

齐墩果酸强化阿托伐他汀降脂效果的临床观察及初步机制

杨红霞¹, 龚慧琴², 蒋恒波¹

(1. 湖南永州职业技术学院, 湖南省永州市 425000; 2. 南华大学附属南华医院心内科, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 齐墩果酸; 阿托伐他汀; 高脂血症; 降脂治疗

[摘要] **目的** 研究齐墩果酸对阿托伐他汀在高脂血症患者降脂效果的影响并初步探讨其机制。**方法** 选取高脂血症患者 107 例, 分为单独应用阿托伐他汀治疗组或阿托伐他汀联合应用齐墩果酸治疗组, 治疗观察疗程为 3 个月。分别检测两组治疗前后血液 TC、LDLC、TG 和 HDLC 水平。比较两组治疗前后血脂水平变化以及两组间血脂水平差异。用 ELISA 法分别检测两组治疗前后血清 PCSK9 浓度。**结果** 治疗前阿托伐他汀组和阿托伐他汀 + 齐墩果酸组包括 TC、LDLC、TG 和 HDLC 等在内的一般资料匹配, 差异均无显著性。两组治疗均取得显效, 与同组治疗前比较, 治疗后两组中 TC、LDLC 和 TG 均明显下降, 差异具有显著性 ($P < 0.05$); 阿托伐他汀 + 齐墩果酸组与阿托伐他汀组比较, TC 和 LDLC 下降效果更加明显, 两组差异具有显著性 ($P < 0.05$)。两组初始血清 PCSK9 浓度差异无显著性 ($72.4 \pm 4.2 \mu\text{g/L}$ 比 $71.1 \pm 3.9 \mu\text{g/L}$; $P > 0.05$)。治疗后, 阿托伐他汀组血清 PCSK9 浓度升高了约 30%, 与治疗前比较差异具有显著性 ($72.4 \pm 4.2 \mu\text{g/L}$ 比 $95.1 \pm 3.7 \mu\text{g/L}$; $P < 0.01$); 阿托伐他汀 + 齐墩果酸组血清 PCSK9 浓度略有升高 ($71.1 \pm 3.9 \mu\text{g/L}$ 比 $77.6 \pm 4.4 \mu\text{g/L}$), 与治疗前比较差异不具显著性; 但是阿托伐他汀组血清 PCSK9 浓度明显高于阿托伐他汀 + 齐墩果酸组, 差异具有显著性 ($95.1 \pm 3.7 \mu\text{g/L}$ 比 $77.6 \pm 4.4 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$)。Spearman 相关分析表明血清 TC ($r = 0.76$, $P = 0.001$) 和 LDLC ($r = 0.72$, $P = 0.001$) 与 PCSK9 浓度显著相关, 而 HDLC 和 TG 与 PCSK9 浓度相关性不明显。**结论** 血清 PCSK9 浓度与 TC 和 LDLC 明显相关, 齐墩果酸可强化阿托伐他汀对高脂血症患者的降脂效果, 其作用可能与齐墩果酸抑制 PCSK9 表达有关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Clinical Observation and Preliminary Mechanism of Oleanolic Acid Strengthening Atorvastatin Statin Lipid-lowering Effect

YANG Hong-Xia¹, GONG Hui-Qin², and JIANG Heng-Bo¹

(1. Hunan Yongzhou Vocational Technical College, Yongzhou, Hunan 425000, China; 2. Department of Cardiology, The Affiliated Nanhua Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] Oleanolic Acid; Atorvastatin; Hyperlipidemia; Lipid-lowering Therapy

[ABSTRACT] **Aim** To observe clinical effect and explore preliminary mechanism of Oleanolic acid strengthening atorvastatin lipid-lowering in patients with hyperlipidemia. **Methods** 107 cases of patients with hyperlipidemia were divided into atorvastatin therapy group or combination therapy group of atorvastatin and oleanolic acid, and the course of therapy was 3 months. The concentration of serum TC, LDLC, TG, HDLC were detected before and after treatment. The changes in serum lipid levels before and after treatment were compared between the two groups. Serum PCSK9 concentrations were detected by ELISA before and after treatment. **Results** General data including TC, LDLC, TG, HDLC were matched between atorvastatin therapy group and combination therapy group of atorvastatin and oleanolic acid. There were no significant difference in all compared data between two groups. All of two therapy protocols achieved remarkable results. Compared with the same group before treatment, TC and LDLC and TG were significantly decreased after treatment in two groups, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); Compared with atorvastatin therapy group, TC and LDLC decreased more obviously in combination therapy group of atorvastatin and oleanolic acid, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The initial serum PCSK9 concentration difference was not statistically significant ($72.4 \pm 4.2 \mu\text{g/L}$ vs $71.1 \pm 3.9 \mu\text{g/L}$, $P > 0.05$) in two groups. After treatment, in atorvastatin therapy gr-

