

PCSK9在非酒精性脂肪性肝病中的作用

成璐[#], 柯柏怡[#], 王宗保^{*}, 王姝之^{*}

(南华大学药学院药物药理研究所, 湖南省分子靶标新药研究协同创新中心, 衡阳 421001)

摘要: 近年来, 非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率逐年上升。作为多种脂质代谢性疾病的重要影响因素, NAFLD预防和治疗迫在眉睫。原蛋白转化酶枯草杆菌素9(preprotein convertase subtilisin/kexin 9, PCSK9, 一种内源性蛋白酶)具有调控NAFLD发生发展的作用, 但其对肝脏脂质代谢的潜在影响和作用机制尚未完全阐明。本文就PCSK9在NAFLD领域的研究进展进行综述, 阐述PCSK9的生物学功能和在脂质代谢和炎症反应中的作用机制, 为以PCSK9为靶点防治NAFLD及预后评估提供理论依据。

关键词: 原蛋白转化酶枯草杆菌素9; 非酒精性脂肪性肝病; 脂质代谢

Roles of PCSK9 in non-alcoholic fatty liver disease

CHENG Lu[#], KE Boyi[#], WANG Zongbao^{*}, WANG Shuzhi^{*}

(Institute of Pharmacy and Pharmacology, School of Pharmaceutical Science, Hunan Collaborative Innovation Center of Molecular Target New Drug Research, University of South China, Hengyang 421001, China)

Abstract: In recent years, the incidence of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) has increased rapidly. As an important factor affecting a variety of lipid metabolic diseases, the prevention and treatment of NAFLD is urgent. Preprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) is an endogenous protease that regulates the occurrence and development of NAFLD. However, the potential effects and mechanism of PCSK9 in liver lipid metabolism have not been fully elucidated. The role of PCSK9 in NAFLD requires further investigation. In this review, we focus on the impact of PCSK9 on the development of NAFLD.

Key Words: PCSK9; nonalcoholic fatty liver disease; lipid metabolism

原蛋白转化酶枯草杆菌素9(preprotein convertase subtilisin/kexin 9, PCSK9)是原蛋白转化酶家族中的一种丝氨酸蛋白酶, 是循环低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平的关键调控因子之一^[1]。一直以来, PCSK9的研究主要集中在肥胖、高胆固醇血症、高脂血症等代谢性疾病和动脉粥样硬化性心血管疾病等方面, 认为PCSK9是一种心血管事件的预

测因子, 且与心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)和非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)相关^[2]。在代谢综合征(metabolic syndrome, MetS)日益流行的同时, 世界范围内NAFLD的发病率不断上升且出现低龄化趋势。NAFLD属于一种可逆性病变, 提倡早发现早治疗, 如能在早期给予有效干预, 将获得更佳的预后效果。因此, 着眼于PCSK9与代谢性疾病

收稿日期: 2022-09-29

基金项目: 湖南省教育厅科学研究项目(20K106); 湖南省卫生健康委科研项目(D202302048902)

[#]共同第一作者: 成璐, E-mail: 2582308622@qq.com; 柯柏怡, E-mail: 1669228003@qq.com

^{*}共同通信作者: 王宗保, E-mail: wzbscience@126.com; 王姝之, E-mail: shu-zhi.wang@usc.edu.cn

相互作用的研究日渐增多。本文重点阐述PCSK9的生物学功能及其在脂质代谢和炎症反应中的作用和机制,为以PCSK9为靶点防治NAFLD及预后评估提供理论依据。

1 非酒精性脂肪性肝病

近些年来,世界范围内NAFLD的患病人数迅速增长,NAFLD已成为最常见的慢性肝病之一,其诊疗率和治愈率较低,导致了許多与肝脏相关的肝外疾病,影响着世界上超过30%的成年人,并成为严重的公共卫生问题^[3]。有研究表明,NAFLD与许多脂质代谢性疾病(如高血压、肥胖、MetS和高脂血症)相关,以上诸多疾病都会增加CVD的患病风险,而合并严重CVD是NAFLD患者的一个常见死亡原因,故NAFLD是CVD的重要影响因素^[4,5]。

NAFLD是指除酒精和其他明确的肝损伤因素外,以脂质在肝脏中蓄积为主要特征的临床病理综合征,其中脂肪堆积超过肝脏重量的5%即诊断为NAFLD,也称为脂肪变性。随着NAFLD的发生发展,会导致一系列不同程度的肝损伤,从最初的单纯性脂肪肝,到非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、肝纤维化、肝硬化,直至最终发展成为肝细胞癌^[6,7]。

