

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

韦文香^{1a}, 熊伟^{1b}, 游婧琛^{1a}, 陈光友², 刘艳^{1a*} (1.西南医科大学, a.药物与功能性食品研究中心, b.科技处, 四川 泸州 646000; 2.西南医科大学附属中医医院骨科, 四川 泸州 646000)

摘要: 目的 观察黄连素对高脂小鼠肝脏、胰腺中 PCSK9 和 LDLR 的不同调控, 探讨其减缓高脂血症和高胰岛素血症的新作用机制。方法 SPF 级 C57BL/6J 小鼠随机分为 3 组: 正常对照组(普通饮食喂养)、高脂饲料组(高脂饮食喂养)、黄连素组(高脂饮食喂养同时灌胃黄连素)。自动血糖仪检测空腹血糖值; 酶联免疫法(ELISA)测空腹血清胰岛素水平, 计算血糖与胰岛素比值。ELISA 测空腹血清 PCSK9 水平; 酶标仪和相应的试剂盒检测血清中的甘油三酯、总胆固醇、高密度胆固醇、低密度胆固醇的含量。HE 染色法观察肝脏和胰腺的组织形态变化。Western blotting 检测肝脏和胰腺中 PCSK9 和 LDLR 蛋白的表达。结果 黄连素能降低血清中胆固醇的含量, 同时明显降低血浆中 PCSK9 的含量, 减少肝脏 PCSK9 蛋白表达, 增加肝脏表面 LDLR 蛋白表达; 改善高脂诱导的胰岛素抵抗, 减少胰岛细胞肥大及空泡数量, 增加胰腺表面 PCSK9 蛋白表达, 减少胰腺表面 LDLR 蛋白表达。结论 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, 同时在胰腺中抑制 LDLR 介导的胆固醇摄取, 从而改善高脂饮食诱导的肝脏脂肪性病变和胰岛素抵抗。

关键词: 黄连素; PCSK9; 肝脏; 胰腺; LDLR

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2022)14-1803-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.14.003

引用本文: 韦文香, 熊伟, 游婧琛, 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[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(14): 1803-1807.

Berberine Attenuates Hyperlipidemia and Hyperinsulinemia in Mice Fed with High-Fat Diet in Associated with Differential Regulation of PCSK9 and LDLR in Liver and Pancreas

WEI Wenxiang^{1a}, XIONG Wei^{1b}, YOU Jingcan^{1a}, CHEN Guangyou², LIU Yan^{1a*} (1.Southwest Medical University, a.Drug Discovery Research Center, b.Department of Science and Technology, Luzhou 646000, China; 2.Department of Orthopedics, Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the differential regulation of berberine on PCSK9 and LDLR in liver and pancreas of hyperlipidemia mice, and to explore the new effect and mechanism of berberine on reducing hyperlipidemia and hyperinsulinemia. **METHODS** SPF grade C57BL/6J mice were randomly divided into 3 groups. The control group was fed with normal diet, the high fat diet group was fed with high fat diet, and the berberine group was given both high fat diet and berberine by gastric perfusion at the same time. Fasting blood glucose was measured by automatic glucose meter. Fasting serum insulin was measured by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA), and the ratio of blood glucose to insulin was calculated. Fasting serum PCSK9 level was measured by ELISA. The contents of triglyceride, total cholesterol, high density cholesterol and low density cholesterol in serum were determined by ELISA and corresponding kit. The morphological changes of liver and pancreas were observed by HE staining. The expressions of PCSK9 and LDLR proteins in liver and pancreas were detected by Western blotting. **RESULTS** Berberine could reduce cholesterol content in serum, PCSK9 content in plasma, PCSK9 protein expression of liver, and increase LDLR protein expression on liver surface. It could improve insulin resistance induced by high fat diet, reduce the number of hypertrophy and vacuoles of islet cells, increase the expression of PCSK9 protein on pancreatic surface, and decrease the expression of LDLR protein on pancreatic surface. **CONCLUSION** Berberine regulates the expression and secretion of PCSK9 in high fat diet mice with tissue specificity, enhance LDLR-mediated cholesterol cell uptake in liver and inhibiting LDLR-mediated cholesterol uptake in pancreas, thereby improving liver fatty disease and insulin resistance induced by high fat diet.

