

本文引用: 赵伊梦, 白雪琴, 何俊锋, 等. PCSK9 降解 ApoER2 对 ApoE/ApoER2 抗炎作用的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(5): 375-382. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.05.002.

[文章编号] 1007-3949(2023)31-05-0375-08

• 实验研究 •

PCSK9 降解 ApoER2 对 ApoE/ApoER2 抗炎作用的影响

赵伊梦¹, 白雪琴¹, 何俊锋¹, 王 萍², 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 湖南省动脉硬化性疾病国际科技创新合作基地, 湖南省衡阳市 421001; 2. 常德市武陵区疾病预防控制中心, 湖南省常德市 415000)

[摘要] **[目的]** 探讨前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 对载脂蛋白 E (ApoE) 受体 2 (ApoER2) 的降解作用与 ApoE/ApoER2 抗炎作用之间的关系。**[方法]** 体外培养人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 和 HepG2 细胞, 采用 Western blot 和 ELISA 检测脂多糖 (LPS) 对 HUVEC 中 Toll 样受体 (TLR4)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 6 (IL-6) 和 PCSK9 表达及分泌的影响; ApoE3 对 LPS 诱导的 HUVEC 中 TNF- α 、IL-6、PCSK9 和 ApoER2 表达及分泌的影响; ApoE 的三种亚型 (ApoE2、ApoE3 和 ApoE4) 对非炎症状态下 HUVEC 和 HepG2 细胞中 PCSK9 及 ApoER2 表达的影响; PCSK9 对 HUVEC 中 ApoER2、TNF- α 和 IL-6 表达及分泌的影响。**[结果]** Western blot 和 ELISA 检测结果显示, LPS 可以上调 HUVEC 中 TLR4、TNF- α 、IL-6 和 PCSK9 的表达及分泌。ApoE3 抑制 LPS 诱导的炎症反应, 并上调 ApoER2 的表达及分泌。ApoE 的三种亚型 (ApoE2、ApoE3 和 ApoE4) 对非炎症状态下 HUVEC 和 HepG2 细胞中 PCSK9 及 ApoER2 的表达无明显影响。不同剂量 (0、0.5、1.0 和 2.5 mg/L) 的人重组 PCSK9 处理 HUVEC 24 h, Western blot 和 ELISA 检测结果显示, PCSK9 上调 TNF- α 、IL-6 的表达及分泌, 下调 ApoER2 的表达。**[结论]** PCSK9 通过对 ApoER2 的降解来拮抗 ApoE/ApoER2 的抗炎作用。

[关键词] 炎症反应; 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9; 载脂蛋白 E; 载脂蛋白 E 受体 2

[中图分类号] R363; R5

[文献标识码] A

Effect of ApoER2 degradation by PCSK9 on the anti-inflammatory effect of ApoE/ApoER2

ZHAO Yimeng¹, BAI Xueqin¹, HE Junfeng¹, WANG Ping², LIU Lushan¹

(1. Institute of Cardiovascular Disease, University of South China & Key Laboratory for Arteriosclerosis of Hunan Province & Human International Scientific and Technological Cooperation Base of Arteriosclerotic Disease, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Changde Wuling District Center for Disease Control and Prevention, Changde, Hunan 415000, China)

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between apolipoprotein E (ApoE) receptor 2 (ApoER2) degradation by proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) and the anti-inflammatory effect of ApoE/ApoER2. **Methods**

Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and HepG2 cells were cultured *in vitro*, Western blot and ELISA were used to detect the effects of lipopolysaccharide (LPS) on the expression and secretion of Toll-like receptor (TLR4), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and PCSK9 in HUVEC; the effects of ApoE3 on the expression and secretion of TNF- α , IL-6, PCSK9 and ApoER2 in HUVEC induced by LPS; the effects of three isoforms of ApoE (ApoE2, ApoE3 and ApoE4) on the expression of PCSK9 and ApoER2 in HUVEC and HepG2 cells under non-inflammatory conditions; and the effects of PCSK9 on the expression and secretion of ApoER2, TNF- α and IL-6 in HUVEC.

Results Western blot and ELISA showed that LPS up-regulated the expression and secretion of TLR4, TNF- α , IL-6 and PCSK9 in HUVEC; ApoE3 inhibited LPS-induced inflammatory responses, and up-regulated ApoER2 expression and secretion; the three isoforms of ApoE (ApoE2, ApoE3 and ApoE4) had no effect on the expression of PCSK9 and ApoER2 in HUVEC and HepG2 cells under non-inflammatory conditions. Different doses (0, 0.5, 1.0 and 2.5 mg/L) of recombinant human PCSK9 were used to treat HUVEC for 24 h, Western blot and ELISA showed that PCSK9 up-regulated the ex-

[收稿日期] 2023-02-23

[修回日期] 2023-04-04

[基金项目] 湖南省自然科学基金项目 (2021JJ30596); 湖南省研究生科研创新项目 (QL20220217)

[作者简介] 赵伊梦, 硕士研究生, 研究方向为心脑血管疾病, E-mail: 632552957@qq.com。刘录山, 医学博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为 PCSK9 与心脑血管 (神经) 生物学功能, E-mail: liuls2000@163.com。

pression and secretion of TNF- α and IL-6, and down-regulated the expression of ApoER2. **Conclusion** PCSK9 antagonizes the anti-inflammatory effects of ApoE/ApoER2 by degrading ApoER2.