NAFLD的发病可能与遗传、环境和代谢等因素有关,具体机制尚不明确。目前对NAFLD主要是采取适量运动、合理饮食和降血糖的治疗方式,在此基础上给予降脂药物治疗^[8]。然而药物对NAFLD的治疗作用十分有限,且绝大多数的降脂药物有增加肝损伤的风险^[9]。因此,迫切需要探究治疗NAFLD的相关分子靶点和机制,为临床药物研发提供新的研究方向。

近年来,随着社会的发展和人类科研水平的进步,人们对疾病的认识逐渐深入,对各种疾病的错误命名及其负面后果提出了担忧。2020年,国际专家组对脂肪肝疾病的命名、定义和异质性谱的准确性进行了深入分析。一直以来,我们将与肥胖、糖尿病相关的肝病称为“非酒精性”的脂肪性肝病,其诊断需要排除过量饮酒和其他一些常见或罕见的导致脂肪肝的原因,但NAFLD在很大程度上与胰岛素抵抗及其相关疾病有关。

NAFLD的诊断方式具有“排他性”,事实上这已经严重阻碍了对该疾病的准确判断及科学研究^[10]。为此,专家组共同建议将NAFLD改名为代谢相关脂肪性肝病(metabolic associated fatty liver disease, MAFLD),明确了MAFLD的诊断主要基于代谢紊乱,不需要排除其他疾病,MAFLD可以与其他肝病合并存在^[11]。这一新概念可能会革新人们对脂肪肝的临床实验和疾病认识,推动这一领域向前发展。但由于NAFLD并不直接等于MAFLD,因此NAFLD的更名对临床诊疗的影响还需要进一步探讨。本文仍然采用NAFLD作为名称展开后续阐述。

2 PCSK9的结构与分布

PCSK9是2003年由Seidah等^[12]发现的一种新的分泌型丝氨酸蛋白酶,属于前蛋白转化酶家族的第9个成员,最初被称为神经细胞凋亡调节转化酶1,以酶原的形式在肝细胞内质网(endoplasmic reticulum, ER)中合成。这个长度为29 kb的基因,位于人类染色体1p32.3上^[12,13]。PCSK9基因由N-端信号肽、前结构域、催化结构域和C-端结构域构成^[14,15]。在PCSK9启动子区域分布有Sp1和SRE两位点,后者负责固醇调节元件蛋白-2核移位介导的PCSK9的转录。前结构域的元素对低密度脂蛋白受体(low-density lipoprotein receptor, LDLR)的降解活性具有一定的调节作用,因为前结构域中延伸的31~58序列的删除导致PCSK9变体的活性增加了4~7倍^[16]。而C端结构域是诱导LDLR降解必需的,因为缺少C端结构域的截断PCSK9对LDLR的活性降低,单独的C端结构域对LDLR的降解没有影响^[17]。在ER中,PCSK9先合成为PCSK9酶原(74KD),然后其在152和153残基之间进行自催化裂解,释放N端前结构域,N端前结构域与催化结构域紧密结合形成一个复合体,作为分子伴侣与成熟片段结合转运至高尔基体,随后经乙酰化后分泌进入血液中发挥作用^[18,19]。研究表明,循环中的PCSK9在人体内不同部位的分布面积和表达水平区别较大。在肝脏中保持高表达,在小肠和肾脏中表达较少,并在未成熟的中枢神经系统少量表达^[20,21]。

3 PCSK9的生物学功能

根据体内外实验研究和人类基因组研究分析得知,PCSK9是一种主要由肝脏合成的、在胆固醇代谢中起关键作用的酶^[22]。LDLR是肝细胞表面的蛋白质,PCSK9分泌到细胞外后,与肝细胞膜表面LDLR的表皮生长因子前体同源结构域A结合,参与载脂蛋白B的摄取和胆固醇代谢,同时促进LDLR通过溶酶体途径降解,血浆LDL-C清除降低^[12,23]。因此,PCSK9能降低肝细胞表面LDLR的水平,增加血浆LDL-C的水平,最终导致高胆固醇血症、NAFLD等代谢性疾病的发生。相反,抑制PCSK9会增加肝细胞LDLR的水平,从而导致循环LDL-C的摄取增加,从而降低血浆LDL-C^[24]。除了LDLR,PCSK9还可能与其他脂质代谢调控的分子靶点结合,包括脂肪酸转位酶、极低密度脂蛋白受体、载脂蛋白B48、载脂蛋白A等^[16]。因此,PCSK9是脂蛋白代谢的重要参与者,提示PCSK9可能在减少胆固醇代谢和预防CVD方面发挥重要作用,但具体机制还有待进一步阐明。

