

# PCSK9: เป้าหมายใหม่ต่อการลดระดับไขมันในเลือด

นุชจรี จินด้าง

## PCSK9: A New Target for Lipid-Lowering Therapy.

Nutjaree Jeenduang

School of Allied Health Science and Public Health, Walailak University,

Tha Sala, Nakhon Si Thammarat, 80160, Thailand.

E-mail: nutjaree.je@wu.ac.th

Songkla Med J 2014;32(2):89-105

### บทคัดย่อ:

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) เป็นโปรตีนที่สำคัญในเมแทบอลิซึมของ low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) โดยทำหน้าที่จับกับ low density lipoprotein receptor (LDLR) ที่ผิวเซลล์และนำ LDLR ไปทำลายในไลโซโซม ทำให้การกำจัด LDL-C เข้าสู่เซลล์น้อยลง จึงมีระดับ LDL-C สูงขึ้นในกระแสเลือด การกลายพันธุ์ของยีน PCSK9 แบบ gain-of-function (GOF) และ loss-of-function (LOF) ทำให้มีระดับไขมันในเลือดสูงและต่ำตามลำดับ และการมีระดับ PCSK9 สูง ยังสามารถบ่งบอกถึงความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจได้ ซึ่งสภาวะนี้สามารถพบได้ในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยา statin, fibrates และ ezetimibe ขณะที่การกลายพันธุ์ของยีน PCSK9 แบบ LOF ส่งผลให้การทำงานของ PCSK9 ลดลงและช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจ ดังนั้นการยับยั้งการทำงานหรือลดปริมาณของ PCSK9 จึงเป็นแนวทางในการพัฒนายาลดระดับไขมันในเลือดในอนาคต ปัจจุบันมีการพัฒนาสารยับยั้ง PCSK9 หรือ PCSK9 inhibitors ออกมาหลายชนิด ได้แก่ gene silencing, mimic peptides และ monoclonal antibodies โดยนำไปทดลองในเซลล์เพาะเลี้ยง สัตว์ทดลอง ผู้มีสุขภาพดี และในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงชนิดปฐมภูมิ ซึ่งรายละเอียดและผลของการทดลองได้กล่าวสรุปไว้ในบทความนี้

คำสำคัญ: ไขมันในเลือดสูง, สารยับยั้ง PCSK9, ยาลดระดับไขมัน

**Abstract:**

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) is a crucial protein in low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) metabolism. It binds the low density lipoprotein receptor (LDLR) and returns the LDLR to degradation in the lysosome and thereby raises the plasma levels of LDL-C. Gain-of-function (GOF) and loss-of-function (LOF) of PCSK9 mutations result in hypercholesterolemia and hypocholesterolemia, respectively. Several studies have reported the classical lipid-lowering drugs (e.g. statin, ezetimibe, fibrates) caused the increasing of PCSK9 in serum and thus failed to protect patients from cardiovascular events. Consequently, the inhibition of PCSK9 has emerged as a novel target for lipid lowering therapy. In this review, the current PCSK9 inhibitors including gene silencing, mimic peptides, and monoclonal antibodies which are developing and evaluating in the clinical trials are summarized.

**Keywords:** hypercholesterolemia, lipid-lowering drug, PCSK9 inhibitors

**บทนำ**

โรคหัวใจยังคงเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับหนึ่งของประชากรโลก โดยคาดการณ์ว่าจะมีประชากรโลกที่เสียชีวิตด้วยโรคหัวใจเพิ่มขึ้นเป็น 23.6 ล้านคน ในปี พ.ศ. 2573<sup>1</sup> ในประเทศไทยโรคหัวใจเป็นสาเหตุการเสียชีวิตติดอันดับหนึ่งในสามของประชากร<sup>2</sup> โดยมีอัตราการเสียชีวิต 64.1:100,000 คน และ 46.6:100,000 คน ในเพศชายและเพศหญิง ตามลำดับ<sup>2</sup> ซึ่งสาเหตุของโรคหัวใจเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น ภาวะไขมันในเลือดสูง ความดันโลหิตสูง ภาวะดื้อต่ออินซูลิน โรคอ้วน เป็นต้น<sup>3</sup> โดยเฉพาะภาวะไขมันในเลือดสูงซึ่งพบได้บ่อย ภาวะไขมันในเลือดสูงเกิดได้จากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมและปัจจัยทางพันธุกรรม<sup>4</sup> ซึ่งนอกเหนือจากการปรับพฤติกรรม การรับประทานอาหารและวิถีการดำเนินชีวิตแล้ว การรับประทานยาลดระดับไขมันในเลือดก็เป็นแนวทางสำหรับการรักษาและป้องกันการเกิดโรคหัวใจ ยาลดระดับไขมันในเลือดที่ใช้ในปัจจุบันมีหลายชนิด ซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์และมีประสิทธิภาพในการลดระดับไขมันในเลือดแตกต่างกัน นอกจากนี้ผู้ป่วยแต่ละรายยังมีการตอบสนองต่อยาได้แตกต่างกันหรืออาจมีผลข้างเคียงจากการใช้ยา ในปัจจุบันจึงมีการพัฒนา

ยาลดระดับไขมันในเลือดชนิดใหม่ๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาให้มากยิ่งขึ้น หนึ่งในยาที่กำลังพัฒนาคือ สารยับยั้ง proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) หรือ PCSK9 inhibitors ซึ่งบทความนี้ได้อธิบายกลไกการออกฤทธิ์ของสารดังกล่าวและทิศทางการพัฒนา

ยาลดระดับไขมันในเลือดที่ใช้แพร่หลายในปัจจุบัน ได้แก่ statins, fenofibrates, ezetimibe, bile acid sequestrant และ niacin มีกลไกการออกฤทธิ์ต่อการลดระดับไขมันในเลือดแตกต่างกัน (ตารางที่ 1) statins เป็นยาที่สามารถลดระดับไขมันในเลือดได้มากที่สุด อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยพบว่าการเพิ่มขนาดของยา statins ในการรักษาผู้ป่วยไขมันในเลือดสูง ช่วยลดระดับไขมันในเลือดได้แต่ไม่เป็นสัดส่วนกับขนาดยาที่เพิ่มขึ้น จึงไม่ได้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการลดระดับไขมัน นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยบางรายไม่ตอบสนองต่อยา และมีผลข้างเคียงจากการใช้ยา<sup>5,6</sup> ดังนั้นนักวิจัยจึงริเริ่มพัฒนาสารยับยั้ง PCSK9 หรือ PCSK9 inhibitors เพื่อนำไปสู่การใช้เป็นยาลดระดับไขมันในเลือดชนิดใหม่ และหวังที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาให้ดียิ่งขึ้น

ตารางที่ 1 ยาลดระดับไขมันในเลือดที่ใช้ในปัจจุบัน

ยา	กลไกการออกฤทธิ์	ผลของยา	ขั้นตอนการพัฒนา	อ้างอิง
Statins	ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase	ลดระดับ LDL-C ร้อยละ 20-55 ในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูง	FDA-Approved	25-28
Ezetimibe (Zetia)	ยับยั้งการดูดซึมของโคเลสเตอรอลโดยการจับกับ Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) transporter ที่เซลล์ enterocytes	-ezetimibe ลดระดับ LDL-C ร้อยละ 18 ในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูง -ezetimibe ร่วมกับ statins ลดระดับ LDL-C ร้อยละ 25 และร้อยละ 21 ในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงชนิดปมภูมิและผู้ป่วย homozygous familial hypercholesterolemia ตามลำดับ	FDA-Approved	34-38
Bile acid sequestrants (resins); cholestyramine, colestipol	จับกับ bileacids ภายใน gastrointestinal tract	ลดระดับ LDL-C ร้อยละ 15-30 ในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูง	FDA-Approved	42
A novel bile acid sequestrants (resins); colesevelam hydrochloride	จับกับ bileacids ภายใน gastrointestinal tract	ลดระดับ LDL-C โดยเฉลี่ย ร้อยละ 18 ในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูง	FDA-Approved	43
Nicotinic acid (niacin)	ลดระดับสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ triglyceride และ VLDL ที่ตับทำให้ลดระดับ LDL	ลดระดับ LDL-C ร้อยละ 5-25 ในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูง	FDA-Approved	44-45
Fenofibrate, bezafibrate, ciprofibrate	กระตุ้นการทำงานของ peroxisome proliferator-activated receptor $\alpha$ (PPAR $\alpha$ ) ซึ่งเป็น transcription factor ต่อยีนหลายชนิดในกลุ่มของเมแทบอลิซึมของไขมันและกราดไขมัน	ลดระดับ LDL-C ร้อยละ 18-30 ในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูง	FDA-Approved	46-51

