

## 二肽基肽酶-4 在造血和移植中的作用

李德冠, 孟爱民

中国医学科学院 北京协和医学院 放射医学研究所天津放射医学与核医学重点实验室, 天津 300192

通信作者: 孟爱民 电话: 022-85682353, 电子邮件: ai\_min\_meng@126.com

**摘要:** 二肽基肽酶-4 (DPP-4) 具有剪切多肽 N 端第 2 个氨基酸为丙氨酸、脯氨酸的功能, 其作用底物包括许多与造血系统调节有关的趋化因子、克隆刺激因子和白细胞介素。近期研究表明, DPP-4 对集落刺激因子的剪切会改变其功能, 进而影响造血干祖细胞及移植, 但关于 DPP-4 的调节以及对大部分因子剪切后的影响仍未阐明, 本文总结了 DPP-4 抑制的相关研究进展, 提出今后的研究方向。

**关键词:** 二肽基肽酶-4; 造血干祖细胞; 移植

中图分类号: R331 文献标志码: A 文章编号: 1000-503X(2014)05-0538-04

DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2014.05.016

### Effects of Dipeptidyl Peptidase-4 on the Hematopoiesis and Transplantation

LI De-guan, MENG Ai-min

Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine,  
CAMS and PUMC, Tianjin 300192, China

Corresponding author: MENG Ai-min Tel: 022-85682353, E-mail: ai\_min\_meng@126.com

**ABSTRACT:** Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) is a protease that cleaves the peptides with alanine, proline, or other selective amino acids at the N-terminal penultimate position. The substrates of DPP-4 include many chemokines, colony-stimulating factors, and interleukins. Recent research has shown that DPP-4 can affect the hematopoietic stem and progenitor cells and transplantation by truncating the granulocyte colony stimulating factor. However, its regulatory effect on DPP-4 and most peptides truncation are still unknown. This review summarizes the recent advances in the DPP-4 research.

**Key words:** dipeptidyl peptidase-4; hematopoietic stem and progenitor cells; transplantation

*Acta Acad Med Sin*, 2014, 36(5): 538-541

造血系统是一个高度分化的系统, 其中, 造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSC) 和造血祖细胞 (hematopoietic progenitor cells, HPC) 发挥重要作用。造血干祖细胞 (hematopoietic stem and progenitor cells, HSPC) 主要受体液免疫调节, 包括细胞因子、趋化

因子以及刺激细胞增殖的正调控因子, 如: 促红细胞生成素、集落形成刺激因子 (colony-stimulating factor, CSF) 和白细胞介素等。虽然大量研究已经阐明了这些调节因子在细胞和细胞内的作用, 但对于这些因子在疾病或应激状态下的功能改变仍有待进一步研究。

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (973 计划) (2011CB964800-G)、国家自然科学基金 (81072237、81102873) 和天津自然科学基金 (12JQJNC09100) Supported by the National Basic Research Program of China (2011CB964800-G), the National Natural Sciences Foundation of China (81072237, 81102873), and the Natural Science Foundation of Tianjin (12JQJNC09100)

近来研究发现, 二肽基肽酶 (dipeptidyl peptidase, DPP)-4 能够作用于一些与造血系统调节有关的趋化因子、克隆刺激因子和白细胞介素因子, 提示 DPP-4 抑制可在造血系统及移植过程中发挥重要作用。本文总结了 DPP-4 抑制在造血系统和骨髓移植中的作用研究进展。