4 PCSK9基因多态性和NAFLD的关系

PCSK9基因多态性与许多疾病的发病风险相关联。目前,根据PCSK9对LDL-C调节作用的区别,可分为功能获得性突变(gain-of-function, GOF)和功能缺失性突变(loss-of-function, LOF)。大体上,LOF突变对CVD似乎具有保护作用,GOF突变却与家族性高胆固醇血症(familial hypercholesterolemia, FH)的发病密切相关。而PCSK9的GOF突变似乎与NAFLD的肝损伤有关。Grimaudo等^[25]检测了1874个伴有NASH风险的个体,观察其中具有PCSK9 rs11591147功能缺失(LOF)变异的个体肝损伤的情况,结果表明,PCSK9 rs11591147 LOF的携带者循环LDL-C水平较低,PCSK9 rs11591147 LOF变异对肝脏脂肪变性、NASH和纤维化具有保护作用。最让人难以置信的是,在纠正临床代谢危险因素以及NAFLD的主要常见遗传决定因素PNPLA和TM6SF2后,PCSK9 LOF突变仍然维持对全谱肝病的保护作用。Baragetti等^[26]通过对PLIC队列的受试者进行功能缺失PCSK9 R46L变异的基因分型及随后的检测

发现,与非携带者相比,R46L基因携带者LDL-C水平较低,体重指数较高,总脂肪量和腹部脂肪质量指数百分比增加。结果提示,基因决定的PCSK9缺乏可能与异位脂肪积累有关。综上所述,PCSK9基因多态性与NAFLD密切相关,但目前缺乏在各种个体和动物体内的数据支撑。

5 PCSK9与NAFLD

5.1 PCSK9调节脂质代谢对NAFLD的作用

NAFLD的发病机制是一个多步骤的过程,久坐不动、作息不规律、高脂饮食、肥胖和胰岛素抵抗导致肝脏中脂肪合成增加以及游离脂肪酸的转运障碍,从而造成肝脏中的脂质堆积。其中,甘油三酯(triglyceride, TG)在细胞质累积最终导致肝脂肪变性是发病的首要因素,而PCSK9水平与胰岛素抵抗、VLDL水平和TG水平相关。有关PCSK9在肝脏脂蛋白生成中的作用,在体外和体内模型中都有详细的描述^[27,28]。但目前的临床研究对于PCSK9在肝脂肪代谢中的其他作用仍在探索中。

Ruscica等^[29]通过对201例疑似NASH的患者进行活检分析,发现PCSK9 mRNA和循环PCSK9水平随着肝脏脂肪堆积而增加,与肝脂肪生成水平及肝脂肪变性严重程度有关,调节PCSK9的合成和释放可能参与NAFLD的发病机制。Emma等^[30]通过对正在接受减肥手术且伴有NAFLD的病态肥胖患者进行研究,发现PCSK9蛋白的循环水平仅与肝脂肪变性严重程度相关,并与总胆固醇水平呈正相关。该研究结果证明了PCSK9作用在肝脏脂肪堆积中,而不是在肝脏炎症或纤维化进展中,并且证实了其在血液胆固醇升高中的作用。肝脂肪变性是肝硬化、CVD和2型糖尿病的主要危险因素,PCSK9的循环水平与代谢性疾病呈正相关^[31]。然而,以上的研究主要集中在患病人群和高危人群中,而Cariou等^[32]在早期就观察到,当健康志愿者在短期内摄入高果糖饮食时,循环PCSK9浓度增加了28%~93%,PCSK9只与胰岛素抵抗、肝脏脂肪变性和VLDL-TG呈正相关;而在基础条件下却有不同。最近,Paquette等^[31]发表了一项研究,调查了一组健康个体中循环PCSK9水平与肝脏脂肪变性的关联,证实循环PCSK9水平

能促进肝脏脂肪变性,这种作用部分由于PCSK9直接介导肝脏脂肪变性,部分可能由于对肝胰岛素抵抗的调控。张晓文等^[33]以非酒精性脂肪性肝病SD大鼠为观察对象,发现干扰PCSK9基因可以通过抑制TLR4/NF- κ B P65的表达,从而改善NAFLD大鼠的肝损伤,抑制肝细胞的凋亡。Grimaudo等^[25]以过表达PCSK9的雄性C57BL/6N小鼠为观察对象,在喂养高脂饮食21周后,血浆胆固醇和TG水平显著升高。进一步检测发现,在这些动物中,血浆ALT水平、肝脏脂肪变性、巨噬细胞浸润和纤维化评分均高于对照组小鼠。

综上所述,循环PCSK9水平在维持胆固醇稳态和脂肪代谢中至关重要。PCSK9高表达在肝脏脂质堆积方面发挥着重要作用,从而促进了NAFLD的发生。现有的研究主要集中在高胆固醇血症方面,对NAFLD的研究还较少,多种体内外的数据还有待完善,缺乏多方面的辨证研究。

