

本文引用: 龚熙, 向琼, 陈彦宇, 等. PCSK9: 心血管钙化的新治疗靶点? [J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(9): 798-804. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.09.009.

· 文献综述 ·

[文章编号] 1007-3949(2024)32-09-0798-07

## PCSK9: 心血管钙化的新治疗靶点?

龚熙, 向琼, 陈彦宇, 唐志晗, 彭娟

(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)

**[摘要]** 前蛋白转化酶枯草溶菌素9(PCSK9)是分泌型丝氨酸蛋白酶家族的第9个成员,由692个氨基酸组成,它能与低密度脂蛋白受体(LDLR)结合,导致循环中的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平升高,从而引发诸多心血管疾病,其与心血管钙化的关系近来受到关注。心血管钙化是心血管系统的一种异位矿化,以血管壁和血管瓣膜中产生矿物质沉积为主要特征,其发病机制与脂蛋白含量、血小板活性、基质囊泡(MV)释放及炎症反应有关,PCSK9可能通过上述途径参与心血管钙化的发生。因此,本文对PCSK9与心血管钙化之间的关系进行综述,并着重介绍了PCSK9通过不同途径影响心血管钙化的具体作用,有助于建立PCSK9在血管生物学中的新作用,并确定心血管钙化治疗的新分子机制。

**[关键词]** 前蛋白转化酶枯草溶菌素9; 心血管钙化; 炎症反应

**[中图分类号]** R5

**[文献标识码]** A

### PCSK9: a new therapeutic target for cardiovascular calcification?

GONG Xi, XIANG Qiong, CHEN Yanyu, TANG Zhihan, PENG Juan

*Institute of Cardiovascular Disease & Key Laboratory for Arteriosclerosis of Hunan Province & Hunan International Scientific and Technological Cooperation Base of Arteriosclerotic Disease, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China*

**[ABSTRACT]** Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) comprised of 692 amino acids is the ninth member of protease family. It binds to the low-density lipoprotein receptor (LDLR), leading to elevated levels of circulating low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), which can lead to a number of cardiovascular diseases, and among them the relationship with cardiovascular calcification has recently received attention. Cardiovascular calcification is a kind of ectopic mineralisation in the cardiovascular system, which is mainly characterised by the production of mineral deposits in the vascular wall and vascular valves, and its pathogenesis is related to lipoprotein content, platelet activity, matrix vesicle (MV) release and inflammation, through which PCSK9 may be involved in the occurrence of cardiovascular calcification.

Therefore, this article reviews the relationship between PCSK9 and cardiovascular calcification, emphasizing the specific role of PCSK9 in affecting cardiovascular calcification through various pathways, assisting in setting up emerging applications of PCSK9 amid vessel biological science and recognize innovative molecular mechanisms for its treatment.

**[KEY WORDS]** proprotein convertase subtilisin/kexin type 9; cardiovascular calcification; inflammation

心血管钙化是一种在老龄化社会中越来越普遍的疾病<sup>[1]</sup>,据估计,在60岁以上的人群中,大动脉中钙沉积呈进行性增加的人数约占1/3。随着年龄的增长,钙沉积导致血管硬化,成为心血管疾病发病和死亡的重要危险因素。因此,探讨心血管钙化

的影响因素和发病机制对治疗和预防血管疾病具有重要意义。心血管钙化是心血管系统的一种异位矿化,是羟基磷灰石(hydroxy-apatite, HA)在动脉壁的沉积。心血管钙化可根据钙沉积的位置不同,以两种方式进行分类:按照解剖学位置可分为动脉

**[收稿日期]** 2023-10-19

**[修回日期]** 2023-11-16

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81770454);湖南省自然科学基金项目(2022JJ30510)

**[作者简介]** 龚熙,硕士研究生,研究方向为动脉粥样硬化及发病机制,E-mail:gx160481@163.com。通信作者唐志晗,博士,教授,博士研究生导师,研究方向为动脉粥样硬化及发病机制,E-mail:tangzhihan98@163.com。通信作者彭娟,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向为动脉粥样硬化及发病机制,E-mail:pengjuan98@sina.com。

钙化、静脉钙化、瓣膜钙化以及钙化防御;按照血管壁分层可分为内膜钙化、中膜钙化以及瓣膜钙化。本文主要以第二种分类方式进行综述。内膜钙化发生在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的背景下,涉及脂质、巨噬细胞(macrophage,  $M\phi$ )和血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)。它常发生在冠状动脉和颈动脉,加重动脉狭窄或阻塞。中膜钙化则与 As 无关,而与弹性蛋白和 VSMC 有关,常发生于下肢动脉,导致供血不足。瓣膜钙化主要影响主动脉瓣和二尖瓣,主要引发的疾病是主动脉瓣钙化病(calcified aortic valve disease, CAVD)和二尖瓣环钙化(mitral annular calcification, MAC)<sup>[2]</sup>。瓣膜间质细胞(valve interstitial cell, VIC)被认为在瓣膜钙化过程中起着重要作用。临床上,瓣膜疾病的进展非常明显,晚期瓣膜钙化可导致主动脉瓣开口阻塞。

