA2)、硫酸肝素蛋白聚糖(heparan sulfate proteoglycans, HSPG)和环化酶相关蛋白 1(cyclase-associated protein 1, CAP1)等分子的结合位点。AnxA2 能够抑制 PCSK9 介导的 LDLR 的降解作用, HSPG 结合 PCSK9 后能促进 PCSK9-LDLR 复合体的形成, 而 CAP1 则诱导 PCSK9/LDLR 复合体进入 caveolae 依赖的内吞过程。因此, 硫酸类肝素类似物或针对 HSPG 结合位点以及 CAP1 等分子结合位点的抑制剂都是潜在的 PCSK9 调节剂<sup>[31,34-35]</sup>。

## 3 PCSK9 在 AS 中的作用

ABIFADEL 等<sup>[19]</sup>研究发现, PCSK9 的 2 个功能获得型突变(S127R 和 F216L)与家族性胆固醇疾病有关<sup>[19]</sup>。还有研究发现, PCSK9 的 2 个功能缺失型突变(Y142X 和 C679X)会降低血液里约 40% 的 LDL-C<sup>[29]</sup>。LDL 中的 ApoB100 结合 LDLR 形成复合物后, 通过网格蛋白小窝蛋白介导的内化作用进入细胞, 随后在酸性环境条件下, LDLR 脱离复合物并重新返回到细胞膜上发挥作用, 而 LDL 则在细胞内被降解, 这是 LDL 从血液中被肝脏清除的主要方式之一。细胞外的 PCSK9 可通过其 C 端与细胞膜上 LDLR 的细胞外 EGF-A 结构域结合而形成复合物, 通过网格蛋白小窝蛋白介导的内化作用进入细胞。在酸性环境中, PCSK9 与 LDLR 的结合作用进一步增强, 最终 PCSK9 与 LDLR 在溶酶体被降解。这抑制了 LDLR 从内体到细胞膜的再循环过程。细胞膜上 LDLR 的减少导致肝脏清除 LDL-C 的能力减弱, 因而血液中 LDL-C 水平升高。尽管 PCSK9 在细胞内也能直接结合 LDLR, 但 PCSK9 主要是通过分泌至细胞外结合并促进 LDLR 的降解<sup>[36-38]</sup>。此外, 硫化氢能够抑制 PCSK9 的表达, 导致前体 LDLR 蓄积。这表明 PCSK9 不仅能促进 LDLR 的降解, 也参与了 LDLR 蛋白的成熟过程<sup>[39]</sup>。

PCSK9 还能够激活血小板并促进肾上腺素诱导的血小板的聚集和血栓的形成<sup>[40-42]</sup>。PCSK9 还可调控炎症反应, 促进多种促炎因子的表达, 例如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-10 和 Arg1<sup>[33,43]</sup>。PCSK9 的水平升高还能够增强巨噬细胞对 LDL-C 的吞噬和泡沫细胞的形成, 从而促进 AS 的发生、发展<sup>[44]</sup>。NLRP3 炎症小体的激活能够通过 IL-1 $\beta$  上调 AS 斑块中巨噬细胞和局部组织中 PCSK9 的分泌。因此, 炎症反应和 PCSK9 之间形成正反馈循环, 进一步恶化 AS<sup>[45-46]</sup>。

## 4 PCSK9 抑制剂在 AS 中的研究进展

由于 PCSK9 与 LDLR 的结合区域较小且平滑,导致靶向 PCSK9 抑制剂的研发难度较大。研究发现,PCSK9 酶原的成熟过程可能与其 366~383 发卡结构的开放有关,通过靶向上述发卡结构,可以干扰 PCSK9 与 LDLR 的相互作用,从而达到降低血脂水平的效果<sup>[47]</sup>。当处于有序状态下,PCSK9 的 P' helix 被包裹在 PCSK9 的催化结构域中。而 P' helix 结构域能够从  $\alpha$  螺旋转换为非有序结构,从而与化合物结合。因此,此结构域也有望成为潜在的 PCSK9 抑制剂作用靶点<sup>[48]</sup>。早期的 PCSK9 抑制剂主要基于 PCSK9 与 LDLR 相互作用位点来设计,包括 LDLR EGF-A 或 EGF-AB 结构域类似的蛋白或多肽、重组 LDLR 片段或者抗体<sup>[49]</sup>。此外,反义 RNA、小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 等基因干预手段和天然产物等也逐渐成为研究 PCSK9 抑制剂的热点。