[**KEY WORDS**] inflammation; proprotein convertase subtilisin kexin 9; apolipoprotein E; apolipoprotein E receptor 2

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种由血管内皮细胞、血管平滑肌细胞和巨噬细胞等参与的慢性炎症反应^[1]。炎症反应贯穿于As的各个环节,而内皮细胞是参与As启动及发展的炎症应答细胞之一,因此,抑制内皮细胞的炎症反应对于控制As的发生发展有重要意义^[2]。载脂蛋白E(apolipoprotein E, ApoE)作为血浆脂蛋白的结构蛋白,可以通过调节血浆胆固醇水平来发挥抗As作用^[3-4]。除此之外, ApoE的抗炎作用在抑制As的发生发展中也发挥了重要作用。已有研究表明, ApoE可以与单核/巨噬细胞以及内皮细胞膜上的载脂蛋白E受体2(apolipoprotein E receptor 2, ApoER2)结合,从而发挥抗炎作用^[5-7]。

前蛋白转化酶枯草溶菌素9(proprotein convertase subtilisin kexin 9, PCSK9)是第3个被发现的可导致家族性高胆固醇血症的基因^[8]。PCSK9主要的生物学功能在于其在蛋白质水平降解低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)。除此之外,有研究表明在炎症及感染等相关疾病中PCSK9也发挥了重要作用^[9-10]。研究证明, PCSK9小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)抑制氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)诱导的THP-1源性巨噬细胞中促炎因子表达上调^[11]。该课题组还证明,用ox-LDL刺激时,被Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)/核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)激活的炎性细胞因子表达显著增加,而PCSK9 siRNA通过抑制TLR4表达的上调和NF- κ B的活化,抑制这些细胞因子的产生,从而减轻炎症反应。这表明, TLR4/NF- κ B通路可能是将PCSK9与ox-LDL在As中所诱导的炎症联系起来的主要机制之一^[12]。另有研究表明, ApoER2和低密度脂蛋白受体相关蛋白1(low density lipoprotein receptor-related protein 1, LRP1)也是PCSK9作用的靶蛋白, PCSK9可以靶向降解ApoER2^[13-14]。因此, PCSK9在As过程中发挥的促炎作用也可能通过靶向降解ApoER2来实现。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是革兰氏阴性细菌细胞壁中的一种成分,其对宿主是有毒性的。有研究报道, LPS可以通过特异性识别并激活TLR4来调控炎症反应^[15]。例如, Feingold等^[16]将LPS注入小鼠的体

内,从而刺激炎症反应的发生,肝细胞和肾脏PCSK9 mRNA水平也增加。然而, PCSK9在炎症反应中的具体作用机制至今尚不清楚。既然PCSK9能够靶向降解ApoER2, ApoE与ApoER2结合又有抗炎效应,那么PCSK9对ApoER2的降解是否会影响ApoE/ApoER2抗炎作用的发挥,这个问题的阐明将进一步深化对PCSK9与炎症关系的理解。

1 材料和方法

1.1 主要材料与试剂

HUVEC、HepG2细胞购自中科院上海细胞库;胎牛血清购自天津市灏洋生物制品科技有限责任公司;DMEM高糖培养液购自Hyclone公司;PCSK9多克隆抗体、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)多克隆抗体、人重组ApoE2蛋白、人重组ApoE3蛋白、人重组ApoE4蛋白及人PCSK9 ELISA试剂盒购自Proteintech公司;人肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA试剂盒购自CUSABIO公司;人IL-6 ELISA试剂盒购自欣博盛生物科技有限公司;ApoER2单克隆抗体、人重组PCSK9蛋白购自Abcam公司;TNF- α 多克隆抗体购自ABclonal公司。

1.2 细胞培养及处理

HUVEC和HepG2细胞均用含10%胎牛血清的DMEM培养基,在5% CO₂、37℃的培养箱中培养。待细胞生长融合到80%时,用含EDTA的胰蛋白酶消化并进行传代培养,选取培养3代以上状态良好的细胞用于实验。使用不同剂量(0、0.1、0.5及1.0 mg/L)的LPS处理HUVEC 6 h,观察LPS对HUVEC中TLR4、TNF- α 、IL-6、PCSK9表达的影响;用1.0 mg/L LPS预处理HUVEC 6 h后,更换无血清的培养基并用不同剂量(0、25及50 mg/L)的ApoE3继续处理HUVEC 24 h,观察ApoE3对LPS诱导的HUVEC中TNF- α 、IL-6、PCSK9、ApoER2表达的影响;分别用不同剂量(0、10、25及50 mg/L)的人ApoE2、ApoE3、ApoE4处理HUVEC和HepG2细胞24 h,观察三种重组蛋白对非炎症状态下的HUVEC和HepG2细胞中ApoER2和PCSK9表达的影响;用不同剂量(0、0.5、1.0及2.5 mg/L)的人重组PCSK9处理HUVEC,观察PCSK9对HUVEC中

ApoER2、TNF- α 、IL-6 表达的影响。

1.3 Western blot 检测

将 HUVEC 和 HepG2 细胞按以上不同实验分组处理后分别提取蛋白,在培养瓶中加入 RIPA 裂解液使细胞完全裂解,用 BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白含量,根据剂量按分组取等质量蛋白样品进行蛋白印迹法检测,电泳(恒压 80 V,30 min;120 V,60 min)后,转至 PVDF 膜(恒流 200 mA,120 min),用 5% 脱脂牛奶室温下封闭 2 h,用 TNF- α (1:1 000)、IL-6 (1:1 000)、PCSK9 (1:500)、ApoER2 (1:2 000)、 β -actin (1:2 000) 一抗于 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 缓冲液漂洗 3 次,每次 10 min,室温孵育二抗 (1:2 000) 1 h,洗膜 3 次后借助 ECL 显影剂用化学发光系统显示图像,并使用 Graph Pad Prism 9、Image J 统计软件分析。

1.4 ELISA 检测

细胞上清液室温放置溶解并配置所用试剂备用。分别在标准品孔和待测样本孔加入标准品或待测样品 100 μ L,混匀,再附上贴膜,置于 37 $^{\circ}$ C 恒温水浴箱中温育 2 h,弃去液体并甩干。将 100 μ L 生物素标记的抗体工作液加入每个孔中,并将新的贴膜附上,置于 37 $^{\circ}$ C 水浴箱中恒温孵育 1 h,弃去孔内液体并甩干,洗涤 3 次。每孔加样 200 μ L,每次加样后静止 2 min 并甩干。将 100 μ L 辣根过氧化物酶标记的亲合素工作液加入每孔,并附上新的贴膜,在 37 $^{\circ}$ C 恒温水浴箱中温育 2 h,弃去孔内液体并

