

PCSK9/NARC-1: 动脉粥样硬化干预的新靶点?

姜志胜

(南华大学心血管病研究所 动脉硬化学湖南省重点实验室, 湖南省衡阳市 421001)

[作者简介] 姜志胜, 教授, 医学博士, 博士后, 博士研究生导师, 湖南省高校学科带头人。1999年7月毕业于原北京医科大学(现北京大学医学部), 获医学博士学位。2000年2月至2004年12月在加拿大曼尼托巴大学从事心血管领域博士后研究, 2004年12月应邀回国工作。现任南华大学医学院院长兼心血管病研究所所长, 动脉硬化学湖南省重点实验室主任, 中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会副主任委员兼秘书长, 国际动脉粥样硬化学会中国分会秘书长, 湖南省病理生理学会副理事长兼心血管专业委员会主任委员, 《中国动脉硬化杂志》常务编委, 国家“863”高科技计划评审专家, 《Cardiovascular Research》《Acta Pharmacologica Sinica》等国内外知名刊物特邀审稿人。长期从事动脉粥样硬化和缺血心肌损伤的发病机制及其防治的研究, 先后主持加拿大国家卫生研究所(CHR)及加拿大曼尼托巴省卫生研究基金(MHRC)、中国国家自然科学基金、湖南省科技厅、教育厅项目, 及参加国家“863”重大高科技项目、国家“八五”科技攻关项目、国家“973”重大基础研究项目、国家自然科学基金重点项目、湖南省教育厅重大科技项目等多项科研课题的研究; 先后获加拿大曼尼托巴省优秀青年科学家奖、北京市科技进步二等奖、中国侨联科技创新人才奖等多项奖励; 在《Cardiovascular Research》《American Journal of Physiology》《Experimental Clinical Cardiology》《Journal of Molecular Cell Cardiology》《Journal of Cardiovascular Pharmacology》《Zentralblatt für Bakteriologie》《Journal of Molecular Cell Cardiology》《Pathophysiology》和《中国科学》《生物化学与生物物理学报》《生理学报》《中国药理学报》等国内外知名刊物上发表论文100余篇, SCI收录18篇, 参加国际性学术会议20余次, 并应邀在国际心脏研究会(ISHR)和美国心脏协会(AHA)等举办的多个国际学术会议上作专题报告。



[关键词] 动脉粥样硬化; 前蛋白转化酶枯草溶菌素9基因(PCSK9); 神经细胞凋亡调节转化酶-1(NARC-1); 低密度脂蛋白受体; 药物干预; 靶点

[摘要] PCSK9是一个新发现不久的与脂质代谢调节密切相关的基因。目前对其分子结构、分布、基因突变及表达调节和通过调节肝脏低密度脂蛋白受体的降解等功能特性有了一定的了解。但是由于对PCSK9作用底物目前缺乏系统的研究, 使得对其功能研究受到了局限。但是有一点可以肯定的是, 针对PCSK9的药物研发已经且必将是动脉粥样硬化防治领域的一个新突破。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

血浆中低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)代谢障碍与异常胆固醇血症、动脉粥样硬化密切相关, 研究LDLC代谢相关基因意义重大。常染色体显性高胆固醇血症(autosomal dominant hypercholesterolemia, ADH)为一种人群发病率较高的遗传病, 患者表现血清总胆固醇和LDLC极度升高, 角质层、肌腱、皮肤、动脉胆固醇沉着。过去研究发现, 低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)基因和载脂蛋白B-100基因与LDLC代谢相关, 分别导致家族性高胆固醇血症1型和2型; Seidah等^[1]发现一个新基因——前蛋白转化酶枯草溶菌素9基因(proprotein convertase subtilisin/kexin 9, PCSK9), 该基因编码一种前蛋白转化酶(neural apoptosis-regulated convertase-1, NARC-1), 可促进神经细胞分化再生。后研究表明, PCSK9可介导LDLR降解, 升高LDLC水平, 各种突变也导致异常胆固醇血症。本文就PCSK9结构分布、表达调节、功能特性及作为动脉粥样硬化干预的新靶点的研究并结合作者的工

