

前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 基因多态性的临床研究进展

龚慧琴^{1,2}, 吴琪¹, 文红艳³, 刘录山¹

(1. 南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室, 2. 南华大学附属第一医院心血管内科, 湖南省衡阳市 421001; 3. 湖南省中医药大学西医诊断学教研室, 湖南省长沙市 410208)

[关键词] 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9; 低密度脂蛋白胆固醇; 胆固醇代谢; 冠状动脉粥样硬化性心脏病; 糖尿病

[摘要] 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 是近年来新发现的一种与调节胆固醇代谢密切相关蛋白, 属前蛋白转化酶家族。PCSK9 可通过调节低密度脂蛋白胆固醇 (LDLC) 水平进而影响冠状动脉粥样硬化性心脏病、外周血管病、脑血管病、神经系统疾病及糖尿病等疾病的风险。近来研究表明, PCSK9 基因多态性位点双向调节胆固醇水平。认识这些多态性位点, 对于评估疾病严重性、预后或药物治疗反应有重要临床意义。本文就 PCSK9 基因多态性及其临床研究进展做一综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Clinical Advance of PCSK9 Polymorphism

GONG Hui-Qin^{1,2}, WU Qi¹, WEN Hong-Yan³, and LIU Lu-Shan¹

(1. Institute of Cardiovascular Disease, University of South China & Key Lab for Arteriosclerology of Hunan Province, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Department of Cardiovascular, the First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang 421001, China; 3. Department of Western Medicine Diagnostics, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[KEY WORDS] Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9; Low Density Lipoprotein Cholesterol; Cholesterol Metabolism; Coronary Artery Disease; Diabetes

[ABSTRACT] Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) is closely related to modulate plasma cholesterol metabolism as newly discovered, and belongs to the proprotein convertase (PC) family. PCSK9 is a protein that reduces risk of coronary artery disease, peripheral vascular disease, cerebrovascular disease, nervous system diseases and diabetes by lowering serum low density lipoprotein cholesterol (LDLC) levels. Recent studies have shown that PCSK9 polymorphisms may modulate plasma cholesterol levels either positively or negatively. Recognition of these polymorphisms may have clinical significance in assessing severity of disease, prognosis, or response to drug therapy. This review focuses on recent advances of the influence of PCSK9 polymorphisms on LDLC and clinical advance of PCSK9.

家族性高胆固醇血症 (familial hypercholesterolemia, FH) 是一种严重的常染色体单基因显性遗传性疾病, 其临床特点是高胆固醇血症、特征性黄色瘤、早发心血管疾病和典型家族史。研究发现, 低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDLR)、载脂蛋白 B (apolipoprotein B, ApoB)、2 个与植物固醇代谢相关的转运子 ABCG5/G8、ARH 等 4

个基因突变与 FH 表型相关。2003 年 Abifadel 等^[1]发现前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9) 基因可能是与 FH 表型相关的一个新致病基因, PCSK9 可介导 LDLR 降解, 升高低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 水平。然而, PCSK9 基因突变形式分为功能获得型 (gain-of-function, GOF) 突

[收稿日期] 2011-10-25

[基金项目] 国家自然科学基金 (30700325)、湖南省教育厅重点项目 (10A105)、湖南省科技厅项目 (2010TP4008-2) 和湖南省高校科技创新团队支持计划

[作者简介] 龚慧琴, 硕士研究生。通讯作者文红艳, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管疾病的诊断与治疗。通讯作者刘录山, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制及防治, E-mail 为 liuls2000@163.com。

变和功能缺失型 (loss-of-function, LOF) 突变对胆固醇水平起双向调节作用。功能缺失型突变与低胆固醇血症有关,而功能获得型突变导致高胆固醇血症,与促进冠状动脉粥样硬化性心脏病 (coronary artery disease, CHD) 发生有关^[2]。近年来 PCSK9 基础与临床研究不断取得新的进展,对 FH 和 CHD 的发病机制认识、临床诊断与治疗产生重要影响,PCSK9 还可能参与其它疾病如神经系统疾病和糖尿病等发生。PCSK9 基因多态性与临床疾病的关系越来越受到研究人员和临床医生的关注。

