

前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 抑制剂——Evolocumab

王宏亮¹, 曹爽^{2*}

(1. 国家食品药品监督管理总局药品审评中心, 北京 100038; 2. 国家应急防控药物工程技术研究中心, 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

【摘要】 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9) 是一种由肝脏合成的丝氨酸蛋白酶, 可促使体内低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 累积, 抑制 PCSK9 活性则可使 LDL-C 水平显著下降。Evolocumab (商品名 Repatha) 是由美国安进公司研发的全球第一个 PCSK9 抑制剂, 2015 年 7 月在欧盟上市, 被批准用于治疗原发性和家族性高胆固醇血症。该药的特别之处在于能大幅降低他汀类药物耐受患者体内的 LDL-C, 因此可有效解决广泛使用他汀类药物后出现的大面积耐药问题。笔者就 Evolocumab 的基本性质、作用机制、药效学、药动学、临床应用、研发历程等情况作一概述, 以期能为医院临床用药及药物开发提供参考。

【关键词】 Evolocumab; PCSK9 抑制剂; 低密度脂蛋白; 高胆固醇血症

【中图分类号】 R972.6

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-3384(2015)05-0015-05

doi:10.3969/j.issn.1672-3384.2015.05.004

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitor——Evolocumab

WANG Hong-liang¹, CAO Shuang^{2*}

(1. Center for Drug Evaluation, CFDA, Beijing 100038, China; 2. National Engineering Research Center for the Strategic Drug, Institute of Pharmacology & Toxicology of AMMS, Beijing 100850, China)

【Abstract】 PCSK9, a kind of serine protease, can lead to the accumulation of LDL-C, vice versa. Evolocumab (trade name Repatha) is the first PCSK9 inhibitor developed by Amgen (USA), and it has been approved for the treatment of a variety of hypercholesterolemia by EC in July 2015. The peculiarity of Evolocumab is that it can result in significant reduction in LDL-C of subject with statin-intolerant, so that it provides a solution to problem of comprehensive statin-intolerant. The properties, mechanism, pharmacodynamics, pharmacokinetics, clinical trials, and development process of Evolocumab was reviewed in this article, which could provide reference to the doctor and researcher.

【Keywords】 Evolocumab; PCSK9 inhibitor; LDL; hypercholesterolemia

心血管疾病是现今威胁人类健康的主要疾病。在欧盟, 每年约有 400 万人死于与心血管相关的疾病, 直接医疗支出达 661 亿欧元^[1]; 在我国, 现有心血管疾病患者近 3 亿人, 每年约有 350 万人死于各类心血管疾病, 直接医疗支出已达 1 300 亿元, 并且该领域的医疗开支还呈现出逐年上升的趋势。研究表明, 低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 是导致心血管疾病的主要因素, 患者体内的 LDL-C 浓度每降低 40 mg·dL⁻¹, 其心血管疾病风险即降低

20%~25%^[2]。目前临床使用的主流降胆固醇药物是他汀类药物 (肝胆固醇合成抑制剂) 和依泽替米贝 (胆固醇吸收抑制剂)。这些药物可以显著降低人体内的 LDL-C 水平, 同时降低心血管疾病风险。但随着长期使用, 较多的病人出现了药物耐受性。据统计, 有 60% 的高危患者服用他汀类药物或其他已上市的降脂药物仍然无法充分控制其 LDL-C 水平, 而在极高危患者群体中, 这一比例高达 80% 以上。临床上迫切需要一种基于新机制的降胆固醇药物^[2]。

【收稿日期】 2015-08-28

【基金项目】 中国博士后科学基金面上项目 (2015M572756)

【作者简介】 王宏亮, 男, 博士, 研究方向: 化学药品技术评审, Tel: (010) 68585566-511, E-mail: WHL83319@126.com

【通讯作者】 *曹爽, 男, 博士后, 研究方向: 新药的设计与合成, Tel: (010) 66931634, E-mail: caoshuangknight@163.com