作做一综述。

1 PCSK9的分布与分子结构

PCSK9基因在人、大鼠和小鼠中分别定位染色体1p32.3, 5q34和4C7, 其编码蛋白被称为神经细胞凋亡调节转化酶1(neural apoptosis regulated convertase 1, NARC-1), 属于前蛋白转化酶家族(PC)、蛋白酶K亚家族, NARC-1前体蛋白在人、大鼠和小鼠分别为692、691、694个氨基酸残基^[2]。人类PCSK9基因全长为29 kb, 由12个外显子构成, 编码区约为2 kb。人类NARC-1氨基酸序列可分为信号肽(signal peptide, SP 1~30)、前结构域(prodomain, 31~152)、催化结构域(catalytic domain, 153~452)、羧基末端结构域(C-terminal, 526~692)^[1]。PCSK9蛋白合成分泌与其他前蛋白转化酶相似, 内质网中合成PCSK9酶原(apo-PCSK9, 74kD), apo-PCSK9于内质网或高尔基体中发生自身催化反应, 在SV-FAF4 152处裂解释放前肽(14 kDa)形成成熟蛋白酶(60 kDa)并分泌入血(图1)。PCSK9主要在肝脏、肠道表达, 在肾脏、皮肤、脑中有少量表达^[2]。

[收稿日期] 2009-05-20

[基金项目] 湖南省科技计划重点项目(2008FJ2006)和动脉硬化学湖南省高校科技创新团队经费资助项目。

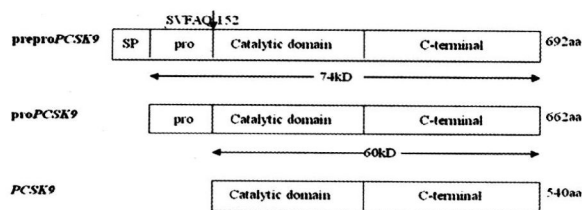


图 1 人 PCSK9 基因编码的蛋白结构域示意图 SVFAQ↓152 切割位点, SP: 信号肽, Pro: 前结构域, Catalytic domain: 催化结构域, C-terminal: 羧基末端结构域。PCSK9、ProPCSK9 和 PreproPCSK9 分别由 540 氨基酸、662 氨基酸和 692 氨基酸构成, PCSK9 和 ProPCSK9 的分子量分别为 60 kDa 和 74 kDa。

2 PCSK9/NARC-1 表达调节

2.1 上调 PCSK9 表达的因素

已知体内 SREBP21a、SREBP21c 和 SREBP22 可上调 PCSK9 表达。Costet 等^[3]研究营养状况对 PCSK9 表达的影响。小鼠禁食 24 h 后肝细胞 PCSK9 mRNA 量降低 73%, 蛋白表达量降低 2 倍; 再予高糖饮食, PCSK9 表达恢复。胰岛素处理鼠原代肝细胞, PCSK9 mRNA 表达上升 4~5 倍, 但葡萄糖处理无此效应, 表明胰岛素上调 PCSK9 表达, 在体研究结果与此一致。另外, LXR 激动剂也上调 PCSK9 表达。胰岛素和 LXR 激动剂上调 PCSK9 表达通过 SREBP21c 介导实现。Careskey 等^[4]和 Mayne 等^[5]检测病人服用阿伐他汀后血浆 PCSK9 含量变化, 发现 PCSK9 水平分别升高 34% 和 7.40%。表明他汀类降血脂药可上调 PCSK9 表达。

2.2 下调 PCSK9 表达的因素

Benjannet 等^[6]发现, PCSK9 功能获得型突变 R218S、F216L、D374Y 个体中 furin PC5/6A 表达全部或部分缺失, 功能缺失型突变 A443T、C679X 个体 furin 裂解 PCSK9 敏感性升高。同时, PC5/6A 缩短 PCSK9 寿命, 降解细胞表面 LDLR, 表明前蛋白酶家族成员 furin、PC5/6A 可灭活 PCSK9。Lambert 等^[7]用非诺贝特粉剂治疗糖尿病病人 6 周, 血浆

PCSK9 水平下降 8.5%; Mayne 等^[5]发现非诺贝特或吉非贝齐通过影响胆固醇水平间接减少 PCSK9 表达, 表明贝特类药物下调 PCSK9 表达。另外, Cameron 等^[8]报道黄连素可减少 PCSK9 基因转录从而降低 PCSK9 mRNA 和蛋白水平, 且这种作用呈时间、剂量依赖性。