1 PCSK9 蛋白和基因结构

人类 PCSK9 基因定位于染色体 1p32.3,全长为 29 kb,含 12 个外显子,cDNA 全长 3617 个碱基,编码含 692 个氨基酸残基的蛋白质,其编码蛋白质被称为神经细胞凋亡调节转化酶 1 (neural apoptosis regulated convertase1, NARC-1),是一个属于丝氨酸蛋白酶 K 亚类的独特前蛋白转化酶,它能切割非碱性氨基酸,其底物特异性不同于许多其它前蛋白转化酶,它的唯一已知底物为前体 PCSK9。人类 PCSK9 氨基酸序列可分为信号肽 (1~30)、前结构域 (31~152)、催化结构域 (153~451) 和富含半胱氨酸和组氨酸的 C 末端区域 (452~692)^[3]。PCSK9 前体蛋白在内质网中合成一种可溶性酶原,即 PCSK9 酶原 (apo-PCSK9),在内质网或高尔基体中 apo-PCSK9 151~152 残基处发生自动催化分裂释放前肽形成成熟蛋白酶并分泌入血。PCSK9 主要在肝脏、小肠中表达,但只在肝脏表达的 PCSK9 可分泌入血。

2 PCSK9 基因多态性影响 LDLC 水平

近来 PCSK9 基因变异对 LDLC 水平的影响研究已成为一个热点。目前,已经发现 50 余个 PCSK9 基因突变位点,其中 R46L、 Δ R97、G106R、Y142X、I253F、A443T、Q554E 及 C679X 等突变与 LDLC 水平降低相关,而 S127R、D129G、F216L、R218S、D374Y、N425S、R496W、H553R、E670G 及 I474V 等突变与 LDLC 水平增高相关。蔺洁等^[4]从一个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 外显子第 306 位精氨酸被丝氨酸取代,体外实验证实该突变能明显影响 LDLR 蛋白水平。

Cunningham 等^[5]研究发现,D374Y 突变与 FH 和早发 CHD 相关。突变型 PCSK9 在中性环境中与

受体的结合力比野生型强 25 倍,而在酸性环境中则形成高亲和力的络合物,因此推断 PCSK9 可能通过直接结合而不一定是水解 LDLR 的机制减少细胞表面 LDLR。Chen 等^[6]发现,PCSK9 的 E670G (23968 A>G) 与血清 LDLC 水平相关,GG 型 LDLC 水平最高,AG 型 LDLC 水平居中,AA 型 LDLC 水平最低。Cameron 等^[7]发现了 4 个 PCSK9 功能缺失型突变 (R46L、G106R、N157K、R237W) 增加细胞表面 LDLR 表达和增强 LDL 内吞;而 2 个 PCSK9 功能获得型突变 (S127R 和 D374R) 降低细胞表面 LDLR 表达和减少 LDL 内吞。Hallman 等^[8]对 478 名非洲裔美国人和 1086 名白人研究发现,非洲裔美国人中 Y142X 和 C679X 等位基因携带者比非携带者 LDLC 水平低,白人 R46L 等位基因携带者比非携带者 LDLC 水平明显降低。Hooper 等^[9]对 653 名非洲黑人女性研究发现,PCSK9 基因 C679X 无义突变存在于 3.7% 的津巴布韦黑人中,该突变可引起 LDLC 降低,但对高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 无影响。Cohen 等^[2]研究也得到相似的结论。这些研究发现,较高活性的 PCSK9 能调节 LDLC 和总胆固醇 (total cholesterol, TC) 水平,降低 PCSK9 表达可能对减少 CHD 发病率有利^[10]。Yue 等^[11]对 403 名高加索人研究发现,PCSK9 基因 c.43_44 插入 CTG 突变在高加索人中与血清低 LDLC 水平存在相关性,该突变在 3 个非洲裔美国人和高加索人家族性低 β -脂蛋白血症家族中亦有发现,提示 c.43_44 插入 CTG 在高加索人中起降胆固醇的作用。Miyake 等^[12]研究日本人群中 PCSK9 的 33 个序列突变体中发现有 24 个是日本特有的,其中 1 个错义突变 R93C 与低 LDLC 相关。Hsu 等^[13]发现台湾人中 E670G 突变未能提高胆固醇水平,而 Norata 等^[14]发现意大利人中该突变提高胆固醇水平。Evans 等^[15]对 506 例血脂异常患者研究发现,PCSK9 基因的 E670G 突变在男性中与 LDLC 升高有相关性,而在女性中则无相关性。Chen 等^[16]发现,PCSK9 基因的 E670G 及 23968 A>G 突变中 G 等位基因单倍体与高水平的 LDLC 有相关性,但 Kotowski 等^[17]发现该突变在德克萨斯人中与血清 LDL 水平无相关性。以上研究表明,PCSK9 基因变异与血清胆固醇的改变密切相关,但因人种、性别、年龄及环境因素的差异而有所不同。