### 4.1 蛋白类抑制剂

**4.1.1 单克隆抗体** 单克隆抗体主要是通过其结合 PCSK9 后干扰 PCSK9 与 LDLR 的相互结合而发挥作用,比如目前处于临床试验 1 期的 Ralpanzumab 和 MEDI4166<sup>[50-51]</sup>,处于临床试验 2 期的 MPSK3169A 和 LY3015014<sup>[52-53]</sup>,处于临床试验 3 期的 IBI306 (临床试验编号: NCT04031742) 和 AMG145<sup>[6]</sup>,以及已经上市的 Avelumab 和 Evolocumab<sup>[3,8]</sup>。Avelumab 和 Evolocumab 对沙坦类或其他类降脂药物不敏感的患者同样有效,且已被证实能够有效降低心肌梗死和中风等多种 AS 相关的心脑血管疾病的发病率<sup>[8]</sup>。而 Bococizumab 因其较强的免疫原性以及中和抗体的产生导致疗效逐渐下降,被终止于 3 期临床<sup>[54]</sup>。中国科学家研发的靶向 PCSK9 的单克隆抗体 IBI306 具有可以间隔较长时间给药的优点,目前已经进入 2/3 期临床试验。此外,还有针对 PCSK9 的 C 末端结构域设计的抗体,在临床前研究中也表现出了较好的效果,但其作用机制还有待进一步研究<sup>[35]</sup>。靶向 PCSK9 的 C 端富含半胱氨酸和组氨酸的结构域的抗体不影响 PCSK9 与 LDLR 的结合,但其可以将 PCSK9 滞留在内质网,减少了 PCSK9 的分泌,从而达到降低血脂的效果<sup>[55]</sup>。

**4.1.2 非抗体类蛋白药物** 此类药物包含普通肽类和类抗体支架蛋白药物。SX-PCSK9 是 PCSK9 片段类似物,其与类抗体支架蛋白药物 BMS-962476、LIB003、Pep2-8 和 DS-9001a 均是通过结合 PCSK9 而抑制 PCSK9 与 LDLR 相互作用<sup>[37,56-57]</sup>。类抗体支架蛋白药物的作用原理类似于抗体与靶部位结

合,但与传统的抗体相比,其具有分子质量更小、结构更加简单和更易穿透组织的特点<sup>[58]</sup>。BMS-962476 是由相对分子质量 11 000 的多肽与聚乙二醇共轭连接组成。连接聚乙二醇是为了增强其药物代谢动力学的特性<sup>[59]</sup>。LIB003 是由含有 PCSK9 结合位点的类抗体与人血清白蛋白组成的融合蛋白,其相对分子质量为 77 000,且非常稳定。临床试验证实,LIB003 在有效的剂量下比较安全且耐受性较好。目前 LIB003 已经进入 3 期临床试验<sup>[60]</sup>。

**4.1.3 疫苗** 由于大多数外源性单克隆抗体价格昂贵,导致患者的使用成本较高。为了克服上述困难,研究人员开发了针对 PCSK9 的疫苗,包括 PCSK9Q $\beta$ -003、AT04A 和 AT06A<sup>[61-63]</sup>,AT04A 和 AT06A 在动物实验中能够诱导强烈且持久的免疫反应,产生靶向 PCSK9 的抗体,从而抑制 PCSK9 与 LDLR 的作用,且目前已经开始 1 期临床试验。其中 AT04A 表现出较好疗效,能够显著降低血液中的脂质水平、血管炎症以及 AS 病灶的大小和数量,且无明显不良反应<sup>[61-62]</sup>。

**4.2 小分子化合物抑制剂** PF-06446846 和 PF-00932239 (R-IMPP) 为靶向 PCSK9 的口服小分子化合物,其能诱导 80S 核糖体延宕。PF-06446846 能够选择性抑制 PCSK9 在核糖体的翻译合成,达到降低血脂效应<sup>[64-66]</sup>。PF-06815345 可被羧酸酯酶 1 转换为两性离子活性药物,通过非 80S 核糖体依赖性的方式导致 PCSK9 合成减少<sup>[66]</sup>。NYX-330、DRP、Nilotinib 类及新近报道的一系列靶向 PCSK9 的环状四聚体小分子化合物均可抑制 PCSK9 与 LDLR 之间的作用<sup>[7,10,36-37,67]</sup>。环状四聚体小分子化合物作用于 PCSK9 的半数抑制浓度均小于 1 nmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>。但其在体内抑制 PCSK9 的作用及安全性还有待进一步研究<sup>[7]</sup>。此外,7030B-C5 可以抑制 PCSK9 基因的转录,而四氢原小檗碱类化合物降低 PCSK9 的 mRNA 水平的作用机制尚有待深入研究<sup>[6,68]</sup>。