5.2 PCSK9调节炎症反应对NAFLD的作用

NAFLD是一种进行性疾病,在单纯性脂肪肝进展为NASH、纤维化及肝硬化的过程中,炎症反应起着重要的作用^[34]。在“第二次打击”学说中提到了活性氧增多激活了炎症级联反应和纤维的生成,从而导致NASH的形成。然而,炎症可能先于脂肪变性,因为炎症事件同样可能导致脂质堆积^[35,36]。炎症反应与脂质代谢密切相关,炎症通过破坏胆固醇稳态来加剧NAFLD的进展,因此炎症过程可能在脂肪肝的发病机制中发挥着关键作用^[37]。已有大量研究表明,PCSK9在炎症发生发展中发挥着巨大作用,如胃炎、心血管炎症、神经炎症等^[38-41]。PCSK9诱导巨噬细胞、肝细胞和各种组织中促炎细胞因子的分泌。PCSK9调节TLR4的表达和NF- κ B激活,以及细胞凋亡和自噬的发展,PCSK9与炎症交织在一起,共同促进NAFLD向肝炎的转化^[42]。TLR4是TLRs家族中识别微生物和炎性反应的主要成员,张晓文等^[33]的研究显示,PCSK9基因敲减可以通过TLR4/NF- κ B P65通路,抑制外周血中炎症因子(如IL-1 β 、IL-6和iNOS)的表达,进而缓解NAFLD大鼠的炎症反应和肝脏损伤。有关研究表明,在普通饲料喂养下,PCSK9^{-/-}小鼠肝脏中的各种代偿机制会协同抑制肝

脏脂肪变性^[28];但是在高脂饲料喂养组,PCSK9^{-/-}小鼠内质网应激、纤维化、炎症和凋亡标志物的表达以及血浆谷丙转氨酶水平显著升高,加重了肝脏的炎症反应。Dwivedi等^[43]对脓毒症小鼠进行PCSK9过表达或敲除,与预想的结果一致,PCSK9的过表达增加了脓毒症期间的肝脏和肾脏病变、血浆IL-6、ALT等的浓度,而PCSK9^{-/-}小鼠表现出炎症反应减轻。PCSK9缺乏对全身细菌传播、组织炎症等具有保护作用。肝脏组织中过载的脂质会引起脂毒性并释放损伤相关分子模式,激活Kupffer细胞促进炎症,活化的Kupffer细胞会产生炎性细胞因子和趋化因子,如IL-1 β 、IL-6等,有助于肝脏的进一步损伤^[44]。综上所述,PCSK9会促进炎症因子的释放,增强NAFLD炎症反应,而对于相关信号通路调控的研究还存在一定的空白,有待后续的深入探索。

6 PCSK9与NAFLD危险因素的关系

近年来,随着社会的发展和人民日常消费水平的提高,由饮食习惯和生活方式改变导致的肥胖、高血压、高血脂和MetS的患病率急剧增加,这一系列危险因素显著增加了NAFLD的发病率^[45,46]。肝脏脂肪变性被认为是MetS在肝脏的表现。与MetS相似,NAFLD也与CVD和2型糖尿病的风险增加有关^[31]。Levenson等^[47]研究PCSK9对肥胖的影响发现,在年轻女性中,肥胖和2型糖尿病患者的PCSK9水平显著升高。血脂异常是CVD的主要危险因素之一,其特征是血液中胆固醇、TG和/或LDL-C浓度异常,PCSK9基因参与原发性血脂异常的发展,如FH^[48]。其中,高胆固醇血症是脂质代谢异常的代表性疾病,PCSK9通过PCSK9-LDLR轴在胆固醇代谢中发挥着关键作用,能够显著升高血液中LDL-C的水平,而降低血脂水平是动脉粥样硬化及相关的心血管系统疾病的主要治疗思路^[49]。Li等^[50]的研究同样表明,调控PCSK9能够降低血脂、减轻肝脏脂质堆积及减少肥胖。总之,NAFLD可能是MetS的结果,也可能是MetS的诱因,在这两种疾病之间存在一个恶性循环^[51]。随着MetS患病率的增加,肝脂肪变性的患病率也在全球范围内急剧增加。已有相关研究证明,PCSK9与血脂代谢紊乱及肝脂肪变性之间存在很

强的关联,但仍需要进一步的研究来探索PCSK9对其他代谢性疾病的影响^[31]。

7 抑制PCSK9可改善NAFLD及其相关药物研究

已证实在NAFLD的发病过程中,PCSK9合成和释放增加,根据PCSK9的作用机理,理应认为抑制其将会改善NAFLD的发生发展^[29,52]。已有相关的学者尝试对PCSK9进行抑制,主要分为两大途径:(1)通过竞争性结合PCSK9以阻断其与LDLR通路之间的结合;(2)抑制PCSK9的表达或分泌,使其蛋白质的循环水平减少^[53]。然而,迄今为止,研究PCSK9的重心仍然是在对CVD发生发展的作用方面,临床实践中尝试靶向PCSK9以调控NAFLD的研究较少。