## DPP4 的结构和分布

DPP-4 是 1966 年 Hopsu-Havu 等<sup>[1]</sup> 在鼠肝脏组织匀浆中发现的一个蛋白酶、相对分子质量为 110 000, 是丝氨酸蛋白酶家族中的一种, 分布于细胞表面, 含有 766 个氨基酸, 其三维晶体结构在 2003 年由 Lambair 等<sup>[2]</sup> 研究证实。DPP 是丝氨酸蛋白酶家族的一个亚群, 主要包括 DPP-4、成纤维激活蛋白- $\alpha$  (fibroblast activation protein- $\alpha$ , FAP- $\alpha$ )、DPP-8 和 DPP-9, 其作用底物仍有待进一步发现。DPP-4 分为两种形式: 一种可在细胞表面表达 CD26; 另一种为可溶性分子, 缺少细胞内部分和转膜结构域, 两种 DPP-4 均具有酶活性。DPP-4 的活性部分是 Asp—His—Ser 片段, 其活性体为二聚体, 每个亚单位包含 2 个结构域, 凡是结构的 N 端为 Xaa-Pro-或 Xaa-Ala-的多肽都是 DPP-4 发挥活性的主要底物<sup>[3-4]</sup>。

可溶性 DPP-4 存在于血清/血浆、脑脊髓液、关节液和精液中, 具有跨膜结构的 DPP-4 则在多种组织的内皮和表皮细胞中表达, 包括骨髓细胞、静脉血管、胃肠道、肝脏、胰腺、肺、肾脏、前列腺等。此外, DPP-4 还在胚胎干细胞、HSC、HPC 以及其他多种成熟血细胞中表达<sup>[5]</sup>。

## DPP-4 的抑制

目前全球已有西格列汀 (sitagliptin)、维格列汀 (vildagliptin)、沙格列汀 (saxagliptin)、阿格列汀 (alogliptin)、利格列汀 (linagliptin)、吉格列汀 (gemigliptin) 和替格列汀 (teneligliptin) 7 种 DPP-4 抑制剂上市, 其中, 西格列汀、维格列汀和沙格列汀已在我国上市, 阿格列汀和利格列汀已在我国提出临床申请, 吉格列汀在我国由 LG Life Sciences 授权双鹤制药开发。这些 DPP-4 抑制剂主要作为治疗 2 型糖尿病的口服降糖药物, 通过抑制活性胰高血糖素样肽-1 (glucagon like peptide-1, GLP-1) 的降解失活, 提高其浓度, 增强其生理作用, 促进  $\beta$  细胞胰岛素的分

泌、抑制  $\alpha$  细胞的胰高血糖素分泌, 改善胰岛功能的紊乱, 同时没有增加体重和低血糖的风险, 不良反应少见<sup>[6-7]</sup>。

对 DPP-4 的调节作用机制目前尚未明确。Khurana 等<sup>[8]</sup> 研究发现, 给予 HSPC 组织因子途径抑制物 (tissue factor pathway inhibitor, TFPI) 可有效抑制 DPP-4 活性, 增加细胞对 CXCL12 (SDF-1) 的趋化性, 进而提高归巢和植入能力。对 GPC3<sup>-/-</sup> 小鼠的研究发现, 其 HSPC 增殖能力增加, 而 HSC 自我维持能力下降, 骨髓细胞表现出 DPP-4 高表达, 从而使进入循环的 HSPC 增加, 骨髓中干祖细胞池数目降低。GPC1<sup>-/-</sup> 小鼠未发现上述变化。这些结果证实, TFPI 可通过磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (glypican-3, GPC-3) 抑制 DPP-4 的活性。

## DPP4 抑制对细胞移植的调节作用

Christopherson 等<sup>[9]</sup> 研究发现, DPP4 在 G-CSF 动员小鼠 HPC 中可发挥介导作用, 并进一步证实 DPP-4 在小鼠 HSC 归巢和植入中起调节作用。此后, 研究人员在子宫内 HSC 移植、逆转录 HPC 移植等多个实验中, 均证实 DPP-4 可在造血细胞移植中发挥作用, 抑制 DPP-4 有利于造血细胞的归巢和植入<sup>[10-12]</sup>。

