

荷丹片对高脂血症患者血脂谱、PCSK9 水平及高密度脂蛋白颗粒的影响

吴娜琼, 徐瑞霞, 李莎, 张彦, 李小林, 郭远林, 朱成刚, 刘庚, 董倩, 李建军

(中国医学科学院北京协和医学院 国家心血管病中心阜外医院血脂异常与心血管疾病诊治中心, 北京市 100037)

[关键词] 荷丹; 血脂谱; 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9; 高密度脂蛋白亚型

[摘要] 目的 观察荷丹片对高脂血症患者血脂谱、前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 以及高密度脂蛋白 (HDL) 亚型的影响。方法 37 例高脂血症患者随机入选荷丹组 (荷丹片 4.38 g/d, $n=18$) 和安慰剂组 ($n=19$), 治疗 8 周后, 分别检测血脂谱、PCSK9 以及 HDL 亚型的变化。结果 荷丹片治疗 8 周可轻度降低低密度脂蛋白胆固醇 (LDLC) 水平, 但对总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG) 以及高密度脂蛋白胆固醇 (HDLC) 水平及血浆 PCSK9 水平无影响。但是, 经荷丹片治疗后 HDLC 大颗粒亚型的浓度及大颗粒亚型的比例增加, HDLC 小颗粒亚型的浓度及比例减少, 但 HDLC 的血浆水平无变化。结论 荷丹治疗 8 周可以改善 LDLC 水平以及 HDLC 的亚型浓度及比例。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

Effects of Hedan Tablet on Lipid Profile, PCSK9 and High Density Lipoprotein Particles in Patients with Dyslipidemia

WU Na-Qiong, XU Rui-Xia, LI Sha, ZHANG Yan, LI Xiao-Lin, GUO Yuan-Lin, ZHU Cheng-Gang, LIU Geng, DONG Qian, and LI Jian-Jun

(Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College & National Center for Cardiovascular Diseases & Center for Diagnosis and Treatment of Dyslipidemia and Cardiovascular Disease, Fuwai Hospital, Beijing 100037, China)

[KEY WORDS] Hedan; Lipid Profile; Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9; HDL Subfraction

[ABSTRACT] **Aim** Dyslipidemia is a key risk factor for atherosclerosis, which is strongly related to coronary artery disease (CAD). The aim of the present study was to investigate the effects of Hedan on serum lipid profile, proprotein convertase subtilisin/Kexin 9 (PCSK9) and high density lipoprotein (HDL) subfractions in patients with hyperlipidemia.

Methods Thirty-seven patients with hyperlipidemia were randomized to treatment with Hedan tablet 4.38 g/day as Hedan group ($n=18$) and placebo ($n=19$) as control group for 8 weeks. The lipid profile, PCSK9 and HDL subfractions were determined at day 0 and week 8 in both groups respectively.

Results Hedan treatment for 8 weeks mildly decreased serum low density lipoprotein cholesterol (LDLC) levels, while no changes were found in total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and PCSK9 concentrations. Furthermore, Hedan treatment increased the concentration of large high density lipoprotein cholesterol (HDLC) and the percentage of large HDL subfraction, while decreased the concentration of small HDLC and the percentage of small HDL subfraction without changing serum HDLC levels in patients with hyperlipidemia.

Conclusion The results suggested that Hedan treatment of 4.38 g/d for 8 weeks could confer a favorable effect on serum LDLC concentration as well as HDL subfractions.

血脂异常是冠心病的独立危险因素^[1]。高脂血症以升高的总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG) 以及低密度脂蛋白胆固醇

(low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 引起动脉粥样硬化, 包括慢性稳定型心绞痛、不稳定型心绞痛、心肌梗死以及缺血性心脏病^[2]。

[收稿日期] 2015-05-20

[修回日期] 2015-10-15

[作者简介] 吴娜琼, 博士, 副主任医师, 主要从事血脂异常与动脉粥样硬化研究, E-mail 为 wunaqiong@fuwai.com。徐瑞霞, 博士, 副研究员, 主要从事血脂异常与动脉粥样硬化研究。通讯作者李建军, 教授, 博士研究生导师, 主要从事血脂异常与动脉粥样硬化研究, E-mail 为 13901010368@163.com。

