

## 综 述

doi:10.11724/jdmu.2019.01.18

## PCSK9 抑制剂在脂代谢中的研究进展

刘 壮, 耿雪梅, 柯永胜

(皖南医学院弋矶山医院 心血管内科, 安徽 芜湖 241001)

[摘要] 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 是参与调节低密度脂蛋白受体 (LDLR) 表达, 通过促进溶酶体对 LDLR 的消化作用降低了细胞表面 LDLR 的密度, 进而导致血浆低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 升高。仅在开始研究 10 年间, PCSK9 抑制剂就被全球多个药监局获批上市, 2015 年美国 FDA 批准 evolocumab 和 alirocumab 用于临床。目前研发的干预 PCSK9 的方式包括: 单克隆抗体、小干扰 (siRNA)、反义寡核苷酸、疫苗接种等。但 PCSK9 抑制剂的临床使用尚未普及。

[关键词] PCSK9; PCSK9 抑制剂; LDL-C; ASCVD

[中图分类号] R541.4 [文献标志码] A 文章编号: 1671-7295(2019)01-0081-05

[引用本文] 刘壮, 耿雪梅, 柯永胜. PCSK9 抑制剂在脂代谢中的研究进展 [J]. 大连医科大学学报, 2019, 41 (1): 81-85.

## Progress in the study of PCSK9 inhibitors in lipid metabolism

LIU Zhuang, GENG Xuemei, KE Yongsheng

(Department of Cardiovascular Medicine, Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China)

[Abstract] Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) is a serine protease involved in the regulation of LDL receptor (LDLR) expression and apolipoprotein B (apoB) lipoprotein cholesterol metabolism, which can prevent LDLR from escaping lysosome digestion, thereby reduce cell surface LDLR density and lead to the increase of plasma low density lipoprotein cholesterol (LDL-C). PCSK9 inhibitors have been approved by many drug regulatory agencies worldwide within only 10 years of research. In 2015, the FDA approved evolocumab and alirocumab were produced for clinical use. At present, approaches of PCSK9 intervention include monoclonal antibody, small interference (siRNA), antisense oligonucleotides, vaccination et al. Nevertheless, the clinical use of PCSK9 inhibitors has not been popularized.

[Keywords] PCSK9; PCSK9 inhibitors; low-density lipoprotein-cholesterol; ASCVD

目前研究证实低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平升高与动脉粥样硬化性心血管疾病 (ASCVD) 的发生息息相关, 且血清 LDL-C 水平升高是 ASCVD 的独立危险因素。因此, 通过各种方法降低 LDL-C 对于预防与治疗 ASCVD 愈发重要。既往大量临床资料显示, 降低 LDL-C 通常可降低心血管风险。为了降低 ASCVD 的发生风险, 美国心脏病学会 (ACC)/美国心脏协会 (AHA) 指南提出, 针对心血管风险高的患者, 建议使用高强度他汀类药物治疗, 使 LDL-C 水平降低  $\geq 50\%$  [1]。目前临床降低 LDL 水平的首选药物是他汀类药物, 但是部分患者无法耐受他汀类药物, 也存在部分患者在接受

最大可耐受剂量他汀类药物后仍有较高的心血管事件发生率 [2], 因此, 临床上迫切需要新型降脂药物调节患者体内脂质代谢水平。众多实验表明 PCSK9 单克隆抗体抑制剂能通过抑制溶酶体对低密度脂蛋白受体 (LDLR) 的消化作用进而降低血浆低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)。本文对 PCSK9 抑制剂在脂代谢中的研究进展作一综述。

## 1 PCSK9 的发现

2003 年, Seidah 等 [3] 首次发现 PCSK9。同年, Abifadel 等 [4] 在遗传性高脂血症家系中发现 PCSK9 的突变基因和 LDLR 及 apoB 类似, 并进一步证实

PCSK9 基因突变与常染色体显性高脂血症相关, PCSK9 基因突变包括功能获得性突变(错义突变)和功能缺失性突变(无义突变)。PCSK9 主要表达于人肝脏和小肠细胞组织中<sup>[5]</sup>, 肾和中枢神经系统中也有较低水平的表达。肝细胞表面表达大量 LDLR, LDL - C 的清除依赖 LDL 颗粒与 LDLR 结合, 研究发现, 在小鼠模型中, PCSK9 能降低 LDLR 数量, PCSK9 通过内皮生长因子 A(EGF - A)与细胞表面的 LDLR 结合形成复合物加速 LDLR 的降解, 从而使血清中 LDL - C 水平升高<sup>[6]</sup>。另外, Konrad 等<sup>[7]</sup>发现, 主流降脂药物如他汀类、贝特类药物能够升高 PCSK 水平, 这可能解释了为何这些药物在降低 LDL - C 有时效果往往不尽如人意。另有研究指出, 血浆 PCSK9 水平与冠心病患者冠状动脉粥样硬化程度相关, PCSK9 可能成为冠状动脉粥样硬化的独立危险因素<sup>[8]</sup>, 因此, 针对 PCSK9 靶点的新型降脂药物研制具有很大临床意义。