甩干,然后洗涤 3 次。每孔加样 200 μ L,每次加样后静止 2 min 并甩干。每孔加 90 μ L 底物溶液,置于 37 $^{\circ}$ C 恒温水浴箱中温育 30 min。最后每孔加 50 μ L 终止溶液使反应终止,在 5 min 内用酶标仪测量各孔 450 nm 波长处的光密度值。

1.5 统计学分析

采用 Graph Pad Prism 9、Image J 软件进行统计分析并作图,所有实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析和 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS 对 HUVEC 中 TLR4、TNF- α 、IL-6 和 PCSK9 表达的影响

用不同剂量 (0、0.1、0.5 及 1.0 mg/L) 的 LPS 处理 HUVEC 6 h,Western blot 结果显示,HUVEC 中 TLR4、TNF- α 、IL-6 及 PCSK9 的表达量随着 LPS 对 HUVEC 处理剂量的升高而增加,且以 1.0 mg/L LPS 处理组最为显著 (图 1)。ELISA 结果显示,HUVEC 上清液中 TNF- α 、IL-6 及 PCSK9 表达水平也随着 LPS 对 HUVEC 处理剂量的升高而增加,且以 1.0 mg/L LPS 处理组最为显著 (图 2)。该结果说明 LPS 可以促使 HUVEC 分泌 TLR4、TNF- α 、IL-6 及 PCSK9 增加。

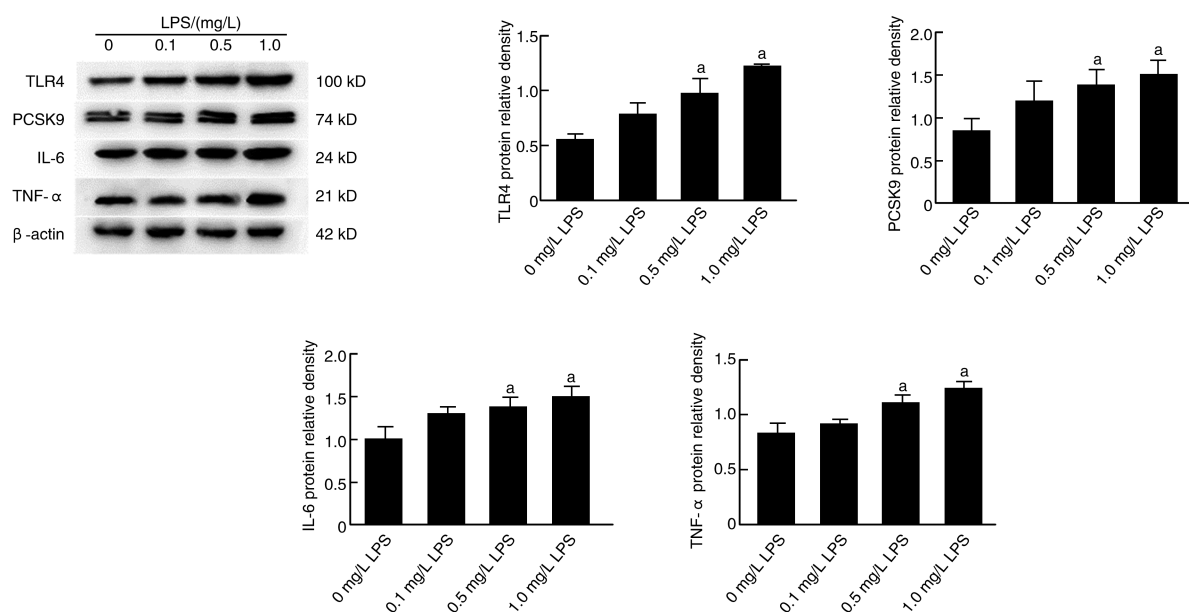


图 1. 不同剂量的 LPS 对 HUVEC 中 TLR4、TNF- α 、IL-6 和 PCSK9 表达的影响 ($n=3$)

a 为 $P < 0.05$, 与 0 mg/L LPS 处理组比较。

Figure 1. Effect of different doses of LPS on TLR4, TNF- α , IL-6 and PCSK9 expression in HUVEC ($n=3$)

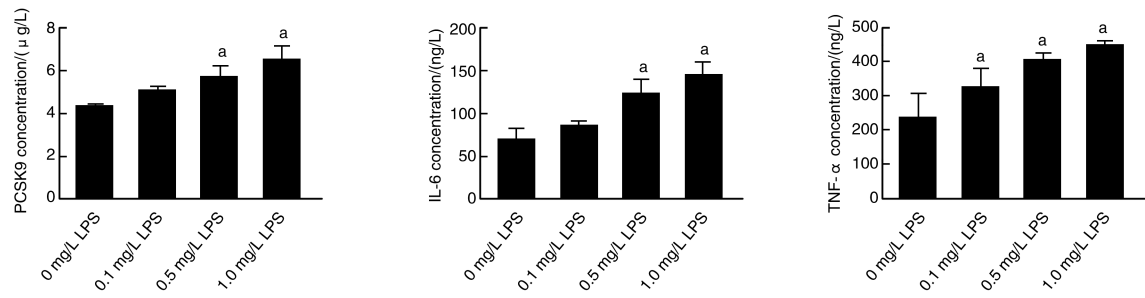


图2. 不同剂量的LPS刺激对HUVEC分泌PCSK9、TNF-α和IL-6的影响($n=3$)

a 为 $P<0.05$, 与 0 mg/L LPS 处理组比较。

Figure 2. Effect of different doses of LPS on PCSK9, TNF-α and IL-6 secretion by HUVEC($n=3$)