### 4.3 基因水平调节手段

**4.3.1 反义 RNA** 反义 RNA 通过与互补的 mRNA 结合,抑制 mRNA 的转录,翻译或促进 mRNA 的降解,从而抑制相应蛋白的表达。反义 RNA 具有特异性强和应用便捷的特点,因此其具有较好的应用前景。多个研究报道显示,靶向 PCSK9 的反义 mRNA 如 ISIS 394814、BMS-844421、SPC5001 和 SPC4061,能够有效抑制 PCSK9 的表达并升高 LDLR 的蛋白水平,导致 LDL-C 水平降低<sup>[69-72]</sup>。但此类药物也存在潜在的安全性和不良反应问题。尽管 SPC5001 的效果明显优于 SPC4061,但因其会引起

药物注射部位红疹和肾小管毒性等不良反应而被终止了临床试验<sup>[71]</sup>。目前 Civi-00 和 ALN-PCS027(临床试验编号分别为 NCT04164888 和 NCT01437059) 已经处于 1 期临床试验<sup>[72]</sup>。除了传统的反义 RNA 外,剪接转化寡聚核酸,比如 hP872 主要通过调节 mRNA 前体的不同剪切形式从而影响同一个蛋白不同剪切体的表达水平。基于不同 PCSK9 的剪切体对 LDLR 降解作用的差异,人为增加其非活性形式而抑制其活性剪切体的表达在临床前研究中也表现出了一定的疗效<sup>[73-74]</sup>。

**4.3.2 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)** siRNA 能够通过降低 PCSK9 的 mRNA 水平,而抑制 PCSK9 的蛋白表达。1~3 期临床试验结果显示,给予靶向 PCSK9 的 siRNA Inclisiran 约 2 周后,PCSK9 和 LDL 水平均明显降低;Inclisiran 的疗效还具有持续时间较长的特点,在注射 180 d 后仍表现出较好的抑制效果;Inclisiran 的上市申请已于 2019 年底递交至美国食品药品监督管理局<sup>[9-10]</sup>,如果能够获得批准,Inclisiran 将会是首个且唯一的 siRNA 类降胆固醇药物。此外,ALN-PCS02/ALN-PCS 也已经进入 1 期临床试验<sup>[75]</sup>。

**4.3.3 CRISPR-Cas 技术** CRISPR-Cas 技术可以从 DNA 水平上特异性地敲除、敲入或替换靶向序列,是改变基因表达和活性的强有力的工具。研究证实,以腺病毒为载体的靶向肝脏 PCSK9 DNA 外显子的 CRISPR-Cas9 可以显著降低小鼠血液中 PCSK9 的表达,升高 LDLR,降低血液中 LDL 水平<sup>[76]</sup>。

**4.4 天然产物** 多种天然产物具有抑制 PCSK9 和降低血脂的功能,且具有较好的安全性。表没食子儿茶素没食子酸酯、紫柳花素和芦荟大黄素能够抑制 SREBP-2、HNF1 $\alpha$  或 FOXO3 介导的 PCSK9 的表达,导致 LDLR 升高和 LDL 降低<sup>[77-81]</sup>。黄连素及其同系物均能够抑制 PCSK9 mRNA 的转录,但似乎不影响 PCSK9 与 LDLR 的结合作用<sup>[82]</sup>。而 Pseurotin A 不但能够抑制 PCSK9 的表达和分泌,还能够结合 PCSK9<sup>ASP374</sup>,从而使其不能与 LDLR<sup>His306</sup> 结合<sup>[49]</sup>。丹参酮 II A、姜黄素、异槲皮苷和白藜芦醇等天然产物也被发现能够调节 PCSK9 的表达和分泌<sup>[83-85]</sup>。但目前大多数有关天然产物对 PCSK9 作用的确切机制还有待深入研究。

## 5 总结

综上所述,PCSK9 是目前公认的治疗 AS 的有效靶点。尽管现在已经有多种形式的抑制剂,比如单克隆抗体、疫苗和小分子化合物通过降低 PCSK9 的表达或活性而发挥降低血脂的作用,并进入临床