3 PCSK9 的功能

3.1 PCSK9 介导低密度脂蛋白受体降解调节血脂水平

PCSK9 阻断 LDLR 从内涵体到细胞表面再循环从而介导其降解。首先, PCSK9 与细胞表面 LDLR 结合形成 PCSK9-LDLR 复合物 (PCSK9: LDLR)。LDLR 上 PCSK9 结合位点为表皮生长因子样重复结构 A (EGF-A), PCSK9 上 LDLR 结合位点远离催化位点。结合时, EGF-A、PCSK9 构象发生特殊改变, 可促进 PCSK9: LDLR 转载 LDLR 和 PCSK9 循环再利用^[9]。随后, PCSK9: LDLR 进入内涵体。内涵体酸性环境使 PCSK9: LDLR 亲和力增加 150 倍, 二者结合更为紧密。最后, PCSK9: LDLR 将 LDLR 送入溶酶体中降解, PCSK9 从复合物分离并重新利用。LDLR 与 PCSK9 的结合、转载改变其分布连续性, 促进其在溶酶体中降解^[10-11]。

3.2 PCSK9 基因突变与异常胆固醇血症

PCSK9 调节 LDLC 水平按 PCSK9 突变形式分为两类, 一类是 PCSK9 突变后, 降解 LDLR 的功能增强, 血液中 LDL 被清除的功能减弱, 称之为功能获得型突变。功能获得型突变可增强 PCSK9 上调 LDLC 的能力, 导致高胆固醇血症, 主要形式有 S127R、D129G、F216L、R218S、D374Y、N425S、R496W、H553R 和 E670G; 功能缺失型突变可削弱或灭活 PCSK9 上调 LDLC 的能力, 导致低胆固醇血症, 主要形式有 R46L、ΔR97、G106R、Y142X、L253F、A443T、Q554E 和 C679X^[12-19] (图 2)。国内安贞医院王绿娅等从一家族性高胆固醇血症家系中发现了一个新的 PCSK9 突变位点: 第 6 外显子错义突变。该突变能明显影响 LDLR 水平, 从而导致高胆固醇血症。

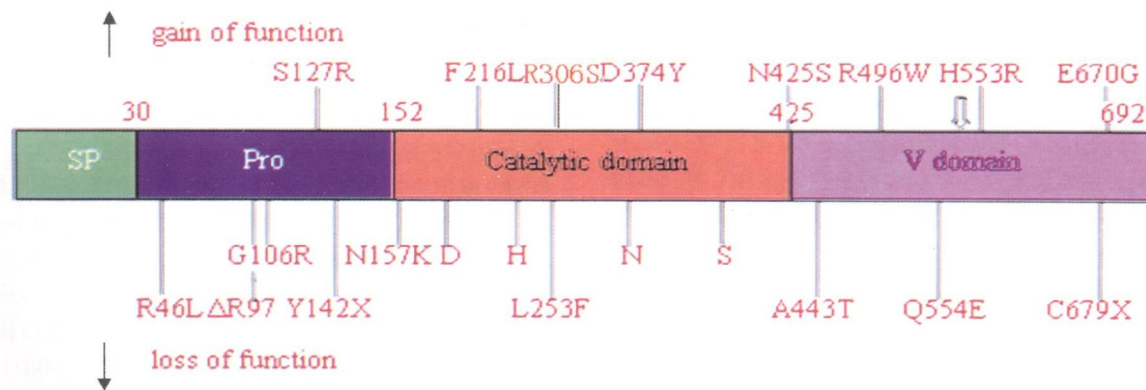


图 2 PCSK9 基因突变位点 上面部分为功能获得型突变位点, 下面部分为功能丧失型突变位点, 其中 R306S 为中国汉族人群发现之突变位点。

3.3 PCSK9对其它脂蛋白的代谢调节

PCSK9对其他脂蛋白也有调节作用。功能获得型突变 D374Y 和 S127R 个体血浆甘油三酯水平过高,肝细胞载脂蛋白 (apolipoprotein apo) B-100 分泌率显著高于野生型个体; PCSK9敲除小鼠离体肝细胞中 apoB-48 分泌率较正常鼠也明显降低^[20]。Lambert等^[21]对 PCSK9过表达小鼠禁食处理,检测到肝脏极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 输出率随血浆 LDL 清除率大幅升高,表明 PCSK9 可能通过 LDLR 影响肝脏 VLDL 代谢。近来, Poirier等^[22]报道功能获得型突变 D374Y 个体中 PCSK9 可降解 LDLR、VLDLR 和载脂蛋白 E 受体 2 且不依赖于催化活性。