HMG-CoA=3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, FDA-Approved=food and drug administration approved, VLDL=very low density lipoprotein, LDL=low density lipoprotein, LDL-C=low density lipoprotein cholesterol

PCSK9 เป็นยีนที่มีการค้นพบในปี พ.ศ. 2546 ซึ่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 1p34.1-p32<sup>7</sup> การกลายพันธุ์ของยีน PCSK9 แบบ gain-of-function (GOF) ทำให้เกิดโรคทางพันธุกรรมที่เรียกว่า autosomal dominant hypercholesterolemia (ADH) (online mendelian inheritance in man; OMIM 603776) PCSK9 เป็นยีนชนิดที่สามที่ทำให้เกิดโรค ADH รองจากการกลายพันธุ์ของยีน low density lipoprotein receptor (LDLR) และ apolipoprotein B (APOB)<sup>8,9</sup> ผู้ป่วย ADH จะมีระดับโคเลสเตอรอลรวมและ LDL-C สูงมาก ทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งก่อนวัยอันควร ในขณะที่การกลายพันธุ์ของยีน PCSK9 แบบ loss-of-function (LOF) ทำให้ผู้ป่วยมีระดับไขมันในเลือดต่ำและลดความเสี่ยงและปัจจัยเสี่ยงการเกิดโรคหัวใจ<sup>10-13</sup>

### โครงสร้างและหน้าที่ของ PCSK9

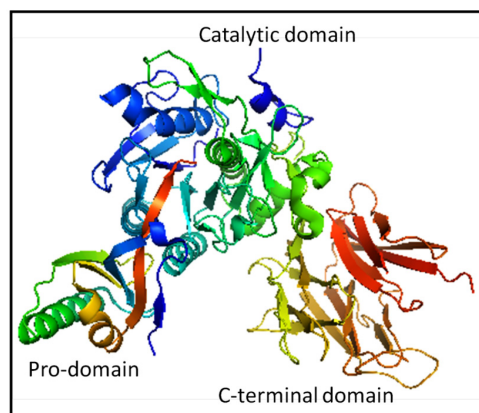
PCSK9 เป็น glycoprotein ที่อยู่ในกลุ่ม subtilisin family ของ serine proteases โครงสร้าง PCSK9 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 692 ตัว และมี 4 ส่วน ดังนี้

1. A signal sequence (กรดอะมิโนลำดับที่ 1-30 ทางด้านปลาย N-terminal)
2. Pro-domain (กรดอะมิโนลำดับที่ 31-152)

3. A catalytic domain (กรดอะมิโนลำดับที่ 153-454) และ

4. A long C-terminal domain (กรดอะมิโนลำดับที่ 455-692) (รูปที่ 1)<sup>14</sup>

PCSK9 เมื่อถูกสังเคราะห์จะอยู่ในรูป proPCSK9 มีน้ำหนักโมเลกุล 74-kDa PCSK9 จะถูกหลั่งออกนอกเซลล์ และทำงานได้เมื่อผ่านกระบวนการตัดสายเปปไทด์ในโครงสร้าง (autocatalytic cleavage) ซึ่งเกิดที่ตำแหน่ง Q152 และ S153 (VFAQ↓SIP site) โดยอาศัยการทำงานร่วมกับ catalytic residues (D186, H226, S386) และ oxyanion ของ N317 ที่อยู่ในส่วน catalytic domain ทำให้มีการแยกออกของส่วน pro-domain (14 kDa) และโครงสร้างที่เหลือ (60 kDa) pro-domain ที่ถูกตัดจะอยู่ติดกับโครงสร้างที่เหลือของ PCSK9 ด้วยพันธะ non-covalent และบดบังบริเวณ catalytic residues ไว้เพื่อยับยั้งคุณสมบัติของเอนไซม์ PCSK9 เมื่อออกนอกเซลล์จะจับกับ epidermal growth factor-like repeat A (EGF-A) domain ของ LDLR ที่อยู่บนผิวเซลล์ เกิดเป็น PCSK9: LDLR complex ซึ่งถูกนำเข้าไปภายในเซลล์ทางกระบวนการ endocytosis หลังจากนั้น LDLR จะถูกส่งไปทำลายในไลโซโซม ดังนั้น PCSK9 จึงมีบทบาทในการทำลาย LDLR และรบกวนกระบวนการ



รูปที่ 1 โครงสร้างสามมิติของ PCSK9 (PDB: 2P4E) แสดงส่วน pro-domain, catalytic domain และ C-terminal domain<sup>14</sup>

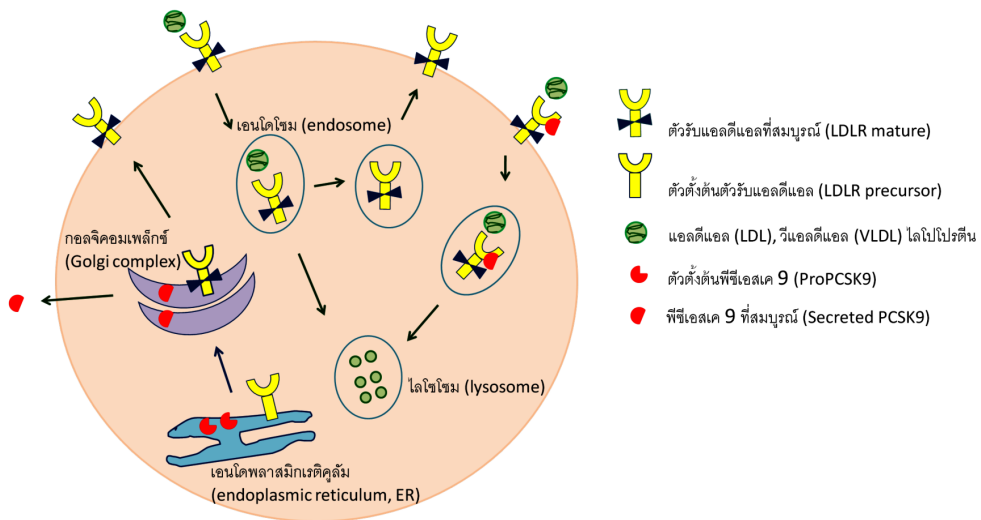
ส่ง LDLR กลับไปใช้ใหม่ที่ผิวเซลล์ ทำให้ระดับ LDLR ที่ผิวเซลล์ลดลง การกำจัด LDL และ VLDL จากกระแสเลือดเข้าสู่เซลล์ลดลงส่งผลให้มี LDL และ VLDL สูงในกระแสเลือด (รูปที่ 2)<sup>15-24</sup>

ระดับ PCSK9 สูงขึ้น ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาด้วยยาเหล่านี้ให้ผลไม่ดีเท่าที่ควร

1. Statins

Statins แม้จะเป็นยาตัวเลือกแรกที่ใช้รักษาภาวะไขมันในเลือดสูง อย่างไรก็ตาม statins ก็ไม่ได้เหมาะสมกับผู้ป่วยทุกราย มีผู้ป่วยบางรายที่ไม่ตอบสนองต่อยา หรือมีผลข้างเคียงจากการใช้ยา statins ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งทำหน้าที่

ยาลดระดับไขมันในเลือดและผลต่อ PCSK9 ยาลดระดับไขมันในเลือดหลายชนิดที่ใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ statin, fibrates และ ezetamibe พบว่าทำให้



รูปที่ 2 การทำงานของ LDLR และ PCSK9

ตัวตั้งต้นตัวรับแอลดีแอล (LDLR precursor) มีน้ำหนักโมเลกุล 120 kDa เมื่อผ่านกระบวนการ glycosylation ที่กอลจิคอมเพล็กซ์ (Golgi complex) จะกลายเป็นตัวรับแอลดีแอลที่สมบูรณ์ (LDLR mature) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 160 kDa LDLR mature จะถูกส่งไปที่ผิวเซลล์และทำหน้าที่จับกับไลโปโปรตีน ได้แก่ LDL และ VLDL และนำไลโปโปรตีนเข้าสู่เซลล์ซึ่งถูกนำเข้าสู่เอนโดโซม (endosome) ที่มีสภาวะเป็นกรด ทำให้ LDLR mature ถูกแยกจะส่งกลับไปผิวเซลล์อีกครั้งเพื่อใช้ใหม่ (LDLR recycling) ส่วน LDL และ VLDL จะถูกส่งไปย่อยสลายในไลโซโซม (lysosome) ทำให้ LDL และ VLDL ในกระแสเลือดลดลง สำหรับ PCSK9 เมื่อผ่านกระบวนการตัดสายเปปไทด์ในโครงสร้าง (autocatalytic cleavage) ภายในเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (endoplasmic reticulum; ER) PCSK9 จะถูกส่งไปยัง Golgi complex และหลั่งออกนอกเซลล์ เกิดเป็นพีซีเอสเค 9 ที่สมบูรณ์ (Secreted PCSK9) ที่ผิวเซลล์ Secreted PCSK9 จะจับกับ LDLR mature และนำ LDLR mature เข้าสู่เซลล์ภายใน endosome Secreted PCSK9 จะจับกับ LDLR mature ได้แน่นและนำ LDLR mature ไปทำลายใน lysosome PCSK9 จึงทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งกระบวนการนำ LDLR mature กลับไปใช้ใหม่<sup>24</sup>

