

· 药 学 进 展 ·

二肽基肽酶 4 及其抑制剂在新型冠状病毒肺炎防治中的研究进展*

陈志会^{1,2}, 杨艳³, 涂玲¹, 徐西振²

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 1.综合医疗科;2.心血管内科;3.内分泌科,武汉 430030)

摘 要 新型冠状病毒肺炎(COVID-19)全球大流行给世界健康造成巨大威胁,然而到目前为止尚没有临床证实有效的治疗方法。最近研究显示二肽基肽酶 4(DPP4)可能是新型冠状病毒的功能受体,然而 DPP4 是否直接参与新型冠状病毒与靶细胞的黏附与感染,抑制或者调节 DPP4 的表达与活性能否阻止 COVID-19 的发生发展尚需要进一步研究。以往研究显示 DPP4 抑制剂具有抗炎和抗纤维化作用,因此推测 DPP4 抑制剂可能具有抑制 COVID-19 患者高炎症反应状态、改善患者肺纤维化的作用,尚需临床试验加以证实。

关键词 二肽基肽酶 4 抑制剂;新型冠状病毒;新型冠状病毒肺炎

中图分类号 R978;R969

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2021)01-0090-04

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2021.01.016

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Research Progress of Dipeptidyl Peptidase 4 and Its Inhibitors in the Prevention and Treatment of Coronavirus Disease 2019

CHEN Zhihui^{1,2}, YANG Yan³, TU Ling¹, XU Xizhen² (1. Department of Geriatric Medicine; 2. Division of Cardiology and Department of Internal Medicine; 3. Division of Endocrinology and Department of Internal Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430030, China)

ABSTRACT The pandemic of coronavirus disease 2019 (COVID-19) poses a huge threat to the world health, however, no clinical proven effective methods of treatment of COVID-19 were currently available. Recent study indicated that dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) may be a potential receptor for the SARS-CoV-2, however, whether DPP4 directly participated in the adhesion or infection of SARS-CoV-2 to the target cells, and whether inhibition or modulation of DPP4 activity or expression could prevent the progression of COVID-19 still remain unclear. Previous studies revealed the anti-inflammatory and anti-fibrotic effects of DPP4 inhibitors. Thus, it is speculated that DPP4 inhibitors may play a protective role in inhibiting inflammatory response and pulmonary fibrosis in patients with COVID-19, but it still needs to be further confirmed.

KEY WORDS Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors; Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2); Coronavirus disease 2019

新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)给社会和经济造成了巨大冲击^[1]。流行病学调查显示老龄和男性是新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19)患者预后不良的主要危险因素^[2]。我国早期队列研究显示约 50% 的 COVID-19 患者至少合并存在一种慢性疾病,如心血管系统疾病、糖尿病、慢性阻塞性肺疾病、陈旧性脑梗死等,其中糖尿病是 COVID-19 患者预后不良的主要危险因素之一^[3]。另外,约 19% 重型

COVID-19 患者同时患有糖尿病^[3],占 COVID-19 患者死亡数量的约 2/3^[4]。

由于 SARS-CoV-2 的快速传播和高致病性,寻找有效的预防和治疗方案刻不容缓。然而到目前为止没有临床证实有效的抗病毒药物以及疫苗用以治疗和预防 COVID-19^[5]。RNA 聚合酶抑制药瑞德西韦及 SARS-CoV-2 疫苗目前尚处于临床试验阶段^[6]。尽管疫苗和抗病毒药物的研发对 COVID-19 的预防和治疗至关重要,老药新用或者寻找新的治疗靶点是快速探索 COVID-19 治疗方法的有效策略。目前有研究提示二肽基肽酶 4(dipeptidyl peptidase 4, DPP4)可能是 COVID-19 治疗的一个潜在的靶点,笔者拟就 DPP4 抑制剂在 COVID-19 治疗中的应用前景进行文献复习和系统综述。

收稿日期 2020-05-20 修回日期 2020-09-16

基金项目 * 国家自然科学基金资助项目(81873512)。

作者简介 陈志会(1991-),女,河南郑州人,住院医师,博士,研究方向:心血管系统疾病及衰老。ORCID: 0000-0002-0409-8012,电话:0371-67966114, E-mail: 1263020586@qq.com。