## 2 PCSK9 的结构、功能及其作用

PCSK9 基因位于染色体 1p32 上, 编码 692 个氨基酸的丝氨酸蛋白酶<sup>[9]</sup>。PCSK9 蛋白由信号肽、前结构域、催化结构域和富含半胱氨酸、组氨酸的 C - 端结构域组成。研究证实 PCSK9 可通过 LDL - R 调节 LDL - C 水平。肝细胞表面的 LDL - R 结合 LDL 颗粒, LDL - R - LDL 复合物被内化, 之后 LDL - R 再循环回细胞表面。血液中的 PCSK9 与肝细胞表面的 LDL - R 结合, 导致溶酶体内化和随后的 LDL - R 降解, 以及细胞表面的 LDL - Rs 数量减少。因此, 抑制血液中的 PCSK9 可能增加细胞表面上 LDL - R 的数量并增加 LDL - C 对细胞的摄取。抑制 PCSK9 分泌提供了一种降低 LDL - C 水平的新型治疗机制<sup>[10]</sup>。PCSK9 是循环中 LDL - C 水平的重要调节剂。有研究发现 PCSK9 基因功能获得型与血清 LDL - C 水平升高和早发冠心病相关<sup>[11-13]</sup>。相反, 功能缺失型 PCSK9 突变与低血清 LDL - C 水平和降低冠心病风险有关<sup>[14-16]</sup>。此外, 已有研究显示 PCSK9 功能严重丧失的健康受试者血清 LDL - C 浓度低至 14 mg/dL<sup>[15,17]</sup>。所以, 抑制 PCSK9 为降低 LDL - C 水平提供了一种新的治疗机制<sup>[18]</sup>。

## 3 PCSK9 抑制剂

目前多种 PCSK9 抑制途径正在研究中。第一种是防止 PCSK9 与 LDL - R 的结合。这种方法包括单克隆抗体或 adnectin, 也称为单体。单克隆抗体治疗剂包括 evolocumab, alirocumab 和 bococizum-

ab。这些结合 PCSK9 的催化结构域和前结构域, 阻断与 LDL - R 的相互作用并中和 PCSK9 活性。像单克隆抗体一样, adnectins 对靶标也有很高的特异性, 毒性很低。目前, 已在 I 期临床试验中对人类 PCSK9 具有高结合亲和力的 adnectin BMS - 962476 进行了测试, 显示游离 PCSK9 减少 90%, LDL - C 降低 48%<sup>[19]</sup>。抑制 PCSK9 的第二个主要途径是针对 PCSK9 的合成和处理。运用小干扰 RNA (siRNA) 技术干扰 PCSK9 mRNA 的转录和翻译, 从而降低 PCSK9 的表达。在 I 期临床试验中, PCSK9siRNA ALN - PCS 可使游离 PCSK9 表达水平降低 70%, LDL - C 表达水平降低 40%。抑制 PCSK9 基因表达的另一种方法是使用反义寡核苷酸(与 mRNA 结合的短核酸序列)。动物研究数据显示其能够使循环中 PCSK9 和 LDL - C 水平降低, 在 I 期临床试验中测试了两种 PCSK9 指导的反义寡核苷酸, 即 SPC5001 和 BMS - 844421。由于未公开的原因而终止开发<sup>[20]</sup>。

