

Progress in Research on PCSK 9 Inhibitors

Yuehuan Yang¹ Lusha E^{2*}

1. Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

2. Department of Cardiovascular Medicine, People's Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

Abstract

Proprotein convertase subtilisin kexin type 9, PCSK9 (PCSK9) is a kind of serine protease. Its mechanism of action is to combined with low density lipoprotein cholesterol receptor (LDLR), resulting in the change of LDLR conformation to be degraded by itself, This leads the accumulation of low density lipoprotein cholesterol in plasma, causing atherosclerosis. In recent years, the birth of the targeted drug PCSK9 inhibitor, which has attracted much attention, effectively and precisely regulated PCSK9, and reduced the level of low densitylipoprotein cholesterol. In this paper, the structure and mechanism of PCSK9 as well as the types, application status and development prospects of PCSK9 inhibitors are reviewed.

Keywords

PCSK9; blood lipids; atherosclerosis; PCSK9 inhibitor

PCSK9 抑制剂相关研究进展

杨月环¹ 鄂璐莎^{2*}

1. 内蒙古医科大学, 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

2. 内蒙古自治区人民医院心血管内科, 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

摘要

前蛋白转化酶枯草溶菌素9 (proprotein convertase subtilisin kexin type9, PCSK9) 是一种丝氨酸蛋白酶, 其作用机制是与低密度脂蛋白胆固醇受体 (LDLR) 结合, 导致LDLR构象改变被自身降解, 从而使血浆低密度脂蛋白胆固醇发生蓄积, 引发动脉粥样硬化。近年来, 备受关注的靶向药物PCSK9抑制剂的诞生, 有效针对PCSK9进行精准调控, 使得低密度脂蛋白胆固醇水平下降。论文从PCSK9的结构、作用机制及PCSK9抑制剂的种类、应用现状及发展前景进行综述。

关键词

PCSK9; 血脂; 动脉粥样硬化; PCSK9抑制剂

1 引言

随着社会经济的发展, 影响中国国民健康的头号公敌已然成为心脑血管疾病, 同时也是致残的第一大疾病, JACC 最新发布动脉粥样硬化相关的心血管事件影响着全球范围内死亡率和发病率^[1], 在中国《中国心血管健康与疾病报告 2021 概要》目前推算心血管病现患人数 3.30 亿, 男性多于女性, 在中国每 5 例死亡中就有 2 例死于心血管病^[2]。心脑血管疾病的发生给社会、家庭和个人都带来沉重的负担, 逐渐引起了大家的关注。

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是心血管疾病发生发展的重要原因, 其病理变化为内皮细胞暴露于外界致病因素下受损障碍, 通透性会增高, 使脂蛋白如低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 进入血管内膜, 刺激炎症细胞聚集, 大量炎症细胞吞噬 LDL-C 后形成泡沫细胞, 继而血管平滑肌细胞发生增殖, 导致纤维帽形成, 最终出现动脉粥样硬化斑块^[3-4]。由此可见, 低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 在动脉粥样硬化斑块的形成过程发挥重要作用, 因此有效的降脂方案成为至关重要的环节。

2 PCSK9 的概述

2003 年前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 被 Seidah^[5] 等作为一种能够调节血浆中低密度脂蛋白胆固醇水平的 K 样丝氨酸蛋白酶被首次发现, PCSK9 蛋白由 PCSK9 蛋白由信号肽 (包括 30 个氨基酸)、前结构域 (122 个氨基酸)、催化构域 (299 个氨基酸) 和富含半胱氨酸、组氨酸的 C- 端结构域 (279 个氨基酸) 组成^[6], 其基因位