1 DPP4 概述

DPP4 又称 CD26, 是细胞表面的跨膜糖蛋白^[7]。DPP4 有一个大的 C 端胞外端、跨膜段和一个小的胞内段, 其中 C 端胞外端具有催化活性, 能水解多种底物从而对其生物学活性^[7]。DPP4 有两种存在形式: 膜绑定型和游离型。膜绑定型 DPP4, 作为细胞表面糖蛋白存在于多种组织和细胞表面, 如肺脏、肾脏、肝脏、肠道、免疫细胞等; 游离型 DPP4 (soluble DPP4, sDPP4), 具有 DPP4 酶活性, 主要存在于血清和其他组织液。DPP4 能够降解胰高血糖素样肽-1 (glucagon like peptide 1, GLP-1) 和葡萄糖依赖的促胰岛素肽 (insulinotropic peptide, GIP)^[7]。临床应用 DPP4 抑制剂如西格列汀、沙格列汀等抑制 DPP4 活性, 抑制其对 GLP-1 和 GIP 的降解从而达到控制血糖的目的。除了 GLP-1 和 GIP, DPP4 还具有多种生物活性底物, 包括生长因子、趋化因子、神经肽、血管活性肽等, 因此 DPP4 参与机体多种病理生理过程^[7]。

2 DPP4 与冠状病毒感染

历史上, 感染人的冠状病毒包括几种温和的普通感冒病毒, 如 hCoV-OC43、HKU-229E^[6]。近二十年来, 高致病性人冠状病毒的出现对人类健康造成巨大威胁。2003 年严重急性呼吸窘迫综合征冠状病毒 (severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV) 导致全世界约 8000 人感染, 其死亡率约 10%^[6]。2012 年中东呼吸综合征冠状病毒 (Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV) 导致全球约 2500 人感染, 其死亡率高达 36%^[6]。SARS-CoV-2 是冠状病毒科的一种有包膜的、阳性单链 RNA 倍他卡病毒, 与 SARS-CoV 和 MERS-CoV 相比, SARS-CoV-2 致死率低, 传染性强, 导致其难以控制。

DPP4 是 MERS-CoV 的功能受体, MERS-CoV 的刺突蛋白与 DPP4 受体结合区域结合, 影响 T 细胞及核转录因子如核转录因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B), 进而导致机体炎症反应失调^[8]。体外实验显示, 特异性 DPP4 抗体能够抑制 MERS-CoV 对人原代支气管上皮细胞的感染^[8]。此外, 表达人 DPP4 的糖尿病小鼠更易感染 MERS-CoV, 表现为体质量下降, 重症及恢复期延长, 肺脏 CD4⁺ T 细胞聚集减少等^[9]。小鼠体内人 DPP4 外显子敲入促进其肺脏中 MERS-CoV 的增殖^[10]。DPP4 为 MERS-CoV 的功能受体, 高表达 DPP4 加重 MERS-CoV 的感染和疾病严重程度, 而抑制 DPP4 则阻止 MERS-CoV 的感染。那么, DPP4 是否参与 SARS-CoV-2 的感染与疾病进程? 目前有一些研究报道, 但仍未完全阐明。

2.1 DPP4 与 SARS-CoV-2 的直接结合 最近有研究显示 DPP4 可能是治疗 COVID-19 的潜在靶点^[11]。与其他冠状病毒相似, SARS-CoV-2 通过刺突糖蛋白 N 端 S1 区域与细胞蛋白结合, 如血管紧张素转化酶 2 (angiotensin converting enzyme 2, ACE2) 等。VANKADARI 等^[11]的研究显示 SARS-CoV-2 的 S1 区域与 DPP4 存在紧密相互作用。DPP4 绑定片段 K267、T288、A289、A291、L294、I295、R317、Y322 及 D542 与 MERS-CoV 存在相互作用。尽管 SARS-CoV-2 与 MERS-CoV 的刺突蛋白 S1 区域存在差异, VANKADARI 等的预测模型显示这些 DPP4 绑定片段与 SARS-CoV-2 的 S1 区域相毗邻。此外, 作者预测 DPP4 片段 Q286、I287、N338、V341、R336 通过范德华力或者氢键与 SARS-CoV-2 的刺突糖蛋白 S1 区域结合。然而与 VANKADARI 等推测不同, TAI 等^[12]研究显示, SARS-CoV-2 的受体绑定区域可以与表达人 ACE2 的 293T 细胞结合, 而不与表达人 DPP4 的 293T 细胞结合。到目前为止尚无直接证据证明 DPP4 为 SARS-CoV-2 的受体, DPP4 是否直接参与 SARS-CoV-2 的黏附和感染, 抑制或者调节 DPP4 是否能够抑制 SARS-CoV-2 感染、改善新型冠状病毒肺炎的疾病进程尚不清楚。