### 3.1 Evolocumab

Evolocumab (AMG - 145) 是一类人源单克隆抗体, 一项纳入 614 例患者的随机对照试验显示, evolocumab 能够使 LDL - C 水平自基线降低 55% ~ 57%, 优于依折麦布, 主要的不良反应包括头疼及肌肉疼痛<sup>[21]</sup>。另一项发表在 Lancet 上的多中心双盲随机对照试验显示, 无论是每 2 周 140 mg 或每月 420 mg 均能够在 12 周显著降低 LDL - C 水平(每 2 周 140 mg, 59.2%, 每月 420 mg, 61.3%), 且耐受性较好, 不良反应与安慰剂组类似, 主要包括鼻咽炎及肌肉不良反应<sup>[22]</sup>, 而在纯合子家族性高胆固醇血症患者中, Evolocumab 在 12 周显著降低 LDL - C 水平(30.9%), 没有出现严重的不良反应<sup>[23]</sup>。最近的 FOURIER 试验是在 >27 000 例确定有 ASCVD 的患者中进行<sup>[24]</sup>。患者已经接受充分的他汀类药物, 被随机分为 Evolocumab 组和安慰剂组。Evolocumab 组中位 LDL - C 水平从基线时的 92 mg/dL 降至治疗后 30 mg/dL, 安慰剂组无变化。在 48 周时, Evolocumab 组的 LDL - C 平均最小降低百分比为 59% (95% CI 58% - 60%,  $P < 0.001$ ), 平均绝对降低 56 mg/dL 至中位 LDL - C 为 30 mg/dL (四分位数范围 19 ~ 46)。Evolocumab 组共 87% 的患者 LDL - C 水平  $\leq 70$  mg/dL, 而安慰剂组为 18% (Evolocumab vs. 安慰剂,  $P < 0.001$ )。Evolocumab 组在 48 周时显示非 HDL - C 降低 51.2%, apoB 降低 46%, 而 HDL - C 增加 8.4% (与安慰剂组比较,  $P$  均  $< 0.001$ )。Evolocumab 治疗导致甘油三酯平均降低 16.2%, 脂蛋白

(a) 平均降低 26.9% (每种相对于安慰剂,  $P < 0.001$ )<sup>[10]</sup>。因此, evolocumab 可以认为是一种有效降低 LDL-C 且安全性较高的降脂药物。

### 3.2 Alirocumab

Alirocumab (RGEN727, SAR236553) 是 2015 年 7 月美国食品和药物管理局 (FDA) 批准的第一个 PCSK9 抑制剂, 由 Regeneron 公司与 Sanofi 公司联合开发的一种人源单克隆抗体, 目前处于 III 期临床研究。I 期临床试验显示, 在 64 d 的试验期内, 静脉注射及皮下注射 alirocumab 可以剂量依赖性的方式使 LDL-C 水平降低 65%<sup>[25]</sup>, 进一步的 II 期临床试验中, 50 mg、100 mg、150 mg 剂量的 alirocumab 均表现出较好的降低 LDL-C 水平的效果, 而且安全性较高, 没有受试者因不良反应而停药<sup>[26]</sup>。ODYSSEY ALTERNATIVE 试验表明 alirocumab 降脂疗效优于依折麦布, 而且两者不良反应无明显差异。

### 3.3 Bococizumab

Bococizumab 来自于 Pfizer/Rinat 公司, 能够结合 PCSK9, 在联合应用阿托伐他汀的情况下, bococizumab 能够降低 40%~72% 的 LDL-C, 疗效与给药剂量及给药频率有关<sup>[27]</sup>, LDL-C 降低的持久性缺乏的机制在六项平行的多国降脂试验的分析中进行了检查, 该试验招募了 4300 名高脂血症患者, 随后长达 12 个月<sup>[28]</sup>。通过在治疗期间检测到抗药物抗体的存在或不存在对患者进行分层。相当大比例的患者使用 bococizumab 治疗后出现高滴度的抗药物抗体, 并显著降低了 LDL-C 降低的程度和耐受性。此外, 未开发抗药物抗体的患者的 LDL-C 降低程度差异很大。因此, 2016 年 11 月停止了 bococizumab 开发项目<sup>[29]</sup>。

### 3.4 反义寡核苷酸

反义寡核苷酸 PCSK9 抑制剂能够封闭基因表达, 降低 PCSK9 信使 RNA 和蛋白水平, 并能够减少 50% 的 LDL-C 水平, 血清总胆固醇同时下降, 高密度脂蛋白水平无明显变化<sup>[30]</sup>。目前大多数反义核苷酸 PCSK9 抑制剂仍处于临床前期研究阶段。

### 3.5 小分子干扰 RNA

小干扰 RNA (siRNA) 可以干扰肝细胞内 PCSK9 的生成, siRNA 能够转染至细胞内, 研究表明, 在小鼠模型中, siRNA 敲除 PCSK9 基因显著减少 LDL-C 水平, 与依折麦布, 瑞舒伐他汀联合应用效果更显著<sup>[31]</sup>。ALN-PCS 利用脂质纳米微粒材料, 在 32 例 LDL-C 水平  $> 3 \text{ mmol/L}$  的志愿者中表现出较好的安全性, 并能够有效减少 LDL-C 水平, 在给药 0.4 mg/kg 组, 志愿者 PCSK9 水平下降 70%, LDL-C