前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (proprotein convertase subtilisin/Kexin 9, PCSK9) 是一种循环蛋白, 通过与低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 受体的表皮样生长因子 A 直接结合促进 LDL 受体降解, 从而影响 LDLC 的清除^[3], 继之循环中的 LDLC 水平升高。既往研究证实许多降脂药物包括他汀类均可以增加循环中 PCSK9 水平^[4-6], 从而削弱药物相关的有益效应。

研究发现高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 与冠心病的发生呈负相关^[7]。不过, 近期研究显示仅仅升高 HDLC 不能延缓动脉粥样硬化进程或降低心血管事件^[8-10]。事实上, 高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 是由一组异质性颗粒组成, 不仅颗粒大小和密度, 而且在化学成分以及生理学效应上均不同^[11-12]。因此, 一些通过增加胆固醇逆转运或改变 HDL 颗粒分布的治疗方法可能更奏效^[13-14]。

荷丹片是一种中草药复方制剂, 由荷花、丹参、山楂、番泻叶以及补骨脂素等组成, 具有良好的安全性和耐受性^[15]。不过, 尚无报道荷丹片对 PCSK9 及 HDL 颗粒的影响。因此, 本研究旨在观察荷丹片对血脂谱和 PCSK9 的影响以及对 HDL 颗粒分布的影响。

1 对象和方法

1.1 研究对象

在该项随机、对照、开放标签前瞻性研究中, 37 例高脂血症患者入选, 随机接受荷丹片 4.38 g/d ($n=18$) 或安慰剂 ($n=19$) 治疗, 共治疗 8 周。该研究方案经阜外医院伦理委员会批准, 并由患者签署知情同意书。入选标准: ①血脂异常患者 (空腹 TC > 5.18 mmol/L 或 TG > 1.70 mmol/L), 同时通过影像学方法 (包括动脉超声、冠状动脉 CT 或冠状动脉造影) 明确排除动脉粥样硬化性疾病; ②近 4 周无接受他汀类药物或其它影响血脂的药物; ③年龄 18 ~ 70 岁。排除标准: 患者在近 1 个月内发生急性冠状动脉综合征、严重心力衰竭或心律失常, 近 1 个月内感染性疾病, 严重肝肾功能不全, 自身免疫性疾病, 恶性疾病, 妊娠或哺乳, 或心理疾患均排除在外。另外, 患者谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 或谷草转氨酶 (aspartate transaminase, AST) 在正常上限值的 3 倍以上, 或肌酸激酶在正常上限值的 5 倍以上者亦排除在外。

1.2 血脂谱及血清 PCSK9 水平检测

空腹抽取肘静脉血标本, 并于 -80°C 保存。血

清 TC、TG、HDLC 以及 LDLC 浓度应用全自动生化分析仪进行检测; 应用高敏、半定量三明治酶联免疫吸附法检测血清 PCSK9 水平, PCSK9 检测的低限是 $0.154 \mu\text{g/L}$ 。

1.3 HDL 颗粒分析

采用 3% 聚丙烯酰胺凝胶电泳以及 Lipoprint HDL 系统 (Quantimetrix Corporation, 美国) 进行 HDL 亚型分析^[16]。根据该分析, HDL 分成 10 种亚型, 亚型 1 ~ 3 代表大颗粒, 亚型 4 ~ 7 代表中颗粒, 亚型 8 ~ 10 代表小颗粒。随后测出每个 HDL 亚型中胆固醇浓度以及每个 HDLC 亚型占 HDLC 浓度的百分比。

1.4 统计学方法

连续变量及类别变量计数用 $\bar{x} \pm s$ 表示, Student's t 检验以及 Mann-Whitney U 检验用于比较两组间临床变量, 类别变量应用 χ^2 检验进行比较, 治疗前后参数之间的比较应用配对样本 t 检验。统计学显著性定义为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 临床基本资料比较

荷丹组吸烟人数少于安慰剂组 ($P < 0.05$), 其它临床参数两组间无显著差异 (表 1)。

表 1. 研究对象的基线资料

Table 1. Baseline characteristics of the subjects in placebo group and Hedan group