值得注意的是,通过对草药疗法研究的数据分析,发现一些可以用来治疗NAFLD的中草药。一种中草药提取物黄连素(berberine, BBR)是从黄连中提取的,对炎症性和代谢性疾病有一定的治疗效果,是一种与他汀类药物作用机制不同的降脂药物^[54-57]。Ma等^[58]的体内研究证实,黄连素通过ERK1/2通路上调LDLR并下调PCSK9的表达,减轻了肝脏脂质积累,改善了脂质沉积。最近,韦文香等^[59]的研究数据也证明,黄连素调节高脂饮食小鼠PCSK9的表达和分泌,具有组织特异性,在肝脏中增强LDLR介导的胆固醇细胞摄取,可以改善高脂饮食诱导的肝脏脂肪性病变和胰岛素抵抗。同样地,在对姜黄素的研究中发现,姜黄素和烟酸的合成酯衍生物姜黄素烟酸酯也可通过抑制PCSK9的表达及其降低血清LDL-C水平,增加LDL受体表达和在肝细胞中的分布^[60]。这些数据都可以表明,多种中草药提取物可通过PCSK9抑制肝细胞脂质合成和积累,对NAFLD有潜在的治疗作用。

所有能够正式进入临床试验的药物,一定已经进行了大量的前期研究和体内实验,其安全性和有效性已经得到初步验证。Scicali等^[61]尝试研究NAFLD合并FH,他们评估了26名经基因测序证实患有FH的NAFLD患者,尽管使用了高强度的他汀类药物联合依折麦布治疗,但仍伴有NAFLD。所有患者均加入PCSK9抑制剂(PCSK9 inhibitors,

PCSK9-i)治疗,并在治疗前和PCSK9-i治疗6个月后进行生化分析以及TyG和HSI评估。在尝试PCSK9-i治疗后,没有发现脂肪变性生物标志物的差异。在二次分析中,作者根据TG/HDL中值将研究人群分为两组:高TG/HDL组 and 低TG/HDL组,6个月的PCSK9-i治疗显著改善了低TG/HDL的FH患者的脂肪变性生物标志物。这些结果似乎与PCSK9-i对患有NAFLD的FH受试者脂肪变性生物标志物的有益作用一致。此外,Shafiq等^[62]对29例正在接受PCSK9-i药物治疗的成年患者进行回顾性研究,通过长期监测ALT、AST水平,发现PCSK9-i可以减缓NAFLD的进展甚至完全将其治愈。同样,Seikhon^[23]证实,一位患有急性脂肪肝炎且伴有FH的患者选择PCSK9-i代替他汀类药物治疗时,PCSK9-i效果更优,给药3个月后,ALT和AST降低了80%以上,LDL水平降低了48%,这一成功病例为进一步开发PCSK9-i用作脂肪肝炎急性期的一线用药提供了方向。在最新的研究中,Zhu等^[63]研究发现,用于治疗精神分裂症的奥氮平药物会显著上调LXR α 来增强PCSK9的表达,促进小鼠肝脏及HepG2和AML细胞的脂质积累,进而引发NAFLD的发生,而二甲双胍可以逆转这些改变,从而改善NAFLD。

以上的研究均表明,不论是中药还是西药抑制剂都直接或间接作用于PCSK9,影响脂质积累和肝脂肪变性,对NAFLD的进程产生有益的影响。但目前这些方面的研究比较浅显,需要日后进行更加深入的研究,这些研究将会对脂质代谢疾病的治疗产生重大影响。

8 小结与展望

目前对PCSK9的各项研究表明,PCSK9与NAFLD密切相关,可作为诊断的重要标志。PCSK9在抑制NAFLD及其相关代谢性疾病的发病机制及病程进展中起着重要作用,PCSK9-i的临床应用将极大改善NAFLD的进展,并为与之相关的脂质代谢疾病提供新的治疗方向。尽管目前相关的分子机制和临床实用价值还有待完善,相信随着研究的深入,PCSK9相关调控药物有望成为NAFLD新的治疗方向(图1)。