2.2 ApoE3 对 LPS 诱导的 HUVEC 中 TNF-α、IL-6、PCSK9 和 ApoER2 表达的影响

用 1.0 mg/L LPS 预处理 HUVEC 6 h 后, 更换无血清的培养基并用不同剂量的 ApoE3 蛋白(0、25 及 50 mg/L)继续处理 HUVEC 24 h。Western blot 结果显示, 与 LPS 处理组相比, 当 ApoE3 剂量达到 50 mg/L 时 HUVEC 中 TNF-α、IL-6 和 PCSK9 的表达降低最明显, 相反, ApoER2 的表达增加最显著(图 3)。ELISA 结果也显示, 当 ApoE3 剂量达到 50 mg/L 时, HUVEC 上清液中 TNF-α、IL-6 和 PCSK9 的表达水

平明显减少(图 4)。

2.3 人重组 ApoE 蛋白对 HUVEC 中 PCSK9、ApoER2 的影响

用不同剂量的人重组蛋白 ApoE2、ApoE3、ApoE4 (0、10、25 及 50 mg/L) 处理 HUVEC 24 h, Western blot 结果显示, PCSK9、ApoER2 的表达无明显改变(图 5)。可能原因: (1) ApoE 可能对非炎症状态下的 HUVEC 中 PCSK9、ApoER2 的表达无影响; (2) ApoE 对 PCSK9 表达的影响可能在不同细胞、组织中存在特异性。

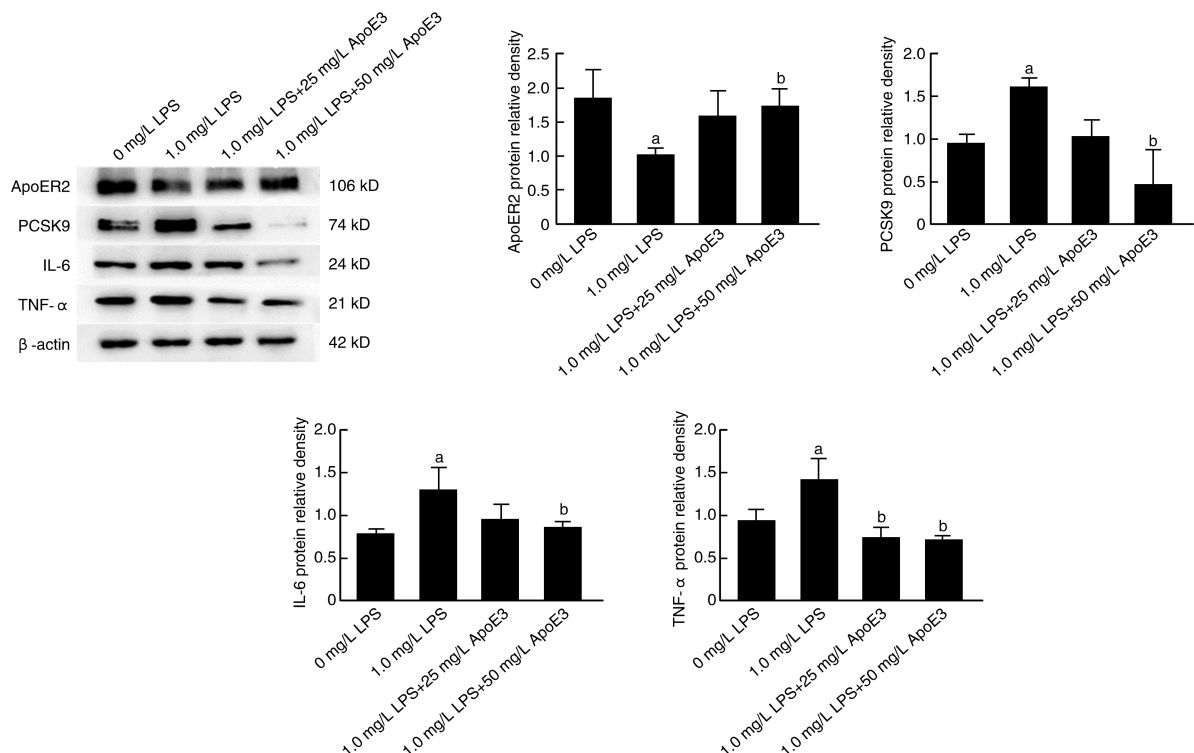


图3. 不同剂量的ApoE3对LPS诱导的HUVEC中TNF-α、IL-6、PCSK9和ApoER2表达的影响($n=3$)

a 为 $P<0.05$, 与 0 mg/L LPS 处理组比较; b 为 $P<0.05$, 与 1.0 mg/L LPS 处理组比较。

Figure 3. Effect of different doses of ApoE3 on LPS-induced TNF-α, IL-6, PCSK9 and ApoER2 expression in HUVEC($n=3$)

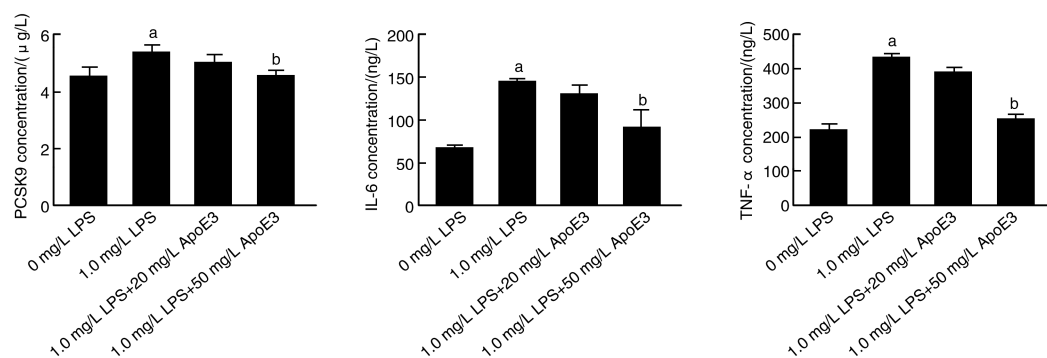


图 4. 不同剂量的 ApoE3 对 LPS 诱导的 HUVEC 分泌 TNF-α、IL-6 和 PCSK9 的影响 ($n=3$)

a 为 $P<0.05$, 与 0 mg/L LPS 处理组比较; b 为 $P<0.05$, 与 1.0 mg/L LPS 处理组比较。

Figure 4. Effect of different doses of ApoE3 on LPS-induced TNF-α, IL-6 and PCSK9 secretion by HUVEC ($n=3$)