3.4 PCSK9的其它功能

3.4.1 PCSK9对神经系统分化的影响 Steve Poirier 等^[23]分别构建小鼠胚胎癌细胞系细胞 P19 和斑马鱼模型,研究蛋白水解酶对中枢神经系统分化的潜在作用。使用维甲酸诱导 P19 细胞神经外胚层的分化,发现 PCSK9/NARC-1 的 mRNA 水平在分化的第 2 天达到峰值,随后出现下降。但是并没有影响内源性 LDLR 的蛋白水平。于是进一步采用 ISH 分析比较出生 24 h 的小鼠中 PCSK9/NARC-1 和 LDLR mRNA 的表达,发现 PCSK9/NARC-1 除了在肝脏和小肠等组织表达还在小脑神经元有表达,而 LDLR 却不显著^[23, 24]。在 PCSK9/NARC-1 基因敲除的斑马鱼模型中发现小脑神经元广泛地破坏,后脑-中脑边缘缺失,导致胚胎在受精后 96 h 死亡。然而 Rashid 等发现 PCSK9 缺陷小鼠发育正常,没有出现严重的神经缺陷^[25]。PCSK9/NARC-1 对不同物种如哺乳动物和鱼类,神经系统的作用是不同的,具体机制还有待研究。

3.4.2 PCSK9对神经元凋亡的调节作用 PCSK9 作为小脑颗粒神经元建立的神经凋亡转录依赖的模型中的一系列基因之一,代表的是神经凋亡调节候选基因^[26]。最近, Brendan 等^[27]研究发现 PCSK9 mRNA 在大鼠小脑颗粒神经元的表达发生在凋亡损伤后,而凋亡调节因子 caspase-3 和死亡受体 6 的共同调节增加了 PCSK9/NARC-1 参与神经元凋亡信号传递的可能性。用野生型和突变型 NARC-1/EGFP 融合载体转染大鼠小脑颗粒神经元,然后利用激光扫描细胞计数的方法计算在转染子中细胞凋亡的数量,发现野生型 NARC-1 有着强大的促凋亡效应。同时使用多聚半胱天冬酶抑制剂 BAF 评价依赖半胱天冬酶的 NARC-1 促凋亡效应,发现 BAF 只能部分逆转这种作用。与细胞凋亡的 BAF 敏感成分的缺失一样,活性位点的突变或者催化区的缺失可以导致细胞凋亡的减少。PCSK9 基因产物的一系列不同的功能的研究,有助于确定其过表达对瞬时转染的神经元的促凋亡作用。但 NARC-1-EGFP 过表达从而诱导细胞凋亡的机制仍然不清楚。

3.4.3 PCSK9在血管壁巨噬细胞和内皮细胞中的表达与功能研究^[28-30] 动脉粥样硬化的发生既是全身性脂质代谢紊乱的结果,也与血管壁局部脂质代谢紊乱密切相关。基于 PCSK9 在调节肝脏脂质代谢中的作用机制,最近几年,本课题组对 PCSK9 在血管壁及相关细胞中的表达和作用进行

了探讨。主要研究内容包括: PCSK9 在动脉粥样硬化病变中的表达, PCSK9 在巨噬细胞和血管内皮细胞中的表达及调节,以及 PCSK9 在 ox-LDL 诱导的巨噬细胞和血管内皮细胞凋亡中的作用。作者的研究结果发现: (1) 应用免疫组织化学和 Western blot 方法检测出在高脂饮食诱发的兔动脉粥样硬化病变中存在 PCSK9 高表达,而在正常饮食组血管壁中未检测出 PCSK9 的表达。(2) 在体外细胞培育中,检测出巨噬细胞和血管内皮细胞中都有 PCSK9 的表达,而且 LDL (0 ~ 30 mg/L) 和 ox-LDL (0 ~ 100 mg/L) 都呈浓度依赖性上调 PCSK9 的表达。(3) 应用 siRNA 沉默 PCSK9 的表达,可以明显抑制 ox-LDL 诱导的巨噬细胞和血管内皮细胞的凋亡。