KEYWORDS: berberine; PCSK9; liver; pancreas; LDLR

基金项目: 四川省科技计划项目(2018SZ0406); 泸州市人民政府-西南医科大学科技战略合作项目(2019LZXNYDJ51); 西南医科大学校级大创项目(2021426, 2021502)

作者简介: 韦文香, 女

E-mail: 1637026303@qq.com

***通信作者:** 刘艳, 女, 博士, 副研究员

E-mail: liuyanlucky@126.com

黄连素是中药黄连(*Coptis chinensis* Franch.)的主要有效生物碱成分,具有降血脂、降血糖、抗菌、抗炎等广泛的药理作用^[1-2]。

PCSK9 是一种由肝脏分泌的胞内蛋白酶,可促进低密度脂蛋白受体(low-density lipoprotein receptor, LDLR)降解,从而使血浆低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)升高。对小鼠的研究表明,肝脏分泌的PCSK9 越多、活性越大,肝脏摄取 LDL-C 越少,LDL-C 的循环水平越高^[3]。De Castro-orós 等从细胞水平上研究表明,在促进脂质清除过程中,黄连素可调节 ERK 通路和调节 JNK 通路增加 LDLR 启动子的转录活性,促进肝细胞表面 LDLR 的表达,降低血清 LDL-C 水平,从转录后水平抑制 PCSK9 表达^[4-6]。因此,PCSK9 可能是黄连素降脂调脂的新作用靶点。

胰腺 β 细胞也能产生 LDLR 和 PCSK9,研究表明 PCSK9 敲除小鼠的胰岛中 LDLR 和胆固醇含量较高^[7-8]。已知细胞内胆固醇积累可抑制 β 细胞的内分泌功能, β 细胞功能受损,胰岛素分泌不足。因此 PCSK9 在胰岛中起到保护作用^[9-10]。最近的 Meta 分析也表明 PCSK9 功能性缺失的人群更易患糖尿病^[11]。研究表明黄连素可以促进胰岛 β 细胞的修复和再生,这种作用是否与黄连素对 PCSK9 的调节作用有关,目前暂无文献报道。本研究旨在探讨黄连素对高脂小鼠肝脏、胰腺中 PCSK9 和 LDLR 的不同调节作用,阐释黄连素新的降糖调脂作用机制。

1 材料和方法

1.1 动物分组及给药

C57BL/6J 小鼠,♂,SPF 级,30 只,6~8 周龄,使用许可证号为 SYXK(渝)2017-0006,购自重庆腾鑫生物技术股份有限公司,生产许可证号为 SCXK(渝)2017-0007;动物实验经由西南医科大学动物伦理委员会审查同意实施。小鼠适应性生长 1 周后,随机分为 3 组:①正常对照组:喂食正常饲料 12 周后,按体质量每天灌胃空白溶剂(5%的羧甲基纤维素钠溶液);②高脂饲料组:高脂饲料喂养 12 周后,按体质量每天灌胃空白溶剂(5%的羧甲基纤维素钠);③黄连素组:高脂饲料 12 周后,按 100 mg·kg⁻¹体质量每天灌胃黄连素溶液(5%的羧甲基纤维素钠配制)。持续灌胃 4 周后,收集血清、肝脏、胰腺,部分用液氮冷冻,部分

固定在 10%中性缓冲福尔马林溶液中。

1.2 药品和试剂

盐酸小檗碱(成都曼斯特生物科技有限公司,含量:98%;批号:MUST-18081510);小鼠 PCSK9 ELISA 试剂盒(货号:ab215538)、PCSK9 抗体(货号:ab181142)、LDLR 抗体(货号:ab30532)均购自 Abcam 公司;小鼠甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total Cholesterol, TC)、高密度胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、LDL-C 测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号分别为 A110-1-1, A111-1-1, A112-1-1, A113-1-1);小鼠胰岛素 ELISA 试剂盒(Abnova 公司,货号:KA3812);小鼠血糖试纸(德国罗氏公司)。

1.3 仪器

ACCU-CHEK Performa 自动血糖仪(德国罗氏);Spectramax M3 全自动酶标仪(Molecular 公司);倒置相差显微镜(日本 Olympus);Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore);电子天平(德国 Sartorius);DYY-11B 型三恒电泳仪、Power Pac™ Basic 转膜仪(美国 BIO-RAD)。

1.4 方法

1.4.1 动物的处死 于灌胃第 4 周结束后,禁食 12 h,给予戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,打开腹腔取下腔静脉血,离心,获得血清。解剖,取肝脏、胰腺用于生化试验和病理切片。