oup, serum PCSK9 concentration increased by about 30% , the difference was significant ($72.4 \pm 4.2 \mu\text{g/L}$ vs $95.1 \pm 3.7 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$) compared with before treatment; in combination therapy group, atorvastatin and oleanolic acid serum PCSK9 concentrations was slightly higher ($71.1 \mu\text{g/L} \pm 3.9$ vs $77.6 \pm 4.4 \mu\text{g/L}$) compared with before treatment, the difference was non-significant; But in atorvastatin therapy group serum PCSK9 concentrations were significantly higher than combination therapy group with atorvastatin and oleanolic acid, the difference was significant ($95.1 \pm 3.7 \mu\text{g/L}$ vs $77.6 \pm 4.4 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$). Spearman correlation analysis was performed among the patients' plasma total cholesterol, HDL cholesterol, TG, and LDL cholesterol and their circulating PCSK9 concentrations. PCSK9 correlated positively and significantly with both total cholesterol ($r = 0.76$, $P = 0.001$) and LDL cholesterol ($r = 0.72$, $P = 0.001$), but not with HDL cholesterol or TG (data not shown). **Conclusion** Oleanolic acid can enhance atorvastatin lipid-lowering effect in hyperlipidemic patients, which may relate to oleanolic acid inhibiting PCSK9 expression.

高脂血症是动脉粥样硬化性心脑血管疾病(比如急性冠脉综合征,脑卒中)最重要的危险因素之一。降低总胆固醇(total cholesterol, TC),特别是低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC),有利于减少或延缓动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发生和发展,稳定动脉粥样硬化斑块,从而降低心脑血管事件的发生率。阿托伐他汀(atorvastatin)是第三代的HMG-CoA还原酶抑制剂,是目前最安全而强效的降脂药物之一。但有报道称他汀类药物能上调前蛋白转化酶枯草溶菌素9(proproteinconvertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9)的表达^[1,2],而PCSK9可以降解肝细胞表面LDL受体(low density lipoprotein, LDLR)^[3],抑制肝脏血脂清除能力,从而拮抗了其降脂效果。齐墩果酸(oleanolic acid, OA)被报道有包括降脂在内的多种药理学作用,目前临床上主要用于急、慢性肝炎的辅助治疗^[4,5]。李雪飞^[6]等报道齐墩果酸可降低HepG2细胞PCSK9 mRNA和蛋白水平,从而有可能通过此途径发挥抗As作用。如果联合应用齐墩果酸和他汀类药物则有可能通过齐墩果酸抑制PCSK9表达的作用而强化他汀类的降脂效果。为此,本文选取高脂血症患者107例,单独应用阿托伐他汀或齐墩果酸联合应用阿托伐他汀治疗,观察两组之间的降脂效果并初步探讨其机制。

1 资料和方法

1.1 患者一般资料

全部病例来自我校附属医院心血管内科2011年8月至2012年7月收治的高脂血症的住院病人。治疗方案经伦理委员会审批通过,所有患者在签署知情同意后入选。

1.2 入选标准及分组

有关检查排除甲状腺功能减退、肾病综合症、

急慢性肝、胆疾病及药物所致的继发性高脂血症。选取107例符合高脂血症诊断标准的原发性高脂血症。高脂血症诊断依据1997年中华心血管病学会制定的《血脂异常防治建议》标准:近2周内2次空腹血清TC >6.72 mmol/L, LDLC ≥ 3.64 mmol/L或合并甘油三酯(triglyceride, TG) ≥ 1.7 mmol/L。且所有入选患者均经最少2个月的单纯低脂肪、低胆固醇膳食控制无效。把107例患者随机分为阿托伐他汀(立普妥,辉瑞制药有限公司)单独治疗组52例,阿托伐他汀联合齐墩果酸(齐墩果酸片,山西云鹏制药有限公司)治疗组55例。