3 PCSK9 与临床相关性疾病

3.1 PCSK9 与冠状动脉粥样硬化性心脏病

CHD 是严重危害人类健康的临床常见疾病之

一,是一种多因素、多基因遗传的代谢障碍性疾病,且与环境因素密切相关。血浆 LDLC 水平与 CHD 之间已建立明确的因果关系。对遗传性疾病如杂合家族性高胆固醇血症的观察发现,LDLR 基因突变使 LDLC 水平升高 1 倍,则心脏病发作危险度升高 10 倍以上。除吸烟、肥胖、高血脂等传统危险因素外,近年 CHD 研究多围绕基因展开。Cohen 等^[18]研究表明,美国中年人的终身低 LDL 水平归因于丝氨酸蛋白酶家族中的一种分泌酶,即基因编码 PCSK9 的功能缺失型突变。一些带有无义突变 Y142X、C679X 的受试者(如非洲裔美国人),LDLC 水平减少了 28%,CHD 发病率却显著降低了 88%;而大多数带有错义变异 R46L 的受试者(如欧洲裔美国人),LDLC 水平仅减少了 15%,CHD 发病率降低了 47%。因此,PCSK9 基因无义突变 Y142X、C679X 及错义突变 R46L 均为功能缺失型突变可降低 LDLC 水平和 CHD 发病率,具有心脏保护效应。

动脉粥样硬化是 CHD 的发病基础,是一种慢性炎症反应过程,PCSK9 有可能间接导致动脉粥样硬化炎症反应的发生。Lan 等^[19]通过基因微阵列分析研究证实 PCSK9 除影响脂质代谢调节通路之外,还调节炎症反应,一些与炎症相关的基因表达处于 PCSK9 基因的下游调控之列。江璐等^[20]研究发现 PCSK9 siRNA 能够抑制氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)诱导的 THP-1 源性巨噬细胞炎症因子 IL-1 α 、IL-6 和 TNF- α 表达,其机制与抑制 NF- κ B 表达有关。PCSK9 与炎症反应之间的具体分子机制尚未确定,仍需进一步探索。

3.2 PCSK9 与外周血管疾病和脑血管病

Folsom 等^[21]报道 PCSK9 基因多态性对外周血管疾病的影响,社区动脉粥样硬化发病危险(ARIC)研究是对 13634 名年龄在 45~64 岁成人从 1987 年~1989 年进行 2 年随访,该项研究主要是评估 PCSK9 基因多态性 Y142X、C679X(与黑人有关)和 R46L(与白人有关)的危险性。研究发现 PCSK9 基因多态性 Y142X、C679X、R46L 患外周血管疾病率比一般人群低。外周血管疾病对年龄和性别调整后比值比是 0.47(95% CI 为 0.24~0.92)。然而,与横断面研究相比,纵向研究发现 PCSK9 基因多态性与外周血管疾病无相关性,仅表明 PCSK9 可能归因于外周动脉疾病遗传性心血管危险因素。

综合比利时和芬兰两个独立研究获得的临床和尸检数据^[22]分析表明,PCSK9 突变与发生大血管动脉粥样硬化(large-vessel atherosclerosis, LVA)中风