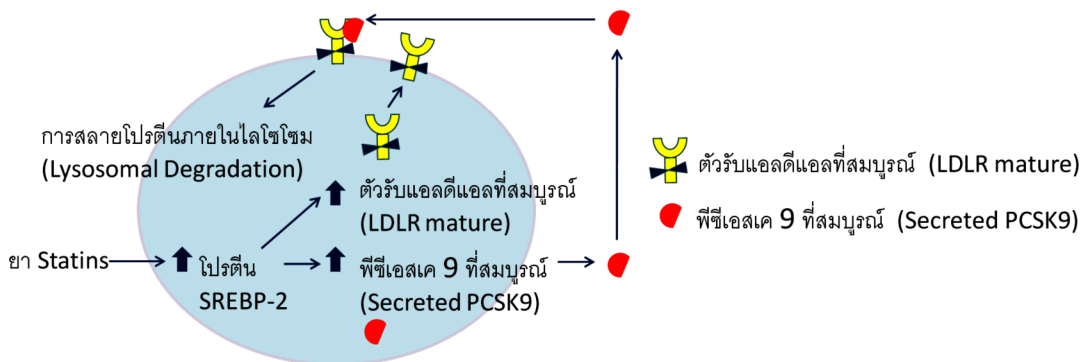
สังเคราะห์โคเลสเตอรอลในเซลล์ตับ<sup>25</sup> เมื่อเซลล์มีระดับโคเลสเตอรอลลดลง จะเกิดการกระตุ้น transcription factors คือ steroid response element binding protein-2 (SREBP-2)<sup>26,27</sup> และ HNF1alpha<sup>28</sup> ทำให้มีการแสดงออกของยีน LDLR ส่งผลให้มี LDLR มากขึ้นที่ผิวเซลล์ เพิ่มการจับ LDL-C เข้าสู่เซลล์ และลดระดับ LDL-C ในกระแสเลือด<sup>25,28</sup> อย่างไรก็ตาม SREBP-2 ยังสามารถควบคุมการแสดงออกของยีนชนิดอื่นๆ ในเมแทบอลิซึมของโคเลสเตอรอล เช่น ยีน PCSK9 ดังนั้นจึงทำให้ผู้ป่วยที่รับประทานยา statins มีระดับ PCSK9 สูงขึ้นเช่นกัน (รูปที่ 3)<sup>27</sup> ดังแสดงในการศึกษาต่อไปนี้

การศึกษาของ Dubuc และคณะ<sup>29</sup> พบว่าเมื่อใช้ยา statins ทดลองในเซลล์เพาะเลี้ยง HepG2 และ primary hepatocytes ทำให้ระดับ PCSK9 mRNA เพิ่มขึ้น และการศึกษาของ Rashid และคณะ<sup>30</sup> พบว่าการให้ยา statins ในหนูทดลองชนิด PCSK9 knockout mice ทำให้หนูตอบสนองต่อการรักษาได้ดีโดยมีระดับ LDLR ที่เพิ่มขึ้นและกำจัด LDL-C ได้ดี ต่อมาการศึกษาของ Careskey และคณะ<sup>31</sup> เริ่มวัดระดับ PCSK9 ในเลือดผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยา atorvastatin วันละ 10 มก. พบว่าระดับ LDL-C ลดลงร้อยละ 30 โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการแสดงออกของ PCSK9 แต่หากผู้ป่วย

รับประทาน atorvastatin วันละ 40 มก. จะทำให้ลดระดับ LDL-C ร้อยละ 42 ร่วมกับการมีระดับ PCSK9 สูงขึ้นในพลาสมาร้อยละ 34 ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Costet และคณะ<sup>32</sup> ที่พบว่าการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วยยา atorvastatin วันละ 10 มก. ทำให้ระดับ PCSK9 สูงขึ้นร้อยละ 24 ในวันที่ 1 และสูงขึ้นร้อยละ 14 หลังจากรักษา 6 สัปดาห์ ขณะที่การศึกษาของ Welder และคณะ<sup>33</sup> ยืนยันว่าการรักษาด้วยยา atorvastatin วันละ 80 มก. ทำให้ระดับ PCSK9 สูงขึ้นร้อยละ 47 หลังการรักษา 4 สัปดาห์ ดังนั้นจึงบ่งบอกได้ว่าการใช้ยา statins ในปริมาณเพิ่มขึ้น จะทำให้ระดับ PCSK9 เพิ่มขึ้นด้วยในลักษณะแปรผันตรง

## 2. Ezetimibe

Ezetimibe มีกลไกยับยั้งการจับกันระหว่างไขมันกับโปรตีนตัวพาที่เรียกว่า Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) ทำให้การดูดซึมโคเลสเตอรอลลดลง<sup>34,35</sup> ezetimibe ลดระดับ LDL-C ได้ประมาณร้อยละ 15-20 ซึ่งน้อยกว่าผลจากการใช้ statins ที่ลดระดับ LDL-C ได้ร้อยละ 20-55 (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพการลดระดับไขมันจะดีขึ้นเมื่อใช้ยา ezetimibe ร่วมกับ statins<sup>36-38</sup>



รูปที่ 3 ผลของยา statins ต่อการแสดงออกของ LDLR และ PCSK9 ในเซลล์ตับ<sup>28,29</sup>

การศึกษาของ Gouni-Berthold และคณะ<sup>39</sup> พบว่าการใช้ยา simvastatin และ ezetimibe ทดลอง ในเม็ดเลือดขาวชนิด mononuclear cells สามารถเพิ่ม ระดับการแสดงออกของยีน PCSK9 ขณะที่ ezetimibe เพียงชนิดเดียวไม่มีผลต่อระดับ PCSK9 ที่ชัดเจน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Davignon และคณะ<sup>40</sup> รายงานว่าผู้ป่วยที่รักษาด้วย statins ชนิดเดียวทำให้ ระดับ PCSK9 สูงขึ้นร้อยละ 45 ขณะที่ผู้ป่วยที่รักษา ด้วยยา statins ร่วมกับ ezetimibe ทำให้ระดับ PCSK9 สูงขึ้นร้อยละ 77 และการศึกษาของ Berthold และ คณะ<sup>41</sup> พบว่าผู้ป่วยที่รักษาด้วย simvastatin วันละ 40 มก. หรือ simvastatin วันละ 40 มก. ร่วมกับ ezetimibe วันละ 10 มก. ทำให้ระดับ PCSK9 เพิ่มขึ้น ร้อยละ 68 และร้อยละ 67 ตามลำดับ ขณะที่ผู้ป่วย ที่รักษาด้วย ezetimibe วันละ 10 มก. ทำให้ระดับ PCSK9 เพิ่มขึ้นเพียงร้อยละ 10 จึงบ่งบอกได้ว่า การใช้ยา statins ชนิดเดียว หรือ statins ร่วมกับ ezetimibe จะทำให้ระดับ PCSK9 เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน มากกว่าการรักษาด้วยยา ezetimibe เพียงชนิดเดียว