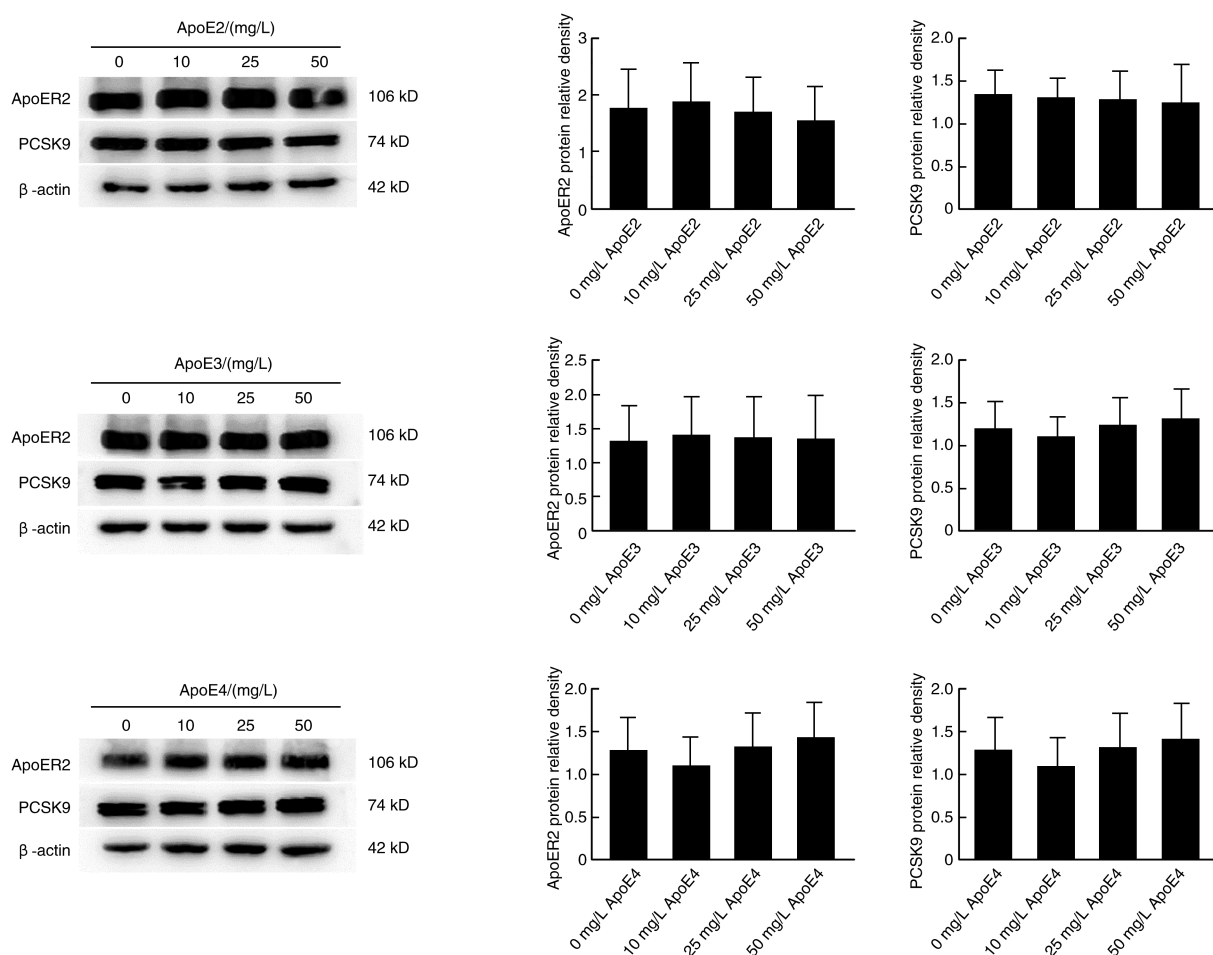


图 5. 不同剂量的 ApoE2、ApoE3 和 ApoE4 对 HUVEC 中 PCSK9、ApoER2 表达的影响 ($n=3$)

Figure 5. Effect of different doses of ApoE2, ApoE3 and ApoE4 on PCSK9 and

ApoER2 expression in HUVEC ($n=3$)

2.4 人重组 ApoE 蛋白对 HepG2 细胞中 PCSK9、ApoER2 表达的影响

用不同剂量 (0、10、25 及 50 mg/L) 的人重组 ApoE2、ApoE3、ApoE4 蛋白处理 HepG2 细胞 24 h, Western blot 检测 HepG2 细胞中 PCSK9、ApoER2 的

表达。结果显示,不同剂量的 ApoE2、ApoE3、ApoE4 对 PCSK9 和 ApoER2 的表达仍无显著影响(图 6)。提示 ApoE 对炎症状态下 PCSK9 的表达有一定程度的抑制作用,而对非炎症状态下 PCSK9 的表达没有显著影响。