亚型的风险有相关性,并提示该风险可能是由严重颅内动脉硬化引起。比利时中风研究包含 237 例比利时中年患者(年龄在 45~60 岁之间),伴有小血管闭塞(small-vessel occlusion, SVO)和 LVA 中风,以 326 例无中风病史为对照(年龄>60 岁),多元回归分析发现,PCSK9 基因多态性 E670G 的 G 等位基因可作为 LVA 的一个重要的预测因子(OR = 3.52, 95% CI 为 1.25~9.85, P = 0.017)。在芬兰一个小型的人群研究中(604 例男性和女性,平均年龄 62.5 岁),G 等位基因携带者往往严重依赖等位基因拷贝数,使在 Willis 环和其分支上引起动脉粥样硬化。

3.3 PCSK9 与神经系统疾病

神经系统退行性病变是严重危害老年人身体健康和影响老年人生活质量的一类疾病,例如帕金森氏病和阿尔茨海默氏病。这类疾病的共同病理形态学基础之一是神经细胞的退行性改变和丢失。研究发现, α -synuclein 基因、Parkin 基因、泛素羧基端水解酶 L1 基因(UCHL1)、NURR1 基因、DJ-1 基因和 PINK1 基因等这些基因突变都与帕金森氏病发生密切相关。而载脂蛋白 E 基因多态性被认为是阿尔茨海默氏病的重要危险因素。此外,APP、PS-1、PS-2 基因也与阿尔茨海默氏病发生相关。而 PCSK9 是最近发现的与胆固醇代谢相关并于神经细胞凋亡相关的基因,提示 PCSK9 与神经系统疾病可能存在潜在联系。

Seidah 等^[23]发现,在胚胎发育第 12 天端脑初级神经元中 PCSK9 cDNA 过表达,表明 PCSK9 能促进端脑神经细胞发育。Poirier 等^[24]分别构建小鼠胚胎癌细胞 P19 和斑马鱼模型,研究 PCSK9 对中枢神经系统分化的潜在作用。使用维甲酸诱导 P19 细胞神经外胚层分化,发现 PCSK9 mRNA 水平在分化的第 2 天达到峰值,随后下降,但是并没有影响内源性 LDLR 蛋白质水平。进一步采用 ISH 分析比较出生 1 天的小鼠中 PCSK9 和 LDLR mRNA 的表达,发现 PCSK9 除在肝脏和小肠等组织表达外还在小脑神经元表达,但 LDLR 表达不明显^[24]。PCSK9 基因敲除斑马鱼模型小脑神经元组织广泛破坏,后脑-中脑边缘缺失,导致胚胎在受精后 96 h 死亡。然而, Rashid 等^[25]研究发现,PCSK9 缺陷小鼠发育正常,未出现严重的神经缺陷。这些研究揭示了 PCSK9 在中枢神经系统发育中起作用,但 PCSK9 对不同物种如哺乳动物和鱼类神经系统作用不同。

Bingham 等^[26]研究发现,PCSK9 的 mRNA 在大鼠小脑颗粒神经元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 参与神经元凋亡信号传递的可能性。用野生型和突变型 PCSK9/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数量,发现野生型 PCSK9 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 PCSK9 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减少。PCSK9 基因产物的一系列不同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 PCSK9/EGFP 过表达从而诱导细胞凋亡的机制仍然不清楚。

然而,2 个基于人群基础的分子遗传学研究报告并未发现痴呆、阿尔茨海默氏病与 PCSK9 及其多态性相关联^[27,28],可能由于样本量小,基于血脑屏障的存在,血液中的 PCSK9 浓度能否准确反映脑内浓度,因此,PCSK9 在神经系统中的作用值得商榷。