### 3. Fibrates

Fibrates มีกลไกกระตุ้นการทำงานของ peroxi-some proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) ซึ่งเป็น transcription factor ต่อยีนหลายชนิดที่เกี่ยวข้อง เมแทบอลิซึมของไขมันและกรดไขมัน และทำให้ระดับ ไขมันในเลือดลดลง<sup>46-48</sup> โดย fibrates มีผลต่อการเพิ่ม กระบวนการ  $\beta$ -oxidation ของกรดไขมันทำให้ลดการ สังเคราะห์ VLDL และเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ lipo-protein lipase ทำให้เพิ่มการสลายไลโปโปรตีน และเพิ่ม กระบวนการ cholesterol efflux ทำให้ระดับ HDL-C เพิ่มขึ้น ผลของยา fibrates สามารถลดระดับ triglycerides ร้อยละ 30-50 LDL-C ร้อยละ 18-30 และเพิ่มระดับ HDL-C ร้อยละ 5-15 ซึ่งระดับ LDL-C ที่ลดลงจะ แตกต่างกันขึ้นอยู่กับกลุ่มประชากรและชนิดของภาวะ ไขมันในเลือดสูง<sup>49-51</sup> นอกจากนี้ fibrates ยังมีฤทธิ์ หลากหลายทางชีวภาพอื่น ๆ (pleiotropic effects) ที่ช่วย ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ เช่น ลดระดับ fibrinogen, uric

acid และ C-reactive protein และเพิ่มความยืดหยุ่นของ หลอดเลือด<sup>49-51</sup> จากงานวิจัยพบว่า fibrates ส่งผลต่อ ระดับ PCSK9 ดังต่อไปนี้

การศึกษาของ Troutt และคณะ<sup>52</sup> พบว่าเมื่อให้ ผู้ป่วยรับประทาน fibrates วันละ 200 มก. จะทำให้ ระดับ PCSK9 สูงขึ้นร้อยละ 25 ในเวลา 12 สัปดาห์ ขณะที่กลุ่ม placebo ไม่พบความเปลี่ยนแปลงของระดับ PCSK9 นอกจากนี้การศึกษาของ Costet และคณะ<sup>32</sup> พบว่าการให้ผู้ป่วยรับประทาน fibrates วันละ 160 มก. ร่วมกับ atorvastatin วันละ 10 มก. เป็นเวลา 3 สัปดาห์ สามารถลดระดับ LDL-C และ triglyceride ร้อยละ 30 และร้อยละ 31 ตามลำดับ และเพิ่มระดับ HDL-C และ PCSK9 ร้อยละ 13 และร้อยละ 42 ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามมีหลายการศึกษาที่พบว่า fibrates ทำให้ระดับ PCSK9 ลดลง ได้แก่ การศึกษาของ Kourimate และคณะ<sup>53</sup> พบว่าการรักษาด้วย fibrates ชนิดต่างๆ เช่น Wy14643, fenofibrate, clofibrate, gemfibrozil สามารถยับยั้งการแสดงออกของ PCSK9 ในเซลล์ตับมนุษย์ โดยเฉพาะ Wy14643 และ gemfi-brozil และการศึกษาของ Lambert และคณะ<sup>54</sup> จาก the FIELD (Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes) study พบว่าการรักษาผู้ป่วย โรคเบาหวานจำนวน 115 ราย ด้วย fenofibrate วันละ 200 มก. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ สามารถลดระดับ PCSK9 ในพลาสมาร้อยละ 8.5 และลดระดับ triglycerides ได้

อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Mayne และคณะ<sup>55</sup> กลับพบว่าการใช้ fenofibrate และ gemfibrozil รักษา ในผู้ป่วยจำนวน 19 ราย ทำให้ระดับ PCSK9 มีทั้งเพิ่มขึ้น และลดลง แต่โดยรวมแล้วเพิ่มขึ้นร้อยละ 17 อย่างไรก็ตาม เมื่อทดลองใช้ fenofibrate ในเซลล์เพาะเลี้ยง HepG2 กลับไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับ PCSK9 และ LDL-C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลที่แตกต่างกันนี้ อาจเกิดจากกลุ่มตัวอย่างที่น้อยเกินไป ดังนั้นกลไก การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของระดับ PCSK9 โดย fibrates จึงยังไม่ชัดเจน แต่ก็สมมติฐานว่าการมีระดับ PCSK9 ที่เพิ่มขึ้นโดย fibrates นั้นอาจมีกลไกที่คล้ายคลึงกับ

กลไกของยา statins หรืออาจเกิดจากฤทธิ์หลากหลายทางชีวภาพ (pleiotropic effects) ของตัวยาเองโดยไม่ขึ้นกับระดับ SREBP-2

### กลไกการยับยั้ง PCSK9

จากงานวิจัยที่พบว่าการกลายพันธุ์ของยีน PCSK9 ชนิด homozygous แบบ loss-of-function ส่งผลให้ผู้ป่วยมีระดับ LDL-C ต่ำมาก (<15 มก./ดล.)<sup>12,13</sup> ทำให้เกิดเป็นแนวคิดในการยับยั้ง PCSK9 เพื่อเป็นเป้าหมายต่อการลดระดับไขมันในเลือด กลไกการยับยั้ง PCSK9 อาจแบ่งเป็น 4 รูปแบบ<sup>56</sup> ดังนี้

1. การลดระดับ PCSK9 mRNA โดยใช้ siRNA หรือ antisense oligonucleotides (ASO) ผ่านทางกระบวนการ gene silencing
  2. การยับยั้งการจับกันระหว่าง LDLR และ PCSK9 ที่ผิวพลาสมาเมมเบรนโดยใช้ mimetic peptide หรือ monoclonal antibody (mAb) ต่อ PCSK9
  3. การยับยั้งกระบวนการ PCSK9 processing
  4. การยับยั้งการจับกันระหว่าง LDLR และ PCSK9 ภายในเอนโดโซมภายในเซลล์
- ซึ่งปัจจุบันมีการพัฒนาสารยับยั้ง PCSK9 หรือ PCSK9 inhibitors ออกมาหลายรูปแบบโดยบริษัทยาและนักวิจัยจากหลายสถาบัน (ตารางที่ 2) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

#### 1. Gene silencing

##### 1.1 Antisense oligonucleotides (ASO)

ASO คือ สายนิวคลีโอไทด์ความยาวประมาณ 10-30 เบส ซึ่งมีลำดับเบสที่ complementary กับลำดับเบสบน mRNA ของยีนเป้าหมาย ร้อยละ 80 ASO ใช้ลดระดับการแสดงออกของโปรตีนโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการทำลายของ mRNA หรือยับยั้งกระบวนการ mRNA translation<sup>57</sup> การศึกษาของ Graham และคณะ ร่วมกับบริษัท Isis Pharmaceuticals, Inc.<sup>58</sup> ได้ทดลองใช้ ASO ต่อ PCSK9 โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนังในหนูทดลองที่รับประทานอาหารจำพวกไขมันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสามารถลดระดับ

โคเลสเตอรอลรวมและ LDL-C ร้อยละ 53 และร้อยละ 38 ตามลำดับ และลดระดับการแสดงออกของ PCSK9 ร้อยละ 92 ขณะที่ LDLR เพิ่มขึ้น 2 เท่าตัว เมื่อเปรียบเทียบกับหนูทดลองในกลุ่มควบคุม ผลการทดลองใกล้เคียงกับการศึกษาของ Gupta และคณะ ที่ร่วมกับบริษัท Santaris Pharma A/S<sup>59</sup> ซึ่งพบว่าเมื่อทดลองใช้ ASO ในเซลล์เพาะเลี้ยง HepG2 และ HuH7 สามารถลดระดับ PCSK9 mRNA ร้อยละ 60 และร้อยละ 50 ตามลำดับ และเมื่อฉีด 13-mer locked nucleic acid (LNA) ASO ในหนูทดลองทางหลอดเลือดดำ พบว่าสามารถลดระดับ PCSK9 mRNA ได้ภายใน 24 ชั่วโมง โดยระดับที่ลดลงแปรผันตรงกับปริมาณของ ASO ที่ฉีดเข้าไป โดยการฉีด ASO ในปริมาณสูงๆ จะทำให้มีระดับ LDLR เพิ่มขึ้น 3 เท่าตัว นอกจากนี้บริษัท Santaris Pharma A/S<sup>60</sup> ได้พัฒนา ASO อีกชนิดคือ SPC5001 ซึ่งจากการทดลองใน non-human primates พบว่า SPC5001 สามารถยับยั้ง PCSK9 และลดระดับ LDL-C ร้อยละ 50 โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับ HDL-C ซึ่งบริษัท Santaris Pharma A/S ก็ได้เริ่มนำ SPC5001 ทดลองในผู้ป่วยที่มีสุขภาพดีและผู้ป่วย familial hypercholesterolemia อย่างไรก็ตามการทดลองได้สิ้นสุดลงก่อนกำหนด โดยไม่มีการเปิดเผยถึงสาเหตุ