Prabhash 等<sup>[13]</sup> 观察了 CD26 在肿瘤患者或捐赠者动员外周血干细胞中的表达, 结果发现 CD26 的表达与白细胞植入效果相关, 有作为植入早期检测指标的可能。植入缓慢一直是临床脐带血移植难以克服的巨大难题, 因为这一过程中会降低 HSPC 数目。Farag 等<sup>[14]</sup> 在临床造血疾病患者 1 个单位脐带血移植过程中使用了 DPP-4 抑制剂西格列汀, 24 例患者 (21 ~ 58 岁) 在接受骨髓处理后, 在 -1 d 到 +2 d 每天口服 600 mg 西格列汀, 在第 0 天接受移植, 临床监测获得较好的植入效果, 中性粒细胞植入时间的中位数为 21 d。该研究为临床脐带血移植时应用 DPP-4 提供了基础, 利用西格列汀抑制 DPP-4 活性的剂量和时间仍有待进一步优化。而 DPP-4 抑制在其他如肌源性干细胞、原位单肺等移植中也有一定作用<sup>[15-16]</sup>。

## DPP-4 抑制对造血细胞的调节作用

Broxmeyer 等<sup>[17]</sup> 研究发现, DPP-4 可调节 G-CSF 功能影响造血系统, 进而引发 DPP-4 在造血系统作用的关注。有研究显示, 通过 diprotin A (ILE-PRO-ILE)

或缬氨酸-焦谷氨酸 (VAL-PYR) 等多肽小分子抑制 HSPC 上 DPP-4 的活性, 进而通过提高细胞对趋化因子 CXCL12 的趋化性, 可提高 HSPC 的归巢和植入能力<sup>[18-19]</sup>。DPP-4 剪切后的 CXCL12 缺失了趋化功能, 但是能够抑制全长 CXCL12 发挥作用。Broxmeyer 等<sup>[17]</sup>研究发现, 接受 DPP-4 剪切后的细胞因子无论是在体内还是体外, 其促进造血细胞的增殖能力都大幅下降, 并会降低其相应全长因子的活性。而在 DPP4<sup>-/-</sup>小鼠或者正常小鼠接受照射或者化疗前给予 DPP-4 抑制剂西格列汀, 均有助于小鼠的造血系统恢复。现在临床上用于动员 HSPC 的 G-CSF, 其 N 末端起始位点是蛋氨酸, 改变了原来的序列, 进而能够逃过 DPP-4 的剪切。Christopherson 等<sup>[20]</sup>则发现, 来自脐带血、骨髓还是动员外周血的单个核血细胞都表达 DPP-4, 利用 diprotin A 处理过的细胞均能有效增加对趋化因子 CXCL12 的趋化性。但在 CD26<sup>-/-</sup>小鼠和 diprotin A 预处理抑制 DPP-4 的小鼠中, G-CSF 对造血细胞的动员能力反而下降, 其机制有待进一步阐明。

巨核细胞可通过促血小板生成素受体 (anti-thrombopoietin receptor, c-MPL) 直接影响 HSC 的静止或者通过分泌因子间接影响 HSC 的增殖与存活。而对 DPP4<sup>-/-</sup>小鼠研究发现, 尽管 DPP-4 敲除未对外周血计数产生明显作用。但在 DPP4<sup>-/-</sup>小鼠骨髓中, 无论是巨核细胞 (lin<sup>-</sup>CD41<sup>+</sup>CD61<sup>+</sup>) 还是巨核祖细胞 (lin<sup>-</sup>CD41<sup>+</sup>CD61<sup>+</sup>C-kit<sup>+</sup>Sca-1<sup>-</sup>) 的数目都有显著提高, 提示 DPP-4 的缺失或者抑制有益于巨核细胞的发育, 但机制尚未明确<sup>[21]</sup>。

### DPP-4 抑制对造血微环境的调节作用

造血微环境是 HSC 赖以生成的场所, 造血细胞在微环境各种因素的调控下增殖、分化、发育及成熟。Ou 等<sup>[22]</sup>利用 NCBI 数据库和通用蛋白资源 (universal protein resource, UniProt) 寻找的氨基酸序列找到了近百个具有 DPP-4 切除位点的分子。这些分子有许多是能够调节造血细胞的趋化因子和生长因子, 如成纤维细胞生长因子-2 (fibroblast growth factor-2, FGF-2)、白细胞介素 (interleukin, IL) -5、IL-6、IL-17、CXCL12、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 等, 这些因子均已有文献报道是存在于造血微环境或者被 HSPC 表达, 能够调节造血系统的稳态。