2.2 循环 sDPP4 在 SARS-CoV-2 感染中的作用 流行病学调查显示肥胖、2 型糖尿病、代谢性疾病及年龄等是 COVID-19 患者死亡的重要危险因素^[2]。研究显示, 循环中 sDPP4 的水平在肥胖、2 型糖尿病患者及老年人中明显增加^[13-14]。BARCETTA 等^[15]提出循环 sDPP4 可能是临床 COVID-19 患者严重性的驱动因子: 一方面, DPP4 在多个组织广泛表达可以解释 SARS-CoV-2 有多个靶器官, 而非只攻击表达 ACE2 的器官; 另一方面, 机体 DPP4 水平可能决定新型冠状病毒肺炎的严重性, 反映 SARS-CoV-2 对靶细胞、组织、器官的感染性等。循环 sDPP4 水平可能是预测 COVID-19 患者疾病进程及对治疗反应性的有效指标。检测循环 sDPP4 水平可能是对 SARS-CoV-2 感染患者, 特别是伴随糖尿病及其他代谢性疾病患者, 进行危险分层的简易手段。

然而, 以往研究显示, 感染 MERS-CoV 的患者循环中 sDPP4 水平明显降低, 增加循环中 sDPP4 的含量可以抑制 50% 的 MERS-CoV 感染^[16]。其可能原因是循环中 sDPP4 竞争性结合病毒从而阻止病毒进入细胞。另一方面, 可能是 MERS-CoV 与受体结合之后导致受体下调^[17], 已有研究显示 SARS-CoV 及 SARS-CoV-2 感染导致其受体 ACE2 表达下调^[18]。

综上所述,循环中 sDPP4 在 SARS-CoV-2 感染中的作用需要进一步研究,sDPP4 在临床中的应用需要进一步探讨。

2.3 DPP4 抑制剂在 SARS-CoV-2 感染中的作用

DPP4 抑制剂如西格列汀、沙格列汀、阿格列汀、维格列汀等已广泛应用于临床 2 型糖尿病的治疗^[7]。DPP4 抑制剂与 DPP4 催化位点结合抑制其活性,进而降低其对 GLP-1 和 GIP 的降解,达到控制血糖的目的^[7]。与 DPP4 抑制剂不同,模型预测结果显示 SARS-CoV-2 及 MERS-CoV 与 DPP4 催化位点之外的其他绑定位点结合^[11]。DPP4 抑制剂西格列汀与 DPP4 的结合位点与 SARS-CoV-2 的预测结合位点之一距离较近^[19],那么 DPP4 抑制剂与 DPP4 结合导致的构象变化是否会影响病毒与 DPP4 的结合?以往研究显示 MERS-CoV 与 DPP4 的结合不依赖于 DPP4 的活性,抑制 DPP4 活性并不能阻止 MERS-CoV 感染^[20-21]。然而,调节 DPP4 表达水平或者作用于 DPP4 与病毒结合位点的抑制剂可能具有抗病毒作用,例如人抗 CD26 单克隆抗体 YS110 可以显著抑制 MERS-CoV 感染,而不影响免疫功能及 DPP4 酶活性^[22]。因此推测下调 DPP4 表达或者研发作用于 DPP4 与 SARS-CoV-2 结合位点的抑制剂或抗体可能是阻止 SARS-CoV-2 感染细胞的有效方法。