试验或临床应用,但目前已经上市的靶向 PCSK9 的抑制剂仅有单克隆抗体,昂贵的价格和非口服的给药方式严重制约着其进一步的广泛应用;此外,潜在的耐药性也会降低其临床治疗效果。因此,继续研制价格低廉、易于口服、毒副作用小、半衰期长的 PCSK9 抑制剂,具有非常重要的临床应用价值。此外,从天然产物中寻找特异性干扰 PCSK9 的表达或功能的化合物或开发特异性 PCSK9 的基因药物和疫苗,也均有广阔的潜在应用前景。之前因为对 PCSK9 的结构和功能了解有限,所以研发直接靶向干扰 PCSK9 与 LDLR 相互作用的小分子抑制剂的难度较大。目前,越来越多的靶向 PCSK9 的位点被报道,为小分子抑制剂的研发提供了更多的潜在位点。但关于 PCSK9 的结构和活性调节及其与 LDLR 的作用机制仍有待进一步研究,这将为靶向 PCSK9 抑制剂的研发提供新的靶点和思路。

## 参考文献:

- [1] KOBAYAMA K, LEY K. Atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2018, 123 (10): 1118-1120.
- [2] 郭权, 赵国安, 林飞, 等. 河南北部人群血脂年龄乘积与冠状动脉粥样硬化性心脏病的相关性 [J]. *新乡医学院学报*, 2020, 37 (8): 734-738.
- [3] SABATINE M S, GIUGLIANO R P, KEECH A C, et al. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376 (18): 1713-1722.
- [4] ZAID A, ROUBTSOVA A, ESSALMANI R, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): hepatocyte-specific low-density lipoprotein receptor degradation and critical role in mouse liver regeneration [J]. *Hepatology*, 2008, 48 (2): 646-654.
- [5] DING Z, LIU S, WANG X, et al. Cross-talk between LOX-1 and PCSK9 in vascular tissues [J]. *Cardiovasc Res*, 2015, 107 (4): 556-567.
- [6] DESAI N R, GIUGLIANO R P, ZHOU J, et al. AMG 145, a monoclonal antibody against PCSK9, facilitates achievement of national cholesterol education program-adult treatment panel III low-density lipoprotein cholesterol goals among high-risk patients; an analysis from the LAPLACE-TIMI 57 trial (LDL-c assessment with PCSK9 monoclonal antibody inhibition combined with statin therapy-thrombolysis in myocardial infarction 57) [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63 (5): 430-433.
- [7] SABNIS R W. Novel cyclic tetramer compounds as PCSK9 inhibitors for treating metabolic disorders [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2020, 11 (9): 1671-1673.
- [8] KADDOURA R, ORABI B, SALAM A M. PCSK9 monoclonal antibodies: an overview [J]. *Heart Views*, 2020, 21 (2): 97-103.
- [9] 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.
- [10] CATAPANO A L, PIRILLO A, NORATA G D. New pharmacological approaches to target PCSK9 [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2020,