前蛋白转化酶枯草溶菌素9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9) 是由肝脏合成的一种丝氨酸蛋白酶, 可与肝脏表面的 LDL 受体结合, 降低肝脏降解 LDL-C 的能力, 因此抑制 PCSK9 蛋白活性可降低体内的 LDL-C 水平。PCSK9 抑制剂作为一种全新机制的降胆固醇药物, 作用机制与他汀类药物完全不同, 有利于克服长期使用他汀类药物后可能产生的耐药问题。PCSK9 抑制剂被视为他汀类药物 (如 Lipitor 和 Zocor) 之后降脂领域取得的最大进步, 其开发从一开始就引起了医药界的重视^[3-4]。加拿大皇家银行分析认为 PCSK9 抑制剂的市场潜力至少可达 100 亿美元。2015 年 7 月, 美国安进公司研发的全球第一个 PCSK9 抑制剂 Repatha (Evolocumab) 率先在欧盟上市。笔者就 Evolocumab 的基本性质、作用机制、药效学、药动学、临床应用、研发历程等情况作一概述, 以期能为医院临床用药及药物开发提供参考。

1 基本信息

Evolocumab 由美国安进公司 (Amgen) 基于中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) 通过重组 DNA 技术制得, 属于人源单克隆抗体。其分子式为 $C_{6242}H_{9648}N_{1668}O_{1996}S_{56}$, 相对分子质量 144 000, 是一种人源免疫球蛋白 G2, 具有一条 $\gamma 2$ 重链 (1-441)[human VH(Homo sapiens IGHV1-18*01 (93.9%)- (IGHD)-IGHJ6*01)[8.8.8](1-115)-Homo sapiens IGHG2*01(116-441)] (129-214)- disulfide and lambda light chain(1'-215')[human V-LAMBDA (Homo sapiens IGLV2-14*01(95.9%)-IGLJ2*01 [9.3.9](1'-109)- IGLC2*01 (110'-215'))]。

2003 年, PCSK9 蛋白在 LDL 积累中的作用被阐明^[2], 同年安进公司即开始了在 PCSK9 方面的研究。2007 年, 安进公司的科学家首先解析出 PCSK9 的蛋白质三维晶体结构。2009 年, Evolocumab 开始进入临床研究阶段。2015 年 6 月, FDA 咨询委员会一致认同 Evolocumab 在治疗高胆固醇血症中疗效大于风险 (15 票赞成, 0 票反对), 支持将其用于治疗家族或非家族性高胆固醇血症患者; 7 月 17 日 Evolocumab 获批在欧盟上市, 商品

名为 Repatha^[5]。

欧盟委员会 (EC) 批准的 Repatha 使用范围为: ①作为饮食的一种辅助疗法, 用于治疗原发性高胆固醇血症或混合性血脂异常成年患者; ②联合其他降脂疗法, 用于成人或 12 岁及以上年龄的家族性高胆固醇血症 (homozygous familial hypercholesterolemia, HoFH) 患者; ③联合他汀类药物或者其他降脂疗法, 用于治疗接受最大耐受剂量的他汀类药物治疗仍无法达到降 LDL-C 目标的患者; ④单独或联合其他降脂疗法, 用于不能耐受他汀类药物或他汀类药物禁忌的患者^[6]。

Evolocumab 的给药方式为皮下注射, 两周或 1 个月注射 1 次, 推荐给药剂量为 140 mg/ 两周和 420 mg/ 月两种。用于治疗非家族性高胆固醇血症和杂合子型高胆固醇血症 (heterozygous familial hypercholesterolemia, HeFH) 患者时使用剂量为 140 mg/ 两周或 420 mg/ 月; 用于成人及 12 岁以上儿童 HoFH 患者时, 初始推荐剂量为 420 mg/ 月, 若经过 12 周治疗后仍未实现缓解, 则将剂量调整为 420 mg/ 两周。首批上市的制剂形式为注射液, 规格为 1 mL/ 支, 每只含 Evolocumab 140 mg。该药物为处方药, 但患者经培训后可遵医嘱自行注射。

2 作用机理

Evolocumab 是一种人体免疫球蛋白 G2, 它通过选择性的与 PCSK9 的低密度脂蛋白区域紧密结合 (kDa<100 pM) 来抑制 PCSK9 的活性。

PCSK9 蛋白是一种丝氨酸蛋白酶, 由肝脏合成。它可以与肝脏表面的 LDL 受体结合, 从而降低肝脏降解 LDL-C 的能力, 促使体内 LDL-C 累积。因此体内 PCSK9 蛋白活性高意味着高 LDL-C 水平。PCSK9 活性受抑制后, 其介导的低密度脂蛋白受体 (LDLR) 降解受阻, 从而使肝细胞表面 LDLR 的水平升高。高含量的 LDLR 可以和血浆中 LDL 结合, 然后将其转运至溶酶体降解, 由此达到降低 LDL 水平的目的^[4], 同时也能降低其他一些脂蛋白的水平^[7]。