#### 1.2 RNA interference (RNAi)

กลไก RNA interference เป็นแนวทางสำหรับการรักษาโรคหลายชนิด โดยไปลดการแสดงออกของยีน โดยการใช้ double stranded ribonucleic acid (dsRNA) molecules ซึ่งเป็น complementary กับ mRNA ในส่วนที่แสดงออกเป็นโปรตีน dsRNA จะไปกระตุ้น RNase III-like enzyme (Dicer) ซึ่งไปย่อย dsRNA ทำให้เกิด dsRNA เส้นเล็กๆ ขนาด 20-30 นิวคลีโอไทด์ ที่เรียกว่า small interfering RNA (siRNA) ซึ่งไปกระตุ้น multi-protein complex ที่เรียกว่า RNA-induced silencing complex (RISC) ทำให้มีการคลายเกลียวของ siRNA เกิดเป็น antisense strand ไปจับและทำลาย mRNA<sup>61</sup>



ตารางที่ 2 สารยับยั้ง PCSK9 (PCSK9 inhibitors) ที่กำลังพัฒนา

ชนิดของสารยับยั้ง PCSK9	สารยับยั้ง PCSK9 ที่กำลังพัฒนา	ผู้สนับสนุนทางวิจัย	ขั้นตอนการพัฒนา	อ้างอิง
<i>Gene silencing</i>				
Locked nucleic acid antisense oligonucleotide (LNA-ASO)	NA	Santaris Pharma	Preclinical	59
	LNA-ASO: SPC 5001	Santaris Pharma	Phase 1 terminated	60 <a href="http://www.santaris.com/NCT01350960">http://www.santaris.com/NCT01350960</a>
Antisense oligonucleotide (ASO)	NA	Idera Pharmaceuticals	Preclinical	<a href="http://www.iderapharma.com/">http://www.iderapharma.com/</a> <a href="http://www.ir.iderapharma.com/">http://www.ir.iderapharma.com/</a>
	ISIS 394814	Isis	Preclinical	58
siRNA oligonucleotide	LNP-PCS, ALN-PCS	Alnylam Pharmaceuticals	Preclinical and phase 1 completed	62-63 <a href="http://www.alnylam.com">http://www.alnylam.com</a> NCT01437059
	PRO-040201	Tekmira	Phase 1 trial terminated	NCT00927459
<i>Mimetic peptides and adnectins</i>				
	EGF-AB peptide fragment	Schering-Plough	Preclinical	65
	LDLR (H306Y) sub-fragment	NIH	Preclinical	66
Small peptide mimetic; LDLR antagonist	SX-PCK9	Serometrix	Preclinical	<a href="http://www.serometrix.com/">http://www.serometrix.com/</a>
Small-molecule PCSK9 modulator	NA	Shifa Biomedical Corporation	Preclinical	<a href="http://www.shifabiomedical.com/index_files/slide0001.htm">http://www.shifabiomedical.com/index_files/slide0001.htm</a>
<i>Adnexins</i>				
Fusion protein using Adnexus Therapeutics' Adnectin technology	PCSK9 (Adnectin) BMS-962476	Adnexus Therapeutics/Bristol-Myers Squibb Adnexus	Phase 1	<a href="http://www.adnexstx.com/">http://www.adnexstx.com/</a> <a href="http://www.cfr-bms.com">www.cfr-bms.com</a> NCT01587365
<i>Human monoclonal antibody</i>				
	1D05-IgG2	Merck	Preclinical	69 <a href="http://www.merck.com">http://www.merck.com</a>
	1B20	Merck	Preclinical	70 <a href="http://www.merck.com">http://www.merck.com</a>

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของสารยับยั้ง PCSK9	สารยับยั้ง PCSK9 ที่กำลังพัฒนา	ผู้สนับสนุนงานวิจัย	ขั้นตอนการพัฒนา	อ้างอิง
	mAb1	Amgen	Preclinical	71 http://www.amgen.com
	AMG-145	Amgen	Phase 1	72
			Phase 2	73-77
			Phase 2/3	NCT01516879, NCT01439880 NCT01588496, NCT01624142
			Phase 3	www.clinicaltrialsregister.eu 2012-001398-97
	J10, J16	Pfizer	Preclinical	78
	RN316 (PF-04950615)	Pfizer	Phase 2	http://www.pfizer.com NCT01350141
Human monoclonal antibody	REGN727 (SAR236553)	Regeneron Pharmaceuticals/Sanofi	Phase 1	http://www.regeneron.com/
			phase 2	79-82
			Phase 3	NCT01644188, NCT01644175, NCT01644474, NCT01617655, NCT01507831, NCT01623115, and NCT01663402
	LGT209	Novartis	Phase 2	http://www.novartis.com
	MPSK3169A/ RG7652	Genentech	Phase 2	NCT01609140, www.roche.com, www.clinicaltrialsregister.eu 2012-000191-14

siRNA =small interfering RNA, NCT=National Clinical Trial (NCT) number as listed at www.clinicaltrials.gov, NA=not applicable, EGF-AB=the tandem epidermal growth factor-like repeat A and B domain

บริษัท Alnylam Pharmaceuticals, Inc.<sup>62</sup> ได้ผลิต siRNA คือ ALN-PCSK01 โดยบรรจุไว้ในรูปของไลโปโซมและนำไปทดลองใน non-human primates ซึ่งทำให้ระดับ LDL-C ลดลงร้อยละ 50 และมีจุดมุ่งหมายที่จะทดสอบในมนุษย์ต่อไป

ต่อมาการศึกษาของ Frank-Kamenetsky และคณะ ร่วมกับบริษัท Alnylam Pharmaceuticals, Inc.<sup>63</sup> ก็ได้ทดลองใช้ siRNAs 2 ชนิด คือ LNP-PCS-A2 และ LNP-PCS-C2 ในหนูทดลอง transgenic mice ที่มีการแสดงออกของ human PCSK9 พบว่าสามารถลดระดับ PCSK9 mRNA ได้ถึงร้อยละ 70 และลดระดับ PCSK9 ได้มากถึง 500 เท่าตัว ในเวลา 3 สัปดาห์ นอกจากนี้เมื่อทดลองฉีด siRNA ที่อยู่ในรูปอนุภาคนาโนชนิดไขมันใน cynomolgus monkeys พบว่ามีการลดลงของระดับ PCSK9 mRNA และ PCSK9 และลดระดับ LDL-C ในพลาสมาร้อยละ 50-60 ภายใน 48 ชั่วโมง โดยออกฤทธิ์ยับยั้ง PCSK9 และลดระดับ LDL-C ได้นานถึง 2-3 สัปดาห์ นอกจากนี้การศึกษาของ Ason และคณะ<sup>64</sup> พบว่าการใช้ siRNA ต่อ PCSK9 ในหนูทดลองที่ได้รับการรักษาด้วยยา statins ร่วมกับ ezetimibe พบว่าสามารถลดระดับโคเลสเตอรอลรวมและ triglyceride ได้ดี

## 2. Mimetic peptides และ modified binding protein

Mimetic peptides เป็นเปปไทด์ที่สังเคราะห์เลียนแบบโปรตีนที่สามารถจับกับ PCSK9 ได้ ซึ่งมีการศึกษาที่ทดลองใช้เปปไทด์สังเคราะห์ดังกล่าว เช่น การศึกษาของ Shan และคณะ<sup>65</sup> ได้ทดลองใช้เปปไทด์ที่มีโครงสร้างคล้ายกับ EGF-A domain ของ LDLR ให้ไปจับกับ PCSK9 ที่ผิวเซลล์เมมเบรน เพื่อป้องกันการจับระหว่าง PCSK9 กับ LDLR ทำให้ลดการทำลายของ LDLR และเนื่องจากการกลายพันธุ์ของ LDLR ชนิด H306Y ที่เกิดในบริเวณ EGF-A สามารถจับกับ wild-type PCSK9 หรือ D374Y-PCSK9 ได้แน่นกว่าปกติ ดังนั้น McNutt และคณะ<sup>66</sup> จึงสังเคราะห์ EGF-A-H306Y peptide และทดลอง

ในเซลล์เพาะเลี้ยง HepG2 พบว่า EGF-A-H306Y peptide สามารถจับกับ wild type PCSK9 และ GOF PCSK9 ได้ทำให้ไปขัดขวางการจับกันระหว่าง PCSK9 กับ LDLR และป้องกันการทำลายของ LDLR นอกจากนี้ยังมีการใช้โปรตีนลูกผสมที่สังเคราะห์มาจาก fibronectin เรียกว่า Adnectin (BMS-962476) ซึ่งสามารถจับกับ PCSK9 ได้โดยมีลักษณะการจับคล้ายกับการจับของแอนติบอดีและแอนติเจน