- 22(7):24.
- [11] 李贵琦,周玉阳,法宪恩,等. 氯雷他定对氧化型低密度脂蛋白诱导人血管内皮细胞黏附和炎症反应的影响[J]. 新乡医学院学报,2020,37(7):606-610.
- [12] ZHANG C, YE L, ZHANG Q, *et al.* The role of TRPV1 channels in atherosclerosis[J]. *Channels (Austin)*, 2020, 14(1): 141-150.
- [13] HASSANPOUR M, RAHBARGHAZI R, NOURI M, *et al.* Role of autophagy in atherosclerosis: foe or friend [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2019, 16:8.
- [14] COLLINS R, REITH C, EMBERSON J, *et al.* Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy[J]. *Lancet*, 2016, 388(10059):2532-2561.
- [15] MUNDI S, MASSARO M, SCODITTI E, *et al.* Endothelial permeability, LDL deposition, and cardiovascular risk factors-a review [J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(1):35-52.
- [16] COLL R C, ROBERTSON A A, CHAE J J, *et al.* A small-molecule inhibitor of the NLRP3 inflammasome for the treatment of inflammatory diseases[J]. *Nat Med*, 2015, 21(3):248-255.
- [17] SAGE A P, MALLAT Z. Readapting the adaptive immune response-therapeutic strategies for atherosclerosis[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(22):3926-3939.
- [18] PARK S, LEE I K. Progression of multifaceted immune cells in atherosclerotic development[J]. *J Lipid Atheroscler*, 2019, 8(1):15-25.
- [19] ABIFADEL M, VARRET M, RABÈS J P, *et al.* Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia[J]. *Nat Genet*, 2003, 34(2):154-156.
- [20] ROSENSEN R S, HEGELE R A, FAZIO S, *et al.* The evolving future of PCSK9 inhibitors[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(3):314-329.
- [21] DING Z, LIU S, WANG X, *et al.* Hemodynamic shear stress via ROS modulates PCSK9 expression in human vascular endothelial and smooth muscle cells and along the mouse aorta[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22(9):760-771.
- [22] DING Z, WANG X, LIU S, *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] ADORNI M P, CIPOLLARI E, FAVARI E, *et al.* Inhibitory effect of PCSK9 on abcal protein expression and cholesterol efflux in macrophages[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 256:1-6.
- [24] 肖文虎,张红,彭湘萍,等. PCSK9 结构与功能[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2009,25(3):213-218.
- [25] LIU X, BAO X, HU M, *et al.* Inhibition of PCSK9 potentiates immune checkpoint therapy for cancer[J]. *Nature*, 2020, 588(7839):693-698.
- [26] DING Z, LIU S, WANG X, *et al.* Cross-talk between PCSK9 and damaged mtDNA in vascular smooth muscle cells; role in apoptosis[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2016, 25(18):997-1008.
- [27] RUSCICA M, RICCI C, MACCHI C, *et al.* Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3) induces proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) expression in hepatic HepG2 cell line[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(7):3508-3519.
- [28] DONG J, HE M, LI J, *et al.* MicroRNA-483 ameliorates hypercholesterolemia by inhibiting PCSK9 production [J]. *JCI Insight*, 2020, 5(23):e143812.
- [29] COHEN J, PERTSEMLIDIS A, KOTOWSKI I K, *et al.* Low LDL cholesterol in individuals of african descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9 [J]. *Nat Genet*, 2005, 37(2):161-165.
- [30] BEN DJOUDI OUADDA A, GAUTHIER M S, SUSAN-RESIGA D, *et al.* Ser-phosphorylation of PCSK9 (proprotein convertase subtilisin-kexin 9) by Fam20C (family with sequence similarity 20, member c) kinase enhances its ability to degrade the LDLR (low-density lipoprotein receptor) [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(10):1996-2013.
- [31] GUSTAFSEN C, OLSEN D, VILSTRUP J, *et al.* Heparan sulfate proteoglycans present PCSK9 to the LDL receptor [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):503.
- [32] OLEAGA C, HAY J, GURCAN E, *et al.* Insights on the kinetics and dynamics of the furin-cleaved form of PCSK9 [J]. *J Lipid Res*, 2020, 62:100003.
- [33] MELENDEZ Q M, WOOTEN C J, KRISHNAJI S T, *et al.* Identification of novel proteins interacting with proprotein convertase subtilisin/kexin 9 [J]. *Int J Biomed Investig*, 2020, 3(1):1-17.
- [34] JANG H D, LEE S E, YANG J, *et al.* Cyclase-associated protein 1 is a binding partner of proprotein convertase subtilisin/kexin type-9 and is required for the degradation of low-density lipoprotein receptors by proprotein convertase subtilisin/kexin type-9 [J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(2):239-252.
- [35] SCHIELE F, PARK J, REDEMANN N, *et al.* An antibody against the c-terminal domain of PCSK9 lowers LDL cholesterol levels in vivo [J]. *J Mol Biol*, 2014, 426(4):843-852.
- [36] KASTELEIN J. Targeting PCSK9: expanding knowledge and targeting new frontiers. Paris: ESC Congress, 2019 [EB/OL]. [2019-09-09]. <https://pace-cme.org/2019/09/09/slides-targeting-pcsk9-expanding-knowledge-and-targeting-new-frontiers/download-slides-targeting-pcsk9-expanding-knowledge-and-targeting-new-frontiers.pdf>.
- [37] RHAINDS D, ARSENAULT B J, TARDIF J C. PCSK9 inhibition and LDL cholesterol lowering: the biology of an attractive therapeutic target and critical review of the latest clinical trials[J]. *Clinical Lipidology*, 2012, 7(6):621-640.
- [38] HAZEN S L. New lipid and lipoprotein targets for the treatment of cardiometabolic diseases[J]. *J Lipid Res*, 2012, 53(9):1719-1721.
- [39] HUANG Y, NING K, LI W W, *et al.* Hydrogen sulfide accumulates LDL receptor precursor via downregulating PCSK9 in HepG2 cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 319(6):C1082-C1096.
- [40] NAVARESE E P, KOŁODZIEJCZAK M, WINTER M P, *et al.* Association of PCSK9 with platelet reactivity in patients with acute coronary syndrome treated with prasugrel or ticagrelor: the PCSK9-react study [J]. *Int J Cardiol*, 2017, 227:644-649.
- [41] HUO Y, SCHOBER A, FORLOW S B, *et al.* Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoproteins [J]. *Nat Med*, 2003, 9(1):61-67.