【作者简介】杨月环 (1994-), 女, 中国内蒙古锡林郭勒盟人, 在读硕士, 从事心血管内科研究。

【通讯作者】鄂璐莎 (1979-), 女, 达斡尔族, 中国内蒙古呼和浩特人, 硕士, 主任医师, 从事心血管内科及介入研究。

于人染色体 1p32 位点, 编码含 692 个氨基酸的丝氨酸蛋白酶, 该基因在正常人体肝脏、小肠上皮、神经组织、肾上腺中均有表达^[5], 特别是在肝脏的表达水平尤为显著, 同年 AbifadelM 等^[7] 在研究遗传性高脂血症家族谱中发现其变异体, PCSK9 基因中 S127R、F216L 两个错义突变的存在, 使得其与常染色体显性高脂血症相关, 故出现了 PCSK9 基因功能获得性突变体 (gain of function, GOF) 和功能丧失性突变体 (Loss of function, LOF), 其中 GOF 突变体通过降低 LDLR 水平与高胆固醇血症相关, 而 LOF 又会导致低胆固醇血症^[7-8]。生理情况下, LDLR 可与 LDL 颗粒结合形成 LDL/LDLR 复合物, 通过内吞作用送至细胞, LDL 随即被降解, 而 LDLR 游离于细胞膜外继续结合下一个 LDL 颗粒以此循环^[9], 而 PCSK9 的出现, 它可以与 LDL 竞争性的和 LDLR 结合, 导致被 PCSK9 结合后的 LDLR 不能呈现其在细胞表面循环所需的正确构象^[10], 因此被自身内体和溶酶体降解, 间接减少了肝细胞和组织对低密度脂蛋白的清除, 使得体内 LDL-C 水平升高, 增加了心肌梗死、脑卒中和死亡风险^[11]。此外, 临床数据也已证明, 低水平的 LDL-C 确与心血管疾病患病风险的降低有关^[12]。所以, 降低血浆中 LDL-C 水平是心血管疾病一级、二级预防的关键策略。

3 PCSK9 抑制剂的分类及作用原理

通过对 PCSK9 的阐述可知, 中和或抑制 PCSK9 蛋白, 阻断其对 LDLR 的降解, 增强组织对 LDL-C 的清除能力成为研发新型降脂药物的新思路。在临床上常用他汀类药物来降低 LDL-C 水平, 但据研究发现, 大剂量的他汀降低水平并不显著, 他汀类药物的剂量即使在初始剂量的基础上再增加 1 倍, LDL-C 水平只会额外降低 6%, 被称为“他汀的瓶颈”^[13], 然而在降脂效益降低的同时, 它反而还会使血浆中 PCSK9 浓度显著增加, 与此同时增加了患者肝脏损伤、肌痛、新发或恶化糖尿病及横纹肌肉溶解等不良反应的风险^[14]。一方面, 由 2019 年 ESC/EAS 血脂管理指南推荐了强化降脂目标, 并提出 LDL-C “越低越好”的新观点^[15]; 另一方面, 存在着他汀“6% 效应”及不良反应, 一类以 PCSK9 为靶点的抑制剂的出现可谓恰逢其时, 目前热度较高的 PCSK9 抑制剂主要包括单克隆抗体、小干扰 RNA、反义寡核苷酸、小分子抑制剂类、疫苗、天然化合物等, 除了单克隆抗体已在我国获得批准应用于临床外, 其余多种 PCSK9 抑制剂正在研究中或进入临床试验阶段。

3.1 单克隆抗体

依洛尤单抗 (Evolocumab) 和阿利西尤单抗 (Alircoumab) 是我国上市的两个全人源的 PCSK9 单克隆抗体, 主要用于家族性高胆固醇血症以及成人 ASCVD 的治疗^[16-17], 两种单抗 (PCSK9 monoclonal antibodies, PCSK9-mAb) 都是可以特异性结合血清中游离 PCSK9 的单克隆抗体, 使其中断