1.4.2 血清胰岛素水平测定 用自动血糖仪检测空腹血糖值,用小鼠 ELISA 试剂盒检测血清中的胰岛素含量,测算血糖和胰岛素比值(GIR)。

1.4.3 血清 PCSK9 水平测定 用小鼠 PCSK9 ELISA 试剂盒测空腹血清 PCSK9 含量。

1.4.4 血脂水平测定 用 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 测定试剂盒,在酶标仪上分别测定血清中 TC、TG、LDL-C、HDL-C 的含量。

1.4.5 肝脏和胰腺的组织形态变化 用 10%的甲醛将肝脏和胰腺固定后,包装成石蜡切片。肝脏和胰腺的石蜡切片用 HE 染色法进行染色。

1.4.6 肝脏和胰腺中 PCSK9 和 LDLR 蛋白的表达 Western blotting 检测肝脏和胰腺中 PCSK9 和 LDLR 蛋白的表达。

1.4.7 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析,符合正态分布的实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较均用 t 检验。

2 结果

2.1 体质量变化

高脂饲料喂养 12 周后,小鼠体质量显著高于正常饮食小鼠,差异有统计学意义($P<0.05$);黄连素组体质量显著降低,与高脂饲料组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 1。

2.2 空腹血清血脂水平

高脂饲料组血清中 TC、LDL-C 的含量明显高于正常对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);黄连素组对正常对照组而言,TC、LDL-C 虽有所升高,但差异无统计学意义。黄连素组与高脂饲料组比较,TC 和 LDL-C 明显降低($P<0.05$),TG 也一定程度降低。结果见表 1。

表 1 各组小鼠的体质量及血脂水平($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab. 1 Body weight and plasma lipid profile of mice in each group($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	TG/ mmol·L ⁻¹	TC/ mmol·L ⁻¹	HDL-C/ mmol·L ⁻¹	LDL-C/ mmol·L ⁻¹	体质量/g
正常对照组	0.25±0.17	1.63±0.26	2.74±0.45	0.29±0.02	26.76±1.18
高脂饲料组	0.34±0.12	4.30±0.34 ¹⁾	2.96±0.56	1.85±0.10 ¹⁾	29.05±0.91 ¹⁾
黄连素组	0.21±0.19	2.40±0.38 ²⁾	3.79±0.34 ²⁾	0.72±0.19 ²⁾	24.01±1.22 ²⁾

注:与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$;与高脂饲料组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with high fat diet group, ²⁾ $P<0.05$.

2.3 GIR

与正常对照组比较,高脂饲料组小鼠血糖值明显上升,差异有统计学意义($P<0.05$);高脂饲料组小鼠血清中胰岛素约为正常对照组的 2 倍,证明有胰岛素抵抗。与高脂饲料组比较,黄连素组小鼠血糖值降低,差异有统计学意义($P<0.05$),且胰岛素水平略有下降(约 14%),证明黄连素能提高高脂饲料组小鼠的胰岛素敏感性。高脂饲料组小鼠 GIR 值明显高于正常对照组($P<0.05$),黄连素组 GIR 值略低于高脂饲料组,但差异无统计学意义,证明黄连素对胰岛素抵抗具有一定的改善作用。结果见表 2。

表 2 各组小鼠的血糖、胰岛素水平及 GIR 值比较($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab. 2 Comparison of blood glucose, insulin and GIR in blood serum of mice in each group($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	血糖/mmL ⁻¹	胰岛素/ng·mL ⁻¹	GIR
正常对照组	3.78±0.44	2.8±0.21	1.35±0.15
高脂饲料组	9.05±1.37 ¹⁾	5.2±0.98 ¹⁾	1.64±0.49 ¹⁾
黄连素组	6.48±1.10 ²⁾	4.5±0.86	1.45±0.38

注:与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$;与高脂饲料组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with high fat diet group, ²⁾ $P<0.05$.

2.4 空腹血清 PCSK9 水平

高脂饲料组血清中 PCSK9 的含量低于正常对照组,但差异无统计学意义;相对高脂饲料组,黄连素组 PCSK9 含量明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。结果见图 1。

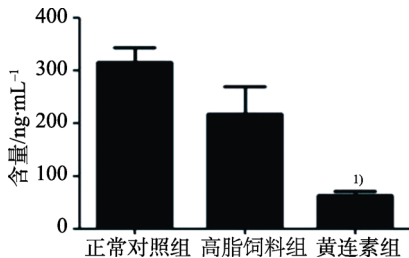


图 1 各组小鼠的血浆中 PCSK9 含量($\bar{x}\pm s$, $n=10$)与高脂饲料组比较, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 1 Content comparison of PCSK9 in blood serum of mice in each group($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Compared with high fat diet group, ¹⁾ $P<0.05$.