- [42] CAMERA M, ROSSETTI L, BARBIERI S S, *et al.* PCSK9 as a positive modulator of platelet activation[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 71(8):952-954.
- [43] DING Z, WANG X, SCHNACKENBERG L, *et al.* Regulation of autophagy and apoptosis in response to ox-LDL in vascular smooth muscle cells, and the modulatory effects of the microRNA hsa-let-7 g [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(2):1378-1385.
- [44] DING Z, LIU S, WANG X, *et al.* PCSK9 regulates expression of scavenger receptors and ox-LDL uptake in macrophages[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(8):1145-1153.
- [45] DING Z, WANG X, LIU S, *et al.* NLRP3 inflammasome via IL-1 beta regulates PCSK9 secretion[J]. *Theranostics*, 2020, 10(16):7100-7110.
- [46] GIUNZIONI I, TAVORI H, COVARRUBIAS R, *et al.* Local effects of human PCSK9 on the atherosclerotic lesion [J]. *J Pathol*, 2016, 238(1):52-62.
- [47] SGRIGNANI J, FASSI E M A, LAMMI C, *et al.* Exploring proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) autoproteolysis process by molecular simulations: hints for drug design[J]. *Chem Med Chem*, 2020, 15(16):1601-1607.
- [48] KIRCHHOFFER D, BURDICK D J, SKELTON N J, *et al.* Regions of conformational flexibility in the proprotein convertase PCSK9 and design of antagonists for LDL cholesterol lowering[J]. *Biochem Soc Trans*, 2020, 48(4):1323-1336.
- [49] ABDELWAHEB K S, SIDDIQUE A B, MOHYELDIN M M, *et al.* Pseurotin A as a novel suppressor of hormone dependent breast cancer progression and recurrence by inhibiting PCSK9 secretion and interaction with LDL receptor [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 158:104847.
- [50] LEVISETTI M, JOH T, WAN H, *et al.* A phase I randomized study of a specifically engineered, pH-sensitive PCSK9 inhibitor RN317 (pf-05335810) in hypercholesterolemic subjects on statin therapy [J]. *Clin Transl Sci*, 2017, 10(1):3-11.
- [51] JAIN M, CARLSON G, COOK W, *et al.* Randomised, phase 1, dose-finding study of MEDI4166, a PCSK9 antibody and GLP-1 analogue fusion molecule, in overweight or obese patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Diabetologia*, 2019, 62(3):373-386.
- [52] BARUCH A, MOSESOVA S, DAVIS J D, *et al.* Effects of RG7652, a monoclonal antibody against PCSK9, on LDL-c, LDL-c subfractions, and inflammatory biomarkers in patients at high risk of or with established coronary heart disease (from the phase 2 equator study) [J]. *Am J Cardiol*, 2017, 119(10):1576-1583.
- [53] KASTELEIN J J, NISSEN S E, RADER D J, *et al.* Safety and efficacy of LY3015014, a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): a randomized, placebo-controlled phase 2 study [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(17):1360-1369.
- [54] RIDKER P M, TARDIF J C, AMARENCO P, *et al.* Lipid-reduction variability and antidrug-antibody formation with bococizumab [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(16):1517-1526.
- [55] WEIDER E, SUSAN-RESIGA D, ESSALMANI R, *et al.* Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) single domain antibodies are potent inhibitors of low density lipoprotein receptor degradation[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(32):16659-16671.
- [56] ZHANG Y, EIGENBROT C, ZHOU L, *et al.* Identification of a small peptide that inhibits PCSK9 protein binding to the low density lipoprotein receptor [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(2):942-955.
- [57] MASUDA Y, YAMAGUCHI S, SUZUKI C, *et al.* Generation and characterization of a novel small biologic alternative to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) antibodies, DS-9001a, albumin binding domain-fused anticalin protein [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018, 365(2):368-378.
- [58] KIM T Y, SEO H D, LEE J J, *et al.* A dimeric form of a small-sized protein binder exhibits enhanced anti-tumor activity through prolonged blood circulation [J]. *J Control Release*, 2018, 279:282-291.
- [59] MITCHELL T, CHAO G, SITKOFF D, *et al.* Pharmacologic profile of the adnectin BMS-962476, a small protein biologic alternative to PCSK9 antibodies for low-density lipoprotein lowering [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, 350(2):412-424.
- [60] STEIN E, TOTTH P, BUTCHER M B, *et al.* Safety, tolerability and ldl-c reduction with a novel anti-pcsk9 recombinant fusion protein (lib003): results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study [J]. *Atherosclerosis*, 2019, 287:e7.
- [61] LANDLINGER C, POWWER M G, JUNO C, *et al.* The AT04A vaccine against proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces total cholesterol, vascular inflammation, and atherosclerosis in apoe 3 leiden. Celp mice [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(32):2499-2507.
- [62] CIVEIRA F, JARAUTA E, Vaccine against PCSK9: the natural strategy from passive to active immunization for the prevention of atherosclerosis [J]. *J Thorac Dis*, 2017, 9(11):4291-4294.
- [63] WU D, ZHOU Y, PAN Y, *et al.* Vaccine against PCSK9 improved renal fibrosis by regulating fatty acid  $\beta$ -oxidation [J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(1):e014358.
- [64] LINTNER N G, MCCLURE K F, PETERSEN D, *et al.* Selective stalling of human translation through small-molecule engagement of the ribosome nascent chain [J]. *PLoS Biol*, 2017, 15(3):e2001882.
- [65] PETERSEN D N, HAWKINS J, RUANGSIRILUK W, *et al.* A small-molecule anti-secretagogue of PCSK9 targets the 80S ribosome to inhibit PCSK9 protein translation [J]. *Cell Chem Biol*, 2016, 23(11):1362-1371.
- [66] MCCLURE K F, PIOTROWSKI D W, PETERSEN D, *et al.* Liver-targeted small-molecule inhibitors of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 synthesis [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, 56(51):16218-16222.
- [67] EVISON B J, PALMER J T, LAMBERT G, *et al.* A small molecule inhibitor of PCSK9 that antagonizes LDL receptor binding via interaction with a cryptic PCSK9 binding groove [J]. *Bioorg Med Chem*, 2020, 28(6):115344.
- [68] WU C, XI C, TONG J, *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of novel tetrahydroprotoberberine derivatives (THPBs) as proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) modulators for the treatment of hyperlipidemia [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2019, 9(6):1216-1230.