PCSK9 与 LDLR 的结合, 间接增加了细胞表面 LDLR 密度, 促进 LDLR 再循环, 进一步有效地加强对 LDL-C 摄取及降解^[18]。目前, 依洛尤单抗和阿利西尤单抗已被多个心血管相关指南推荐, 用药方案为: Evolocumab 140mg/2w 需要皮下注射, 或每月的剂量达到 420mg, 可在 2~4d 使血药浓度达到最大值, 生物利用度约为 72%。而 Alircoumab 每 2w 皮下注射 75mg 或 150mg, 3~7d 达最大血药浓度, 生物利用度为 85%^[19]。针对以上两类单抗, FOURIER 研究显示^[20], 在他汀类药物治疗的基础上使用依洛尤单抗可使 LDL-C 的水平进一步降低达 59%, LDL-C 水平自基线平均下降 1.6mmol/L (62mg/dl), 主要终点事件 (心血管死亡、MI、卒中、因不稳定心绞痛住院或冠状动脉血运重建) 的相对风险降低 15%。FOURIER 亚洲亚组研究结果显示亚洲人群接受依洛尤单抗治疗也有显著获益, 结果显示, 患者 LDL-C 水平自基线的 2.3mmol/L (89mg/dl), 下降至 0.6mmol/L (22mg/dl), 主要终点事件 (心血管死亡、MI、卒中、因不稳定心绞痛住院或冠状动脉血运重建) 的相对风险降低 21%, 依洛尤单抗相关不良事件导致停药的发生率为 1.5%, 且亚洲人群在使用依洛尤单抗时无需进行剂量调整。HUYGENS 研究^[21] 是一项随机、双盲、安慰剂对照的全球多中心临床试验, 共纳入 161 例接受最大耐受剂量他汀类药物治疗的非 ST 段抬高型心肌梗死 (non ST-segment elevation myocardial infarction, NSTEMI) 患者, 通过采用光学相干层析成像 (optical coherence tomography, OCT) 评估冠状动脉粥样硬化斑块表型, 研究结果表明在他汀类药物基础上早期联合 PCSK9 抑制剂可稳定 NSTEMI 患者易损斑块、降低斑块破裂发生风险、强化降脂效果。ODYSSEY OUTCOMES^[22] 研究显示在接受他汀类药物治疗的基础上联用阿利西尤单抗可有效降低患者 LDL-C 水平, 并降低主要终点事件风险, 并且提示在最大耐受剂量他汀应用基础上, 阿利西尤单抗的降脂幅度明显优于依折麦布。2021 年 SCHWARTZ 等对 ODYSSEY OUTCOMES 研究结果进行了倾向评分匹配分析, 对 18924 例接受强化或最大耐受剂量他汀类药物治疗的 ACS 患者进行 PCSK9 抑制剂 (阿利西尤单抗) 和安慰剂治疗, 将服用阿利西尤单抗的患者按治疗后 4 个月 LDL-C 水平分为 < 25mg/dl 组 (n=3357)、25~50mg/dl 组 (n=3692) 和 > 50mg/dl 组 (n=2197), 结果显示: < 25mg/dl 组与 25~50mg/dl 组相比未进一步降低主要不良心血管事件 (major adverse cardiovascular events, MACE) 发生风险; 但与 > 50mg/dl 组相比, < 25mg/dl 组 MACE 发生风险降低。OSLER-1 研究是目前可获得的关于 PCSK9 抑制剂安全性最长随访时间的研究, 其相关数据显示, 在接受依洛尤单抗治疗 5 年的随访期间, 除注射部位不良反应外, 不增加包括新发糖尿病及其他不良反应的发生率。BERSON 研评估了依洛尤单抗在 II 型糖尿病伴血脂异常人群中的应用。结果显示, 治疗 12 周时, 依洛尤单抗可显著降低患者 LDL-C 水

平 74.8%~85.0%。在 FOURIER、ODYSSEY OUTCOME 和 HUYGENS 研究中可以证明 PCSK9 抑制剂能够显著降低他汀最大耐受剂量下 CAD 患者的 LDL-C 水平和主要复合心血管终点事件发生率,使原有心血管事件高风险患者 LDL-C 水平成功达到控制目标,达到强化降脂的效果。OSLER-1 和 BERSON 研究又能够证实 PCSK9 抑制剂联用他汀类药物在降脂治疗中明确的临床获益及良好的安全性。现两种单克隆抗体已进入医保目录,相信还会继续在临床实践中得到更加广泛应用。

3.2 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)