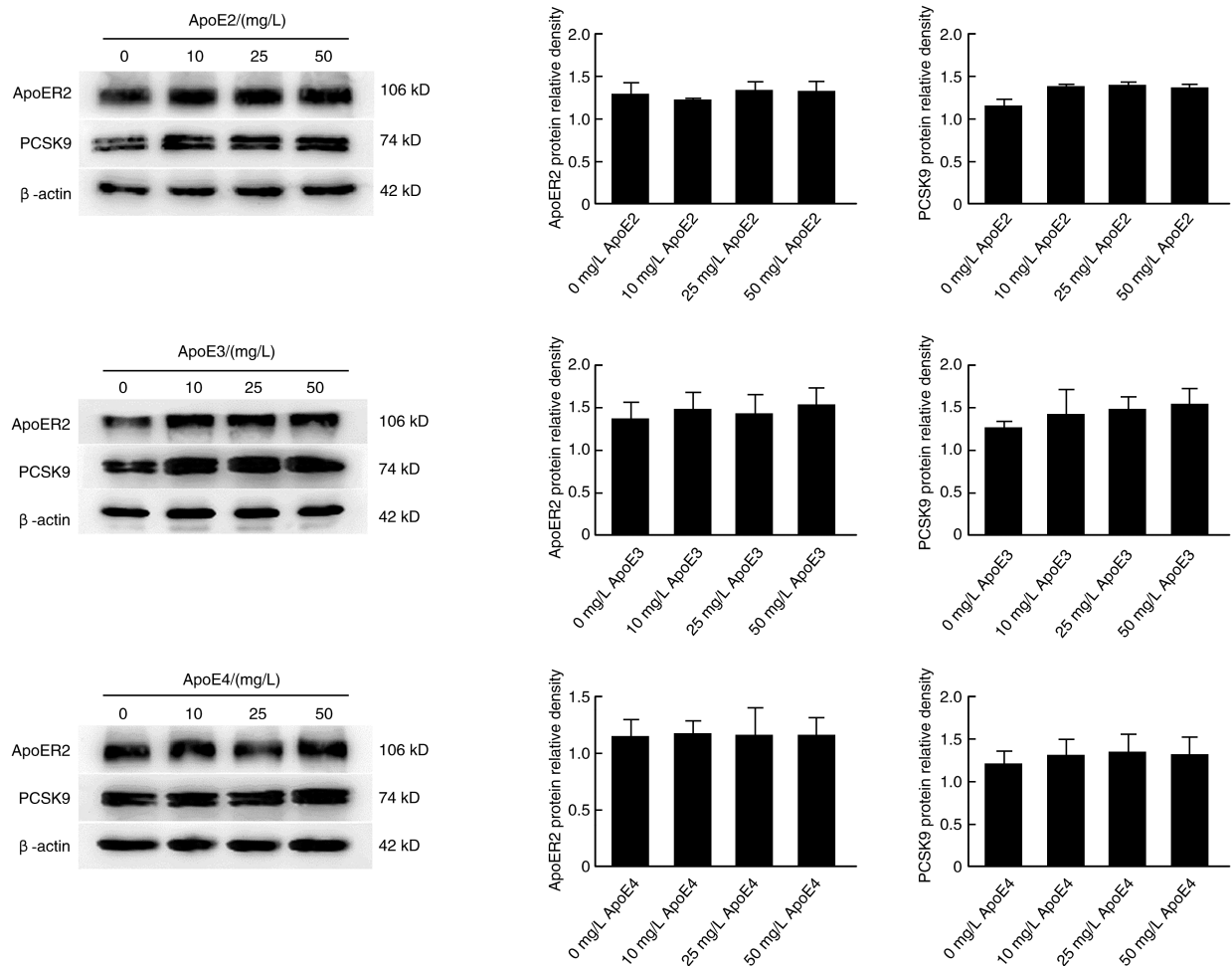


图 6. 不同剂量的 ApoE2、ApoE3 和 ApoE4 对 HepG2 细胞中 PCSK9、ApoER2 表达的影响 ($n=3$)

Figure 6. Effect of different doses of ApoE2, ApoE3 and ApoE4 on PCSK9 and ApoER2 expression in HepG2 cells ($n=3$)

2.5 PCSK9 通过降解 ApoER2 拮抗 ApoE/ApoER2 的抗炎作用

用不同剂量 (0、0.5、1.0 及 2.5 mg/L) 人重组 PCSK9 处理 HUVEC 24 h, Western blot 结果显示, 随着 PCSK9 剂量的增加, ApoER2 的表达量降低, 以 2.5 mg/L PCSK9 处理组下降最为明显; 相反, TNF- α 、

IL-6 的表达量增加, 并以 2.5 mg/L PCSK9 处理组增加最为明显 (图 7)。ELISA 结果显示, 随着 PCSK9 剂量的增加, HUVEC 上清液中 TNF- α 、IL-6 的表达水平也增加, 并且以 2.5 mg/L PCSK9 处理组增加最为明显 (图 8)。

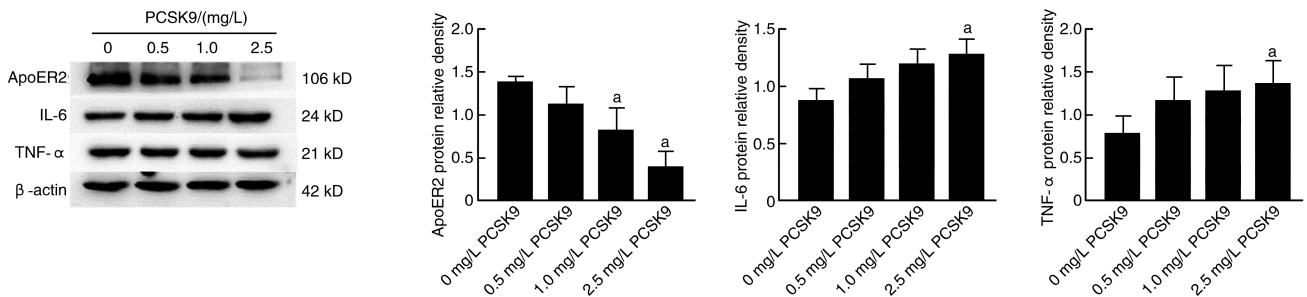


图 7. PCSK9 对 HUVEC 中 ApoER2、TNF- α 及 IL-6 表达的影响 ($n=3$)

a 为 $P < 0.05$, 与 0 mg/L PCSK9 处理组比较。

Figure 7. Effect of PCSK9 on ApoER2, TNF- α and IL-6 expression in HUVEC ($n=3$)