[69]

GRAHAM M J, LEMONIDIS K M, WHIPPLE C P, *et al.* Antisense inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces serum LDL in hyperlipidemic mice [ J ]. *J Lipid Res*, 2007, 48( 4 ): 763-767.

[70]

GUPTA N, FISKE R N, ASSELIN M C, *et al.* A locked nucleic acid antisense oligonucleotide ( LNA ) silences PCSK9 and enhances LDLR expression in vitro and in vivo [ J ]. *PLoS One*, 2010, 5( 5 ): e10682.

[71]

VAN POELGEEST E P, HODGES M R, MOERLAND M, *et al.* Antisense-mediated reduction of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 ( PCSK9 ): a first-in-human randomized, placebo-controlled trial [ J ]. *Br J Clin Pharmacol*, 2015, 80( 6 ): 1350-1361.

[72]

NORATA G D, BALLANTYNE C M, CATAPANO A L. New therapeutic principles in dyslipidaemia: focus on LDL and Lp( a ) lowering drugs [ J ]. *Eur Heart J*, 2013, 34( 24 ): 1783-1789.

[73]

BAUMAN J, JEARAWIRIYAPAISARN N, KOLE R. Therapeutic potential of splice-switching oligonucleotides [ J ]. *Oligonucleotides*, 2009, 19( 1 ): 1-13.

[74]

ROCHA C S, WIKLANDER O P, LARSSON L, *et al.* Rna therapeutics inactivate PCSK9 by inducing a unique intracellular retention form [ J ]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 82: 186-193.

[75]

FITZGERALD K, FRANK-KAMENETSKY M, MANT T, *et al.* Phase I safety, pharmacokinetic, and pharmacodynamic results for ALN-PCS, a novel RNAi therapeutic for the treatment of hypercholesterolemia [ J ]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32( Suppl 1 ): A67.