PCSK9 于 2003 年首次被报道,其基因位于人类染色体 1p32,靠近第三个遗传位点<sup>[3]</sup>。PCSK9 主要在肝细胞或小肠上皮细胞中表达<sup>[4]</sup>,通过降解低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)调节胆固醇稳态。目前,PCSK9 抑制剂已成为一种高效的降脂疗法。最近的相关研究发现 PCSK9 也与钙化有关。在血管钙化方面,Lupo 等<sup>[5]</sup>发现,PCSK9 的过表达会增加大鼠 VSMC 中的钙沉积。同时还发现,与对照组的 VSMC 相比,PCSK9 过表达的部分细胞内碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)水平也升高,骨形态发生蛋白 2(bone morphogenetic protein 2, BMP2)增加了 2 倍。另外,在 PCSK9 过表达的 VSMC 中还观察到动脉钙化抑制剂基质 GLA 蛋白(matrix GLA protein, MGP)显著降低。PCSK9 的过表达直接调节动脉钙化关键参与者的表达,从而有助于体外观察到的 VSMC 钙化的增加。对于瓣膜钙化,免疫组织化学显示 PCSK9 不仅存在于已发生钙化的区域中,也存在于还未发生钙化的部位中。在健康的主动脉瓣中,PCSK9 仅在细胞核附近被发现,而在狭窄主动脉瓣中,PCSK9 也存在于细胞外基质中<sup>[6]</sup>。酶联免疫吸附测定也证实,PCSK9 在钙化部位中表达增加<sup>[7]</sup>。Perrot 等<sup>[7]</sup>用成骨培养基处理分离的人 VIC,发现与正常培养基中的 VIC 相比,成骨培养基处理可诱导 PCSK9 mRNA 的表达并诱导 VIC 的钙化。本文综述了 PCSK9 在动脉壁和瓣膜钙化中的特殊作用,以及通过调控脂质含量、血小板活性、基质囊泡(matrix vesicle, MV)释放和炎症反应影响心血管钙化的可能机制,以期有助于发现 PCSK9 在心血管生

物学中的新作用,并明确 PCSK9 治疗的新分子机制。

## 1 PCSK9 在临床患者中作为心血管钙化调节因子的研究

### 1.1 PCSK9 与血管钙化

冠状动脉钙化(coronary artery calcification, CAC)长期以来被认为是一种重要的病理生理现象,与 As 过程有关。已有研究表明,CAC 是无症状心血管疾病患者全因死亡的潜在危险因素。众所周知,PCSK9 可通过 LDLR 调节脂质分解来影响冠状动脉,然而,它对 CAC 的调节作用仍不清楚。Zhao 等<sup>[8]</sup>选择了 403 例未接受降脂药物治疗的心绞痛患者,计算机断层扫描(computed tomography, CT)发现血浆 PCSK9 浓度与冠状动脉钙化评分(coronary artery calcification score, CACS)呈正相关。在一项以 338 例杂合子家族性高胆固醇血症患者(familial hypercholesterolemia, FH)为研究对象的调查中发现,血清 PCSK9 水平越高,CACS 越高<sup>[9]</sup>。除了 FH 患者的临床数据外,Menicelli 等<sup>[10]</sup>的数据表明 PCSK9 在心房颤动患者的血管钙化中同样起作用。此外,Posadas-Sanchez 等<sup>[11]</sup>也发现 PCSK9 基因多态性(rs2149041)与颈动脉内膜中膜厚度(carotid intima-media thickness, CIMT)(取决于 CACS)风险增加之间存在潜在关联。这些结果表明,PCSK9 的浓度可能会对 CAC 存在一定的影响。

最近,在一组 120 名接受冠状动脉 CT 血管造影患者的研究中发现,PCSK9 抑制剂和他汀类药物的联合治疗比他汀类药物单药治疗有更低的年 CAC 率<sup>[12]</sup>。这一数据表明 PCSK9 抑制剂可以预防 CAC。Liang 等<sup>[13]</sup>发现,与未接受 PCSK9 抑制剂治疗的患者相比,接受 PCSK9 抑制剂治疗的患者血管钙化的趋势有所下降。