2.5 肝脏 HE 染色

HE 染色结果显示,与正常对照组比较,高脂饲料组小鼠肝脏组织有明显空泡状脂滴,变性严重;与高脂饲料组比较,黄连素组小鼠肝脏组织脂肪空泡明显减少,脂肪变性程度明显缓解,提示黄连素能够有效缓解高脂饮食造成的肝脏脂质累积,结果见图 2。

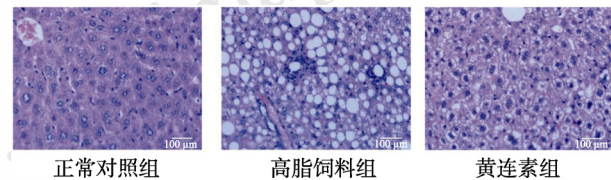


图 2 黄连素对高脂小鼠肝脏病理形态学变化的影响(HE, 400×)

Fig. 2 Effects of berberine on the pathological changes of liver in high-fat mice(HE, 400×)

2.6 胰腺 HE 染色

与正常对照组比较,高脂饲料组小鼠胰岛细胞明显肥大,变性严重,且胰岛细胞核染色密度较低,多数胰岛细胞有较多白色空泡,有些存在粉色结晶沉淀;黄连素灌胃给药后,胰岛细胞肥大状况得到明显改善,空泡数量和内物明显减少,提示黄连素能够有效缓解高脂饮食造成的胰腺组织损伤。结果见图 3。

2.7 肝脏 PCSK9、LDLR 蛋白水平

Western blotting 结果显示,与正常对照组比较,高脂饲料组肝脏 PCSK9 蛋白表达水平明显增加($P<0.05$),LDLR 蛋白水平略增高,但差异无统

计学意义;与高脂饲料组比较,黄连素组 PCSK9 蛋白水平明显降低($P<0.05$), LDLR 蛋白水平明显增高($P<0.05$)。提示黄连素能通过抑制肝脏分泌 PCSK9,增加 LDLR 摄取血浆中 LDLC,从而调节血脂水平。结果见图 4。

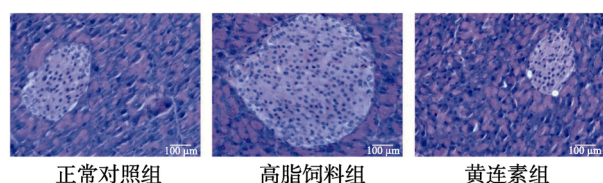


图 3 黄连素对高脂小鼠胰腺病理形态学变化的影响(HE, 400×)
Fig. 3 Effects of berberine on the pancreas histology in high-fat mice(HE, 400×)

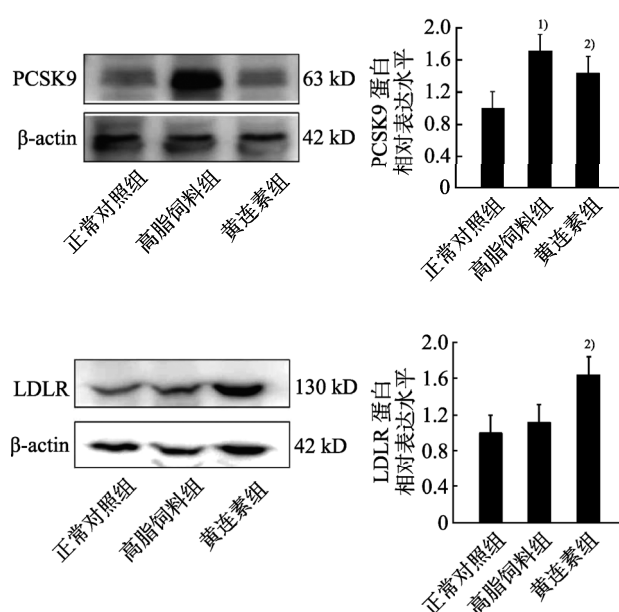


图 4 黄连素对小鼠肝脏 PCSK9 和 LDLR 蛋白表达的影响与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$;与高脂饲料组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。
Fig. 4 Effects of berberine on hepatic PCSK9 and LDLR expression in mice Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with high fat diet group, ²⁾ $P<0.05$ 。