1.3 治疗方案

阿托伐他汀组:阿托伐他汀20 mg/d,口服,疗程3个月;阿托伐他汀+齐墩果酸组:在阿托伐他汀组基础上加用齐墩果酸每天3次,每次4片。两组治疗期间保持治疗前的饮食习惯,继续服用治疗急性冠状动脉综合症的其它药物,但不再加用其他改变血脂代谢的药物。

1.4 血标本收集及研究指标的检测

入选病例均在空腹禁食8 h以上后,于住院第2天早上和试验结束时抽取静脉血5 mL,EDTA抗凝,3 kr/min离心5 min,分离血清置-20℃冰箱保存待测。自动生化分析仪(日立7180型)检测TC, LDLC, TG和高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)。酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清PCSK9, CRP和IL-1 β 浓度。

1.5 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组之间数据比较采用两样本比较的t检验。所有数据采用SPSS13.0统计软件进行统计。

2 结果

2.1 一般资料比较

两组患者在年龄、性别比、吸烟人数比以及伴

有高血压和糖尿病人数比方面比较匹配,差异无显著性。两组患者血脂指标 TC、TG、和 LDLC 均明显高于临床正常参考值,但组间差异无显著性 ($P > 0.05$),HDLc 水平正常(表 1)。

表 1. 阿托伐他汀组和阿托伐他汀 + 齐墩果酸组入选患者一般资料比较

Table 1. Comparison of general data between atorvastatin treated group and atorvastatin + OA treated group

指 标	阿托伐他汀组 (n = 52)	阿托伐他汀 + 齐墩果酸组 (n = 55)
年龄(岁)	57.6 ± 10.3	59.1 ± 9.4
男/女(例)	32/20	32/23
吸烟(例)	24(46.2%)	23(41.8%)
高血压(例)	20(38.5%)	23(41.8%)
糖尿病(例)	14(26.9%)	16(29.1%)
TC(mmol/L)	5.21 ± 1.16	5.14 ± 0.91
LDLC(mmol/L)	3.75 ± 0.79	3.54 ± 0.88
TG(mmol/L)	2.14 ± 0.83	2.19 ± 1.07
HDLc(mmol/L)	1.26 ± 0.64	1.18 ± 0.62

2.2 疗效分析

按 1998 年《心血管药物临床试验评价方法的建议》中调脂疗效判定标准判定,(1) 显效:达以下任一项者:TC 下降 $\geq 20\%$;TG 下降 $\geq 40\%$;HDLc 上升 ≥ 10 mg/dL; (TC - HDLC)/HDLc 下降 $\geq 20\%$ 。(2) 有效:TC 下降 10% ~ 20%;TG 下降 20% ~ 40%;HDLc 升高 4 ~ < 10 mg/dL; (TC - HDLC)/HDLc 下降 10% ~ 20%。两组患者经治疗后 TC 都下降 $\geq 20\%$,TG 下降 $> 20\%$,LDLC 水平也

显著下降,与治疗前比较差异都具有显著性 ($P < 0.05$),两组治疗均取得显效。阿托伐他汀 + 齐墩果酸组与阿托伐他汀组比较,TC 和 LDLC 下降效果更加明显,两组差异具有显著性 ($P < 0.05$;表 2)。

2.3 血清 PCSK9 浓度及与血脂指标相关性分析

阿托伐他汀组和阿托伐他汀 + 齐墩果酸组初始血清 PCSK9 浓度差异无显著性 (72.4 ± 4.2 $\mu\text{g/L}$ vs 71.1 ± 3.9 $\mu\text{g/L}$)。治疗 3 个月后,阿托伐他汀组血清 PCSK9 浓度升高了约 30%,与治疗前比较差异具有显著性 (72.4 ± 4.2 $\mu\text{g/L}$ vs 95.1 ± 3.7 $\mu\text{g/L}$; $P < 0.01$);阿托伐他汀 + 齐墩果酸组血清 PCSK9 浓度略有升高(71.1 ± 3.9 $\mu\text{g/L}$ vs 77.6 ± 4.4 $\mu\text{g/L}$),与治疗前比较差异不具显著性。治疗 3 个月后,阿托伐他汀组血清 PCSK9 浓度明显高于阿托伐他汀 + 齐墩果酸组,差异具有显著性 (95.1 ± 3.7 $\mu\text{g/L}$ vs 77.6 ± 4.4 $\mu\text{g/L}$, $P < 0.05$;图 1)。