这些结果表明,血浆 PCSK9 水平可能与血管钙化的存在有关。

### 1.2 PCSK9 与主动脉瓣钙化

主动脉瓣钙化(aortic valve calcification, AVC)是一个多因素的生物学过程,具有强烈的成骨和促炎特征<sup>[14]</sup>。Iqbal 等<sup>[15]</sup>发现,Sortilin 蛋白(一种介导蛋白质转运的 I 型膜糖蛋白)可诱导 VIC 向炎症和成骨细胞表型分化,导致 ALP 活性(心血管钙化中成骨细胞分化的关键因素<sup>[16]</sup>)和钙化潜能增加。CAVD 是最常见的瓣膜钙化形式<sup>[17]</sup>。

在一项前瞻性横断面研究中,研究人员使用超

声心动图和双源计算机断层扫描(dual source computed tomography, DSCT)对确诊为CAVD和无钙化的患者进行了检查,并对瓣膜钙化进行评分和分级,将其分为以下几级:1级为无钙化;2级为轻度钙化;3级为中度钙化;4级为重度钙化。研究人员发现,血浆中PCSK9的水平在四个分级之间存在显著差异,2级CAVD患者血浆PCSK9浓度最高。各级CAVD患者的血浆PCSK9水平均明显高于无CAVD的患者。回归分析显示,PCSK9、脂蛋白(a)和年龄都是CAVD的预测因素。作者推测,血浆PCSK9与CAVD严重程度之间缺乏线性相关性的原因可能是血浆PCSK9升高可能只是早期CAVD复杂过程的一部分<sup>[18]</sup>。此外,Poggio等<sup>[19]</sup>发现:1)PCSK9在钙化的主动脉瓣中高表达;2)人类AVC可能与VIC相关的PCSK9表达有关。以上研究表明,血浆

PCSK9与CAVD的存在相关,但与其严重程度缺乏线性相关性。

AVC可导致瓣膜狭窄,而代谢异常也与主动脉瓣狭窄有关。生物主动脉瓣的血流动力学衰败(hemodynamic valve deterioration, HVD)是否与钙代谢异常有关?Salaun等<sup>[20]</sup>的研究发现,CT检测到的瓣膜钙化是HVD的有力预测因素,在植入主动脉生物瓣膜的患者中,以PCSK9升高为特征的代谢障碍与HVD风险增加有关。在调整了年龄、性别和主动脉瓣置换术后,高水平的PCSK9也与HVD的发展有关。这提示瓣膜钙化可能与血浆PCSK9浓度之间存在联系。

以上的研究结果均提示,血浆PCSK9水平可能影响着AVC。表1总结了有关PCSK9水平与临床患者血管和瓣膜钙化关系的研究。

表1. PCSK9水平与临床患者血管和瓣膜钙化的关系

Table 1. The association of PCSK9 level with vascular and valve calcification in clinical patients

作者	样本量	疾病	治疗	检测方法	基因型	钙化程度	PCSK9浓度
Zhao等 <sup>[8]</sup>	403	心绞痛样胸痛	未治疗	CT	—	↑	↑
Cao等 <sup>[9]</sup>	338	FH	—	CT+冠状动脉造影	—	↑	↑
Poggio等 <sup>[19]</sup>	—	钙化	—	钙比色法	—	↑	↑
Posadas-Sanchez等 <sup>[11]</sup>	881	无症状个体	—	—	rs2149041	↑	↑
Ikegami等 <sup>[12]</sup>	120	FH	PCSK9抑制剂+他汀类药物	CCTA	—	↓	↓
Menichelli等 <sup>[10]</sup>	579	心房颤动	—	—	—	↑	↑
Liang等 <sup>[13]</sup>	1 836	FH	他汀类药物	血管内超声	—	↓	↓
Wang等 <sup>[18]</sup>	512	AVC	—	DSCT扫描	—	↑	—
Salaun等 <sup>[20]</sup>	137	主动脉瓣置换术	—	CT+血管内超声	—	↑	↑

注:↑:水平上升;↓:水平下降;—:未提及。

## 2 PCSK9在动物实验中作为心血管钙化调节因子的研究

PCSK9与心血管钙化之间的联系除了有临床患者的研究证据支持外,实验动物研究也得以证实。Goettsch等<sup>[21]</sup>研究表明,与高脂肪/高胆固醇(HF/HC)饮食诱导的血管钙化小鼠模型相比,在10周龄的C57BL/6J小鼠体内单次注射编码功能获得型PCSK9(D377Y)的重组腺相关病毒载体(adeno-associated virus vector, AAV),血管会在15~20周内加速钙化。到20周时,其主动脉钙化率增加了(12.4%±4.9%)。

而PCSK9与钙化的这种联系不仅在小鼠这一物种中发现,在兔的体内也得出了相同的结论。最近,Elseweidy等<sup>[22]</sup>发现,与空白对照组成年雄性新西兰兔相比,以HF饮食喂养的兔表现出血脂异常和血清PCSK9水平升高。PCSK9升高的兔主动脉钙化明显,主要表现为钙沉积增加和主动脉组织中骨桥蛋白的表达增加,以及血清ALP和骨钙素水平升高。