[76]

DING Q, STRONG A, PATEL K M, *et al.* Permanent alteration of PCSK9 with *in vivo* CRISPR-Cas9 genome editing [ J ]. *Circ Res*, 2014, 115( 5 ): 488-492.

[77]

SU Z L, HANG P Z, HU J, *et al.* Aloe-emodin exerts cholesterol-lowering effects by inhibiting proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in hyperlipidemic rats [ J ]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41( 8 ): 1085-1092.

[78]

LI H, DONG B, PARK S W, *et al.* Hepatocyte nuclear factor 1 $\alpha$  plays a critical role in PCSK9 gene transcription and regulation by the natural hypocholesterolemic compound berberine [ J ]. *J Biol Chem*, 2009, 284( 42 ): 28885-28895.

[79]

HWANG J T, KIM H J, CHOI H K, *et al.* Butein synergizes with statin to upregulate low-density lipoprotein receptor through hnf1 $\alpha$ -mediated PCSK9 inhibition in HepG2 cells [ J ]. *J Med Food*, 2020, 23( 10 ): 1102-1108.

[80]

WANG D, YANG X, CHEN Y, *et al.* Ascorbic acid enhances low-density lipoprotein receptor expression by suppressing proprotein convertase subtilisin/kexin 9 expression [ J ]. *J Bio Chem*, 2020, 295( 47 ): 15870-15882.

[81]

CUI C J, JIN J L, GUO L N, *et al.* Beneficial impact of epigallocatechingallate on LDL-c through PCSK9/LDLR pathway by blocking HNF1 $\alpha$  and activating foxo3a [ J ]. *J Transl Med*, 2020, 18( 1 ): 195.

[82]

CAMERON J, RANHEIM T, KULSETH M A, *et al.* Berberine decreases PCSK9 expression in HepG2 cells [ J ]. *Atherosclerosis*, 2008, 201( 2 ): 266-273.

[83]

MBIKAY M, MAYNE J, SIROIS F, *et al.* Mice fed a high-cholesterol diet supplemented with quercetin-3-glucoside show attenuated hyperlipidemia and hyperinsulinemia associated with differential regulation of PCSK9 and LDLR in their liver and pancreas [ J ]. *Mol Nutr Food Res*, 2018, 62( 9 ): 1700729.

[84]

TAI M H, CHEN P K, CHEN P Y, *et al.* Curcumin enhances cell-surface LDLR level and promotes LDL uptake through downregulation of PCSK9 gene expression in HepG2 cells [ J ]. *Mol Nutr Food Res*, 2014, 58( 11 ): 2133-2145.

[85]

ADORNI M P, ZIMETTI F, LUPO M G, *et al.* Naturally occurring PCSK9 inhibitors [ J ]. *Nutrients*, 2020, 12( 5 ): 1440.

( 本文编辑:李胜利 )

## 《新乡医学院学报》2021 年征订启事

《新乡医学院学报》(Journal of Xinxiang Medical University)创刊于1984年,是新乡医学院主管主办、国内外公开发行的综合性医学学术期刊。国际标准连续出版物号:ISSN 1004-7239,国内统一连续出版物号:CN 41-1186/R。现为月刊,每月5日出版,大16开本,每期100页。本刊设有专家论坛、专题报告、国家自然科学基金专题评述、基础研究、临床研究、综述等栏目。编辑部对来稿审理及时并严格执行“三审制”,对国家级、省部级科研基金项目资助的研究性论文优先发表。

本刊为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)、中国精品科技期刊、中国高校优秀科技期刊、河南省一级期刊、RCCSE中国核心学术期刊(A),目前被《中国学术期刊(光盘版)全文检索数据库》、《万方数据-数字化期刊群》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、英国《公共卫生数据库》(Global Health)、《中国学术期刊文摘》、《中国医学文摘》、《中国药科学文摘》等国内外权威性数据库、文摘期刊收录,标志着在本刊发表的论文将有机会被国内外著名检索系统收录,这对提高作者知名度及论文的影响力不无裨益。欢迎国内外医药工作者踊跃投稿。欢迎广大订户前往当地邮局订阅,邮发代号:36-145,每期定价10.00元,全年120.00元。编辑部地址:河南省新乡市金穗大道东段新乡医学院学报编辑部,邮政编码:453003。电话:0373-3029086,传真:0373-3831371,网址:www.xxyxyxb.com,E-mail:xxyxyxb@163.com。

本刊编辑部