Cho 等<sup>[23]</sup>研究发现, 甲状旁腺激素 (parathyroid

hormone, PTH) 能够刺激体外原代培养的成骨细胞和体内骨髓细胞高表达 IL-6, IL-6 进一步诱导成骨细胞释放转化生长因子-β, 导致骨髓微环境中淋系细胞增加。Itikin 等<sup>[24]</sup>研究发现, FGF-2 体外处理可促进 HSPC 和基质细胞的繁殖。Krstic 等<sup>[25]</sup>研究发现, IL17 可刺激早期红系祖细胞的发育, 通过 p38MAPK 通路抑制晚期红细胞生长。而 IL-6/IL-17 和 FGF-2 等因子都具有 DPP-4 的切除位点, 提示 DPP-4 对造血微环境必有不可缺少的作用, 但 DPP-4 对造血微环境的调节作用机制仍有待进一步探索。

总之, 目前已经证实 DPP-4 抑制可通过提高细胞对趋化因子 CXCL12 的趋化性以及细胞因子功能的调节在 HSPC 归巢和移植过程中发挥重要作用。DPP-4 抑制不仅能够影响 HSPC, 还能影响造血微环境。但是由于大量细胞因子都具有理论的 DPP-4 剪切位点, 一方面需要观察各类因子是否具有真正的 DPP-4 剪切位点, 另一方面还要观察 DPP-4 剪切前后对细胞因子功能的影响。故 DPP-4 的调节作用机制仍有待进一步明确。

### 参 考 文 献

- [1] Hopsu-Havu VK, Glenner GG. A new dipeptide naphthylamide hydrolyzing glycyl-prolyl-beta-naphthylamide [J]. *Histochemie*, 1966, 7(3):197-201.
- [2] Lambeir AM, Durinx C, Scharpe S, et al. Dipeptidyl-peptidase IV from bench to bedside: an update on structural properties, functions, and clinical aspects of the enzyme DPP IV [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2003, 40(3):209-294.
- [3] Christopherson KW 2nd, Hangoc G, Mantel CR, et al. Modulation of hematopoietic stem cell homing and engraftment by CD26 [J]. *Science*, 2004, 305(5686):1000-1003.
- [4] Van der Veken P, Haemers A, Augustyns K. Prolyl peptidases related to dipeptidyl peptidase IV: potential of specific inhibitors in drug discovery [J]. *Curr Top Med Chem*, 2007, 7(6):621-635.
- [5] O'Leary H, Ou X, Broxmeyer HE. The role of dipeptidyl peptidase 4 in hematopoiesis and transplantation [J]. *Curr Opin Hematol*, 2013, 20(4):314-319.
- [6] 陈卓, 张庆文. DPP-4 抑制剂研究进展 [J]. *上海医药*, 2013, 34(7):50-55.
- [7] Havale SH, Pal M. Medicinal chemistry approaches to the inhibition of dipeptidyl peptidase-4 for the treatment of type 2 diabetes [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17(5):1783-1802.
- [8] Khurana S, Margamuljana L, Joseph C, et al. Glypican-3-