他汀类药物的作用机制是通过抑制胆固醇合成酶 HMG-CoA, 来抑制胆固醇的合成, 这一过程会

激活固醇调节因子连接蛋白-2,使 PCSK9 代偿性升高,削弱他汀类药物的治疗效果。Evolocumab 可以有效克服他汀类药物的这一缺陷,从而有效治疗对他汀类药物耐药的高胆固醇血症患者。

3 药代动力学

3.1 吸收

Evolocumab 通过皮下注射的方式给药,当给药量低于 140 mg/ 两周时为非线性吸收,当给药量介于 140 mg/ 两周至 420 mg/ 月之间时为线性吸收。注射 Evolocumab 后平均经过 4 d 达到最大血药浓度,绝对生物利用度为 72%^[6],见表 1。

3.2 分布

一次静脉注射 Evolocumab 420 mg 后的稳态分布容积为 (3.3 ± 0.5) L,这意味着 Evolocumab 的组织分布有限。

3.3 代谢与清除

Evolocumab 的平均系统清除率为 (12 ± 2) mL·h⁻¹;在 140 mg/ 两周或 420 mg/ 月的给药剂量下药物积累量为 2~3 倍;有效半衰期为 11~17 d。Evolocumab 经体内代谢后成为小分子肽和氨基酸。

3.4 内在和外在影响因素

在使用 Evolocumab 时不需要根据不同病患的年龄、体重、种族及性别作剂量调整。

4 临床研究

在 Evolocumab 的整个开发过程中,安进公司共组织了 26 项临床研究,其中包括 2 项生物药剂学研究、8 项临床药理学研究、16 项 II 期或 III 期临

床研究^[2]。

4.1 单独使用

4.1.1 治疗非家族性高胆固醇血症及 HeFH 共针对 7 400 名非家族性高胆固醇血症及 HeFH 患者进行了临床试验,其中 1 项双盲、包含 1 700 名非家族性高胆固醇血症及 HeFH 受试者的 Phase II 研究显示:分别以 140 mg/ 两周和 420 mg/ 月的剂量给予 Evolocumab 12 周,导致其 LDL-C 水平与安慰剂组相比降低了 50%~70%;与依泽替米贝组相比降低了 35%~40%。

Evolocumab 不仅能降低受试者的 LDL-C 水平,同时也可显著下调其他脂类参数。以 1 项名为 MENDEL-2 的 Phase III 研究为例,以 420 mg/ 月的剂量治疗 12 周后,受试者的总胆固醇(TC)、非高密度脂蛋白胆固醇(Non-HDL-C)、载脂蛋白 B(ApoB)、脂蛋白[Lp(a)]、三酰甘油(TG)、极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、载脂蛋白 A1(ApoA1)分别下降了 37%、53%、51%、26%、22%、22%、9%、5%。

另 1 项双盲的、包含 4 000 名非家族性高胆固醇血症及 HeFH 受试者的 Phase III 研究显示:以 140 mg/ 两周和 420 mg/ 月的剂量给予 Evolocumab 12 周后,受试者的 LDL-C 水平与安慰剂组相比降低了 55%~75%;与依泽替米贝组相比降低了 35%~45%。这个实验结果的重现性很高,在不同年龄、种族、性别、体质、心血管风险下均得到了相同的结果。

4.1.2 治疗 HoFH 共针对 155 名 HoFH 患者(包括 14 名大于 12 岁的儿童)进行了临床实验。其中 1 项 Phase III 研究显示,以 420 mg/ 月的剂量给药 12 周后,Evolocumab 组 HoFH 患者的 LDL-C 比安慰剂组降低了 31%,并且使多项脂类参数大幅下降。将给药剂量加倍后(420 mg/ 两周),HoFH 患者的 LDL-C 水平平均下降了 37%^[8]。

4.2 联合他汀类药物使用

在名为 LAPLACE-TIMI 57 的 1 项 Phase II 研究中,针对 629 名家族及非家族性高胆固醇血症患者(LDL-C>85 mg·dL⁻¹)进行联合用药试验(Evolocumab 和 statin)。试验分别考察了 Evolocumab 用量为 70、105、140 mg/ 两周及

表 1 Evolocumab 给药剂量为 420 mg/ 月时的药代动力学参数

参数	平均数(标准差)
$CL/L \cdot d^{-1}$	0.278 (0.054)
V_{ss}/L	3.34 (0.460)
$C_{max}/\mu g \cdot mL^{-1}$	53.7 (16.8)
t_{max}/d	4.0 (1.9 - 10)
$AUC_{last}/d \cdot \mu g \cdot mL^{-1}$	870 (309)
F/%	72%
$t_{1/2,eff}/d$	16.8