项目	安慰剂组 ($n=19$)	荷丹组 ($n=18$)
年龄 (岁)	53.61 ± 7.06	55.12 ± 8.65
男性 (例)	8 (42.1%)	9 (50.0%)
BMI (kg/m^2)	25.12 ± 3.02	25.67 ± 2.89
高血压 (例)	4 (21.1%)	3 (16.7%)
糖尿病 (例)	2 (10.5%)	2 (11.1%)
冠心病家族史 (例)	1 (5.3%)	1 (5.6%)
吸烟 (例)	7 (36.8%)	3 (16.7%) ^a
白细胞 ($\times 10^9/\text{L}$)	6.77 ± 1.64	6.59 ± 1.75
中性粒细胞 ($\times 10^9/\text{L}$)	3.59 ± 0.97	3.83 ± 1.23
血沉 (mm/h)	9.89 ± 8.01	11.21 ± 10.26
ALT (U/L)	25.65 ± 12.73	27.41 ± 14.21
AST (U/L)	18.67 ± 9.36	17.92 ± 8.05
肌酐 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	69.54 ± 10.39	71.96 ± 12.34
尿素氮 (mmol/L)	5.23 ± 1.44	5.31 ± 1.05

a 为 $P < 0.05$, 与安慰剂组比较。

2.2 荷丹对血脂谱及 PCSK9 水平的影响

两组间基线 TC、TG、HDLC、LDLC 以及 PCSK9

水平均无显著差异 ($P > 0.05$)。治疗 8 周后, 荷丹组 LDLC 水平较安慰剂组明显下降 ($P < 0.05$), TC 水平有下降趋势, 但差异未有统计学意义。荷丹组治疗 8 周后 TG、PCSK9 及 HDLC 水平均无明显变化, 安慰剂组治疗 8 周后血脂谱及 PCSK9 水平较治疗前无明显变化(表 2)。

2.3 荷丹治疗后 HDL 颗粒的变化

经荷丹治疗 8 周后 HDLC 血浆水平较基线无明

显变化 ($P > 0.05$), 但 HDLC 小颗粒亚型浓度较基线显著降低, 与安慰剂组相比亦显著降低; 荷丹组 HDLC 小颗粒亚型比例较基线明显减少, 与安慰剂组相比亦明显减少 ($P < 0.05$)。同时, 荷丹组 HDLC 大颗粒亚型浓度及其比例较基线明显增加, 与安慰剂组相比亦明显增加 ($P < 0.05$)。安慰剂组治疗前后 HDLC 的血浆水平以及 HDL 亚型浓度均无明显变化 ($P > 0.05$; 表 2)。

表 2. 荷丹对血脂谱、PCSK9 水平及 HDLC 亚型的影响

Table 2. Effects of Hedana on lipid profile, PCSK9 and HDL subfraction

项 目	安慰剂组 ($n = 19$)		荷丹组 ($n = 18$)	
	基线	8 周	基线	8 周
PCSK9 ($\mu\text{g/L}$)	289.56 \pm 63.71	306.21 \pm 56.32	291.23 \pm 51.44	314.70 \pm 67.25
TC (mmol/L)	5.73 \pm 1.02	5.87 \pm 0.93	5.80 \pm 0.97	5.34 \pm 0.86
TG (mmol/L)	1.97 \pm 0.91	2.11 \pm 1.22	2.01 \pm 0.80	2.18 \pm 1.02
LDLC (mmol/L)	3.89 \pm 0.99	3.93 \pm 0.85	3.97 \pm 0.69	3.14 \pm 0.61 ^b
HDLC (mg/dL)	66.41 \pm 8.84	65.32 \pm 9.11	68.73 \pm 10.01	67.63 \pm 9.77
大颗粒 HDLC (mg/dL)	29.58 \pm 3.68	28.43 \pm 3.91	29.00 \pm 4.72	32.81 \pm 4.23 ^{ab}
中等颗粒 HDLC (mg/dL)	23.75 \pm 3.97	25.12 \pm 3.87	24.71 \pm 8.82	26.16 \pm 4.56
小颗粒 HDLC (mg/dL)	11.92 \pm 2.18	12.06 \pm 2.14	11.4 \pm 2.41	8.26 \pm 2.28 ^{ab}
大颗粒 HDL (%)	43.68 \pm 5.39	42.97 \pm 5.70	42.23 \pm 3.62	45.69 \pm 5.86 ^a
中等颗粒 HDL (%)	40.07 \pm 6.77	39.38 \pm 7.12	39.61 \pm 6.61	39.25 \pm 5.13
小颗粒 HDL (%)	17.71 \pm 4.21	18.01 \pm 5.14	18.40 \pm 4.63	15.01 \pm 3.71 ^{ab}