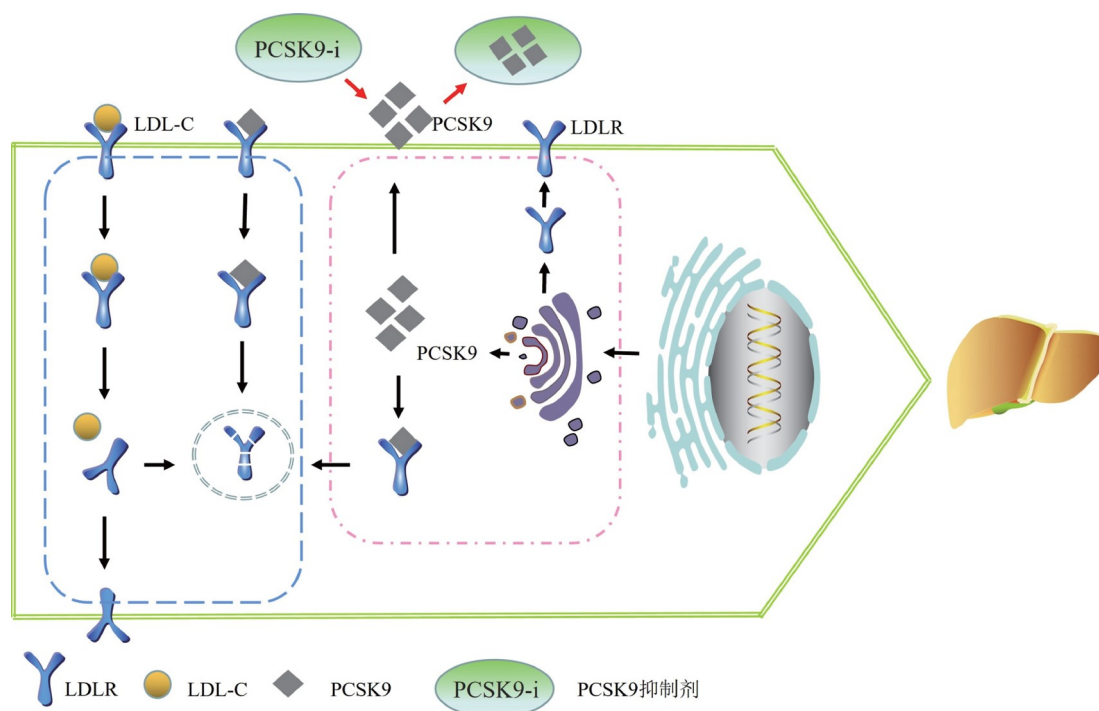


图1 PCSK9在非酒精性脂肪性肝病中的作用机制及调控示意图

参考文献

- [1] Grewal T, Buechler C. Emerging insights on the diverse roles of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) in chronic liver diseases: cholesterol metabolism and beyond. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1070
- [2] Peng J, Liu MM, Jin JL, et al. NAFLD fibrosis score is correlated with PCSK9 and improves outcome prediction of PCSK9 in patients with chest pain: a cohort study. *Lipids Health Dis*, 2022, 21(1): 3
- [3] Targher G, Byrne CD, Tilg H. NAFLD and increased risk of cardiovascular disease: clinical associations, pathophysiological mechanisms and pharmacological implications. *Gut*, 2020, 69(9): 1691-1705
- [4] Dabravolski SA, Bezsonov EE, Baig MS, et al. Mitochondrial lipid homeostasis at the crossroads of liver and heart diseases. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13): 6949
- [5] Arslan U, Yenerca M. Relationship between non-alcoholic fatty liver disease and coronary heart disease. *World J Clin Cases*, 2020, 8(20): 4688-4699
- [6] Diehl AM, Day C. Cause, Pathogenesis, and treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*, 2017, 377(21): 2063-2072
- [7] Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease. *JAMA*, 2015, 313(22): 2263-2273
- [8] 李滨, 张佳圆, 王凤永, 等. 胆宁片治疗非酒精性脂肪肝临床效果及对血脂、肝功能和肝纤维化的影响. 解放军医药杂志, 2018, 30(10): 93-96
- [9] Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, et al. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med*, 2018, 24(7): 908-922
- [10] Barchetta I, Cimini FA, Cavallo MG. Vitamin D and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD): an update. *Nutrients*, 2020, 12(11): 3302
- [11] Fouad Y, Waked I, Bollipo S, et al. What's in a name? Renaming 'NAFLD' to 'MAFLD'. *Liver Int*, 2020, 40(6): 1254-1261
- [12] Seidah NG, Benjannet S, Wickham L, et al. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(3): 928-933
- [13] Seidah NG, Prat A. Precursor convertases in the secretory pathway, cytosol and extracellular milieu. *Essays Biochem*, 2002, 38: 79-94
- [14] Benjannet S, Rhainds D, Essalmani R, et al. NARC-1/PCSK9 and its natural mutants. *J Biol Chem*, 2004, 279(47): 48865-48875
- [15] Lu X. Structure and function of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) in hyperlipidemia and atherosclerosis. *Curr Drug Targets*, 2019, 20(10): 1029-1040
- [16] Schulz R, Schlüter KD. PCSK9 targets important for lipid metabolism. *Clin Res Cardiol Suppl*, 2017, 12(S1): 2-11