4 基于以 PCSK9为靶点的药物研究与研发

4.1 PCSK9催化活性的细胞内抑制剂

4.1.1 黄连素 他汀类药物在降脂的同时,能增强 PCSK9 的表达,从而增加 LDLR 的降解,使他汀类药物的降脂效果受到了拮抗。Mandelsham 等^[31]证实 BBR 作为一种新的降胆固醇药物,通过稳定 LDLR mRNA 而发挥作用,其机制不同于他汀,与他汀合用有较好的降脂活性。在饮食诱导的大鼠高脂血症中, BBR 90 mg/(kg·d) 口服与 SMVA 6 mg/(kg·d) 口服合用减少血清 LDLC 达 46.2%, 较 SMVA (28.3%) 或 BBR (26.8%) 单一疗法有效,与 SMVA 12 mg/(kg·d) 类似 (43.4%), 血清三酰甘油 (TG) 下降水平也较任意单一疗法明显。二者联用可上调大鼠肝脏中 LDLR mRNA 的水平较单一疗法约高 1.6 倍,肝脏脂肪储存显著减少,提高了降脂效应。他汀能显著增加 PCSK9^(-/-) 小鼠肝脏 LDLR 水平和 LDL 的清除,而 BBR 呈时间和剂量依赖性方式减少 PCSK9 mRNA 的表达和蛋白水平,增加 LDLR mRNA 和蛋白水平,抑制他汀单独治疗导致的 PCSK9 mRNA 水平的增加,可作为他汀治疗的一个补充,二者都能提高 LDLR 转录后水平,合用对高脂血症是合理,有效和安全的,可成为高胆固醇血症的一个新疗法^[32]。这些研究结果也为调节 PCSK9 表达的中药药物研发提供了思路。

4.1.2 核受体 FXR 或 PPARα 激活剂 PC5/6A 和 farnesyl 可降解 PCSK9 活化的 PPARα 经抑制 PCSK9 启动子活性和增加 PC5/6A 的表达而对抗他汀或肝 X 受体激动剂 T0901317 对 PCSK9 的诱导作用。贝特作为一类常用的调脂药,能显著降低 TG, 中度降低总胆固醇和 LDLC, 并能升高 HDLC, 这类药物的抗动脉粥样硬化机制与 PPARα 的激活密切相关。PCSK9 mRNA 和蛋白水平定量研究表明各种贝特类药物呈 PPARα 依赖性上调 PC5/6A 和 farnesyl 及减少 PCSK9 的表达。非诺贝酸经减少永生性人肝细胞中 PCSK9 蛋白含量与 mRNA 水平,可增加普伐他汀活化 LDLR 的作用达 30%, 因此 PPARα 活化在前蛋白转化酶介导的脂质稳态中起了重要作用。

鹅去氧胆酸 (CDCA) 特异性的减少 PCSK9 mRNA 和蛋白含量,合成的胆汁酸特异性激动剂 GW 4064 激活法尼醇 X 受体 (FXR) 也可减少 PCSK9 的表达,二者同服可对抗他汀诱导的 PCSK9 表达,使 LDLR 有力的活化,表明 CDCA 或

FXR激动剂经抑制 PCSK9的表达可使他汀的降脂效应更为有效^[33]。

4.2 PCSK9基因沉默的 sRNA 和反义寡核苷酸

4.2.1 应用 sRNA 抑制 PCSK9 表达 Kevin 等利用小干扰 RNA (sRNA) 阻断 PCSK9 蛋白的产生, 在小鼠和大鼠实验中, sRNA 极大地减少了该蛋白质的产生, 并降低了血流中胆固醇浓度达 60%^[34]。单一的 sRNA 静脉内注射可减少非人类灵长类动物如短尾猴血浆中 PCSK9 水平达 70%, LDLC 水平达 56%。单剂量 sRNA 靶向作用于 PCSK9 使血浆 PCSK9 载脂蛋白 B 和 LDLC 快速、持久和可逆的降低, 对 HDLC 或 TG 无可测定的影响。注射 3 周后血浆 LDLC 水平仍保持明显的低水平。多物种研究 PCSK9 沉默对其 mRNA 和蛋白, 肝脏 LDLR 蛋白, 血清总胆固醇, LDLC 浓度水平有急性降低作用, 而非 HDLC。Kevin 等^[34]也证实 sRNA 治疗特异性沉默 PCSK9 所产生的上述效应, 表明靶向的 PCSK9 sRNA 能显著降低 LDLc 和其治疗的可行性, 为靶向降低 PCSK9 成为治疗高胆固醇血症策略的发展开创了道路。本课题组研究发现 PCSK9 sRNA 能有效抑制 oxLDL 诱导的巨噬细胞的凋亡, 这可能是针对 PCSK9 药物研发的又一重要靶点^[28]。