3.4 PCSK9 与糖尿病

2006 年, Costet 等^[29]发现,小鼠禁食 24 h 后,肝细胞中 PCSK9 mRNA 降低 73%,蛋白表达量降低 2 倍,之后再给予高碳水化合物喂养,PCSK9 表达恢复正常。此外,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。Dubuc 等^[30]和 Lako-ski 等^[31]也证实,人体内血浆 PCSK9 水平与空腹血糖正相关。但 Kappelle 等^[32]研究发现,在健康对照组和糖尿病患者组皮下持续泵入适量的胰岛素 24 h 后,这两组血浆 LDLC 和载脂蛋白 B 水平均下降,健康对照组甘油三酯水平也下降,但糖尿病患者组甘油三酯水平没有明显变化;而这两组血浆 PCSK9 水平仍然没有变化。表明人体内的血浆 PCSK9 与胰岛素无相关性,这与前面所述研究^[29-31]报告的结论不一致, Kappelle 等^[32]研究对象的样本量较少,故人体内血浆 PCSK9 水平是否与胰岛素有关还有待进一步的实验证明。Mbikay 等^[33]发现,与正常表达 PCSK9 小鼠的对照组相比,PCSK9 基因敲除雄性小鼠胰岛 LDLR 表达增加,并伴随血糖增高和葡萄糖不耐受,除此之外,其胰岛形态异常,出现畸形及早期凋亡和炎症的迹象。提示 PCSK9 可能是维持胰岛正常功能所必需,这些异常现象的发生可能与胆固醇聚集有关,PCSK9 基因敲除使得胰岛 β 细胞 LDLR 不能被降解,导致大量外源性脂蛋白被摄取,而长期处于高胆固醇环境,损害胰岛 β 细胞,使得

胰岛素分泌减少,从而血糖增高。但这一现象是否单独由 LDLR 所诱导有待进一步研究。此外,PCSK9 还可能通过作用于 VLDLR 和 ApoER2 途径影响上述现象发生^[34]。

Costet 等^[35]发现,2 型糖尿病患者给予阿托伐他汀治疗 6 周后 LDLC 降低 30%,非诺贝特治疗 6 周后甘油三酯水平降低 31%,HDLc 增加 13%,但两种药物联合治疗并没有带来更多的获益。给予阿托伐他汀 1 天 PCSK9 水平升高 24%,6 周时则升高 14%;而给予非诺贝特 1 天 PCSK9 水平没有变化,6 周时则升高 26%;两种药物联合治疗 3 周 PCSK9 水平升高 42%,6 周时升高 19%,提示糖尿病患者通过非诺贝特和阿托伐他汀两种调脂药物治疗可升高血浆 PCSK9 水平,但这两种调脂药物联合治疗 6 周后血浆 PCSK9 水平并没有叠加作用。PCSK9 与糖尿病之间的作用机制还有待更进一步探索。

4 结 语

随着对 PCSK9 功能及机制的进一步理解,将扩展我们有关 LDL 代谢的知识,了解 PCSK9 基因多态性与临床疾病的相关性,帮助临床医生筛选高危人群,并为从基因水平对疾病发生、发展以及预后进行深层探讨提供了一定的理论基础。PCSK9 基因多态性与临床疾病关系的研究仍处于起始阶段,大样本、多地域、多民族的循证医学研究结果值得期待。

[参考文献]

- [1] Abifadel M, Varret M, Rabes JP, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia[J]. Nat Genet, 2003, 34 (2): 154-156.
- [2] Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH Jr, 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.
- [3] 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.
- [4] 蔺洁, 王绿娅, 夏军辉, 等. 家族性高胆固醇血症患者新的致病基因—PCSK9 基因突变分析[J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15 (7): 612-615.
- [5] Cunningham D, Danley DE, Geoghegan KF, et al. Structural and biophysical studies of PCSK9 and its mutants linked to familial hypercholesterolemia[J]. Nat Struct Mol Biol, 2007, 14 (5): 413-419.
- [6] Chen SN, Ballantyne CM, Gotto AM, et al. A common PCSK9 haplotype, encompassing the E670G coding single nucleotide polymorphism, is a novel genetic marker for plasma low-density lipoprotein