- [17] Zhang DW, Garuti R, Tang WJ, et al. Structural requirements for PCSK9-mediated degradation of the low-density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(35): 13045-13050
- [18] Horton J, Cohen J, Hobbs H. Molecular biology of PCSK9: its role in LDL metabolism. *Trends Biochem Sci*, 2007, 32(2): 71-77
- [19] Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. *J Lipid Res*, 2009, 50: S172-S177
- [20] Stoeckenbroek RM, Lambert G, Cariou B, et al. Inhibiting PCSK9—biology beyond LDL control. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 15(1): 52-62
- [21] Seidah NG, Awan Z, Chrétien M, et al. PCSK9. *Circ Res*, 2014, 114(6): 1022-1036
- [22] Seidah NG, Prat A. The multifaceted biology of PCSK9. *Endocrine Rev*, 2022, 43(3): 558-582
- [23] Sekhon AK, Gollapalli A, Kaur D, et al. A new potential strategy for acute non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Am J Case Rep*, 2021, 22: e932961
- [24] Ioannou GN, Lee SP, Linsley PS, et al. Pcsk9 deletion promotes murine nonalcoholic steatohepatitis and hepatic carcinogenesis: role of cholesterol. *Hepatology*, 2022, 6(4): 780-794
- [25] Grimaudo S, Bartesaghi S, Rametta R, et al. PCSK9 rs11591147 R46L loss-of-function variant protects against liver damage in individuals with NAFLD. *Liver Int*, 2021, 41(2): 321-332
- [26] Baragetti A, Balzarotti G, Grigore L, et al. PCSK9 deficiency results in increased ectopic fat accumulation in experimental models and in humans. *Eur J Prev Cardiol*, 2017, 24(17): 1870-1877
- [27] Tavori H, Giunzioni I, Predazzi IM, et al. Human PCSK9 promotes hepatic lipogenesis and atherosclerosis development via apoE- and LDLR-mediated mechanisms. *Cardiovasc Res*, 2016, 110(2): 268-278
- [28] Lebeau PF, Byun JH, Platko K, et al. Pcsk9 knockout exacerbates diet-induced non-alcoholic steatohepatitis, fibrosis and liver injury in mice. *JHEP Rep*, 2019, 1(6): 418-429
- [29] Ruscica M, Ferri N, Macchi C, et al. Liver fat accumulation is associated with circulating PCSK9. *Ann Med*, 2016, 48(5): 384-391
- [30] Emma MR, Giannitrapani L, Cabibi D, et al. Hepatic and circulating levels of PCSK9 in morbidly obese patients: relation with severity of liver steatosis. *Biochim Biophys Acta*, 2020, 1865(12): 158792
- [31] Paquette M, Gauthier D, Chamberland A, et al. Circulating PCSK9 is associated with liver biomarkers and hepatic steatosis. *Clin Biochem*, 2020, 77: 20-25
- [32] Cariou B, Langhi C, Le Bras M, et al. Plasma PCSK9 concentrations during an oral fat load and after short term high-fat, high-fat high-protein and high-fructose diets. *Nutr Metab (Lond)*, 2013, 10(1): 4
- [33] 张晓文, 王伟, 张婵, 等. Pcsk9基因干扰对高脂诱导的大鼠非酒精性脂肪性肝病合并动脉粥样硬化的影响. *上海交通大学学报(医学版)*, 2022, 42(2): 150-157
- [34] Pedersen JS, Rygg MO, Kristiansen VB, et al. Nonalcoholic fatty liver disease impairs the liver-alpha cell axis independent of hepatic inflammation and fibrosis. *Hepatology*, 2020, 4(11): 1610-1623
- [35] Nunes VS, Andrade AR, Guedes ALV, et al. Distinct phenotype of non-alcoholic fatty liver disease in patients with low levels of free copper and of ceruloplasmin. *Arq Gastroenterol*, 2020, 57(3): 249-253
- [36] Glass CK, Olefsky JM. Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. *Cell Metab*, 2012, 15(5): 635-645
- [37] Liu J, Ma KL, Zhang Y, et al. Activation of mTORC1 disrupted LDL receptor pathway: a potential new mechanism for the progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 61: 8-19
- [38] Yang CL, Zeng YD, Hu ZX, et al. PCSK9 promotes the secretion of pro-inflammatory cytokines by macrophages to aggravate H/R-induced cardiomyocyte injury via activating NF- B signalling. *Gen Physiol Biophys*, 2020, 39(2): 123-134
- [39] 徐沛沛, 赵树华, 王江波, 等. 过表达miR-202-5p通过抑制PCSK9减轻阿尔茨海默病神经损伤. *中国比较医学杂志*, 2022, 32(10): 49-58
- [40] 邹燕婷, 宁柳心, 马丽黎, 等. 前蛋白转化酶枯草溶菌素9作为评价食管病变内镜下黏膜下剥离术后患者感染状况的新标志物. *中国临床医学*, 2022, 29(3): 431-436
- [41] Yurtseven E, Ural D, Baysal K, et al. An update on the role of PCSK9 in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*, 2020, 27(9): 909-918
- [42] Ding Z, Pothineni NVK, Goel A, et al. PCSK9 and inflammation: role of shear stress, pro-inflammatory cytokines, and LOX-1. *Cardiovasc Res*, 2020, 116(5): 908-915
- [43] Dwivedi DJ, Grin PM, Khan M, et al. Differential expression of PCSK9 modulates infection, inflammation, and coagulation in a murine model of sepsis. *Shock*, 2016, 46(6): 672-680
- [44] Wenfeng Z, Yakun W, Di M, et al. Kupffer cells: increasingly significant role in nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatology*, 2014, 13(5): 489-495
- [45] Hashimoto E, Tokushige K, Ludwig J. Diagnosis and classification of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis: current concepts and remaining