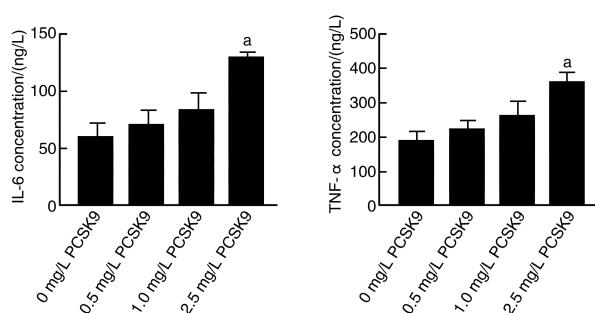


图 8. PCSK9 对 HUVEC 分泌 TNF- α 、IL-6 的影响 ($n=3$)

a 为 $P<0.05$, 与 0 mg/L PCSK9 处理组比较。

Figure 8. Effect of PCSK9 on TNF- α and IL-6 secreted by HUVEC ($n=3$)

3 讨 论

目前,心血管疾病已成为全球人口死亡的首位原因^[17]。ox-LDL、高胆固醇血症、糖尿病、高血压等多种危险因素长期作用于血管内皮,启动内皮细胞的炎症反应,促进 As 病变的发生发展^[18]。因此,抑制血管内皮细胞的炎症反应成为防治 As 的一个重要着手点。

ApoE 作为血浆脂蛋白的组成成分,可以在很多组织和细胞中合成,并受细胞内胆固醇含量的调节^[19]。有研究发现,ApoE 发挥的抗炎效应在防治 As 的发生发展中也起了重要作用^[20]。ApoER2 最早被鉴定为主要在脑中表达的新型 LDLR 家族蛋白。有文献报道,细胞膜上的 ApoER2 可以通过与 ApoE 结合来发挥抗炎作用。例如,Baitsch 等^[21]研究表明巨噬细胞膜上的 ApoER2 通过与 ApoE 结合来诱导巨噬细胞由促炎的 M1 型向抑炎的 M2 型转换,从而发挥抗炎作用。ApoE 由一个基因位点的三个等位基因 (E2、E3、E4) 所编码的多肽组成,并以三种蛋白形式表现为: ApoE2、ApoE3、ApoE4。据文献报道,ApoE4 促进炎症的发生,尤其在神经系统中发挥促炎作用,使患阿尔兹海默症的风险增加。ApoE2 有抗炎作用,被认为在防治阿尔兹海默症和心血管疾病方面有益。ApoE3 是三种中唯一的野生型,在人群中占比最高,约占自然人群中的 78%,对机体正常的生理功能发挥起关键作用^[22]。

早在 2003 年,Abifadel 等^[23]发现 PCSK9 可以导致常染色体显性高胆固醇血症。其关键机制在于 PCSK9 靶向作用于溶酶体降解途径,促进肝脏 LDLR 降解,防止受体再循环到细胞表面,这导致血脂水平升高,从而参与 As 的形成^[8,24]。除在血浆胆固醇代谢中发挥的作用外,PCSK9 被发现与炎症反

应有密切的关系^[25]。相关数据表明,ApoER2 作为 LDLR 家族的一员,可以被 PCSK9 诱导进入溶酶体降解。其机制大致为:PCSK9 的催化亚基与 LDLR 的第一个表皮生长因子样重复序列,即 EGF-A 结构域结合,而与 ApoER2 结合时涉及到其他蛋白,如胞质衔接蛋白 Dab1 和低密度脂蛋白受体相关蛋白 RAP 的额外接触,形成的复合物以非酶的方式被内化并且进入溶酶体进行降解,此过程不需要其蛋白水解活性,与 PCSK9 活性催化中心以及 LDLR 的存在无关^[14,26]。此外,ApoER2 降解还可能通过其他 PCSK9 非依赖性途径,如通过蛋白质泛素化途径降解,在应激和凋亡神经元中起调节作用。不同于 PCSK9 依赖性降解途径,该过程涉及到泛素激活酶和蛋白水解酶,并且依赖 ATP 在蛋白酶体中进行降解^[27]。

基于血管内皮细胞在 As 中的重要作用,本研究将 HUVEC 作为研究对象,探究 PCSK9 是否通过 ApoER2 降解来拮抗 ApoE/ApoER2 在 As 中的抗炎作用。用不同剂量的 LPS 构建炎症细胞模型,观察到该模型中炎症因子和 PCSK9 的表达升高,提示 PCSK9 可能发挥促炎作用。本研究继续检测到 ApoE3 蛋白可以明显改善 LPS 所致的炎症状态并增加 ApoER2 的表达,这与现有的研究一致。而本研究重要的发现是,ApoE3 蛋白抑制 LPS 上调的 PCSK9 表达。为了更进一步探讨 ApoE 对 PCSK9 表达的影响,本研究选用具有不同生理作用的 ApoE 三种亚型 (ApoE2、ApoE3、ApoE4) 分别处理 HUVEC,结果显示 PCSK9 的表达没有显著改变。为了再排除不同细胞和组织中存在的差异,本研究选用丰富表达 PCSK9 的 HepG2 细胞作为对照,结果仍显示 ApoE 的三种亚型对 PCSK9 的表达无影响。以上结果说明,ApoE 可以抑制炎症状态下的细胞中 PCSK9 的表达,但对非炎症状态下的细胞中 PCSK9 的表达无显著影响。为了进一步明确 PCSK9 与 ApoE/ApoER2 抗炎作用之间的关系,用不同剂量的 PCSK9 处理 HUVEC,结果显示,PCSK9 上调炎症因子的表达,下调 ApoER2 的表达。本研究结果表明,PCSK9 可通过降解 ApoER2 拮抗 ApoE/ApoER2 的抗炎作用,为阐明 PCSK9 在炎症反应中的作用提供了新的机制认识。

[参考文献]

- [1] SOEHNLEIN O, LIBBY P. Targeting inflammation in atherosclerosis: from experimental insights to the clinic[J]. Nat Rev Drug Discov, 2021, 20(8): 589-610.
- [2] 卿即娜,陈红阳,尹琳洁,等. 血管内皮细胞衰老与心血管疾