Inclisiran 是一种最近备受关注的针对 PCSK9 的长效治疗类 siRNA,它进入肝细胞后,通过与三烯 N-乙酰半乳糖胺碳水化合物缀合被特异性摄取,随后在细胞中导向链与 RNA 诱导的沉默复合物 (RISC) 结合,结合后的导向链与 PCSK9 的互补 mRNA 杂交并诱导其特异性切割信使 RNA 分子,阻止其翻译并抑制表达,使得血清中 PCSK9 蛋白水平降低,达到有效清除 LDL-C 的效果。该药物尚未在中国广泛应用,目前只在部分地区试行,能否像 PCSK9 单克隆抗体有效降低心血管事件有待更多临床数据的支持。

3.3 反义寡核苷酸

是一种单链修饰的 DNA 分子,通过碱基互补原则与 PCSK9 基因靶向结合,形成 RNA 双链,构象发生改变的 PCSK9 基因无法被自身识别,并启动对其 mRNA 链切割过程,最终被内源性核糖核酸酶 H (ribonuclease H, RNaseH) 裂解,实现了对 PCSK9 的 mRNA 转录和翻译的抑制,间接调控 LDLR 水平,现已在进行 II b 临床试验,研究结果尚未公布。

3.4 小分子抑制剂

通过作用于人类核糖体,与 PCSK9 蛋白的催化部位结合使其发生变构,影响 PCSK9 蛋白与 LDLR 结合直接抑制了 PCSK9 的翻译。由于 PCSK9 蛋白没有像酪氨酸激酶那样的天然口袋,酪氨酸激酶与相应靶点结合的平面接触面积更大,更加平坦,反观小分子抑制剂与靶点结合平面有限,存在着亲和力较低的缺点,而且有潜在的脱靶毒性,因此 PCSK9 小分子抑制剂研发一直较为缓慢。

3.5 疫苗

目前在研究的抗 PCSK9 疫苗为 AT04A,在向 CETP 模型小鼠注射 AT04A 后发现小鼠体内可产生强效的抗 PCSK9 体液免疫,持续时间长达 1 年,通过对照试验比较发现总胆固醇 (TC) 水平和 LDL-C 水平均有显著降幅,同时还发现动脉粥样硬化斑块的体积缩小而且数量也发生下降,此外还有对炎症因子的观察,可以降低炎症物质水平,当前该疫苗仅限于动物实验阶段,对于安全性仍缺乏实验数据的支撑。

3.6 天然化合物

近年来,植物源性天然化合物引起了关注,像小檗碱、姜黄素、虎杖苷、异槲皮苷、丹参酮 II A 具有抗氧化、调

脂等药理特性,其中小檗碱通过诱导 HNF1 蛋白的蛋白酶体降解,使 PCSK9 表达下调;姜黄素除了在转录水平下调 PCSK9 基因,减弱对 PCSK9 启动子的作用,抑制 PCSK9 表达,研究还发现姜黄素可降低他汀类药物诱导的 PCSK9 表达,证明其与他汀类药物有协同作用。这些植物源性天然化合物的发现,可以利用其毒性小、成本低的特点,为降脂方案的选择提供全新的方向。

3.7 基因编辑

利用基因编辑技术沉默或敲除有害的基因突变一直是中国和其他国家学者研究的热点,CRISPR/Cas9 系统是一个前沿基因组编辑平台,使用 CRISPR/Cas9 系统敲除成年小鼠肝脏 PCSK9 基因,使其表达沉默,无法继续与 LDLR 结合,特异性降低血清胆固醇水平。随着技术的进一步成熟,基因编辑技术的发展使得降脂变得更加精准,可以大大减少 ASCVD 的发生率。

4 总结与展望

PCSK9 抑制剂作为一类新型靶向强力降脂药物一直是研究热点,它的出现特别是为家族性遗传性高脂血症及他汀不耐受的患者带来新选择,已上市的依洛尤单抗与阿利西尤单抗短期内在降脂幅度、心血管事件及安全性方面远远优于传统他汀类药物,但 PCSK9 毕竟上市时间较短,长期应用的安全性及耐药性以及对于新发糖尿病风险、肌痛等远期影响仍需大量且长期的临床观察。同时,对于正处在临床试验阶段的 PCSK9 抑制剂如 inclisiran、反义寡核苷酸、AT04A 疫苗、天然化合物等,如果其能发挥安全、有效且持久的降脂作用,必然会为降脂治疗带来更优的选择。通过对于机制的不断探索以及药物的优化调整,相信 PCSK9 抑制剂这类药物会在将来的医学发展中翻开崭新的篇章。