280、350、420 mg/月时的疗效。结果显示,在联合用药12周后,与安慰剂组相比,140 mg/两周组的LDL-C浓度下降了69%,420 mg/月组的LDL-C浓度下降了54%^[8]。

而另1项名为YUKAWA的Phase II研究,则针对307名更严重的家族及非家族性高胆固醇血症患者(LDL-C>115 mg·dL⁻¹)进行了联合用药试验(Evolocumab和statin)。该试验考察了Evolocumab的用量分别为70、140 mg/两周及280、420 mg/月时的疗效。结果显示,在联合用药12周后,140 mg/两周组的LDL-C浓度比安慰剂组下降了72%。

4.3 他汀类耐药组

在名为GAUSS的1项Phase II研究中,挑选了157名他汀类药物耐受的高胆固醇血症患者(LDL-C>100 mg·dL⁻¹)进行临床试验。分别考察了Evolocumab的用量为280、350、420 mg/月时的疗效。结果显示,在用药12周后,与依泽替米贝组相比,420 mg/月组的LDL-C浓度下降了38%。这说明在治疗他汀类药物耐药的病患方面,Evolocumab的效果远优于依泽替米贝^[6,8]。

4.4 配合体外血脂分离技术治疗 HoFH

对于未进行体外血脂分离治疗的HoFH患者,以420 mg/月的剂量使用Evolocumab 12周后,其体内LDL-C水平比安慰剂组降低31%。而已经过血脂分离技术治疗的HoFH患者对Evolocumab的敏感度下降,在同等治疗条件下,其LDL-C水平只比安慰剂组降低10%^[6]。

4.5 长期实验

1项名为OSLER的Phase II研究考察了长期(5年)使用Evolocumab的治疗效果,该研究挑选1324名家族及非家族性高胆固醇血症患者(LDL-C>85 mg·dL⁻¹),以420 mg/月的剂量治疗5年。结果显示,与安慰剂组相比,这些患者体内的LDL-C浓度平均下降了66%^[6,8-10]。

5 不良反应与注意事项

在关于Evolocumab安全性的实验中,共考察了4871名受试者,其中75%受试者的胆固醇为中度或重度水平^[2]。其中1项名为OSLER的Phase

III试验显示,Evolocumab组、安慰剂组和依泽替米贝组中报道的副作用案例数量总体相似,均在46%~58%的范围内。其中,最常出现的5种副作用及其发生概率分别为:鼻炎(12.2%)、上呼吸道感染(7.7%)、流行性感冒(7.1%)、关节痛(6.9%)以及背痛(6.5%)。其他一些可能出现的副作用还包括肌肉相关疾病(9.2%)、肝功能指标上升(1.8%)、肌酶上升(1.0%)。这些受试者中约有7.1%的人群副作用较为严重^[3,5]。

在临床使用Evolocumab时应特别注意:由于尚未针对重度肾功能受损(定义为eGFR<30 mL·min⁻¹·1.73 m⁻²)患者进行研究,所以在重度肾功能受损患者中应谨慎使用Evolocumab。另外,在中度肝功能受损患者中观察到Evolocumab总暴露量下降,这可能导致降LDL-C作用减弱,因此需对此类患者进行密切监测。尚未针对重度肝功能受损(Child-Pugh C)患者进行研究,所以在重度肝功能受损患者中也应谨慎使用Evolocumab。

另需注意,Evolocumab是一种皮下注射药物,禁止静脉注射或肌肉注射,可在腹部、大腿及上臂区域皮肤注射;该药不应注射于娇嫩、擦伤、发红或硬结皮肤区域。患者在启动Evolocumab治疗前,需要排除导致胆固醇过高或血脂水平异常的一些继发性因素(非遗传性)。

6 国内研发现状

Evolocumab在临床上表现出了良好的治疗效果,并已获准在欧盟上市,但目前安进公司尚未在中国提交新药注册申请,该药进入中国市场还尚待时日。2014年安进公司新申请了4项关于Evolocumab的国际专利,但未见其针对该产品在中国申请知识产权保护,这可能是由于其知识产权策略尚在布局之中。由于Evolocumab才刚刚上市,许多关键数据还未披露,对其仿制还存在一些技术上的难点,国内外尚未见其生物仿制药的报道。