a 为 $P < 0.05$, 与同组基线值比较; b 为 $P < 0.05$, 与安慰剂组比较。

3 讨 论

荷丹片对血脂谱的影响已有报道, 但荷丹片对于循环 PCSK9 水平以及 HDLC 亚型分布的影响尚无报道。在本研究中, 我们首次发现 4.38 g/d 荷丹片治疗 8 周可以显著降低 HDLC 大颗粒亚型的浓度和比例, 并显著减少 HDLC 小颗粒亚型的浓度和比例, 同时, 对于血脂谱而言, 除了可降低 LDLC 水平之外, 对 HDLC 的血浆水平无明显影响, 对血浆 PCSK9 水平亦无明显影响。

近 20 年来荷丹片广泛用于动脉粥样硬化以及血脂异常的患者, 临床研究及荟萃分析发现荷丹片可以用于那些他汀类药物不耐受患者的替代治疗或者与他汀类药物联合应用提高降脂疗效^[17-18]。在本研究中, 荷丹片可以轻度降低 LDLC 水平, 但对 TC、TG 及 HDLC 均无显著影响。该研究所得的结果与既往研究不完全一致, 可能与入选对象或者治疗时程有关。

PCSK9 是一种主要由肝脏分泌的蛋白酶, 直接与 LDL 受体结合从而促进其降解^[3], 继而使得血浆 LDLC 水平升高。因此, PCSK9 被认为是血脂异常

以及动脉粥样硬化的治疗靶点^[19]。近年来有研究发现一些常规处方的降脂药物包括他汀类以及依折麦布可以上调人体 PCSK9 水平^[4], 从而削弱上述药物的疗效。但有关荷丹片对 PCSK9 水平的影响尚无相关报道。在本研究中, 经过荷丹 4.38 g/d 治疗 8 周后, PCSK9 水平无变化, 提示荷丹片可以轻度降低 LDLC 水平, 但并不影响 PCSK9 水平。

近年来有种观点认为 HDL 颗粒的质量比 HDL 的数量更重要^[5]。有研究报道 HDL 大颗粒亚型与冠心病呈负相关, 而 HDL 小颗粒亚型与心血管事件呈显著相关^[13]。我们的既往研究发现阿托伐他汀 20 mg/d 治疗 8 周可以显著升高 HDL 大颗粒亚型的浓度其比例, 同时降低 HDL 小颗粒亚型的浓度及其比例^[20]。这提示阿托伐他汀可以促进 HDL 小颗粒亚型向大颗粒亚型转化, 从而减轻致动脉粥样硬化效应。本研究结果发现, 荷丹片治疗高脂血症患者不仅可显著升高 HDLC 大颗粒亚型的浓度和比例, 而且可降低 HDLC 小颗粒亚型的浓度和比例, 但对 HDLC 的血浆浓度无明显影响。我们的研究将对中西医结合的方法治疗血脂异常提供依据。

本研究存在以下局限性: 首先, 本研究是一项

单中心小样本研究;第二,本研究观察时间较短,可能不能完全揭示荷丹片对于血脂谱的改善效果;第三,本研究中荷丹片的剂量是临床常规剂量,没有评价大剂量荷丹片对于血脂和脂蛋白的影响;第四,我们没有选择应用他汀类治疗的患者作为阳性对照,因而不能排除其它混杂因素可能影响荷丹片对血脂谱及 PCSK9 水平的效应;最后,荷丹片改变 HDL 亚型的效应是否影响临床结局我们没有进行观察。因此有必要扩大样本量进行深入研究来揭示荷丹片在高脂血症患者中对血脂谱、PCSK9 以及 HDL 亚型的影响。

总之,本研究结果提示应用临床常规剂量的荷丹片除了可以改善 LDLC 水平,还可以改善 HDLC 亚型的分布。

[参考文献]