同样,无论是在蛋白水平还是基因水平,反向验证都能得出相同的结论。Guo等<sup>[23]</sup>对POL(policosanol,一种天然降胆固醇药物,已被证明可降低健康参与者血液循环中PCSK9的水平)进行了研究,



结果表明它可抑制钙化标志物并减少糖尿病血脂异常大鼠的主动脉钙化。这些结果暗示了 POL 的有效性,即抵抗钙化的功能部分是通过抑制 PCSK9 发挥作用的,这是治疗主动脉钙化的一个很有前景的选择。在另一项研究中,Poggio 等<sup>[19]</sup>使用钙比色法评估了喂食标准饲料的 12 个月大 PCSK9<sup>-/-</sup>小鼠和野生型(wild type, WT)小鼠的主动脉瓣全组织提取

物的钙化情况。在相同条件下,PCSK9<sup>-/-</sup>小鼠的 AVC 率比 WT 小鼠低 5 倍。这些结果,包括 PCSK9<sup>-/-</sup>小鼠的 AVC 率低于 WT 小鼠,以及 PCSK9<sup>-/-</sup>小鼠 VIC 对体外钙化的部分保护作用,都有力地支持了 PCSK9 对 CAVD 发生和发展的直接作用。总之,从动物实验研究角度来看,PCSK9 可以调节心血管钙化。表 2 总结了相关的动物实验结果。

表 2. PCSK9 与心血管钙化关系的实验动物研究

Table 2. Studies of the association of PCSK9 with cardiovascular calcification in animals

动物模型	饮食和时间	处理因素	检测方法	钙化程度	钙化部位	PCSK9 浓度	参考文献
C57BL/6J 小鼠	HF/HC(15/20 周)	rAAV8/D377Y-mPCSK9	荧光反射成像	↑	主动脉壁	↑	[21]
新西兰兔	SD 或 HC(12 周)	POL, PTX	组织学评估	↓	主动脉壁	↓	[22]
大鼠	致 As 饮食(8 周)	阿托伐他汀, POL	同位素标记	↓	主动脉壁	↓	[23]
C57BL/6J 小鼠	SD(12 月)	PCSK9 <sup>-/-</sup>	钙比色法	↓	主动脉瓣	↓	[19]

注: ↑:水平上升; ↓:水平下降; SD:标准饮食; HF:高脂肪; HC:高胆固醇; <sup>-/-</sup>:基因敲除。

### 3 PCSK9 在心血管钙化中的潜在发病机制

#### 3.1 与钙化有关的脂质和脂蛋白水平

LDLR 已被证实可以直接调控动脉钙化。研究表明,LDLR<sup>-/-</sup>小鼠的升主动脉、横主动脉和颈动脉处均发现钙化病灶。Fantus 等<sup>[24]</sup>假设成骨信号通路是由 LDLR 蛋白调节的,他们证实,LDLR 基因位点的突变导致成骨样细胞钙化信号通路失调。此外,低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(low density lipoprotein receptor related protein 1, LRP1)、LRP5 和 LRP6 属于 LDLR 超家族蛋白,在血管钙化中发挥着越来越重要的作用。Awan 等<sup>[25]</sup>最近发现,在主动脉钙化的小鼠模型中,在 LDLR 缺失的情况下,钙化血管中 Wnt5a 及其辅受体 LRP5 高度表达,它们均为细胞成骨分化的正向调节因子。LDLR 的缺失可能会改变存在于血管系统或骨组织中成骨细胞的功能,这将为 LDLR 缺失患者的血管发生钙化提供了分子解释。其他旨在调节 LDLR 信号通路的途径可能有助于发现预防血管钙化的新治疗方法。众所周知,PCSK9 能促进 LDLR 的降解。因此,PCSK9 可能会通过降解 LDLR 来影响血管钙化。

多位学者指出,即使在低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)水平非常低的情况下,脂蛋白(a)升高也是一个危险因素<sup>[26]</sup>。高脂蛋白(a)血症与主动脉瓣的钙化有关,这一结果在对 922 名脂蛋白(a)升高患者的横断面分析中

得到了证实<sup>[27]</sup>:较高的脂蛋白(a)水平与 AVC 有关。另外,在一项对 220 名具有钙化性主动脉瓣狭窄(calcific aortic valve stenosis, CAVS)患者进行的随机临床试验中,发现脂蛋白(a)水平与 CAVS 的进展速度呈线性关系<sup>[28]</sup>。O'Donoghue 等<sup>[29]</sup>发现 PCSK9 抑制剂可显著降低脂蛋白(a)水平。利用 PCSK9 抑制剂来调节脂蛋白(a)水平可能是治疗慢性心血管疾病的一种很有前景的方法。