## 3. Small molecule

เป็นโมเลกุลขนาดเล็กที่สามารถจับกับ PCSK9 และไปยับยั้งกระบวนการตัดสายเปปไทด์ในโครงสร้าง (autocatalytic cleavage) การหลั่งออกนอกเซลล์หรือการจับกันของ LDLR และ PCSK9<sup>21</sup> โดยหวังที่จะใช้รักษาโดยวิธีการรับประทาน อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีการนำโมเลกุลขนาดเล็กไปทดลองในมนุษย์

## 4. Anti-PCSK9 antibody

มีหลายการศึกษาได้พัฒนา anti-PCSK9 antibody ขึ้นมาเพื่อยับยั้งการจับกันระหว่าง PCSK9 กับ LDLR ดังต่อไปนี้

4.1 การศึกษาของ Duff และคณะ<sup>67</sup> ได้ทดลองใช้ antibodies ที่จำเพาะต่อ PCSK9 ในบริเวณ catalytic domain ในเซลล์เพาะเลี้ยง HepG2 พบว่าสามารถป้องกันการจับกันระหว่าง PCSK9 กับ LDLR ได้

4.2 การศึกษาของ Ni และคณะ ร่วมกับบริษัท Merck Research Laboratories<sup>68</sup> ได้ทดลองใช้ anti-PCSK9 antibody (1G08) ซึ่งจับกับ PCSK9 ในส่วน C-terminal domain ในเซลล์เพาะเลี้ยง HEK293 และ HepG2 พบว่า 1G08 สามารถยับยั้งการนำ PCSK9 เข้าสู่เซลล์ได้ ต่อมาได้ทดลองใช้ anti-PCSK9 antibody (1D05) ซึ่งจะจับกับ PCSK9 บริเวณ catalytic site ซึ่งสำคัญต่อการจับกับ EGF-A ของ LDLR ในหนูทดลอง และ rhesus monkeys พบว่าทำให้ระดับ LDL-C ลดลงร้อยละ 40 และร้อยละ 20-50 ตามลำดับ<sup>69</sup> และการศึกษาของ Zhang และคณะ ร่วมกับบริษัท Merck Research Laboratories<sup>70</sup>

ได้ทดลองใช้ anti-PCSK9 antibody (1B20) ในหนูทดลอง และ rhesus monkeys ซึ่งสามารถลดระดับ LDL-C ได้  $\geq$  ร้อยละ 25 และร้อยละ 70 ตามลำดับ และเมื่อใช้ 1B20 ร่วมกับ simvastatin พบว่าสามารถลดระดับ LDL-C ใน rhesus monkeys ได้มากกว่าการใช้ simvastatin เพียงชนิดเดียว

4.3 การศึกษาของ Chan และคณะ ร่วมกับบริษัท Amgen<sup>71</sup> ใช้ monoclonal antibody (mAb1) ต่อ PCSK9 ในบริเวณที่จับกับ LDLR ทดลองในเซลล์เพาะเลี้ยง HepG2 พบว่า mAb1 ลดระดับโคเลสเตอรอลรวมร้อยละ 36 และเมื่อทดลองใน cynomolgus monkeys ทำให้ลดระดับ LDL-C ร้อยละ 80 โดยไม่ผลต่อการลดระดับ HDL-C เล็กน้อย และไม่มีผลต่อระดับ triglycerides ต่อมาบริษัท Amgen<sup>72</sup> ได้พัฒนา Amgen's antibody (AMG145) และทดลองในมนุษย์ โดยฉีด AMG145 ผ่านทางผิวหนังหรือทางหลอดเลือดดำในอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีพบว่าสามารถลดระดับ LDL-C ได้ร้อยละ 64 โดยไม่มีผลกระทบบ้างเคียง ต่อมาหลายการศึกษา นำ AMG145 ไปทดสอบในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงได้แก่ การศึกษาของ LAPLACE-TIMI 57, MENDEL, RUTHERFORD และ the GAUSS ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเมื่อฉีด AMG145 ในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงทั้งที่มีหรือไม่มีการรักษาพร้อมกับ statins หรือ ezetimibe จะสามารถลดระดับ LDL-C ได้ดี<sup>73-77</sup>

4.4 บริษัท Pfizer-Rinat, Inc.<sup>78</sup> ได้ผลิต humanized monoclonal J16 antibody ต่อ PCSK9 ซึ่งจำเพาะต่อบริเวณที่จับกับ LDLR-EGF-A โดยทดลองฉีด J16 antibody ทางหลอดเลือดดำใน cynomolgus monkeys พบว่าระดับ LDL-C ลดลงร้อยละ 70 ในเวลา 10 วัน โดยระดับ LDL-C จะลดลงแปรผันตรงกับปริมาณ J16 antibody ที่ฉีดเข้าไป และเมื่อฉีด J16 antibody ใน cynomolgus monkeys ที่ได้รับอาหารไขมันสูงพบว่าให้ผลที่ใกล้เคียงกัน และเมื่อฉีด J16 antibody ร่วมกับการรักษาด้วย simvastatin ใน cynomolgus monkeys พบว่าระดับ LDL-C ลดลงร้อยละ 65

นอกจากนี้บริษัท Pfizer-Rinat, Inc. ยังได้ผลิต monoclonal antibody (RN316) ต่อ PCSK9 อีกชนิดและเริ่มทดลองในผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วย statins โดยฉีด RN316 ร่วมกับการรักษาด้วย statins พบว่าสามารถลดระดับ LDL-C ในผู้ป่วยที่มีไขมันในเลือดสูงได้

4.5 บริษัท Regeneron Pharmaceuticals, Inc.<sup>79</sup> ได้ผลิต monoclonal antibody (SAR236553/REGN727) และทดลองในอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี พบว่า SAR236553/REGN727 สามารถลดระดับ LDL-C ได้มากกว่าร้อยละ 60 โดยระดับ LDL-C ที่ลดลงแปรผันตรงกับปริมาณแอนติบอดีที่ฉีดเข้าไป และได้ทดลองในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูง ดังการศึกษาต่อไปนี้

การศึกษาของ Stein และคณะ<sup>80</sup> ได้ทดลองฉีด SAR236553/REGN727 ในผู้ป่วย heterozygous familial hypercholesterolemia ที่รับประทานยา statins โดยอาจจะไม่มีหรือไม่มีการรับประทาน ezetimibe พบว่าสามารถลดระดับ LDL-C ร้อยละ 30-68 ขึ้นอยู่กับปริมาณและความถี่ของการฉีดแอนติบอดีและการศึกษาของ McKenney และคณะ<sup>81</sup> ได้ทดลองฉีด SAR236553/REGN727 ในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงชนิดปฐมภูมิร่วมกับการรักษาด้วย atorvastatin พบว่าทำให้ลดระดับ LDL-C ร้อยละ 40-72 ซึ่งระดับ LDL-C ที่ลดลงขึ้นอยู่กับปริมาณและความถี่ในการฉีดแอนติบอดี

เช่นเดียวกับการศึกษาของ Roth และคณะ<sup>82</sup> ที่พบว่าเมื่อทดลองฉีด SAR236553/REGN727 ในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงชนิดปฐมภูมิร่วมกับการรักษาด้วย atorvastatin วันละ 10 มก. พบว่าสามารถลดระดับ LDL-C ร้อยละ 66 ขณะที่การฉีด SAR236553/REGN727 ร่วมกับการรักษาด้วย atorvastatin วันละ 80 มก. ทำให้ระดับ LDL-C ลดลงร้อยละ 73 และเมื่อเปรียบเทียบกับการรักษาด้วย atorvastatin วันละ 80 มก. ชนิดเดียวทำให้ระดับ LDL-C ลดลงเพียงร้อยละ 17 ดังนั้นจึงบ่งบอกได้ว่าการฉีด SAR236553/REGN727 ร่วมกับการรักษาด้วยยา statins ทำให้ระดับ LDL-C ลดลงได้มากที่สุด