- [1] Mahalle N, Garg MK, Naik SS, et al. Study of pattern of dyslipidemia and its correlation with cardiovascular risk factors in patients with proven coronary artery disease[J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2014, 18 (1): 48-55.
- [2] Soltani R, Hakimi M, Asgary S, et al. Evaluation of the effects of vaccinium arctostaphylos L. Fruit extract on serum lipids and hs-CRP Levels and oxidative stress in adult patients with hyperlipidemia: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 217-451.
- [3] Seidah NG, Prat A. The biology and therapeutic targeting of the proprotein convertases[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11 (5): 367-383.
- [4] Welder G, Zineh I, Pacanowski MA, et al. High-dose atorvastatin causes a rapid sustained increase in human serum PCSK9 and disrupts its correlation with LDL cholesterol[J]. *J Lipid Res*, 2010, 51 (9): 2 714-721.
- [5] Awan Z, Seidah NG, MacFadyen JG, et al. Rosuvastatin, proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 concentrations, and LDL cholesterol response: the JUPITER trial[J]. *Clin Chem*, 2012, 58 (1): 183-189.
- [6] Raal F, Panz V, Immelman A, et al. Elevated PCSK9 levels in untreated patients with heterozygous or homozygous familial hypercholesterolemia and the response to high-dose statin therapy[J]. *J Am Heart Assoc*, 2013, 2 (2): e000028.
- [7] Wen C, Xu H. The new strategy for modulating dyslipidemia: consideration from updated understanding on high-density lipoprotein [J]. *Chin J Integr Med*, 2011, 17 (6): 467-470.
- [8] Barter PJ, Rye KA, Tardif JC, et al. Effect of torcetrapib on glucose, insulin, and hemoglobin A1c in subjects in the investigation of

lipid level management to understand its impact in atherosclerotic events (ILLUMINATE) trial[J]. *Circulation*, 2011, 124 (5): 555-562.

- [9] Michos ED, Sibley CT, Baer JT, et al. Niacin and statin combination therapy for atherosclerosis regression and prevention of cardiovascular disease events; reconciling the AIM-HIGH (Atherothrombosis Intervention in Metabolic Syndrome with Low HDL/High Triglycerides; Impact on Global Health Outcomes) trial with previous surrogate endpoint trials[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59 (23): 2 058-064.
- [10] Group HTC. HPS2-THRIVE randomized placebo-controlled trial in 25 673 high-risk patients of ER niacin/laropiprant: trial design, pre-specified muscle and liver outcomes, and reasons for stopping study treatment[J]. *Eur Heart J*, 2013, 34 (17): 1 279-291.
- [11] Superko HR, Pendyala L, Williams PT, et al. High-density lipoprotein subclasses and their relationship to cardiovascular disease [J]. *J Clin Lipidol*, 2012, 6 (6): 496-523.
- [12] Rosenson RS, Brewer HB Jr, Chapman MJ, et al. HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events[J]. *Clin Chem*, 2011, 57 (3): 392-410.
- [13] Barylski M, Toth PP, Nikolic D, et al. Emerging therapies for raising high-density lipoprotein cholesterol (HDL) and augmenting HDL particle functionality [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2014, 28 (3): 453-461.
- [14] Kingwell BA, Chapman MJ, Kontush A, et al. HDL-targeted therapies: progress, failures and future [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13 (6): 445-464.
- [15] 李景扬. 荷丹片治疗 39 例高脂血症的疗效及安全性评价[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2012, 12 (1): 166-167.
- [16] Christogiannis LG, Kostapanos MS, Tellis CC, et al. Distinct effects of fixed combinations of valsartan with either amlodipine or hydrochlorothiazide on lipoprotein subfraction profile in patients with hypertension[J]. *J Hum Hypertens*, 2013, 27 (1): 44-50.
- [17] 康璇, 范晓利, 张冲. 荷丹片与瑞舒伐他汀治疗高脂血症的疗效及安全性评价[J]. *中国临床研究*, 2012, 10 (12): 83-84.
- [18] 王莹, 于欢, 郑英丽. 荷丹治疗原发性混合型高脂血症的 Meta 分析[J]. *中国药师*, 2013, 13 (7): 106-110.
- [19] Urban D, Pöss J, Böhm M, et al. Targeting the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 for the treatment of dyslipidemia and atherosclerosis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62 (16): 1 401-408.
- [20] Xu RX, Guo YL, Li XL, et al. Impact of short-term low-dose atorvastatin on low-density lipoprotein and high-density lipoprotein subfraction phenotype [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2014, 41 (7): 475-481.

(此文编辑 文玉珊)