- 病的相关性[J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(2): 161-168.
- QING J N, CHEN H Y, YIN L J, et al. Relationship between vascular endothelial cell senescence and cardiovascular disease[J]. Chin J Arterioscler, 2019, 27(2): 161-168.
- [3] 张雪梅, 刘秉文. 载脂蛋白 E 研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2001, 9(2): 165-168.
- ZHANG X M, LIU B W. Progress in apolipoprotein E[J]. Chin J Arterioscler, 2001, 9(2): 165-168.
- [4] 祝成亮, 周新, 刘芳, 等. 载脂蛋白 E 基因多态性与血脂水平的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 13(2): 203-206.
- ZHU C L, ZHOU X, LIU F, et al. The relationship between polymorphisms of apolipoprotein E gene and serum lipid[J]. Chin J Arterioscler, 2005, 13(2): 203-206.
- [5] ULRICH V, KONANIAH E S, HERZ J, et al. Genetic variants of ApoE and ApoER2 differentially modulate endothelial function[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(37): 13493-13498.
- [6] CALVIER L, MANOUCHEHRI N, SACHARIDOU A, et al. Apolipoprotein E receptor 2 deficiency decreases endothelial adhesion of monocytes and protects against autoimmune encephalomyelitis[J]. Sci Immunol, 2021, 6(62): eabd0931.
- [7] LI K, CHING D, LUK F S, et al. Apolipoprotein E enhances microRNA-146a in monocytes and macrophages to suppress nuclear factor- κ B-driven inflammation and atherosclerosis[J]. Circ Res, 2015, 117(1): e1-e11.
- [8] BARALE C, MELCHIONDA E, MOROTTI A, et al. PCSK9 biology and its role in atherothrombosis[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(11): 5880.
- [9] SEIDAH N G, PRAT A. The multifaceted biology of PCSK9[J]. Endocr Rev, 2022, 43(3): 558-582.
- [10] 陈文山, 姬劲锐, 魏小云, 等. 早期应用 PCSK9 抑制剂对非 ST 段抬高型急性冠状动脉综合征患者 PCI 后炎症水平和微循环功能的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(7): 601-605.
- CHEN W S, JI J R, WEI X Y, et al. Effect of early application of PCSK9 inhibitor on inflammation level and microcirculation function after PCI in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(7): 601-605.
- [11] 唐志晗, 江璐, 任重, 等. 枯草溶菌素转换酶 9 siRNA 抑制氧化型低密度脂蛋白诱导的 THP-1 源性巨噬细胞炎症因子表达[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(3): 192-196.
- TANG Z H, JIANG L, REN Z, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin 9 siRNA repressed inflammation factor expression of THP-1 macrophage cells induced by oxidized low density lipoprotein[J]. Chin J Arterioscler, 2011, 19(3): 192-196.
- [12] TANG Z H, JIANG L, PENG J, et al. PCSK9 siRNA suppresses the inflammatory response induced by oxLDL through inhibition of NF- κ B activation in THP-1-derived macrophages[J]. Int J Mol Med, 2012, 30(4): 931-938.
- [13] GRIN P M, DWIVEDI D J, CHATHELY K M, et al. Low-density lipoprotein(LDL)-dependent uptake of Gram-positive lipoteichoic acid and Gram-negative lipopolysaccharide occurs through LDL receptor[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 10496.
- [14] 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): 2363-2372.
- [15] COCHET F, PERI F. The role of carbohydrates in the lipopolysaccharide (LPS)/Toll-like receptor 4 (TLR4) signalling[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(11): 2318.
- [16] FEINGOLD K R, MOSER A H, SHIGENAGA J K, et al. Inflammation stimulates the expression of PCSK9[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 374(2): 341-344.
- [17] VIRANI S S, ALONSO A, APARICIO H J, et al. Heart disease and stroke statistics-2021 update: a report from the American Heart Association[J]. Circulation, 2021, 143(8): e254-e743.
- [18] ZHANG X H, LU J Y, ZHANG Q H, et al. CircRNA RSF1 regulated ox-LDL induced vascular endothelial cells proliferation, apoptosis and inflammation through modulating miR-135b-5p/HDAC1 axis in atherosclerosis[J]. Biol Res, 2021, 54(1): 11.
- [19] DYBAS J, BULAT K, BLAT A, et al. Age-related and atherosclerosis-related erythropathy in ApoE/LDLR^{-/-} mice[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2020, 1866(12): 165972.
- [20] MARAIS A D. Apolipoprotein E and atherosclerosis[J]. Curr Atheroscler Rep, 2021, 23(7): 34.
- [21] BAITSCH D, BOCK H H, ENGEL T, et al. Apolipoprotein E induces antiinflammatory phenotype in macrophages[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(5): 1160-1168.
- [22] DE LEEUW S M, KIRSCHNER A W T, LINDNER K, et al. APOE2, E3, and E4 differentially modulate cellular homeostasis, cholesterol metabolism, and inflammatory response in isogenic iPSC-derived astrocytes[J]. Stem Cell Reports, 2022, 17(1): 110-126.
- [23] ABIFADEL M, VARRET M, RABÈS J P, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia[J]. Nat Genet, 2003, 34(2): 154-156.
- [24] 杨帆, 刘楚轩, 彭飞, 等. PCSK9 抑制剂在治疗动脉粥样硬化中的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(3): 185-189.
- YANG F, LIU C X, PENG F, et al. Progress of PCSK9 inhibitors in the treatment of atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(3): 185-189.
- [25] DING Z, WANG X, LIU S, et al. NLRP3 inflammasome via IL-1 β regulates PCSK9 secretion[J]. Theranostics, 2020, 10(16): 7100-7110.
- [26] DESHYCKA R, SUDARYO V, HUANG N J, et al. Engineered red blood cells carrying PCSK9 inhibitors persistently lower LDL and prevent obesity[J]. PLoS One, 2021, 16(11): e0259353.
- [27] HONG C, DUIT S, JALONEN P, et al. The E3 ubiquitin ligase I-DOL induces the degradation of the low density lipoprotein receptor family members VLDLR and ApoER2[J]. J Biol Chem, 2010, 285(26): 19720-19726.
- (此文编辑 文玉珊)