7 结语

以Evolocumab为代表的PCSK9抑制剂为高血脂的治疗开辟了一条新的治疗途径,使得对传统药物耐药的病患也看到了希望。作为难得的经验

证的降脂靶标,国际上 PCSK9 抑制剂的研发竞争极为激烈。安进的 Repatha (Evolocumab) 率先在欧盟上市拔得头筹;而在美国,赛诺菲 /Regeneron 的 Praluent (alirocumab) 利用其斥巨资(6 750 万美元)购进的加速审评券,将审查周期从常规的 10 个月大幅缩短至 6 个月,成功超越安进占得先机。辉瑞的 Bococizumab、礼来的 LY-3015014 和罗氏的 RG7652 也已进入 II 期临床阶段。总体来说,PCSK9 抑制剂在欧盟批准的适应证较广,在美国仅被批准用于家族性高血脂症和高风险病患。除了认知功能障碍风险,其进一步的心血管疾病治疗效果仍还需要大规模临床研究的验证。我国在 PCSK9 领域的研究尚处于起步阶段,2015 年国家卫计委颁布的《重大新药创制科技重大专项 2015 年课题重点内容方向》中将 PCSK9 抑制剂研发指定为重点研究方向,这势必将激发我国在 PCSK9 领域的生物仿制药以及创新药的研究热潮。

【参考文献】

- [1] Estimating the cost burden of cardiovascular disease – now and in the future[OL]. [2015-08-20]. <http://www.astrazeneca.com/About-Us/Features/Article/20140828-Estimating-the-cost-burden-of-cardiovascular-disease>.
- [2] Evolocumab[OL]. [2015-08-20]. <http://www.fda.gov/downloads/advisorycommittees/committeesmeetingmaterials/drugs/endocrinologicandmetabolicdrugsadvisorycommittee/ucm452354.pdf>
- [3] Cicero A F, Tartagni E, Ertek S. Efficacy and safety profile of evolocumab (AMG145), an injectable inhibitor of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9: the available clinical evidence[J]. Expert Opin Biol Ther, 2014, 14(6):863-868.
- [4] Repatha[OL]. [2015-08-20]. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/003766/WC500191401.pdf.
- [5] Cicero A F, Colletti A, Borghi C. Profile of evolocumab and its potential in the treatment of hyperlipidemia[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9:3073-3082.
- [6] Backgrounder[OL]. [2015-08-20]. <http://www.fda.gov/downloads/advisorycommittees/committeesmeetingmaterials/drugs/endocrinologicandmetabolicdrugsadvisorycommittee/ucm450072.pdf>.
- [7] Zhang Y, Eigenbrot C, Zhou L, et al. Identification of a small peptide that inhibits PCSK9 protein binding to the low density lipoprotein receptor[J]. J Biol Chem, 2014, 289(2):942-955.
- [8] Langslet G, Emery M, Wasserman S M. Evolocumab (AMG 145) for primary hypercholesterolemia[J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2015, 13(5): 477-488.
- [9] Raal F J, Stein E A, 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.
- [10] Raal F J, Honarpour N, Blom D J, 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.

数字用法

以《中华人民共和国国家标准 (GB/T15835 - 2011) 出版物上数字用法的规定》为准。

公历世纪年代年月日和时刻 用阿拉伯数字,年份不能简写,如 1990 年不能写成 90 年。

阿拉伯数字的使用规则 ①多位的阿拉伯数字不能拆开转行;②计量和计数单位前的数字必须用阿拉伯数字;③小数点前或后若超过 4 位数(含 4 位),应从小数点起向左或向右每 3 位空半格;④纯小数须写出小数点前用以定位的 0;⑤数值的增加可用倍数表示,减少只能用分数或 % 表示,例如增加 2 倍,减少 1/5 或减少 20%。

参与与偏差范围 ①数值范围:二至十写成 2 ~ 10; $5 \times 10^6 \sim 9 \times 10^6$ 可写成 $(5 \sim 9) \times 10^6$,但不能写成 $5 \sim 9 \times 10^6$;②百分数范围:10% ~ 15% 不能写成 10 ~ 15%, $(20 \pm 5) \%$ 不能写成 $20 \pm 5\%$;③具有相同单位的量值范围:3.5 ~ 5.4 mA 不必写成 3.5 mA ~ 5.4 mA;④偏差范围:如 $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ 不能写成 $30 \pm 1 ^\circ\text{C}$ 。

——摘自本刊 2015 年投稿须知