- cholesterol levels and the severity of coronary atherosclerosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45 (10): 1 611-619.
- [7] Cameron J, Holla QL, 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.
- [8] 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.
- [9] Hooper AJ, Marais AD, Tanyanyiwa DM, et al. The C679X mutation in PCSK9 is present and lowers blood cholesterol in a Southern African population[J]. *Atherosclerosis*, 2007, 193 (2): 445-448.
- [10] Brown MS, Goldstein JL, Biomedicine, et al. Lowering LDL-not only how low, but how long[J]? *Science*, 2006, 311 (5768): 1 721-723.
- [11] Yue P, Averna M, Lin X, et al. The c.43_44insCTG variation in PCSK9 is associated with low plasma LDL-cholesterol in a Caucasian population[J]. *Hum Mutat*, 2006, 27 (5): 460-466.
- [12] Miyake Y, Kimura R, Kokubo Y, et al. Genetic variants in PCSK9 in the Japanese population: Rare genetic variants in PCSK9 might collectively contribute to plasma LDL cholesterol levels in the general population[J]. *Atherosclerosis*, 2008, 196 (1): 29-36.
- [13] Hsu LA, Teng MS, Ko YL, et al. The PCSK9 gene E670G polymorphism affects low-density lipoprotein cholesterol levels but is not a risk factor for coronary artery disease in ethnic Chinese in Taiwan [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2009, 47 (2): 154-158.
- [14] Norata GD, Garlaschelli K, Grigore L, et al. Effects of PCSK9 variants on common carotid artery intima media thickness and relation to ApoE alleles[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 208 (1): 177-182.
- [15] Evans D, Beil FU. The E670G SNP in the PCSK9 gene is associated with polygenic hypercholesterolemia in men but not in women [J]. *BMC Med Genet*, 2006, 7: 66.
- [16] Chen SN, Ballantyne CM, Gotto AM, et al. A common PCSK9 haplotype, encompassing the E670G coding single nucleotide polymorphism, is a novel genetic marker for plasma low-density lipoprotein cholesterol levels and the severity of coronary atherosclerosis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45 (10): 1 611-619.
- [17] Kotowski IK, Pertsemlidis A, Luke A, et al. A spectrum of PCSK9 alleles contributes to plasma levels of low density lipoprotein cholesterol[J]. *Am J Hum Genet*, 2006, 78 (3): 410-422.
- [18] Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski IK, 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.
- [19] Lan H, Pang L, Smith MM, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) affects gene expression pathways beyond cholesterol metabolism in liver cells [J]. *J Cell Physiol*, 2010, 224 (1): 273-281.
- [20] 江璐. PCSK9 siRNA 抑制 ox-LDL 诱导的 THP-1 源性巨噬细胞炎症因子表达与分泌. 南华大学硕士学位论文, 2011.
- [21] Folsom AR, Peacock JM, Boerwinkle E, et al. Variation in PCSK9, low LDL cholesterol, and risk of peripheral arterial disease [J]. *Atherosclerosis*, 2009, 202 (1): 211-215.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] Rashid S, Curtis DE, Garuti 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] Bingham B, 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.
- [27] Reynolds CA, Hong MG, Eriksson UK, et al. Analysis of lipid pathway genes indicates association of sequence variation near SREBF1/TOM1L2/ATPAF2 with dementia risk [J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19 (10): 2 068-078.
- [28] Shibata N, Ohnuma T, Higashi S, et al. No genetic association between PCSK9 polymorphisms and Alzheimer's disease and plasma cholesterol level in Japanese patients[J]. *Psychiatr Genet*, 2005, 15 (4): 239.
- [29] Costet P, Cariou B, Lambert G, et al. Hepatic PCSK9 expression is regulated by nutritional status via insulin and sterol regulatory element-binding protein 1c[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281 (10): 6 211-218.
- [30] Dubuc G, Tremblay M, Pare G, et al. A new method for measurement of total plasma PCSK9: clinical applications [J]. *J Lipid Res*, 2010, 51 (1): 140-149.
- [31] Lakoski SG, Lagace TA, Cohen JC, et al. Genetic and metabolic determinants of plasma PCSK9 levels [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94 (7): 2 537-543.
- [32] Kappelle PJ, Lambert G, Dullaart RP, et al. Plasma proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 does not change during 24h insulin infusion in healthy subjects and type 2 diabetic patients[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 214 (2): 432-435.
- [33] Mbikay M, Sirois F, Mayne J, et al. PCSK9-deficient mice exhibit impaired glucose tolerance and pancreatic islet abnormalities[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584 (4): 701-706.
- [34] Roubtsova A, Munkonda MN, Awan Z, et al. Circulating proprotein convertasesubtilisin/kexin 9 (PCSK9) regulates VLDLR protein and triglyceride accumulation in visceral adipose tissue[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31 (1): 785-791.
- [35] Costet P, Hoffmann MM, Cariou B, et al. Plasma PCSK9 is increased by fenofibrate and atorvastatin in a non-additive fashion in diabetic patients[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 212 (1): 246-251.