2.8 胰腺 PCSK9、LDLR 蛋白水平

Western blotting 结果显示,与正常对照组比较,高脂饲料组 PCSK9 蛋白水平未有明显变化, LDLR 蛋白水平明显升高($P<0.05$);与高脂饲料组比较,黄连素组 PCSK9 蛋白水平显著升高($P<0.05$), LDLR 蛋白水平显著降低($P<0.05$)。提示黄连素能通过升高胰腺组织中 PCSK9 水平,降低 LDLR 水平,从而降低细胞内的胆固醇积累,有效缓解高脂饮食造成的胰岛细胞功能损害。结果见图 5。

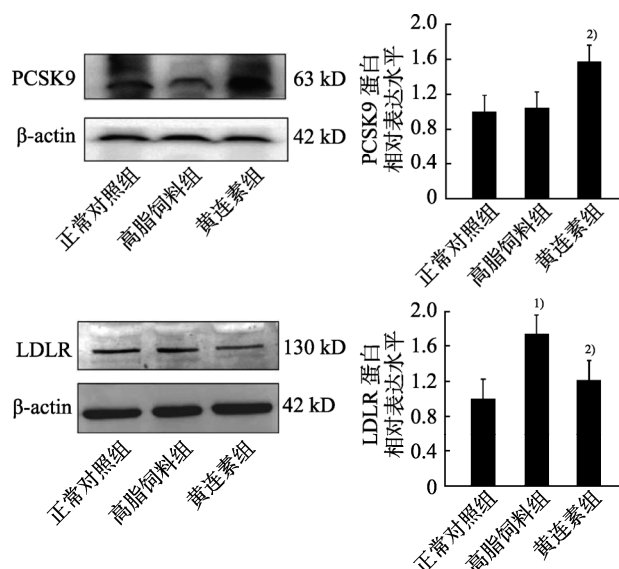


图 5 黄连素对小鼠胰腺 PCSK9 和 LDLR 蛋白表达的影响与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$;与高脂饲料组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。
Fig. 5 Effects of berberine on pancreatic PCSK9 and LDLR expression in mice Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with high fat diet group, ²⁾ $P<0.05$ 。

3 讨论

血液循环中的 PCSK9 主要来自肝脏的分泌,分泌入血的 PCSK9 才能与肝细胞表面 LDLR 结合,促进 LDLR 的降解,因此,血浆中 PCSK9 越少、活性越小,肝细胞表面 LDLR 表达越多,肝脏摄取 LDL-C 能力越强,LDLC 的血液循环水平越低^[11-13]。高脂小鼠灌胃给予黄连素后,循环中的 PCSK9 水平显著降低,Western blotting 研究表明相应的肝细胞表面 PCSK9 蛋白水平也降低,肝细胞表面 LDLR 蛋白水平增加;黄连素灌胃后,黄连素组 TC 和 LDLC 水平明显降低,明显改善高脂诱导的高胆固醇血症。以往的研究表明,黄连素不仅降低 HepG2 细胞 PCSK9 mRNA 水平,也能通过下调 HNF- α 和 SREBP2 的表达而显著抑制 PCSK9 的转录,从而抑制 PCSK9 蛋白的表达,同时升高 LDLR mRNA 及其蛋白水平^[4,14]。因此,本研究从动物水平上验证了黄连素可以通过调节肝脏 PCSK9 蛋白表达,从而调节血脂。

胰腺 β 细胞也能产生 LDLR 和 PCSK9,研究表明高脂喂养的 PCSK9^{-/-}小鼠展示出胰岛功能损伤及胰腺细胞中 LDLR mRNA 水平升高,胆固醇含量较高,因此 PCSK9 在胰岛中起到保护作用^[7-10]。本研究中高脂饲料组 LDLR 蛋白水平与正常对照组比较有明显增加,导致胰岛细胞过度摄入胆固醇,抑制 β 细胞的内分泌功能;而 PCSK9 蛋白水

平与正常对照组比较未有明显变化,可能与增加的 LDLR 过度摄入胆固醇有关,并未抑制 PCSK9 的表达;黄连素可使高脂饲料组 PCSK9 表达增加,从而抑制胰腺细胞过度表达 LDLR,从而减少胆固醇的摄入,因此保护胰岛细胞。本研究中高脂小鼠灌胃给予黄连素后,胰岛细胞表面 PCSK9 蛋白表达明显增高,LDLR 蛋白表达明显减少,对胰岛细胞起到了保护作用。高脂饲料组小鼠血糖值明显上升,且变成高胰岛素血症,这表明它们存在胰岛素抵抗。黄连素灌胃给药后,部分改善了高脂饲料组诱发的胰岛素抵抗。胰岛的组织学分析显示高脂饲料组小鼠胰岛细胞明显肥大,变性严重,多数胰岛细胞有较多白色空泡;黄连素灌胃给药后,胰岛细胞肥大状况得到明显改善,空泡数量和内物明显减少,提示黄连素能够有效缓解高脂饮食造成的胰腺组织损伤。因此,本研究从一个侧面证实了黄连素可以通过调节胰岛细胞中 PCSK9 含量,促进胰岛细胞的修复和再生。