水平下降 41%<sup>[32]</sup>。Inclisiran (一种长效 siRNA, 每年给药 2 次) I 期临床试验显示其可以降低 LDL-C。相比单克隆抗体每两周或每月给药的频率, Inclisiran 更持久的降低 LDL-C 水平, 单次注射 270 天后可下降  $> 50\%$ 。在 II 期临床试验中, ORION-1<sup>[33]</sup> 纳入 501 名的有高胆固醇血症的 ASCVD 高风险受试者, 均接受最大耐受剂量他汀类药物, 随机分配到给予 inclisiran 组, PCSK9 和 LDL-C 水平出现持续的且与药物剂量依赖性的降低。人群 LDL-C 水平最多减少 53%。III 期临床试验正在计划当中。

### 3.6 免疫接种

目前正在研发一种诱导 PCSK9 抗体应答的 AT04A 疫苗。APOE \* 3/Leiden/CETP (胆固醇酯转移蛋白) 小鼠接种 AT04A 后, 出现了高且持久的 PCSK9 抗体水平, 血浆总胆固醇下降 53% ( $P < 0.001$ ), LDL-C 水平显著降低<sup>[34]</sup>。第一阶段的 AT04A 研究正在进行中。最近一项关于 PCSK9 病毒样颗粒 (PCSK9Q $\beta$ -003) 疫苗的研究发现<sup>[35]</sup>, PCSK9Q $\beta$ -003 可以显著降低 Balb/c 鼠和 LDLR + / - 鼠总胆固醇和血浆 PCSK9 的表达。

除上述几种干预 PCSK9 的方法, 其他的新方法也在研究中。最近在 PCSK9 催化亚基中发现了一种新型的靶向口袋<sup>[36]</sup>, 这种结构性识别可能有助于开发口服小分子 PCSK9 抑制剂。也有团队在研究使用 CRISPR/Cas9 方法在体内编辑 PCSK9<sup>[37]</sup>。

## 4 PCSK9 抑制剂的不良反应

目前已上市的 PCSK9 抑制剂主要不良反应主要包括肌肉相关反应, 鼻咽炎等, 有研究提出 PCSK9 抑制剂影响认知功能, 与安慰剂相比, 神经系统不良事件发生率显著增加<sup>[38]</sup>, 但近期一项针对 1974 例患者的研究评价了 evolocumab 对认知功能的影响, 终点是执行功能的空间工作策略指标<sup>[39]</sup>。

## 5 PCSK9 抑制剂的适用条件

2017 年欧洲心脏病学会 (ESC)/欧洲动脉粥样硬化学会 (EAS) 共同编写的 PCSK9 抑制剂专家共识<sup>[40]</sup> 推荐以下患者使用 PCSK9 抑制剂: (1) 经大剂量长效他汀药物治疗后, LDL-C 仍不能达标的极高危心血管患者和家族性高胆固醇血症 (FH) 患者; (2) 不能耐受他汀类药物的极高危心血管患者和家族性高胆固醇血症患者。同年, 日本 FH 的诊断和治疗指南<sup>[41]</sup> 建议纯合子型 FH (HoFH) 以及耐药的重型杂合子 FH (HeFH) 应当考虑 PCSK9 抑制剂治

疗(推荐水平 A)。

## 6 结 论

经过 10 余年的研究,以 PCSK9 为靶点的新型降脂药,已被证实能够显著降低 LDL - C 水平,PCSK9 抑制剂 alirocumab 和 evolocumab 能够有效的降低 LDL - C,并具有良好的安全性,evolocumab 具有良好的 ASCVD 转归效果。随着国外相继批准了 alirocumab、evolocumab 上市,2018 年 7 月 31 日安进公司的 evolocumab,商品名瑞百安®(英文名 Repatha®),被中国药监局批准上市。目前这类药物多属于抗体及注射剂型,不是传统的片剂,售价较为昂贵,不被多数患者所接受,但 PCSK9 抑制剂为降低 LDL - C 提供了新的治疗途径。

## 参考文献:

[1] Gidding SS, Mary AC, Ferranti SDD, et al. The Agenda for Familial Hypercholesterolemia: A Scientific Statement From the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2015, 132(22):2167 - 2192.