4.2.2 应用反义寡核苷酸抑制 PCSK9 的表达 目前对小鼠的研究表明反义寡核苷酸 (ASO) 治疗后 PCSK9 转录水平降低, 血液总胆固醇, LDLC 和 HDLC 减少, 肝脏 LDLR 水平增加。第二代反义寡核苷酸抑制剂靶向作用于小鼠 PCSK9 有很好的降脂作用。Graham 等^[35]给予高脂喂养的小鼠 PCSK9 ASO 处理 6 周减少总胆固醇和 LDL 分别达 53% 和 38%, 肝脏 LDLR 蛋白水平升高了 2 倍。在 LDLR^{-/-}小鼠中缺乏有效降低胆固醇的效应, 表明这种受体在介导 PCSK9 抑制降脂效应中发挥了重要的作用。反义抑制 PCSK9 是治疗高胆固醇血症的一个有吸引力的新疗法, 为了鉴定其药理学抑制作用是否通过上调 LDLR 蛋白而减少 LDL, 靶向抑制可使肝脏 PCSK9 mRNA 水平显著降低和伴随的总胆固醇和 LDL 减少, 肝脏 LDLR 蛋白表达显著增加, 与 PCSK9^{-/-}缺陷小鼠相同。

4.3 阻断 PCSK9 结合至细胞表面 LDLR 的小分子多肽或抗体

4.3.1 应用抗 PCSK9 抗体阻断 PCSK9 与 LDLR 的结合

PCSK9 与 LDLR 之间形成直接的蛋白-蛋白相互作用是其重要的药理学靶点, 运用特异性抗体直接对抗 PCSK9 可阻断该作用从而调节 LDL 的吸收。Christopher 等^[36]证实运用直接对抗 PCSK9 的抗体可成功破坏其与 LDLR 之间的相互作用, 并可减少 PCSK9 介导的肝细胞中 LDLR 的降解。水溶性 LDLR 过表达或加入 EGF-A 片段至培养细胞可抑制外源性 PCSK9 对 LDLR 的降解能力, 这种方法最终的成功依赖于 PCSK9 作用于细胞表面的 LDLR。

已知能够介导这一效应的抗体有: 对抗全长 PCSK9 (AF3888) 的商品化多克隆抗体; 对抗多肽对应的 PCSK9 与 LDLR 结合区域的两种多克隆抗体; 抗 PCSK9 CHRD 区域表位的抗体, 其不参与 LDLR 的相互作用, 证明抗体单独结合

不足以破坏其相互作用。

4.3.2 应用内源性小分子多肽或 PCSK9 模拟多肽阻断 PCSK9 与 LDLR 的结合 Seidah 通过双向凝胶电泳和质谱分析证实 PCSK9 结合约 33kDa 的膜联蛋白 AnxA2^[37]。LDLR 功能性分析和小发夹结构 RNA 研究表明 AnxA2 和 AnxA2 p11 复合物能防止 HuH7, HepG2 和中国仓鼠卵巢细胞中 PCSK9 对 LDLR 的定向降解。免疫细胞化学显示 PCSK9 和 AnxA2 共定位于细胞表面, 与 LDLR 有竞争性, 结构功能分析证实 PCSK9 的 CHRD 与 AnxA2 的 N 末端 R1 特异性相互作用。70 个氨基酸长度的重复序列突变分析指出 AnxA2 序列 RRTKK81 参与这一结合, 因突变为 AATAA81 可阻止其与 PCSK9 的相互作用, 首次表明 PCSK9 活化能被内源性抑制剂调节。AnxA2 特异性结合 CHRD 和抑制 PCSK9 功能, 其肽模拟物为新的 PCSK9 抑制剂的发展铺平了道路。

5 存在的问题与展望^[38-40]

目前研究证明, 可以从转录水平和转录后水平调节 LDLR 的水平。SREBP-2 可以同时从转录水平活化 PCSK9 和 LDLR, 而 PCSK9 的活化又抑制了 LDLR, 这是一个矛盾, 关于这一现象目前还没有合理的解释, 很可能是在激活了 PCSK9 和 LDLR, 同时 PCSK9 在 LDLR 转录后将其降解, 或者使其半衰期缩短, 使细胞不至于摄取过量的 LDL。

作为前蛋白转化酶家族中的一员, NARC-1 的作用底物尚未完全清楚, 这也为 PCSK9 的功能探讨提供了广阔的研究空间。目前主要以肝细胞作为研究对象, 研究 PCSK9/NARC-1 通过调节肝细胞 LDLR 的量导致高胆固醇血症, 而高胆固醇血症可导致动脉粥样硬化的发生。但是对于 PCSK9/NARC-1 在血管壁脂质清除中起作用的巨噬细胞和平滑肌细胞中的表达、调节及其对血管壁的直接作用是一个令人感兴趣的问题。晶体学研究发现 PCSK9 羧基末端和炎症因子抵抗素结构相似, 功能获得型突变 D374Y 基因分析表明 PCSK9 调节 LDLC 时可能出现某些特殊炎症反应, 但 PCSK9 与炎症是否相关或存在何种具体联系尚未确定。PCSK9 除对 LDL 外还可影响 apoB-100、B-48、E 和 VLDL 水平, 但证据不足, 而 PCSK9 与脂质代谢更广泛的联系尚待研究。