## สรุป

สารยับยั้ง PCSK9 หรือ PCSK9 inhibitors ถือเป็นเป้าหมายใหม่ในการพัฒนาเป็นยาลดไขมันในเลือดในอนาคต สารยับยั้ง PCSK9 มีกลไกออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของหรือลดปริมาณ PCSK9 ทำให้มีการทำลาย LDLR ลดลง มีระดับ LDLR เพิ่มขึ้นบนผิวเซลล์และช่วยลดระดับ LDL-C ในกระแสเลือด กลไกการออกฤทธิ์ดังกล่าวจึงแตกต่างจากกลไกการออกฤทธิ์ของยาลดระดับไขมันในเลือดที่ใช้ในปัจจุบัน สารยับยั้ง PCSK9 มีการพัฒนาออกมาหลายรูปแบบ เช่น *gene silencing*, *mimetic peptide* และ *monoclonal antibody* จากการทดลองใช้สารยับยั้ง PCSK9 ในเซลล์เพาะเลี้ยง สัตว์ทดลอง ในผู้ที่มีสุขภาพดีและผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงแบบปฐมภูมิพบว่าสามารถลดระดับ PCSK9 และระดับไขมันได้ดี โดยเฉพาะเมื่อใช้ร่วมกับยา statins หรือ ezetimibe ดังนั้น สารยับยั้ง PCSK9 จึงอาจเป็นทางเลือกใหม่สำหรับการใช้เป็นยาลดระดับไขมันในเลือดที่มีประสิทธิภาพดีต่อไปในอนาคตในการรักษาผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงและนำไปสู่การป้องกันการเกิดโรคหัวใจ

## เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. The data and statistics of noncommunicable diseases (NCD) [homepage on the Internet]. Geneva: WHO [cited 2013 Feb 11]. Available from: <http://www.who.int/gho/ncd/en/index.html>
2. Ministry of Public Health. Public health statistics [homepage on the Internet]. Nonthaburi: Ministry of Public Health [cited 2013 Feb 11]. Available from: <http://bps.ops.moph.go.th/Healthinformation/index2.html>
3. Grundy SM. Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 629 - 36.
4. Visvikis-Siest S, Marteau JB. Genetic variants predisposing to cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2006; 17: 139 - 51.

5. O'Keefe JH Jr, Cordain L, Harris WH, et al. Optimal low-density lipoprotein is 50 to 70 mg/dL: lower is better and physiologically normal. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 2142 - 6.
6. Waters DD, Brotons C, Chiang CW, et al. Lipid treatment assessment project 2: a multinational survey to evaluate the proportion of patients achieving low-density lipoprotein cholesterol goals. *Circulation* 2009; 120: 28 - 34.
7. Abifadel M, Varret M, Rabes JP, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* 2003; 34: 154 - 6.
8. Varret M, Abifadel M, Rabes JP, et al. Genetic heterogeneity of autosomal dominant hypercholesterolemia. *Clin Genet* 2008; 73: 1 - 13.
9. Abifadel M, Rabes JP, Devillers M, et al. Mutations and polymorphisms in the proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) gene in cholesterol metabolism and disease. *Hum Mutat* 2009; 30: 520 - 9.
10. Zhao Z, Tuakli-Wosornu Y, Lagace TA, et al. Molecular characterization of loss-of-function mutations in PCSK9 and identification of a compound heterozygote. *Am J Hum Genet* 2006; 79: 514 - 23.
11. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med* 2006; 354: 1264 - 72.
12. Huang CC, Fornage M, Lloyd-Jones DM, et al. Longitudinal association of PCSK9 sequence variations with low-density lipoprotein cholesterol levels the coronary artery risk development in young adults study. *Circ Cardiovasc Genet* 2009; 2: 354 - 61.
13. Hooper AJ, Marais AD, Tanyanyiwa DM, et al. The C679X mutation in PCSK9 is present and lowers blood cholesterol in a Southern African population. *Atherosclerosis* 2007; 193: 445 - 8.
14. The Protein Data Bank. Crystal Structure of PCSK9 [homepage on the Internet]. Piscataway: Rutgers, the State University of New Jersey; [cited 2013 Sept 2]. Available from: <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=2P4E>

15. Piper DE, Jackson S, Liu Q, et al. The crystal structure of PCSK9: a regulator of plasma LDL-cholesterol. *Structure* 2007; 15: 545 - 52.
16. 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: 13045 - 50.
17. Peterson AS, Fong LG, Young SG. PCSK9 function and physiology. *J Lipid Res* 2008; 49: 1595 - 9.
18. Bottomley MJ, Cirillo A, Orsatti L, et al. Structural and biochemical characterization of the wild type PCSK9-EGF(AB) complex and natural familial hypercholesterolemia mutants. *J Biol Chem* 2009; 284: 1313 - 23.
19. Kwon HJ, Lagace TA, McNutt MC, et al. Molecular basis for LDL receptor recognition by PCSK9. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 1820 - 5.
20. Li J, Tumanut C, Gavigan JA, et al. Secreted PCSK9 promotes LDL receptor degradation independently of proteolytic activity. *Biochem J* 2007; 406: 203 - 7.
21. Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. *J Lipid Res* 2009; 50 (Suppl): S172 - 7.
22. Qian YW, Schmidt RJ, Zhang Y, et al. Secreted PCSK9 down regulates low density lipoprotein receptor through receptor-mediated endocytosis. *J Lipid Res* 2007; 48: 1488 - 98.
23. Zhang DW, Lagace TA, Garuti R, et al. Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation. *J Biol Chem* 2007; 282: 18602 - 12.
24. Costet P, Krempf M, Cariou B. PCSK9 and LDL cholesterol: unraveling the target to design the bullet. *Trends Biochem Sci* 2008; 33: 426 - 34.
25. Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science* 2001; 292: 1160 - 4.
26. Charlton-Menys V, Durrington PN. Human cholesterol metabolism and therapeutic molecules. *Exp Physiol* 2008; 93: 27 - 42.
27. Maxwell KN, Soccio RE, Duncan EM, et al. Novel putative SREBP and LXR target genes identified by microarray analysis in liver of cholesterol-fed mice. *J Lipid Res* 2003; 44: 2109 - 19.
28. Dong B, Wu M, Li H, et al. Strong induction of PCSK9 gene expression through HNF1alpha and SREBP2: mechanism for the resistance to LDL-cholesterol lowering effect of statins in dyslipidemic hamsters. *J Lipid Res* 2010; 51: 1486 - 95.
29. Dubuc G, Chamberland A, Wassef H, et al. Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1454 - 9.
30. Rashid S, Curtis DE, Garuti R, et al. Decreased plasma cholesterol and hypersensitivity to statins in mice lacking PCSK9. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 5374 - 9.
31. Careskey HE, Davis RA, Alborn WE, et al. Atorvastatin increases human serum levels of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *J Lipid Res* 2008; 49: 394 - 8.
32. Costet P, Hoffmann MM, Cariou B, et al. Plasma PCSK9 is increased by fenofibrate and atorvastatin in a non-additive fashion in diabetic patients. *Atherosclerosis* 2010; 212: 246 - 51.
33. 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 Lipid Res* 2010; 51: 2714 - 21.
34. Davis HR, Veltri EP. Zetia: inhibition of Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) to reduce intestinal cholesterol absorption and treat hyperlipidemia. *J Atheroscler Thromb* 2007; 14: 99 - 108.
35. Ge L, Wang J, Qi W, et al. The cholesterol absorption inhibitor ezetimibe acts by blocking the sterol-induced internalization of NPC1L1. *Cell Metab* 2008; 7: 508 - 19.
36. Gagné C, Gaudet D, Bruckert E. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with atorvastatin or simvastatin in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* 2002; 105: 2469 - 75.