3 DPP4 与炎症反应

炎症风暴是导致重型 COVID-19 患者死亡的主要原因。尽管 DPP4 在 SARS-CoV-2 感染中的作用有待证实,以往研究已经证明抑制 DPP4 活性具有抑制炎症反应的作用。DPP4 通过与细胞外基质蛋白的黏附等多种生理机制,在 T 细胞成熟、活化及与抗原呈递细胞相互作用中发挥共刺激作用。抑制 DPP4 活性在一定程度上抑制免疫反应,可能在自身免疫性疾病中发挥作用^[23]。例如,药物抑制 DPP4 活性可降低实验多发性硬化自身免疫性脑脊髓炎的发病率,减轻其临床症状和疾病总体严重程度^[24-25]。人群队列研究结果显示 DPP4 抑制剂降低自身免疫性疾病的发病风险^[26]。一项 Meta 分析结果显示,DPP4 抑制剂并不增加上呼吸道感染的风险^[27]。因此,推测 DPP4 抑制剂可能具有抑制 COVID-19 患者高炎症反应状态的作用,然而需要更多的临床研究证明。此外,由于机体感染病毒后的炎症反应为动态过程,因此在临床使用 DPP4 抑制剂时应充分考虑患者的疾病进程和综合情况。

4 DPP4 与急性呼吸窘迫综合征

肺间质纤维化及因此导致的急性呼吸窘迫综合征

是 COVID-19 患者死亡的主要原因。研究显示抑制 DPP4 具有抑制肺部损伤及抗纤维化的作用^[28-29]。DPP4 抑制剂西格列汀通过抑制炎症因子白细胞介素(IL)-1 β 、肿瘤坏死因子(TNF)- α 及 IL-6 改善急性呼吸窘迫综合征动物肺损伤^[28]。抑制 DPP4 活性或者敲除 DPP4 改善博来霉素诱导的肺纤维化^[29]。笔者推测抑制 DPP4 可能具有改善 COVID-19 患者肺损伤及纤维化的作用,尚需要进一步研究。

综上所述,DPP4 是否是 SARS-CoV-2 的功能受体尚不明确,抑制 DPP4 活性或者调节 DPP4 表达能否阻止 COVID-19 的发生发展尚需要进一步研究。DPP4 抑制剂可能具有抑制 COVID-19 患者炎症反应,减轻 COVID-19 患者肺部损伤和纤维化的作用,然而尚需要临床试验研究加以证实。

参考文献

- [1] WHO. Coronavirus disease (COVID-19) outbreak situation [EB/OL]. [2020-03-10]. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200510-covid-19-sitrep-111.pdf?sfvrsn=1896976f_2.
- [2] CHEN N, ZHOU M, DONG X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China; a descriptive study [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 507-513.
- [3] ZHOU F, YU T, DU R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study [J]. *Lancet*, 2020, 395(10229): 1054-1062.
- [4] REMUZZI A, REMUZZI G. COVID-19 and Italy: what next? [J]. *Lancet*, 2020, 395(10231): 1225-1228.
- [5] ROTHAN H A, BYRAREDDY S N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak [J]. *J Autoimmun*, 2020, 109: 102433.
- [6] GOEDON D E, JANG G M, BOUHANDDOU M, et al. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing [J]. *Nature*, 2020, 583(7816): 1-13.
- [7] CHEN Z, YU J, FU M, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition improves endothelial senescence by activating AMPK/SIRT1/Nrf2 signaling pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020. DOI: 10.1016/j.bcp.2020.113951.
- [8] RAJ V S, MOU H, SMITS S L, et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC [J]. *Nature*, 2013, 495(7440): 251-254.
- [9] KULCSAR R K A, COLEMAN C M, BECK S E, et al. Comorbid diabetes results in immune dysregulation and enhanced disease severity following MERS-CoV infection [J]. *JCI Insight*, 2019. DOI: 10.1172/jci.insight.131774.
- [10] LI K, WOHLFORD-LENANE C L, CHANNAPPANAVAR