作为最新发现的前蛋白酶, PCSK9/NARC-1 与脂质平衡之间的关系以及其它可能具有的潜在作用越来越受关注, 深入探讨 PCSK9 的作用机制可能有助于了解某些疾病的发病机制, 并可能将为防治高胆固醇血症和动脉粥样硬化的提供新的治疗靶点。

[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 USA*, 2003; **100**(3): 928-933.
- [2] Naureckiene S, Miall S, Sreekumar K, et al. Functional characterization of Nare-1, a novel proteinase related to proteinase K [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2003; **420**(1): 55-67.
- [3] Costet P, Cariou R, Lambert G, et al. Hepatic PCSK9 expression is regulated by nutritional status via insulin and sterol regulatory element binding

- protein2c [J]. *J Biol Chem*, 2006 **281**(10): 6 211-218
- [4] Careskey HE, Davis RA, Alborn WE, et al. Atorvastatin increases human serum levels of proprotein convertase [J]. *J Lipid Res*, 2008 **49**(2): 394-398
- [5] Mayne J, Dewpura T, Raymond A, et al. Plasma PCSK9 levels are significantly modified by statins and fibrates in humans [J]. *Lipids Health Dis*, 2008 **7**: 22
- [6] Benjannet S, Rhoads D, Hanelin J, et al. The proprotein convertase (PC) PCSK9 is inactivated by furin and/or PC5/6A: functional consequences of natural mutations and post-translational modifications [J]. *J Biol Chem*, 2006 **281**(41): 30 561-572
- [7] Lambert G, Ancellin N, Charlton F, et al. Plasma PCSK9 concentrations correlate with LDL and total cholesterol in diabetic [J]. *Clin Chem*, 2008 **54**(6): 1 038-045
- [8] Cameron J, Ranheim T, Kulseth MA, et al. Berberine decreases PCSK9 expression in HepG2 cells [J]. *Atherosclerosis*, 2008 **201**(2): 266-273
- [9] Cameron JO, Holla L, Ranheim T, et al. Effect of mutations in the PCSK9 gene on the cell surface LDL receptors [J]. *Hum Mol Genet*, 2006 **15**: 1 551-558
- [10] Kwon HJ, Lagace TA, McNutt MC, et al. Molecular basis for LDL receptor recognition by PCSK9 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008 **105**: 1 820-825
- [11] Zhang DW, Lagace TA, Ganuti 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**: 18 602-612
- [12] Grozdanov PN, Petkov PM, Karagoyozov IK, et al. Expression and localization of PCSK9 in rat hepatic cells [J]. *Biochem Cell Biol*, 2006 **84**(1): 80-92
- [13] Homer VM, Marais AD, Charlton F, et al. Identification and characterization of two non-secreted PCSK9 mutants associated with familial hypercholesterolemia in cohorts from New Zealand and South Africa [J]. *Atherosclerosis*, 2008 **196**(2): 659-666
- [14] Nassoury N, Blasiole DA, Tebon OA, et al. The cellular trafficking of the secretory proprotein convertase PCSK9 and its dependence on the LDLR [J]. *Traffic*, 2007 **8**(6): 718-732
- [15] Abboud S, Karhunen PJ, Lutjohann D, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) gene is a risk factor of large-vessel atherosclerosis stroke [J]. *PLoS ONE*, 2007 **2**(10): e1043
- [16] Scartezini M, Hubbart C, Whittall R A, et al. The PCSK9 gene R46L variant is associated with lower plasma lipid levels and cardiovascular risk in healthy UK men [J]. *Clin Sci*, 2007 **113**(11): 435-441
- [17] Hallman DM, Srinivasan SR, Chen W, et al. Relation of PCSK9 mutations to serum low-density lipoprotein cholesterol in childhood and adulthood (from The Bogalusa Heart Study) [J]. *Am J Cardiol*, 2007 **100**(1): 69-72
- [18] Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, et al. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease [J]. *N Engl J Med*, 2006 **354**(12): 1 264-272
- [19] Cameron J, Holla OL, Ranheim T, et al. Effect of mutations in the PCSK9 gene on the cell surface LDL receptors [J]. *Hum Mol Genet*, 2006 **15**(9): 1 551-558