37. Hing Ling PK, Civeira F, Dan AG, et al. Ezetimibe/simvastatin 10/40 mg versus atorvastatin 40 mg in high cardiovascular risk patients with primary hypercholesterolemia: a randomized, double-blind, active-controlled, multicenter study. *Lipids Health Dis* 2012; 11: 8.
38. Friedman HS, Rajagopalan S, Barnes JP, et al. Combination therapy with ezetimibe/simvastatin versus statin monotherapy for low-density lipoprotein cholesterol reduction and goal attainment in a real-world clinical setting. *Clin Ther* 2011; 33: 212 - 24.
39. Gouni-Berthold I, Berthold HK, Gylling H, et al. Effects of ezetimibe and/or simvastatin on LDL receptor protein expression and on LDL receptor and HMG-CoA reductase gene expression: a randomized trial in healthy men. *Atherosclerosis* 2008; 198: 198 - 207.
40. Davignon J, Dubuc G. Statins and ezetimibe modulate plasma proprotein convertase subtilisin kexin-9 (PCSK9) levels. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2009; 120: 163 - 73.
41. Berthold HK, Seidah NG, Benjannet S, et al. Evidence from a randomized trial that simvastatin, but not ezetimibe, upregulates circulating PCSK9 levels. *PLoS One* 2013; 8: e60095.
42. Mabuchi H, Sakai T, Sakai Y, et al. Reduction of serum cholesterol in heterozygous patients with familial hypercholesterolemia. Additive effects of compactin and cholestyramine. *N Engl J Med* 1983; 308: 609 - 13.
43. Rosenson RS. Colesevelam HCl reduces LDL particle number and increases LDL size in hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2006; 185: 327 - 30.
44. Guyton JR. Niacin in cardiovascular prevention: mechanisms, efficacy and safety. *Curr Opin Lipidol* 2007; 18: 415 - 20.
45. Bodor ET, Offermanns S. Nicotinic acid: an old drug with a promising future. *Br J Pharmacol* 2008; 153 (Suppl 1): S68 - 75.
46. Fruchart JC, Staels B, Duriez P. The role of fibric acids in atherosclerosis. *Curr Atheroscl Rep* 2001; 3: 83 - 92.
47. Fazio S, Linton MF. The role of fibrates in managing hyperlipidemia: mechanisms of action and clinical efficacy. *Curr Atheroscl Rep* 2004; 6: 148 - 57.
48. Keating GM, Croom KF. Fenofibrate: a review of its use in primary dyslipidaemia, the metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Drugs* 2007; 67: 121 - 53.
49. Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, et al. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation* 1998; 98: 2088 - 93.
50. Chapman MJ. Fibrates in 2003: therapeutic action in atherogenic dyslipidaemia and future perspectives. *Atherosclerosis* 2003; 171: 1 - 13.
51. Farnier M. Update on the clinical utility of fenofibrate in mixed dyslipidemias: mechanisms of action and rational prescribing. *Vasc Health Risk Manag* 2008; 4: 991 -1000.
52. Troutt JS, Alborn WE, Cao G, et al. Fenofibrate treatment increases human serum proprotein convertase subtilisin kexin type 9 levels. *J Lipid Res* 2010; 51: 345 - 51.
53. Kourimate S, Le May C, Langhi C, et al. Dual mechanisms for the fibrate-mediated repression of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *J Biol Chem* 2008; 283: 9666 - 73.
54. Lambert G, Ancellin N, Charlton F, et al. Plasma PCSK9 concentrations correlate with LDL and total cholesterol in diabetic patients and are decreased by fenofibrate treatment. *Clin Chem* 2008; 54: 1038 - 45.
55. Mayne J, Dewpura T, Raymond A, et al. Plasma PCSK9 levels are significantly modified by statins and fibrates in humans. *Lipids Health Dis* 2008; 7: 22.
56. Tibolla G, Norata GD, Artali R, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): From structure function relation to therapeutic inhibition. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011; 21: 835 - 43.
57. Banaszewska A, Piechota M, Plewa R. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9: a new target molecule for gene therapy. *Cell Mol Biol Lett* 2012; 17: 228 - 39.
58. Graham MJ, Lemonidis KM, Whipple CP, et al. Antisense inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces serum LDL in hyperlipidemic mice. *J Lipid Res* 2007; 48: 763 - 7.

59. Gupta N, Fisker N, Asselin MC, et al. A locked nucleic acid antisense oligonucleotide (LNA) silences PCSK9 and enhances LDLR expression in vitro and in vivo. *PLoS One* 2010; 5: e10682.
60. Santaris Pharma A/S advances new cholesterol-lowering drug, SPC5001 inhibiting exciting new target PCSK9, into Phase 1 clinical trials for the treatment of high cholesterol [serial on the Internet]. 2011 May [cited 2013 Feb 11]. Available from: <http://www.santaris.com/news/2011/05/04/santaris-pharma-advances-new-cholesterol-lowering-drug-spc5001-inhibiting-exciting-n>
61. Dykxhoorn DM, Novina CD, Sharp PA. Killing the messenger: short RNAs that silence gene expression. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 457 - 67.
62. Alnylam presents first ever non-human primate data with an RNAi therapeutic targeting PCSK9 showing significant and durable reductions in LDL cholesterol levels [serial on the Internet]. 2007 Nov [cited 2013 Feb 11] Available from: <http://phx.corporate-ir.net/phoenix.zhtml?c=148005&p=irol-newsArticle&ID=1059699&highlight=>
63. Frank-Kamenetsky M, Grefhorst A, Anderson NN, et al. Therapeutic RNAi targeting PCSK9 acutely lowers plasma cholesterol in rodents and LDL cholesterol in nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 19: 11915 - 20.
64. Ason B, Tep S, Davis HR Jr, et al. Improved efficacy for ezetimibe and rosuvastatin by attenuating the induction of PCSK9. *J Lipid Res* 2011; 52: 679 - 87.
65. Shan L, Pang L, Zhang R, et al. PCSK9 binds to multiple receptors and can be functionally inhibited by an EGF-A peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 375: 69 - 73.
66. McNutt MC, Kwon HJ, Chen C, et al. Antagonism of secreted PCSK9 increases low density lipoprotein receptor expression in HepG2 cells. *J Biol Chem* 2009; 284: 10561 - 70.
67. Duff CJ, Scott MJ, Kirby IT, et al. Antibody-mediated disruption of the interaction between PCSK9 and the low-density lipoprotein receptor. *Biochem J* 2009; 419: 577 - 84.
68. Ni YG, Condra JH, Orsatti L, et al. A proprotein convertase subtilisin-like/kexin type 9 (PCSK9) C-terminal domain antibody antigen-binding fragment inhibits PCSK9 internalization and restores low density lipoprotein uptake. *J Biol Chem* 2010; 285: 12882 - 91.
69. Ni YG, Di Marco S, Condra JH, et al. A PCSK9-binding antibody that structurally mimics the EGF(A) domain of LDL-receptor reduces LDL cholesterol in vivo. *J Lipid Res* 2011; 52: 78 - 86.
70. Zhang L, McCabe T, Condra JH, et al. An anti-PCSK9 antibody reduces LDL-cholesterol on top of a statin and suppresses hepatocyte SREBP-regulated genes. *Int J Biol Sci* 2012; 8: 310 - 27.
71. Chan JC, Piper DE, Cao Q, et al. A proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 neutralizing antibody reduces serum cholesterol in mice and non-human primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 9820 - 5.
72. Dias CS, Shaywitz AJ, Wasserman SM, et al. Effects of AMG 145 on low-density lipoprotein cholesterol levels: results from 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, ascending dose phase 1 studies in healthy volunteers and hypercholesterolemic subjects on statins. *J Am Coll Cardiol* 2012; 60: 1888 - 98.
73. 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. *JAMA* 2012; 308: 2497 - 506.
74. Kohli P, Desai NR, Giugliano RP, et al. Design and rationale of the LAPLACE-TIMI 57 trial: a phase II, double-blind, placebo-controlled study of the efficacy and tolerability of a monoclonal antibody inhibitor of PCSK9 in subjects with hypercholesterolemia on background statin therapy. *Clin Cardiol* 2012; 35: 385 - 91.
75. Giugliano RP, Desai NR, Kohli P, et al. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in



- combination with a statin in patients with hypercholesterolaemia (LAPLACE-TIMI 57): a randomised, placebo-controlled, dose-ranging, phase 2 study. *Lancet* 2012; 380: 2007 - 17.
76. Koren MJ, Scott R, Kim JB, et al. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 as monotherapy in patients with hypercholesterolaemia (MENDEL): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. *Lancet* 2012; 380: 1995 - 2006.
77. Raal F, Scott R, Somaratne R, et al. Low-density lipoprotein cholesterol-lowering effects of AMG 145, a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia: the reduction of LDL-C with PCSK9 inhibition in heterozygous familial hypercholesterolemia disorder (RUTHERFORD) randomized trial. *Circulation* 2012; 126: 2408 - 17.
78. Liang H, Chaparro-Riggers J, Strop P, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 antagonism reduces low-density lipoprotein cholesterol in statin-treated hypercholesterolemic non human primates. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 340: 228 - 36.
79. Stein EA, Mellis S, Yancopoulos GD, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on LDL cholesterol. *N Engl J Med* 2012; 366: 1108 - 18.
80. Stein EA, Gipe D, Bergeron J, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9, REGN727/SAR236553, to reduce low-density lipoprotein cholesterol in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia on stable statin dose with or without ezetimibe therapy: a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 380: 29 - 36.
81. 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 Am Coll Cardiol* 2012; 59: 2344 - 53.
82. Roth EM, McKenney JM, Hanotin C, et al. Atorvastatin with or without an antibody to PCSK9 in primary hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 2012; 367: 1891-900.