- challenges. *Hepato Res*, 2015, 45(1): 20-28
- [46] Huang DQ, El-Serag HB, Loomba R. Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(4): 223-238
- [47] Levenson AE, Shah AS, Khoury PR, et al. Obesity and type 2 diabetes are associated with elevated PCSK9 levels in young women. *Pediatr Diabetes*, 2017, 18(8): 755-760
- [48] Matías-Pérez D, Pérez-Santiago AD, Sánchez Medina MA, et al. PCSK9 gene participates in the development of primary dyslipidemias. *Balkan J Med Genet*, 2021, 24(1): 5-14
- [49] Pasta A, Cremonini AL, Pisciotto L, et al. PCSK9 inhibitors for treating hypercholesterolemia. *Expert Opin Pharmacother*, 2020, 21(3): 353-363
- [50] Li X, Hu X, Pan T, et al. Kanglexin, a new anthraquinone compound, attenuates lipid accumulation by activating the AMPK/SREBP-2/PCSK9/LDLR signalling pathway. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 110802
- [51] 中国成人血脂异常防治指南. 中华心血管病杂志, 2007, 35(5): 390-419
- [52] Theocharidou E, Papademetriou M, Reklou A, et al. The role of PCSK9 in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease and the effect of PCSK9 inhibitors. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(31): 3654-3657
- [53] Nishikido T, Ray KK. Non-antibody approaches to proprotein convertase subtilisin kexin 9 inhibition: siRNA, antisense oligonucleotides, adnectins, vaccination, and new attempts at small-molecule inhibitors based on new discoveries. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5: 199
- [54] Yuan X, Wang J, Tang X, et al. Berberine ameliorates nonalcoholic fatty liver disease by a global modulation of hepatic mRNA and lncRNA expression profiles. *J Transl Med*, 2015, 13(1): 24
- [55] Zhou L, Wang X, Yang Y, et al. Berberine attenuates cAMP-induced lipolysis via reducing the inhibition of phosphodiesterase in 3T3-L1 adipocytes. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1812(4): 527-535
- [56] Zhang H, Wei J, Xue R, et al. Berberine lowers blood glucose in type 2 diabetes mellitus patients through increasing insulin receptor expression. *Metabolism*, 2010, 59(2): 285-292
- [57] Kong W, Wei J, Abidi P, et al. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nat Med*, 2004, 10(12): 1344-1351
- [58] Ma CY, Shi XY, Wu YR, et al. Berberine attenuates atherosclerotic lesions and hepatic steatosis in ApoE^{-/-} mice by down-regulating PCSK9 via ERK1/2 pathway. *Ann Transl Med*, 2021, 9(20): 1517
- [59] 韦文香, 熊伟, 游婧璐, 等. 黄连素通过对高脂小鼠肝脏、胰腺中PCSK9和LDLR的不同调控改善高脂血症和高胰岛素血症. 中国现代应用药学, 2022, 39(14): 1803-1807
- [60] Zhang C, Xiang D, Zhao Q, et al. Curcumin nicotinate decreases serum LDL cholesterol through LDL receptor-mediated mechanism. *Eur J Pharmacol*, 2022, 931: 175195
- [61] Scicali R, Di Pino A, Urbano F, et al. Analysis of steatosis biomarkers and inflammatory profile after adding on PCSK9 inhibitor treatment in familial hypercholesterolemia subjects with nonalcoholic fatty liver disease: a single lipid center real-world experience. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2021, 31(3): 869-879
- [62] Shafiq M, Walmann T, Nutalapati V, et al. Effects of proprotein convertase subtilisin/kexin type-9 inhibitors on fatty liver. *World J Hepatol*, 2020, 12(12): 1258-1266
- [63] Zhu W, Ding C, Huang P, et al. Metformin Ameliorates Hepatic Steatosis induced by olanzapine through inhibiting LXR α /PCSK9 pathway. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 5639