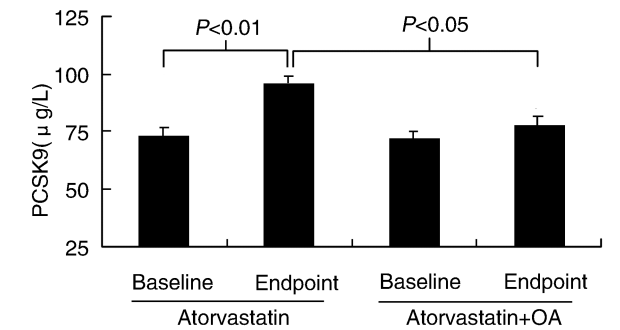


图 1. 阿托伐他汀治疗和阿托伐他汀 + 齐墩果酸联合治疗对血清 PCSK9 浓度的影响。

Figure 1. Effects of atorvastatin treatment or atorvastatin + OA treatment on the serum PCSK9 concentration

表 2. 阿托伐他汀组和阿托伐他汀 + 齐墩果酸组治疗前后血脂水平分析

Table 2. Analysis of serum lipids level between atorvastatin treated group and atorvastatin + OA treated group before and after treatment

指标	阿托伐他汀组 (n = 52)		阿托伐他汀 + 齐墩果酸组 (n = 55)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
TC(mmol/L)	5.21 ± 1.16	4.05 ± 0.73 ^a	5.14 ± 0.91	3.53 ± 0.34 ^{ab}
LDLC(mmol/L)	3.75 ± 0.79	2.81 ± 0.54 ^a	3.54 ± 0.88	2.22 ± 0.41 ^{ab}
TG(mmol/L)	2.14 ± 0.83	1.52 ± 0.72 ^a	2.19 ± 1.07	1.48 ± 0.84 ^a
HDLc(mmol/L)	1.26 ± 0.64	1.17 ± 0.54	1.18 ± 0.62	1.20 ± 0.49

a 为 $P < 0.05$,与同组治疗前比较;b 为 $P < 0.05$,与阿托伐他汀组比较。

同时为探讨血脂水平与 PCSK9 关系,我们还对患者 TC、HDL、LDL 和 TG 与血清 PCSK9 浓度进行了 Spearman 相关分析。其中 TC ($r = 0.76$, $P =$

0.001)和 LDLC($r = 0.72$, $P = 0.001$)与 PCSK9 浓度相关性显著(图 2),而 HDLC 和 TG 与 PCSK9 相关性不明显。

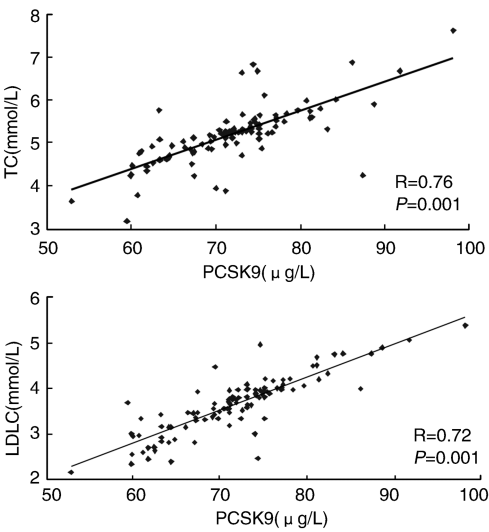


图 2. 治疗前患者 TC 和 LDLC 与血清 PCSK9 浓度相关性分析
Figure 2. The correlation analysis between serum PCSK9 concentration and TC, LDLC in pre-treatment of patients

3 讨论

他汀类药物通过抑制肝脏内 HMG-CoA 还原酶,阻止内源性胆固醇合成;同时诱导细胞表面 LDLR 数目的增加,从而增加了由 LDLR 介异的 LDL 分解代谢,降低血液胆固醇浓度。阿托伐他汀除能降低 TC、TG、LDLC 水平外,还具有升高 HDLC 水平,抗氧化、抗炎,抑制平滑肌细胞增殖^[7],稳定动脉粥样硬化斑块等作用^[8],具有很强的抗动脉粥样硬化作用,可降低动脉粥样硬化性心脑血管疾病的发生率和病死率。