综上所述,本研究的数据表明,黄连素调节高脂饲料组小鼠 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,同时在胰腺中抑制 LDLR 介导的胆固醇摄取,从而改善高脂饮食诱导的肝脏脂肪性病变和胰岛素抵抗。PCSK9 表达主要依赖 SREBP-2 和肝细胞核因子 1 α (HNF1 α)2 个转录因子的调节,研究表明黄连素主要通过调节 HNF1 α 来调节肝脏 PCSK9 的表达和分泌,但是胰腺表达 PCSK9 是否由 HNF1 α 和 SREBP-2 调节,目前没有研究报道,因此黄连素对肝脏和胰腺 PCSK9 表达的组织特异性产生的深层次原因,还有待进一步的研究。

REFERENCES

- [1] WANG X Y, HUANG X B, DENG X. Study on the mechanism of berberine for treatment of T2DM based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2020, 29(24): 2820-2831.
- [2] WANG J, LIN J J, SHEN T. Review on the mechanism of berberine reducing blood lipid[J]. *Shandong J Tradit Chin Med*(山东中医杂志), 2016, 35(3): 257-259.
- [3] DONG B, LI H, SINGH A B, et al. Inhibition of PCSK₉

transcription by berberine involves down-regulation of hepatic HNF1 α protein expression through the ubiquitin-proteasome degradation pathway[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(7): 4047-4058.

- [4] DE CASTRO-ORÓS I, SOLÀ R, VALLS R M, et al. Genetic variants of LDLR and PCSK9 associated with variations in response to antihypercholesterolemic effects of armolipid plus with berberine[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0150785. Doi: 10.1371/journal.pone.0150785.
- [5] OCHIN C C, GARELNABI M. Berberine encapsulated PLGA-PEG nanoparticles modulate PCSK-9 in HepG2 cells[J]. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*, 2018, 18(1): 61-70.
- [6] LIU Y, LUO P, WU J B. Advances in natural products with function of PCSK₉ regulation and their action mechanism[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2019, 50(9): 2229-2234.
- [7] MBIKAY M, SIROIS F, MAYNE J, et al. PCSK₉-deficient mice exhibit impaired glucose tolerance and pancreatic islet abnormalities[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(4): 701-706.
- [8] PAUL R, CHOUDHURY A, CHOUDHURY S, et al. Cholesterol in pancreatic β -cell death and dysfunction: Underlying mechanisms and pathological implications[J]. *Pancreas*, 2016, 45(3): 317-324.
- [9] MBIKAY M, SIROIS F, GYAMERA-ACHEAMPONG C, et al. Variable effects of gender and Western diet on lipid and glucose homeostasis in aged PCSK₉-deficient C57BL/6 mice CSK₉PC₅₇BL/6[J]. *J Diabetes*, 2015, 7(1): 74-84.
- [10] FERENC B A, ROBINSON J G, BROOK R D, et al. Variation in PCSK₉ and HMGCR and risk of cardiovascular disease and diabetes[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(22): 2144-2153.
- [11] SCHMIDT A F, SWERDLOW D I, HOLMES M V, et al. PCSK₉ genetic variants and risk of type 2 diabetes: A Mendelian randomisation study[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017, 5(2): 97-105.
- [12] ZAID A, ROUBTSOVA A, ESSALMANI R, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK₉): Hepatocyte-specific low-density lipoprotein receptor degradation and critical role in mouse liver regeneration[J]. *Hepatology*, 2008, 48(2): 646-654.
- [13] DENIS M, MARCINKIEWICZ J, ZAID A, et al. Gene inactivation of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces atherosclerosis in mice[J]. *Circulation*, 2012, 125(7): 894-901.
- [14] OCHIN C C, GARELNABI M. Berberine encapsulated PLGA-PEG nanoparticles modulate PCSK-9 in HepG2 cells[J]. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*, 2018, 18(1): 61-70.

收稿日期: 2021-06-16

(本文责编: 蔡珊珊)