[2] Giuseppe Danilo N, Ballantyne CM, Alberico Luigi C. New therapeutic principles in dyslipidaemia: focus on LDL and Lp(a) lowering drugs [J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(24):1783 - 1789.

[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] Abifadel M, Varret M, Rabès JP, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia [J]. *Nat Genet*, 2003, 34(2):154 - 156.

[5] Le MC, Kourimate S, Langhi C, et al. Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 null mice are protected from postprandial triglyceridemia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 102(5):684 - 690.

[6] Han B, Eacho PI, Knierman MD, et al. Isolation and characterization of the circulating truncated form of PCSK9 [J]. *J Lipid Res*, 2014, 55(7):1505 - 1514.

[7] Konrad RJ, Troutt JS, Cao G. Effects of currently prescribed LDL - C - lowering drugs on PCSK9 and implications for the next generation of LDL - C - lowering agents [J]. *Lipids Health Dis*, 2011, 10(1):10 - 38.

[8] Leiter LA, Müller-Wieland D, Baccara-Dinet MT, et al. Efficacy and safety of alirocumab in people with prediabetes vs those with normoglycaemia at baseline: a pooled analysis of 10 phase III ODYSSEY clinical trials [J]. *Diabet Med*, 2018, 35(1):121 - 130.

[9] Burke AC, Dron JS, Hegele RA, et al. PCSK9: Regulation and Target for Drug Development for Dyslipidemia [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2016, 57(1):223 - 244.

[10] Seidah NG, Awan Z, Chretien M, et al. PCSK9: a key modulator of cardiovascular health [J]. *Circ Res*, 2014, 114:1022 - 1036.

[11] Abifadel M, Elbitar S, Khoury PE, et al. Living the PCSK9, Adventure: from the Identification of a New Gene in Familial Hypercholesterolemia Towards a Potential New Class of Anticholesterol Drugs [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2014, 16(9):1 - 23.

[12] Burke AC, Dron JS, Hegele RA, et al. PCSK9: Regulation and Target for Drug Development for Dyslipidemia. [J]. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 2016, 57(1):223 - 244.

[13] Bergeron N, Phan BA, Ding Y, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibition: a new therapeutic mechanism for reducing cardiovascular disease risk [J]. *Circulation*, 2015, 132(17):1648 - 1666.

[14] Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski I K, et al. Corrigendum: Low LDL cholesterol in African Americans resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9 [J]. *Nat Genet*, 2005, 37(2):161 - 165.

[15] Kent ST, Rosenson RS, Avery CL, et al. PCSK9 Loss - of - Function Variants, Low - Density Lipoprotein Cholesterol, and Risk of Coronary Heart Disease and Stroke: Data From 9 Studies of Blacks and Whites [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2017, 10(4):e001632.

[16] Langsted A, Nordestgaard BG, Benn M, et al. PCSK9 R46L loss - of - function mutation reduces lipoprotein (a), LDL cholesterol, and risk of aortic valve stenosis [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(9):3281 - 3287.

[17] Hooper AJ, A David M, 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.

[18] Seidah NG, Awan Z, Chrétien M, et al. PCSK9 A Key Modulator of Cardiovascular Health [J]. *Circulation*, 2014, 114(6):1022 - 1036.

[19] Mitchell T, Chao G, Sitkoff D, et al. Pharmacologic profile of the Adnectin BMS - 962476, a small protein biologic alternative to PCSK9 antibodies for low - density lipoprotein lowering [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, 350(2):412 - 424.

[20] Burke AC, Dron JS, Hegele RA, et al. PCSK9: Regulation and Target for Drug Development for Dyslipidemia [J]. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 2016, 57(1):223 - 244.