综上所述,PCSK9 可通过调节脂蛋白(a)水平来影响 AVC。

#### 3.2 与钙化有关的血小板活性和 VSMC 分化

对心血管钙化分子机制的一种解释是,血管壁中的一些细胞,包括 VSMC 和 VIC,可能具有成骨表型。研究表明,在高磷饮食的尿毒症小鼠中,VSMC 表型改变和 VSMC 缺失(早期磷酸盐依赖事件)可能是促进动脉钙化所必需的<sup>[30]</sup>,VSMC 的成骨分化可能是内膜和中膜钙化的共同特征<sup>[2]</sup>。

有研究表明,骨钙素的过度表达明显加快了 VSMC 的钙化<sup>[31]</sup>,而在颈动脉狭窄患者中,循环血小板骨钙素含量及活化后总骨钙素释放量均显著升高。体内实验发现,静脉注射活化的血小板可显著促进小鼠 AVC 狭窄的进展<sup>[32]</sup>。另外,值得注意的是,Guo 等<sup>[4]</sup>的研究表明,血小板活化的标志物 11 脱氢血栓素 B2(11-dehydrothromboxane B2, 11-DH-TXB2)与 PCSK9 的循环水平显著相关。最近的一项横断面研究发现,随着循环 PCSK9 水平的升

高,与血小板激活相关的其他指标,如血小板聚集、招募,11-DH-TXB2 形成和可溶性 P 选择素的含量也会升高<sup>[33]</sup>。然而,PCSK9 抗体预处理的血小板中,这些变化被抑制。因此,该研究表明 PCSK9 与血小板活化有关。

总之,PCSK9 可能通过介导血小板活化,增加骨钙素的表达量,从而促进 VSMC 成骨分化,最终导致心血管钙化的发生。

### 3.3 与钙化有关的释放

MV 是细胞膜来源的微粒(直径约 100 nm),与钙化有关。这些 MV 由 VIC、VSMC 和 M $\phi$  释放,在血管钙化起始过程中发挥作用<sup>[34]</sup>。过表达人重组 PCSK9 的 VSMC 释放出的 MV 表现出明显的钙和 ALP 水平升高,这些因素有助于 VSMC 钙化<sup>[5]</sup>。PCSK9 和 Sortilin(VSMC 钙化的细胞介质)之间的直接蛋白相互作用进一步证实 PCSK9 参与了 MV 的形成<sup>[35]</sup>。这些证据表明,细胞内 PCSK9 可诱导 VSMC 钙化相关囊泡释放。

总之,PCSK9 通过介导血管细胞的囊泡释放,在心血管钙化中发挥作用。

### 3.4 与钙化有关的炎症因子的表达

内膜钙化是 As 斑块内产生的炎症因子与发生骨分化的血管细胞亚群相互作用的结果。Abdelbaky 等<sup>[36]</sup>采用 18F-脱氧葡萄糖正电子发射断层扫描检测到,在随后出现钙化进展的患者中,主动脉瓣和 As 斑块的局灶性主动脉炎症明显更高<sup>[37]</sup>。还有文献报道,炎症细胞因子,包括白介素 6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumour necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 和 IL-1,与心血管钙化的增加有关<sup>[38]</sup>。

PCSK9 似乎会增强炎症反应。Awan 等<sup>[39]</sup>研究发现,抗 IL-1 $\beta$  能显著减少小鼠血管钙化。虽然 LDLR<sup>-/-</sup>小鼠的循环 IL-1 $\beta$  水平显著升高,但抗 IL-1 $\beta$  处理的 LDLR<sup>-/-</sup>小鼠的钙化却明显减少(X 射线检查约减少 75%,CT 检查约减少 90%)。这些发现意味着 PCSK9 可能会通过增加 IL-1 $\beta$  来促进小鼠血管钙化。另外, TNF- $\alpha$  通过多种机制诱导 VIC 钙化。其中 TNF- $\alpha$  上调 ALP 活性是体外血管钙化的基本要素<sup>[40]</sup>,而 PCSK9 siRNA 可显著抑制 THP-1(人单核细胞白血病细胞)来源 M $\phi$  中 IL-1 $\alpha$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  的表达和分泌<sup>[41]</sup>。因此,PCSK9 被认为可以直接或间接地参与炎症反应相关的血管钙化。Autotaxin(ATX)是一种由 ENPP2 基因编码的溶血磷脂酶 D,通过核因子  $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)/IL-6/BMP 信号转导途径促进 VIC 的矿化<sup>[42]</sup>。降低

脂蛋白(a)的治疗方法,例如使用新型 PCSK9 抑制剂,可以抑制这一途径,并被证明对脂蛋白(a)升高的 CAVD 或 CAVD 高危亚群有益<sup>[43]</sup>。总之,越来越多的证据支持 PCSK9 通过增强促炎因子的表达来促进心血管钙化的观点。