- mediated inhibition of CD26 by TFPI: a novel mechanism in hematopoietic stem cell homing and maintenance [J]. *Blood*, 2013, 121(14):2587-2595.
- [9] Christopherson KW 2nd, Cooper S, Broxmeyer HE. Cell surface peptidase CD26/DPP-IV mediates G-CSF mobilization of mouse progenitor cells [J]. *Blood*, 2003, 101(12):4680-4686.
- [10] Peranteau WH, Endo M, Adibe OO, et al. CD26 inhibition enhances allogeneic donor-cell homing and engraftment after in utero hematopoietic-cell transplantation [J]. *Blood*, 2006, 108(13):4268-4274.
- [11] Tian C, Bagley J, Forman D, et al. Inhibition of CD26 peptidase activity significantly improves engraftment of retrovirally transduced hematopoietic progenitors [J]. *Gene Ther*, 2006, 13(7):652-658.
- [12] Yoo E, Paganessi LA, Alikhan WA, et al. Loss of CD26 protease activity in recipient mice during hematopoietic stem cell transplantation results in improved transplant efficiency [J]. *Transfusion*, 2013, 53(4):878-887.
- [13] Prabhaskar K, Khattry N, Bakshi A, et al. CD26 expression in donor stem cell harvest and its correlation with engraftment in human haematopoietic stem cell transplantation: potential predictor of early engraftment [J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(3):582-588.
- [14] Farag SS, Srivastava S, Messina-Graham S, et al. *In vivo* DPP-4 inhibition to enhance engraftment of single-unit cord blood transplants in adults with hematological malignancies [J]. *Stem Cells Dev*, 2013, 22(7):1007-1015.
- [15] Parker MH, Loretz C, Tyler AE, et al. Inhibition of CD26/DPP-IV enhances donor muscle cell engraftment and stimulates sustained donor cell proliferation [J]. *Skelet Muscle*, 2012, 2(1):4.
- [16] Jungraithmayr W, De Meester I, Matheeußen V, et al. CD26/DPP-4 inhibition recruits regenerative stem cells via stromal cell-derived factor-1 and beneficially influences ischaemia-reperfusion injury in mouse lung transplantation [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2012, 41(5):1166-1173.
- [17] Broxmeyer HE, Hoggatt J, O'Leary HA, et al. Dipeptidylpeptidase 4 negatively regulates colony-stimulating factor activity and stress hematopoiesis [J]. *Nat Med*, 2012, 18(12):1786-1796.
- [18] Paganessi LA, Walker AL, Tan LL, et al. Effective mobilization of hematopoietic progenitor cells in G-CSF mobilization defective CD26<sup>-/-</sup> mice through AMD3100-induced disruption of the CXCL12-CXCR4 axis [J]. *Exp Hematol*, 2011, 39(3):384-390.
- [19] Hildebrandt M, Schabath R. SDF-1 (CXCL12) in haematopoiesis and leukaemia: impact of D PPIV/CD26 [J]. *Front Biosci*, 2008, 13(1):1774-1779.
- [20] Christopherson KW 2nd, Frank RR, Jagan S, et al. CD26 protease inhibition improves functional response of unfractionated cord blood, bone marrow, and mobilized peripheral blood cells to CXCL12/SDF-1 [J]. *Exp Hematol*, 2012, 40(11):945-952.
- [21] Kidd S, Bueso-Ramos C, Jagan S, et al. *In vivo* expansion of the megakaryocyte progenitor cell population in adult CD26-deficient mice [J]. *Exp Hematol*, 2011, 39(5):580-590, e1.
- [22] Ou X, O'Leary HA, Broxmeyer HE. Implications of DPP4 modification of proteins that regulate stem/progenitor and more mature cell types [J]. *Blood*, 2013, 122(2):161-169.
- [23] Cho SW, Piri FQ, Koh AJ, et al. The soluble interleukin-6 receptor is a mediator of hematopoietic and skeletal actions of parathyroid hormone [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(10):6814-6825.
- [24] Itkin T, Ludin A, Gradus B, et al. FGF-2 expands murine hematopoietic stem and progenitor cells via proliferation of stromal cells, c-Kit activation, and CXCL12 down-regulation [J]. *Blood*, 2012, 120(9):1843-1855.
- [25] Krstic A, Kocic J, Ilic V, et al. Effects of IL-17 on erythroid progenitors growth: involvement of MAPKs and GATA transcription factors [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2012, 26(4):641-652.

(收稿日期: 2014-01-16)