参考文献

- [1] Dawson L P, Lum M, Nerleker N, et al. Coronary Atherosclerotic Plaque Regression: JACC State-of-the-Art Review [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2022, 79(1): 66-82.
- [2] 中国心血管健康与疾病报告 2021 概要 [J]. *心脑血管病防治*, 2022, 22(4): 20-36+40.
- [3] Badimon L, Vilahur G. Thrombosis formation on atherosclerotic lesions and plaque rupture [J]. *J Intern Med*, 2014, 276(6): 618-632.
- [4] Camaré C, Pucelle M, Nègre-Salvayre A, et al. Angiogenesis in the atherosclerotic plaque [J]. *Redox Biol*, 2017, 8(12): 18-34.
- [5] Navarese EP, Kolodziejczak M, Schulze V, et al. Effects of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Antibodies in Adults With Hypercholesterolemia: A Systematic Review and Meta-analysis [J]. *Ann Int Med*, 2015, 163(1): 40-51.
- [6] Lee S, Lee HC, Kwon YW, et al. Adenylyl cyclase-associated protein 1 is a receptor for human resistin and mediates inflammatory actions of human monocytes [J]. *Cell Metab*, 2014, 19(3): 484-497.
- [7] ABIFADE M, VARRET M, RABES JP, et al. Mutations in

- PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia[J]. *Nat Genet*,2003,34(2):154-156.
- [8] ALLARD D, AMSELLEM S, ABIFADEL M, et al. Novel mutations of the PCSK9 gene cause variable phenotype of autosomal dominant hypercholesterolemia[J]. *Hum Mutat*,2005.
- [9] LAGACE TA, CURTIS DE, GARUTI R, et al. Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and in livers of parabiotic mice[J]. *J Clin Invest*,2006,116(11):2995-3005.
- [10] Ragusa R, Basta G, Neglia D, et al. PCSK9 and atherosclerosis: Looking beyond LDL regulation[J]. *Eur J Clin Invest*,2021,51(4):3459.
- [11] ZIJLSTRA L E, MOOIJAAART S P, JUKEMA J W. PCSK9 inhibition in high-risk patients [J]. *Aging*,2019,11(23):10791-10792.
- [12] Silverman MG, Ference BA, Im K, et al. Association between lowering LDL-C and cardiovascular risk reduction among different therapeutic interventions: a systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA*,2016,316(12):1289-1297.
- [13] Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults:a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines[J]. *Circulation*,2014,129(25):1-45.
- [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] Mach F, Baigent C, Catapano AL, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk[J]. *Eur Heart J*,2020,41(1):111-188.
- [16] FDA. Evolocumab (Repatha®) label[EB/OL]. Washington DC (USA):FDA,2021-02-26[2022-07-22].
- [17] FDA. Alirocumab (Praluent®) label[EB/OL]. Washington DC (USA):FDA,2015-07-24[2022-07-22].
- [18] Roth EM, Davidson MH. PCSK9 Inhibitors: Mechanism of Action, Efficacy, and Safety[J]. *Rev Cardiovasc Med*,2018,19(S1):31-46.
- [19] Enrique G, Aner D, Chaim Y. Statins and PCSK9 inhibitors: A new lipid-lowering therapy[J]. *European Journal of Pharmacology*,2020,878:173114.
- [20] Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. Ezetimibe added to statin therapy after acute coronary syndromes[J]. *N Engl J Med*, 2015,372(25):2387-2397.
- [21] NICHOLLS S J, NISSEN S E, PRATI F, et al. Assessing the impact of PCSK9 inhibition on coronary plaque phenotype with optical coherence tomography: rationale and design of the randomized, placebo-controlled HUYGENS study[J]. *Cardiovasc Diagn Ther*,2021,11(1):120-129.
- [22] Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, et al. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease[J]. *N Engl J Med*,2017,3.