图 1 总结了 PCSK9 通过影响脂蛋白水平、血小板活性、MV 释放和炎症反应来调节心血管钙化的机制。

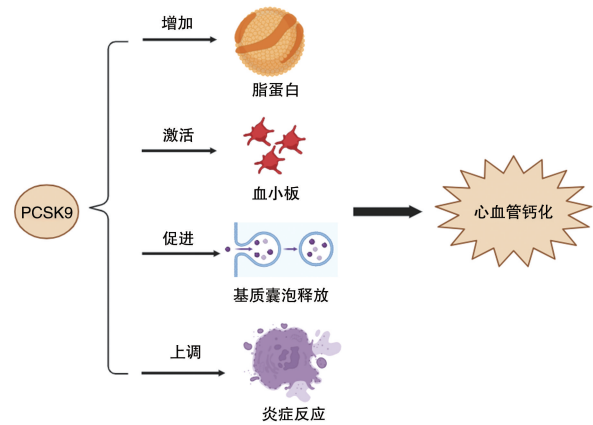


图 1. PCSK9 影响心血管钙化的机制

Figure 1. Mechanisms of PCSK9 affecting cardiovascular calcification

## 5 结语和展望

目前,几乎没有药物治疗来阻止或逆转血管钙化。抗炎药、焦磷酸抑制剂和螯合疗法都有希望成为潜在的治疗方法。理想的药物可以调节发生在组织损伤或炎症部位的病理性钙化过程,同时保持正常骨形成完整。那么,抑制 PCSK9 是否能成为新的理想治疗方法呢?

本文分析了 PCSK9 参与心血管钙化的具体途径,阐述了 PCSK9 在血管内膜、中膜钙化和 AVC 中的作用,并总结了 PCSK9 通过影响脂质、血小板、MV 和炎症因子的作用进而调节心血管钙化的机制。提示 PCSK9 抑制治疗除了降低血液中 LDLC 水平外,可能对心血管有额外的好处。因此,发现新的靶向血管细胞内 PCSK9 的药物也将促进对 PCSK9 和心血管钙化领域的认识。然而,根据 Nicholls 等<sup>[44]</sup>的临床数据,一种针对 PCSK9 的单克隆抗体 Evolocumab 对培养模型中的体外钙沉积没有影响。实际上, Evolocumab 和特异性靶向肝脏 PCSK9 mRNA 的 Inclisiran<sup>[45]</sup>,只能对 VSMC 中的 PCSK9 发挥轻微的抑制作用<sup>[46]</sup>。相反,具有抗 PCSK9 活性

的小分子化学物质可能对血管钙化具有保护作用。这一假设可以用目前临床开发中的抗 PCSK9 小分子来验证<sup>[47-48]</sup>。此外,不同的钙化部位应根据其独特的发病机制采取不同的治疗方法。例如,内膜钙化通常与 As 的进展相关,而 As 是一种慢性炎症性疾病,其特点是脂质在血管壁上堆积。因此,除了利用 PCSK9 抑制剂的作用外,还应结合降低炎症和防止有害脂蛋白聚集的方法进行联合治疗。

总之,利用 PCSK9 的作用预防或治疗心血管钙化还需要进一步的研究。现有的证据多为 PCSK9 通过其他途径间接地影响到血管的钙化。如果能有更直接的证据证明 PCSK9 与钙离子沉积、ALP 和其他钙化标志物之间的关系,则可能会在心血管钙化的预防和临床治疗中发挥更重要的作用,甚至研发出特效药物。