- [20] Ouguerram K, Chetiveaux M, Zair Y, et al. Apolipoprotein B100 metabolism in autosomal dominant hypercholesterolemia related to mutations in pcsk9 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004 **24**(8): 1 448-453
- [21] Lambert G, Jamoux AL, Pineau T, et al. Fasting induces hyperlipidemia in mice overexpressing proprotein convertase subtilisin/kexin type 9: lack of modulation of very-low-density lipoprotein hepatic output by the low-density lipoprotein receptor [J]. *Endocrinology*, 2006 **147**: 4 985-995
- [22] Poirier S, Mayer G, Benjannet S, et al. The proprotein convertase PCSK9 induces the degradation of low density lipoprotein receptor (LDLR) and its closest family members VLDLR and ApoER2 [J]. *J Biol Chem*, 2008 **283**(4): 2 363-372
- [23] Poirier S, Prat A, Marcinkiewicz E, et al. Implication of the proprotein convertase PCSK9/NARC-1 in the development of the nervous system [J]. *J Neurochem*, 2006 **98**(3): 838-850
- [24] Maxwell KN, Soccio RE, Duncan EM, et al. Novel putative SREBP and LXR target genes identified by microarray analysis in liver of cholesterol-fed mice [J]. *J Lipid Res*, 2003 **44**(11): 2 109-119
- [25] Rashid S, Curtis DE, Ganuti R, et al. Decreased plasma cholesterol and hypersensitivity to statins in mice lacking Pcsk9 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005 **102**(15): 5 374-379
- [26] Chiang L, Grenier J, Etwiller L, et al. An orchestrated gene expression component of neuronal programmed cell death revealed by cDNA array analysis [J]. *PNAS*, 2001 **98**: 2 814-819
- [27] Bingham R, Shen R, Kotnis S, et al. Proapoptotic effects of NARC-1 (= PCSK9), the gene encoding a novel serine proteinase [J]. *Cytometry A*, 2006 **69**(11): 1 123-131
- [28] 刘录山, 谢 闯, 姜志胜, 等. pcsk9 siRNA 对 oxLDL 诱导的 THP-1 源性巨噬细胞凋亡的影响 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2009 **36**(3): 323-330
- [29] 刘录山, 程艳丽, 姜志胜, 等. LDL, oxLDL 对 THP-1 巨噬细胞 PCSK9, LDLR 表达的影响研究. *生物化学与生物物理进展*, 2008 **35**(5): 540-547
- [30] Z Tang L, Liu Z, Jiang et al. NARC-1/PCSK9 is expressed in atherosclerotic lesion of New Zealand rabbit. *Atherosclerosis (Supplements)*, 2009 **10**(2): P174
- [31] Mandelsham M, Vasiliev VB. Monogenic hypercholesterolemia: new genes, new drug targets [J]. *Genetika*, 2008 **44**(10): 1 309-316
- [32] Kong WJ, Wei J, Zuo ZY, et al. Combination of simvastatin with berberine improves the lipid-lowering efficacy [J]. *Metabolism*, 2008 **57**(8): 1 029-037
- [33] Langhi C, LeMay C, Kourimate S, et al. Activation of the farnesoid X receptor represses PCSK9 expression in human hepatocytes [J]. *FEBS Lett*, 2008 **582**(6): 949-955
- [34] Frank-Kamenetsky M, Grefhorst A, Anderson NN, et al. Therapeutic RNAi targeting PCSK9 acutely lowers plasma cholesterol in rodents and LDL cholesterol in nonhuman primates [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008 **105**(33): 11 915-920
- [35] Graham MJ, Lemonidis KM, Whipple CP, 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
- [36] Christopher JD, Martin JS, Ian TK, et al. Antibody-mediated disruption of the interaction between PCSK9 and the low-density lipoprotein receptor [J]. *Biochem J*, 2009 **419**(3): 577-584
- [37] Mayer G, Poirier S, Seidah NG. Annexin A2 is a C-terminal PCSK9-binding protein that regulates endogenous low density lipoprotein receptor levels [J]. *J Biol Chem*, 2008 **283**(46): 31 791-801
- [38] 谢 闯, 潘利红, 刘录山, 等. Pcsk9 基因在脂质代谢和神经系统中的作用 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2008 **24**(1): 6-10
- [39] 程艳丽, 谢 闯, 刘录山, 等. pcsk9 基因突变与胆固醇血症 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2007 **23**(3): 172-176
- [40] 肖文虎, 刘录山, 姜志胜, 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

(此文编辑 李小玲)