- R, et al. Mouse-adapted MERS coronavirus causes lethal lung disease in human DPP4 knockin mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017. DOI: 10.1073/pnas.1619109114.
- [11] VANKADARI N, WILCE J A. Emerging *Wuhan* (COVID-19) coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26 [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 601–604.
- [12] TAI W, HE L, ZHANG X, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine [J]. *Cell Mol Immunol*, 2020. DOI: 10.1038/s41423-020-0400-4.
- [13] ZHENG T, GAO Y, BASKOTA A, et al. Increased plasma DPP4 activity is predictive of prediabetes and type 2 diabetes onset in Chinese over a four-year period: result from the China National Diabetes and Metabolic Disorders Study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014. DOI: 10.1210/jc.2014-1480.
- [14] BARCHETTA I, CICCARELLI G, BARONE E, et al. Greater circulating DPP4 activity is associated with impaired flow-mediated dilatation in adults with type 2 diabetes mellitus [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2019, 29(10): 1087–1094.
- [15] BARCHETTA I, CAVALLO M G, BARONI M G. COVID-19 and diabetes: is this association driven by the DPP4 receptor? Potential clinical and therapeutic implications [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2020. DOI: 10.1016/j.diabres.2020.108165.
- [16] INN K S, KIM Y, AIGERIM A, et al. Reduction of soluble dipeptidyl peptidase 4 levels in plasma of patients infected with Middle East respiratory syndrome coronavirus [J]. *Virology*, 2018. DOI: 10.1016/j.virol.2018.03.015.
- [17] HAVERKAMP A K, LEHMBECKER A, SPITZBARTH I, et al. Experimental infection of dromedaries with Middle East respiratory syndrome coronavirus is accompanied by massive ciliary loss and depletion of the cell surface receptor dipeptidyl peptidase 4 [J]. *Sci Rep*, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-28109-2.
- [18] VADUGANATHAN M, VARDENY O, MICHEL T, et al. Renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors in patients with COVID-19 [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(17): 1653–1659.
- [19] BERGER J P, SINHARROY R, POCAI A, et al. A comparative study of the binding properties, dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitory activity and glucose-lowering efficacy of the DPP-4 inhibitors alogliptin, linagliptin, saxagliptin, sitagliptin and vildagliptin in mice [J]. *Endocrinol Diabetes Metab*, 2017. DOI: 10.1002/edm2.2.eCollection 2018 Jan.
- [20] ENGEL M, HOFFMANN T, WAGNER L, et al. The crystal structure of dipeptidyl peptidase IV (CD26) reveals its functional regulation and enzymatic mechanism [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(9): 5063–5068.
- [21] GORRELL M D, GYSBERS V, MCCAUGHAN G W. CD26: a multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes [J]. *Scand J Immunol*, 2001, 54(3): 249–264.
- [22] OHNUMA K, HAAGMANS B L, HATANOA R, et al. Inhibition of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection by anti-CD26 monoclonal antibody [J]. *J Virol*, 2013, 87(24): 13892–13899.
- [23] PITOCOCCO D, TARTAGLIONE L, VITI L, et al. SARS-CoV-2 and DPP4 inhibition: Is it time to pray for Janus Bifrons? [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2020. DOI: 10.1016/j.diabres.2020.108162.
- [24] STROLLO R, POZZILLI P. DPP4 inhibition: preventing SARS-CoV-2 infection and/or progression of COVID - 19? [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2020. DOI: 10.1002/dmrr.3330.
- [25] STEINBRECHER A, REINHOLD D, QUIGLEY L, et al. Targeting dipeptidyl peptidase IV (CD26) suppresses autoimmune encephalomyelitis and up-regulates TGF-beta 1 secretion *in vivo* [J]. *J Immunol*, 2001, 166(3): 2041–2048.
- [26] SEONG J M, YEE J, GWAK H S. Dipeptidyl peptidase - 4 inhibitors lower the risk of autoimmune disease in patients with type 2 diabetes mellitus: a nationwide population - based cohort study [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2019, 85(8): 1719–1727.
- [27] YANG W, CAI X, HAN X, et al. DPP-4 inhibitors and risk of infections: a Meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2016, 32(4): 391–404.
- [28] KAWASAKI T, CHEN W, HTWE Y M, et al. DPP4 inhibition by sitagliptin attenuates LPS-induced lung injury in mice [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018. DOI: 10.1152/ajplung.00031.2018.
- [29] SOARE A, GYOFI H A, MATEI A E, et al. Dipeptidylpeptidase 4 as a marker of activated fibroblasts and a potential target for the treatment of fibrosis in systemic sclerosis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2019, 72(1): 137–149.