#### [参考文献]

- [1] 朱钰钰,张丹凤,李欢,等.血清锌、铜/锌比值与慢性肾脏病患者冠状动脉钙化的相关性[J].中国动脉硬化杂志,2022,30(12):1051-1057.
- ZHU Y Y, ZHANG D F, LI H, et al. Correlation of blood zinc, copper/ zinc ratio and coronary artery calcification in patients with chronic kidney disease[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(12): 1051-1057.
- [2] LI W D, SU S A, CHEN J, MA H. Emerging roles of fibroblasts in cardiovascular calcification [J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(4): 1808-1816.
- [3] ABIFADEL M, VARRET M, RABÈS J P. Mutations in pcsk9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia [J]. Nat Genet., 2003, 34(2):154-156.
- [4] GUO Y N, YAN B J, TAI S. Pcsk9: Associated with cardiac diseases and their risk factors? [J] Arch Biochem Biophys, 2021, 704: 108-717.
- [5] LUPO M G, BRESSAN A, DONATO M. Pcsk9 promotes arterial medial calcification[J]. Atherosclerosis, 2022, 346:86-97.
- [6] PERROT N, MOSCHETTA D, BOEKHOLDT S M. Genetic inhibition of pcsk9, atherogenic lipoprotein concentrations, and calcific aortic valve stenosis[J]. bioRxiv, 2019, 560458.
- [7] PERROT N, VALERIO V, MOSCHETTA D. Genetic and *in vitro* inhibition of pcsk9 and calcific aortic valve stenosis [J]. JACC Basic Transl Sci, 2020, 5(7):649-661.
- [8] ZHAO X, ZHANG H W, LI S. Association between plasma proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 concentration and coronary artery calcification[J]. Ann Clin Biochem, 2018, 55(1):158-164.
- [9] CAO Y X, JIN J L, SUN D. Circulating pcsk9 and cardiovascular events in fh patients with standard lipid-lowering therapy [J]. J Transl Med, 2019, 17:1-11.
- [10] MENICHELLI D, GALARDO G, CAMMISOTTO V. Association of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (pcsk9) levels with abnormally high ankle-brachial index in atrial fibrillation[J]. Kardiol Pol, 2023, 81(4):381-387.
- [11] POSADAS-SÁNCHEZ R, VARGAS-ALARCÓN G, PÉREZMÉNDEZ Ó. Increased carotid intima-media thickness in asymptomatic individuals is associated with the pcsk9 (rs2149041) gene polymorphism in the mexican mestizo population; Results of the gea cohort [J]. Life (Basel), 2022, 12(10):1531.
- [12] IKEGAMI Y, INOUE I, INOUE K. The annual rate of coronary artery calcification with combination therapy with a pcsk9 inhibitor and a statin is lower than that with statin monotherapy [J]. NPJ Aging Mech Dis, 2018, 4(1):7.
- [13] LIANG D, LI C, TU Y M. Additive effects of ezetimibe, evolocumab, and alirocumab on plaque burden and lipid content as assessed by intravascular ultrasound: A prisma-compliant meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2022, 101(41):e31199.
- [14] KAPELOUZOU A, GERONIKOLOU S, LIDORIKI I. Tissue and serum biomarkers in degenerative aortic stenosis-insights into pathogenesis, prevention and therapy [J]. Biology (Basel), 2023, 12(3):347.
- [15] IQBAL F, SCHLOTTER F, BECKER-GREENE D. Sortilin enhances fibrosis and calcification in aortic valve disease by inducing interstitial cell heterogeneity [J]. Eur Heart J, 2023, 44(10): 885-898.
- [16] GOETTSCH C, STRZELECKA-KILISZEK A, BESSUEILLE L. Tnap as a therapeutic target for cardiovascular calcification: a discussion of its pleiotropic functions in the body [J]. Cardiovasc Res, 2022, 118(1):84-96.
- [17] MYASOEDOVA V A, RAVANI A L, FRIGERIO B. Novel pharmacological targets for calcific aortic valve disease: Prevention and treatments [J]. Pharmacol Res, 2018, 136:74-82.
- [18] WANG W G, HE Y F, CHEN Y L. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 levels and aortic valve calcification: A prospective, cross sectional study [J]. J Int Med Res, 2016, 44(4):865-874.
- [19] POGGIO P, SONGIA P, CAVALLOTTI L. Pcsk9 involvement in aortic valve calcification [J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 72(24): 3225-3227.
- [20] SALAUN E, MAHJOUR H, DAHOU A. Hemodynamic deterioration of surgically implanted bioprosthetic aortic valves [J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 72(3):241-251.
- [21] GOETTSCH C, HUTCHESON J D, HAGITA S. A single injection of gain-of-function mutant pcsk9 adeno-associated virus vector induces cardiovascular calcification in mice with no genetic modification [J]. Atherosclerosis, 2016, 251:109-118.
- [22] ELSEWEIDY M M, MOHAMED H E, ELRASHIDY R A. Inhibition of aortic calcification by policosanol in dyslipidemic rabbits is enhanced by pentoxifylline: potential role of pcsk9 [J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2018, 23(6):551-560.
- [23] GUO Y L, XU R X, ZHU C G. Policosanol attenuates statin-induced increases in serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 when combined with atorvastatin [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, 2014:926087.
- [24] FANTUS D, AWAN Z, SEIDAH N G. Aortic calcification: Novel insights from familial hypercholesterolemia and potential role for the low-density lipoprotein receptor [J]. Atherosclerosis, 2013,