- [21] Koren MJ, Lundqvist P, Bolognese M, et al. Anti - PCSK9 monotherapy for hypercholesterolemia; the MENDEL - 2 randomized, controlled phase III clinical trial of evolocumab[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(23): 2531 - 2540.
- [22] Raal FJ, Stein EA, Dufour R, et al. PCSK9 inhibition with evolocumab (AMG 145) in heterozygous familial hypercholesterolaemia (RUTHERFORD - 2): a randomised, double - blind, placebo - controlled trial[J]. *Lancet*, 2015, 385(9965): 331 - 340.
- [23] Raal FJ, Honarpour N, Blom DJ, et al. Inhibition of PCSK9 with evolocumab in homozygous familial hypercholesterolaemia (TESLA Part B): a randomised, double - blind, placebo - controlled trial[J]. *Lancet*, 2015, 385(9965): 341 - 350.
- [24] Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(18): 1713 - 1722.
- [25] Chaparroriggers J, Liang H, Devay RM, et al. Increasing Serum Half - life and Extending Cholesterol Lowering in Vivo by Engineering Antibody with pH - sensitive Binding to PCSK9[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(14): 11090 - 11097.
- [26] Sullivan D, Olsson AG, Scott R, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on low - density lipoprotein cholesterol levels in statin - intolerant patients; the GAUSS randomized trial[J]. *JAMA*, 2012, 308(23): 2497 - 2506.
- [27] Mckenney JM, Koren MJ, Kereiakes DJ, et al. Safety and efficacy of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease, SAR236553/REGN727, in patients with primary hypercholesterolemia receiving ongoing stable atorvastatin therapy[J]. *JACC*, 2012, 59(25): 2344 - 2353.
- [28] Ridker PM, Tardif JC, Amarenco P, et al. Lipid - Reduction Variability and Antidrug - Antibody Formation with Bococizumab[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(16): 1517 - 1526.
- [29] Ballantyne CM, Neutel J, Cropp A, et al. Results of Bococizumab, A Monoclonal Antibody Against Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9, from a Randomized, Placebo - Controlled, Dose - Ranging Study in Statin - Treated Subjects With Hypercholesterolemia[J]. *Am J Cardiol*, 2015, 115(9): 1212 - 1221.
- [30] Lindholm MW, Elmén J, Fisker N, et al. PCSK9 LNA antisense oligonucleotides induce sustained reduction of LDL cholesterol in nonhuman primates[J]. *Mol Ther*, 2012, 20(2): 376 - 381.
- [31] Ason B, Tep S, Jr HRD, et al. Improved efficacy for ezetimibe and rosuvastatin by attenuating the induction of PCSK9[J]. *J Lipid Res*, 2011, 52(4): 679 - 687.
- [32] Fitzgerald K, Frankkamenetsky M, Shulgamorskaya S, et al. Effect of an RNA interference drug on the synthesis of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) and the concentration of serum LDL cholesterol in healthy volunteers: a randomised, single - blind, placebo - controlled, phase 1 trial[J]. *Lancet*, 2014, 383(9911): 60 - 68.
- [33] Ray KK, Landmesser U, Leiter LA, et al. Inclisiran in Patients at High Cardiovascular Risk with Elevated LDL Cholesterol[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(15): 1430 - 1440.
- [34] Landlinger C, Pouwer M G, Juno C, et al. The AT04A vaccine against proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces total cholesterol, vascular inflammation, and atherosclerosis in APOE \* 3Leiden. CETP mice[J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(32): 2499 - 2507.
- [35] Pan Y, Zhou Y, Wu H, et al. A Therapeutic Peptide Vaccine Against PCSK9[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 12534.
- [36] Seidah NG. Insights into a PCSK9 structural groove: a harbinger of new drugs to reduce LDL - cholesterol[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2017, 24(10): 785 - 786.
- [37] Chadwick AC, Wang X, Musunuru K. In Vivo Base Editing of PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9) as a Therapeutic Alternative to Genome Editing[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(9): 1741 - 1747.
- [38] Lipinski MJ, Benedetto U, Escarcega RO, et al. The impact of proprotein convertase subtilisin - kexin type 9 serine protease inhibitors on lipid levels and outcomes in patients with primary hypercholesterolaemia: a network meta - analysis[J]. *Eur Heart J*, 2015, 37(6): 536 - 545.
- [39] Cho L, Rocco M, Colquhoun D, et al. Design and rationale of the GAUSS - 2 study trial: a double - blind, ezetimibe - controlled phase 3 study of the efficacy and tolerability of evolocumab (AMG 145) in subjects with hypercholesterolemia who are intolerant of statin therapy[J]. *Clin Cardiol*, 2014, 37(3): 131 - 139.
- [40] Landmesser U, Chapman MJ, Stock JK, et al. 2017 Update of ESC/EAS Task Force on practical clinical guidance for proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibition in patients with atherosclerotic cardiovascular disease or in familial hypercholesterolaemia[J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(14): 1131 - 1143.
- [41] Haradashiba M, Arai H, Ishigaki Y, et al. Guidelines for Diagnosis and Treatment of Familial Hypercholesterolemia 2017[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2018, 25(8): 751 - 770.