值得注意的是,他汀类药物的不良反应随着剂量的增加而增加,大剂量使用他汀类药物可致肝肾功能不全、肝脏转氨酶升高,导致横纹肌溶解的风险增加^[9]。齐墩果酸是一种天然来源的药物,属五环三萜类化合物,具有多种生物活性,广泛存在于食物、药用植物和其他植物中。因此联合使用阿托伐他汀和齐墩果酸,有可能既降低血脂又同时避免肝功能的损伤。本研究发现,各组用药前后各转氨酶指标未有明显改变,且阿托伐他汀组和阿托伐他汀联合应用齐墩果酸组两组之间转氨酶指标差异也无显著性,这可能与阿托伐他汀每天使用 20 mg 这样一个较低剂量有关。

他汀类药物被报道能上调肝细胞 PCSK9 表达^[1,2]。PCSK9 基因位于染色体 1p34-32,属于前蛋白转化酶家族。其主要的生物学功能是在蛋白质水平降解低 LDLR,而对 LDLR mRNA 水平没有影响^[3],此种生物学功能与其基因多态性密切相关^[10]。因此寻求能降低 PCSK9 表达的药物是目前降脂药物研究领域一

个非常热门的课题^[10]。降 PCSK9 药物与他汀类药物联合应用有可能强化他汀类药物降脂效果,并减少他汀类药物剂量,从而避免大剂量使用所导致的副作用。本文研究结果显示,与阿托伐他汀组比较,阿托伐他汀联合应用齐墩果酸组降低 TC 和 LDLC 的效果明显增强同时血清 PCSK9 浓度降低,差异具有显著性。血清 TC 和 LDLC 与 PCSK9 浓度显著相关,而 HDLC 和 TG 与 PCSK9 浓度相关性不明显。这些研究结果提示 PCSK9 浓度与 TC 和 LDLC 明显相关,齐墩果酸强化阿托伐他汀降脂效果可能与齐墩果酸降低 PCSK9 表达有关。但因为临床研究的限制,未能单独设立齐墩果酸治疗组,所以不能完全肯定阿托伐他汀联合应用齐墩果酸组的降脂效果增强就是与齐墩果酸的降 PCSK9 表达有关,也可能与齐墩果酸的其它降脂机制有关,这个问题有待通过动物实验进一步回答。

[参考文献]

[1] Davignon J, Dubuc G. Statins and ezetimibe modulate plasma proprotein convertase subtilisin kexin-9 (PCSK9) levels[J]. Trans Am Clin Climatol Assoc, 2009, 120: 163-173.

[2] Dubuc G, Chamberland A, Wassef H, et al. Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(8): 1 454-459.

[3] Wang Y, Huang Y, Hobbs HH, et al. Molecular characterization of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9-mediated degradation of the LDLR[J]. J Lipid Res, 2012, 53(9): 1 932-943.

[4] 严志刚, 李可鹏, 杨林, 等. 凯西莱与齐墩果酸片治疗慢性乙肝效果对比[J]. 人民军医, 2004, 47(9): 511-512.

[5] Pollier J, Goossens A. Oleanolic acid[J]. Phytochemistry, 2012, 77: 10-15.

[6] 李雪飞, 江璐, 方春敏, 等. 四种中药单体对人肝癌 HepG2 细胞枯草溶菌素转化酶 9 表达的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(3): 264

[7] 吕琳, 朱兴雷, 罗静, 等. 氟伐他汀对实验性动脉粥样硬化家兔血管平滑肌细胞增殖的影响[J]. 中国医师杂志, 2005, 7(4): 446-449.

[8] Girotra S, Murarka S, Migrino RQ. Plaque regression and improved clinical outcomes following statin treatment in atherosclerosis [J]. Panminerva Med, 2012, 54(2): 71-81.

[9] Dopazo C, Bilbao I, Lúzaró JL, et al. Severe rhabdomyolysis and acute renal failure secondary to concomitant use of simvastatin with rapamycin plus tacrolimus in liver transplant patient[J]. Transplant Proc, 2009, 41(3): 1 021-024.

[10] 龚慧琴, 吴琪, 文红艳, 等. 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 基因多态性的临床研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20(4): 380-384.

[11] Vogel RA. PCSK9 inhibition: the next statin[J]. J Am Coll Cardiol, 2012, 59(25): 2 354-365.