- 226(1):9-15.
- [25] AWAN Z, DENIS M, BAILEY D. The ldlr deficient mouse as a model for aortic calcification and quantification by micro-computed tomography[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 219(2):455-462.
- [26] KRONENBERG F, MORA S, STROES E S. Lipoprotein (a) in atherosclerotic cardiovascular disease and aortic stenosis; a european atherosclerosis society consensus statement[J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(39):3925-3946.
- [27] KAISER Y, TOORN J E, SINGH S S. Lipoprotein(a) is associated with the onset but not the progression of aortic valve calcification [J]. *Eur Heart J*. 2022;43(39):3960-3967.
- [28] CAPOULADE R, YEANG C, CHAN K L. Association of Mild to Moderate Aortic Valve Stenosis Progression With Higher Lipoprotein (a) and Oxidized Phospholipid Levels: Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial [J]. *JAMA Cardiol*. 2018;3(12):1212-1217.
- [29] O'DONOGHUE M L, FAZIO S, GIUGLIANO R P. Lipoprotein (a), PCSK9 Inhibition, and Cardiovascular Risk [J]. *Circulation*. 2019;139(12):1483-1492.
- [30] ZHANG J, ZHENG B, ZHOU P P. Vascular calcification is coupled with phenotypic conversion of vascular smooth muscle cells through klf5-mediated transactivation of the runx2 promoter [J]. *Biosci Rep*, 2014, 34(6):e00148.
- [31] IDELEVICH A, RAIS Y, MONSONEGO-ORNAN E. Bone gla protein increases hif-1 $\alpha$ -dependent glucose metabolism and induces cartilage and vascular calcification [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011,31(9):e55-e71.
- [32] BOUCHARREB R, BOULANGER M C, TASTET L. Activated platelets promote an osteogenic programme and the progression of calcific aortic valve stenosis[J]. *Eur Heart J*, 2019, 40(17):1362-1373.
- [33] CAMMISOTTO V, PASTORI D, NOCELLA C. Pcsk9 regulates nox2-mediated platelet activation via cd36 receptor in patients with atrial fibrillation[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(4):296.
- [34] CUI L, RASHDAN N A, ZHU D X. End stage renal disease-induced hypercalcemia may promote aortic valve calcification via annexin vi enrichment of valve interstitial cell derived-matrix vesicles [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(11):2985-2995.
- [35] GOETTSCHE C, HUTCHESON J D, AIKAWA M. Sortilin mediates vascular calcification via its recruitment into extracellular vesicles [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(4):1323-1336.
- [36] ABDELBAKY A, CORSINI E, FIGUEROA A L. Early aortic valve inflammation precedes calcification; a longitudinal fdg-pet/ct study[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 238(2):165-172.
- [37] CHEN N X, O'NEILL K D, MOE S M. Matrix vesicles induce calcification of recipient vascular smooth muscle cells through multiple signaling pathways[J]. *Kidney Int*, 2018, 93(2):343-354.
- [38] LENCEL P, DELPLACE S, PILET P. Cell-specific effects of tnf- $\alpha$  and il-1 $\beta$  on alkaline phosphatase; implication for syndesmophyte formation and vascular calcification [J]. *Lab Invest*, 2011, 91(10):1434-1442.
- [39] AWAN Z, DENIS M, ROUBTSOVA A. Reducing vascular calcification by antiil-1 $\beta$  monoclonal antibody in a mouse model of familial hypercholesterolemia[J]. *Angiology*, 2016, 67(2):157-167.
- [40] TINTUT Y, PATEL J, PARHAMI F. Tumor necrosis factor- $\alpha$  promotes *in vitro* calcification of vascular cells via the camp pathway [J]. *Circulation*, 2000, 102(21):2636-2642.
- [41] GIUNZIONI I, TAVORI H, COVARRUBIAS R. Local effects of human pcsk9 on the atherosclerotic lesion [J]. *J Pathol*, 2016, 238(1):52-62.
- [42] BOUCHARREB R, MAHMUT A, NSAIBIA M J. Autotaxin derived from lipoprotein (a) and valve interstitial cells promotes inflammation and mineralization of the aortic valve[J]. *Circulation*, 2015, 132(8):677-690.
- [43] ROGERS M A, AIKAWA E. A not-so-little role for lipoprotein (a) in the development of calcific aortic valve disease[J]. *Circulation*, 2015,132(8):621-3.
- [44] NICHOLLS S J, PURI R, ANDERSON T. Effect of evolocumab on coronary plaque composition [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(17):2012-2021.
- [45] MACCHI C, SIRTORI C R, CORSINI A. A new dawn for managing dyslipidemias: the era of ma-based therapies [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 150:104413.
- [46] ROSENSON R S, HEGELE R A, FAZIO S. The evolving future of pcsk9 inhibitors[J]. *J Am Coll Cardio*, 2018, 72(3):314-329.
- [47] GILL P K, HEGELE R A. New biological therapies for low-density lipoprotein cholesterol [J]. *Can J Cardiol*, 2023, S0828-282X(23):01577-5.
- [48] MALIWAL D, PISSURLENKAR R R, TELVEKAR V. Comprehensive computational study in the identification of novel potential cholesterol lowering agents targeting proprotein convertase subtilisin/kexin type 9[J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2023, 1-12.

(此文编辑 王颖)